

LIEVITO E FERMENTAZIONE NELLA PRODUZIONE DELLA BIRRA

*Dr Stefano Buiatti, Docente di Tecnologia della Birra,
Dipartimento di Scienze degli Alimenti - Università di Udine*

L'argomento di oggi è il lievito e la fermentazione: un argomento abbastanza complesso che affronteremo partendo da alcuni concetti fondamentali che riguardano il soggetto principale di questa mia relazione, cioè i lieviti.

Innanzitutto definiamo esattamente che cos'è il lievito: il lievito è un fungo unicellulare, un organismo abbastanza sofisticato, che presenta discrete capacità di adattamento a condizioni ambientali diverse e può vivere sia in aerobiosi che in anaerobiosi, cioè sia in presenza che in assenza di ossigeno. Questo già lo rende un microrganismo abbastanza evoluto, se consideriamo, ad esempio, che noi non siamo in grado di vivere in assenza di ossigeno. Il lievito possiede una capacità che è molto importante per chi si occupa di birra e, in generale, di fermentazioni ed è quella di trasformare lo zucchero o gli zuccheri (poi vedremo quali, in che velocità e in che misura) prevalentemente in alcol e anidride carbonica. Ho detto "prevalentemente" perché in realtà, come vedremo, noi abbiamo un numero enorme di composti cosiddetti secondari, che hanno una minore importanza dal punto di vista quantitativo rispetto all'etanolo e alla CO₂ che il lievito produce, ma che sono fondamentali per il gusto e l'aroma della birra. Se andiamo a vedere la bibliografia scientifica, troviamo autori i quali sostengono che il lievito è responsabile della presenza di circa 400 composti, che possono essere più o meno volatili e che quindi possono essere più o meno percepiti all'olfatto e che possono essere coinvolti nella formazione di quelle che sono le caratteristiche organolettiche della birra. I ricercatori sono concordi nel definire il lievito come uno dei fondamentali ingredienti che concorrono alla formazione e alle caratteristiche finali della birra, ovviamente senza nulla togliere all'importanza che il malto, il luppolo e l'acqua rivestono.

Ma qual è la dimensione di una cellula di lievito? Una cellula di lievito ha una dimensione che è compresa grosso modo tra i 5 e i 10 micron (il micron è un millesimo di millimetro) e quindi ovviamente una cellula non è visibile ad occhio nudo. E' una dimensione cellulare tutto sommato abbastanza ragguardevole se paragonata, ad esempio, a quella delle cellule batteriche, le quali hanno delle dimensioni intorno a 0,5-2 micron e quindi le cellule di lievito sono molto più grosse. Questo naturalmente ha anche un'importanza durante le fasi tecnologiche di produzione, come quando si parla, ad esempio, di filtrazione: la maggiore dimensione molecolare del lievito rispetto al batterio può avere qualche ripercussione sugli effetti della filtrazione stessa.

Parliamo ora della nomenclatura e cioè di come si chiamano i lieviti. I lieviti innanzitutto sono tantissimi, abbiamo decine di generi, noi ci soffermiamo subito su un genere, quello che poi ci interessa, il genere dei *Saccharomyces*, che letteralmente vuol dire fungo dello zucchero, proprio in virtù della sua capacità di utilizzare gli zuccheri per il proprio metabolismo. Nei testi, nelle riviste, negli articoli vengono indicati coi nomi *Saccharomyces carlsbergensis* e *Saccharomyces cerevisiae*, per indicare rispettivamente i lieviti a bassa fermentazione e quelli ad alta fermentazione; questa è una terminologia tuttora in uso nell'ambiente birrario, però dobbiamo anche rendere giustizia al fatto che in realtà questo tipo di nomenclatura, da un punto di vista sistematico, non è corretta. Se andiamo a vedere come è cambiata la nomenclatura dei lieviti, vediamo che fino al 1970 avevamo una suddivisione delle specie di *Saccharomyces*, che venivano considerate a sé stanti; dal 1984 i *cerevisiae uvarum* (*carlsbergensis*) vengono inclusi nella stessa specie. Sarebbe quindi corretto dire *Saccharomyces cerevisiae* razza fisiologica *cerevisiae* per indicare i lieviti di alta fermentazione, *Saccharomyces cerevisiae* razza fisiologica *uvarum*

o *carlsbergensis* per indicare i lieviti di bassa fermentazione. La sinonimia che spesso si trova sui libri tra *Saccharomyces carlsbergensis* e *Saccharomyces uvarum* nasce dal fatto che le due specie furono già nel '52 riunite nella specie *uvarum*. Una cosa analoga succede, ad esempio, nel caso dei batteri lattici, contaminanti in birreria, e appartenenti al genere *Pediococcus*. In birreria si usava parlare di "sarcine", un termine che, da un punto di vista sistematico, non è più valido, ma che resta d'uso corrente per indicare una specifica causa d'infezione.

Prima dicevo che il lievito può svilupparsi sia in presenza che in assenza di ossigeno; questa diversa condizione ambientale determina un diverso comportamento metabolico da parte della cellula del lievito. Se il lievito, per assurdo, potesse scegliere di moltiplicarsi o vivere in un ambiente ricco di ossigeno o privo di ossigeno, sicuramente sceglierebbe la prima ipotesi e cioè un ambiente ricco di ossigeno che gli consente di moltiplicarsi molto più rapidamente; la presenza di ossigeno consente anche al lievito di svolgere un metabolismo che gli permette di sintetizzare molti composti che sono importanti per la corretta funzionalità della sua membrana cellulare, che come vedremo è una parte fondamentale per il lievito. Quindi la mancanza di ossigeno è una situazione che il lievito è costretto ad affrontare, che riesce comunque a tollerare, tant'è che abbiamo comunque una moltiplicazione del lievito anche in assenza di ossigeno. Tramite la fermentazione il lievito, partendo dal glucosio o da altri zuccheri produce CO₂ ed alcol etilico, che, come sapete, sono i prodotti della fermentazione che a noi interessano. Se siamo in presenza di ossigeno, si attivano altri cicli metabolici che portano alla produzione di CO₂, acqua e di energia (ATP). E' quello che state facendo voi in questo momento: partendo dalle nostre cellule energetiche si arriva al termine della catena respiratoria. Questi acronimi, gli ATP, stanno ad indicare delle molecole che sono molto ricche di energia e che tutti gli organismi viventi utilizzano. Vi faccio semplicemente notare che il rendimento energetico della fermentazione è molto più basso rispetto al rendimento energetico del metabolismo aerobico. Intendo dire che il lievito è costretto a moltiplicarsi e sopravvivere in ambiente anaerobico, però il rendimento energetico che ne deriva è molto più basso. Per rendere meglio l'idea del significato di rendimento energetico più basso è come se noi vedessimo in questi ATP il livello della benzina nel serbatoio, che risulta molto più alto nel caso della catena respiratoria, cioè nel caso di un metabolismo aerobico. Infatti, partendo da 100 gr. di carboidrati, cioè di zuccheri, nel caso di un metabolismo respiratorio (aerobico) la massa di lievito che si forma è di circa 45 g rispetto a quella che abbiamo nel caso della fermentazione, pari a 2-4 g.

Prima che inizi il processo fermentativo il lievito utilizza l'ossigeno disciolto nel mosto e questa è una parte molto importante nel metabolismo del lievito.

Volevo adesso fare alcune considerazioni su quelli che sono i fattori di crescita cioè le esigenze nutrizionali di cui la cellula di lievito necessita per svilupparsi. Potremmo paragonare una cellula di lievito ad un essere umano: noi non potremmo sopravvivere mangiando soltanto zucchero e anche il lievito necessita di un insieme di sostanze nutritive che possono supplire a quelle che sono tutte le sue richieste e le sue esigenze nutrizionali.

L'acqua: pur non essendo una sostanza nutritiva, la sua assenza è incompatibile con lo sviluppo del lievito.

Fonti di carbonio: sono gli zuccheri, necessari, come abbiamo visto, al fabbisogno energetico del lievito.

Ossigeno/lipidi: cioè ossigeno e grassi, che sono fondamentali nel processo di biosintesi della membrana cellulare. Un corretto, regolare funzionamento della membrana cellulare del lievito è fondamentale per una successiva e regolare fermentazione.

Fonti di azoto: come noi abbiamo bisogno di proteine, che contengono azoto, anche il lievito necessita di azoto in forme diverse. Partiamo dall'azoto in forma ammoniacale, che è l'azoto inorganico più elementare ed è quello che il lievito predilige, perché viene

utilizzato rapidamente; poi abbiamo gli amminoacidi, che sono le singole unità costitutive delle proteine, che vengono metabolizzate con meccanismi diversi, cioè ci sono delle preferenze che il lievito ha per un amminoacido rispetto ad un altro.

Fattori di crescita: sono rappresentati dalle vitamine. Queste, ed in particolare quelle del gruppo B, sono molto rappresentate nella cellula di lievito e sono fondamentali per il regolare svolgimento delle reazioni metaboliche.

Gli ioni inorganici, cioè i sali minerali, quali magnesio, zinco, manganese e altri, permettono, regolando l'attività enzimatica, il corretto svolgimento delle reazioni metaboliche.

Gli amminoacidi, cui abbiamo accennato prima, possono essere suddivisi sulla base della loro velocità di assorbimento durante il processo fermentativo. Ad esempio la prolina è un amminoacido che il lievito non può utilizzare nel metabolismo fermentativo, cioè in assenza di ossigeno; quindi, nel caso di un arricchimento del mezzo, bisogna sempre considerare in quali condizioni il lievito si trova.

Una domanda che potremmo porci è la seguente: "ma il mosto di birra presenta tutte queste caratteristiche nutrizionali, in grado quindi di soddisfare le esigenze del lievito?" Nella generalità dei casi la risposta è affermativa, in quanto il mosto di birra può essere paragonato ad un brodo di coltura per le cellule di lievito.

Nel mosto di birra ci sono sufficienti sostanze nutrizionali per far fronte alle richieste del lievito. Abbiamo visto che anche l'ossigeno svolge un ruolo fondamentale nel processo fermentativo. Detto così sembra un controsenso, perché il processo fermentativo significa vita senz'aria, ma in realtà il lievito, non appena viene inoculato nel mosto utilizza rapidamente l'ossigeno in esso disciolto. Ma quanto ossigeno è disciolto nel mosto? La solubilità dell'ossigeno in un liquido è molto bassa, con dei valori che si aggirano intorno agli 8-10 mg/L, quindi sono quantità molto basse che però sono sufficienti per garantire una buona attività metabolica da parte del lievito. Perché è importante l'ossigeno per il lievito in questa fase prefermentativa? Perché il lievito utilizzerà questo ossigeno per la biosintesi di costituenti cellulari, della membrana cellulare. Avviene la sintesi di sostanze che appartengono al gruppo degli steroli, in particolare l'ergosterolo e la sintesi di acidi grassi, composti che consentono un regolare funzionamento della membrana cellulare. La membrana cellulare è fondamentale, come dicevo prima, perché è la barriera, il punto di contatto tra lievito e mondo esterno, quindi un corretto e buon funzionamento della membrana cellulare significa una successiva regolare fermentazione. Molti ricercatori hanno suddiviso i lieviti in base alla loro richiesta, al loro fabbisogno di ossigeno per perseguire l'obiettivo di cui dicevo prima e cioè una biosintesi dei costituenti della membrana cellulare. Hanno diviso i lieviti in quattro classi: ci sono dei lieviti che richiedono quantità molto basse di ossigeno, quindi non sono particolarmente esigenti e via via abbiamo dei lieviti che sono invece più esigenti, possiamo arrivare oltre i 40 mg/l; quindi la diversità di comportamento che può manifestare un lievito, dipende anche da quella che è la sua particolare esigenza di ossigeno, per svolgere tutte quelle funzioni metaboliche, di cui parlavo. Quando diciamo che l'ossigeno è importante per il metabolismo del lievito, dobbiamo anche considerare però che da questo momento in poi dobbiamo dimenticare l'ossigeno, cioè da quando il lievito viene inoculato e lo utilizzerà per svolgere le funzioni che vi dicevo, l'ossigeno diventerà un nemico della birra e quindi un nemico del birraio, perché ovviamente la presenza di ossigeno comporterà l'instaurarsi dei meccanismi di ossidazione che porteranno alle alterazioni del gusto e dell'aroma della birra.

Il lievito quando viene inoculato nel mosto ha una cosiddetta fase di latenza, durante la quale si deve adattare al nuovo ambiente in cui si trova. Per la propria sopravvivenza utilizzerà le riserve di uno zucchero che contiene all'interno e che si chiama glicogeno, il quale chimicamente è un polimero del glucosio. Il contenuto di glicogeno in una cellula dà anche una misura della sua vitalità, di quanto quella cellula sia più o meno vecchia. Quando, ad esempio, voi acquistate del lievito e la fase di latenza è lunga,

significa che le riserve di glicogeno sono molto limitate e quindi il lievito necessita di tempi lunghi per adattarsi all'ambiente in cui si trova. Successiva alla fase di latenza abbiamo la fase di crescita esponenziale che comprende inizialmente la fase di moltiplicazione del lievito in cui si assiste ad una rapidissima moltiplicazione cellulare. Possiamo avere un aumento del numero delle cellule del lievito da 3 a 5 volte rispetto all'inoculo iniziale, con una forte moltiplicazione per gemmazione. Il lievito arriva poi ad una fase stazionaria, perché il numero di cellule è aumentato molto e le sostanze nutritive hanno cominciato a diminuire. Ad un certo punto nel mosto di birra siamo in presenza di tante cellule e le sostanze nutritive scarseggiano e quindi si verifica un rallentamento dello sviluppo fino al raggiungimento di una fase stazionaria. Va inoltre ricordato che l'alcol, che il lievito stesso produce, essendo un prodotto del suo catabolismo, rappresenta una sostanza tossica per il lievito stesso. Ciò può apparire un controsenso. Perché il lievito produce una molecola organica, quale l'alcol etilico, che risulta essere dannosa per sé stesso? Perché questo consente al lievito di ricaricarsi, di produrre energia per far andare avanti il meccanismo di fermentazione: il lievito si trova cioè in assenza di ossigeno, è costretto a fermentare e deve, perché obbligato, produrre alcol con conseguente sviluppo di energia. Se potesse scegliere, preferirebbe sicuramente il metabolismo aerobico. Quindi la fase stazionaria dipende anche dalla diversa tolleranza all'alcol. Ad esempio i lieviti utilizzati per la fermentazione birraria, normalmente hanno una tolleranza all'alcol che è più bassa rispetto ai lieviti utilizzati in enologia. Questo è comprensibile, visto che un vino può arrivare a 12, 13 gradi alcolici, quindi è un carattere genetico del lievito, uno dei tanti caratteri genetici che possono anche essere selezionati. Alla fase stazionaria segue un decadimento in quanto le cellule, arrivate al massimo della loro attività, cominciano a precipitare o comunque a perdere la loro vitalità. Assistiamo a fenomeni di autolisi cellulare, cioè la cellula muore e la membrana cellulare perde completamente le sue caratteristiche di permeabilità, la cellula collassa rilasciando nel mezzo tutte le sostanze presenti al suo interno. Questo rilascio di sostanze contenute all'interno della cellula di lievito, può avere un effetto importante anche sulle caratteristiche finali della birra ed è auspicabile che ciò non accada. Lo stesso fenomeno avviene, ad esempio, ed ha in questo caso effetti positivi, nello spumante prodotto con il metodo champenoise. Infatti quel particolare gusto che ha lo spumante prodotto con il metodo classico champenoise, dipende dalle cellule di lievito che autolisano all'interno della bottiglia.

Se andiamo a vedere lo spettro di composti secondari della fermentazione di un whisky, di un rhum e di una birra, troviamo uno spettro che, da un punto di vista qualitativo, non è diversissimo, cioè troviamo più o meno gli stessi esteri e più o meno gli stessi alcoli superiori, quello che cambia sono i rapporti tra questi composti che modificano profondamente le caratteristiche finali della bevanda alcolica. Ovviamente ciò dipenderà anche dal contenuto di alcol, (un whisky ha circa 40 gradi alcolici mentre una birra ne ha 5), però se ci limitiamo ai composti secondari della fermentazione, possiamo rilevare queste diversità, legate più ai rapporti tra i composti che non al tipo di composto che è presente.

Abbiamo indicato composti che sono molto importanti per l'industria birraria, come ad esempio il diacetile; voi tutti sapete che il diacetile è un composto che si forma ad opera del metabolismo dei lieviti ed è l'aroma caratteristico del burro e normalmente è indesiderato. La soglia olfattiva del diacetile è molto bassa (0,15 mg/l) quindi basta che ce ne sia pochissimo per sentirne la presenza. Il lievito è il responsabile della presenza di questo composto, ma fortunatamente il lievito stesso che ha combinato il guaio, poi lo risolve consentendo successivamente di abbattere il diacetile precedentemente prodotto. Quindi è importante che nella fase di maturazione della birra ci siano ancora delle cellule di lievito presenti, affinché queste consentano la riduzione del diacetile presente. Nelle birrerie, normalmente, la fase di maturazione viene monitorata proprio seguendo l'andamento del diacetile.

Nel corso della fermentazione molti composti entrano all'interno della cellula passando attraverso la membrana cellulare, la cui funzionalità è molto importante e vengono utilizzati per la produzione di composti secondari, alcoli superiori ed esteri e inoltre l'energia prodotta consente la formazione di una cellula figlia. Le richieste nutrizionali del lievito sono abbastanza precise, ha buone capacità di adattamento, ma non dobbiamo "strapazzarlo". Per la cellula di lievito, la sintesi di alcol etilico è un sottoprodotto in quanto del tutto incidentale; come dicevo prima, se potesse farebbe volentieri a meno di sintetizzare l'alcol, ma lo fa, in quanto costretto, poiché non c'è ossigeno ed è l'unico metabolismo che può perseguire per sopravvivere. L'alcol e la CO₂ vengono espulsi dalla cellula e, come dicevo prima, un'elevata concentrazione di alcol, ad un certo punto, può inibire proprio il metabolismo del lievito. Il glucosio in parte va a ricostituire le riserve di glicogeno che, come ricorderete, è quello zucchero che funge da riserva energetica interna che il lievito può utilizzare nel momento in cui non è in grado di assimilare sostanze nutritive dall'esterno. Tutte queste reazioni da che cosa sono mediate? Intervengono gli enzimi che sono delle proteine: possiamo dire che ogni singola reazione è mediata da un diverso enzima. Quindi potremmo considerare il lievito come un complesso enzimatico che presenta molti diversi enzimi, ognuno dei quali interviene su una particolare reazione, consentendo che questa reazione avvenga. Fondamentali sono le permeasi che consentono agli zuccheri di penetrare all'interno della cellula di lievito. Il maltosio, che è lo zucchero più importante presente nel mosto di birra e che tecnicamente viene definito un disaccaride, composto cioè da due singole molecole di glucosio, viene fatto entrare proprio grazie alla presenza delle permeasi. All'interno della cellula, interviene un altro enzima, che rompe questa molecola, composta da due unità di glucosio, rendendo possibile la fase successiva della fermentazione. Quindi vedete che le permeasi intervengono per far entrare il maltosio, ma il maltosio non può entrare o entrerà in modo irregolare se la membrana cellulare non funziona correttamente, quindi ricollegandoci a quanto già detto prima ricordiamoci l'importanza che ha l'ossigeno nelle fasi iniziali, cioè proprio nella biosintesi di quei composti della membrana cellulare. Con il saccarosio, che è lo zucchero da cucina (disaccaride costituito da una molecola di glucosio e una di fruttosio) la cellula funziona diversamente, perché secreta l'invertasi, un altro enzima, che permette la rottura del legame glucosio-fruttosio all'esterno della cellula. Quindi abbiamo una separazione della molecola e poi l'ingresso di queste singole unità di zuccheri all'interno della cellula. Vedete che i meccanismi sono diversificati a seconda che si parli, ad esempio, di maltosio o di saccarosio, la capacità poi che i lieviti hanno di fermentare gli zuccheri è molto importante perché ci consente anche di operare delle selezioni genetiche, in quanto non tutti i *Saccharomyces* sono in grado di fermentare tutti gli zuccheri presenti. Ci sono, ad esempio, dei carboidrati costituiti da tre molecole di zuccheri, e quindi con dimensioni molecolari comincia maggiori per cui diventa difficile farli penetrare nella cellula. Non tutti i lieviti, infatti, ne sono capaci e quindi ci sono delle diversità notevoli tra cellula e cellula. E' il caso del maltotriosio, ad esempio, composto da tre molecole di glucosio, che viene scisso dagli enzimi nelle singole unità costitutive. Non tutti i lieviti però, presentano questa capacità. Come avviene l'assimilazione degli zuccheri? Se il lievito ha di fronte a sé uno spettro di zuccheri diversi, predilige e quindi inizia prima a fermentare i più "facili", cioè quelli che hanno il minore peso molecolare come glucosio e fruttosio. Anche le destrine possono essere definite zuccheri, ma le destrine presentano un numero di unità di glucosio che va da 5 a 20, quindi sono delle molecole molto grandi, che il lievito non è in grado di fermentare, perché non possono penetrare all'interno della cellula e non vengono demolite da enzimi. Il maltotriosio, che ha una maggiore complessità molecolare viene fermentato più lentamente. Se noi sappiamo che il lievito predilige gli zuccheri più semplici, come glucosio e fruttosio, potremmo essere indotti a pensare che basta che ci siano questi zuccheri per una buona fermentazione, ma, se la percentuale è troppo elevata (superiore a 20-25% di glucosio nel mosto) il lievito "si abitua bene" e perde o,

comunque, riduce le sue capacità di assimilazione del maltosio, che è lo zucchero fondamentale del mosto di birra; quindi a seconda dell'ambiente in cui si trova esso modula il suo metabolismo. Questi sono tutti aspetti di cui dobbiamo tener conto quando, ad esempio, abbiamo dei lieviti secchi o lieviti che in qualche modo dobbiamo conservare: una soluzione soltanto di glucosio può comportare questo tipo di problema, cioè far perdere al lievito la "memoria" della sua capacità di utilizzare anche altri zuccheri leggermente più complicati.

Sappiamo che l'alcol etilico, l'anidride carbonica e il glicerolo sono presenti in concentrazioni dell'ordine dei grammi per litro. L'alcol etilico e l'anidride carbonica sono importanti per il gusto e l'aroma della birra, anche perché, se voi assaggiate la birra a 6° alcolici o a 3° o a 8°, la sentite completamente diversa, a dimostrazione del fatto che l'alcol è fondamentale per il gusto della birra. Non dobbiamo pensare che le caratteristiche organolettiche di una birra possano prescindere dalla sua concentrazione di alcol e ovviamente di anidride carbonica, anch'essa importante per il gusto. Poi abbiamo, in concentrazioni dell'ordine dei mg/L, quei composti che sono presenti in concentrazioni estremamente variabili quali alcoli superiori, esteri e poi in concentrazioni di microgrammi/L (pari a un milionesimo di grammo, quindi 1 millesimo di mg) composti come il diacetile, l'acido solfidrico e il dimetilsolfuro, importanti anche se presenti in concentrazioni molto basse. I composti che contengono zolfo possono essere prodotti dal metabolismo del lievito, anche se la loro origine dipende soprattutto dal processo di essiccamento del malto. Ad esempio il dimetilsolfuro, che noi troviamo presente nella birra, proviene prevalentemente dal malto, ma può essere anche un prodotto del metabolismo del lievito. Il dimetilsolfuro (DMS) è il composto che gli anglosassoni considerano caratteristico delle lager e ha un odore paragonabile a quello del mais dolce.

La produzione di diacetile è legata al metabolismo degli amminoacidi del lievito e quando abbiamo una sovrapproduzione dell'a-acetolattato (precursore del diacetile), questo viene espulso dalla cellula e si verifica una sua trasformazione (chimicamente una decarbossilazione ossidativa) che lo trasforma in diacetile. Quindi il lievito produce questo composto perché secerne l'a-acetolattato che poi darà origine al diacetile. Successivamente il diacetile viene introdotto nella cellula e trasformato, internamente alla cellula, in composti che non hanno più nessuna influenza o comunque presenti in concentrazioni così basse che non hanno influenza negativa sulle caratteristiche aromatiche. Cosa succede se, ad esempio, noi abbiamo la presenza di a-acetolattato in un mosto e non c'è più lievito bensì ossigeno? L'a-acetolattato viene ossidato in diacetile, ma non essendoci più lievito, che consenta poi di ridurre quel diacetile che si è formato, si può avere un'alterazione del gusto nella nostra birra.

Un aspetto, che non ho ancora considerato e che è molto importante, è quello della temperatura. Noi sappiamo che abbiamo lieviti di bassa fermentazione e lieviti di alta fermentazione, che quindi prediligono rispettivamente le basse e le alte temperature. Quando parlo di basse e alte temperature, parlo di intervalli che vanno dai 7°C ai 14-15°C per lieviti lager e dai 15° ai 23-24° per lieviti ad alta fermentazione, considerando degli estremi molto ampi. Se un lievito per bassa fermentazione viene utilizzato con alte fermentazioni o viceversa, determina un profilo terminale aromatico (alcoli superiori ed esteri) completamente diverso. La stessa produzione di esteri e alcoli superiori è legata in modo direttamente proporzionale alla temperatura, cioè tanto più alta è la temperatura, tanto più alta è la produzione di questi composti secondari. Non è un caso che le birre ad alta fermentazione presentino una concentrazione di questi composti molto più elevata.

Un altro aspetto molto importante è la concentrazione cellulare, cioè a parità di temperatura, sia che noi abbiamo tante cellule o poche cellule, questo può avere un'influenza sulla produzione di composti aromatici. Un'elevata biomassa cellulare, ad esempio, ossia un elevato numero di cellule normalmente determina un incremento della produzione di alcoli superiori, che danno un gusto non di fruttato o floreale, ascrivibile agli

esteri, ma normalmente danno un aroma che più pesante, definito di solvente, e quindi, se presente in concentrazione eccessiva, non gradito.

Cos'altro può determinare e influenzare l'attività metabolica del lievito? Il pH. Ogni singolo ceppo ha un'attività metabolica entro un intervallo abbastanza stretto e ottimale; ottimale significa che è in grado di "lavorare" anche a pH diversi ma questo potrebbe modificare il metabolismo del lievito e quindi la produzione di composti secondari. E noi sappiamo, ad esempio, che passando da mosto a birra, la produzione di acidi organici comporta una diminuzione del pH.

Altro aspetto importante è il rapporto che c'è nell'estratto (zuccheri del mosto) tra il maltosio e altri zuccheri. Quindi da un punto di vista qualitativo bisogna considerare il rapporto che c'è tra il glucosio, fruttosio, maltosio, quindi zuccheri più semplici e i disaccaridi. Un altro aspetto molto importante è la concentrazione di questi composti, cioè se noi andiamo a fermentare un mosto che ha un peso specifico elevato o un peso specifico meno elevato, questo influenzerà l'attività metabolica del lievito.

Quindi le ragioni che portano a ripetere con grosse difficoltà i risultati di una fermentazione, pur lavorando nelle stesse condizioni, sono legate al fatto che le variabili sono tantissime, e che sfuggono facilmente al nostro controllo. La vitalità del ceppo di lievito è pure molto importante, perché modifica il risultato finale; non c'è da stupirsi se, quando cercate di ripetere una birra esattamente uguale ad una precedentemente prodotta nelle stesse condizioni e con lo stesso lievito il risultato non sempre sia incoraggiante e non riuscite nel vostro intento.

Le variabili e i fattori che influenzano il processo fermentativo sono talmente tanti che non riusciamo a controllarli tutti, per quel riguarda almeno le birre fatte in casa; è chiaro che a livello industriale si riesce molto meglio a monitorare tutti gli aspetti della fermentazione e quindi a standardizzare più facilmente il prodotto.