



BIRRISSIMA 2006

Udine, 21 maggio 2006

FERMENTAZIONE E MATURAZIONE DELLE BIRRE LAGER

Stefano Buiatti, Docente di Tecnologia della Birra

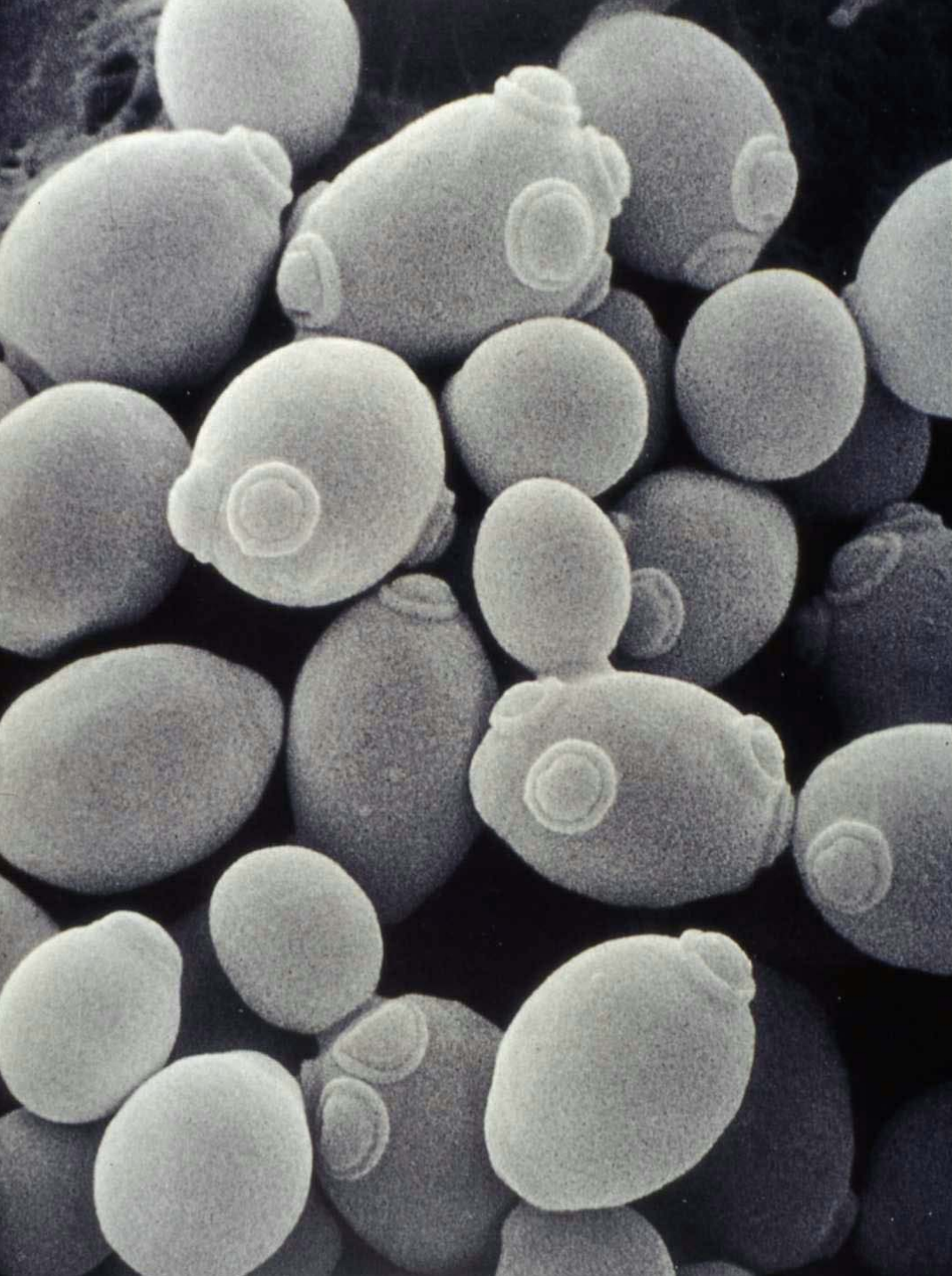
Dipartimento di Scienze degli Alimenti - Università di Udine



LA BIRRA LAGER



E' una birra a bassa fermentazione generalmente a lunga stagionatura. Può essere di colore paglierino scarico come scura, molto forte come estremamente leggera. Talvolta il termine descrive il tipo di birra più diffuso nel mondo: chiara, di media alcolicità. Questo stile rappresenta oltre il 90% della produzione mondiale.



**Cellule del genere
Saccharomyces in attiva
fase riproduttiva.**

(Ingrandimento: 12.000 X)

SISTEMA CIP (Cleaning In Place)

LE 3 PAROLE
D'ORDINE DEL
MASTRO
BIRRAIO
SONO.....



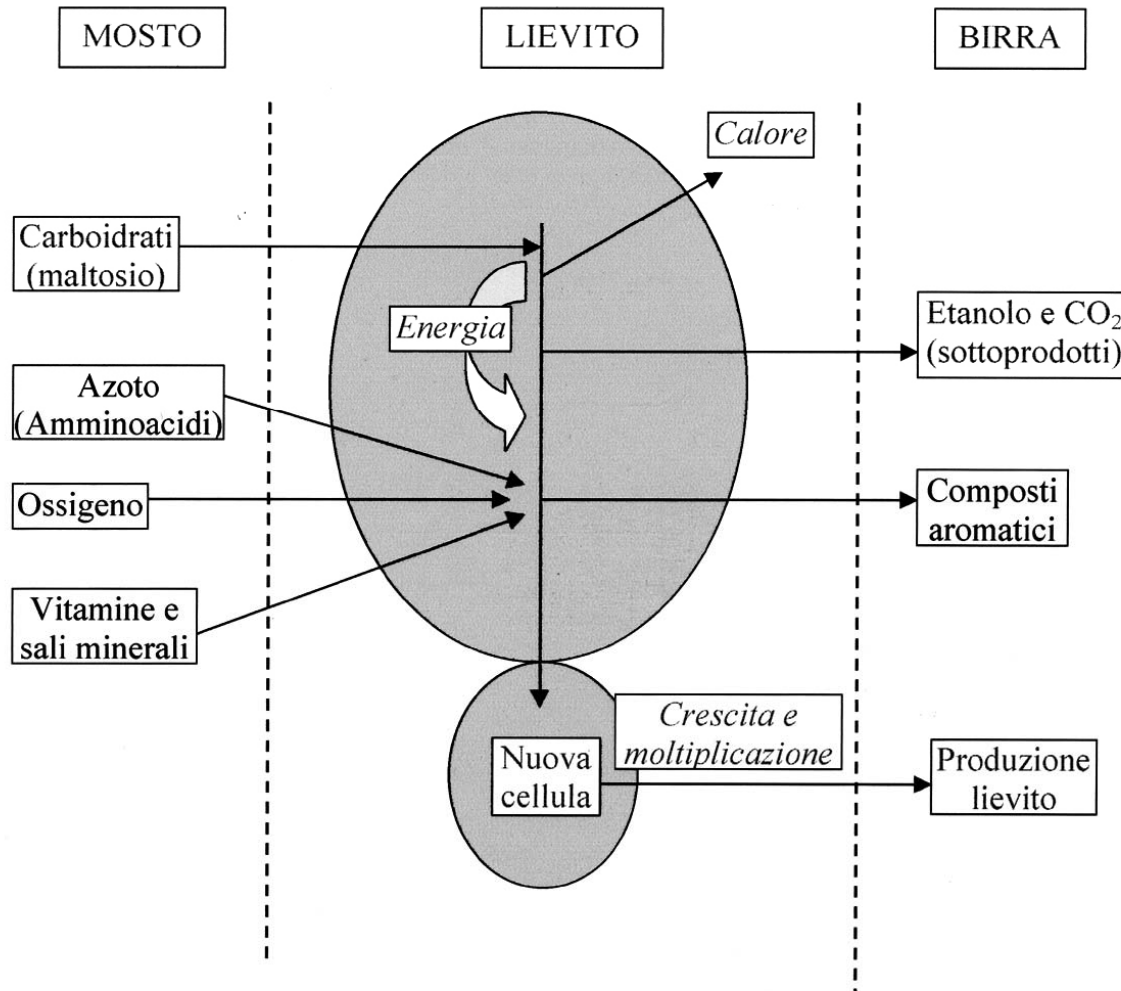
.....LAVARE,
PULIRE,
DISINFETTARE

Differenze tra lieviti ad alta e bassa fermentazione



	Bassa fermentazione	Alta fermentazione
<u>Morfologia</u>		
Dimensioni	(5-10) (5-12) μm	(5-10) (5-12) μm
Unione di cellule	solo cellula madre e figlia	unioni cellulari molto serrate
<u>Fisiologia</u>		
Fermentazione del raffinoso	fino al 100%	fino al 33%
Fermentazione del melibiosio	sì	no
Optimum di riproduzione	18°C	25°C
<u>Tecnologia di fermentazione</u>		
Fermentazione principale	6-15°C	16-25°C
Durata	5-12 giorni	3-5 giorni
Raccolta del lievito	sotto	sotto/sopra
Cicli	(5-10)	(5-10)

Principali reazioni biochimiche mediate dal lievito



SVILUPPO DEI LIEVITI



1. Fase lag (latenza)

- non si osserva alcuna crescita
- vengono creati i presupposti per la divisione cellulare
- adattamento e sintesi degli enzimi (in particolare permeasi)

2. Fase log (crescita esponenziale)

- aumento esponenziale del numero di cellule
- potenziale enzimatico ottimale, massima velocità di moltiplicazione
- tempo di generazione minimo (2h)

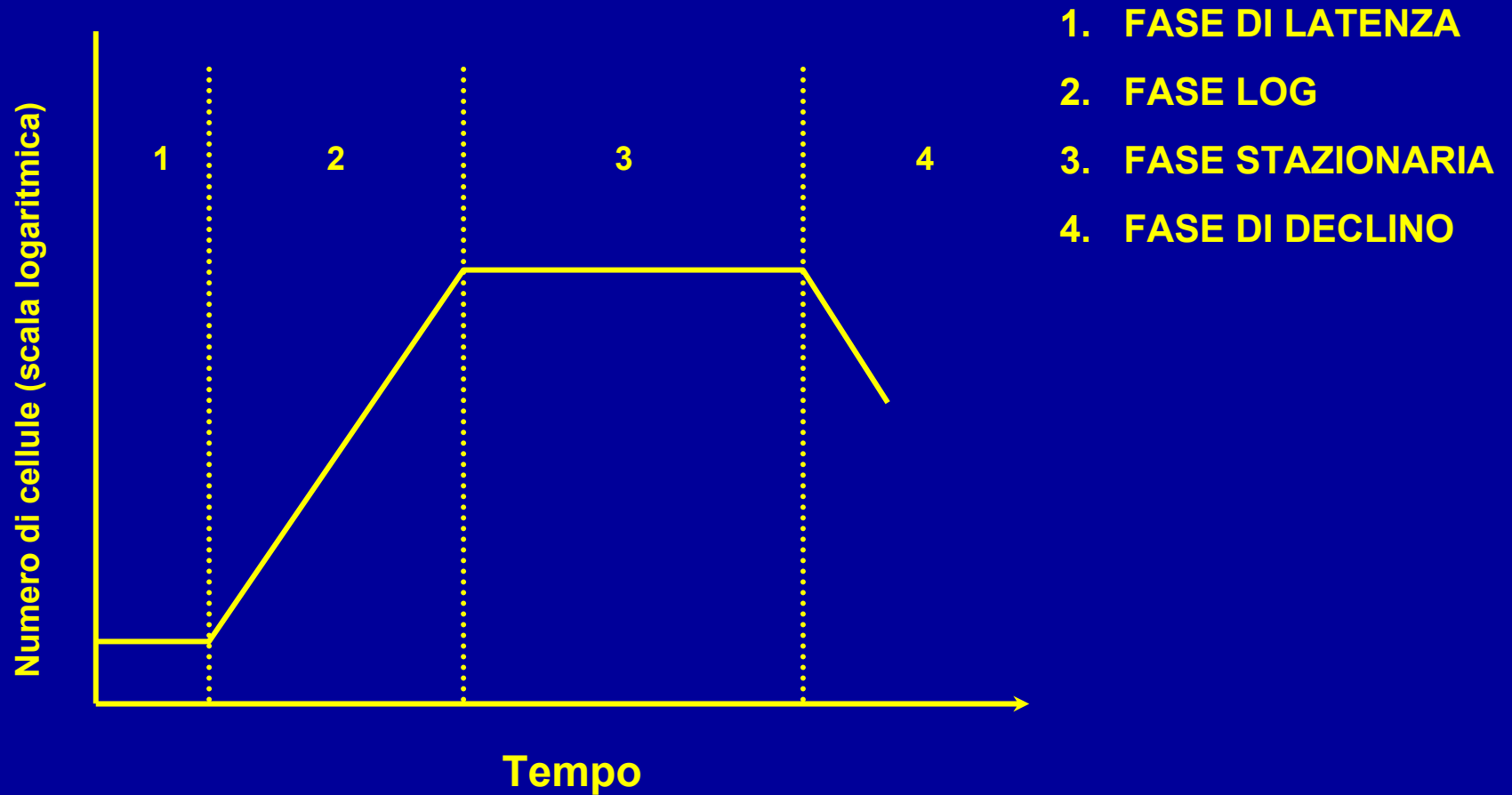
3. Fase stazionaria

- esaurimento delle riserve di nutrienti
- accumulo dei cataboliti
- condizioni sfavorevoli per la moltiplicazione
- equilibrio tra cellule nate e cellule morte

4. Fase di declino

- completo esaurimento dei nutrienti
- accumulo di cataboliti

SVILUPPO DEI LIEVITI IN FERMENTAZIONE



FATTORI CHE INFLUENZANO L'ATTIVITA' DEI LIEVITI NEL CORSO DELLA FERMENTAZIONE

- CARATTERISTICHE DEL CEPPPO DI LIEVITO
- CONCENTRAZIONE DI AZOTO ASSIMILABILE
- CONCENTRAZIONE IONICA (SALI MINERALI)
- TEMPERATURA DI FERMENTAZIONE
- QUANTITA' DI LIEVITO INOCULATO
- VITALITA' E VIGORE FERMENTATIVO DEL LIEVITO
- TOLLERANZA A FATTORI DI STRESS (etanolo, pressione osmotica)
- PESO SPECIFICO DEL MOSTO
- CONCENTRAZIONE DI OSSIGENO DISCIOLTO NEL MOSTO
- CARATTERISTICHE COMPOSITIVE DEL MOSTO (zuccheri)
- pH DEL MOSTO
- PRESENZA DI VITAMINE
- CONCENTRAZIONE DI ANIDRIDE CARBONICA DISCIOLTA
- DIMENSIONE E GEOMETRIA DEL FERMENTATORE

METABOLISMO DEI LIEVITI

METABOLISMO	PRODOTTI DI FERMENTAZIONE
Carboidrati	Alcol etilico Anidride carbonica Glicerolo Acidi grassi Esteri
Lipidi	Esteri Acidi grassi a corta catena
Amminoacidi	Alcoli superiori Anidride solforosa Acido solfidrico
Carboidrati/Amminoacidi	Diacetile Acetoino 2,3-Butandiolo



Prodotti secondari di fermentazione

Composti responsabili dell'aroma della birra non matura

- diacetile, acetaldeide, composti solforati
- influenzano negativamente la qualità della birra
- riduzione attraverso processi biochimici e fisici nel corso della maturazione

Composti aromatici

- alcoli superiori, esteri
- determinanti per l'aroma della birra
- a certe concentrazioni sono importanti per la qualità della birra
- concentrazioni elevate possono compromettere la qualità della birra
- allontanamento per via tecnologica impossibile

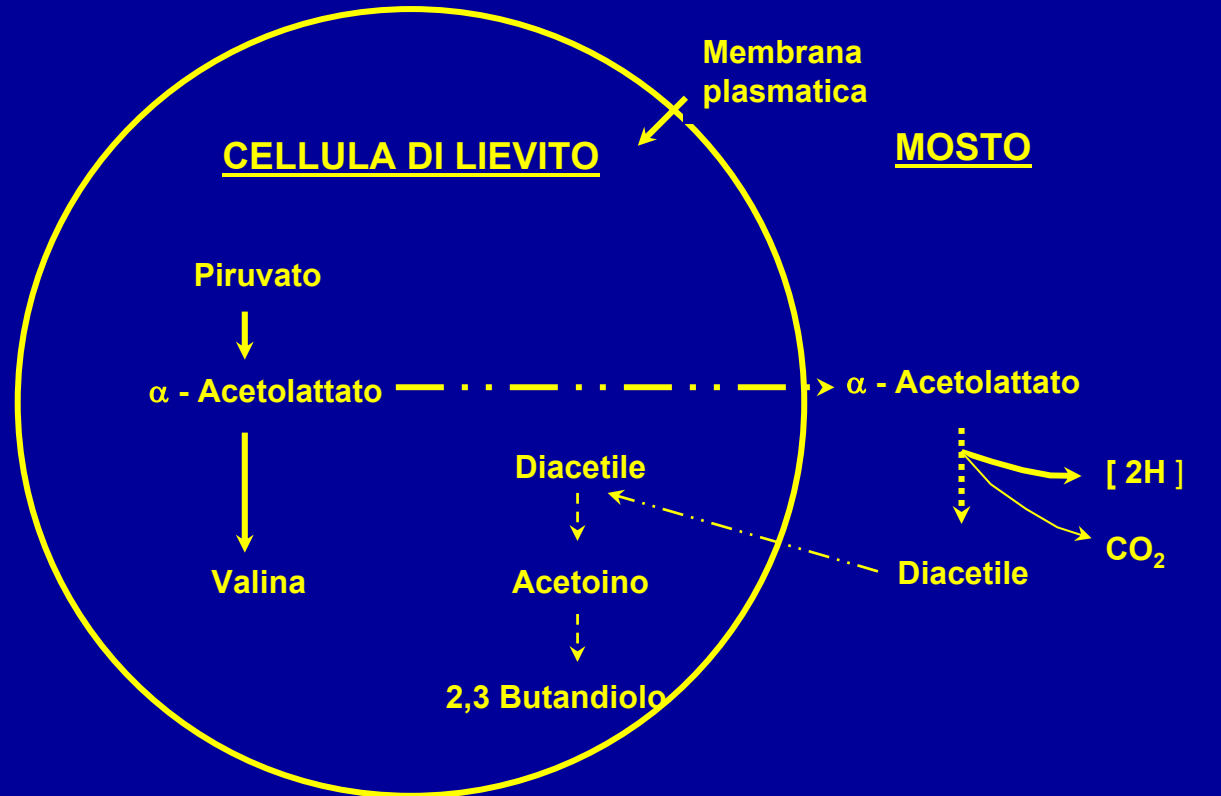
SCOPI DELLA MATURAZIONE



IL RUOLO DEL LIEVITO E' FONDAMENTALE

- **Affinamento del gusto e dell'aroma con eliminazione o riduzione di composti indesiderabili quali H₂S, diacetile, acetaldeide**
- **Saturazione del prodotto con CO₂ in seguito a fermentazione secondaria degli zuccheri residui. La stessa CO₂ consente di eliminare composti dall'odore sgradevole (composti solforati) grazie ad una azione di *stripping* prima di mettere in pressione il serbatoio**
- **Illimpidimento della birra in seguito alla sedimentazione del lievito e precipitazione di altri composti insolubili**
- **Aumento della stabilizzazione della birra in seguito a fenomeni di precipitazione di sostanze colloidali di natura tanno-proteica**

LIEVITO E DIACETILE



- - > Riduzione enzimatica
-> Ossidazione non enzimatica
- . > Diffusione passiva

SINTESI E DEGRADAZIONE DEL DIACETILE



- Ceppo di lievito: caratteristica specifica del ceppo (sintesi dell' alfa-acetolattato)
- Numero di cellule: sintesi tanto maggiore, quanto più alto è l'inoculo
- Composizione del mosto: un contenuto sufficiente di peptidi ed aminoacidi inibisce la sintesi
- Ossigeno: l'aerazione favorisce la sintesi
- Aumento della temperatura: favorisce la sintesi di diacetile

Decarbossilazione ossidativa extracellulare dell' α -acetolattato a diacetile

- diminuzione del pH: accelera la decarbossilazione ossidativa
- aumento della temperatura: accelera la decarbossilazione ossidativa

Riduzione intracellulare del diacetile ad acetoino e 2,3-butandiolo

- ceppo di lievito: caratteristica specifica del ceppo
- aumento della temperatura: favorisce la riduzione
- numero di cellule : riduzione tanto maggiore quanto più elevato è l'inoculo
- aggiunta del "kräusen" favorisce la riduzione del diacetile



INFLUENZA DI CEPPI DI LIEVITO SULLA FORMAZIONE DEL DIACETILE

GIORNI	LIVELLO DI DIACETILE (mg/L)		
	W-206	W-34/70	W-308
1	0,18	0,15	0,18
3	0,25	0,20	0,48
5	0,23	0,18	0,92
7	0,18	0,14	0,75
9	0,14	0,09	0,65

ESTERI



Sintesi degli esteri

condensazione dell'acetyl-CoA (acidi grassi a catena corta) e acidi organici con alcoli

Gli esteri costituiscono i principali composti aromatici della birra

L'aroma va dal fruttato all'amaro

valori di riferimento:

20-40 mg/L per le birre a bassa fermentazione;

40-80 mg/L per le birre a alta fermentazione

(etilacetato: 15-30 mg/L ; isoamilacetato : 0,5-3,0 mg/L)

La sintesi è strettamente legata allo sviluppo dei lieviti

la moltiplicazione dei lieviti (sintesi di acidi grassi) inibisce la formazione degli esteri

La sintesi è favorita da:	La sintesi è inibita da:
grado saccarometrico > 13%	grado saccarometrico < 13%
alta attenuazione	bassa attenuazione
rimescolamenti e travasi	aumento della pressione
alta temperatura di fermentazione	bassa temperatura di fermentazione
minor aerazione del mosto	maggiore aerazione del mosto

ESTERI	Descrittori del flavour	Intervalli di concentrazione (mg/L)	Soglia di percezione (mg/L)
Etil acetato	Solvente, fruttato, dolce	8-50	30
2-Butil acetato	Diluyente per pittura, colla	2	7.5-12
2-Metilpropil acetato	Banana, frutta dolce	0.01-0.25	1.6
2-Metilbutil acetato	Banana, solvente, dolce	0.6-4	1-1.2
3-Metilbutil acetato	Banana, solvente	0.6-6.6	0.6-1.2
2-Feniletile acetato	Rosa, miele, dolce	0.05-2	3.8-4
Etil esanoato	Mela, fruttato, anice, dolce	0.07-0.5	0.17-0.20
Etil ottanoato	Mela, dolce, fruttato	0.08-1.5	0.9
Etil decanoato	Caprilico, fruttato, mela	0.01-1.0	0.57-1.5
Etil dodecanoato	Caprilico	0.015-0.6	2-3.5
Etil tetradecanoato	Caprilico, olio vegetale	0.4	2.5
2-Metilbutil 2-metilpropanoato	Fruttato	0.07	0.05-0.6
3-Metilbutil esanoato	Frutta tropicale, fruttato, profumato	0.001-0.21	0.9-3
3-Metilbutil ottanoato	Fruttato, piccante, arancia, pera	0.008-0.42	2.0
Geranil 2-metil-propanoato	Floreale	0.025-0.15	0.45





CONCENTRAZIONE DI ESTERI IN FUNZIONE DEL CEPPO DI LIEVITO

CEPPO DI LIEVITO	ETIL ACETATO (mg/L) (soglia di percezione = 35)	AMIL ACETATO (mg/L) (soglia di percezione = 2)
Ballantine/chico	26	2
Whitbread	36	8
W-206	30	2
W-34/70	20	1



ESTERI NELLA BIRRA: INFLUENZA DELLA TEMPERATURA E DEL CEPPO DI LIEVITO

TEMPERATURE (°C)		ETIL ACETATO (mg/L)	AMIL ACETATO (mg/L)
Ceppo A	16	16	0.5
	20	26	2.0
	24	53	4.0
Ceppo B	10	30	2.0
	20	92	8.0



OSSIGENAZIONE DEL MOSTO E SINTESI DI ESTERI

MOSTO O₂ (mg/L)	ETIL ACETATO (mg/L)	AMIL ACETATO (mg/L)
8-10	15	0.5
6-8	24	1.0
4-6	30	2.0
2-4	45	3.0
0-2	62	4.0



ALCOLI SUPERIORI

Sintesi degli alcoli superiori

- deaminazione ossidativa degli aminoacidi seguita dalla reazione di Ehrlich
- reazione di Ehrlich dei chetoacidi provenienti dal metabolismo dei carboidrati
- (60-80 mg/L nelle lager, 80-100 mg/L nelle ales)

- l'80% degli alcoli superiori si formano durante la fermentazione principale

- limitata o scarsa influenza della maturazione

- concentrazioni troppo elevate (> 100 mg/L) possono avere un effetto negativo sulla qualità della birra

La sintesi è favorita da:	La sintesi è inibita da:
alta temperatura fermentazione	bassa temperatura fermentazione
bassa concentrazione di aminoacidi	alta concentrazione di aminoacidi
rimescolamenti e travasi	aumento della pressione
ossigenazione spinta	aumento dei lieviti all'inoculo
grado saccarometrico > 13%	grado saccarometrico < 13%



ALCOLI SUPERIORI E CEPPO DI LIEVITO

CEPPO DI LIEVITO	TIPO DI BIRRA	ALCOLI ALIFATICI (mg/L) (soglia di percezione= 40-130)	ALCOLI FENOLICI (mg/L) (soglia di percezione = 10-80)
Ballantine/chico	Ale	70	30
Whitbread	Ale	138	60
W-206	Lager	25	15
W-34/70	Lager	35	18
Lievito selvaggio	Ale	265	310



ACETALDEIDE

Sintesi dell'acetaldeide

intermedio nella fermentazione alcolica (decarbossilazione del piruvato)

Formazione nei primi tre giorni di fermentazione - responsabile del cosiddetto "aroma erbaceo" della birra non matura

concentrazione nella birra non matura: 20-40 mg/L

concentrazione nella birra finita: 3-5 mg/L

La sintesi è favorita da:	La degradazione è favorita da:
fermentazione spinta	maturazione spinta
aumento della temperatura di fermentazione	maturazione a temperature più elevate
bassa ossigenazione del mosto	elevata ossigenazione del mosto
aumento dei lieviti all'inoculo	maggior quantità di lievito in maturazione

ALDEIDI E CHETONI	Descrittori del flavour	Intervalli di concentrazione (mg/L)	Soglia di percezione (mg/L)
Acetaldeide	Foglie verdi, buccia di mela, fruttato	1.2-25	8-10
Butanale	Melone, malto verde, vernice	0.03-0.2	1
2-Metilpropanale	Banana, melone, vernice, malto verde	0.02-0.5	1
Pentanale	Erbaceo, banana,	0.01-0.3	0.5
2-Metilbutanale	Erba verde, fruttato, aspro	0.01-0.3	1.25
3-Metilbutanale	Banana acerba, mela, ciliegia, formaggio	0.01-0.3	0.6
Esanale	Vinoso	0.003-0.07	0.35
Nonanale	Cartone, ossidato	0.001-0.014	0.018
(E)-2-Nonenale	Carta, cartone, ossidato, stantio	<0.002	0.00011
(E,E)-2,4-Nonadienale	Carta, cartone	0.00106	0.0005
(E,Z)-2,6-Nonadienale	Cetriolo, foglie verdi	0.00074	0.00005
(E,E)-2,4-Decadienale	Oleoso, fritto	0.00068	0.0003
Acetoino	Fruttato, legnoso	1-10	17
Diacetile	Caramella mou, burro, dolciastro	0.01-0.4	0.1-0.15
2,3-Pentandione	Diacetile, fruttato, caramella mou, burro, dolciastro	0.01-0.15	0.9
2-Nonanone	Vernice	0.03	0.20
β -Damascenone	Ribes nero, lampone, mentolo	0.001-0.03	0.15
β -Ionone	Lampone, legno di cedro, violetta	0.0001-0.0003	0.001
Umuladienone	Piccante, erbaceo	0.05	0.1





COMPOSTI SOLFORATI

I composti solforati appartengono ai composti responsabili dell'aroma della birra non matura e le impartiscono un gusto sgradevole

Formazione dell'acido solfidrico

- si forma nel corso della fermentazione a partire da aminoacidi solforati
- la mancanza di nutrienti può favorire la formazione dell' H_2S
- "stripping" da parte della CO_2 durante la fermentazione e la maturazione

Formazione dei mercaptani

tioalcoli: il gruppo -OH è sostituito dal gruppo -SH

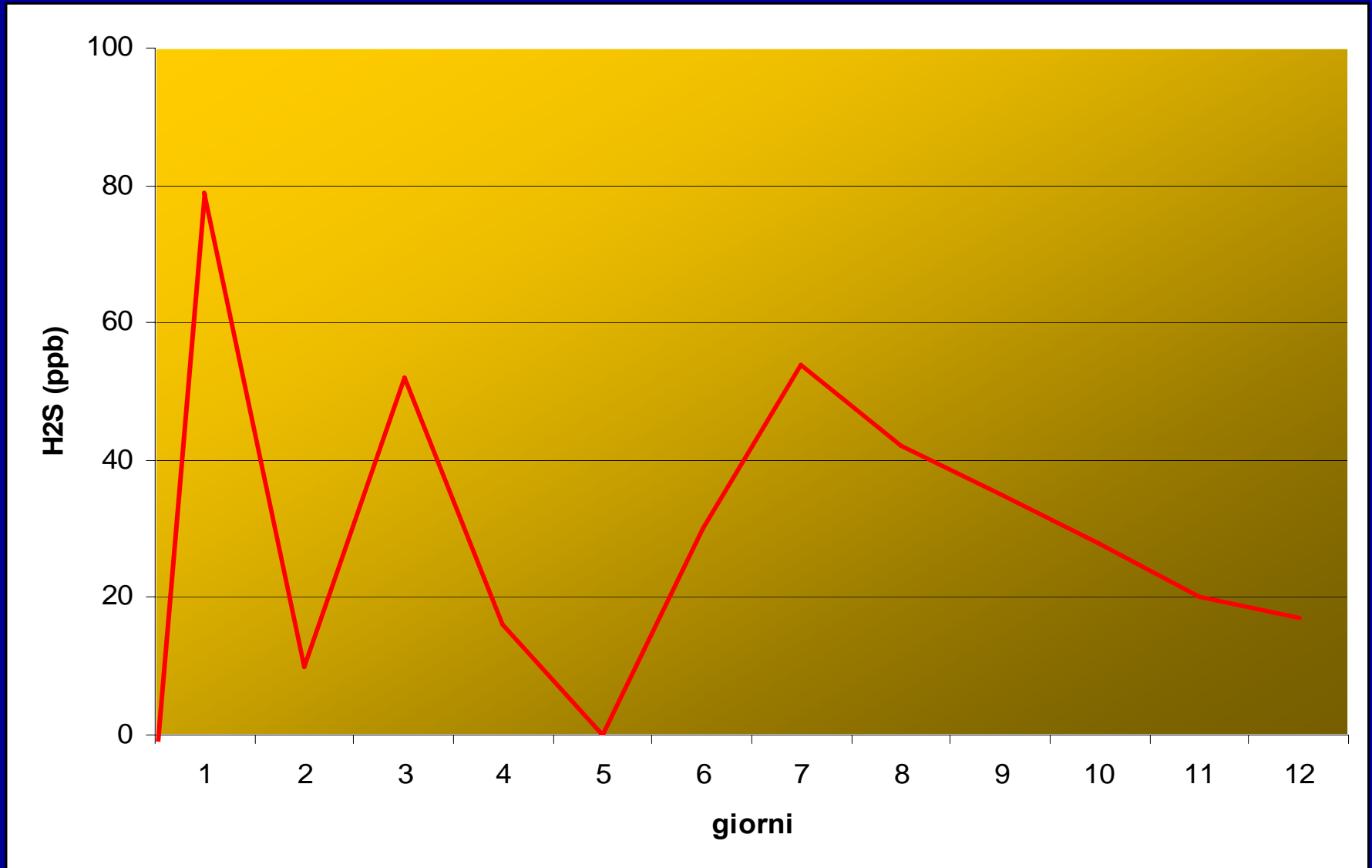
alterano l'aroma della birra (responsabili del cosiddetto "gusto di luce")

DMS

si può formare dall'ossidazione del DMSO

il contenuto di DMS non varia comunque in modo sensibile per azione del lievito

ANDAMENTO DELL'H₂S (CEPPO W34/70; 8°C)





COMPOSTI SOLFORATI NELLA BIRRA

	SOGLIA DI PERCEZIONE (ppb)	PORTER BRITANNICA (ppb)	LAGER TEDESCA (ppb)	BIRRA CONTAMINATA (ppb)
ETIL MERCAPTANO	2	0.75	0.39	nd
DIMETIL SOLFURO	30	nd	40.0	92
DIMETIL DISOLFURO	7	0.52	nd	4

COMPOSTI SOLFORATI	Descrittori del flavour	Intervalli di concentrazione (mg/L)	Soglia di percezione (mg/L)
Acido solfidrico	Zolfo, Uova marce	<0.02	0.005
Anidride solforosa	Zolfo, fiammiferi bruciati	0.2-2.3	25
Metanetiolo	Uova, cavolo	<0.012	0.0002-0.0025
Etanetiolo	Putrefazione (o cipolla, aglio, uova)	<0.02	0.0005-0.01
Dimetilsolfuro	Mais cotto, vegetale cotto	0.01-0.2	0.03
Dimetiltrisolfuro	Cipolla fresca		0.001
Metil-ditiometano	Mais cotto, cipolla, gomma	0.001-0.003	0.0075
3-Metil-2-Butene-1-Tiolo	Puzzola	0.000004-0.001	<0.03
3-metiltio-propanale	Pomodoro cotto	< 0.05	0.25
3-metiltio-1-propanolo	Pomodoro crudo	0.05-1.3	2.0

BASI AZOTATE	Descrittori del flavour	Intervalli di concentrazione (mg/L)	Soglia di percezione (mg/L)
Etilammina		0.1-0.3	>1.6
Dimetilammina		0.07-0.78	>4.5
Trimetilammina	Pesce	0.03-0.06	>0.2
2,3-Dimetilpirazina	Dolce, ossidato, pane, malto, polvere	0.015	0.02
2,5-Dimetilpirazina	Ribes, pane, dolce	<0.01-0.11	0.05
2,6-Dimetilpirazina	Ossidato, carta	0.035	0.1





pH DEL MOSTO

- **Diminuzione del pH da 5,4-5,2 fino a 4,5-4,3**
- **Sintesi di acidi organici per deaminazione degli aminoacidi**
- **Assorbimento da parte del lievito di aminoacidi basici**
- **Assorbimento da parte del lievito di fosfati primari e di ioni ammonio**
- **Assorbimento da parte del lievito di K^+ e rilascio di ioni idrogeno**
- **Aumento del potenziale redox del mosto**



ACIDI ORGANICI

Gli acidi organici hanno i seguenti effetti sulla birra:

- **grado di freschezza**
- **diminuzione del pH durante la fermentazione**
- **coinvolti nella formazione degli esteri**
- **influenza sull'aroma a seconda dell'acido formato**

Formazione degli acidi organici

- **per deaminazione degli aminoacidi**
- **il gruppo $-NH_2$ viene utilizzato per le proteine cellulari**
- **gli acidi che si formano vengono rilasciati nel mezzo**



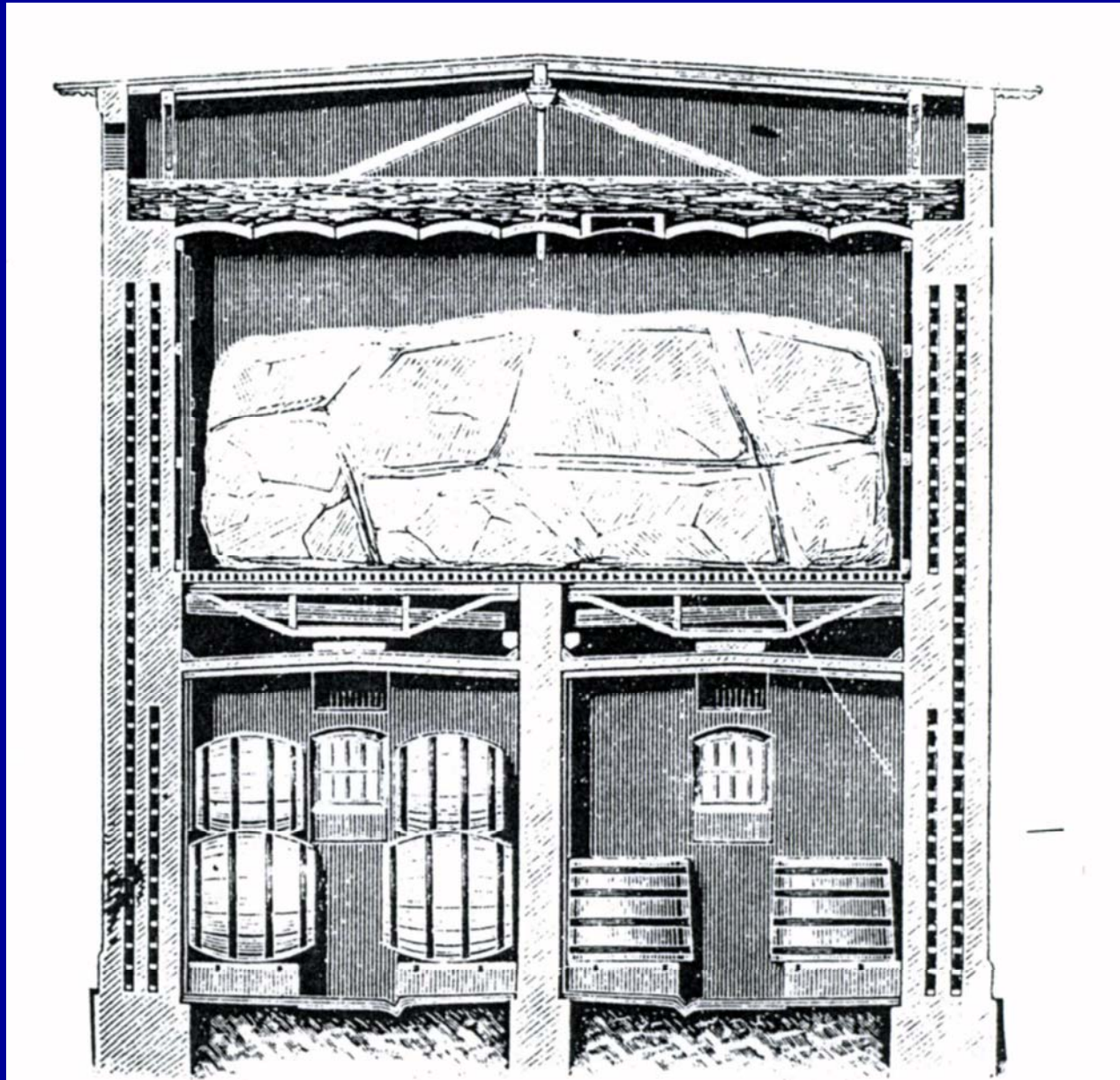
ACIDI	Descrittori del flavour	Intervalli di concentrazione (mg/L)	Soglia di percezione (mg/L)
Acido carbonico	Frizzante	3000-5500	1000
Acido acetico	Acido, aceto	30-280	175
Acido lattico	Acido	30-530	400
Acido piruvico	Acido	15-150	50-400
Acido 3-Metilbutanoico	Formaggio, luppolo vecchio, sudore	0.1-3.5	1.5
Acido esanoico	Caprilico, olio vegetale, sudore	1-8	5-8
Acido ottanoico	Caprilico	2-15	6-15
Acido decanoico	Sego, caprilico	0.1-4	2-10
Acido dodecanoico	Sego, caprilico, sapone	0.05-2.5	0.5-6
Acido 2-Fenilacetico	Miele, dolce	0.9-2.5	2.5
Acido 4-idrossi-3-metossibenzoico	Vaniglia, dolce	1-10	80



TECNICHE DI PRODUZIONE DELLE BIRRE LAGER

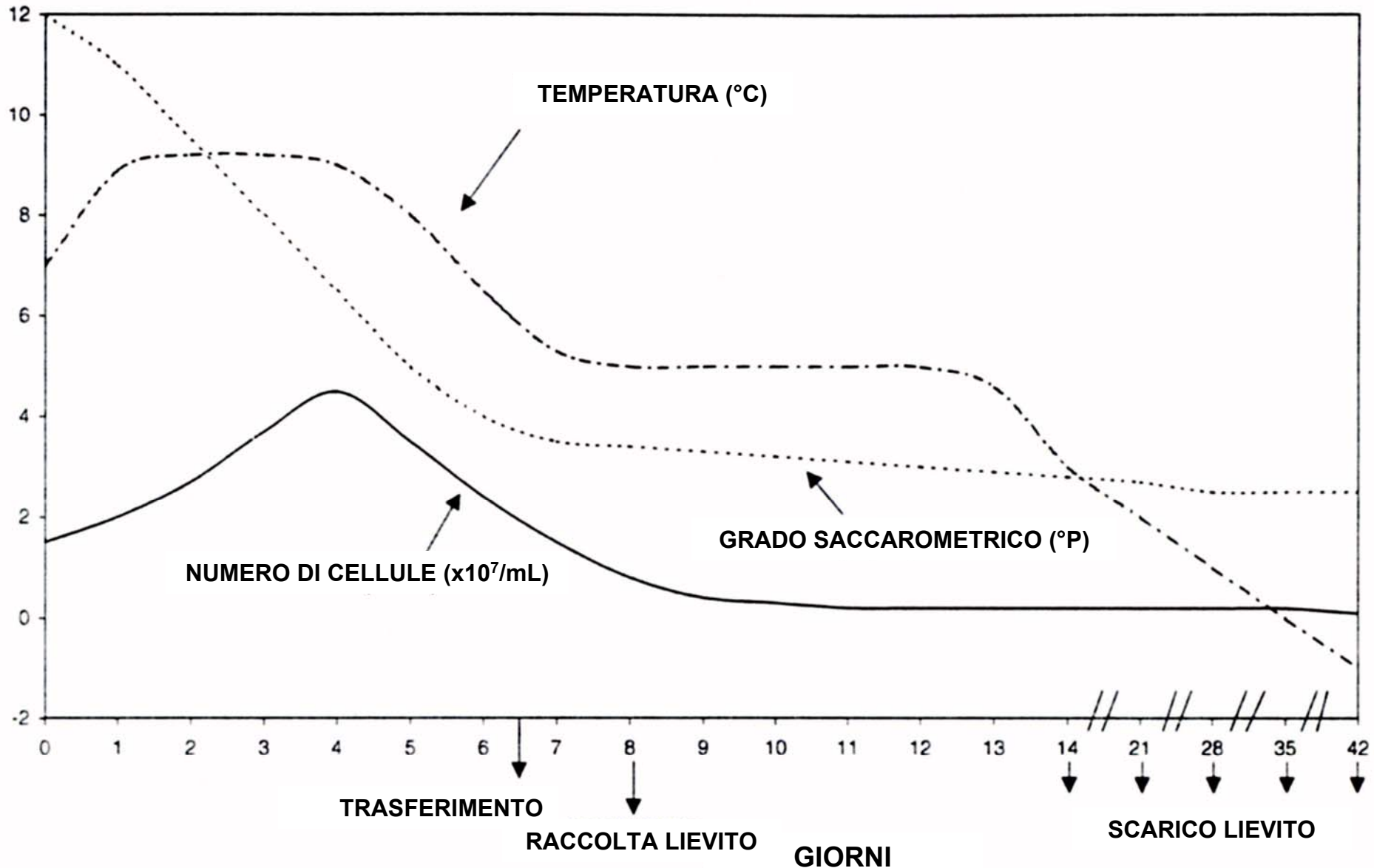
- Le tecniche adottate presentano diverse varianti ma possono essere tutte ricondotte a due fondamentali categorie:
 - SISTEMA TRADIZIONALE (a due tanks)
 - SISTEMA MODERNO (Unitank)

ANTICO SISTEMA DI “LAGERING”



FERMENTAZIONE E LAGERING TRADIZIONALI

(Narziss, 1989; Ockert K., 2006)



VASCHE APERTE DI FERMENTAZIONE





SERBATOI DI MATURAZIONE

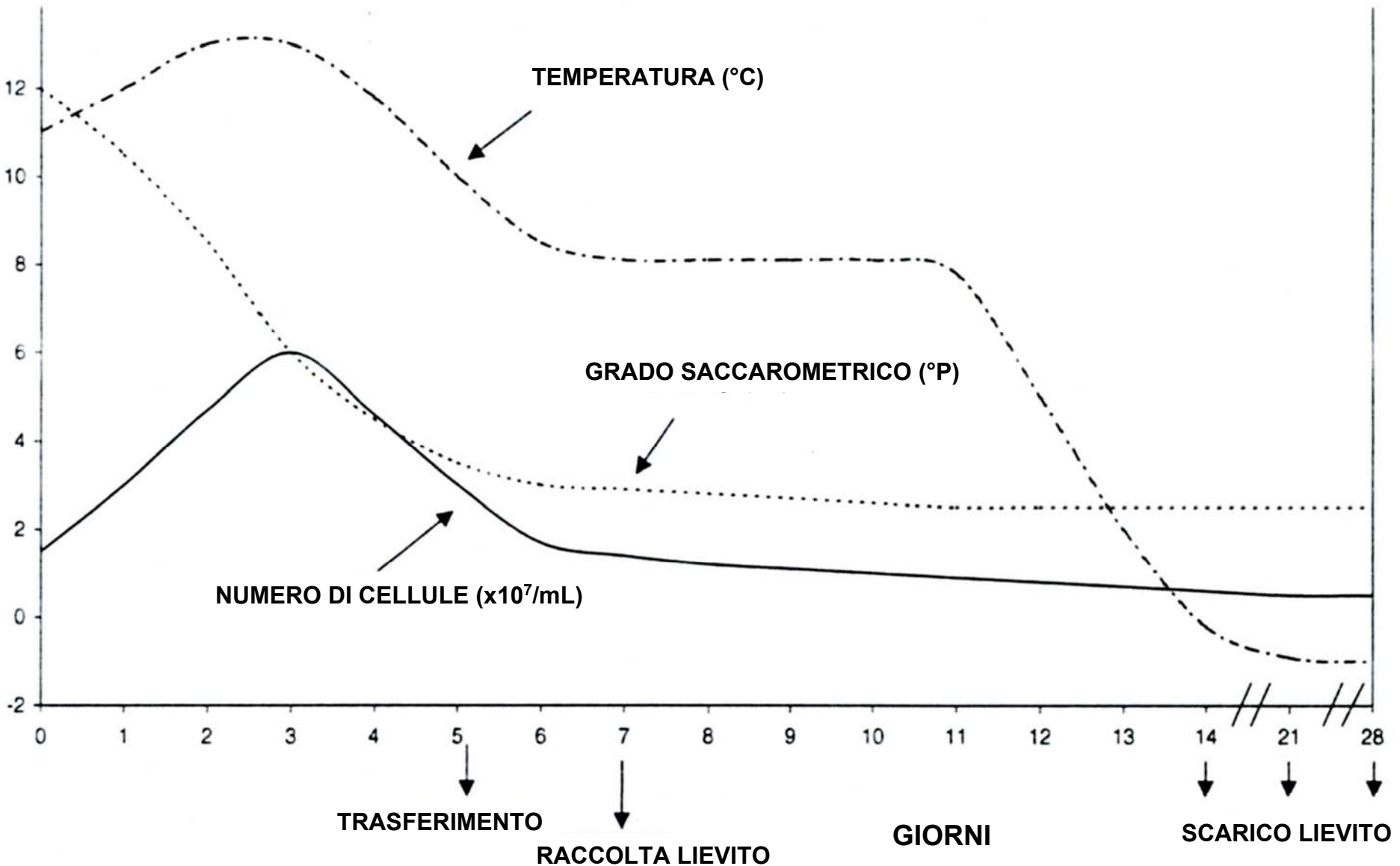




SERBATOI DI MATURAZIONE

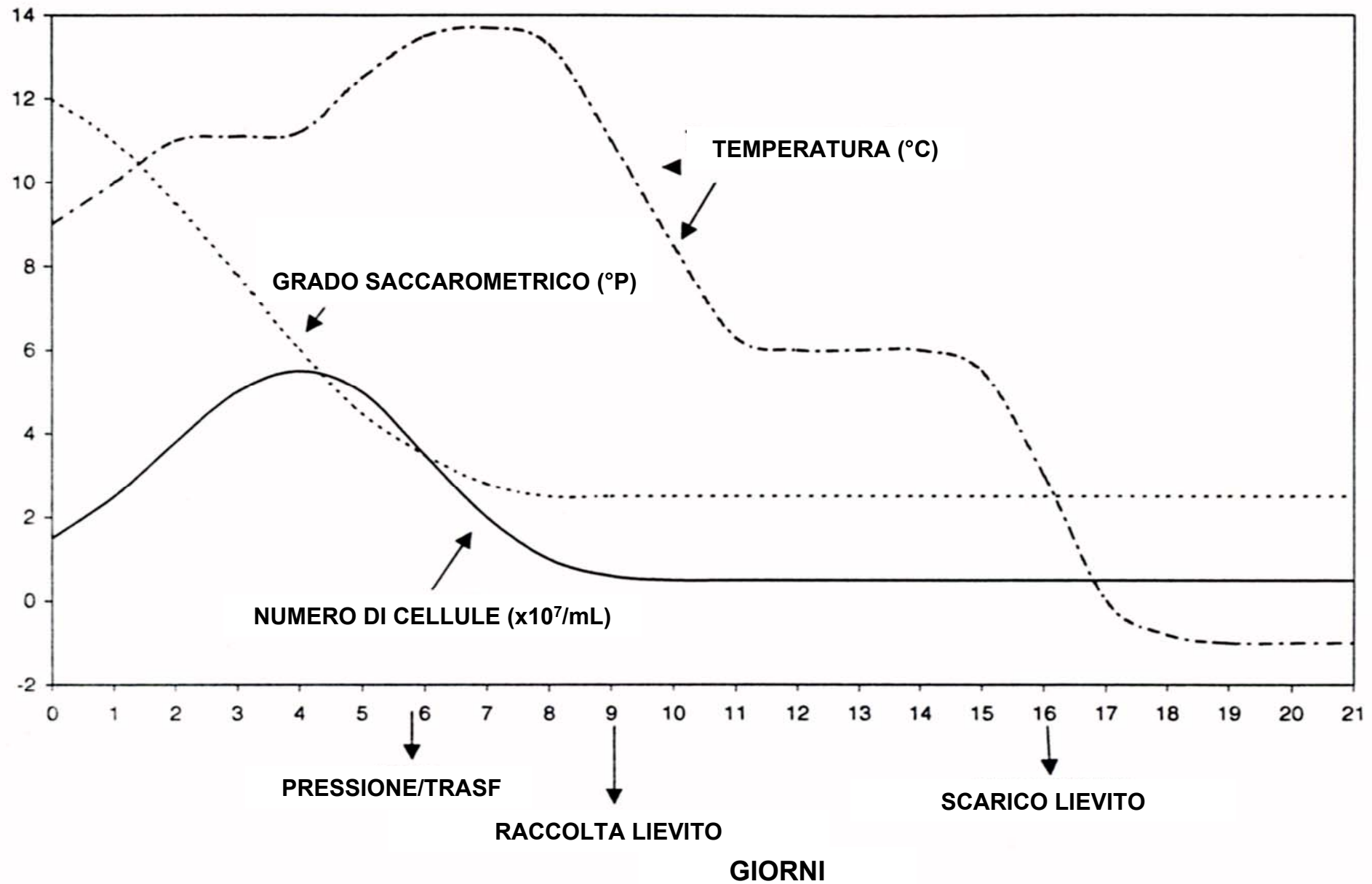
FERMENTAZIONE E LAGERING TRADIZIONALI

(Temperatura iniziale elevata) (Narziss, 1989; Ockert K., 2006)



FERMENTAZIONE E LAGERING MODERNI

(Narziss, 1989; Ockert K., 2006)





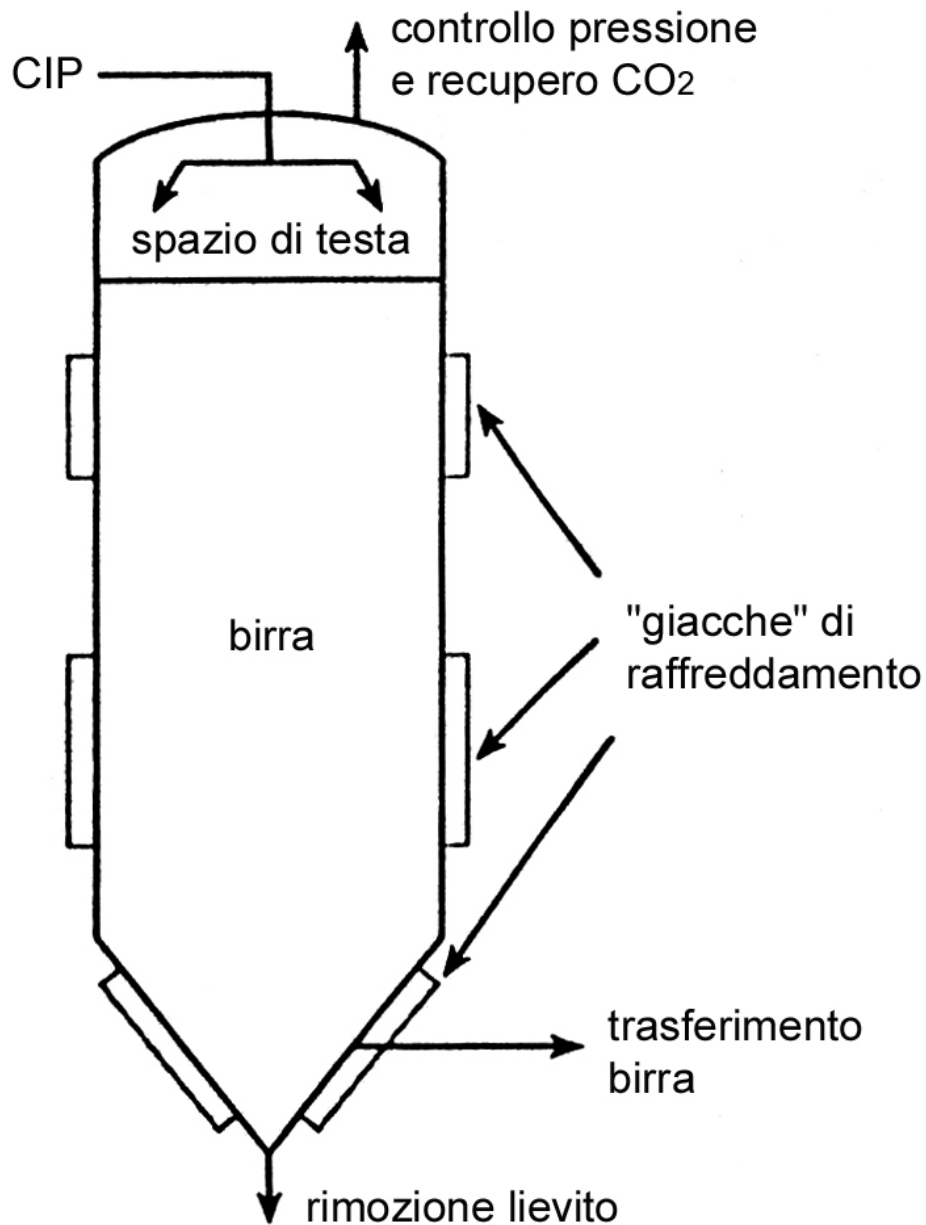
Il “Kräusening”

- Il kräusen è una birra giovane, in fermentazione da alcuni giorni (attenuata il 20-30%) con circa $30-50 \times 10^6$ cellule di lievito/mL;
- Il kräusening è un metodo di fermentazione secondaria che prevede l'aggiunta di circa il 10-12% di kräusen (5°C) ad una birra quando la fermentazione primaria è ultimata al momento del trasferimento nel serbatoio di maturazione;
- Il serbatoio di maturazione viene messo in pressione dopo 1-3 giorni e il lievito apportato dal kräusen, in pieno vigore metabolico, consente la saturazione e maturazione della birra;

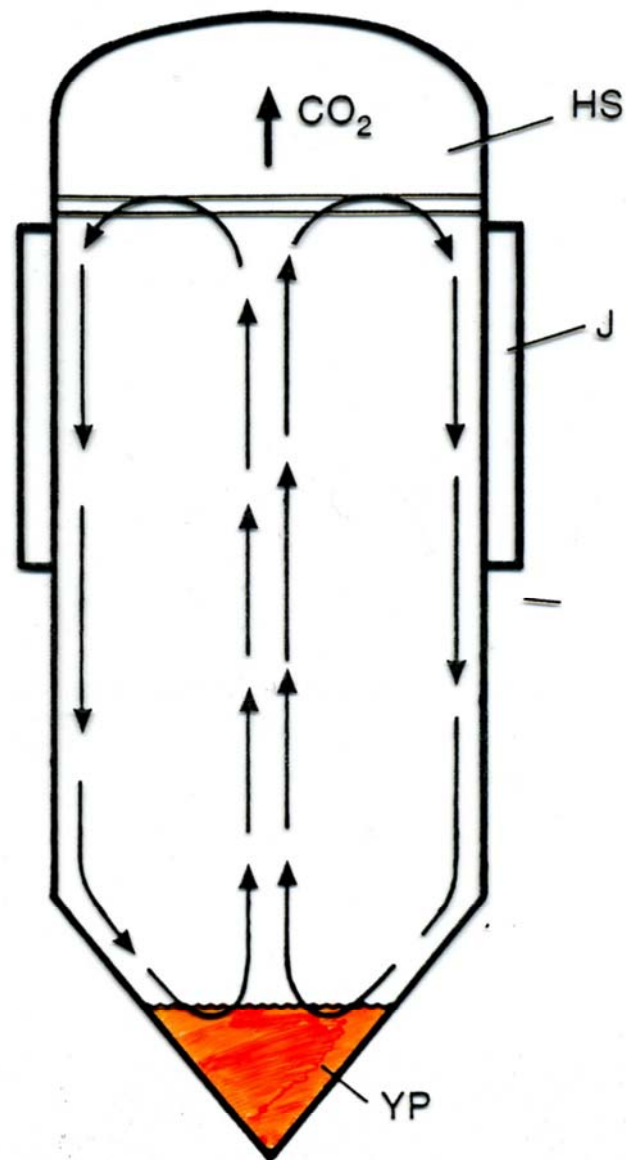


Il “Kräusening”

- L'intensa attività metabolica della cellula porta ad un iniziale aumento di diacetile e acetaldeide, che vengono poi rapidamente ridotti;
- Al momento dell'aggiunta la temperatura del kräusen e della birra deve essere uguale per evitare uno “shock” termico alle cellule (arresto del metabolismo);
- La tecnica del kräusening ha effetti positivi sul flavour, sul gusto e sull'aroma finale della birra



FERMENTATORE CILINDRO CONICO (CCV)



Diagrammatic representation of wort flow during fermentation in a cylindroconical fermenter. Arrows depict the direction of flow. Only a single cooling jacket (J) is shown. Cooling from this position only gives the maximum circulation (see the text for details). HS, head space; YP, yeast plug.



FERMENTATORI CILINDRO CONICI



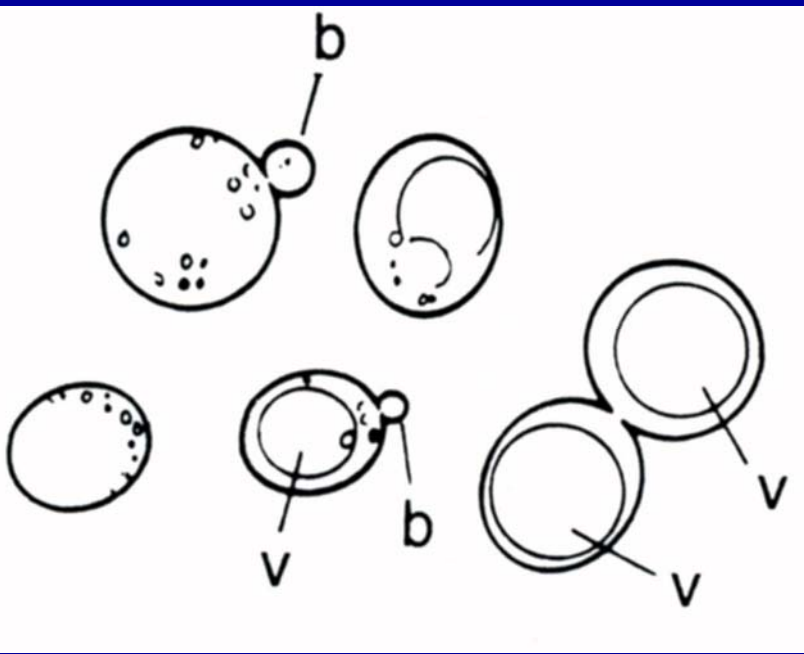
SERBATOI STOCCAGGIO E MESCITA



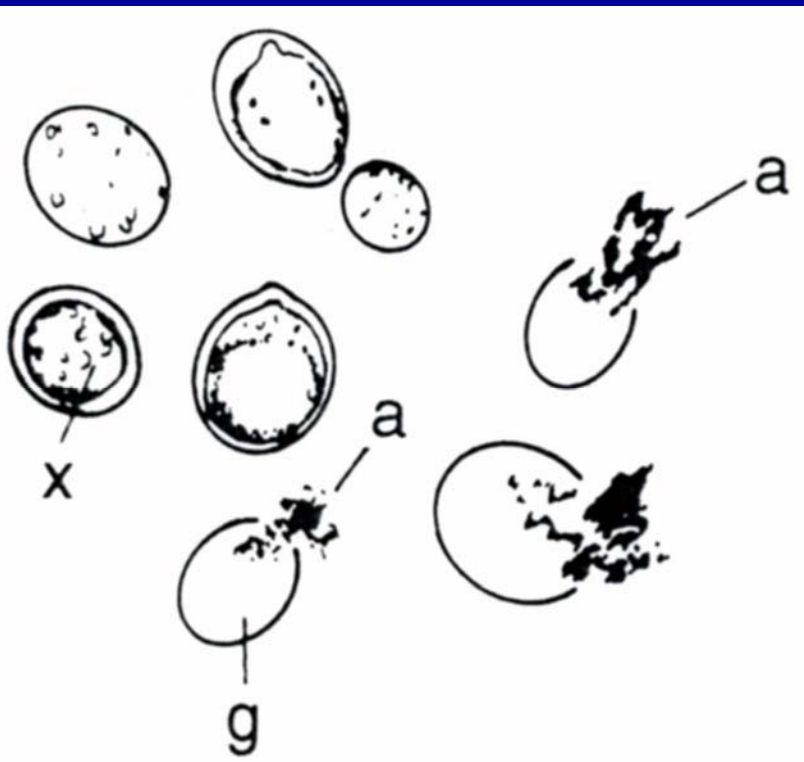
VANTAGGI DEI FERMENTATORI CILINDRO-CONICI

- Riduzione delle perdite di prodotto
- Semplificazione della raccolta e separazione del lievito
- Miglior controllo della fermentazione
- Utilizzazione stesso tank per fermentazione e maturazione
- Diminuzione delle contaminazioni
- Diminuzione dei volumi d'ingombro
- Riduzione dei costi di investimento e funzionamento





b) Cellula in fase di moltiplicazione (gemmazione)
v) Vacuoli cellulari

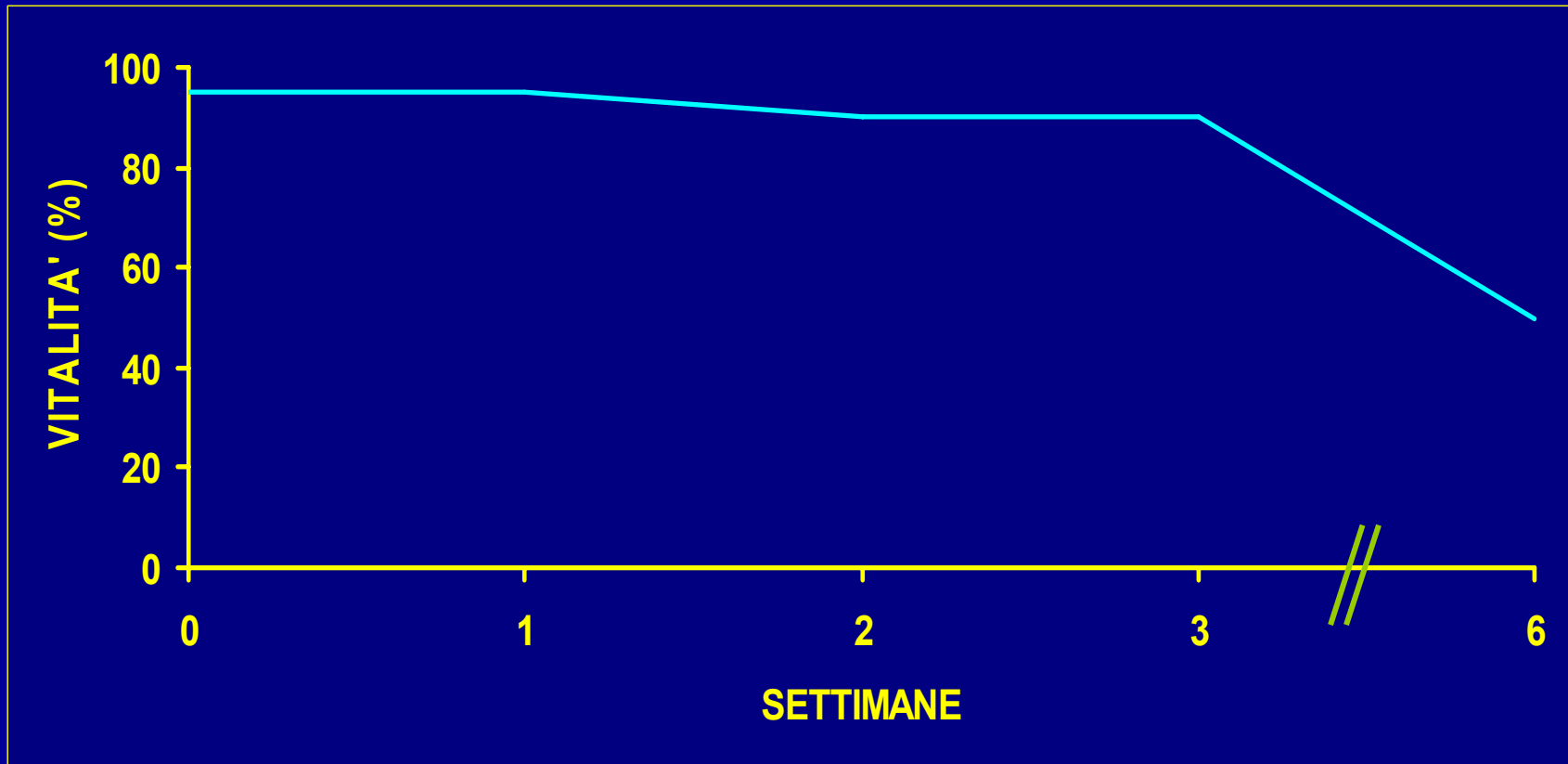


a) Lieviti in autolisi (rilascio di materiale cellulare)
g) Parete cellulare della cellula autolisata
x) Lievito in fase di declino con strutture granulari



ANALISI	FINE FERMENTAZIONE PRIMARIA		DOPO 6 SETTIMANE DI MATURAZIONE	
	META' SERBATOIO	FONDO SERBATOIO	META' SERBATOIO	FONDO SERBATOIO
pH (20°C)	4,0	4,1	4,1	5,0
FAN (mg/L)	58	60	80	700
INVERTASI (mM glucosio/h/mL)	70	75	100	1000

ANDAMENTO DELLA VITALITA' DEL LIEVITO DURANTE LA MATURAZIONE





"Nunc est bibendum"

CEREVISIA

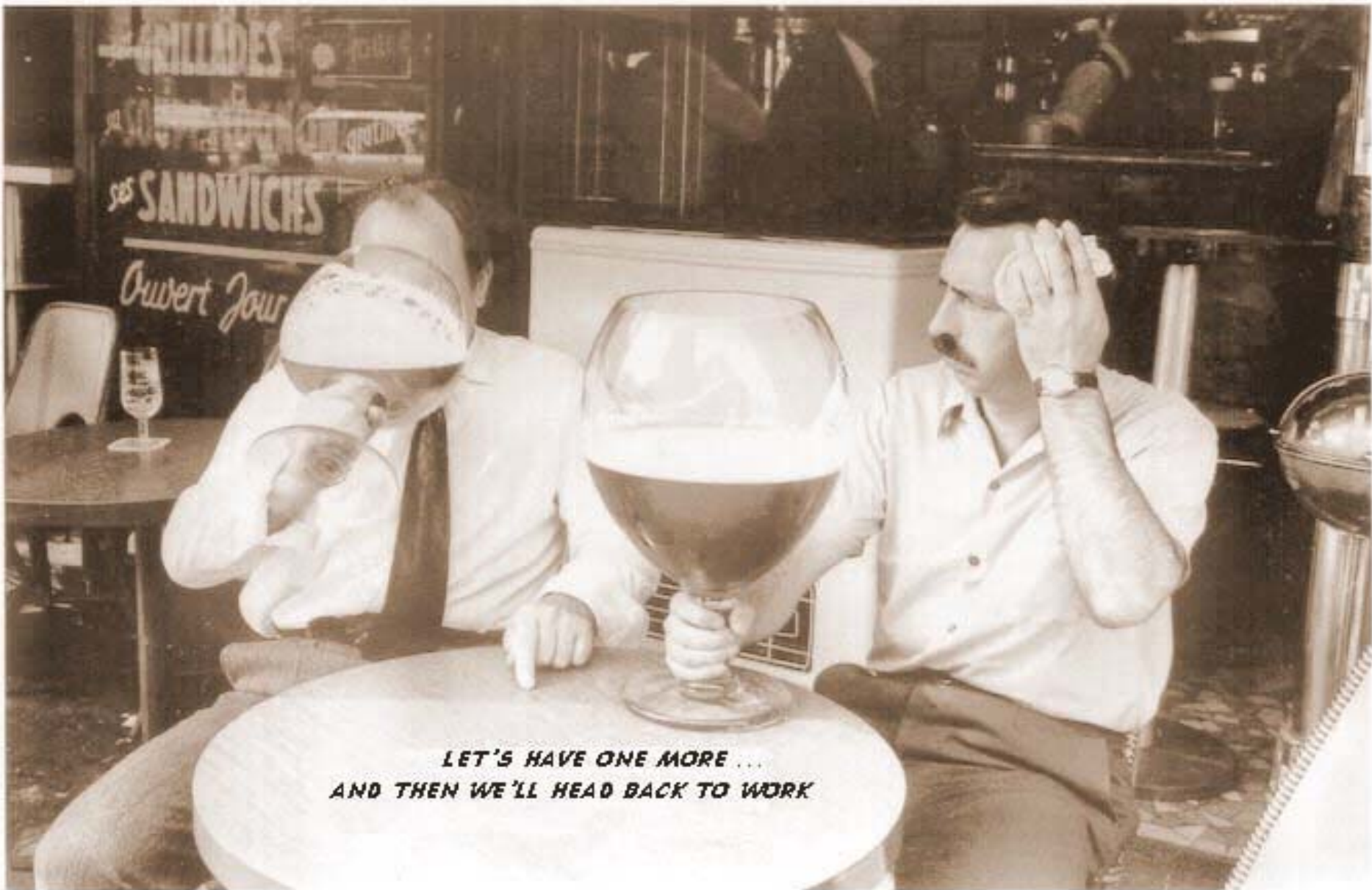
la birra dell'Università

Azienda Agraria Universitaria "A. Servadei"

CAMPIONE GRATUITO - VIETATA LA VENDITA

Birra prodotta dall'Università di Udine a fini non commerciali

Grazie per l'attenzione.....



**LET'S HAVE ONE MORE ...
AND THEN WE'LL HEAD BACK TO WORK**

