

La importancia de la correcta recuperación de la levadura

Métodos para la determinación de la cantidad de las células vivas (Viability) y de su vitalidad (Vitality)

Simone Bellasai Químico - Enólogo y experto en análisis de Alimentos y Bebidas de CDR – Lisa Mearelli Investigadora del Laboratorio Químico de CDR “Francesco Bonicolini”

Es sabido que en el proceso productivo de la cerveza, durante la fase de fermentación se requiere la acción de las levaduras para transformar los azúcares y los aminoácidos del mosto en alcohol.

Para lograr una óptima fermentación es necesario agregar la levadura dado que ésta, naturalmente presente en las materias primas, se desnaturaliza completamente en la fase de maceración.

Por qué reutilizar la levadura

La levadura es una de las materias primas que el fabricante de cerveza debe comprar sosteniendo costos que aumentan de manera inversamente proporcional a la cantidad de cerveza que produce. Por lo tanto, y en particular en la producción de cerveza artesanal, la compra de la levadura puede incidir notablemente en los costos de producción.

De modo que, para reducir los costos, algunos fabricantes de cerveza reutilizan la levadura ya utilizada en producciones anteriores.

Por otro lado, el uso de la levadura puede tener como objetivo crear tipos de cerveza mejores y más interesantes.

La levadura reutilizada, reproduciéndose varias veces, evoluciona y puede dar origen a una población de células de levadura «diferentes» de aquellas empleadas en la inoculación inicial, llevando a un significativo cambio de las calidades organolépticas de la cerveza y alcanzando excelentes resultados.

Cómo se obtiene la levadura para reutilizar

Para obtener la levadura destinada a reutilizar es necesario recuperar los residuos de la fermentación que se depositan en el fondo de la

tina (*slurry*), estos residuos se componen de levadura, proteínas coaguladas, restos de lúpulo e impurezas de las cuales el mosto de cerveza se ha liberado al fermentar.

Para liberar de modo eficaz la levadura de todas las impurezas, una vez que se separa el *slurry* del mosto de cerveza, se emplean dos procedimientos: el *rinsing* (*aclarado*) y el *washing*



(lavado).

En el *rinsing* las células de levadura se liberan de los restos de lúpulo, de las proteínas coaguladas y de los restos de impurezas mediante diluciones del residuo con agua, aprovechando que cada componente del *slurry* tiene un peso diferente.

En el *washing* se emplean compuestos ácidos u otros compuestos químicos similares para reducir el número de bacterias lácticas activas, que en general están presentes en una muestra de levadura recuperada, pero que son altamente nocivas para un mosto de cerveza que aún no ha comenzado a fermentar. El procedimiento *acid washing* (*lavado ácido*) provoca diferentes efectos en las distintas cepas de levadura y es posible que reduzca su rendimiento.

Una levadura lista inmediatamente para su uso

El proceso de recuperación saneamiento y reutilización de la levadura, además de los

aspectos positivos antes mencionados de economía y mejoramiento de la calidad de la cerveza producida, ofrece ventajas sobre el estado de las levaduras una vez recuperadas. En efecto, mientras las levaduras comerciales, por motivos de conservación se desecan y se deben rehidratar y luego esperar algunas horas para recomenzar su actividad metabólica, aquellas que se reciclan de cocciones anteriores ya están hidratadas y, sobre todo, ya están activas y listas para retomar su estado metabólico apenas entran en contacto con el sustrato idóneo.

Cuidado con la eficiencia de las células recuperadas

Al utilizar las levaduras es necesario tener especial cuidado con la eficiencia de las células recuperadas para establecer cuánto sedimento es necesario para obtener la fermentación apta para el estilo de cerveza que se desea producir.

En efecto, en este sedimento no sólo hay levaduras vivas listas para usar sino además levaduras muertas o moribundas que ya no son utilizables y que componen el material de descarte. Por otro lado, no es posible de antemano establecer en qué relación se encuentran los dos tipos de células de levadura.

El recuento de células vivas o viabilidad

Este problema se puede resolver empleando la determinación de la *viabilidad* que ofrece una indicación de cuántas células vivas hay en el sedimento de levadura que se desea reutilizar.

Para una correcta fermentación es necesario que el porcentaje de viabilidad no se encuentre por debajo del 90%, si bien algunos productores de cerveza emplean en cualquier caso las muestras que no alcanzan este nivel, obviando la falta de células vitales con el agregado de mayor cantidad de levadura recuperada.

Este comportamiento puede ser resolutivo pero puede ocasionar problemas durante la fermentación; en efecto, la salud general de las células de levadura inoculadas puede ser tan variable que no lleven adelante la fermentación generando en la cerveza aromas desagradables y

características indeseadas, como una mayor acidez o un sabor inesperado.

Esto se debe a que, aumentando la cantidad de levadura reutilizada agregada al mosto, podrían agregarse también células muertas o moribundas (dado que no se pueden separar de las vivas) que alterarían negativamente las características de la cerveza.

Por otro lado, el aumento del porcentaje de células muertas con respecto a aquellas vivas puede llevar a un aumento del tiempo necesario para realizar la fermentación, exponiendo el mosto de cerveza a una mayor cantidad de agentes contaminantes.

La vitalidad de la levadura o Vitality

Para resolver estos problemas es necesario introducir en la evaluación de la levadura recuperada, la determinación del parámetro *VITALITY* o vitalidad de la levadura.

El análisis de la *vitality* es útil para reconocer las condiciones de salud de las células de levadura, es decir, determinar si son capaces de nutrirse y reproducirse para generar la fermentación alcohólica. De forma resumida, la *vitality* es un parámetro que mide la actividad metabólica de la levadura: si es sana, fuerte y está lista para la fermentación, entonces se puede decir que la muestra de levadura tiene una alta *vitality*. Este parámetro es muy importante porque está relacionado con el rendimiento de la fermentación.

Una muestra de levadura recuperada en estado óptimo de salud tiene niveles de *vitality* comprendidos entre 2 y 2,7.

Los métodos actualmente reconocidos y utilizados para probar la *viability* y la *vitality* se basan en tres principios generales: la pérdida de la capacidad de las células de levadura de replicarse, la pérdida de la actividad metabólica y el deterioro de las células.

El método actualmente empleado para medir la *viability* se basa en colorantes vitales como el azul de metileno: se evalúa el buen estado de las paredes celulares de las levaduras midiendo su

capacidad de ser impermeables a los colorantes. En el siguiente control al microscopio óptico las células con buena *viability* no aparecerán coloreadas.

Con respecto a la *viability*, el método reconocido, llamado *acidification power test* (AP TEST), se basa en el cambio del pH dentro de la solución en la cual se ha introducido la levadura a probar. A continuación el procedimiento:

1. Calibrar el pH-metro antes de cada serie de mediciones;
2. Ajustar el pH del agua desionizada a 6,5;
3. Colocar 15 ml de agua desionizada estéril en una probeta de centrifuga cónica de 50 ml que contiene un agitador cónico;
4. Controlar el pH del agua mientras se agita la probeta durante aprox. 5 minutos;
5. Pasados los 5 minutos, medir y tomar nota del valor del pH leído (AP0) y agregar 5 ml de residuo de levadura recuperado, lavado y concentrado (1×10^9 cel/ml) a la probeta de centrifuga;
6. Agitar durante 10 minutos y medir el valor del pH (AP10);
7. Agregar inmediatamente 5 ml de solución de glucosa al 20%;
8. Agitar durante 10 minutos y medir el pH final (AP20). La *acidification power* se obtiene por diferencia entre la lectura AP20 y AP0;
9. Repetir otras dos veces todo el procedimiento y confirmar los resultados.

Como se puede comprender leyendo el procedimiento a seguir para realizar el AP TEST, este método requiere equipos específicos que se pueden encontrar solamente en un laboratorio químico bien equipado y con personal formado y resulta muy laborioso y oneroso en términos de tiempo.

Entre los equipos necesarios para el desarrollo de esta prueba, está el pH-metro, instrumento que debe calibrarse antes de cada uso, debe

someterse a una minuciosa limpieza y exige importantes cuidados de mantenimiento.

Muy raramente estos equipos se encuentran dentro de una fábrica de cerveza y por este motivo a menudo los fabricantes de cerveza, para asegurarse el poder reutilizar la levadura recuperada de las cocciones, se ven obligados a valerse de los servicios de laboratorios químicos externos con los costos que implican.

Por estos motivos CDR ha puesto a punto una prueba alternativa al AP test que vuelve el método analítico mucho más simple y veloz, pero que aprovecha el mismo principio físico-químico.

La determinación de la vitality con el método CDR BeerLab®

La prueba puesta punto por CDR prevé la valoración de la variación del pH de la solución en la cual se ha introducido la muestra de levadura mediante el uso de reactivos que contienen cromógenos de la cerveza. Estos cromógenos al cambiar el valor del pH cambian el color de la solución haciendo posible la medición del pH mediante lecturas espectrofotométricas realizadas con el sistema CDR BeerLab®.

CDR BeerLab® suministra los resultados de la prueba *Acidification Power*, en base a las curvas de calibración con lo componen.

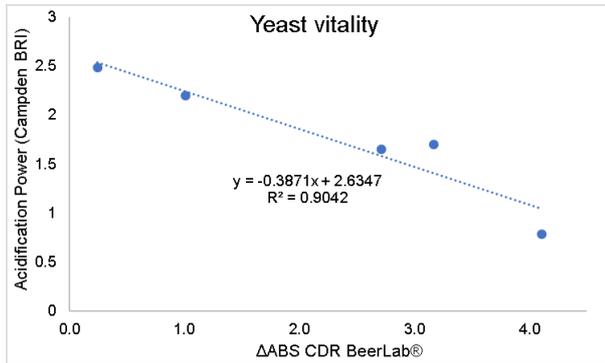
Diferente de cuanto explicado para el AP test, el método ideado por CDR no necesita ninguna calibración ni el uso de personal especializado en técnicas de laboratorio. Los reactivos empleados se colocan previamente en ampollas en la cantidad necesaria para cada medición en probetas listas para usar. El resultado se obtiene mediante la simple lectura fotométrica.

Correlación con el *Acidification Power test*

El método CDR garantiza una excelente correlación con el método reconocido para la medición de la vitalidad mediante el *Acidification Power test* como lo establece el laboratorio de referencia internacional Campden BRI.

A continuación la curva de calibración entre los resultados de las mediciones realizadas con el método CDR y las mediciones realizadas con el

método *Acidification power* obtenida en los laboratorios Campden BRI.



En el estudio realizado por el instituto de referencia, para evaluar el rendimiento de CDR BeerLab® en el análisis de la vitalidad de la levadura, se analizaron por triplicado 5 muestras de lodos empleando el sistema CDR BeerLab® y el método de referencia.

El estudio de Campden BRI estableció que para la determinación de la vitalidad de la levadura los resultados de CDR BeerLab® son comparables con aquellos de los métodos de referencia (correlación $R^2 = 0,90$) confirmando que el método CDR BeerLab® es preciso e repetible.

Conclusiones

La reutilización de la levadura es útil para conseguir un buen ahorro económico y puede mejorar las calidades organolépticas de la cerveza. Al reutilizar las levaduras es necesario tener el máximo cuidado con la eficiencia de las células recuperadas, por lo tanto es útil determinar la *viability*.

El recuento de las células o la determinación de la *viability* no es suficiente para determinar si las células del sustrato recuperado son capaces de producir la fermentación alcohólica.

Por lo tanto, es necesario establecer la vitalidad de la levadura (*vitality*).



El procedimiento para determinar este parámetro con el método reconocido, *acidification power test* (AP TEST), resulta muy laborioso y costoso en términos de tiempo, requiere aparatos específicos que deben calibrarse a menudo o que se encuentran solamente en un laboratorio químico bien equipado con personal altamente capacitado.

Por estos motivos se puso a punto el método CDR BeerLab® para la determinación de la *vitality*. Este método no requiere ninguna calibración ni recurrir a personal especializado en técnicas de laboratorio. Los reactivos se colocan previamente en ampollas en la cantidad necesaria para cada medición en probetas listas para usar. El resultado se obtiene mediante la simple lectura fotométrica.

El método está bien correlacionado con el AP TEST, como lo establece el estudio realizado por el laboratorio de referencia internacional CampdenBRI y suministra los resultados de *acidification power*.

Por lo tanto, el método CDR BeerLab® para la determinación de la *vitality*, un parámetro esencial relativo a la eficiencia de la levadura a reutilizar, es de uso sencillo, entrega rápidamente los resultados, es fiable y puede ser empleado por cualquier operador directamente en la línea de producción de la fábrica de cerveza.

Bibliografía

- [1] Haddad, S., and C. Lindegren. "A Method for Determining the weight of an Individual yeast Cell." *Applied Microbiology* 1, no. 3, (1953), 153-156.
- [2] Lenoel, M., J.P. Meurier, M. Moll, and N. Midoux. "Improved System for Stabilizing Yeast Fermenting Power During Storage." *Proceedings of the 21st European Brewing Congress, 1987*, 425-432.
- [3] Nielsen, O., "Control of the Yeast Propagation Process: How to Optimize Oxygen Supply and Minimize Strees." *MBAA Technical Quarterly*, vol. 42, no. 2 (2005), 128-132.
- [4] Fernandez, J.L., and W.J. Simpson. *Journal of Applied Bacteriology* 75 (1993), 369.
- [5] Kara B. V., Simpson W.J. and Hammond J. R. M., *Predinction of the Fermentation Performance of Brewing Yeast with the Acidification Power Test*, in «Journal of the institute of brewing», no. 94, 1988, pp 153-158
- [6] Gabriel P., Dienstbier M., Matoulková D., Kosař K., and Sigler K., *Optimised Acidification Power Test of Yeast Vitality and its Use in Brewing Practice*, in «Journal of the institute of brewing», no. 114(3), 2008, pp. 270-276.
- [7] Mearelli L. "La Fermentazione della Birra Artigianale: Studio del Metabolismo dei Lieviti e Messa a Punto di un Metodo Rapido per la Misura della Loro Attività Metabolica." 2018, pp. 14-16.

Enlace

- [a] [Determinación de la vitalidad de las levaduras](#)
- [b] [El sistema de análisis de cerveza, mosto y agua CDR BeerLab®](#)
- [c] [Informe de Campden BRI: validación de las determinaciones del diacetilo y de la vitalidad de la levadura con CDR BeerLab®](#)
- [d] [Campden BRI](#)