

Recuperación de levaduras utilizadas en la elaboración de cerveza artesanal

Gabriela Ohanian^a, Laura Musri^a, Brenda Bravo^a, Ailén Rojos^a, Saira Acieff^a, Mayra Salinas^a, Franco González^a, Soledad De Brito^a, Naomí Aguilar^a

^aGrupo GISAM, UTN Facultad Regional Mendoza, Rodríguez 273, Ciudad Mendoza, M5502AJE, Mendoza, Argentina

gohanian@frm.utn.edu.ar

Resumen

En Argentina, el mercado cervecero está dividido en dos grandes grupos. Por un lado, el sector industrial, conformado por tres empresas multinacionales que representan el 98% del mercado y por el otro el sector artesanal con unas 1500 empresas diseminadas por todo el territorio nacional. En los últimos cinco años, el negocio de la cerveza artesanal se duplicó en Argentina, fenómeno que también se replicó en Mendoza. Actualmente en la provincia, existen entre 28 y 30 microcervecerías registradas con marca.

Este creciente fenómeno va asociado a la producción de una importante cantidad de desperdicios con alta carga orgánica, como el excedente de levaduras consistente en una suspensión de levaduras en distintos estadios de fermentación, con una concentración de sólidos cercana al 10% m/m. Su volumen puede alcanzar de un 1-3% del volumen de cerveza producida y no pueden ser descartados directamente al medio ambiente.

Según varios autores, es posible reutilizar levaduras hasta tres o cinco etapas de fermentación siempre que se mantengan procesos muy bien controlados y el almacenamiento de levaduras sea adecuado. Para reutilizar *Saccharomyces cerevisiae* es primordial controlar la viabilidad celular, ya que existen diferentes factores que pueden causar estrés y muerte en las células de levadura durante el proceso de fermentación.

Este proyecto se inició con la preparación de un medio de cultivo a base de malta, apropiado para el crecimiento de la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, el aislamiento de colonias puras e identificación al microscopio de la morfología general de los microorganismos de interés.

Con el desarrollo de esta investigación se pretende dar una solución que permita cambiar positivamente las prácticas cerveceras de la empresa artesanal, no sólo para evitar el deterioro del medio ambiente, sino también para ahorrar en los costos de producción. Se plantean procedimientos para determinar la factibilidad de dicha recuperación, y los posibles impactos en el producto final. Esto conduce a la confección de un protocolo para que estas pequeñas empresas puedan aprovechar levaduras recuperadas y utilizarlas en futuros procesos de fermentación con la posibilidad de que esta recuperación se pueda realizar de forma casera o en un laboratorio.

Palabras Clave: *Saccharomyces cerevisiae* - recuperación - viabilidad.

1 Introducción

En Argentina y, en Mendoza en particular, se ha experimentado desde el año 2015 un acelerado aumento de cervecerías artesanales, las cuales ofrecen al mercado una amplia variedad de cervezas. Este fenómeno creciente genera una importante cantidad de excedente de levaduras los cuales no pueden ser descartados directamente al medio ambiente. Una buena práctica en lo que se refiere a la responsabilidad ambiental es la reducción de los residuos generados mediante la recuperación de levaduras y su reutilización en nuevos procesos fermentativos. El proceso para esta recuperación y

reutilización es sencillo pero requiere de un correcto uso de técnicas de asepsia y manejo adecuado de los procedimientos.

Para reutilizar *Saccharomyces cerevisiae* es necesario controlar la viabilidad celular. La viabilidad es el porcentaje de células vivas de una población en relación al total de células y nos brinda una idea de la eficiencia de la levadura para fermentar [1]. La técnica empleada consta de un conteo celular que se hace en el microscopio. Se pueden utilizar colorantes que indiquen diferentes estados metabólicos de las células. Por ejemplo en un recuento en cámara de un cultivo de levaduras con azul de metileno, se pueden distinguir las células viables (no absorben el colorante, se verán transparentes) de las no viables (absorben el colorante y se verán azules) [2].

2 Desarrollo

2.1 Materiales y métodos

Numerosos ensayos de laboratorio fueron realizados para finalmente lograr un medio de cultivo apto para el crecimiento y visualización del comportamiento de *Saccharomyces Cerevisiae* durante la fermentación.

Se preparó un mosto base utilizando 200 g de malta Pilsen por cada litro de mosto. Se prepararon 2 L de mosto final, los cuales fueron macerados durante 1 hora a 64 °C en baño termostático (Fig. 1). Posteriormente se separaron del mosto los granos de malta utilizando un colador y se llevó el mosto a hervor por 1 hora.

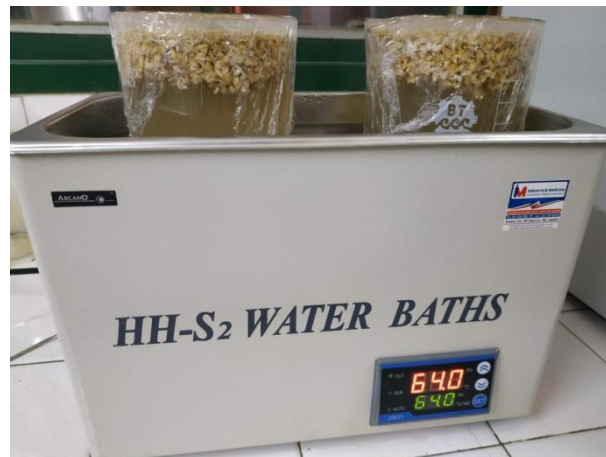


Fig. 1. Etapa de maceración en baño termostático

Antes de inocular las levaduras en el medio, la bibliografía sugiere filtrar el mosto para de este modo eliminar residuos de las etapas anteriores. Previo a la filtración, se colocó el medio en una ampolla de decantación (Fig. 2) durante 24 horas para su clarificación eliminando de manera eficiente las materias insolubles que pueda contener, como proteínas coaguladas y, por lo tanto, haciendo innecesaria la utilización de una bomba de vacío para la filtración.

El mosto final es de 2 L y se coloca en Erlenmeyer de 125 ml, los cuales se esterilizan y se inoculan con 0,072 g de levadura S-04. Se dejan los medios fermentando al abrigo de la luz, con agitación permanente y a una temperatura de 15 °C durante 7 días.

Se toma una muestra de 10 μ L y se emplea la técnica de tinción recomendada por IPATEC [3]. Su observación microscópica a un aumento de 40x permite identificar células de levaduras en estado de gemación y crecimiento, característico de un proceso de fermentación que aún no ha finalizado (Fig. 3) y también examinar sus características morfológicas generales como forma esférica, elipsoide u ovoide [4].



Fig. 2. Proteínas en decantación luego de 24 horas

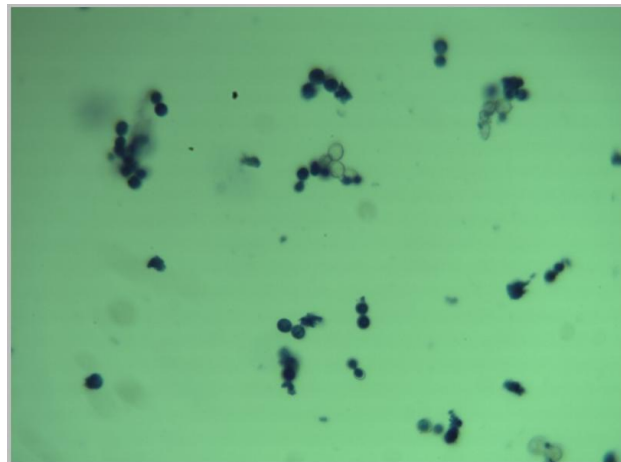


Fig. 3. Levaduras sin tinción vivas y levaduras en gemación coloreadas vistas bajo el microscopio 40x.

2.2 Resultados parciales

La primera etapa del proyecto consistió en la capacitación de los alumnos becarios en técnicas y procedimientos de microbiología.

Hasta el momento se logró identificar el crecimiento de las levaduras en un medio con óptimas condiciones de fermentación (nutrientes, temperatura, aireación, entre otros), lo que facilitará el reconocimiento de las levaduras en las condiciones de elaboración de la cerveza. Además se unificaron criterios para la correcta identificación de los diferentes estadios de fermentación de la

levadura, lo que permitirá durante el proceso de elaboración de cerveza, conocer el momento adecuado para llevar a cabo la coloración y así determinar el nivel de viabilidad celular.

3 Avances

El paso siguiente es la propagación de levaduras en el laboratorio, con el objetivo de obtener la biomasa necesaria para la realización de un nuevo proceso fermentativo. La propagación consiste en aumentar la población de células y se realiza a escalas, en una progresión de fermentaciones con aumento de tamaño. La viabilidad de las levaduras se medirá antes durante y una vez finalizada la propagación, para establecer las condiciones óptimas para su reutilización.

Agradecimientos

Este trabajo comenzó en situación de la pandemia por el COVID 19, por lo que queremos agradecer a todos/as los/as becarios/as que, han trabajado desde su hogar estudiando en este contexto. También deseamos agradecerles el compromiso asumido con la capacitación al retomar la nueva presencialidad, muy diferente a la anterior. Y por supuesto, a nuestra Directora de Grupo, que ha estado siempre resolviendo todo lo que le pedíamos y que necesitábamos.

Referencias

- [1] Boulton, C., & Quain, D. (2013). *Brewing yeast and fermentation*. John Wiley & Sons.
- [2] Layfield, J. B., & Sheppard, J. D. (2015). What brewers should know about viability, vitality, and overall brewing fitness: a mini-review. *MBAA TQ*, 52(3), 132-140.
- [3] IPATEC, CONICET. (05 de junio del 2020). *Autonomía Microbiológica*. Recuperado de <https://ipatec.conicet.gov.ar/cursos-virtuales/>
- [4] Oreglia, F. (1978). *Enología; teórico-práctica*. Buenos Aires, Argentina: Instituto Salesiano de Artes Gráficas.