

Levadura

La Guía Práctica para la Fermentación de la

Cerveza

Chris White con Jamil Zainasheff

Índice de contenidos

Agradecimientos

Prefacio

Introducción

Parte 1. La Importancia de la Levadura y la Fermentación.

Una Breve Historia de la Levadura

Por qué la Fermentación Es Tan Importante

Mejora de la Calidad de la Fermentación

Lo Esencial de la Buena Fermentación

- Levadura
- Azúcar
- Oxígeno
- Nutrientes
- Sistemas de Fermentación
- Control de la Temperatura
- Monitoreo de la Fermentación

Parte 2. Biología, Enzimas y Ésteres.

Biología de la Levadura

- Genética de la *S. cerevisiae*
- Estructura de la Célula de Levadura
- Metabolismo
- Alcohol
- Floculación

Enzimas

- ¿Cómo Funcionan las Enzimas?
- Enzimas en el Malteado
- Enzimas en la Maceración
- Enzimas en la Fermentación
- Esteres, Alcoholes y Más
- Ésteres
- Alcoholes Fusel
- Diacetil
- Ácidos Orgánicos

- Compuestos de Azufre
- Compuestos Fenólicos

Parte 3. Cómo Elegir la Levadura Correcta.

Criterio de Selección

Estilos de Cervezas y Selección de la Levadura

Cepas de Levadura

- Visión General de la Cepa Ale
- Cepas Limpias de Ale
- Cepas Ale Frutadas
- Cepas Ale Híbridas
- Cepas Ale Fenólicas
- Cepas Ale Excéntricas
- Cepas Lager

Cepas Múltiples en tu Cervecería

Cepas Múltiples en Una Cerveza

Brettanomyces

- Precauciones con la Contaminación
- Cepas de Brettanomyces
- Qué hace especial a la Brettanomyces
- Tasas de Inoculación y Otros Factores

Captura de Levadura Salvaje

Parte 4. Fermentación.

Línea de Tiempo de la Fermentación

- Fase Lag
- Fase de Crecimiento
- Exponencial
- Fase Estacionaria

Composición del Mosto

- Azúcares
- Enzimas

Nutrición de la Levadura

Aireación Para la Fermentación

- La Necesidad de Oxígeno
- ¿Cuánto Oxígeno es Necesario?

Cerveza de Alta Densidad

Sistemas de Fermentación

- Fermentadores de Cervecería Casera
- Fermentadores Comerciales

Uso de Antiespumantes

Temperaturas de Fermentación

- Control de la Temperatura de Fermentación
- Control de la Temperatura de Fermentación para el Cervecer Casero

Optimización del Sabor de la Fermentación Final de la Fermentación

- Atenuación
- Floculación
- Descanso de Diacetil
- Lagering

Acondicionamiento en Botella

Acondicionamiento en Barril

Parte 5. Levadura, Crecimiento, Manejo y Almacenamiento.

Tasas de Inoculación

Propagación de la Levadura

Propagación de Cervecería Comercial

Propagación en la Elaboración Casera

- Elaboración de un Starter
- ¿Cuál es el Mejor Tamaño de un Starter?
- Starters Escalonados

Trabajando con Levadura Seca

Manejo de la Levadura

Recolección de Levadura

- Cosecha de Levadura

- Técnicas y Tiempos de la Recolección Superior
- Recolección Inferior
- Técnicas y Tiempos de la Recolección Inferior

Mantenimiento y Almacenamiento de la Levadura

- Recipientes de Almacenamiento
- Vida Útil

Reutilización de la Levadura

- Viabilidad y Vitalidad
- Revitalización
- Enjuague
- Lavado

Transporte de la Levadura

Parte 6. Tu Propio Laboratorio de Levadura Hecho Fácil.

Calidad Desde el Principio Instalación de Tu Laboratorio

- Consideraciones Ambientales
- Seguridad del Laboratorio
- Equipamiento del Laboratorio
- ¿Cuánto Laboratorio Necesita Mi Cervecería?

Esterilización

- Calor Húmedo
- Calor Seco
- Incineración
- Tindalización
- Prueba de Autoclave

Cultivo de Levadura

- Placas y Tubos Inclinados (Slants)
- Preparación de Tubos de Agar y Placas
- Estriado de una Placa
- Estriado de un Slant

- Clavados
- Inmersión en Aceite
- Inmersión en Agua
- Congelación
- Selección de Colonias
- Comienzo de la Propagación a partir de una Placa
- Mantenimiento de un Catálogo de Levaduras

Captura de Levadura

- En Marcha
- Cerveza Embotellada

Control de Calidad de la Levadura y la Cerveza

- Métodos con Placas
- Filtración con Membrana
- Vertido en Placas
- Esparcido en Placas
- Verificación de Placas
- Hisopado
- Toma de Muestra del Fermentador
- Prueba de Mosto Forzada
- Prueba de Fermentación Forzada
- Diacetil Forzado
- Método de Espectro Amplio para Dicetonas Vecinales (VDK)
- Ensayos de Fermentación
- Demanda de Oxígeno de la Cepa de Levadura
- Prueba del Yodo para el Glucógeno
- Prueba de Mutación (petite) Respiratoria
- Medio de Extracto de Levadura Peptona Dextrosa (YPD)

Prueba de Bacterias

- Medio de Agar Universal para Cerveza (UBA)
- Medio de Lactobacilos Pediococcus de Hsu (HLP)
- Medio de Agar Diferencial Schwarz (SDA)
- Medio de Mac Conkey
- Tinción de Gram

Pruebas de Levaduras Salvajes

- Medio de Levadura Salvaje de Lin o Medio de Sulfato Cúprico de Lin (LWYM oLCSM)
- Medio de Lisina
- Medio de Wallerstein

Dilución Serial

Conteo de Células

Viabilidad

- Azul de Metileno
- Citrato Azul de Metileno (CMB)
- Azul de Metileno Alcalino (AMB)
- Violeta de Metilo Alcalino (AMV)
- Conteo en Placa Estándar (SPC)

Vitalidad

- Prueba de Poder de Acidificación (AP)

Diferenciación de la Levadura Ale y Lager

- Por Crecimiento a 37°C
- Por Crecimiento en Melibiosa
- Medio X-alfa-GAL

Diferenciación de Cepas de Levadura

- Colonia Gigante
- Conjunto de Cepas Múltiples

Parte 7. Solución de Problemas.

Fermentación Lenta, Trabada e Incompleta

- La Fermentación No Empieza
- Sin Actividad Después de “X” Horas
- La Fermentación No Termina
- La Fermentación Parece Incompleta

Cambios en la Floculación

Sabores y Aromas

- Carácter Frutado y Alcoholes Fusel
- Azufre
- Fenoles
- Acetaldehído
- Diacetil Agrio
- Demasiado Dulce
- Demasiado Seco

Autolisis

Carbonatación

- Falta de Carbonatación
- Sobrecarbonatación

Atenuación

- Baja Atenuación
- Alta Atenuación

Problemas de almacenamiento de la Levadura

- Declive o Baja Viabilidad de la Levadura
- Vida Útil Inadecuada
- Problemas de Lavado
- Problemas de Enjuague
- Problemas de Transporte

Problemas de Propagación/Starter

Contaminación de la Malta

Cuadro de Solución de Problemas

Referencias

Agradecimientos

Este es un libro que quería escribir desde hace mucho tiempo. He escrito sobre la levadura, hablado acerca de la levadura y trabajado con levadura todos los días por lo que parece una eternidad.

Quería poner esa información y más en una fuente. Empecé a escribir el libro hace tres años con mi hermano, Mike White. Pusimos mucho material junio, pero todavía faltaba algo.

Cuando Jamil Zainasheff entró en el proyecto, el libro realmente comenzó a tomar forma. Jamil agrega una gran cantidad de información y un toque profesional. Él no sólo es un gran escritor y cervecer, sino también un buen amigo. La Brewers Association (Asociación de Cerveceros) fue un lugar natural para mí para publicar el libro; Ray Daniels fue de mucha ayuda en el comienzo, luego Kristi Switzer se hizo cargo y ha hecho un gran trabajo. Quiero agradecer a las personas que contribuyeron con el material o su revisión: Neva Parker, Lisa White, Troels Prahl, Mike White, Sharon Fernández, Liz Strohecker, Lee Chase, Yuseff Cherney, Dan Drown y Craig Duckham. También quiero darle las gracias a las muchas personas que han apoyado el libro, dándome información o ayudado de otras maneras: Jamie Reyes, John Schulz, Tomme Arthur, Jack White, Justin Crossly, Saskia Schmidt, John White, Tobias Fischborn, Graeme Walker, Sharon Heredia, Jay Prahl, Meg Falbo, Pam Marshall, Michael Lewis, Randy Mosher, Betsy Komives, Barbara Maisonet, Joanne Carilli-Stevensen, Lyn Kruger, la Maynard A. Amerine Viticulture & Enology Room en la Universidad de California en la Biblioteca Davis Shields, donde hice la mayor parte de mis escritos, Chris y David Boulton Quain por su gran libro *Brewing Yeast & Fermentation* y charlas personales, para la revista *Brew Your Own*, así mismo la revista *Zymurgy* y *New Brewer*. Gracias a los muchos cerveceros caseros y cerveceros comerciales que me han enseñado mucho, y por supuesto el apoyo y amor de mis padres, Eric y Gina White.

—Chris White

No podría haber terminado este libro sin el amor, la ayuda y el apoyo de mi familia, los amo más que a la cerveza o su elaboración, pero nunca me piden que lo demuestre. Ellos saben lo duro que trabajo en estos libros y cómo eso le quita tiempo a la familia a medida que la fecha límite se acerca. Incluso, mi padre ayudó enérgicamente con la edición y escritura durante las vacaciones de la familia a *Disneyland*. Si bien mis hijos Anisa y Karina son un gran apoyo, mi esposa, Liz, va mucho más allá e incluso ayuda a editar todos mis escritos. Sé que mi esposa no me cree cuando le digo “querida, no todos los cerveceros caseros tienen su propio laboratorio de levadura”, pero yo realmente aprecio que de todos modos me permita gastar dinero en ello y ocupe espacio con un laboratorio. Sí, lo sé, llevo una vida de ensueño. A demás de mi familia, este libro no existiría sin la ayuda de muchos amigos queridos. En especial me gustaría dar las gracias a Peter Symons por su dedicación a la revisión hasta la última palabra con un ojo crítico y dejándome saber dónde le erré o tenía información obsoleta. No puedo expresar lo fuerte que ha sido el apoyo y los comentarios de John Palmer, John Tull, Gordon Strong y Gary Angelo, no sólo para este libro, sino para todos mis escritos y pensamientos cerveceros. Gracias también a los que creyeron que tenía el conocimiento y la capacidad de poder hacer este libro. Un agradecimiento especial a Samuel Scott; a pesar de que estaba en el medio del trajín encontró el tiempo para crear algunas fotos para el libro. Como de costumbre, hay tantas otras personas que ayudaron con información, fotos o su apoyo. Evito enumerarlos, no porque sus contribuciones fueran menos significativas, sino más bien porque mi memoria es mala y sé que dejaría accidentalmente a alguien fuera de la lista. Infinitas gracias a mis amigos, mis hermanas y hermanos cerveceros, que han compartido sus cervezas, sus casas, su conocimiento, y lo más importante para mí, su amistad. Estoy eternamente agradecido.

—Jamil Zainasheff

Prefacio

“Los cerveceros no hacemos cerveza, sólo juntamos los ingredientes y la cerveza se así por sí sola”

— Fritz Maytag

“La cerveza en sí no se hace correctamente por sí misma. Contiene un elemento de misterio y de cosas que ninguno puede comprender”.

— Fritz Maytag

Siempre me han gustado estas dos citas, y que creo que ilustran perfectamente los misterios de la fermentación, lo menos comprendido y con frecuencia la parte más descuidada del proceso de elaboración de la cerveza. Si lees las recetas de cerveza que aparecen en varios sitios web cerveceros y en los libros de elaboración de cerveza, verás que se presta mucha atención a cosas como la lista de granos, y más significativamente en estos días: la lista de lúpulos. La levadura parece un poco como una idea adicional, y tal vez ha sido así a lo largo de gran parte de la historia. Lee libros históricos sobre elaboración de cerveza y encontrarás un montón de referencias al malteo, la calidad de la malta, el cultivo del lúpulo, la calidad del lúpulo e incluso la calidad del agua. Estos procesos fueron bien conocidos desde mucho tiempo en la actividad. Pero debido a que la mayoría de los cerveceros creían que la fermentación era un proceso espontáneo, prácticamente no hay referencias a la levadura en los textos históricos. La levadura es mencionada sólo a menudo de pasada en las recetas y los textos de procedimiento, incluso la primera versión de la ley de pureza alemana *Reinheitsgebot* falló al incluir a la levadura como ingrediente de la cerveza. Y en las ocasiones en que la levadura es explorada a fondo en los textos históricos, es una lectura difícil, ya que la información es lamentablemente inexacta. Lo que es aún más sorprendente es que a pesar de esta falta de conocimiento, comprensión o voluntad de incluir a la levadura como un ingrediente vital, los cerveceros sabían que la levadura era importante, y supieron bastante pronto que tenían que cosechar levadura y reciclarla al siguiente fermentador para garantizar la transformación exitosa del mosto en cerveza. Las cepas de levadura no han sobrevivido durante cientos de años, si no miles y se han mantenido con éxito y cuidadosamente seleccionadas para convertirse en el gran número de cepas maravillosas que están disponibles para los cerveceros de todo el mundo en la actualidad. A lo largo de la historia los procesos de elaboración de la cerveza evolucionaron, lo que favoreció el mantenimiento de las cepas de levadura. Técnicas tales como la recolección de la parte superior, la inoculación, el lagering y la elaboración de cerveza de temporada para mantener una buena temperatura de fermentación, fueron desarrolladas para asegurar fermentaciones completas y cervezas deliciosas, a pesar de que los cerveceros no tenían ninguna comprensión real

de lo que era la levadura y cómo funcionaba. Incluso en tiempos tan recientes como finales de 1800, después de que Louis Pasteur demostrara que la fermentación es el resultado del metabolismo de la levadura (un organismo vivo), la literatura cervecera estuvo repleta de referencias en “términos de comercialización” de la levadura: “la levadura debe ser de la más alta calidad”, “la levadura debe ser excelente”, “la levadura debe ser excepcionalmente buena”, todo lo cual realmente no significa nada, pero dan la impresión de que el cervecero adecuado trata con cuidado a su levadura. La investigación sobre la levadura comenzó a finales de 1600, poco después de la invención del microscopio, pero realmente despegó a finales de 1700 y principios de 1800. Varios científicos inventaron teorías que estaban cerca de lo que hoy conocemos como la realidad, postulando que la levadura eran organismos unicelulares y eran responsables de la fermentación alcohólica, pero nadie realmente se dio cuenta del hecho fundamental de que la levadura estaba metabolizando azúcares para producir alcohol y dióxido de carbono. A finales de la década de 1830, la investigación de la levadura se estaba centrando en el hecho de que la actividad celular de la levadura era la fuente de la producción de alcohol y CO₂. Este hilo prometedor de la investigación se descarriló un poco por la publicación de la siguiente descripción despectiva de la fermentación celular por los químicos orgánicos Liebig y Wohler, que favorecieron la reacción química como la explicación para la fermentación:

... Se ven increíbles cantidades de pequeñas esferas, las cuales son los huevos de los animales. Cuando se las coloca en una solución de azúcar, se hinchan, estallan, y los animales se desarrollan a partir de ellas, las que se multiplican a una velocidad inconcebible. La forma de estos animales es diferente a la de cualquiera de las 600 especies hasta ahora descriptas. Tienen la forma de un frasco de destilación Beindorf (sin el dispositivo de enfriamiento). El tubo de la bombilla es una especie de trompa de succión, que está cubierto en el interior con cerdas largas y finas. No se observan dientes ni ojos. Incidentalmente, se puede distinguir claramente un estómago, el tracto intestinal, el ano (como un punto de color rosa), y los órganos de excreción de orina. Desde el momento en que sale del huevo, se puede ver cómo los animales se tragan el azúcar del medio y cómo la introducen en el estómago. Es digerida inmediatamente, y este proceso se reconoce con certeza a partir de la eliminación de los excrementos. En resumen, estos infusorios comen azúcar, eliminan alcohol desde el tracto intestinal y el CO₂ desde los órganos urinarios. La vejiga urinaria en su estado lleno tiene la forma de una botella de Champagne, en el estado vacío es una pequeña yema. Después de un poco de práctica, se observa que adentro se forma una burbuja de gas, lo que aumenta su volumen hasta diez veces; por medio de alguna torsión en forma de hélice, los cuales controla

por medio de músculos circulares alrededor del cuerpo, se lleva a cabo el vaciado de la vejiga.

... Desde el año del animal se puede ver la aparición incesante de un fluido que es más ligero que el medio líquido, y de sus genitales enormemente grandes una corriente de CO₂ sale a chorros en un intervalo muy corto. ... Si la cantidad de agua es insuficiente, es decir, la concentración de azúcar es demasiado alta, la fermentación no tiene lugar en el líquido viscoso. Esto se debe a que los pequeños organismos no pueden cambiar su lugar en el líquido viscoso: ellos mueren a causa de la indigestión causada por la falta de ejercicio. (Schlenk, 1997).

Afortunadamente, algunos investigadores continuaron, y la teoría celular fue aceptada de manera más gradual a través del innovador trabajo de Pasteur. Y qué innovador fue; cambió por completo toda la industria cervecera. Pasteur viajó de cervecería en cervecería a finales de 1800 y ofreció sus servicios para inspeccionar sus cultivos de levaduras, entregando a las cervecerías una calificación de aprobación o reprobatoria. La historia de la influencia de Pasteur en la cervecería Carlsberg está bien documentada más adelante en este libro, pero Pasteur no se detuvo allí; viajó por toda Europa. Cuando Pasteur adoctrinó a los cerveceros ingleses a finales de 1800 sobre la importancia de la levadura, contrataron a químicos como miembros del personal de alto nivel. Estos químicos cerveceros se convirtieron muy buscados y también se convirtieron en los miembros mejor pagados del personal de las cervecerías. A medida que el campo de la bioquímica ha crecido, las cervecerías más grandes han adoptado las técnicas científicas para comprender mejor sus cepas de levadura.

Cuando trabajaba en Anheuser-Busch, monitoreábamos los subproductos de la fermentación de la levadura como el diacetil, la pentanodiona, la acetoína y elacetaldehído en puntos regulares durante todo el proceso de lagering. Estos factores de maduración eran indicaciones rápidas de lo saludable que eran la levadura y las fermentaciones. Pero a pesar de toda la tecnología y la investigación disponible, la levadura sigue siendo misteriosa e impredecible en muchos aspectos y el seguimiento de las fermentaciones sigue siendo un tipo muy reactivo de situación. No era raro que un equipo de expertos de St. Louis se subiera a un avión y visitara una cervecería que estaba teniendo un problema con su levadura o sus fermentaciones, llegando con la declaración temida: “somos de la corporación, y estamos aquí para ayudar”. Recuerdo una discusión que tuvimos como cerveceros de Anheuser-Busch hace varios años con respecto a cuánto contribuye la levadura al sabor final de la cerveza. En general, el consenso era que la levadura era responsable de casi el 80 al 90 por ciento del

sabor en una lager americana. Todo lo que tienes que hacer es degustar mosto y cerveza en comparación con otras para entender la importancia de la contribución de la levadura al sabor de la cerveza.

Y si consideras las tres cervezas emblemáticas de los tres grandes fabricantes de cerveza lager americana, las cuales se elaboran con el mismo estilo utilizando ingredientes similares, te darás cuenta que las cervezas tienen un sabor muy diferente cuando las comparas. Y esa diferencia se debe principalmente a la levadura. En una cerveza artesanal el impacto de la levadura en el sabor final de la cerveza puede no ser tan pronunciado, debido al aumento de las cantidades de maltas especiales y lúpulos, pero sé que en Stone Brewing Company hemos fermentado varios mostos tanto con nuestra cepa ale como con levadura belga, y las cervezas no tienen el mismo gusto. En algunos casos no fuimos capaces de decir que provenían del mismo mosto, lo que siempre encontramos sorprendente. Así que, de manera realista, la levadura puede ser el ingrediente de sabor más activo en el proceso de elaboración de la cerveza, y sin duda es el ingrediente más temperamental en la cerveza. La levadura posee una combinación de características difíciles de manejar para un cervecero. Como cualquier cervecero con experiencia sabe, debes tratar tu levadura con el máximo cuidado, o la cerveza puede terminar con un gusto horrible. Chris White y Jamil Zainasheff han asumido la difícil tarea de explicarnos a los cerveceros, la levadura y la fermentación. Una de las dificultades en la escritura de un libro completo sobre la levadura y la fermentación es que cada cepa de levadura reacciona de manera diferente ante condiciones externas similares. Cualquier cervecero que haya cambiado cepas de levadura sabe que las condiciones que hacen que una cepa se desempeñe bien no siempre funcionan para la siguiente cepa. Es una ciencia inexacta, tratando de manejar este organismo vivo y conseguir que se comporte como nosotros queremos que lo haga. Nuestro trabajo como cerveceros es manejar nuestra levadura, quesea “feliz”, de modo que sólo produzca los compuestos de sabor que queremos en nuestra cerveza, y no cualquiera de los “malos” sabores que las levaduras tienden a producir cuando están estresadas. Chris y Jamil han hecho un gran trabajo enfrentando estas dificultades en este libro. Se ha incluido mucha información y técnicas que funcionarán para los cerveceros a todos los niveles, desde cerveceros caseros principiantes a cerveceros de producción en cualquier tamaño de cervicería. Los contenidos son consejos fantásticos para trabajar con todo tipo de cepas de levadura y estilos de cerveza, presentando nuevas cepas, y cómo utilizar las mejores prácticas de elaboración y de laboratorio para mantener tu levadura saludable y tu cerveza con gusto genial. E incluso a través de las “temidas” secciones de química y bioquímica orgánica, los autores logran mantener la información conversacional, lo cual permitirá a los cerveceros con diversos antecedentes educativos tomar esta información y utilizarla de manera eficaz para mejorar sus fermentaciones y la calidad de sus cervezas.

Espero que todos disfruten de este libro tanto como yo lo hice. Creo que es una obligación tenerlo en el estante de cada cervecero. ¡Bienvenido al maravilloso, misterioso y complejo mundo de la levadura de cerveza!

Mitch Steele
Jefe Cervencero/Gerente de Producción
Stone Brewing Company

Introducción

La levadura es vital para la cerveza, lo cual hace que sea esencial para los cerveceros. Ya sea que los cerveceros se den cuenta completamente o no, la función de la levadura implica mucho más que la conversión de los azúcares en alcohol. Más que cualquier otra bebida fermentada, la cerveza depende de la levadura para el sabor y el aroma. Nuestro objetivo fue escribir un libro sobre levadura que se centrara en la perspectiva del cervecero, y rápidamente nos dimos cuenta de que hay tantos puntos de vista acerca de la levadura como cerveceros hay. Mientras que un cervecero puede tener un interés en la exploración de la fermentación con levadura silvestre nativa, otro estará interesado en el mantenimiento de un cultivo puro y en minimizar sabores inusuales, e incluso otro querrá saber todos los detalles de la bioquímica de la levadura. Al final, hicimos nuestro mejor esfuerzo para cubrir la mayor cantidad de información posible desde el punto de vista de un cervecero práctico. Este no es un libro para el cervecero de producción regional o cerveceros más importantes, exitosos, que ya tienen varios laboratorios y un doctorado en microbiología. Este es un libro para los que están en las primeras etapas de su amor por la levadura y lo que puede hacer por su cerveza. Y cuando usamos la palabra “cervecero”, estamos hablando no sólo de los profesionales, sino también de los aficionados. Los cerveceros caseros (que se llaman a sí mismos cerveceros artesanales en algunas partes del mundo) aman el proceso de elaboración de cerveza tanto como sus contrapartes profesionales. Al igual que los cerveceros profesionales, van desde lo excéntrico a lo muy científico, pero todos comparten una pasión para crear algo de la nada. Por supuesto, elaborar cerveza con éxito a nivel profesional implica muchísima dedicación y riesgo financiero que los cerveceros caseros pueden evitar. Seas un profesional o un aficionado, la elaboración de una gran cerveza requiere tanto de un toque artístico, a veces, como de la capacidad de pensar como un ingeniero. De hecho, los ingenieros parecen disfrutar de la cervicería casera más que la mayoría y tienen una pasión por llevar la afición a su límite. Tal vez por eso muchos cerveceros profesionales comenzaron

como cerveceros caseros. Querían llevar su creatividad y pasión al público. Desde el principio, decidimos que este no sería un libro de biología de la levadura. Tampoco es un libro sobre los fundamentos de la elaboración de cerveza. Tú ya debes saber cómo elaborar cerveza, y si no lo sabes, consigue una copia de *How to Brew* de John Palmer y vuelve a este libro después. Si tu pasión es la biología de la levadura, también hay disponibles muchos libros buenos de ciencia de la levadura. En algunos casos, nosotros tratamos lo que está sucediendo dentro de la pared celular, pero sólo para mostrar cómo afecta a tu cerveza. Quisimos escribir un libro que fuera accesible y útil para los cerveceros de todos los niveles de experiencia. Cubrimos información sobre la levadura desde los conceptos básicos hasta algunos procedimientos avanzados e incluso más allá hasta algunas áreas para estudios adicionales. Una cosa que sabemos acerca de los cerveceros es que siempre quieren saber más, por lo que esperamos que este libro satisfaga tu interés, extienda tus horizontes y te haga pensar en la levadura cada vez que pienses en la cerveza.

Acerca de Chris White

Tengo un currículum peculiar. Me gradué con un doctorado en bioquímica, pero en lugar de unirme a un laboratorio regular, he pasado mi vida profesional inmerso en el negocio de la levadura y la fermentación. La historia de la cerveza y la levadura ha sido un tema fascinante para mí desde mis días de universitario, por muchas razones. A principios de 1990, desarrollé una pasión por la elaboración de cerveza casera, mientras que era estudiante en la Universidad de California. Mi introducción a este fascinante mundo vino a través del curso de Michael Lewis sobre Ciencia de la Cervecería y Maltería. Allí comencé con la cervecería casera y continué con la cervecería casera mientras cursaba un PhD. de la Universidad de California en San Diego. Mi tesis involucraba una levadura industrial, *Pichia pastoris*, con la que tuve la suerte de trabajar en su desarrollo inicial. La *Pichia pastoris* ahora es ampliamente utilizada en biotecnología. Si bien es maravillosa en el mundo de la ciencia, la *Pichia pastoris* hace cerveza con un gusto a algo así como calcetines sudados, así que comencé a colectar cepas de levadura cervecería de cervecerías y bancos de levadura en todo el mundo. Experimenté con estas en mi elaboración casera y al mismo tiempo, una oleada de nuevas cervecerías abrió en San Diego. *Pizza Port Brewing*, *Ballast Point Brewing*, *Stone Brewing* y *Ale Smith* todas se iniciaron a

principios de los años noventa, lo que me dio la oportunidad de entender las necesidades de los cerveceros profesionales. Fundé *White Labs Inc.* en San Diego en 1995. El enfoque de la compañía fue cultivos de levadura líquida de gran volumen, basados en la tecnología que aprendí con la *Pichia pastoris* y más tarde modificada para satisfacer las necesidades especiales de la levadura cervecería *Saccharomyces cerevisiae*. Hoy en día, la levadura de *White Labs* se vende en tiendas de cervecería casera, cervecerías profesionales y también se utiliza en otras industrias, incluyendo la elaboración de vino. La emoción para mí en aquellos primeros años, y todavía hoy en día, fue obtener levadura de la más alta calidad para los cerveceros caseros y profesionales. En este libro te mostramos cómo maximizar tu experiencia de la fermentación obteniendo el máximo provecho de lo que se pueda con una buena medida de lo que es llamado el ingrediente más importante en la cerveza (la levadura).

Acerca de Jamil Zainasheff

“La levadura es fuerte en ti.”

— Karina Zainasheff a Anisa Zainasheff

Desde la edad de ocho años, he tenido un interés en los alimentos que involucran la fermentación o procesos similares, como el pan, el queso, el kimchi y el yogur. Los cultivos de pan de masa agria me fascinaban y rápidamente me di cuenta de que las condiciones que proporcionaba al cultivo hacían una diferencia en la calidad y el sabor del pan que hacía a partir de dicho cultivo. Por lo que parece extraño para mí ahora que, durante la década de 1980, como estudiante de bioquímica en la Universidad de California en Davis, la medida de mi conocimiento de la cerveza se centraba en qué día de la semana era la noche de la cerveza de un dólar en los bares locales. No fue hasta más tarde, cuando mi esposa Liz me inició con un kit de Mr. Beer, que agregué las bebidas alcohólicas a mi lista de intereses de la fermentación. Empecé con la elaboración de cerveza, tuve poco éxito inicial y no fue por la culpa del kit. Sin embargo, tenía una ventaja. Si bien yo había dejado pasar el aprendizaje sobre la cerveza, el vino, o la levadura como muchos de mis amigos en la Universidad de California Davis, gané una pasión y talento para el aprendizaje que podría poner en uso. Leí todo lo que pude encontrar sobre la elaboración de la cerveza, y le hice muchas preguntas a mi entorno. Tenía conocimiento de que la levadura era la clave para hacer la cerveza perfecta, y aprendiendo a trabajar mejor con la levadura, mi cerveza mejoró. Me obsesioné con hacer la mejor cerveza posible y participé de muchos concursos para obtener información objetiva sobre la calidad de la cerveza. Alteraría recetas, técnicas y las

variables de la levadura de una en una, hasta que entendí qué efecto tenían mis acciones sobre los resultados. A medida que mi conocimiento se acrecentaba, sentía que debía comportarme como aquellos que me ayudaron al compartir aquel conocimiento. Esto es lo que me llevó a presentar programas en la *Brewing Network* y a escribir sobre la elaboración de cerveza. Mi amigo John Palmer me inició en el sendero de los libros con nuestra colaboración en *Brewing Classic Styles*, y cuando se presentó la oportunidad de trabajar en un libro sobre la levadura con Chris White, sentí que era una oportunidad que no podía dejar pasar. Escribir un libro autorizado de esta envergadura era un reto, pero creo que tuvimos éxito en capturar una gran cantidad de información que yo solía usar para llevar mis cervezas de insípidas a premiadas. Mi esperanza es que este libro inspire a los lectores a tener una pasión por la levadura tanto como lo hacen por la cerveza. Como mi hija Karina tan elocuentemente lo remarcó, espero que la levadura sea fuerte dentro de ti, y también utilizarás esa pasión para hacer avances en tu propia calidad de la cerveza.

Parte 1. La Importancia de la Levadura y la Fermentación.

Una Breve Historia de la Levadura

Algunos historiadores creen que la civilización se desarrolló a partir de un deseo de beber cerveza. Especulan que la transición de cazador-recolector a agricultor, y el comienzo de la civilización, fue para sembrar cultivos para hacer cerveza. Por supuesto, los primeros cerveceros no podrían haber hecho cerveza sin levadura. Sin levadura, no hay cerveza. Sin cerveza, no hay civilización. Por lo tanto, realmente tenemos levadura para agradecerle por todas nuestras comodidades de hoy en día y la deliciosa cerveza. Hace miles de años en Mesopotamia, nadie entendía que la levadura natural en el suelo y las plantas era fundamental para la creación de la fermentación. Los antiguos cerveceros y viñateros confiaron en estas fuentes de levaduras naturales para inocular sus fermentaciones. Durante la mayor parte de la historia la fermentación fue un misterio divino. Una ofrenda puesta delante de un santuario y un rezo de varios días se transformaría en una bebida embriagante. Los implementos para la elaboración de la cerveza se convirtieron en reliquias de familia. Comenzaron a llamar a la espuma que por arte de magia aparecería en la superficie de la cerveza “god is good” (dios es bueno), y que con reverencia transferían a otro recipiente para comenzar otra fermentación. Los investigadores creen que los cerveceros comenzaron a reutilizar la levadura de batch

en batch en el siglo XII, comenzando el proceso de domesticación de la levadura. Los cerveceros y bebedores querían cerveza que se degustara mejor y que tuviera una vida útil más larga. Los cerveceros reutilizaban la levadura de batches exitosos y descartaban la levadura de los malos batches, sin saberlo, poniendo presión selectiva sobre la levadura. Antes de que los microscopios nos permitieran ver la levadura, nadie sabía exactamente lo que sucedía durante la fermentación. En 1680, más de un siglo después de que la ley de pureza entrara en vigor (Reinheitsgebot, 1516), Anton van Leeuwenhoek fue el primero en observar, a través de un microscopio, que la levadura estaba compuesta de elementos pequeños, interconectados. Curiosamente, no se dio cuenta de que estaba viva. En ese momento, la teoría más comúnmente aceptada de la fermentación era la de un proceso espontáneo (una reacción química promovida por contacto con el aire) y la levadura era un subproducto químico. Otro siglo más tarde, en 1789, Antoine-Laurent Lavoisier describió la naturaleza química de la fermentación como partes de azúcar convirtiéndose en dióxido de carbono y alcohol. Sin embargo, los científicos aún no hacían la conexión

entre la levadura y esta conversión de azúcar en etanol. No fue sino hasta mediados del siglo XIV que Louis Pasteur estableció que la levadura era un microorganismo vivo, llevando a la creación de un campo independiente de estudio llamado bioquímica. Los avances realizados, como resultados directos o indirectos de la investigación de la cerveza, guiaron a nuestra comprensión de cómo funcionan las células y sentaron las bases para muchos otros avances en la investigación científica. No es exagerado sugerir que Pasteur hizo los mayores avances que cualquier persona en la historia de la cerveza, y que estos progresos y otros llevaron a algunos avances importantes para el conjunto de la civilización. Sus estudios sobre la fermentación de la cerveza y el vino allanaron el camino para su obra posterior sobre el ántrax, la rabia, el cólera y otras aflicciones, lo que llevó al desarrollo de las primeras vacunas. Cuando Pasteur comenzó a trabajar con la fermentación de la cerveza en la década de 1860, la mayoría de la gente creía que la levadura no era el agente causante de la fermentación. La cerveza es una sopa compleja de material que contiene proteínas, ácidos nucleicos, bacterias, levaduras y mucho más. Los científicos sabían que la levadura era parte de la mezcla, pero la consideraban como un subproducto de la fermentación. Creían que la generación espontánea catalizada por el aire causaba la fermentación. La teoría de la generación espontánea sosténía que las levaduras y las bacterias eran creadas de forma espontánea en la fermentación. En ese tiempo, la teoría de que las células vivas podían llevar a cabo la fermentación era demasiado “biológica”. Los científicos aún no habían perfeccionado sus técnicas

de esterilización y esta era una de las razones por las que la teoría de la generación espontánea persistió, después de todo, si un científico creía que esterilizaba un medio, el área todavía contenía células que se multiplicarían más tarde, parecía que la generación espontánea era la respuesta. Pasteur no creía esto. Pasteur se basó en su estudio del vino y no creía que hubiera suficiente aire presente para explicar el crecimiento de la población de levaduras durante la fermentación. Él diseñó un experimento sencillo que pondría fin a la teoría de la generación espontánea. Hoy conocemos el experimento de Pasteur conocido como la fermentación “cuello de cisne”. Llenó un matraz de cuello de cisne con un mineral esterilizado. Pasteur fue afortunado de haber utilizado un medio con un pH que era lo suficientemente ácido para permanecer estéril en su experimento. De hecho, algunos de los frascos que preparó todavía siguen siendo estériles para el día de hoy. El aire puede entrar, pero el cuello de cisne atrapa cualquier polvo, el cual lleva levadura y bacterias. Dado que el polvo no puede alcanzar el medio, no hay fermentación. Si el aire era todo lo que se requería para la fermentación, la fermentación

todavía procedería, pero no es así. Sólo cuando el frasco es inclinado puede entrar líquido del cuello, tomando bacterias y levaduras, y la fermentación puede empezar.

Esta fue una idea polémica, y Pasteur pasaría los próximos quince años realizando experimentos para probar ciertos aspectos. También trabajó con diferentes azúcares, incluidos los de las frutas. En 1879 su teoría estaba firmemente arraigada y escribió, “...ya no necesitamos decir, 'creemos', sino que, en su lugar, 'afirmamos' que ello es correcto”, en relación a la fermentación alcohólica y la levadura. Esto fue importante por muchas razones más allá del valor académico. Una vez que sabes la causa de algo, puedes controlar mejor el proceso que lo causa. La elaboración de cerveza pasó de algo que era mágico, con un cervecero que tiene poco control, a algo que el cervecero podría controlar simplemente mediante la comprensión de la levadura. Pasteur comprendió de inmediato él no sólo demostró lo que la levadura estaba haciendo, sino que teorizó que las bacterias y otras levaduras presentes eran la causa de sabores desagradables. Después de todo, el objetivo de su trabajo original fue descubrir cómo evitar la “enfermedad de la cerveza”. Algunas cervecerías adoptaron sus ideas y comenzaron la limpieza de sus cultivos de levaduras y cervecerías. Una de estas fue la cervecería Carlsberg en Dinamarca. Los Laboratorios Carlsberg, bajo la dirección de Emil Christian Hansen, aislaron la primera cepa de levadura lager y se la llevó al mundo de la elaboración de la cerveza el 12 de noviembre de 1883. Su nombre científico es *Saccharomyces carlsbergensis* ó *Saccharomyces uvarum* (ahora *S. pastorianus*), pero la mayoría de los cerveceros la llaman “levadura lager”. Hansen también fue el primero en desarrollar técnicas de cultivo puro, técnicas que aún usamos hoy en día en los laboratorios de microbiología. Fueron estas técnicas las que permitieron a los Laboratorios Carlsberg aislar el cultivo de levadura lager pura. No sólo fue Hansen capaz de hacer crecer esta nueva levadura lager en forma pura, sino que también fue capaz de almacenarla durante largos períodos en una combinación de mosto y agar. Esta combinación de aislamiento de cultivos puros y de almacenamiento a largo plazo permitió a los cerveceros transportar la levadura lager a todo el mundo y poco después, la elaboración de la cerveza lager superó a la elaboración de cerveza ale en todo el mundo.

Figura 1.1:



Bustos de Louis Pasteur (izquierda) y de Emil Christian Hansen (derecha) decorando la vieja cervecería Carlsberg en Copenhague. Fotos cortesía de Troels Prahl.

¿Por qué la cerveza lager llegó a ser tan popular? En el momento en que Hansen aisló la levadura lager, la mayoría de las fermentaciones Ale aún contenían alguna levadura salvaje y bacterias. La cerveza resultante, incluso si era aceptable en un primer momento, tenía una vida útil corta antes de que se pusiera mala. Para muchas personas (a menos que trabajaran en una cervecería) la primera cerveza de degustación limpia que tuvieron probablemente fue una cerveza lager. La cerveza lager también era fermentada en frío, lo cual suprime el crecimiento de la levadura salvaje y de bacterias. Por lo tanto, la cerveza lager tenía una vida útil más larga, lo que implicaba un área de distribución más grande y un aumento en las ventas. Es posible que muchas cervecerías cambiaron a la cerveza lager porque la vieron como una oportunidad para aumentar sus ventas. Hoy en día, con las técnicas modernas de cultivo puro y las buenas prácticas de higiene, la cerveza ale también está libre de contaminación, pero la cerveza lager de mercado masivo continúa prosperando. ¿Es marketing o es el sabor más atractivo para el bebedor de cerveza actual?

Por qué la Fermentación Es Tan Importante

Pensamos el proceso de elaboración de la cerveza como dividido en dos etapas o fases: la parte caliente y la parte fría. La parte caliente es el proceso de cocción (elaboración), que tiene lugar en la sala de cocción. La parte caliente implica el diseño de recetas, la molienda, la maceración y el hervor del mosto y los lúpulos. El producto de la parte caliente, el mosto lupulado, proporciona el alimento para la levadura en la segunda fase, la parte fría. La parte fría

comienza cuando el cervecero enfriá el mosto, agrega la levadura y la fermentación se lleva a cabo. Dependiendo de la receta, la levadura metaboliza aproximadamente del 50 al 80 por ciento del extracto de mosto, con la proteína siendo el resto, dextrinas, y otros compuestos no metabolizados. La obra de Karl Balling demostró que la levadura convierte el 46,3 por ciento del extracto en dióxido de carbono, el 48,4 por ciento en etanol, y el 5,3 por ciento en la nueva masa de levadura (De Clerck, 1957). A pesar de que estos números suman el 100 por ciento, hacen caso omiso de un aspecto muy importante de la fermentación: mientras metabolizan el extracto, las células de levadura también producen cientos de otros compuestos. Estos compuestos existen en cantidades muy pequeñas, suma total que es menos del 1 por ciento de la masa del extracto metabolizado, pero contribuye enormemente al sabor, y de hecho contribuye lo que es la esencia de la cerveza. Los tipos y cantidades de estos compuestos de sabor de ninguna manera son constantes y pueden variar enormemente dependiendo de la salud de la levadura, la tasa de crecimiento, la sanitización y otros factores. Los cerveceros pueden evitar o corregir muchos de los problemas que surgen en la parte fría del proceso a través de la producción de mosto sanitizado y creando un ambiente óptimo para la levadura. Con el dominio de la parte fría, ganamos un mejor control sobre los sabores, aromas, apariencia y texturas de nuestra cerveza. Es esta, la parte fría y cómo el cervecer manipula, el enfoque principal de este libro.

Mejora de la Calidad de la Fermentación

Así que, si la parte de la levadura es tan importante, ¿qué podemos hacer para que sea mejor? El primer paso es reconocer cuándo hay un problema con la levadura. Mientras que un gato puede llorar cuando tiene hambre o está herido, la levadura no puede vocalizar. Sin embargo, podemos detectar muchos de sus pedidos de auxilio mirando, escuchando, saboreando, oliendo y sintiendo. Sí, sintiendo. Conoce a tu levadura en todas las formas posibles. Conviértete en un susurrador de la levadura,

si puedes. Empieza por aprender cómo la levadura actúa cuando la cerveza tiene un gransabor. Toma notas sobre la fermentación y mide todas las variables que puedas. Extrae un poco de levadura del fermentador en diferentes etapas y revisala. Una vez que sepas cómo funciona, mantén un ojo sobre los cambios en la atenuación, malos sabores, la fermentación lenta y los cambios en la floculación. Establece un área dedicada de tu cervecería o de tu casa para tu propio laboratorio básico. Con unas pocas herramientas simples, puedes aprender aún más haciendo pruebas tales como la fermentación forzada y las placas de mutación.

Tendrás que meterte en el hábito de contar tu levadura. Por lo menos, medir el volumen o el peso de la levadura que inoculas cada vez que elaboras cerveza. Mide su viabilidad sobre una base regular, también. Usando el mismo número de células en el mismo nivel de viabilidad cada vez es importante en el desarrollo de la cerveza consistente. La cepa de levadura que utilizas también es de vital importancia para todo lo relacionado con la fermentación. Como las personas, cada cepa tiene una personalidad distinta. De hecho, las sucesivas generaciones de la misma familia de la levadura tendrán sus propios atributos únicos, ya sea relacionados con la temperatura de fermentación, los requerimientos de oxígeno o el nivel de atenuación. Al final, tal vez el factor más importante para una buena fermentación es la prevención de la contaminación que compite con tu levadura. No puedes lograr nada de esto en la parte caliente. A demás del hervor, la lucha contra la contaminación sucede en la parte fría. Si controlas la parte fría con tasas de inoculación consistente, si comprendes el comportamiento de tu levadura y si logras mantener todo muy limpio, tienes una oportunidad y una excelente probabilidad de hacer una gran cerveza.

Lo Esencial de la Buena Fermentación

¿Qué sucede exactamente durante la fermentación? Cuando la levadura fermenta una solución, se produce una transformación a partir de una sustancia azucarada a una alcohólica, con el beneficio agregado de un pH más bajo y compuestos vitales del sabor de la cerveza. Un pH bajo proporciona protección adicional de productos fermentados contra las bacterias nocivas y los compuestos de sabor (ésteres, alcoholes de alto peso molecular, compuestos de azufre y muchos más) agregan las características que hacen que la cerveza tenga el gusto en la forma en que lo hace. Si fueras simplemente a agregar etanol puro al mosto o zumo de uva, no tendría gusto a cerveza o vino, ya que carecería de aquellos subproductos críticos de la fermentación. ¿Qué necesitamos para que la fermentación se lleve a cabo? Muchos libros detallan la bioquímica de la célula de levadura, pero este no es un libro de biología de la levadura. Para el cervecero, la buena fermentación se centra más en lo que tienes que hacer y qué equipo necesita, además de la levadura y un líquido azucarado adecuado para que se produzca la fermentación. Sin embargo, para que las fermentaciones trabajen bien y se logren los sabores, aromas y sensación en la boca que queremos, necesitamos los azúcares adecuados, levadura saludable, nutrientes, temperatura controlada y equipos para monitorear el progreso de la fermentación. En pocas palabras, necesitamos una fermentación controlada.

Levadura

La parte más importante de la fermentación es la levadura. La levadura convierte el azúcar en alcohol, dióxido de carbono y otros compuestos que influyen en el sabor de los alimentos y las bebidas fermentadas. La levadura hace esto con el fin de hacer energía y obtener material para la reproducción. No les importa que estés tratando de hacer cerveza. ¿Qué tipo de levadura necesitamos? Ah, aquí es donde se pone interesante. Muchas levaduras pueden convertir el azúcar en alcohol, pero tendrás que usar una cepa que cree los mejores sabores para tu cerveza. A veces la historia escoge una cepa para ti. Podría ser una cepa de levadura traída a la cervecería hace cien años, o puede ser una cepa especificada en una receta, para la precisión estilística. Si tienes la flexibilidad de elegir, es posible hacer tu propia investigación sobre la mejor variedad a utilizar u obtener asesoramiento de un proveedor o de colega cervecero. Independientemente de qué cepa selecciones, debe estar en buen estado de salud e inoculada en la cantidad correcta para la óptima fermentación. Si compras levadura de un laboratorio, éste a menudo garantiza un cierto nivel de pureza y aporta las cantidades necesarias para inocular directamente en tu cerveza. Si vas a comprar una cantidad menor que la cantidad a inocular o a hacer crecer tu propia levadura de un *slant* o placa, presta especial atención a la viabilidad, vitalidad y pureza del cultivo de levadura en todo tu proceso.

Azúcar

La levadura se alimenta con azúcares para crear el alcohol, pero las fuentes de azúcar y su complejidad darán lugar a variadas condiciones de fermentación. La mayoría de los cerveceros saben que el tipo de azúcares creados en la maceración, presentes en el extracto de malta o agregados a la olla de hervor o fermentador afectan a la fermentabilidad del mosto. Como regla general, los azúcares más simples son más fermentables que los azúcares más complejos de cadena más larga. Una cosa que muchos cerveceros no saben es que el tipo de azúcares presentes también puede afectar a los sabores de fermentación. Por ejemplo, la fermentación de mosto alto en glucosa produce cervezas con más altas concentraciones de ésteres que las normales (especialmente acetato de etilo, que tiene gusto como a adhesivo o solvente, y el acetato de isoamilo, que tiene gusto a banana). Por el contrario, el mosto alto en maltosa resulta en concentraciones más bajas de estos ésteres. Cuanto mayor sea la densidad inicial, más pronunciado es este efecto. La fuente de los azúcares también puede afectar a la fermentación a través de diferencias en nutrientes y precursores del sabor. Si bien la fuente más común para la cerveza es la cebada malteada, cerveceros de todo el mundo utilizan muchos almidones diferentes. Por ejemplo, el sorgo es muy popular en África, y está

ganando interés en América del Norte como un ingrediente alternativo para los consumidores con alergias al trigo. Los cerveceros también utilizan el trigo, el maíz, el arroz, y azúcares y jarabes procesados. La adición de un almidón adjunto tales como arroz o maíz al macerado todavía da lugar a los mismos tipos de azúcares (principalmente maltosa), ya que las mismas enzimas de malta que convierten la cebada malteada convertirán los almidones adjuntos. La preocupación cuando se usan grandes porciones de malta que no son de cebada es que el almidón adjunto a menudo carece de los mismos nutrientes y precursores de sabor que la malta de cebada, afectando así a la fermentación y el sabor de la cerveza.

Oxígeno

El oxígeno es un factor crítico en el crecimiento de la levadura y a menudo es el factor limitante. La levadura usa oxígeno para la síntesis de esterol. La levadura usa esteroles para mantener las paredes celulares flexibles, lo cual es importante para el crecimiento celular y la salud general de la célula. Previo a la fermentación, la aireación del mosto enfriado es necesaria para promover el crecimiento de la levadura. Consideramos 8-10 ppm de oxígeno el nivel mínimo, con la cantidad de oxígeno necesaria variando por la cepa de levadura y otros factores, incluyendo la densidad específica. Las cervezas con altas demandas de levadura, tales como cervezas lager y cervezas de alta densidad, tienden a requerir más oxígeno. Contrariamente a lo que muchos cerveceros creen, es posible sobre-oxigenar tu mosto cuando se utiliza oxígeno puro. Si proporcionas un exceso de oxígeno, se puede producir un crecimiento excesivo, la creación de un exceso de subproductos de la fermentación y resultando carácter de fermentación menor que el ideal.

Nutrientes

Las células de levadura tienen 100 por ciento de sus vitaminas y minerales esenciales (nutrientes) para sobrevivir a través de una fermentación correctamente alimentada y estar lista para trabajar de nuevo otro día, de la misma manera que lo hacen los humanos. Un mosto todo-malta es una excelente fuente de nitrógeno, minerales y vitaminas. Suministra la mayor parte de vitaminas que necesita la levadura para la fermentación adecuada, tales como riboflavina, inositol y biotina. La levadura también requiere de varios minerales esenciales, como el fósforo, azufre, cobre, hierro, zinc, potasio, calcio y sodio. A medida que la levadura toma minerales y vitaminas del mosto, comienza a fabricar las enzimas necesarias para el crecimiento y la fermentación. Podemos mejorar

fácilmente la salud y el rendimiento de la levadura al asegurar que tengan los niveles adecuados de nutrientes. Si vas a reutilizar la levadura, esto es especialmente importante para la continuación de la salud de la levadura. Varios suplementos nutricionales de levadura comercialmente disponibles hacen que sea fácil asegurar que el mosto contenga los minerales y las vitaminas adecuadas para la salud de la levadura.

Sistemas de Fermentación

Los diferentes sistemas de fermentación crean muy diferentes resultados. Tradicionalmente, los cerveceros utilizaban grandes recipientes de fermentación abiertos, los cuales eran ventajosos por varias razones. Uno de ellos es que ofrecía a los cerveceros la posibilidad de cosechar la levadura para muchas generaciones porque podían sacar la levadura de la superficie. Estos recipientes todavía son muy populares en Inglaterra. Hace muchos años los cerveceros fermentaban cervezas con una combinación de levadura nativa y levadura del cervecer, reutilizadas de batch a batch. Todavía puedes encontrar este tipo de cervezas en la actualidad, aunque la mayoría de las cervezas modernas están hechas con cepas individuales. Sin embargo, estos grandes recipientes de fermentación abiertos tienen sus propios problemas.

Pueden ser difíciles de limpiar y no son tan higiénicos como los equipos de fermentación modernos y cerrados. La mayoría de los cerveceros actuales usan fermentadores con fondo en forma de cono, que tienen sus propias ventajas y desventajas. Estos fermentadores ofrecen tecnología CIP (limpieza en el lugar) y un excelente control de la temperatura, pero fermentadores extremadamente altos pueden poner estrés adicional en la levadura. Las presiones parciales aumentadas de los gases en solución pueden afectar al rendimiento de la levadura y el sabor de la cerveza. Los cerveceros caseros tienen la ventaja del tiempo y la libertad económica, por lo que pueden utilizar de todo, desde fermentadores abiertos a versiones más pequeñas de fermentadores cilindro cónicos comerciales.

Control de la Temperatura

El control de temperatura es esencial para una cerveza coherente, de alta calidad. Esto es mucho más importante que la diferencia entre los fermentadores cónicos de acero inoxidable y los cubos de plástico. Una de las cosas más importantes para aprender de este libro es la importancia de la temperatura de fermentación en la calidad de la cerveza. Cuando surge un problema y no es un problema de contaminación, el primer

lugar para buscar es la temperatura de la cerveza en todas las fases de la fermentación, desde la inoculación hasta el acondicionamiento final. Las altas o bajas temperaturas propagan la producción de muchos precursores de mal sabor al principio de la fermentación. La temperatura también afecta la capacidad de la levadura para producir muchos de los compuestos de sabores indeseados al final de la fermentación. Los grandes e incontrolados cambios de temperatura producen resultados pobres, especialmente cuando el tamaño del batch es pequeño. Cuanto más pequeño es el tamaño del batch, más rápidamente se ve afectado por los cambios en la temperatura ambiente.

Monitoreo de la Fermentación

Los equipos y métodos de monitoreo pueden variar ampliamente en costo y complejidad. Un cervecero puede lograr mucho con algo tan simple como el poder de observación, un termómetro y un par de pruebas manuales básicas. Las cervecerías comerciales más grandes a menudo invierten en sofisticados sistemas de pruebas computarizados. Las mediciones más importantes durante la fermentación (en orden de prioridad) son la temperatura, la densidad específica, el pH, el oxígeno y el dióxido de carbono. Lo importante a tener en cuenta es la necesidad de mediciones regulares y el seguimiento del progreso de la fermentación. Debes llevar registros, y parte de cada registro debe incluir notas detalladas sobre la cantidad de levadura que inoculaste, su fuente, su viabilidad, la densidad y el pH de la cerveza, el volumen de cerveza, las temperaturas y las notas de progreso diario. Es a través de tu rigurosa atención a la fermentación que vas a encontrarte con problemas desde el principio, tal vez ahorrando un considerable costo en producto perdido.

Parte 2. Biología, Enzimas y Ésteres.

Biología de la Levadura

Dijimos que este no es un libro de biología, pero necesitamos comprender un poco de biología para trabajar mejor con este diminuto organismo. Los

taxonomistas han clasificado a la levadura como parte del reino de los hongos.
Otros reinos

incluyen bacterias, animales y plantas. La mayoría de los organismos en el reino de los hongos, como el moho y los hongos, son pluricelulares, pero la levadura es un organismo unicelular. Esto significa que la levadura no tiene formas de protección que tienen los organismos multicelulares, como una piel. Sin embargo, estos pequeños organismos unicelulares son sorprendentemente resistentes, componiendo en números y replicación rápida lo que les falta en protección. Una única célula de levadura es de aproximadamente 5 a 10 micrones de tamaño y de forma redonda u oval. Una célula de levadura es diez veces más grande que las bacterias, pero todavía demasiado pequeña para ser vista por el ojo desnudo. De hecho, se necesitan más de diez células de levadura para igualar el diámetro de un cabello humano. Una colonia de levadura pequeña, visible en una placa de Petri, contiene al menos 1 millón de células. Hay más de 500 especies de levadura y dentro de cada especie hay miles de diferentes cepas de levadura. Encontramos levadura en todo el mundo viviendo en el suelo, sobre insectos y crustáceos, en animales y en las plantas. En los primeros días, los taxónomos clasificaron a la levadura como parte del reino vegetal. Busca en cualquier pedazo de fruta madura y puedes estar seguro de que la levadura está por todas partes. La levadura puede viajar en el polvo y las corrientes de aire pueden llevar levadura a nuevas áreas. La levadura se asienta sobre casi todas las superficies, ansiosa por encontrar más azúcares para fermentar para poder multiplicarse. Mira la luz del sol que entra por la ventana de la cervecería. ¿Ves las partículas de polvo? Hay una buena probabilidad de que estén llevando levadura nativa y bacterias, también, a la espera de una oportunidad de aterrizar en tu cerveza. La mayoría de los cerveceros no quieren levadura nativa en su cerveza y que ellos llaman levadura silvestre. ¿Pero qué pasa con la segunda cepa de levadura del cervecer que accidentalmente termina en nuestra cerveza? Consideramos cualquier levadura que no tenga control del cervecer como una levadura silvestre y utilizaremos esa definición para el resto de este libro. Sin embargo, cuando la mayoría de la gente habla de la levadura silvestre por lo general se refieren a las cepas que no son levadura cervecer. Los cerveceros, viñateros y destiladores utilizan unas pocas especies muy específicas de levadura para sus productos. El tipo de levadura para el cervecer es la *Saccharomyces*, la cual se deriva del griego latinizado y significa “hongo de azúcar”. Hay dos principales especies de levadura de cerveza, ale y lager: *S. cerevisiae* (levadura ale) y *S. pastorianus* (levadura lager). Los taxónomos van y vienen sobre si la

S. pastorianus es un miembro de la especie *S. cerevisiae* o es su propia especie. Actualmente las consideran por separado y esto está de acuerdo con el mundo cervecer. La levadura lager ha tenido otros nombres en el pasado. *Uvarum* y *S. carlsbergensis*. Los viñateros más comúnmente utilizan ya sea *S. cerevisiae* o *S.*

Bayanus, y es interesante notar que la levadura lager parece haber evolucionado a través de la rara la hibridación de las dos especies (Casey, 1990).

Genética de la *S. Cerevisiae*

Un gen codifica una proteína y la levadura tiene alrededor de 6000 genes. Sabemos esto porque la levadura fue el primer organismo eucariota en tener todo su genoma secuenciado por una comunidad internacional de científicos en 1996. Los genes son parte de los cromosomas y la levadura tiene diecisésis cromosomas diferentes. En comparación, las bacterias tienen un cromosoma y las células humanas tienen veintitrés.

Normalmente, las células de levadura y humanas son diploides, lo que significa que contienen dos copias de cada cromosoma; las células haploides sólo contienen una única copia de cada cromosoma. La levadura en la naturaleza suele ser diploide y contiene treinta y dos cromosomas, dos copias de cada uno de los diecisésis cromosomas. La levadura forma esporas en el medio silvestre, la cual es una parte clave de su ciclo de apareamiento. Este apareamiento entre células de levadura silvestre conduce a un cambio evolutivo y es bueno para la diversidad de levadura y la salud. Sin embargo, nosotros, como cerveceros queremos consistencia de la levadura, no diversidad y cambio genético rápido. Afortunadamente para nosotros, los cerveceros del pasado trabajaron con diligencia, seleccionando y reutilizando la levadura hasta el punto en que la levadura de cerveza finalmente perdió la capacidad de formar esporas y perdió la capacidad de aparearse. La pérdida de la capacidad de aparearse seriamente restringió el cambio evolutivo, y hoy en día los cerveceros pueden contar con levadura para ser más consistente de batch a batch. A demás, la levadura de cerveza desarrolló más de dos copias de cada gen, un caso conocido como poliploidía. Aunque las copias de un cromosoma no son necesariamente isogénicas (idénticas), la belleza de la poliploidía está en que una mutación en un gen no incapacita la célula; la levadura tiene varias copias del gen para hacer el producto de proteína necesario. La poliploidía en la levadura de cerveza es posiblemente el resultado de los cerveceros aplicando presión evolutiva sólo mediante la selección de la levadura que se comportó como el último batch para su reutilización. La genética de la levadura determina si una célula es una levadura ale o una levadura lager. La genética también determina todo lo demás en una célula. A pesar de que sabemos la secuencia de ADN (ácido desoxirribonucleico) de la

S. cerevisiae, todavía no sabemos lo que hace cada gen. Son las pequeñas diferencias en la expresión del genotipo y medio ambiente que determinan el fenotipo de la levadura. El fenotipo es cada característica de la célula: qué azúcares come, lo que produce, demandas nutricionales y de oxígeno que tiene. Los científicos están buscando

maneras de ver qué genes están activos en un momento dado, pero hasta ahora, esto ha resultado en poca ayuda para los cerveceros. En la actualidad los cerveceros todavía se basan en las mismas técnicas que los cerveceros del pasado: mirar lo que hace la levadura durante la fermentación (fenotipo) con el fin de determinar la identidad, la condición, el rendimiento y la pureza de la levadura.

Estructura de la Célula de Levadura

La pared celular

La pared celular es una pared gruesa, mayormente una barrera de hidratos de carbono que rodea a la célula. Una pared celular de levadura podría ser una cesta de mimbre protegiendo su contenido. Los polisacáridos, proteínas y lípidos constituyen hasta el 30 por ciento del peso seco de la célula. Aproximadamente el 10 por ciento de la proteína está pegada en la pared celular. Hay tres capas reticuladas. La capa interna es una capa de quitina, compuesta en su mayoría de glucanos; la capa externa es principalmente manoproteínas; y la capa intermedia es una mezcla de las dos (Smart, 2000). Cuando una célula de levadura se clona a sí misma y hace una nueva célula hija, crea una cicatriz permanente en la pared celular, llamada una cicatriz de gemación. Una cicatriz de gemación se compone sobre todo de quitina, el mismo material que se encuentra en los exoesqueletos de los insectos (Boulton y Quain, 2001). Las cicatrices de gemación a veces son visibles bajo el microscopio óptico. Durante un ciclo de fermentación, la levadura de cerveza por lo general gema sólo unas pocas veces, pero en un entorno de laboratorio, puede gemar hasta cincuenta veces. En general, la célula de levadura ale promedio no gema más de treinta veces durante su vida útil (en múltiples ciclos de fermentación), y la levadura lager gema sólo veinte veces antes de que no sea capaz de gemar más.

Figura 2.1:

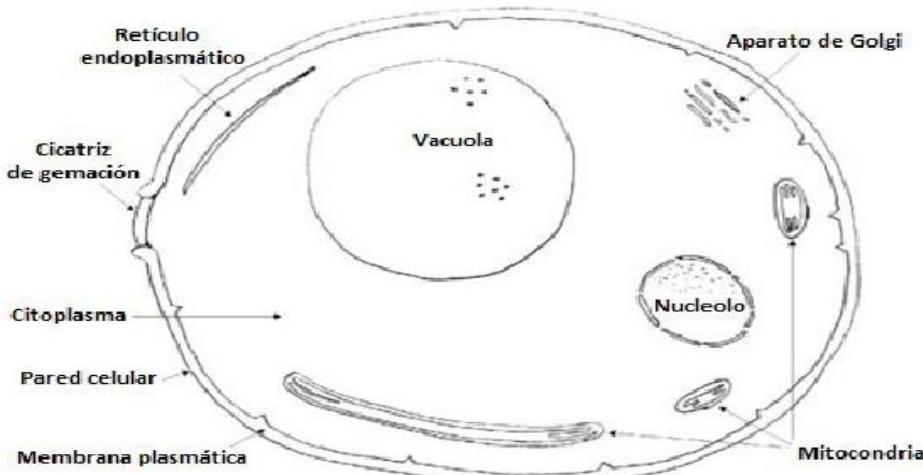


Diagrama simplificado de la estructura de una célula de levadura. Membrana plasmática.

La membrana plasmática, o la membrana celular, es una bicapa de lípidos entre la pared celular y el interior de la célula.

Esta membrana semi-permeable, determina lo que entra y sale de la célula, proporcionando también protección ambiental adicional. Los lípidos, esteroles y proteínas componen esta membrana y le dan fluidez, flexibilidad y capacidad de brotar para formar una nueva célula hija. La levadura requiere oxígeno molecular para poner dobles enlaces en los ácidos grasos y para controlar el nivel de saturación de dichos ácidos. El nivel de saturación determina la facilidad y el grado de enlaces de hidrógeno que puede darse entre los ácidos grasos y determina su punto de fusión. En los lípidos, el nivel de saturación controla el grado en que la unión de hidrógeno puede darse entre las colas hidrófobas de los lípidos. La fluidez de la membrana es necesaria para la adecuada función de la membrana. Las bicapas lipídicas son por su naturaleza fluidas y esa fluidez se determina por la medida en la que los lípidos se unen entre sí. Mediante el control del nivel de saturación en sus membranas lipídicas, la levadura es capaz de mantener la fluidez de la membrana adecuada a diferentes temperaturas, tales como la temperatura de fermentación deseada por el cervecer. Sin la aireación adecuada la levadura es incapaz de controlar la fluidez de la membrana hasta el final de la fermentación, lo que lleva a una fermentación trabada y a sabores indeseables.

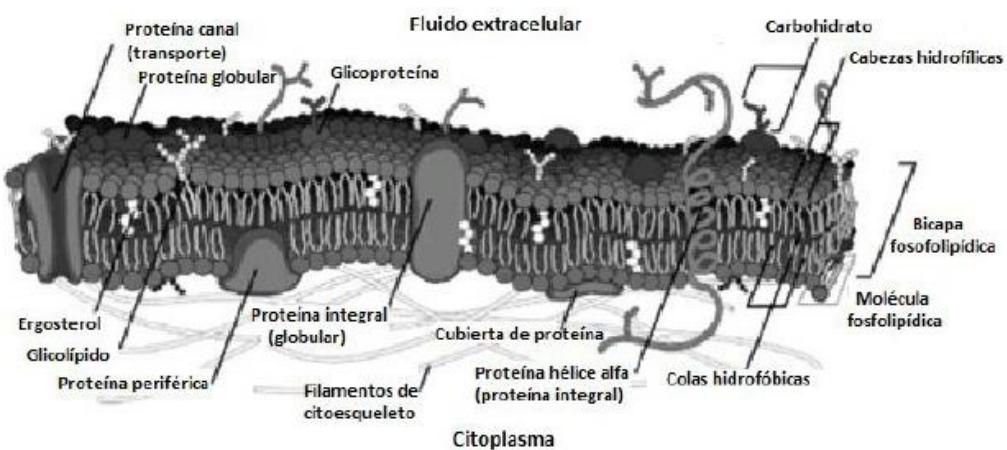
El citoplasma

Muchas cosas ocurren en el citoplasma, el cual es todo lo que hay dentro de la membrana plasmática, excepto el núcleo. El fluido intracelular, conocido como el citosol, es una mezcla compleja de sustancias disueltas en agua. Lo más importante, el citosol, contiene las enzimas implicadas en la fermentación anaeróbica. Estas enzimas permiten a la célula convertir la glucosa en energía tan pronto como entra en la célula. Los orgánulos especializados como vacuolas contienen proteasas, estas son enzimas que descomponen proteínas largas en fragmentos cortos y en algunos casos se desprenden aminoácidos necesarios. La levadura también almacena glucógeno, un hidrato de carbono de almacenamiento de energía en el citoplasma. Con la ayuda de un microscopio de luz y tinción de yodo, un cervecero puede ver el glucógeno almacenado (Quain y Tubb, 1983).

Las mitocondrias

La respiración aeróbica tiene lugar en la mitocondria. Las mitocondrias tienen una doble membrana, que es donde se produce la conversión de piruvato (un compuesto metabólico) a dióxido de carbono y agua (respiración aeróbica). Incluso en la levadura de cerveza, donde poca o ninguna respiración aeróbica se produce durante la fermentación, las mitocondrias están todavía presentes y son importantes para la salud de la célula. Las mitocondrias contienen una pequeña cantidad de ADN con los códigos para unas pocas proteínas mitocondriales. La célula hace aquí algunos esteroles, y aquí es donde se produce la formación y la utilización de acetil-CoA, que es un compuesto intermedio para muchas vías metabólicas. Los mutantes petite, células con la mitocondria dañada, a menudo crean sabores tales como fenol y diacetilo.

Figura 2.2:



Detalle de la membrana plasmática de la célula de levadura. Ilustración cortesía de Mariana Ruiz, Vacuola.

La vacuola es una estructura unida a la membrana que almacena nutrientes. Aquí es donde también la célula degrada las proteínas. La levadura de cerveza tiene grandes vacuolas, lo suficientemente grandes como para que nosotros las veamos por microscopía de luz.

Sin embargo, anormalmente grandes vacuolas son un signo de estrés.

Núcleo

El núcleo almacena el ADN de la célula. Una membrana de lípidos, similar a la membrana plasmática, envuelve el núcleo de la célula. Las células eucariotas, tales como la levadura y las células humanas, utilizan este orgánulo como el “centro nervioso”. El ADN en el núcleo guarda la información de la célula. La célula utiliza ARNm (mensajero) para transferir la información a cabo en el citoplasma para su uso en la síntesis de proteínas.

Retículo endoplasmático.

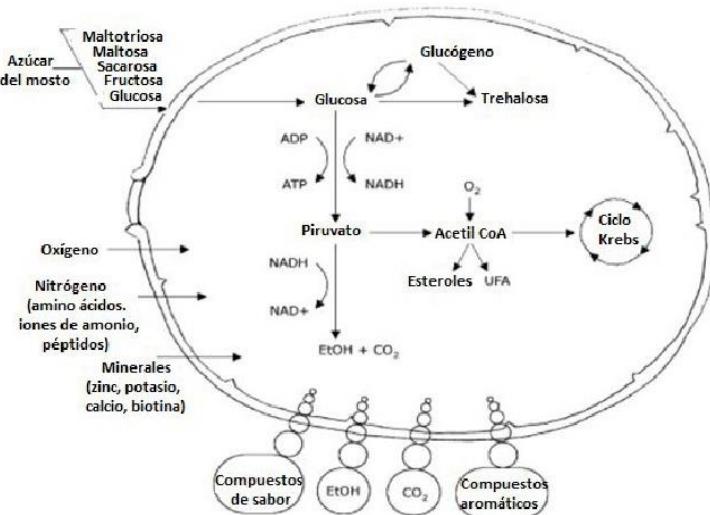
El retículo endoplásmico es una red de membranas, y es por lo general cuando la célula fabrica proteínas, lípidos y carbohidratos. Hay muy poco retículo endoplásmico en la levadura de cerveza.

Metabolismo

Las células de levadura individuales no crecen significativamente más durante su vida. Sin embargo, ellos se ponen un poco más grandes a medida que envejecen. Generalmente, cuando hablamos del crecimiento de la levadura, nos referimos al proceso de hacer nuevas células de levadura. Cuando decimos que la levadura está creciendo, nos referimos a que la población de la levadura está aumentando en número. La levadura puede derivar la energía y los nutrientes para el crecimiento a través de varias vías diferentes, aunque algunas son más fáciles y más beneficiosas para la levadura que otras. Tras la inoculación en el mosto, las células primero utilizan sus reservas de glucógeno y todo el oxígeno disponible para revitalizar sus membranas celulares para la óptima permeabilidad y transferencia de nutrientes y azúcares. Las células absorben rápidamente el oxígeno y luego comienzan a recoger el azúcar y nutrientes del mosto. Algunos de estos compuestos se difunden fácilmente a través de la membrana celular y algunos requieren mecanismos de transporte de la levadura. Debido a que la levadura utiliza ciertos

azúcares más fácilmente que otros, recogen el azúcar en un orden específico, con azúcares simples primero: glucosa, fructosa, sacarosa, maltosa y luego maltotriosa. La mayor parte del azúcar en un típico mosto de todo-malta es maltosa, con menores cantidades de glucosa y maltotriosa. La levadura toma glucosa en la célula a través de la difusión facilitada, sin gastar ninguna energía metabólica. Es tan fácil para la levadura utilizar la glucosa que la presencia de glucosa en realidad suprime la capacidad de la levadura para utilizar maltosa y maltotriosa. Todas las levaduras de cerveza pueden utilizar maltosa, pero no todas ellas pueden utilizar maltotriosa en la misma medida. La capacidad de utilizar diferentes azúcares, las proporciones relativas de azúcares en el mosto y los nutrientes presentes en el mosto determinan mucho del metabolismo de la levadura. El metabolismo de la levadura a su vez determina la tasa de fermentación y el grado de atenuación. La absorción de oxígeno ocurre rápidamente, con la levadura generalmente agotando los niveles de oxígeno del mosto dentro de los 30 minutos de la inoculación. En la naturaleza, la levadura que se asienta sobre fruta pudriendose tiene gran cantidad de oxígeno que puede utilizar para consumir azúcar. Este es el crecimiento aeróbico, que es la forma más efectiva para un organismo de obtener la mayor cantidad de energía de una molécula de azúcar. Sin embargo, hay momentos y entornos en los que el oxígeno es limitado. El consumo de azúcar en un ambiente libre de oxígeno conduce a un crecimiento anaeróbico. Louis Pasteur acuñó el término “fermentación anaeróbica” en la década de 1860, para describir la capacidad de la levadura de crecer cuando está privada de oxígeno.

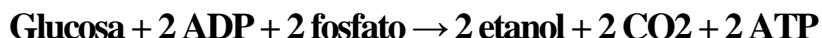
Figura 2.3:



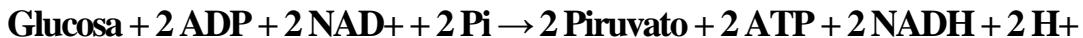
Azúcar, oxígeno, nitrógeno y minerales ingresan a la célula. El etanol, dióxido de carbono y los compuestos de sabor/aroma se escapan.

Alcohol

Una de las cosas más importantes que hace la levadura por las bebidas fermentadas es producir alcohol. Ya sea que a la industria le guste admitirlo o no, sin alcohol y su efecto en los seres humanos, la cerveza y el vino serían meras bebidas culturales regionales, como el refresco de malta. A nivel mundial, las personas consumen bebidas alcohólicas en grandes cantidades porque contienen alcohol. La ecuación general que describe la conversión de la levadura de azúcar para el etanol es:

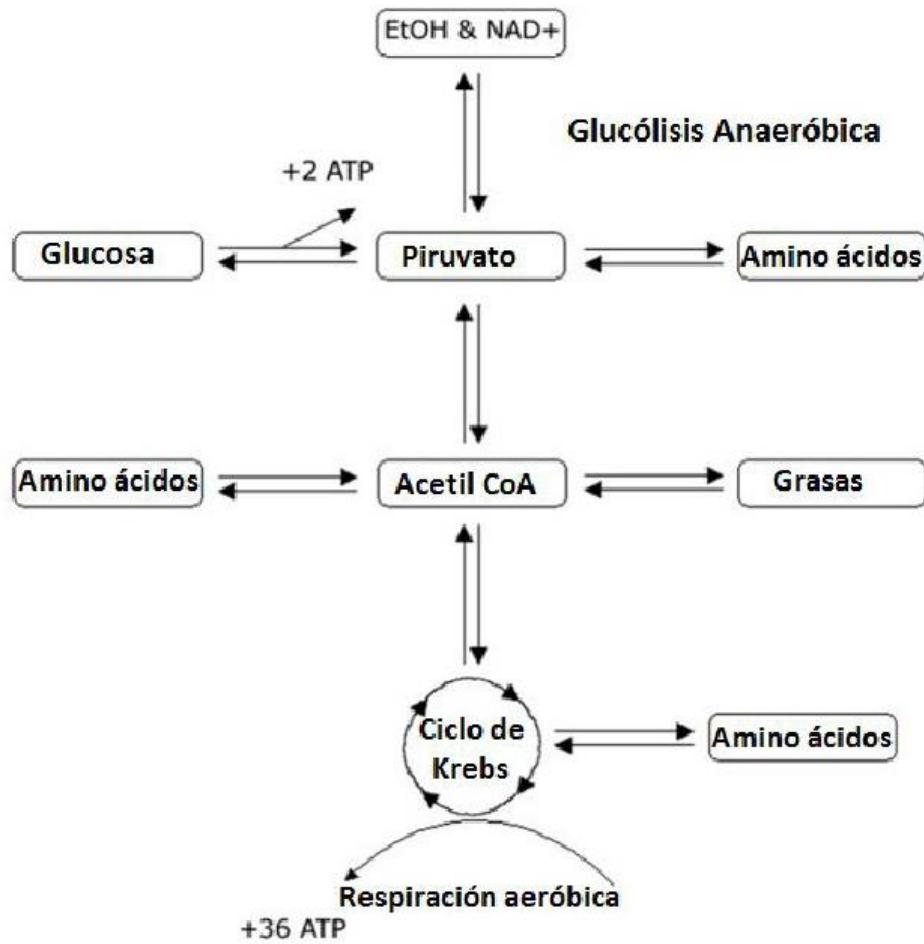


Hay muchos pasos individuales en esta ecuación, pero podemos dividir la ecuación en dos partes principales: la glucosa en piruvato, luego piruvato a etanol. La primera parte es la descomposición de una molécula de glucosa en dos moléculas de piruvato en esta reacción:



Esto ocurre dentro de la célula, en el fluido intracelular llamado el citosol. Las enzimas en el citosol catalizan esta reacción y otras reacciones metabólicas que siguen. No todo el piruvato termina como etanol. Tiene dos posibles caminos: introducir una mitocondria y descomponerse en CO₂ y agua (respiración aeróbica), o quedarse en el citosol, donde la célula lo convierte en acetaldehído y luego etanol.

Figura 2.4:

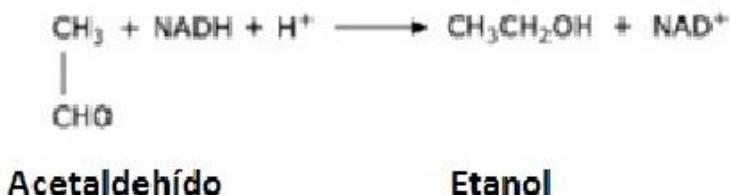


Secuencia a partir de la glucosa.

¿Qué camino preferirías, agua o etanol? Bueno, la levadura preferiría no hacer etanol y sólo producirlo en condiciones especiales, tales como niveles de azúcar altos o muy bajos niveles de oxígeno. La levadura obtiene más energía de la conversión de piruvato en agua y CO₂ en presencia de oxígeno. Para que la levadura produzca etanol, se necesita fermentación anaeróbica. La principal razón por la cual las células de levadura prefieren la respiración aeróbica es que les permite obtener el máximo de energía de una molécula de glucosa. Durante la fermentación anaeróbica, cuando produce etanol, la levadura sólo obtiene el 8 por ciento más de energía de cada molécula de glucosa. Es fácil ver por qué un cultivo de levadura es capaz de hacer brotar más células hijas con el oxígeno disponible. ¿Entonces por qué la levadura produce etanol, en definitiva, si ello es tan ineficiente? Porque el hecho de ser capaz de producir etanol le da una manera de

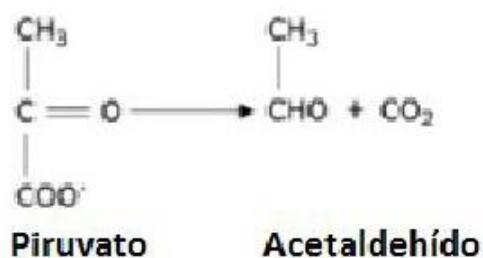
sobrevivir en un entorno más: un ambiente anaeróbico. La levadura se basa en la nicotinamida adenina dinucleótido co-enzima (NAD + y NADH) para las reacciones de reducción de oxidación (donde el dinucleótido o denicotinamida y adenina acepta o dona electrones) y como un sustrato enzimático. La levadura usa NAD + en la descomposición inicial de glucosa. Si hay oxígeno, el piruvato a partir de este paso va a la mitocondria, donde entra en el ciclo de Krebs. El ciclo de Krebs produce un compuesto rico en energía llamada trifosfato de adenosina (ATP). El ATP es importante para la célula, ya que proporciona energía a la célula para la síntesis de proteínas y la replicación del ADN, que es fundamental para el crecimiento de la población. Si la célula está sin oxígeno, el piruvato a partir de ese paso no pasa por el ciclo de Krebs. Esto conduce a una acumulación de piruvato, no hay energía (en forma de ATP), y no más NAD +. En realidad, muchos pasos componen esta secuencia, pero la conclusión es que sin NAD + no se puede llegar a la creación de piruvato y ATP. La levadura necesita “devolver NAD +” cuando no hay oxígeno, y lo hace de la siguiente manera.

Figura 2.5:



Enzima piruvato carboxilasa.

Figura 2.6:

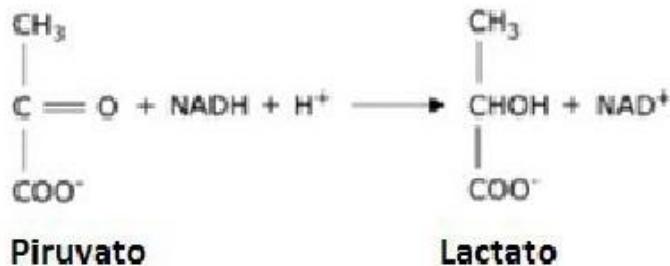


Enzima alcohol deshidrogenasa.

Una reacción de dos etapas de piruvato a etanol genera el requerido NAD +. Si bien la levadura no está exactamente feliz con la producción de etanol, por lo menos puede avanzar con dificultad. Como la levadura produce etanol, se difunde fuera de la célula. Esto es

posiblemente un mecanismo de defensa, ya que el etanol es tóxico para muchos otros organismos. De hecho, a medida que el nivel de alcohol aumenta se convierte en tóxico para la propia levadura. Cuanto mejor es la salud de la levadura, mejor pueden tolerar el alcohol y terminar la fermentación.

Figura 2.7:



La descomposición del piruvato en ácido láctico.

Este cambio en la vía de la conversión de glucosa en condiciones limitantes de oxígeno es muy similar a lo que ocurre con las células humanas cuando les falta oxígeno. Durante el ejercicio intenso, el oxígeno se limita a la actividad de las células musculares. Nuestras células musculares necesitan energía para seguir con vida y la necesitan para regenerar NAD +, por lo que en condiciones pobres en oxígeno descomponen piruvato en ácido láctico en un solo paso. Catalizadas por la enzima lactato deshidrogenasa, las células son capaces de generar el NAD + que necesitan. La única razón por la que en su lugar nuestros músculos no hacen etanol es que las células humanas carecen de la enzima descarboxilasa piruvato. Hay otra forma en que la levadura fermentará anaeróbicamente y todavía producir etanol: el efecto Crabtree. Este es muy importante para la elaboración de cerveza. Si hay una concentración suficientemente alta de glucosa, incluso en presencia de oxígeno, la levadura produce etanol (fermentación anaeróbica). El mosto del cervecero siempre contiene más que el 0,4 por ciento de glucosa requerida para el efecto Crabtree, de modo que la fermentación siempre resulta en alcohol, incluso con el oxígeno presente. El hecho es que la concentración de las enzimas glucolíticas es tan alta que durante la fermentación del mosto las levaduras producen ATP más rápido por la glucólisis sola de lo que lo hacen por fosforilación oxidativa. El problema con la exposición al oxígeno durante la fermentación no es la pérdida de etanol, sino más bien la activación de las rutas metabólicas que producen sabores desagradables. Por ejemplo, las fermentaciones de cerveza que se exponen al oxígeno tienen mayores concentraciones de acetaldehído, debido a la oxidación de etanol en acetaldehído.

Floculación

La floculación es la capacidad casi mágica de la levadura para agruparse. Es una característica importante y deseable única de la levadura de cerveza, ya que les ayuda a subir a la parte superior o se hunden hasta el fondo del fermentador. Cerca del final de la fermentación, las células individuales se agregan en grupos de miles de células. Diferentes cepas tienen diferentes características de floculación. Algunas cepas floculan antes y tienden a no atenuar tanto, mientras que otras no floculan tan fácilmente y tienden a atenuar más. La floculación que acaece demasiado pronto tiende a resultar en una cerveza que es sub atenuada y dulce. Sin embargo, cuando la levadura falla en flocular totalmente, resulta en una cerveza que es turbia con sabor a levadura. La mayoría de las cepas de levaduras silvestres no floculan bien y permanecen en suspensión durante períodos prolongados. En la naturaleza, la mayoría de las células de /levadura no quieren abandonar la suspensión, porque en suspensión tienen nutrientes y azúcar a su disposición. Todas las levaduras eventualmente abandonan un líquido con la ayuda de la gravedad, pero esto puede tomar meses, y la mayoría de los cerveceros no tiene esa clase de tiempo. De hecho, fue la presión selectiva de los cerveceros a lo largo de muchos siglos lo que mejoró la floculación en la levadura de cerveza. Mediante la cosecha de levadura a partir de la parte inferior o la parte superior del fermentador para reinoculación, los cerveceros dejaron las células de levadura que no floculaban bien. La levadura dejada atrás en la cerveza no tenía la oportunidad de replicar en el siguiente batch, sacándolas de la población. Las cepas de levaduras floculantes que utilizamos hoy en día son descendientes de ese proceso de presión selectiva. Los científicos han estudiado la bioquímica de la floculación durante muchos años, y aún hoy, el mecanismo exacto es todavía objeto de debate.

La composición de la pared celular es un factor clave en la capacidad de las células adyacentes par a pegarse entre sí. La levadura tiene una pared celular gruesa compuesta de proteínas y polisacáridos con una carga superficial neta negativa debido a los fosfatos en la pared celular. La magnitud de la carga negativa depende de la cepa de levadura, fase, crecimiento, disponibilidad de oxígeno, el hambre, el número de generación, la deshidratación y la edad celular (Smart, 2000). Las células de levadura también son hidrófobas debido a la exposición de los péptidos hidrófobos (Hazen y Hazen, 1993). El grado de hidrofobicidad es dependiente de la cepa de levadura, la fase de crecimiento, la capacidad para formar cadenas, el hambre, el número de generación, el inicio de floculación, y la formación de fibrillas (Smart, 2000). Las paredes celulares de la levadura también tienen mano proteínas, que son proteínas con un gran número de grupos de manosa unidos, para ayudar a regular la forma celular, la porosidad, y las interacciones célula-célula, incluyendo las implicadas en la floculación. El principal determinante de la floculación es la misma cepa de

levadura. Cada cepa de levadura tiene su propia secuencia de ADN única, la cual determina el conjunto exacto de proteínas que aparecen en la superficie celular. Estas pequeñas diferencias en la composición de la pared celular juegan un papel clave en el comportamiento de la floculación y determinan el grado de floculación para una cepa. Los factores que influyen en el grado de floculación incluyen la densidad inicial del mosto, la temperatura de fermentación, la tasa de inoculación y el contenido inicial de oxígeno. Ten en cuenta que nada que afecte a la salud y la tasa de crecimiento de la levadura afecta a la floculación.

Figura 2.8:

	Grado de Floculación	Notas
Alto		<p>Comienza a flocular en el día 3-5 A veces necesitan inducir la levadura Niveles más altos de diacetil y atenuación más baja Buena para ales maltoosas</p>
Medio		<p>Comienzan a flocular en el día 6-15 Ideal para las ales Limpia, producción de sabor balanceado Tambien llamada "granulada"</p>
Bajo		<p>Dejan de empezar a flocular en el día 15 La mayoría de las levaduras salvajes son de baja floculación Buenas para las <i>hefeweizen</i>, belgas Dificulta el filtrado</p>

Diferencias en la clasificación de floculación.

Los cerveceros clasifican la levadura como de floculación alta, media o baja (figura 2.8). Las cepas ale abarcan cada categoría, mientras que las cepas lager son predominantemente de floculación media. Por ejemplo, las cepas comercializadas como cepas ale inglesas o de Londres suelen ser de alta floculación. Siglos de cultivo superior en Gran Bretaña han seleccionado levadura de alta floculación. Curiosamente, a pesar de que siglos de cultivo superior han hecho a estas cepas tan floculantes, en los últimos tiempos los cerveceros han puesto presión selectiva sobre ellas para hacerlas mejor recolectoras de la parte inferior. Hoy en día son igual de floculantes, pero a menudo también son excelentes recolectoras de la parte inferior. Aquellas levaduras comercializadas como cepas ale de California/americanas son más a menudo de floculación media, y las cepas hefeweizen son buenos ejemplos de floculación baja. Si bien la alta floculación rápidamente

resulta en la cerveza clara, el filtrado puede aclarar una cerveza incluso más rápidamente, por lo que un cervecero dispuesto a filtrar puede utilizar una cepa con casi cualquier nivel de floculación. Un floculador alto comienza a agruparse en tres a cinco días. Cuando desciende al fondo del fermentador, se forma una torta de levadura sólida, compacta. De hecho, algunas cepas son tan floculantes que pueden formar tapones que bloquean las aberturas estrechas y obstruyen las válvulas. Los cerveceros caseros que trabajan con pequeños fermentadores a veces arremolinan la torta de levadura para mantener la actividad de la fermentación, pero, aun así, la torta de levadura sólo se rompe en trozos grandes. La producción de una cerveza totalmente atenuada con floculadores altos puede requerir una atención especial, tales como despertar la levadura de nuevo en la cerveza. Incluso con estas medidas, las cepas altamente floculantes generalmente resultan en una menor atenuación y aumento de los niveles de diacetilo y ésteres. Los floculadores medios tienden a producir cervezas “más limpias” con menores niveles de diacetilo y ésteres. Debido a que las células permanecen en suspensión más tiempo, atenúan más la cerveza y reducen diacetilo y otros compuestos de fermentación en un grado mayor. En una cervecería comercial, son un poco más difícil de trabajar que los floculadores altos, ya que a menudo requieren de filtrado para una respuesta rápida. Por supuesto, la mayoría de los cerveceros caseros no filtran y con el tiempo suficiente los floculadores medios se asentará por su cuenta; sólo toman más tiempo que la levadura altamente floculante. Los floculadores medios, y su tendencia a las características limpias de la fermentación, las hacen muy adecuadas para cerveza altamente lupuladas como muchas cervezas de estilo americano. Sus sabores limpios permiten que el aroma y sabor a lúpulo salgan adelante. Los cerveceros rara vez utilizan floculadores bajos, debido a que no se asientan, creando problemas de turbidez y filtrado. Sin embargo, algunos estilos de cerveza deben tener levadura en suspensión. Por ejemplo, los estilos hefeweizen alemana y Witbier belga ambos requieren cepas de levadura de floculación baja para crear la apariencia turbia deseada. Algunas cervecerías filtrarán sus hefeweizen y luego volverán a agregar la levadura lager al momento de envasar. Debido a que las cepas lager son menos floculantes y tienden a permanecer en suspensión más tiempo, son más capaces de limpiar una cerveza durante un proceso extendido de fermentación y lagerización. Hay algunas cepas lager con muchos sólidos, que funcionan bien para proporcionar esa apariencia de levadura turbia. Un factor importante en la floculación es el calcio. La levadura requiere ciertos niveles mínimos de calcio presente para que la floculación se produzca. El mosto por lo general tiene suficiente calcio, y el cervecero no necesita agregar más. Si estás trabajando con agua muy blanda, ten en cuenta las necesidades de calcio. En la mayoría de los casos, 50 ppm de calcio es suficiente para satisfacer las necesidades de la levadura.

Enzimas

La levadura no es el único ingrediente de la cerveza que los cerveceros fallan en apreciar plenamente, las enzimas están en un cercano segundo lugar. Considera esto: sin enzimas, no habría ninguna cerveza. Hay enzimas que intervienen en todas las fases del proceso de elaboración de la cerveza: malteado, maceración y fermentación. En su esencia, la cerveza es un proceso enzimático. Cuanto más un cervecero sabe de enzimas, más se pueden solucionar problemas. Las enzimas son una clase especial de proteínas que aceleran las reacciones químicas. Son esenciales para la vida y están presentes en todos los seres vivos. Una enzima es una proteína creada por los organismos vivos (o sintéticamente) que actúa como un catalizador en las reacciones químicas, iniciando o acelerando la velocidad a la que una reacción procede sin alterarse en el proceso. A mediados del siglo XIX, los químicos, estudiando el proceso de fermentación, demostraron la existencia de las enzimas. En 1897 Eduard Buchner fue el primero

en preparar un extracto de células que todavía exhibía actividad catalítica. Mostró que el licor filtrado (libre de células) todavía exhibía células de levadura trituradas que podían convertir el azúcar en dióxido de carbono. Buchner obtuvo el Premio Nobel de Química en 1907 por su trabajo. Las enzimas fueron durante muchos años llamados “fermentos”, un término derivado de la palabra latina para la levadura. En 1878 los investigadores introdujeron el nombre de “enzima”, de las palabras griegas que significan “en levadura”. Louis Pasteur hizo los descubrimientos más famosos relacionados con la elaboración de la cerveza. Aunque no se le atribuye el descubrimiento del papel de las enzimas, demostró que las levaduras eran las responsables de la transformación del azúcar del mosto en alcohol. Los químicos en el momento sostuvieron con firmeza que la levadura como organismo vivo no tenía ningún papel en la transformación del azúcar. Insistieron en que el proceso era estrictamente químico, no biológico. Supusieron que era algo en el mosto, como el oxígeno, lo que catalizaba la transformación. Los químicos parcialmente estaban en lo correcto, ya que la levadura contiene enzimas para la fermentación, las cuales actúan como catalizador para muchas partes de la conversión de azúcar en alcohol. Desde un punto de vista de la fermentación, las células de levadura son sólo bolsas de enzimas. Las enzimas son proteínas, y las proteínas están hechas de aminoácidos, uno de los principales componentes biológicos en los sistemas vivos. Cientos de aminoácidos forman una única molécula de proteína. Las proteínas son alrededor de diez veces el tamaño de las moléculas de azúcar, y cerca de 1.000 veces más pequeñas que las células de levadura. No todas las enzimas son del mismo tamaño; pueden variar de unos 50 aminoácidos a 500.000 y con frecuencia son más grandes que los sustratos sobre los que actúan. La parte de la enzima

que es más importante es el sitio activo dentro de la enzima. El sitio activo es una región de la enzima con aminoácidos en la orientación correcta para facilitar una reacción química dada sobre un sustrato, muy similar a una llave con su respectiva cerradura. Cada enzima puede catalizar una reacción química única, pero puede catalizarla reacción en ambas direcciones. La dirección depende de las condiciones y el sustrato disponible. Echemos un vistazo a la enzima alcohol deshidrogenasa y la reacción de acetaldehído a etanol.



Solemos pensar en la reacción de acetaldehído a etanol, pero la misma enzima cataliza la reacción inversa. Como ejemplo de la reacción inversa, los seres humanos tienen el alcohol deshidrogenasa, que nuestro cuerpo utiliza para descomponer el etanol en acetaldehído. Sin la enzima alcohol deshidrogenasa, la reacción anterior teóricamente todavía tendría lugar, pero tardaría días en lugar de picosegundos. La vida es tan dependiente de las enzimas (cada célula humana tiene más de 3.000 de ellas) que antes de la década de 1950, los químicos estaban convencidos que las enzimas contenían el código genético y el ADN era sólo un componente estructural. La levadura cervecería no posee todas las enzimas necesarias para hacer la cerveza a partir de la cebada. Por ejemplo, las células de levadura no producen enzimas amilasa que convierten el almidón en azúcar. Esta es la razón por la cual un cervecero debe utilizar primero las enzimas de cebada en el macerado, con el fin de convertir el almidón en azúcar.

¿Cómo Funcionan las Enzimas?

Para catalizar una reacción en particular, una enzima se une a un sustrato. Estos enlaces son ajustados, pero la terminación de la reacción cambia el sustrato y cambia la naturaleza del enlace, liberando la enzima para ser atraídos a un nuevo sustrato. Un análisis de los mecanismos y cinética de la acción de la enzima está más allá del alcance de este libro, pero una simple fórmula es:



La actividad enzimática (medida por la formación de producto) depende de varios factores: pH, temperatura, fuerza iónica de la solución y la concentración de sustrato. Los cerveceros pueden controlar la mayoría de estos factores, por lo que es importante entender lo que necesitan las enzimas y así controlar la actividad y los productos. El control de temperatura es quizás el factor más

importante. Las enzimas están hechas de aminoácidos, y cada enzima se pliega de una manera específica para hacer que esté disponible el sitio activo. Si la enzima se desnaturaliza, pierde su actividad y no se recupera. El calor es la causa principal del despliegue de la enzima. El hervor desnaturalizará la mayoría de las enzimas, pero incluso los leves aumentos de temperatura desnaturalizarán muchas. Por ejemplo, las temperaturas de maceración cerca del máximo para las enzimas amilasa desnaturalizarán muchas proteasas. El pH también es muy importante porque afecta a la unión de la enzima a su sustrato. La unión implica la interacción de los aminoácidos individuales, y esa interacción es por lo general dependiente de la carga electrostática en esos aminoácidos. Sin la carga correcta, la unión no tiene lugar. La carga varía con el pH, dependiendo del ácido amino, y cada enzima tiene su propio pH óptimo. Al igual que la temperatura, un pH demasiado bajo o demasiado alto puede desnaturalizar permanentemente (desactivar) la enzima. Al agregar las enzimas, debes tener en cuenta los perfiles de actividad de temperatura y pH que el fabricante recomienda.

Enzimas en el Malteado

La mayoría de los cerveceros están familiarizados con la conversión del almidón en azúcar por medio de reacciones enzimáticas durante el proceso de maceración, pero las enzimas también juegan un papel importante durante el proceso de malteado. La descomposición del almidón durante el malteado es crítica para la producción de malta de alta calidad. El embrión de la cebada (grano) necesita azúcar para crecer. Las enzimas en el embrión en crecimiento descomponen el almidón y las proteínas en fracciones solubles más pequeñas, en preparación para que el embrión crezca. Tres tipos de enzimas son responsables de esta acción:

- **grupo cytase:** degradan la pared celular del endospermo
- **amilasas:** degradan almidón en azúcar
- **enzimas proteolíticas:** degradan las proteínas de gran tamaño en proteínas más pequeñas. El grupo cytase y las proteasas rompen las estructuras de la pared celular para hacer almidón disponible. Las proteasas (enzimas que degradan proteínas) luego degradan las proteínas de la matriz. A continuación, la acción de la proteasa crea grupos de aminoácidos libres, que el crecimiento del embrión utiliza para la fabricación de proteínas.

La continuación del proceso de malteado activa la α -amilasa y la β -amilasa. Estas enzimas descomponen los almidones en azúcares; la α -amilasa es una endoenzima y la β -amilasa es una exoenzima. Las endoenzimas eliminarán partes desde el interior de una molécula grande, y las exoenzimas eliminan partes desde el extremo de las moléculas grandes. Las enzimas amilasa convierten el almidón en azúcar, que el embrión usaría para el crecimiento. Sin embargo, en el caso de maltas base o maltas especiales el maltero detiene el proceso mediante el secado de la malta a un punto donde se detiene la actividad. Si el maltero permitió que la actividad enzimática continuara, el almidón restante se convertiría en azúcar. Esto es parte del proceso de elaboración de maltas cristal, pero si el maltero hizo todas las maltas de esa manera, ya no realizaríamos el macerado. El maltero ya habría determinado la fermentabilidad del azúcar para nosotros, y nosotros sólo remojaríamos estos granos para extraer los azúcares.

Enzimas en la Maceración

No es sólo la α -amilasa y la β amilasa que pueden afectar la fermentación; el macerado del cervecer incluye varios otros tipos de enzimas activas, incluyendo beta-glucanasas, proteasas y esterasas. Por ejemplo, llevando a cabo un descanso de ácido ferúlico a alrededor de los 43°C (110°F) puede aumentar el nivel de ácido ferúlico en el mosto, el que algunas cepas de levadura pueden convertir a guayacol 4-vinilo, un sabor y componente de aroma característicos de la weizen alemana. Los descansos de proteínas pueden tener un impacto en la fermentación, también, ya que pueden aumentar los niveles de aminoácidos en el mosto. Esto no es necesario cuando se utiliza malta bien modificada, pero las maltas sub modificadas o de seis hilera pueden requerir un descanso de proteína. La única cosa que la mayoría de los cerveceros entiende es que controlando la temperatura del mosto para efectuar la actividad de la enzima afecta el equilibrio de azúcares simples versus los azúcares más complejos. El mosto con un mayor porcentaje de azúcares complejos (dextrinas) es menos fermentable. Si bien algunas cepas pueden tener más éxito con la maltotriosa, el efecto es relativo. Como regla general, cuanto mayor la temperatura de maceración, el mosto es menos fermentable. Cuando un cervecer hierve el mosto, el calor desnaturaliza la mayoría de las enzimas presentes y muchos precipitan fuera de la solución en el marco tanto del turbio caliente como del turbio frío.

Enzimas en la Fermentación

Ahora comienza la parte del dinero. No habría un gran mercado para la cerveza si la levadura no creara el alcohol durante la fermentación. La conversión de azúcar en alcohol puede ser simplemente determinada como:



Sin embargo, la conversión de azúcar en alcohol no es tan simple como la fórmula lo representa. De hecho, sucede en muchos más pasos y requiere muchas enzimas, con diferentes enzimas catalizando cada paso. La levadura usa la energía creada a partir de la oxidación del azúcar en etanol para fortalecerse y reproducirse. En lo que se refiere a células de levadura, el alcohol que producen es un subproducto. Cada reacción química también tiene el potencial de producir subproductos. Cada paso puede conducir a la producción de aquellos compuestos de sabor y aroma que deseas, o aquellos que no deseas. A pesar de que los cerveceros raramente agregan enzimas para la fermentación, hay algunos casos en los que puede ser beneficioso. Aunque es muy raro, una fermentación trabada puede ser debida a la conversión ineficaz del almidón o a demasiados azúcares fermentables de cadena larga. En tal caso, el cervecero podría agregar α -amilasa directamente al fermentador para catalizar más la descomposición de los azúcares, lo cual puede resultar en un aumento de la atenuación. Por supuesto, hay inconvenientes para este método. Los fabricantes propagan estos preparados de enzimas a partir de una fuente microbiana, por lo que pueden contener una pequeña cantidad de bacterias. La adición de estas enzimas a la cerveza, sin el beneficio del hervor, tiene el potencial de estropear la cerveza. Desde la perspectiva de los alimentos y la seguridad, las cantidades de bacterias son pequeñas e inofensivas, pero desde la perspectiva del cervecero, es inaceptable. Los niveles admisibles de bacterias en estos productos enzimáticos a menudo van de 1.000 a 5.000 unidades formadoras de colonias, y eso no es aceptable en la cerveza (Briggs et al, 1981; Mathewson, 1998; Walker, 1998).

Ésteres, Alcoholes y Más

La levadura de cerveza puede producir quinientos compuestos de sabor y aroma diferentes (Mussche y Mussche, 2008). Después de la inoculación, la levadura se somete a una fase de latencia, que es seguido por una fase de crecimiento exponencial muy rápida. Durante la latencia y la fase exponencial, la levadura construye aminoácidos, proteínas y otros componentes celulares. La mayoría de estos componentes no afectan el sabor de la cerveza, pero las vías involucradas en su producción también crean muchos otros compuestos que no se escapan de la célula e impactan el sabor de la cerveza. Los compuestos con el impacto de sabor más grande son los ésteres, alcoholes fusel, compuestos que contienen azufre y compuestos de carbonilo como aldehídos y cetonas (incluyendo diacetilo). Aunque muchos de estos compuestos juegan un papel en el sabor y aroma característicos de la cerveza, es un defecto de la cerveza cuando algunos de estos compuestos alcanzan niveles más altos, fácilmente detectables.

Ésteres

Los ésteres juegan un papel muy importante en el carácter de la cerveza, especialmente en cervezas ales. Un éster es un compuesto volátil formado a partir de un ácido orgánico y un alcohol, y es el éster el que proporciona los aromas y sabores frutados que se encuentran en la cerveza. Incluso las cervezas “de sabor más limpio” contienen ésteres, con algunas cervezas que llegan a tener hasta cincuenta (Meilgaard, 1975). Sin ésteres, una cerveza se vería bastante sosa. Podemos medir ésteres mediante cromatografía de gases y los perfiles de los ésteres son una buena forma de diferenciar cervezas. La producción de éster varía según las condiciones de la cepa de levadura y la fermentación. Ejemplos de ésteres comunes son el acetato de etilo (disolvente), el caproato de etilo (manzana) y el acetato de isoamilo (plátano). El proceso de combinar un ácido y un alcohol para formar un éster lleva algún tiempo, ya que la levadura necesita crear los alcoholes primero. Los ésteres tienen más de un impacto de sabor que los ácidos y el alcohol de forma independiente (Bamforth, Beer flavours: esters, 2001). Las enzimas acetiltransferasa de alcohol AATasa I y II catalizan la formación de éster. Estas enzimas combinan un alcohol con un ácido activado. En la cerveza, el ácido activado más abundante es el acetil-CoA. La pre-fermentación, cuando el cervecero agrega oxígeno, la levadura produce esteróles en preparación para las nuevas células incipientes. Esta producción de esteróles quita acetil-CoA a partir de la producción de éster, lo que resulta en niveles más bajos de éster en la cerveza (Bamforth, Beer flavours: esters). Esta es una explicación del efecto del

oxígeno, donde los niveles de aireación más altos dan lugar a niveles más bajos de éster. Otra explicación podría ser que el oxígeno directamente reprime la expresión de los genes que codifican la AATasa (Fugii, 1997). Muchos otros factores afectan a la producción de éster, pero los factores que aumentan el crecimiento de la levadura y quitan acetil-CoA suelen minimizar la síntesis de éster. Tres factores principales controlan la producción de éster: la concentración de acetil-CoA, la concentración de alcohol fusel y la actividad total de ciertas enzimas.

Alcoholes Fusel

Podemos utilizar la cromatografía de gases para medir alcoholes fusel, al mismo tiempo que medimos ésteres. La cerveza puede contener cualquier combinación de aproximadamente cuarenta alcoholes fusel (Meilgaard, 1975). Los alcoholes fusel, tales como n-propanol, el alcohol isoamílico y el isobutanol tienen sabor similar al del etanol, aunque pueden agregar sabores calientes o de disolventes a la cerveza, dependiendo del tipo y la concentración. No hay estilos de cerveza donde el calentamiento y el solvente sean rasgos deseados. Sin embargo, muchas cervezas de buen sabor contienen alcoholes fusel en cantidades iguales o un poco por encima de los umbrales de sabor, por lo que son importantes componentes de sabor derivados de la levadura de cerveza. De los alcoholes fusel, la cerveza contiene principalmente amilo alcoholes, tales como alcohol isoamílico. En el vino el alcohol isoamílico puede dar cuenta de más del 50 por ciento de todos los alcoholes fusel (Zoecklein, et al., 1999). La gente generalmente atribuye los dolores de cabeza a los alcoholes fusel en las bebidas alcohólicas. Los altos niveles de alcoholes fusel calientes en una cerveza de mediana fuerza son un verdadero error. Incluso en las cervezas más grandes, deberían ser, a lo sumo, una nota en segundo plano. No hay excusa para la elaboración de cerveza que tenga sabor a diluyente de pintura. Durante la fase de latencia de la fermentación, la levadura empieza a formar alcoholes fusel ya sea a partir de piruvato y acetil-CoA durante la síntesis de aminoácidos a partir de la captación de aminoácidos (nitrógeno). La formación de alcoholes fusel implica la reoxidación del NADH a NAD + en el paso final y algunos científicos creen que la levadura produce alcoholes fusel para hacer NAD+ disponible de nuevo para la glucólisis (Kruger, 1998). Las cepas de levadura varían en la producción de alcohol fusel, con las cepas ale generalmente produciendo concentraciones de alcohol fusel más altos que las cepas lager. Los investigadores a menudo atribuyen esto a la temperatura de fermentación más alta de las ales. Es cierto que las concentraciones de alcohol fusel aumentan con la temperatura de fermentación; sin embargo, otras condiciones de fermentación también tienen un efecto sobre la producción de

alcohol fusel. Por ejemplo, el mosto, ya sea con demasiado poco o mucho nitrógeno también puede resultar en la producción de alcoholes superiores. En general, las condiciones de fermentación que promueven el crecimiento celular, tales como la temperatura, aireación y nitrógeno, resulta en mayores niveles de alcoholes fusel. Cuando hay más sustrato de alcohol fusel, hay una mayor oportunidad para la formación del éster con cualquier acetil-CoA presente. Elaborar una cerveza más baja en éster es un acto de equilibrio de control de los factores que ayudan a prevenir la formación de éster, pero también aumenta la producción de alcohol fusel.

Diacetil

A pesar de que muchos estilos de cerveza clásicos permiten bajos niveles de diacetil y a algunos consumidores les resulta agradable, muchos cerveceros consideran aldiacetilo un defecto cualquiera sea la cantidad. El diacetil, incluso a niveles bajos, puede aportar sensación de deslizamiento a la sensación en boca de una cerveza. En cantidades mayores, el diacetilo confiere a la cerveza un aroma y sabor mantecoso o a caramelo de manteca. El diacetilo es un pequeño compuesto orgánico que pertenece al grupo químico cetona. Otra cetona comúnmente encontrada en la cerveza es 2,3-pantanodiona. Es tan similar al diacetil que cuando un laboratorio mide el nivel de diacetilo de una cerveza informa un nivel vecinal de dicetona (VDK) en su lugar, lo cual incluye tanto diacetilo como 2,3-pantanodiona. El umbral de sabor del diacetilo es de 0,1 ppm en la cerveza "light". La cerveza elaborada de manera casera y artesanal a menudo puede tener niveles de 0,5 a más de 1,0 ppm. Una razón por la cual a muchos cerveceros no les gusta la presencia de diacetilo en su cerveza se debe a que es un indicador de un posible problema de fermentación o contaminación. Sin embargo, hay excepciones donde el diacetil es una característica prevista de la cerveza. Esto es más probable debido a la cepa de levadura y al perfil de fermentación de las prácticas de la cervecería. Algunas cepas de

levadura, particularmente cepas ale inglesas altamente floculantes, son fuertes productoras dediacetil. Descender la temperatura de fermentación tempranamente, lo que preserva la levadura de la reducción de diacetil, es otra manera en que la cerveza termina con un nivel detectable de diacetil. Sólo recuerda, cuanto más tiempo permanece la levadura en suspensión, más tiempo tiene para reducir muchos compuestos intermedios de la fermentación. Afortunadamente, la levadura reabsorberá diacetil y lo reducirá a acetoína para regenerar NAD. La vía del diacetil en la cerveza es relativamente simple. La valina es uno de los

aminoácidos que la levadura produce durante la latencia y la fase exponencial. Un compuesto intermedio en la producción de valina es el acetolactato. No todos el acetolactato que la levadura produce se convierten en valina, ya que algunas se filtran de la célula y en la cerveza. El acetolactato que se fuga desde la célula en la cerveza se oxida químicamente en diacetil. Aunque esto es cierto para todas las cepas de levadura, las diferentes cepas producen diferentes niveles de diacetil en las mismas condiciones.

Ácidos Orgánicos

Durante la fermentación, la levadura también produce niveles variables de ácidos orgánicos tales como acético, láctico, butírico y caproico. En la mayoría de las fermentaciones, las concentraciones producidas están por debajo del umbral de sabor, lo cual suele ser una buena cosa. Estos ácidos tienen sabores y aromas a vinagre, vómito y animales de corral. Sin embargo, estos ácidos son necesarios, ya que desempeñan un papel clave en la formación del éster.

Compuestos de Azufre

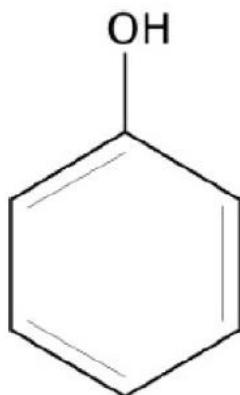
¿Quién se tiró un pedo? Muchos cerveceros al hacer una cerveza lager por primera vez pueden hacer esa pregunta. La elaboración de una lager produce más compuestos de azufre que la elaboración de una cerveza ale. La temperatura más baja de la elaboración de la lager es un factor clave en los niveles más altos de azufre (Bamforth, Beer flavour: sulphur substances, 2001). La levadura produce compuestos de azufre en grandes cantidades durante la fermentación, pero estos compuestos en general son lo suficientemente volátiles que la fuerte actividad de la fermentación los saca de la solución junto con el CO₂, reduciendo en gran medida los niveles de azufre en el momento en que tú o un cliente bebe la cerveza. Las temperaturas más bajas de la fermentación lager generalmente resultan en una fermentación menos vigorosa (menos movimiento físico del mosto) y menos desprendimiento de gases debido a la mayor solubilidad del gas a esas temperaturas. Por lo tanto, las cervezas lager tienden a retener cantidades detectables de aroma y sabor a azufre, mientras que es inusual encontrar azufre en la mayoría de las ales. Los compuestos de azufre que se encuentran típicamente en la cerveza son sulfuro de dimetil (DMS), dióxido de azufre, sulfuro de hidrógeno y mercaptanos. Algunos de estos compuestos de azufre provienen de la malta,

mientras que otros provienen de la levadura o una combinación de ambas. Por ejemplo, el sulfóxido de dimetilo (DMSO) está presente en el mosto a diferentes niveles, dependiendo de la fuente de malta. El nivel de este compuesto DMS oxidado no se ve afectado por el hervor como el DMS y su precursor Smetilmotionina (SMM). Desafortunadamente, la levadura tiene la capacidad de reducir DMSO de nuevo a DMS durante la fermentación, lo que aumenta el nivel de aquellos tipos de aromas y sabores en la cerveza como a maíz enlatado y coles cocidas. La levadura produce dióxido de azufre, el cual no sólo da sabor a la cerveza, sino que le da propiedades antioxidantes. Las personas a menudo describen el aroma de dióxido de azufre como similar a un fósforo quemado. El dióxido de azufre reduce fácilmente a otro compuesto de azufre, el sulfuro de hidrógeno, que es el compuesto con olor a huevos podridos. Afortunadamente, el CO₂ liberado de la fermentación lleva la mayor parte del sulfuro de hidrógeno fuera de la cerveza. La clave para reducir estos compuestos de azufre en la cerveza es tener una fermentación activa y sana.

Compuestos Fenólicos

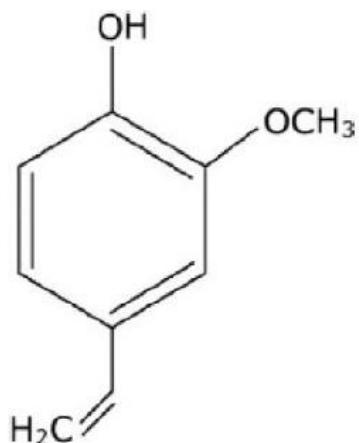
Los compuestos fenólicos, son anillos de carbono aromáticos hidroxilados, pueden provenir de los ingredientes y de la fermentación. Los antisépticos a base de fenol los contienen, por lo que las personas a menudo describen compuestos fenólicos como degustación medicinal. Los compuestos fenólicos también son descritos como plástico, curita, ahumado y picante. Los compuestos fenólicos son menos volátiles que los alcoholes fusel, lo que significa que se quedan en la cerveza a lo largo de la maduración. Una vez que los compuestos fenólicos están presentes a un nivel detectable, es probable que siempre los sientas en el sabor. En la mayoría de los estilos de cerveza, los sabores fenólicos son un defecto, aunque hay algunas excepciones obvias. La hefeweizen bávara debe tener clavo, la rauchbier debe tener sabor ahumado y algunas cervezas belgas tienen otros caracteres fenólicos, pero cuando los fenoles aparecen sin querer, puede ser un desastre.

Figura 2.9:



Fenol, un anillo aromático hidroxilado.

Figura 2.10:



4-Vinil guayacol

El principal compuesto fenólico que la mayoría de las levaduras produce es guayacol 4-vinil (4 VG). La malta y el lúpulo aportan ácido ferúlico y la levadura produce 4 VG de la descarboxilación del ácido ferúlico por la enzima descarboxilasa del ácido ferúlico (la descarboxilación es la reducción química de un compuesto por la evolución de CO₂). Aquellas levaduras que producen fenoles tienen un gen intacto de sabor no deseado ferúlico, el cual es requerido para la codificación de la decarboxilasa del ácido ferúlico. La mayoría de las cepas de levadura de cerveza tienen una mutación natural en el gen de sabor no deseado ferúlico que les impide producir 4 VG. De hecho, la producción no intencional de un carácter fenólico es una buena indicación de que la levadura salvaje ha contaminado la

cerveza. En raras ocasiones, es posible que una mutación en la levadura de cerveza cause que la levadura produzca un carácter fenólico nuevamente. Puedes preguntar ¿qué pasa con las cepas de levadura para hacer hefeweizen de estilo bávaro? Estos son buenos ejemplos de cepas de levaduras una vez salvajes que los cerveceros purificaron y se cultivaron en el tiempo, sin seleccionar en contra de compuestos fenólicos. El gen de sabor no deseado ferúlico permanece intacto en estas cepas y producen los fenoles característicos para el estilo. La *Brettanomyces* es otro género de levadura que muchos cerveceros y bodegueros consideran un contaminante, mientras que algunos lo ven como un género único capaz de producir sabores y aromas no posibles con la levadura de cerveza promedio. La *Brettanomyces* es naturalmente abundante en el medio ambiente, a menudo se encuentran viviendo en la piel de la fruta. No importan las condiciones adversas de fermentación y es tolerante al alcohol. Puede producir sabores y aromas que recuerdan a un corral, manta de caballo, sudor y a una amplia gama de otros compuestos de sabor, incluyendo 4 VG. Su presencia en la cerveza se detecta fácilmente e incluso deseada en determinados estilos de cerveza como la lambic belga, la flandes roja y muchas creaciones más recientes de cervezas artesanales. La fermentación no es la única fuente de compuestos fenólicos. A veces un cervecerio las agrega intencionalmente, mediante el uso de maltas ahumadas, por ejemplo, en el vino, el carácter fenólico proviene de la levadura, pero también puede venir del contacto con el roble y de la fruta utilizada. El whiskey también recibe fenoles a partir de ingredientes, levaduras y añejamiento en barrica. La cerveza producida con ciertas frutas y maduración en madera también puede recoger los compuestos fenólicos.

Parte 3. Cómo Elegir la Levadura Correcta.

Cuando encaramos una oportunidad para elaborar una nueva cerveza, muchos cerveceros se apegan a su conocimiento. Una cepa de levadura que han utilizado para innumerables batches es lo que también van a utilizar para esta nueva creación. En muchos casos, el uso de la cepa de la casa es su única opción. Esto es comprensible, pero cuando un cervecerio tiene la opción de elegir cualquier cepa que quiera, es una pena seguir con sólo una. A menudo no es que estos cerveceros carezcan de creatividad o interés en la exploración de nuevas cepas, sino, más bien, no están seguros de cómo seleccionar a las mejores candidatas para producir el carácter deseado.

Criterio de Selección

Cuando se trata de seleccionar una nueva cepa para la fermentación, vale la pena conocer tus prioridades. Es como construir una casa; sabes que necesitas tornillos, pero el tipo de tornillos depende del tipo de casa que estés construyendo. Casa de barro, casa demuñecas, un galpón, todas ellas necesitan tornillos similares pero diferentes. ¿Qué es lo que estás tratando de construir? Es importante comenzar con un concepto de la cerveza que estás tratando de elaborar. ¿Es seca y lupulada? ¿Dulce y maltosa? ¿Limpia o esterosa? ¿Contenido de alcohol alto o bajo? Una vez que tengas una idea de lo que estás creando, entonces puedes comenzar la búsqueda de cepas que podrían funcionar. Ciertamente, es posible e incluso probable, que no encuentres una sola cepa que satisfaga todas tus necesidades, no olvides que también es posible utilizar múltiples cepas en una cerveza. Como mínimo, siempre ten en cuenta los siguientes criterios a la hora de seleccionar una nueva cepa de levadura:

- Atenuación
- Perfil de sabor
- Floculación
- Seguridad de suministro
- Rango de la temperatura en que trabaja

Curiosamente, un cervecero puede afectar a la mayoría de estos atributos en cierta medida mediante la manipulación de la receta, el proceso o los parámetros de fermentación, pero hay un límite respecto de cuánto puede afectar cada atributo. En la mayoría de los casos, la manipulación de un atributo de fermentación provoca un cambio en otro. Por ejemplo, elevar la temperatura de trabajo de una cepa de levadura para adaptarse a las necesidades de tu sala de cocción probablemente produzca más compuestos de sabor de lo que pretendías. La fermentación a una temperatura más fría para reducir al mínimo la producción de éster puede reducir el nivel de atenuación. Todos los atributos de la levadura están relacionados entre sí, y no se puede manipular uno sin afectar al otro. ¿Cómo se hace una elección? ¿Cómo se decide cuál levadura es mejor para tu brown ale? Puedes revisar la información de la empresa, hablar con otros cerveceros o buscar en la web, pero la mejor manera es hacer algunos experimentos. Haz suficiente mosto de tu brown ale para dividirlo en varios fermentadores diferentes e inocula una cepa diferente en cada fermentador. Es necesario mantener las mismas condiciones, especialmente la tasa y la temperatura de inoculación, para que puedas comparar el efecto que cada cepa tiene sobre la cerveza. Una vez que concentras en una cepa, a continuación, puedes repetir el experimento

usando esa cepa a diferentes temperaturas, niveles de oxígeno o tasas de inoculación. Si reutilizas levadura, también puede ser que desees repetir el experimento a pequeña escala cinco o más veces para ver los cambios de carácter de generación en generación.

Estilos de Cervezas y Selección de la Levadura

Algunos cerveceros podrían preguntarse por qué es necesario discutir el estilo de cerveza en un libro sobre levadura. Después de todo ¿el estilo de cerveza no es determinado por los cereales y lúpulos utilizados? Sí y no. Con el vino, el ingrediente principal, las uvas, a menudo determina el estilo. El mundo del vino utiliza la variedad de uva, o a veces, la región de producción, para clasificar el vino. En la cerveza, el estilo es determinado en su mayoría por una combinación de granos, lúpulos y levadura, pero no necesariamente por el lugar donde se cultivaron los ingredientes o la cerveza es elaborada. Al elaborar la cerveza, puedes utilizar malta y lúpulos de diferentes regiones de manera intercambiable. Sí, los lúpulos americanos cítricos son un rasgo característico en algunos estilos. La malta pale británica cerveza y la malta Pilsener proporcionan un componente clave de algunos otros estilos, pero, los principales diferenciadores de estilos de cerveza son los procesos, la receta y la selección de la levadura. De hecho, la levadura juega un papel tan importante en el carácter de una cerveza que en algunos casos la cepa de levadura es la diferencia clave entre dos estilos. Compara la composición de granos de una típica California common y una receta dealtbier de Düsseldorf: a pesar de que son muy similares, las cervezas son significativamente diferentes debido a la selección de la levadura. El consumidor promedio de cerveza a menudo divide a las cervezas en las categorías ale y lager, pero esa es la más amplia de las divisiones. Aunque ale y lager son técnicamente categorizaciones válidas de estilo, hay cepas de levadura y estilos de cerveza que desafían esos límites. Hay estilos híbridos de cerveza que caen en ambas categorías ale y lager. Son cervezas fermentadas con levadura lager a temperaturas ale o levaduras ale fermentadas a temperaturas más frías que las normales para ales. A partir de esta publicación, el Programa de Certificación para Juzgar Cervezas (Beer Judge Certification Program, BJCP) reconoce ochenta estilos de cerveza distintas en veintitrés categorías. El BJCP agrupa muchos de los estilos de cerveza en ale, lager o híbrida y por el origen geográfico de su elaboración y por su graduación alcohólica. Debido a que las cervezas lager de consumo masivo son tan populares, se podría pensar que suman un número desproporcionado de estilos,

pero no. Las lagers conforman menos de una cuarta parte de los estilos, lo cual tiene sentido porque las lagers son relativamente nuevas en el mundo de la cerveza. Muchos de estos estilos son el resultado de los cerveceros adaptando su cerveza a las preferencias locales. Sin saberlo o no, esos cerveceros estaban seleccionando las características preferidas recolectando y reutilizando solamente la levadura que producía la cerveza que ellos y sus clientes querían. Esta presión selectiva es lo que dio lugar a los estilos de cerveza y cepas de levadura que usamos hoy en día. Encontrarás que la mayoría de los proveedores de levadura primero identifican su levadura como ale o lager, luego identifican aún más las cepas por su ubicación geográfica (país, región, ciudad) o por el nombre del estilo. Si vas a comprar levadura de uno de estos proveedores es fácil de identificar las opciones posibles sobre la base de estas amplias categorías y la descripción de la levadura. ¿Quieres reparar una cerveza de estilo belga? Identifica las cepas con el término “belga” en la descripción, y haz tu selección a partir de una de esas. Si deseas elaborar una lager de estilo alemán o una ale de estilo Inglés, es igual de fácil. Por supuesto, esto sólo te dará una información aproximada y, querrás tener en cuenta todos los criterios de selección para determinar exactamente qué cepas cubrirán de manera más óptima tus necesidades.

Cepas de Levadura

El difunto George Fix ideó un sistema único para la categorización de la levadura de cerveza que te puede resultar útil. Fix dividió las cepas de levadura en cinco categorías

en un intento de organizarlas en términos de características de sabor.

Dividió las levaduras ale en Limpia/Neutra, Maltosa/Productora de éster y Especiales. Dividió las levaduras lager en Seca/Vigorosa e Intensa/Maltosa (Fix and Fix, 1997). El núcleo interesante y muy útil del concepto de Fix es que no se centra en la región y el estilo para agruparlas, sino más bien en el carácter de la fermentación. Esto hace que sea más fácil ser creativo. Acercarse a las cepas de levadura de esta manera le da libertad al cervecero para hacer algo diferente, como usar levadura ale europea en una American Pale Ale en lugar de las mismas viejas cepas americanas casi todo el mundo utiliza. Las cepas de levadura no conocen límites de estilo y el cervecero que reconoce que esto tiene una selección mucho más amplia de cepas para alimentar su creatividad. Nos gusta el enfoque de Fix y agruparemos las cepas por su carácter para nuestro tratamiento:

Ale

- Limpia
- Frutada
- Híbrida
- Fenólica
- Excéntrica

Lager

- Seca
- Intensa

Visión General de la Cepa Ale

La levadura ale es la *Saccharomyces cerevisiae*, un grupo grande que incluye la levadura del pan, la levadura de destilería y muchas cepas de levadura de laboratorio. Los cerveceros distinguen la levadura ale por su comportamiento y producción de sabor. La levadura hace lo que quiere un cervecer: fermentan rápidamente, consumen el perfil correcto de azúcares, toleran niveles moderados de alcohol y sobreviven a las condiciones anaeróbicas de fermentación. Las cepas ale también son conocidas como la levadura de fermentación superior, ya que la espuma que aparece en muchas fermentaciones ale por lo general contiene una gran cantidad de levadura. Durante la fermentación, la superficie hidrófoba de la levadura ale hace que los floculantes de levadura se adhieran al dióxido de carbono y suban a la superficie de la cerveza (Boulton y Quain, 2001). Esto permite a los cerveceros recoger la levadura de la parte superior del fermentador, técnica conocida como “top cropping”. La ventaja de la recolección de la parte superior es que se obtiene una gran cosecha de levadura. Esta levadura es muy saludable y tiene poco turbio mezclado con ella. La desventaja radica en la exposición de la cerveza y levadura al medio ambiente y la contaminación. Aunque algunas cervecerías comerciales fuera del Reino Unido actualmente practican el “top cropping”, el proceso está ganando un pequeño pero creciente número de seguidores entre los cerveceros caseros, porque bajo las condiciones adecuadas, puede ser una técnica de manejo de la levadura muy exitoso y eficaz. Véase la sección “Recolección de Levadura” de este libro para obtener más información sobre las técnicas de “top cropping”. Hay muchas variedades de levaduras ale, todas cepas desde las muy limpias “del estilo chico” hasta las cepas fenólicas belgas. Las levaduras ale incluyen cepas que difícilmente floculan en absoluto y cepas que caen como una tonelada de ladrillos. Compara una cepa ale con respecto a otra y encontrarás que pueden flocular de manera diferente, atenuar

de manera diferente y producir diferentes perfiles de sabor. A pesar de que las cepas ale son diversas, tienen similitudes. La mayoría de las cepas ale tienen un rango de temperatura de fermentación ideal que oscila alrededor de los 20°C (68°F). Además, la mayoría de las levaduras ale pueden tolerar condiciones de calor de hasta 35°C (95°F), pero producen el mejor sabor de fermentación en torno a los 18 a 21°C. En caso de duda, utilízala a 20°C (68°F) como punto de partida cuando se

trabaja con una cepa de levadura ale desconocida. Todas las levaduras ale producen una variedad de compuestos que reconocemos como sabores y aromas característicos de ale. Si una cepa produce una pequeña cantidad de estos compuestos, los cerveceros piensan en ello como una cepa de “fermentación limpia”. Cuando una cepa produce más de estos compuestos (especialmente ésteres y alcoholes fusel) los cerveceros se refieren a ella como una cepa “frutada” o “esterosa”.

Cepas Limpias de Ale

Las cepas ale de fermentación limpia son muy populares en los Estados Unidos, porque incluso en temperaturas y tiempos de fermentación ale, pueden producir cervezas ale como si fueran lager con frutado y alcoholes fusel muy bajos. Estas levaduras limpias resaltan la formulación de la receta de un cerveceros más que otras cepas. El cerveceros controla la mayor parte de las características de sabor y aroma por medio de su elección de malta, lúpulos, temperaturas de elaboración y la temperatura de fermentación. Las cepas limpias generalmente fermentan más lentamente que las cepas más frutadas y floculan a una velocidad media, permaneciendo en suspensión lo suficiente como para acondicionar la cerveza correctamente. Estas levaduras pueden producir pequeñas cantidades de azufre en condiciones de estrés, tales como alta presión, deficiencias de nutrientes, grandes oscilaciones de temperatura o una temperatura de fermentación demasiado fría. Ejemplos de cepas de levadura en esta categoría son california/american, scottish y ale europea.

Cepas Ale Frutadas

Las cepas ale frutadas son tradicionales en Inglaterra, y están aumentando en popularidad en los Estados Unidos a medida que la educación del consumidor mejora, mientras que algunos cerveceros consideran a la ale frutada o poco menos versátil que las cepas ale limpias, otros argumentan que las cepas frutales son capaces de crear cervezas que son mucho más interesantes. Las cepas ale que

producen más carácter de fermentación pueden agregar mucho carácter a tu cerveza. Ellas son un factor tan importante en el carácter de la cerveza como lo son otros ingredientes. Si bien fermentan a la misma temperatura que las cepas ale limpias, estas cepas de levaduras producen y dejan escapar más de los sabores y aromas únicos e interesantes de la célula de levadura a la misma temperatura. Las cepas ale más frutadas generalmente fermentan y floculan muy rápidamente, lo que permite al cervecero producir cerveza terminada en menos tiempo que cuando se utiliza una cepa ale limpia. Estas cepas tienden a formar grandes grumos de levadura durante la floculación, dando como resultado una cerveza brillante, clara en un corto plazo. Un inconveniente común con tal fermentación y floculación rápidas es que la levadura tiende a dejar más subproductos, tales como diacetilo. Estas cervezas pueden tener notas de miel, ciruela, cítricos y aspereza, dependiendo de la cepa. Ejemplos de esta categoría son aquellas identificadas como británicas, irlandesas, australianas y algunas cepas ale belgas.

Cepas Ale Híbridas

Biológicamente, no hay cepas ale híbrida. Las cepas de levadura lager parecen haber evolucionado a través de una rara hibridación de *S. cerevisiae* y *S. Bayanus* (Casey, 1990), pero eso no es a lo que la mayoría de cerveceros se refiere cuando dicen “híbrida”. Se refieren a las cepas ale que los cerveceros comúnmente fermentan a temperaturas más bajas que el rango promedio de fermentación ale. Estas cepas de levaduras producen una cerveza limpia, casi como una cerveza lager. Tradicionalmente, los cerveceros usarían estas cepas para estilos como *altbier* y *kölsch*. Aun cuando se fermentan a temperaturas más altas, el carácter frutado está restringido. En los últimos tiempos estas levaduras han encontrado popularidad dentro de los cerveceros fuera de esos limitados estilos de cerveza, quienes los utilizan en todo, desde cervezas de trigo estadounidenses hasta en las barley wine. Estas cepas limpias generalmente fermentan más lentamente que las cepas más frutadas y floculan a un ritmo medio, permaneciendo en suspensión el tiempo suficiente para atenuar y acondicionar la cerveza. También producen trazas de azufre, pero no tanto como las cepas de levadura lager. Los cerveceros a menudo describen a la levadura *California Common* como una cepa híbrida. Es una cepa lager y los resultados son similares a una lager con carácter a éster. El uso de cepas lager a temperaturas ale es un espacio abierto a la experimentación, pero ten en cuenta que los resultados pueden variar considerablemente de una cepa a otra.

Cepas Ale Fenólicas

Las cepas fenólicas son tradicionales en cervezas de tipo belga y cervezas *weizen* alemanas. La amplia producción de fenoles es una característica que la mayoría de los cerveceros asocia con cepas de levaduras belgas. Un fenol es un anillo aromático hidroxilado, un compuesto con un anillo de carbono de seis miembros unido directamente al grupo hidroxilo (-OH). Estos son la misma clase de compuestos usados en algunos antisépticos y algunos consumidores describen su sabor y aroma como medicinal. En muchas de estas cepas fenólicas, la atenuación tiende a ser alta y la floculación tiende a ser baja. Sin embargo, hay un montón de excepciones. Por ejemplo, en el pasado algunas cervezas belgas ale de granja tenían densidades iniciales bajas (6 a 8°P) y los cerveceros parecen haber favorecido la reutilización de la levadura de batches con baja atenuación, tal vez para evitar que la cerveza sea demasiado liviana y seca. El resultado de esta presión selectiva al día de hoy es que estas cepas sólo atenúan aproximadamente el 50 por ciento. Históricamente, las inoculaciones de levadura para muchas de esas cervezas de granja no partían de cultivos puros. En la granja no había laboratorio para mantener un cultivo puro y el inoculado habría sido una combinación de cepas y quizás incluso trazas de algunas bacterias. Esta combinación habría atenuado más la cerveza y quizás agregado más carácter a la misma. Las cepas de cerveza de trigo alemanas producen un carácter fenólico y éster que es tradicional en las cervezas *weizen* alemanas. Sin este carácter del clavo de olor especiado y de banana frutado, no serían *weizen* alemanas. Un cervecero utilizando la misma cepa ale limpia con la misma receta, termina con un buen ejemplo de una cerveza de trigo estadounidense, que no tiene ninguno de esos fenoles o ésteres. Si una cerveza contiene estos sabores cuando no se utiliza una cepa fenólica, tendríamos que sospechar de una levadura salvaje como un posible responsable. Sin embargo, utilizadas deliberadamente en manos de un experto cervecer, estas levaduras, pueden producir un agradable equilibrio de sabores que se mezclan bien con los otros ingredientes.

Sólo hay unas pocas cepas de cerveza de trigo alemanas disponibles en el mercado. Ellas difieren ligeramente y se distinguen principalmente por el perfil de sabor. Por ejemplo, una cepa de levadura tendrá un perfil preponderante a éster de banana que aumenta o disminuye con la temperatura de fermentación, mientras que otra cepa no producirá tanto éster de banana independientemente de la temperatura de fermentación. Estas cepas de cerveza de trigo fenólicas raramente producen niveles detectables de diacetil, aunque algunas producirán compuestos azufrados. Es importante asegurarse una fermentación vigorosa y dejar que la fermentación se complete antes de cerrar el fermentador. Algunos cerveceros prefieren tapar el fermentador cerca del final de la fermentación para carbonatar la

cerveza al atrapar el CO₂ restante. Al hacer esto el cervecero también atrapará cualquier azufrado que quede en la cerveza y que no desaparecerá sin esfuerzos extraordinarios. Esto también se aplica a la elaboración de cerveza lager. Al igual que la levadura salvaje, la mayoría de las cepas de cerveza fenólicas no floculan bien. Esta es una característica deseada en muchas cervezas tradicionales de trigo alemanas, lo que ayuda a agregar un poco de turbidez. Aun así, es deseable cierto grado de floculación y decantación; de lo contrario, la cerveza sería lechosa y tendría gusto a cultivo de levadura. Las cepas fenólicas típicas son *hefeweizen* alemana, ale belga, y ale belga trapense/de abadía.

Cepas Ale Excéntricas

Los cerveceros a menudo identifican a las cepas ale que no entran en las categorías anteriores como excéntricas. Las utilizan principalmente en la elaboración de cervezas de tipo belga antes que en otros estilos de cerveza. Estas incluyen cepas que producen compuestos de sabor inusual que algunos podrían considerar interesantes como tierra, corral o agrio y cepas que exhiben comportamientos inusuales, tales como levaduras para súper-alta densidad. Existe cierta superposición entre esta categoría y las cepas fenólicas, pero hay tanta diversidad de cervezas ale de tipo belga que estas cepas, prácticamente, desafían ser clasificadas. Sin embargo, todos estos estilos de cerveza belgas comparten una característica común: la importancia del carácter que la levadura aporta al estilo. Algunas cervezas pueden tener un carácter de la levadura más comedido, otros son más intensos, pero, si son un buen ejemplo del estilo, todos ellos se basan en los compuestos producto de la fermentación propio de la cepa de levadura utilizada. De las cepas preferidas por la mayoría de los cerveceros para sus cervezas de estilo belga la mayoría

tiende a
atenuar bien, no floculan bien y tienen perfiles de sabor interesantes, muchos de los cuales incluyen fenoles. Sin embargo, las cepas de tipo belga tienen muchas distinciones entre sí. Tú no puedes tomar cualquier levadura “de estilo belga” y hacer una *witbier* estilo belga. Si bien algunos consumidores podrían decir que tiene un “carácter belga”, no va a tener el mismo aroma y sabor como una *witbier* belga tradicional a menos que fermentes con una auténtica cepa *witbier* belga. De hecho, muchas cepas de levadura de estilo belga hacen mucho más que producir fenoles. Aunque existen algunas cepas que son relativamente limpias, muchas producen una gran cantidad de ésteres, alcoholes superiores, sabores terrosos e incluso amargor. Ellas no floculan bien, un rasgo que no es estrictamente deseado, excepto que esta característica permite a estas cepas de levadura atenuar una cerveza en un mayor grado que cepas más floculantes. Hoy en día, para la mayoría de los cerveceros

belgas, la levadura lo es todo. Mientras que muchos cerveceros belgas compartirán libremente información sobre el resto de su proceso de elaboración de la cerveza, su levadura es sagrada y es algo que deben proteger. Los cerveceros belgas creen que la levadura que utilizan para su cerveza es tan importante que muchas de las cervecerías belgas más grandes, e incluso algunos de las más pequeñas, tienen algunos equipos de laboratorio, procesos y controles de calidad de los más sofisticados en la industria. La fábrica de cerveza Chimay es un buen ejemplo. El padre Theodore aisló la levadura Chimay en 1948 por medio de técnicas de cultivo puro. Chimay ha preparado sus cervezas con esta sola cepa desde entonces. La fermentación y procesos de la levadura Chimay incluyen una cantidad significativa de controles de laboratorio. Los cerveceros belgas utilizan los nuevos cultivos de levaduras para cada batch, y centrifugan su cerveza tres veces para eliminar la levadura después de la fermentación y volver a agregar la levadura para el acondicionado en botella. Todo esto es un testimonio de lo importante que ellos consideran la salud de la levadura para la calidad de su cerveza. Del mismo modo, otras cervecerías belgas han administrado y vigilado celosamente sus cepas de levadura, creando una presión selectiva en función de obtener sabores y aromas únicos. Debido a la importancia de la cerveza en la cultura belga hoy están disponibles para experimentar con ellas y hacer cervezas de estilo belgas un gran número de levaduras ale, cada una con diferentes conjuntos de características belga tradicionales o nuevas interpretaciones sobre los estilos tradicionales.

Cepas Lager

Además de la capacidad de fermentar melibiosa ¿cuáles son las diferencias entre la levadura lager y ale? Los cerveceros a veces se refieren a la levadura lager como de “fermentación inferior”, ya que durante la fermentación lager la mayoría de las cepas no suben a la parte superior o suben mínimamente. Por supuesto, siempre hay excepciones, y algunas cepas lager verdaderas sí suben a la parte superior como la levadura ale. Aunque la mayoría de las cepas lager son de fermentación inferior, no son de floculación elevada. A menudo muchos cerveceros tienen una idea errónea de la floculación, como si este fuese el proceso de caída de la levadura a la parte inferior del fermentador, y una cepa que no se eleva a la parte superior durante la fermentación debe ser una cepa altamente floculante. Pero como se mencionó anteriormente, la floculación es el agrupamiento de levadura en grumos de levadura, no el proceso de caída a la parte inferior. Cuanto más floculante una cepa, más tiende a elevarse con las burbujas de CO₂ durante la fermentación. Como la mayoría de las cepas lager no son muy floculantes, no tienden a subir a la superficie. En cambio, se quedan en suspensión durante más tiempo que la mayoría de las cepas ale, lo que

les permite reducir varios de los productos intermedios que se forman durante la fermentación.

Las levaduras lager trabajan más lentamente y producen menos ésteres y alcoholes fusel a temperaturas de fermentación más frías, por lo general de 10° a 13°C (50° a 55°F), pero la fermentación más lenta y menores temperaturas también mantienen más azufre en solución y hace más difícil para la levadura reabsorber el diacetil. Mientras que todas las cepas generalmente producen menos ésteres a temperaturas más bajas, algunos cerveceros pueden preguntarse por qué la mayoría de las cepas lager producen menos ésteres que la mayoría de las cepas ale a la misma temperatura. Una razón es que la excreción de ésteres depende de la membrana celular, y la mayoría de las cepas lager retendrán más ésteres dentro de la célula (Mussche, 2008).

Las cepas lager se dividen en dos grupos básicos: los que producen una cerveza de característica más seca, limpia, vigorosa y refrescante y las que, aun dejándola limpia y estilo lager, producen un sabor maltoso, redondeado y complejo. Selecciona una de las cepas frescas, vigorosas y secas cuando elaboras cerveza americana, escandinava y algunas cervezas lager de estilo alemán. En comparación, utiliza las cepas maltosas para los estilos que van de la Munich *helles* a la Munich *dunkel* y todos los demás estilos de lager maltosos. Además de un aumento del carácter a malta, estas cepas a menudo producen una cerveza con más azufre y un ligero sabor frutado. Los fabricantes suelen etiquetar estas levaduras como lager alemana o lager Munich, y la descripción hace hincapié en el carácter a malta.

Cepas Múltiples en tu Cervecería

“Un sampler de cervezas, por favor”. Todos hemos entrado en una cervecería, nos hemos sentado frente a un sampler para probar cada una y decidimos “Todas estas cervezas tienen el mismo gusto”. ¿Cómo puede ser esto, cuando el cervecero utiliza diferentes granos y lúpulos en cada cerveza? A menudo, la razón es que la cervecería utiliza una sola cepa de levadura a lo largo de su línea de productos. Algunos cerveceros se apegan a una sola cepa porque les preocupa que el uso de más de una pueda contaminar los

otros batches, agregando un sabor no deseado a una cerveza. Para otros, la principal preocupación es el esfuerzo que se requiere para mantener más de una cepa viva y sana entre batches. Afortunadamente, más cerveceros están comenzando a explorar los beneficios de múltiples cepas de levadura. Un chef no se limita a cocinar todo con sólo un condimento a una sola temperatura; ¿debe el cervecero conformarse con menos? No puede esperarse de un cervecero que exprese su creatividad totalmente sin acceso a diferentes cepas de levadura. Así que ¿por qué no hacer hincapié en la variedad y la creatividad al tratar una cepa de levadura diferente? Anteriormente

hablamos sobre siete categorías de levadura, cada una con muchas cepas capaces de producir una cerveza de gran sabor. Esto le da al cervecero muchas cepas para elegir, lo que otorga en muchas oportunidades crear un perfil único de sabor de la cerveza. Hay cientos de diferentes cepas por ahí, y la mayoría de los cerveceros tienen fácil acceso a cincuenta o más. ¿Cómo determina un cervecero cuáles cepas usar? La figura 3.1 es sólo un ejemplo de las opciones disponibles cuando se utilizan múltiples cepas dentro de una cervecería en particular.

Con este ejemplo, de diez cervezas hechas de forma continua en un pub cervecero, cinco cepas proporcionan la mayor variedad.

Sin algunas de estas cepas el cervecero no podría preparar un determinado ejemplo de algunos estilos de cerveza. Las diferentes cepas permiten a la cervecería resaltar diferentes sabores, aromas y características de la cerveza. Por ejemplo, el cambio de levadura California ale por levadura ale inglesa en una brown ale aumenta el dulzor de la malta y los ésteres frutales, junto con otras características sutiles de levadura. La preocupación por mantener múltiples cepas saludables es válida. ¿Cómo puede una empresa cervecera determinar cuántas cepas serán viables en la cervecería? Utiliza la siguiente ecuación para tener una idea general de cómo podrías ser capaz de mantener vivas muchas cepas diferentes en tu cervecería.

Figura 3.1:

Menú típico de cervezas	Uso de 1 cepa	Uso de 2 cepas	Uso de 3 cepas	Uso de 4 cepas	Uso de 5 cepas
Blonde Ale	California/American	California/American	California/American	California/American	California/American
Pale Ale	California/American	California/American	California/American	California/American	California/American
Red/Amber Ale	California/American	California/American	California/American	English	English
IPA	California/American	California/American	California/American	English	English
Pilsener	California/American	California/American	German Lager	German Lager	German Lager
Hefeweizen	California/American	German Hefeweizen	German Hefeweizen	German Hefeweizen	German Hefeweizen
Dunkelweizen	California/American	German Hefeweizen	German Hefeweizen	German Hefeweizen	German Hefeweizen
English Brown Ale	California/American	California/American	California/American	English	English
Dry Stout	California/American	California/American	California/American	English	Irish
Bock	California/American	California/American	German Lager	German Lager	German Lager

Una cervecería goza de más variedad y flexibilidad cuando se emplean múltiples cepas.

de diferentes cepas = # de días de elaboración por mes / 3

Por ejemplo, doce cervezas al mes serían igual a cuatro cepas posibles. Esto le da al cervecero de nueve a diez días a partir del inicio de la fermentación para cuando necesite levadura para la reinoculación. Por lo general las fermentaciones ale están completas en cinco días, con cuatro a cinco días para que la levadura se asiente, la cerveza madure y el cervecero colecte la levadura. Las cepas altamente floculantes, como la ale inglesa, estarán listas más rápidamente, mientras que las cepas lager tomarán más tiempo. Contempla este número de cepas como un límite superior y sólo cerveceros experimentados deberían intentar hacer un seguimiento de cuatro cepas mientras elabora tres días a la semana. Tú no vas a utilizar todas las cepas por igual, porque tus cervezas más populares, como la pale ale o ámbar, se venderán más rápido. El costo puede ser otro motivo de preocupación para algunos cerveceros que están considerando el uso de más de una cepa, pero no es muy diferente que el uso de una sola cepa, ya que puedes reutilizar cada una de cinco a diez generaciones, al igual que en el uso de una sola cepa. De esta manera la cervecería está recibiendo los beneficios del aumento de las tasas de inoculación y distribuye el costo de la levadura durante muchos más batches. Considera también que tener una mayor variedad de cervezas únicas podría dar lugar a la captura de más clientes y más ventas a través de tu línea de productos. Bien valdría la pena tanto el costo como el esfuerzo del uso de múltiples cepas si ese es el resultado. La contaminación cruzada es otro motivo común de preocupación de los cerveceros que nunca han usado cepas múltiples. Hay algo de verdad en esta preocupación, debido a que la concentración de uso de estas “otras” cepas en la cervecería es alta. Cuanto mayor sea la concentración de un microorganismo en tu cervecería, mayor es la probabilidad de sufrir contaminación cruzada. Sin embargo, como con cualquier cosa relacionada con la fermentación, la atención a la limpieza y prácticas sanitarias determina en gran parte tu éxito. De esta forma con buenas prácticas de limpieza, los cerveceros no experimentan problemas de contaminación cruzada utilizando múltiples cepas. Los cerveceros que utilizan múltiples cepas consideran que, si los procedimientos actuales no dan lugar a contaminación, la incorporación de más cepas no será un problema. Al momento de trabajar con varias cepas al mismo tiempo, mantén lo siguiente en mente:

- Sé consistente
- Trata de recoger la levadura en la etapa óptima para esta cepa y así inocular un recuento de células o peso húmedo de células consistente.
- La consistencia ayuda a identificar problemas antes de que lleguen a ser significativos.
- Utiliza contenedores de almacenamiento “sólo para levadura”.
- Utiliza un recipiente diferente para cada cepa y rotúlalo con claridad.
- Al almacenar la levadura, recuerda almacenarla en frío, mantenerla libre de aire y la presión de CO₂ baja.
- Almacena los envases de levadura en un área limpia y refrigerada propia. Evita usar las áreas de circulación de comida u otras áreas de uso múltiple.
- Fresco es lo mejor. Mantén el tiempo de almacenamiento a un mínimo, la levadura se almacena de 1° a 2°C (33° a 36°F) y el objetivo es su uso dentro de los siete días de la recolección. Considera como el tiempo máximo de almacenamiento 14 días.
- Monitorea el pH de la suspensión de levadura durante el almacenamiento. Un aumento de pH superior a 1,0 indica una muerte celular significativa y se debe descartar el barro de levadura.
- Documenta todo y mantén un buen registro. Debes prestar especial atención a las temperaturas de fermentación, los tiempos, los patrones de flocculación y la atenuación de cerveza a cerveza. No te olvides de registrar datos tales como las cualidades sensoriales de la cerveza, fuente de la levadura, el número de generaciones, las temperaturas de almacenamiento, el tiempo de almacenamiento, etc.
- Aprende las necesidades y comportamientos de cada cepa en tu cervecería. Cada cepa es un poco diferente.
- Utiliza un panel de degustación y haz sesiones semanales de degustación.
- Tener algunas personas confiables para catar semanalmente cada cerveza te dará una vara de medición consistente para identificar los problemas de manera temprana.
- Asegúrate de probar la cerveza desde los fermentadores para eliminar un problema potencial antes de reutilizar la levadura.
- Como siempre, limpia y desinfecta a fondo, incluyendo los acoplos, siempre que se haga una conexión.
- Regularmente controla los puntos problemáticos comunes, tales como el intercambiador de calor y la superficie del fermentador. Cambia productos blandos, tales como juntas de goma, antes de que surjan problemas.

Cepas Múltiples en Una Cerveza

Los cerveceros en la actualidad suelen utilizar una única cepa de levadura pura para la fermentación.

Esta ha sido la práctica desde el desarrollo de técnicas de cultivo puro por Emile Christian Hansen. Antes de eso, un cervecer estaba inoculando probablemente varias cepas diferentes en su mosto ya sea en detrimento o en un posible beneficio de su cerveza. Hoy en día la mayoría de los cerveceros consideran una sola cepa como el perfil de sabor que identifique su cerveza. Por ejemplo, sabemos que Anheuser-Busch todavía fermenta con su cepa original de levadura lager, en uso desde finales del siglo XIX. Incluso muchas cervecerías artesanales más pequeñas utilizan una sola cepa en la mayor parte de sus cervezas. Incluso si una cervecería utiliza diferentes cepas para diferentes cervezas, la práctica habitual es utilizar una sola cepa por cerveza.

¿Habrá un beneficio para el uso de múltiples cepas de levadura en una sola fermentación? En algunas cervezas, sí:

- Un cervecer podría producir una cerveza más seca de otra manera demasiado dulce mediante la adición de una cepa neutral de mayor atenuación al batch. De esta manera mantiene el perfil de sabor de la cepa más compleja, pero de baja atenuación al tiempo que aprovecha el poder de atenuación de la cepa neutral.
- Un cervecer podría mezclar dos cepas con diferentes perfiles de sabor complementarios para obtener un sabor más complejo.
- Una cervecería podría crear un perfil identificatorio de sabor único para sus cervezas que sería difícil de duplicar por las otras cervecerías.
- Un cervecer podría utilizar una cepa tolerante al alcohol en conjunción con la cepa de la casa, para hacer frente a las cervezas de temporada de alta densidad.

Figura 3.2:

Objetivo	Cepas	Tiempos
Atenuación más alta o alcanzar un alcohol por volumen más alto mientras se mantiene el sabor original	Una levadura para el sabor más una levadura para la atenuación	Inicialmente agrega de la levadura luego atenuación de la levadura durante el último tercio de la fermentación
Aumentar la complejidad o perfil único de sabor	Dos o más cepas	Toda la levadura al comienzo de la fermentación

Fermentación de multi cepas para alcanzar objetivos específicos.

Una cosa a tener en cuenta es que las células de levadura producen la mayor parte de sus compuestos de sabor en las primeras 72 horas de fermentación. Por lo tanto, si un cervecero quiere mezclar los sabores de diferentes cepas de levadura, tiene que agregar todas las cepas en el comienzo de la fermentación. Esto es diferente para la adición de una segunda cepa de una mayor atenuación o tolerante al alcohol. En este caso, el cervecero agrega la cepa tolerante al alcohol o de alta atenuación hacia el final de la fermentación y que agrega poco en términos de compuestos de sabor, a pesar de que va a trabajar utilizando los azúcares restantes para lograr la atenuación deseada. La desventaja de este método es que no se puede colectar y reinocular la levadura sin la segunda cepa que, esta vez, provocaría un impacto mayor en el sabor de los batches posteriores. Hay algunos trucos para agregar levadura a una fermentación ya en curso. Dado que la fermentación está desprovista de oxígeno y el alcohol está presente, la levadura tiene que estar en un estado muy activo. Debe estar pasando por una fermentación activa, ya sea desde un starter, propagación, o de una fermentación activa de uno a dos días para cuando sea inoculada en la cerveza. Muchos cerveceros evitan el uso de la fermentación de varias cepas, preocupados de que ambas cepas compitan entre sí y una gane. Curiosamente, las cepas de levadura de cerveza crecen a un ritmo similar durante la fermentación de la cerveza, por lo que la competencia es rara vez un factor cuando se combinan dos o más cepas. Muchas cepas de levadura salvaje compiten unas contra otras y algunas incluso tienen elementos asesinos pero la levadura de cerveza, no. Tal vez esto se debe a las generaciones de cerveceros que protegieron su producción de cepas de levadura competitivas.

Los cerveceros que están preocupados por una cepa avasallando a la otra pueden hacer un experimento sencillo para comparar la tasa de crecimiento de cada cepa por separado y combinadas para determinar si las cepas de levadura crecen bien juntas. La preocupación más relevante respecto a las fermentaciones de cultivo

mixto es la diferencia en la floculación, a pesar de que las cepas de mala floculación co-flocularán con una cepa de mejor floculación, mejorando su floculación, todavía habrá algunas diferencias en la floculación en general. La recolección y reinoculación a partir de una fermentación mixta requiere que prestemos especial atención a estas diferencias, de no ser así se puede afectar el porcentaje de cada cepa de levadura recolectada. Por ejemplo, si el cultivo mixto consiste en una cepa altamente floculante y una cepa de baja floculación, la recolección de la levadura de la parte inferior del fermentador presentará un porcentaje mayor de la cepa altamente floculante. En el mundo real de la cervecería, hemos visto el cambio porcentual en tan sólo cinco generaciones. En este caso, la mezcla pasó de una distribución igual de cepas a una sola constituyendo el 90 por ciento de la inoculación. Curiosamente el cervecer continuaba viendo el beneficio de ambas cepas de levadura y se sorprendió al enterarse de la magnitud de la acumulación. No debes estar demasiado preocupado por la posibilidad de acumulación, ya que es relativamente fácil controlar un inóculo para la acumulación de cepas. Este libro incluye varias técnicas para el seguimiento de la levadura en “Tu Propio Laboratorio de Levadura Hecho Fácil”. El método más fácil de comprobar la acumulación es similar a las técnicas utilizadas para determinar la pureza de una cepa de levadura. Simplemente colocar la levadura en placas de Nutrientes Wallerstein (WLN) hará visible la cantidad de cada cepa en un cultivo mixto sin el uso de un microscopio o de análisis genético. Con el fin de explorar la eficacia del uso real de cepas mixtas en la elaboración de cerveza, White Labs proporcionó cultivos mixtos a un número de cervecerías. Las respuestas de los cerveceros fueron positivas.

Figura 3.3:

Tipo de cerveza	Objetivo	Cepas usadas	Comentarios cerveceros
Hefeweizen alemana	Aumento del sabor	WLP 300 (50%) WLP 380 (50%) ambas agregadas al comienzo	Balanceado y más complejo que en batches anteriores solo con la WLP 300
Weizenbock	Aumento del sabor	WLP 380 (30%) WLP 830 (70%) ambas agregadas al comienzo	Buen sabor Weizen
Saison	Aumento de la atenuación	WLP 566 (al comienzo) WLP 029 (a 1.022) D.I. 1.048 D.F. 1.009	Sabores a saison obtenidos con la WLP 566 y sequedad con la cepa de la casa (WLP 029)
Barley wine	Aumento de la atenuación	WLP 002 (al comienzo) WLP 001 (a 1.030) D.I. 1.094 D.F. 1.014	El sabor de la cepa de la casa (WLP 002) domina mientras que la sequedad se obtiene a partir de la WLP 001
Cerveza muy fuerte	Aumento de la atenuación	WLP 001 (al comienzo) WLP 715 (cuando se imprima con azúcar) WLP 099 (a la tercera imprimación) D.I. 1095 + azúcar D.F. 1008 ABV 15,3%	Sabores complejos, atenuación alcanzada con la WLP 099 El perfil del sabor fue dominado por la WLP 001

Resultados de los ensayos de cepas múltiples.

Si bien la fermentación con cultivos mixtos no es una panacea para todos los problemas de atenuación o sabor, es fácil ver cómo el uso de múltiples cepas de uno o más proveedores pueden ser una herramienta útil en el arsenal del cervecero creativo.

Brettanomyces

La mayoría de cerveceros experimentados saben que la *Brettanomyces* es una levadura, aunque los cerveceros principiantes a menudo piensan que es una bacteria. Al igual que las cepas ale y lager, las cepas de *Brettanomyces*

son una levadura que no forma esporas. Los cerveceros a menudo se refieren a ella como “Brett” y para algunos es una maldición, mientras que a otros les gusta. En 1904, N. Hjelte Claussen, director de la Nueva Cervecería Carlsberg en Copenhague, Dinamarca, aisló e introdujo las

Brettanomyces al mundo. Mostró que la cerveza Strong English Ale almacenada por largo tiempo experimenta una segunda fermentación lenta de *Brettanomyces* y esta segunda fermentación produce los sabores característicos de estas cervezas británicas de alta densidad. De hecho, el nombre de *Brettanomyces* viene del griego “hongo británico”. Él fue capaz de reproducir este sabor mediante la inoculación de cerveza con un cultivo puro de estas, recién nombradas, *Brettanomyces*. Antes del trabajo de Hansen y su desarrollo de la técnica de cultivo puro, la *Brettanomyces* estaba presente en muchas cervezas.

El comienzo del cultivo cervecer puro fue el comienzo de la edad oscura de la *Brettanomyces*, la cual los cerveceros eliminaron a lo largo del tiempo. Aunque la mayoría de bodegas y cervecerías todavía hoy rehúyen el uso de *Brettanomyces*, algunos lo aprecian y un nuevo día amanece para esta levadura largamente difamada. Los descriptores para los compuestos de fermentación de *Brettanomyces* se leen como si estuviéramos en la Granja de Old Mac Donald: manta de caballo, corral, caballo sudoroso, curita, cuero, lana mojada, entérico, frijoles quemados, plástico quemado, pimienta, a ratón y más. Es fácil ver por qué muchos cerveceros la ven más como una influencia negativa en lugar de positiva. Sin embargo, es un componente crítico de las lambics y algunas otras cervezas de tipo belga. Hoy en día muchas cervecerías están adoptando *Brettanomyces*. Cerveceros artesanales y caseros audaces también están experimentando con ella, algunos con gran éxito. Se

considera una parte integral de la producción del sabor de cervezas como *Rodenbach Grand Cru*, *Orval*, *Cuvée de Tomme*, *lambic*

y una multitud de otras de cervecerías como Lost Abbey Brewing Company of San Marcos (California) y Russian River Brewing Company de Santa Rosa (California). ¿Por qué estas cervecerías utilizan esta atípica levadura cuyos sabores suenan tan desagradables? Este es el por qué, los sabores son como sumarle las especias de una tienda india a tu supermercado local (a menos que vivas en la India, por supuesto). De repente, tienes muchos nuevos sabores y aromas para utilizar al momento de

elaborar esa próxima gran cerveza. Con la habilidad apropiada y el equilibrio adecuado, estos sabores crean una cerveza que es a la vez compleja y deliciosa.

Precauciones con la Contaminación

El único problema que frena a muchos cerveceros de experimentar con *Brettanomyces* es la preocupación por la contaminación cruzada. Si no tienes cuidado podrías encontrar, rápidamente, el carácter *Brettanomyces* desarrollado en todas tus cervezas. La *Brettanomyces* se propaga fácilmente, al igual que otros organismos, a través del polvo por vía aérea, madera, moscas de la fruta, líneas de traspase y el resto del equipo. El rasgo que hace a la *Brettanomyces* un poco más problemática es su capacidad para formar un bio film, que requiere una limpieza adecuada antes de poder sanitizar la superficie. Sin embargo, el reparo en una la limpieza adecuada y procedimientos de sanitización bastarán para la prevención de problemas. Si también mantienes los implementos de trabajo separados, uno para *Brettanomyces* y uno para tus otras cervezas, nunca deberías tener un problema.

Cepas de *Brettanomyces*

Brettanomyces es un género de levadura no formadora de esporas dentro de la familia *Saccharomycetaceae*. Los tipos formadores de esporas constituyen el género *Dekkera*. El grupo *Brettanomyces* creció a medida que los investigadores agregaron, durante el siglo pasado, muchas cepas nuevas. Los investigadores han identificado cinco especies, basados en la secuencia de homología ADN ribosomal:

- *B. bruxellensis*, que incluye: *B. intermedia*, *B. lambicus* y *B. custersii*
- *B. anomalus*, que incluye: *B. clausenii*
- *B. custersianus*
- *B. naardenensis*
- *B. nanus*

Sólo hay tres cepas Brett utilizadas regularmente para elaborar cerveza:

- *B. bruxellensis*: es una gran cepa para fermentación secundaria. Orval utiliza esta cepa para producir el sabor secundario en su cerveza ale trapense. New

Belgium, Southampton Mackenzies también han utilizado esta cepa en la producción de cervezas.

- *B. lambicus*: se encuentra más frecuentemente en el estilo lambic, flander red y cervezas brown. Russian River está utilizando esta cepa en varias cervezas, sobre todo en sanctification.
- *B. anomalus*: no es tan conocido como las otras dos, pero tiene fama de ser una cepa de *B. bruxellensis*. Esta es, quizás, la cepa aislada de las stouts de Inglaterra e Irlanda. Su sabor es mucho más sutil que la de las otras cepas tendiendo más hacia lo frutado.

¿Qué hace especial a la *Brettanomyces*?

La *Brettanomyces* se comporta de manera diferente que tus típicas cepas cerveceras. Probablemente la diferencia más significativa es el efecto Custer. El efecto Custer es la inhibición de la fermentación alcohólica, en ausencia de oxígeno. Mientras que nuestras cepas cotidianas producen alcohol en ausencia de oxígeno (fermentación anaeróbica), la *Brettanomyces* produce alcohol a una tasa mayor en presencia de oxígeno (fermentación aeróbica). Con oxígeno presente la *Brettanomyces* convierte la glucosa en etanol y ácido acético. Una de las razones por la que muchas bodegas se preocupan por la *Brettanomyces* es que puede consumir los azúcares de la madera presentes en barricas de roble. La *Brettanomyces* produce la enzima β -glucosidasa, que le permite crecer en azúcares de madera llamados celobiosa. El proceso de quemado para barricas nuevas de roble crea celobiosa. Los barriles nuevos contienen cantidades más altas de celobiosa que las barricas usadas y por lo tanto tienen el potencial para soportar mayores poblaciones de *Brettanomyces*. La β -galactosidasa descompone la celobiosa y produce glucosa que las células utilizan para obtener energía. Es posible que esta actividad de glucosidasa genere

algunos de los sabores frutados. Si bien muchas bodegas destruyen cualquier barril que desarrolle una población de *Brett*, algunos cerveceros las atesoran. Si deseas favorecer la β -glucosidasa ten en cuenta que los altos niveles de etanol inhiben su actividad y su rango de pH óptimo es de 5 a 6.

La *Brettanomyces* produce cuatro subproductos claves: ácidos orgánicos volátiles, esterasas, tetrahidropiridinas y fenoles volátiles. Un ácido común que producen es ácido acético y es normal encontrar que las cervezas de *Brettanomyces* con altos niveles de ácido acético también tienen altos niveles de acetato de etilo. Otros compuestos saborizantes, derivados de ácidos grasos comunes para la *Brettanomyces*, son isovalérico, isobutírico y 2-metilbutírico. Las

tetrahidropiridinas son responsables de los sabores a ratón. La fermentación de la *Brett*

forma fenoles volátiles tales como 4-etilfenol (curita) y 4-etilguayacol (madera quemada). Los fenoles volátiles también producen sabores como canela especiada, pimienta, corral, caballo y otros compuestos de sabor clásicos de la *Brettanomyces*. De hecho, la presencia de 4-etilfenol es un fuerte indicador de *Brettanomyces*.

Tasas de Inoculación y Otros Factores

Como muchos cerveceros saben, si estás tratando de evitar a las *Brettanomyces*, basta solamente con unas pocas células para que aparezcan en tu cerveza caracteres *Brettanomyces*. Incluso si estás deliberadamente buscando una fermentación *Brettanomyces*, el uso de demasiadas células puede ser perjudicial. Nosotros vemos como eficaz una tasa de inoculación de 200.000 células por mililitro, mucho menos de lo que se podría utilizar para cepas ale o lager. Cuando se trabaja con barriles de madera, Tomme Arthur de Lost Abbey recomienda inocular el doble de esta tasa para barricas nuevas, para que la cepa pueda colonizar el barril. Vinnie Cilurzo del Russian River comienza con la mitad de esa tasa, pero suma a sus fermentaciones otro inóculo de *Brettanomyces* una vez al mes. Como toda fermentación, es necesario experimentar con la tasa de inoculación para encontrar la cantidad adecuada para obtener los resultados que deseas. La *Brettanomyces* crece lentamente y vive mucho tiempo. Mientras que algunas cepas toman cinco meses para llegar a su máximo crecimiento y desarrollo de los perfiles de sabor adecuados, la cepa promedio puede llegar a ese punto en alrededor de cinco semanas en condiciones adecuadas. El oxígeno juega un papel importante en el crecimiento de la *Brett* y la producción de compuestos como el ácido acético y etanol. La aireación moderada de la *Brett* estimula el crecimiento. Los investigadores encontraron que el suministro óptimo para el crecimiento *B. bruxellensis* era 4 mg O₂/L/h el cual es un caudal de aire de 60 l/h (0,1 volumen de aire por volumen de medio

por minuto, o vvm), que es aproximadamente cuatro veces mayor que el nivel de oxígeno recomendado para las ales. Las tasas más altas o más bajas reducen el crecimiento celular. La producción de etanol y ácido acético también depende del nivel de aireación, el aumento de oxígeno resulta en más ácido acético y menos etanol (Aguilar Uscanga, et al., 2003). Si tu objetivo es hacer crecer la *Brettanomyces* para conseguir un elevado de carácter de vinagre en tu cerveza, grandes cantidades de oxígeno es lo que se necesita. La densidad específica de la cerveza también puede afectar el desarrollo del sabor de la fermentación secundaria

con *Brettanomyces*. Cuando Claussen trabajó con *Brettanomyces*, demostró que la inoculación de una cerveza con una densidad específica de 1.055 logaría el carácter “inglés”. J. L. Shimwell confirmó más tarde que eran necesarias ciertas condiciones para alcanzar un sabor “vinoso” (similar al vino). Shimwell enunció que una cerveza por debajo de 1.050 (12.4°P) sería desagradable, turbia, insípida e inodora, mientras que una cerveza con una densidad específica de 1.060 (14.7°P) desarrollaría una calidad de origen vírico. La *Brettanomyces* podría comportarse “como un organismo deseable en una cerveza y uno indeseable en otra de la misma cervecería” (Shimwell, 1947).

Captura de Levadura Salvaje

La mayoría lo hemos hecho. Mientras estábamos disfrutando de una lambic belga magníficamente elaborada, comenzamos a preguntarnos acerca de la fermentación espontánea en nuestro propio patio trasero. ¿Y si expusiéramos un contenedor de mosto durante la noche? ¿Y si sumergimos una manzana de nuestro árbol en el mosto? Aunque la mayoría de las cervecerías tratan de evitar la exposición a estas influencias, un número de almas audaces fomentan la inclusión de organismos de origen natural en su proceso de fermentación. Cuando surge este tema, muchos piensan de inmediato en las cervecerías en el Valle del Sena alrededor de Bruselas. Sí, ellos han liderado el camino en la elaboración de cerveza por siglos, pero más y más cervecerías están explorando esta área emocionante de su oficio. Una de ellas es Jolly Pumpkin Artisan Ales en Dexter, Michigan. Según Ron Jeffries, cervecer propietario, el diseño del sistema de calefacción y refrigeración de la cervecería hace ingresar aire fresco de la noche sin filtrar, dándole oportunidad a microorganismos locales de que asienten en sus fermentadores abiertos. Jolly Pumpkin fermenta principalmente sus cervezas con una cepa comercial, pero a largo plazo el uso y re-uso del cultivo de batch a batch y la afluencia de otros organismos, ha desarrollado con el tiempo un perfil sabroso y único.

En la fermentación espontánea, dependemos de los microbios ya presente en los ingredientes (uvas, manzanas, peras) o en el polvo viajando por el aire o de insectos para la inoculación. Como puedes imaginar, los resultados suelen ser muy variables. Si bien puede haber levadura apta del tipo de fermentación que deseas, a menudo se encuentra codo a codo con otros microbios, como las bacterias y el moho. Existe cierto debate sobre si es posible encontrar levaduras productoras de alcohol en la superficie de diversas frutas. La teoría es que la levadura ya está presente en el equipo utilizado para el procesamiento y la fermentación. Sin embargo, los estudios han encontrado *S. cerevisiae* en las

manzanas fermentadas espontáneamente (Prahl, 2009). Esto no significa que la *S. cerevisiae*

está presente en todas las frutas u otras plantas, pero parece probable que la mayoría de frutas mantendrían al menos una pequeña población.

Tanto la recolección de organismos de la fruta o asentados con el aire de la noche, la cantidad de levadura presente va a ser bastante pequeña en comparación con la cantidad que necesitaríamos, incluso para el más pequeño batch de cerveza. Muchos cerveceros evitan esto inoculando inicialmente con un cultivo puro en una tasa adecuada para después permitir asentar a organismos adicionales en la cerveza expuesta. El momento de la exposición y la tasa de inoculación primaria pueden tener un gran impacto en los resultados del proceso. No hay reglas, y lo único que puedes hacer es experimentar con la tasa inicial, la cantidad de tiempo en dejar el fermentador abierto y si expones el mosto antes, durante o después de que la fermentación sea completa. Tanto el pH, las IBUs, la graduación alcohólica, la estación del año y la cantidad de azúcar residual tienen un efecto sobre la respuesta de los organismos secundarios. ¿Qué pasa si quieres tener más control y quieres evitar todas las otras bacterias y el moho? Tal vez deseas crear tu propio cultivo puro a partir de lo ya existente en tu patio trasero. Puedes realizar algunas pequeñas fermentaciones ya sea mediante la exposición durante la noche o por inmersión de un poco de fruta en el mosto. Mantén el mosto sencillo, sólo malta pálida y un bajo nivel de lúpulo. Se pueden degustar los resultados para ver si alguno de los experimentos tiene un carácter que deseas mantener, luego cosecha y pon en una placa los organismos presentes en la cerveza. A partir de las colonias que crezcan en la placa, ejecuta más ensayos de fermentación para ver cuáles contribuyen los sabores que te gustan. Un factor que puedes influenciar a tu favor es que la mezcla de organismos cambiará después de fermentaciones repetidas para favorecer a los atributos que les permiten sobrevivir en el medio ambiente que les proporcionas. Digámoslo una vez más: el ambiente que proporcionas genera una selección de microorganismos favoreciendo unos sobre otros. Usa esto a tu favor. Si tienes una fermentación alcohólica —donde el pH ha disminuido, los nutrientes son limitados, el oxígeno es inexistente y el nivel de alcohol ha aumentado— probablemente alguna variante de la *S. cerevisiae* sea el nadador más fuerte en la piscina. Debería ser capaz de derrotar a la mayoría de las bacterias presentes.

Una vez que tengas una favorita de tu batch de prueba, toma ese resultado y fermenta otra tanda de batches de prueba con la misma densidad específica, las IBUs y otros factores de la cerveza buscada. Esto favorecerá a algunos organismos y no a otros, eliminando a aquellos que no pueden manejar ese entorno. Si tu objetivo es hacer una cerveza

de alta graduación alcohólica con la levadura recién descubierta, podrías comenzar con una levadura ale neutral al mismo tiempo. Esto te garantizará un mayor nivel de alcohol y ayudará a eliminar cualquier organismo que no pueda sobrevivir en ese entorno. El re-uso eventualmente favorecerá los organismos con una tolerancia de alcohol superior. Si deseas aislar un organismo, sigue estos pasos repetitivamente para crear tu propio cultivo puro:

1. Cosecha el sedimento de la fermentación.
2. Diluye el sedimento y ponlo en una placa de modo que puedas escoger colonias aisladas, puras.
3. Transfiere estas colonias aisladas a pequeños batches de prueba de mosto.
4. Verifica los resultados de la prueba a través del gusto, aroma u otras pruebas. Si hay una falla, empieza de nuevo. Si los resultados son los que quieras, continúa.
5. Toma el resultado satisfactorio y propágalo en un volumen mayor de mosto.

Si bien trabajar con levaduras autóctonas puede ser interesante, la realidad es que conseguir buenos resultados no es trivial. Dependiendo del medio utilizado, también es potencialmente peligroso.

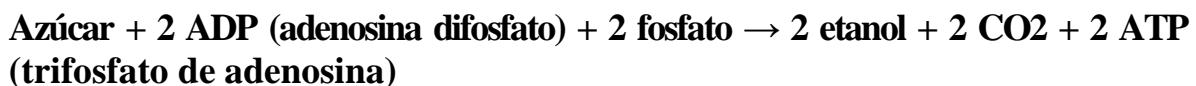
Medios en condiciones aeróbicas y con un pH lo suficientemente elevado pueden permitir el crecimiento de patógenos. Ten cuidado al probar cualquier fermentación espontánea, sobre todo si no huele a cerveza. Incluso si no huele mal podría ser peligroso. Puede que quieras evitar la degustación de cualquier fermentación espontánea, esperando hasta que hayas aislado las levaduras y generado un cultivo puro a partir de ellas.

Parte 4. Fermentación.

La fermentación está donde hacemos cerveza. El dicho “los cerveceros hacen mosto, la levadura hace cerveza” es cierto, pero como cerveceros, dependemos mucho del control sobre cómo la levadura elabora nuestra cerveza. Si bien puede parecer que una cepa específica lidiará con nuestros deseos de vez en cuando, aprender qué es lo que hace que una cepa funcione y aprovechar ese conocimiento nos da cierta medida de control sobre nuestra levadura. Una gran parte de lo que hace a un gran cerveceros es entender y manipular la fermentación para obtener el resultado ideal. Si bien no puedes hacer que una cepa haga algo que no es fisiológicamente capaz de hacer, puedes hacer que responda de la mejor manera posible.

Línea de Tiempo de la Fermentación

Una vez que inoculas tu levadura, ¿qué hacen las células? La respuesta común: consumen azúcar del mosto y lo convierten en nuevas células de levadura, etanol, dióxido de carbono y compuestos de sabor.



Para que puedas maximizar los compuestos de sabor correctos, es útil saber cómo actúa la levadura a través de la fermentación de la cerveza. Algunos expertos dividen la fermentación en cuatro o más fases: lag (o retardo), crecimiento, fermentación y sedimentación. La verdad es que gran parte de la actividad de levadura no sigue distintas fases con puntos de inicio y suspensión firmes; en cambio, hay mucha superposición. Por ejemplo, al principio, el crecimiento y la fermentación se producen al mismo tiempo. Decir que las células están en una fase u otra en un momento dado no es necesariamente cierto, ya que las células individuales progresarán a través de la fermentación a diferentes ritmos.

Simplifiquemos y digamos que la fermentación en el mosto del cervecero sigue tres fases: lag o fase de retardo de 0 a 15 horas, fase de crecimiento exponencial de 1 a 4 días y fase estacionaria de 3 a 10 días. Las fases exactas no son importantes; más bien, el cervecero debe entender qué gana la levadura de la fermentación y qué hace por la cerveza.

Fase Lag (0 Horas a 15 Horas Después de la Inoculación de la Levadura)

Cuando inoculas la levadura en el mosto, comienza a aclimatarse al medioambiente. Aunque no veas ninguna actividad, las células comienzan a absorber oxígeno, minerales y aminoácidos (nitrógeno) del mosto y crean proteínas a partir de los aminoácidos. Si la levadura no puede obtener los aminoácidos que necesitan del mosto, los producen. El mosto hecho completamente a partir de malta es una excelente fuente de nitrógeno, minerales y vitaminas. El mosto suministra la mayoría de las vitaminas que la levadura necesita para una fermentación adecuada. Algunos ejemplos de vitaminas necesarias son riboflavina, inositol y biotina. Minerales importantes son: fósforo, azufre, cobre, hierro, zinc, potasio y sodio. A medida que la levadura absorbe minerales y vitaminas del mosto, comienzan a fabricar las enzimas necesarias para el crecimiento. Puedes suplementar el mosto con minerales y vitaminas adicionales utilizando nutrientes de levadura disponibles comercialmente para mejorar la vitalidad y rendimiento de la levadura. El zinc es un

compuesto que a menudo escasea. El único nutriente que la levadura necesita, que no está presente en el mosto hervido, es el oxígeno. Durante la fase lag o de retraso, las células de levadura absorben rápidamente el oxígeno disponible del mosto. Las células necesitan oxígeno para producir compuestos importantes, principalmente esteroles, que son críticos en la permeabilidad de la membrana de la levadura. Es importante que proporcionen suficiente oxígeno a la levadura al comienzo de la fermentación. En general, no deseas agregar oxígeno más tarde, ya que puedes alterar el delicado equilibrio de la creación del compuesto de aroma y sabor. Una excepción es cuando se preparan cervezas de alta densidad y de alto contenido de alcohol. En esos casos, donde la levadura necesita grandes reservas para fermentar la cerveza hasta su finalización, una segunda adición de oxígeno entre 12 y 18 horas después de la inoculación puede marcar una gran diferencia atenuando la cerveza al nivel deseado. La temperatura afecta directamente el crecimiento de la levadura. Las temperaturas más cálidas dan como resultado más células. Una técnica común cuando se trabaja con una inoculación de levadura un poco más pequeña es llevar a cabo la fase de retraso en condiciones más cálidas. Si bien no puede crear sabores no deseados directamente, puede aumentar algunos precursores, como el acetolactato alfa, que es el precursor del diacetilo. Si vas a inocular la levadura a temperatura cálida, prepárate para elevar la temperatura de la cerveza a la misma temperatura o más alta cerca del final de la fermentación. Esto ayudará a la levadura a utilizar algunos de estos compuestos de la fermentación y dará como resultado una cerveza más limpia. Aparte de estos precursores, la levadura produce mínimos compuestos de sabor durante la fase de retraso. La levadura produce mínimo etanol en esta etapa, por lo que la formación de éster es no es una preocupación. La levadura no crea ésteres hasta que primero hace una cantidad apreciable de alcoholes. Sin embargo, la rapidez del crecimiento durante este tiempo afectará los sabores más adelante en la fermentación. Algunos cerveceros comienzan la fase lag o de retraso para las cervezas ales entre 22° a 24° C (72 a 75 ° F), y completan la fermentación a 20° C (68° F). Esto también se puede hacer con éxito para las lagers, iniciando la fase lag entre 22° a 24° C (72° a 75° F) y bajando la temperatura de fermentación a entre 10° y 13° C (50° y 55° F). Esta es una forma aceptable de hacer frente a una inoculación de levadura más pequeña pero aún de tamaño apropiado para un batch de cerveza de un tamaño dado. Sin embargo, no es una panacea para una inoculación de tamaño demasiado pequeño. Cuando el cervecer dispone de una inoculación apropiada de levadura saludable, y tiene la capacidad de enfriar el mosto hasta las temperaturas de fermentación dentro de un período de tiempo razonable, el mejor curso para la calidad de la cerveza es inocular a la temperatura de fermentación o ligeramente por debajo. El cervecer permite que la temperatura de fermentación aumente durante las primeras 12 a 36 horas,

hasta que alcanza la temperatura deseada. El beneficio de este proceso es el crecimiento controlado de la levadura, que a menudo resulta en una mejor salud general de la levadura, menor filtración a través de la membrana celular y, por lo tanto, un perfil de cerveza más limpio.

No verá ninguna actividad visible durante la fase lag o de retraso (de ahí su nombre), pero esta fase es un paso muy importante en la construcción de nuevas células sanas para la fermentación. La tasa de inoculación también juega un papel importante en

la calidad de la fase de retraso. La sobre inoculación puede disminuir la fase lag, pero cada célula individual no será tan saludable al final de la fermentación. Aunque un cervecero pueda encontrar tranquilizador ver actividad de fermentación en una hora, no es la condición óptima para la levadura. Lo mismo es cierto para sub inoculación, intentar compensar con temperatura y nutrientes. Demasiado crecimiento celular a menudo deja las células en una forma menos que óptima para el resto de esa fermentación y para la próxima fermentación también.

Fase de Crecimiento Exponencial (4 Horas a 5 Días)

A medida que la levadura sale de la fase de retardo, comienza a consumir los azúcares en solución y produce CO₂, entre otras cosas. Este es el comienzo de la fase exponencial o logarítmica del crecimiento de la levadura. Durante esta fase, la cantidad de células aumenta rápidamente, y la levadura produce etanol y compuestos de sabor. La levadura comienza a producir grandes volúmenes de CO₂ y crea una capa de espuma en la superficie de la cerveza. Para la mayoría de las levaduras ale neutrales, el aroma de la fermentación durante esta fase tiene un olor a “oliva”. La fase exponencial ocurre cuando la levadura consume rápidamente azúcar, y lo hace en cierto orden. La levadura primero utiliza los azúcares simples: glucosa, luego fructosa y sacarosa. La levadura puede transportar estos azúcares simples dentro de la célula y al metabolismo muy rápidamente. Mientras que la glucosa constituye aproximadamente el 14% de los azúcares del mosto, la maltosa es la pieza central. La maltosa representa aproximadamente el 59% de los azúcares en el mosto promedio, y su fermentación es parte de lo que permite a la levadura crear algunos de los sabores característicos de la cerveza. En respuesta a la presencia de maltosa, la levadura utiliza enzimas maltasa para hidrolizar (la hidrólisis es la descomposición de un compuesto químico por reacción con agua) la maltosa en unidades de glucosa por enzimas maltasa. La levadura puede utilizar la glucosa a través del ciclo de metabolismo normal. La levadura fermenta los azúcares más complejos como la maltotriosa. Este es un azúcar difícil de digerir para la levadura, y algunas cepas fermentan la maltotriosa mejor que otras. Algunas cepas no

pueden fermentar maltotriosa en absoluto. Cuanto más floculante es una cepa, menos maltotriosa tiende a ser capaz de fermentar. La capacidad de fermentar maltotriosa es lo que determina el rango de atenuación característica de cada cepa. Llamamos a la altura de la actividad de la levadura “alto kraeusen”. La espuma en la parte superior de la fermentación cambia de color de amarillo a marrón. Los colores provienen principalmente de los componentes precipitados de malta y lúpulo, con las manchas marrones o “levadura marrón” (braun hefe) proviene de resinas de lúpulo oxidadas.

Fase Estacionaria (Tres a Diez Días)

En este punto, el crecimiento de la levadura se ralentiza y la levadura entra en una fase estacionaria. La levadura ya casi ha producido la mayoría de los compuestos de sabor y aroma, que incluyen alcoholes fusel, ésteres y compuestos de azufre. Llamamos a esto “cerveza verde”, porque en este punto todavía hay muchos compuestos presentes que asociamos con la cerveza joven que aún no ha alcanzado un equilibrio adecuado de sabores. La cerveza madura en la fase estacionaria, también conocida como la fase de acondicionamiento. La levadura reabsorbe gran parte del diacetilo y del acetaldehído producidos durante la fermentación, y el sulfuro de hidrógeno continúa escapándose de la parte superior del fermentador como un gas. El kraeusen cae y los flóculos de levadura comienzan a asentarse. Cuando se trabaja con una nueva cepa, es importante verificar el grado de atenuación en este punto para confirmar que la levadura en efecto ha completado la fermentación. Algunas cepas floculan y se sedimentan antes de que la cerveza se atenúe por completo, y el cervecero necesita tomar medidas correctivas que pueden incluir despertar la levadura, elevar la temperatura o volver a inocularla. En este punto, muchas cervecerías profesionales enfrián gradualmente el contenido del fermentador a entre 2° a 4° C (35° y 40° F), lo que obliga a la mayoría de las levaduras a flocular y sedimentarse. Los fabricantes de cerveza comerciales hacen esto para producir cerveza de la manera más rápida y eficiente posible. Mientras que los cerveceros caseros pueden hacer esto llevando el fermentador a un espacio refrigerado o ajustando el controlador de temperatura más frío, recomendamos no utilizar este enfoque. Una de las cosas que no debes hacer es forzar la levadura a la latencia antes de que hayan tenido todas las oportunidades para limpiarse después. Una cervecería comercial que conocemos tenía un alto nivel de diacetilo en sus cervezas ales, porque estaba acelerando

el proceso. Una vez que se proporcionó un poco más de calor y tiempo, la cerveza pasó de mantecosa a fantástica. Nuestra recomendación, especialmente para los

cerveceros caseros, es esperar a que la levadura termine sus tareas y limpiar los subproductos de fermentación tanto como sea posible. El consejo de cerveceros caseros tradicionales de “esperar siete días y luego transferir” no es el mejor consejo. Diferentes cervezas y diferentes levaduras tienen diferentes requerimientos. Espera hasta que la levadura no muestre más actividad, deja que el fermentador se aclare naturalmente y luego envasa la cerveza. En resumen, es importante que puedas reconocer estas fases principales, ya que podrás identificar mejor las posibles áreas problemáticas. Cuando se trata de fermentación, concéntrate en la calidad de la cerveza en lugar de la velocidad para factores claves como la temperatura, el tiempo y la tasa de inoculación.

Composición del Mosto

La composición del mosto es muy importante para la fermentación, desde los nutrientes hasta los porcentajes de azúcares. Sin una nutrición adecuada y el equilibrio adecuado de azúcares, la fermentación no terminará como espera el cerveceros, y la cerveza se afectará.

Azúcares

La mayoría de los cerveceros saben que existe una correlación entre la temperatura del macerado y los tipos de azúcares creados en él. Las temperaturas más altas favorecen a las enzimas que producen azúcares más complejos y menos fermentables, y el resultado es que la cerveza atenúa menos que una con menos azúcares complejos. La densidad del macerado juega un papel muy pequeño en la fermentación resultante del mosto, pero el cerveceros puede superar fácilmente su efecto con un ligero ajuste en la temperatura del macerado. El tiempo y la temperatura son los principales parámetros que el cerveceros debe usar para ajustar la fermentabilidad del mosto. Si bien la conversión puede ocurrir rápidamente, la actividad enzimática adicional aún puede afectar la fermentabilidad del mosto. Realizar una prueba de fermentación de mosto forzada es barato, fácil y te brindará información valiosa sobre lo que puedes esperar de tu fermentación. Tener esta información hace que sea mucho más fácil determinar si tu problema de fermentación está relacionado con el lado frío o el lado caliente. Adquiere el hábito de realizar una prueba de fermentación del mosto cada vez que elaboras una nueva cerveza y haz pruebas periódicas para las cervezas que ya están en producción. Puedes encontrar más información sobre esta prueba en el capítulo “Tu Propio Laboratorio de Levadura Hecho Fácil”. Una cosa que muchos cerveceros han llegado a creer es que las altas temperaturas de maceración resultan en cervezas “más maltosas”. Con esto quieren decir que la cerveza tiene más dulzor de la malta. Las temperaturas de

macerado más altas no desarrollan más carácter o sabor a malta, ni tampoco dan lugar a mucho dulzor. Las dextrinas de cadena larga creadas a altas temperaturas de macerado son a lo sumo muy ligeramente dulces. Es posible elaborar dos cervezas, una con una temperatura de maceración más alta y una densidad de finalización alta, y otra con una temperatura de maceración más baja y una densidad de finalización más baja, pero la cerveza con la densidad de finalización más alta tendrá sabor más seco (menos dulce) que la segunda cerveza. Hay muchos ejemplos de cervezas de estilo belga de densidad muy baja que todavía tienen un carácter dulce por delante. Hay muchos factores en el dulzor relativo de una cerveza más allá de la fermentación, incluidos los alcoholes, los compuestos de amargor, los taninos, la carbonatación y los azúcares que la levadura no consumió.

Enzimas

Los cerveceros caseros son conocidos por su deseo de hacer cervezas extremas, superando los límites a cada momento. Aquellos que elaboran cervezas gigantes a veces recurren a productos de enzimas de venta libre que descomponen los almidones. El problema fundamental con la adición de enzimas a la fermentación (además del riesgo de contaminación bacteriana) es que, sin el hervor, las enzimas conservan su actividad plena. Continuarán descomponiendo los almidones y las dextrinas, secando completamente una cerveza y degradando la calidad del sabor de la cerveza. La única forma razonable para que un cervecero detenga la actividad de la enzima es pasteurizar la cerveza a una temperatura y duración capaces de desnaturarizar la enzima. Pocos cerveceros artesanales e incluso menos cerveceros caseros pasteurizan su cerveza, por lo que esta no es una opción en muchas cervecerías. Las cervezas de alta densidad, especialmente las que están hechas completamente de grano comienzan con un alto porcentaje de azúcar no fermentable. El problema es que la fermentación a menudo no llega al objetivo del cervecero. La adición de enzimas α -amilasa a una fermentación detenida de alta densidad a menudo reinicia la fermentación. Como se esperaba, las enzimas continúan funcionando, pero la alta concentración de alcohol impide que la levadura trabaje, incluso cuando las enzimas hacen que haya nuevo azúcar fermentable disponible. Algunos cerveceros informaron que tuvieron éxito con este método, aunque los resultados podrían ser menos parecidos a la cerveza deseada. A medida que la popularidad de las cervezas con alto contenido de alcohol continúa aumentando, es probable que más cerveceros experimenten con enzimas. Las deficiencias nutricionales también pueden causar que la fermentación transcurra lentamente. Cuando se usa mosto que contiene una gran porción de malta que carecen de azúcares o se utilizan maltas no modificadas, es importante asegurarse de que haya suficiente nitrógeno en el mosto para el adecuado

desarrollo de las células y la fermentación. Las maltas sub modificadas deberían someterse a un descanso de proteínas para garantizar que el mosto contenga suficientes aminoácidos, y el mosto que utiliza un alto porcentaje de azúcar sin malta puede requerir de nitrógeno suplementario. A veces el motivo de una fermentación mediocre es una deficiencia mineral. Para trabajar o trabajar eficientemente, muchas enzimas necesitan ciertos minerales como cofactores. Por ejemplo, el mosto del cervecero a menudo es limitado en zinc. El zinc es un cofactor de la enzima alcohol deshidrogenasa, la enzima responsable de la producción de alcohol en la levadura. La enzima no puede utilizar otros iones metálicos en lugar de zinc, estas enzimas pueden provenir de muchas fuentes, incluidas las fuentes vegetales como: la malta. La mayoría de los fabricantes comerciales producen sus productos enzimáticos a partir de microorganismos. Es económicamente eficiente cultivar grandes cantidades de microorganismos (ya sean bacterias u hongos) en fermentaciones de alta densidad celular. Los organismos generalmente excretan la enzima de interés, por lo que solo necesitan eliminar las células y concentrar los medios circundantes que contienen la enzima. La especificación de cada producto y el uso previsto determina si continúa con una mayor purificación. Los productos no purifican la mayoría de las enzimas por completo, ya que sería demasiado caro. Por lo tanto, cada preparación generalmente contiene varias enzimas diferentes. Los fabricantes también pueden producir enzimas a partir de fuentes de ADN recombinante (organismos modificados genéticamente u OMG), pero su uso en la elaboración de cerveza hoy en día todavía es muy raro. Los cerveceros son conservadores y conscientes de la reacción potencialmente adversa del cliente a la adición de productos OMG a la cerveza. Un producto de OMG, Maturex, de Novo Nordisk, obtuvo la aprobación de la Administración Federal de Drogas para su uso en la cerveza. Es una acetolactato descarboxilasa, que convierte acetolactato directamente en acetoína sin producir diacetilo, eliminando la necesidad de un descanso de diacetilo. Sin embargo, Maturex no puede eliminar el diacetilo que está presente como resultado del metabolismo de la levadura o el *Pediococcus*. La conclusión es que el uso de esta enzima puede eliminar la espera de un descanso de diacetilo, pero acortar el tiempo de maduración de la cerveza puede tener otras consecuencias para el sabor de la cerveza. Cuando compras estos productos de enzimas, no te sorprendas de lo poco que obtengas. Ya que catalizar una reacción no consume la enzima, solo necesitas una cantidad muy pequeña. Las tasas de uso exactas varían, pero por lo general, son cerca de 1 gramo por barril de EE.UU. Es muy probable que el producto que compras esté envasado en forma líquida o en polvo. Si compras enzimas en polvo, lo mejor es usar preparaciones “sin polvo” para ayudar a prevenir el contacto inadvertido con la piel, los ojos o los pulmones. Las proteasas presentes en las mezclas y la alta concentración de las enzimas pueden causar irritación en la piel.

Puedes prolongar la vida útil de las enzimas manteniéndolas en frío. La vida útil de la mayoría de las preparaciones es de un año cuando y se almacena a 4°C (40° F).

Nutrición de la Levadura

La levadura necesita un suministro adecuado de azúcar, nitrógeno, vitaminas, fósforo y oligoelementos. Los requerimientos exactos de nutrientes varían entre las células de levadura ale (*Saccharomyces cerevisiae*) y lager (*Saccharomyces uvarum*), y para cada cepa dentro de la especie. Los requerimientos de nutrientes también pueden variar entre cervecerías, incluso cuando usan la misma cepa de levadura. Un mosto hecho a partir de solo malta contiene todos los nutrientes que la levadura necesita para la fermentación, excepto el oxígeno y el zinc. Los adjuntos como el maíz, el arroz o los jarabes de azúcar no contienen muchos nutrientes esenciales, como nitrógeno, minerales y vitaminas. Incluso con los mostos de solo malta, los cerveceros pueden encontrar ventajas en la adición de nutrientes para mejorar y afinar el rendimiento de la fermentación. Varios productos de nutrientes para levadura disponibles proporcionan una fuente equilibrada de nitrógeno, minerales y vitaminas. Los cerveceros también pueden agregar nutrientes específicos de forma individual, pero ten en cuenta que cantidades excesivas de nutrientes también pueden causar problemas. Tu objetivo es encontrar el equilibrio óptimo para tus condiciones de fermentación. El nitrógeno constituye aproximadamente el 10 por ciento del peso seco de las células de levadura, este mismo en el mosto de la cerveza está principalmente en forma de aminoácidos. Hay veinte tipos diferentes de aminoácidos, y la levadura puede hacerlos aminoácidos que necesita o asimilarlos del mosto. Tanto los aminoácidos del mosto como los suplementos de nitrógeno inorgánico afectan el sabor, que puede ser bueno o malo dependiendo de tus objetivos. Al igual que la levadura se acerca a diferentes azúcares, la levadura asimila y utiliza los aminoácidos del mosto lo más rápido y eficientemente posible. La levadura absorbe y utiliza algunos aminoácidos del mosto (Grupo A) durante el primer día, mientras que otros (Grupo B) se absorben gradualmente durante la fermentación. La levadura no absorbe otros (Grupo C) hasta después de un retardo sustancial. Y la levadura no utiliza el aminoácido más abundante en el mosto, la prolina (Grupo D), en absoluto. La especificidad de las permeasas que transportan aminoácidos a través de la membrana plasmática controla las tasas de utilización. La forma más rápida para que la levadura utilice nitrógeno es mediante transaminación. En este proceso, un aminoácido donante cede su nitrógeno alfa-amino al ácido ceto para formar el aminoácido deseado. Por lo tanto, en su mayor parte, los aminoácidos del mosto se convierten en alfa-cetoácidos. Esta es la razón por la cual las levaduras no utilizan prolina, porque es el único aminoácido en el que el grupo alfa-

amino es una amina secundaria (unida a dos carbonos) y no puede transaminarse. Este proceso tiene profundas implicaciones para el sabor. Los alfa-cetoácidos formados se descarboxilan para formar un aldehído, que posteriormente se reduce a alcohol, y esta es la fuente de los alcoholes fusel. Esta es la razón por la que los suplementos de aminoácidos pueden afectar la cantidad y el tipo de alcohol fusel formado. Además, los cambios en el perfil de alcohol fusel afectan el perfil de éster. Esta es una razón por la que los complementos de aminoácidos no son necesariamente superiores al nitrógeno inorgánico. Las fuentes comunes de nitrógeno inorgánico son el sulfato de amonio y el diamino fosfato (DAP). El DAP se ha convertido por lejos en la fuente de nitrógeno más preferida en la industria del vino, ya que también proporciona fosfato. El fósforo es un componente esencial del ácido desoxirribonucleico (ADN), así como de los fosfolípidos dentro de las membranas celulares. El fósforo representa del 3 al 5 por ciento del peso seco de la célula, la mayoría del cual la levadura almacena en vacuolas. Si la levadura no tiene fosfato, pueden surgir problemas de fermentación debido a problemas con la replicación del ADN, y esto también puede dar como resultado fermentaciones incompletas y trabadas. En las fermentaciones donde el fosfato es limitante, como las cervezas con adjuntos o los mostos no basados en cebada, la adición de fosfato puede ser beneficiosa. Las vitaminas son esenciales en muchas reacciones enzimáticas, sin embargo, la levadura no puede sintetizar muchas de las vitaminas esenciales. Los requerimientos típicos de vitaminas incluyen biotina, ácido nicotínico y ácido pantoténico. La biotina es la vitamina más importante para la levadura. Está involucrada en casi todas las reacciones enzimáticas que crean compuestos de levadura críticos: proteínas, ADN, carbohidratos y ácidos grasos. La deficiencia de biotina produce un lento crecimiento de la levadura y fermentaciones trabadas. Los minerales necesarios incluyen calcio, potasio, magnesio, zinc y muchos más rastros de iones metálicos. Las reacciones enzimáticas usan minerales como cofactores. Los minerales facilitan la absorción celular de los materiales y la levadura usa minerales en el material estructural celular. El calcio es importante para la floculación y el metabolismo de la levadura, pero los investigadores no creen que sea normalmente un factor limitante para el crecimiento y la fermentación de la levadura en el mosto a base de malta. Los cerveceros algunas veces agregan sales de calcio a las fermentaciones para ajustar el pH y mejorar la floculación. El manganeso, que puede estimular el crecimiento de la levadura a menudo se agrega a muchas formulaciones de nutrientes de levadura. El potasio tiene muchas funciones dentro de la célula y representa hasta el 2 por ciento del peso seco de una célula de levadura, que es muy alto para un mineral (la mayoría tiene menos del 0,1 por ciento). El magnesio es importante en la síntesis de ATP, que es la forma de energía utilizada en las células. De hecho, la levadura no puede crecer en ausencia de magnesio. Con cantidades limitadas de magnesio, las células

de levadura deben tratar de producir compuestos que puedan compensar algunas de sus funciones. Los investigadores han demostrado que el magnesio mejora la capacidad de una célula para resistir el estrés y juega un papel en la prevención de la muerte celular cuando el etanol se acumula dentro de la célula (Walker, 2000). Como se mencionó anteriormente, el mosto a menudo es limitado en zinc. El zinc es importante en el ciclo celular (reproducción) y es un cofactor del alcohol deshidrogenasa, la enzima responsable de la producción de alcohol. Aunque pueden existir otros iones metálicos, no hay sustituto para el zinc. El rango ideal para la fermentación es de 0.1 a 0.15 miligramos por litro. Puedes usar sulfato de zinc de calidad alimentaria (FCC) o de grado farmacéutico (UPS) o cloruro de zinc. Una cosa a tener en cuenta al determinar la dosificación y el costo es que el grado de sulfato de zinc FCC o USP es invariablemente sal de heptahidrato de zinc ($ZnSO_4 \cdot 7H_2O$), que es solo 23 porciento de zinc en peso. Por otro lado, el cloruro de zinc es 48 por ciento de zinc por peso. A demás, ten en cuenta que parte del zinc es absorbido por la ruptura en caliente (hot break), y deberás agregar más cantidad que la cantidad objetivo para la fermentación. La adición de aproximadamente 0,2 a 0,3 mg/l de zinc cerca del final del hervor debe dar como resultado un nivel de zinc lo suficientemente alto en el fermentador. Curiosamente la levadura de cerveza también tiene niveles muy altos de cromo, en comparación con otras levaduras. Todavía no sabemos qué papel tiene el cromo en la fermentación, pero los niveles de cromo son tan altos que la levadura de cerveza a menudo se incluye en muchos productos nutricionales y cosméticos únicamente por su contribución al cromo. Incluso, cuando el mosto tiene una composición mineral técnicamente suficiente, no garantiza que los minerales estén biodisponibles para las células de levadura. Los iones metálicos tienden a quelarse, lo que significa que se unen a proteínas u otros compuestos, haciéndolos no disponibles para la levadura. Incluso cuando los metales entran exitosamente en las células de levadura, pueden quelarse dentro del citoplasma, éste es en realidad un mecanismo de defensa natural para la levadura, evitando que los metales tóxicos dañen las fermentaciones. Por ejemplo, el cesio, el litio y el plomo inhiben el crecimiento de la levadura. Un único suplemento que puede abordar este problema es Servomyces, que WhiteLabs representa en América del Norte. El fabricante utiliza un proceso patentado, mediante el cual crece la levadura de cerveza en presencia de iones metálicos, incluidos el zinc y el magnesio. Las pruebas fluorescentes muestran que el proceso de fabricación une a la mayoría de los minerales dentro de la pared celular, lo que puede evitar la quelación cuando se agrega al mosto. Cuando un cervecero agrega Servomyces, proporciona zinc y magnesio necesarios junto con el otro valor de nutrientes de las células de levadura muertas. En consecuencia, el efecto de

agregar Servomyces es mayor que solo agregar la misma cantidad de sales nutritivas (McLaren, et al., 2001).

Aireación Para la Fermentación

La levadura no es estrictamente anaeróbica; necesita oxígeno para la reproducción. Los cerveceros normalmente bombean oxígeno al mosto antes de agregar la levadura, antes de que comience la fermentación anaeróbica. A pesar de que los cerveceros están aterrados de oxidar su producto final, saben que las levaduras requieren oxígeno para tener una fermentación saludable y consistente. Los niveles adecuados de oxígeno durante las primeras etapas de la fermentación del mosto son necesarios, ya que el oxígeno juega un papel integral en la síntesis de lípidos para la producción de la pared celular (Fix and Fix, 1997). Existe una fuerte correlación entre el oxígeno suministrado al mosto, la cantidad de esteroles sintetizados y el rendimiento de la fermentación (Boulton, et al., 1991, Boulton y Quain, 1987). Sin un suministro adecuado de esteroles, las células de levadura muestran característicamente baja viabilidad y bajo rendimiento en la fermentación. Cuando Sierra Nevada Brewing Company de Chico, California, comenzó a elaborar comercialmente a principios de la década de 1980, los cerveceros intentaron durante tres meses hacer una pale ale aceptable. Por alguna razón desconocida, el sabor no era lo que querían. Una pista: las fermentaciones eran lentas. Descubrieron que el problema era una baja aireación. La solución fue simple pero profunda. Para mejorar la aireación, modificaron el equipo para que rociara el mosto en el fermentador (Grossman, 2009).

La Necesidad de Oxígeno

Cuando la levadura se reproduce, necesita crear nuevas membranas lipídicas para su progenie. Para hacer esto necesita dos tipos de compuestos: esteroles y ácidos grasos insaturados. Los esteroles mantienen la estructura de las membranas de las células lipídicas fluidas y regulan la permeabilidad. La levadura puede obtener esteroles del mosto o puede fabricarlos. Sin embargo, no siempre hay suficientes esteroles (y no todos los tipos son necesarios) en el mosto de la cerveza para fermentaciones adecuadas, por lo que la levadura necesita hacerlos. Curiosamente, incluso si todos los esteroles correctos estuvieran disponibles en el mosto, la levadura tiene dificultades para importar esteroles en presencia de oxígeno (Shinabarger, et al., 1989). La síntesis y regulación de esteroles es compleja. En resumen, la levadura utiliza glucógeno para derivar acetil-CoA, que utiliza

para crear escualeno. Luego, en una serie de pasos que usan oxígeno, convierten el escualeno a 2,3-epoxiescualeno, que luego se ciclan para formar lanosterol, el primer esterol en la ruta sintética. Luego crean otros esteroles, incluido el ergosterol, en varias reacciones, algunas de las cuales implican más oxígeno. Hay diez reacciones enzimáticas de acetil-CoA a escualeno, y otras diez a doce para formar ergosterol.

La mayor parte del esterol libre va a la membrana plasmática, algunos a varios orgánulos unidos a la membrana dentro de la célula. Los otros componentes importantes de las membranas lipídicas son los ácidos grasos insaturados (UFA), como el ácido palmitoleico y el ácido oleico. Al igual que con los esteroles, la síntesis comienza con acetil-CoA. Por ejemplo, la conversión de acetil-CoA en el ácido palmítico de ácido graso requiere diez pasos. El oxígeno luego desatura ácido palmítico en ácido palmitoleico. Muchos cerveceros comerciales les preocupan que agregar oxígeno al mosto pueda aumentar la velocidad de envejecimiento más adelante en la vida de la cerveza, por lo que están interesados en encontrar nuevas formas de suministrar levadura con los esteroles necesarios para la fermentación. New Belgium Brewing Company en Fort Collins, Colorado, experimentó con la adición de UFA en cultivos de levadura como una forma de eliminar la aireación del mosto. Elegió el aceite de oliva como una rica fuente de ácido oleico. La mayor concentración de aceite de oliva que la cervecería agregó fue: 1 miligramo por 25 mil millones de células 5 horas antes de la inoculación, dando como resultado un tiempo de fermentación más parecida al control aireado, que fue 94 horas para el aceite, versus 83 horas para el control.

Debido a que la fermentación alcanzó la densidad terminal, se supuso que la adición de aceite de oliva tuvo un efecto positivo sobre los niveles de UFA. La cerveza resultante (una amber ale), tenía los niveles esperados de ésteres más altos y niveles más bajos de alcoholes fusel (sin aireación), pero los páneles de degustación no pudieron detectar las diferencias (Hull, 2008). New Belgium no implementó la técnica de manera permanente, pero el experimento despertó el interés de muchos fabricantes de cerveza. Aquí hay algunos pensamientos a considerar:

- ¿Cuáles son los efectos positivos y negativos de la no aireación de mosto?
- ¿Cuáles son los efectos de las no adiciones de oxígeno en generaciones de levadura?
- ¿La adición de aceite de oliva junto con la aireación de la levadura o el mosto mejoraría la fermentación?
- ¿La adición de ergosterol o ergosterol y aceite de oliva mejoraría la fermentación?, ¿Puede la levadura tener demasiados esteroles?

No, dado que la levadura regula cuidadosamente su metabolismo, el exceso de oxígeno no produce exceso de esteroles. En cambio, la levadura usa el oxígeno para hacer más compuestos de sabor.

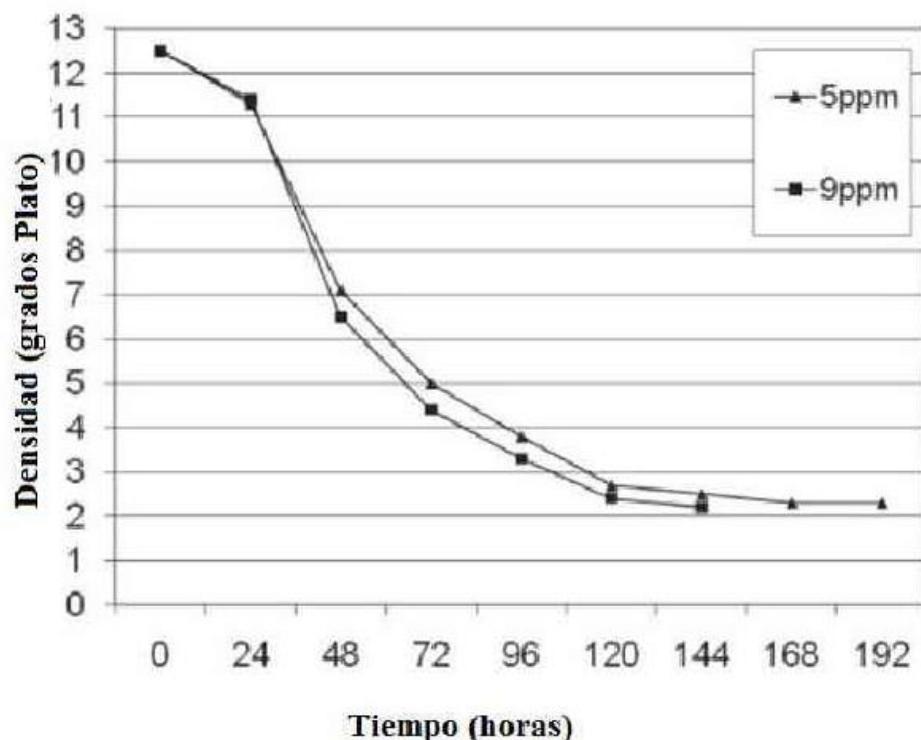
¿Cuánto Oxígeno es Necesario?

Usar niveles adecuados de oxígeno disuelto es tan importante como usar las tasas de inoculación adecuadas. La falta de oxígeno disuelto causa muchos problemas de fermentación. Las fermentaciones trabadas, los tiempos de fermentación prolongados, las cervezas sub atenuadas, el estrés de la levadura y los sabores no deseados a menudo son el resultado de muy poco oxígeno. Además, la sub aireación puede dar lugar a una menor viabilidad con cada generación de levadura reutilizada. Para las tasas mosto promedio e inoculación de levadura, la cantidad adecuada de oxígeno disuelto es de 8 a 10 ppm (Takacs, et al., 2007). Cuando se trata de mosto de alta densidad, los cerveceros a menudo se preguntan si deberían oxigenar basándose en la densidad o en la cantidad de levadura inoculada. Tu objetivo es suministrar la cantidad óptima de oxígeno para la cantidad de células de levadura presentes y la cantidad que necesitan para crecer. Por supuesto, con un mosto de mayor densidad debes inocular más levadura, por lo que el requerimiento de oxígeno será mayor. En algunos casos, los cerveceros intentan compensar la falta de células agregando más oxígeno para generar más crecimiento, y el crecimiento excesivo rara vez es óptimo para el sabor de la cerveza. Los dispositivos para esparcir mosto empleados por muchos cerveceros caseros darán como resultado aproximadamente 4 ppm, menos de la mitad de la cantidad requerida. Los fabricantes de cerveza comerciales que usan métodos similares encontrarán que obtienen resultados comparables. Con mucho espacio libre, brazos fuertes y mucha agitación vigorosa, un cervecero casero puede obtener niveles de hasta 8 ppm en el mosto. Esto es aproximadamente el máximo uso de aire. El uso de una bomba de acuario con una piedra sinterizada no dará como resultado más de 8 ppm, incluso con tiempos prolongados. De hecho, la aireación prolongada puede ser perjudicial para la formación y retención de la espuma. La única forma de alcanzar el mínimo recomendado de 10 ppm es con la adición de oxígeno. Llenar el espacio superior (headspace) del fermentador y agitar vigorosamente puede dar como resultado niveles de oxígeno disuelto por encima de 10 ppm, pero una vez que tengas oxígeno embotellado, es mucho más fácil usar una piedra sinterizada. Con oxígeno embotellado o un generador de oxígeno y una piedra sinterizada, es posible alcanzar altos niveles de oxígeno disuelto. Hay una serie de sistemas disponibles comercialmente tanto para profesionales como para cerveceros caseros que pueden alcanzar los niveles

necesarios. Demasiado oxígeno rara vez es un problema. Sin embargo, parece que instar a los cerveceros a usar gran cantidad de oxígeno ha resultado en algunos casos en que han alcanzado niveles de oxígeno perjudiciales para el sabor de la cerveza. Aunque la mayoría de las cepas de levadura son capaces de hacer frente a altos niveles de oxígeno disuelto, es posible proporcionar tanto que se convierta en un problema de sabor de la cerveza. El uso excesivo de oxígeno puro da como resultado altos niveles de alcoholes fusel, acetaldehído incrementado y otros problemas de sabor. La mayoría de los pequeños fabricantes de cerveza no miden la cantidad real de oxígeno disuelto, sino que se basan en un procedimiento (consulte la página 82). Esto puede engañar fácilmente a un fabricante de cerveza si hay un problema sutil con el equipo, la temperatura u otra variable, lo que da como resultado niveles de oxígeno disuelto altos o, a menudo, bajos. El equipo para medir el nivel de oxígeno disuelto del mosto no es demasiado caro para la mayoría de las cervecerías comerciales, alrededor de \$ 1,000 USD. ¿Qué hace el cervecer casero? Mientras que algunos cerveceros caseros están dispuestos a comprar equipos de prueba en busca de la cerveza perfecta, el cervecer casero promedio no puede hacer la inversión. Sin embargo, es importante luchar por algún tipo de control sobre tu proceso. Si puedes proveer constantemente la misma cantidad de flujo de oxígeno desde tu equipo, puedes controlar el nivel total de oxígeno disuelto variando la duración de la provisión. Muchos cerveceros caseros quieren saber cuánto oxígeno obtienen de su método. El número exacto no es importante, a menos que estés dispuesto a comprar el equipo de prueba. Sin eso, lo que puedes hacer es probar diferentes cantidades de oxígeno y evaluar la calidad de la cerveza resultante. Si un minuto de oxígeno a tu tasa de flujo constante no ofrece los resultados que deseas, intenta aumentar la provisión a un minuto y medio o disminuirla a solo treinta segundos. Si la cerveza mejora, entonces mantente con la nueva duración.

Al usar este método descubrirás que puedes encontrar el punto óptimo para la cepa que estás usando en una cerveza determinada. La parte difícil es asegurarse de tener el mismo índice de flujo cada vez. Los reguladores que proporcionan un flujo constante están disponibles y son una buena solución si el presupuesto lo permite. De lo contrario, deberás tratar de garantizar el mismo índice de flujo visualmente cada vez que agregues oxígeno. Para ayudar a los cerveceros caseros con la cuestión de cuánto oxígeno agregar a un batch de cerveza, White Labs realizó un experimento inyectando oxígeno puro en 5.3 galones (20 litros) de mosto de 1.077 (18.7 ° P) utilizando una piedra sinterizada de acero de 0.5 micras en un caudal de 1 litro por minuto. Los resultados muestran que para alcanzar las 8 a 10 ppm deseadas, necesitarás inyectar oxígeno durante un minuto:

Figura 4.1:



Niveles de oxígeno disuelto con varios tiempos de aireación en 20 litros de mosto. 18.7° P de mosto a 24° C (75° F). Inyección de oxígeno puro a 1 litro por minuto utilizando una piedra sinterizada de 0,5 micras.

Para demostrar el efecto de variar los niveles de oxígeno disuelto en la fermentación, White Labs lanzó: White Labs WLP001 a una tasa de 12 millones de células por mililitro en los mostos de las pruebas de oxígeno disuelto. En la figura 4.2 se ve que las muestras de mosto de alrededor de 3 y 5 ppm de oxígeno no se atenuaron tan completamente como las otras muestras, lo que atenuó un grado Plato completo sobre la muestra agitada. El aumento del nivel de oxígeno más allá de 9 ppm aumentó ligeramente el ritmo de la fermentación durante los primeros tres días, pero ambas cervezas terminaron con la misma densidad terminal.

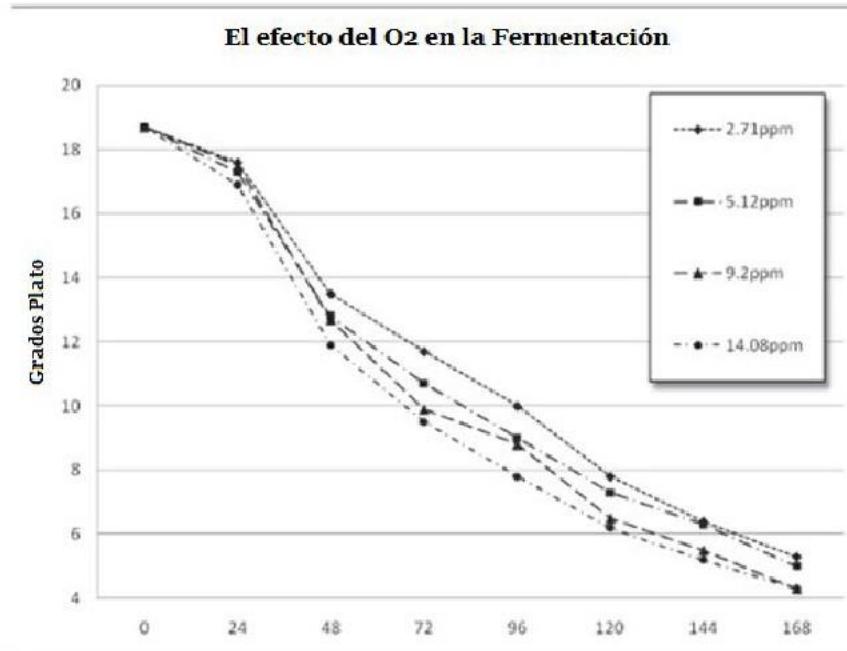
Figura 4.2:

Método de Aireación	PPM de O ₂ observados
Agitando 5 minutos	2,71 ppm
30 segundos de O ₂ puro	5,12 ppm
60 segundos de O ₂ puro	9,29 ppm
90 segundos de O ₂ puro	14.08 ppm

Comparación de cómo los niveles de oxígeno (ppm) afectan el progreso de la fermentación con el tiempo (horas). 18.7 ° P de mosto partiendo a 24° C (75° F).

Los cerveceros caseros no son los únicos cerveceros que luchan por descubrir cuánto oxígeno agregar a su mosto. La investigación de White Labs ha demostrado que muchas cervecerías pequeñas siguen aireando de más o aireando de menos (Parker, 2008). White Labs verificó las prácticas de aireación del mosto en una docena de cervecerías comerciales y descubrió los siguientes niveles de oxígeno disuelto:

Figura 4.3:



Muestra de niveles de oxígeno disuelto de cervecería artesanal (Parker,2008).

Claramente, muy pocos fabricantes de cerveza están logrando las 8 a 10 ppm recomendadas. Ninguna de estas cervecerías midió el oxígeno disuelto real en su mosto. La mayoría usaba un medidor de flujo, introducía oxígeno puro en línea y luego estimaba el nivel de oxígeno disuelto en función del tiempo de llenado del mosto. Pruebas adicionales mostraron que, al aumentar los niveles de oxígeno para llevarlos al rango recomendado, el número aumentado de células cultivadas significativamente mejoró la velocidad de la fermentación, en algunos casos terminando 24 a 48 horas antes (Figura 4.4).

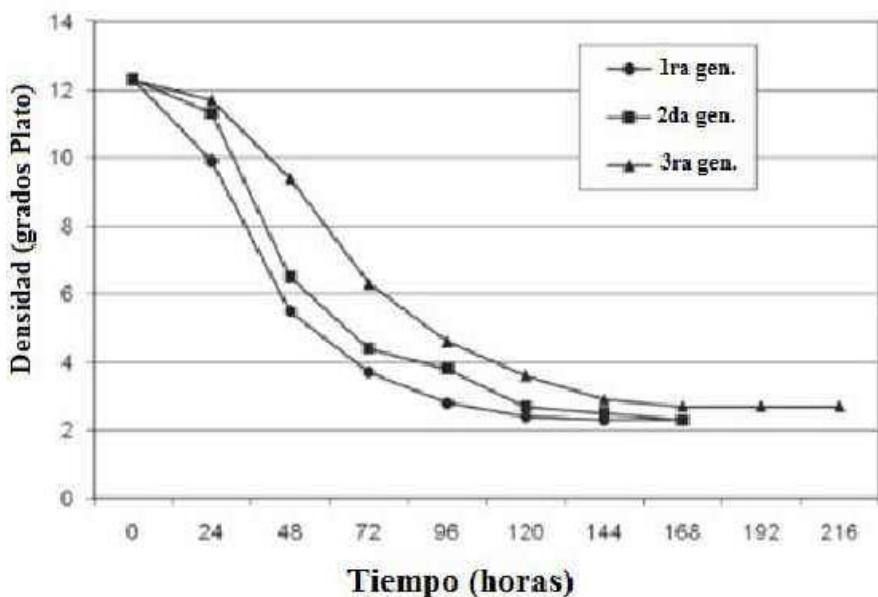
Figura 4.4:

Volumen de mosto (en barriles)	Promedio de Flujo de O ₂ (L/m)	Duración de O ₂ (minutos)	Densidad del mosto (°P)	Oxígeno disuelto (ppm)
40	6	40	12.5	5.00
15	6	45	13.2	5.42
15	12	75-80	25.5	5.50
10	6	35	12.3	5.85
40	7	40	12.3	6.20
15	7	40	12.7	6.54
10	7	35	12.5	7.20
10	6	30	14.4	8.10
10	7	30-40	12.0	8.25

La velocidad de fermentación de una cervecería que muestra el mosto actual versus el mosto enriquecido con oxígeno. El mosto con alto contenido de oxígeno alcanzó la densidad terminal entre 24 y 48 horas antes que el mosto con menos oxígeno (Parker,2008).

White Labs también investigó los resultados de la sub oxigenación crónica. La figura 4.5 compara el rendimiento de la fermentación para levadura que se ha sometido a fermentaciones de generación múltiple a un nivel de oxígeno disuelto de 5 ppm. En la quinta generación, la fermentación mostró un aumento significativo en el tiempo de retraso (lag), un aumento en el tiempo para completar la fermentación y una densidad final más alta que las fermentaciones de la generación anterior.

Figura 4.5:



El rendimiento de fermentación de varias generaciones de levadura con recursos de oxígeno crónicamente agotados (Parker, 2008).

Lo que se sacó de este estudio no es solo que se requieren niveles de oxígeno adecuados para una buena fermentación, sino que la baja aireación tiene un impacto en la levadura para su reutilización. No solo la falta de oxígeno resulta en menos levadura, sino que produce levadura que no rinde tan bien en la próxima fermentación. Sin acceso a amplios recursos para construir las paredes celulares, menos células tienen las reservas de glucógeno y las membranas celulares que pueden soportar el estrés de la fermentación y el ambiente alcohólico, de pH bajo de la cerveza (Priest y Campbell, 2003).

Cerveza de Alta Densidad

Como se mencionó anteriormente, la densidad específica del mosto afecta a la levadura y cambia el carácter de la fermentación de varias maneras. Una manera en que los cerveceros intentan hacer frente a los mostos de densidades más altas es a través de un conteo de células más alto y la aireación del mosto antes de la fermentación. Si se trata de un mosto de densidad muy alta, más de 1.092 (22° P), debe airearse con oxígeno puro, ya que el aire no proporcionará un nivel suficientemente alto de oxígeno disuelto. Desafortunadamente, aún podría no ser suficiente para cervezas superiores a 1.083(20° P). Para las cervezas de alta densidad, agregar una segunda dosis de oxígeno entre 12 y 18 horas puede ayudar a la velocidad y atenuación de la fermentación (O'Conner-Cox e Ingledew, 1990). La levadura rápidamente toma este oxígeno y lo usa para el mantenimiento de la membrana celular y la producción de algunos compuestos intermediarios necesarios. La investigación también indica que la adición de oxígeno (algunos dicen más de 7 ppm, algunos dicen más de 12 ppm), a las 12 horas aumenta la velocidad de la fermentación en un 33% y disminuye los compuestos de sabor como el diacetilo y el acetaldehído (Jones, et al., 2007). ¿Por qué esperar hasta 12 horas? Estás esperando que la levadura complete al menos una división celular. Hay poco o ningún beneficio de la aireación adicional antes de que la levadura haya tenido la oportunidad de dividirse al menos una vez. También, puedes considerar ajustar tu tasa de inoculación y temperatura. Para un mosto de 1.106 (25° P), la tasa de inoculación óptima es de 35 millones de células por mililitro o una tasa de 1.4 millones/ml°P (D'Amore, 1991). A las 48 horas de la fermentación, una vez que se completa el crecimiento de la levadura, eleva la temperatura a 25° C (77° F) para las ales o a 20° C (68° F) para las lagers. El aumento de la temperatura mantiene la levadura trabajando al máximo.

Sistemas de Fermentación

Podemos fermentar cerveza en cualquier recipiente, siempre que pueda contener líquido, ¿verdad? Puedes usar todo tipo de recipientes, en todos los volúmenes diferentes y en todas las dimensiones diferentes, pero no todos los fermentadores se crean igual. En la actualidad, los recipientes de fermentación comunes en uso abarcan todo el rango desde cubos de plástico hasta fermentadores cilíndricos cónicos comerciales de alta tecnología. ¿Por qué marca una diferencia cuál tipo de sistema de fermentación usas? Fermenta la misma cerveza en dos tipos diferentes de fermentadores, y la mayoría de las veces, obtendrás dos cervezas diferentes. La mecánica de fluidos de la fermentación es única para cada tipo de fermentador. Una cervecería que usa

dos tipos diferentes de fermentadores encontrará que obtiene dos resultados de fermentación diferentes. Los resultados en algunos casos difieren más ampliamente que en otros. La mayoría de las veces, si los fermentadores tienen la misma forma y tamaño general, los resultados son lo suficientemente cercanos como para que el cervecero pueda mezclar las dos cervezas en un producto comercialmente aceptable. ¿Puede un cervecero ajustar las fermentaciones para hacer que las cervezas salgan igual? Eso es posible, pero generalmente requiere alteraciones en el proceso de fermentación, y algunas veces incluso requiere ajustes en la producción del mosto. Veamos dos batches de tamaño diferente para ilustrar un punto. Si fermentas un batch de 10 hectolitros a 21° C (70° F), es posible que debas fermentar una versión de 20 litros a 19° C (66° F) para obtener el mismo perfil de éster. Las características del fermentador, como la presión hidrostática, el punto de saturación de ciertos gases, los gradientes de temperatura y los puntos muertos, hacen que sea necesario utilizar una temperatura más baja en un cubo de plástico en comparación con un fermentador cónico grande. Podrías pensar que esto no se aplica en tu cervecería, ya que la mayoría de las cervecerías comerciales nunca fermentan en cubos de plástico, pero las diferencias en el diseño del fermentador pueden afectar la fermentación. A menudo, cuando una cervecería agrega nuevos fermentadores, necesita experimentar con diferentes condiciones de fermentación hasta que las cervezas producidas sean idénticas. El jefe cervecer de Sierra Nevada, Steve Dressler, dijo que cuando la compañía abrió su cervecería más nueva en 1997, llevó un mes de pruebas para hacer coincidir el sabor en los nuevos fermentadores. La cervecería descubrió que el tamaño del fermentador era una variable mayor de lo previsto. También investigó la fermentación con presión superior, diferentes esquemas de aireación y tasas de inoculación antes de que pudieras obtener el carácter de fermentación deseado. A menudo, los cerveceros no anticipan las variaciones entre los diferentes fermentadores. Recomendamos ejecutar batches de prueba con cualquier fermentador nuevo.

Fermentadores de Cervecería Casera

La gran mayoría de los cerveceros caseros hacen cerveza en batches de aproximadamente 20 litros utilizando cubos de plástico o garrafones vidrio (carboys). Muchos cerveceros caseros comienzan con cubos de plástico, pero eventualmente migran a garrafones de vidrio porque son más fáciles de mantener libres de contaminación. Desafortunadamente, los garrafones de vidrio son pesados y son peligrosos cuando están mojados. Los garrafones de vidrio han dañado gravemente a más

de un cervecero casero cuando se rompen. Los baldes plásticos son más propensos a la contaminación porque el plástico es bastante blando y se raya fácilmente. Los araños en el plástico pueden albergar y ocultar contaminación de los regímenes de limpieza y desinfección. Siempre y cuando el cervecero reemplace regularmente sus cubos, funcionan bien. Una adición reciente a la escena del cervecero casero es un garrafón de plástico llamado Better-Bottle. Hecho de PET, este fermentador es menos susceptible a los araños que un cubo de plástico, es más liviano que el vidrio y es esencialmente irrompible. Es un buen compromiso entre dos viejos favoritos populares. Los cerveceros caseros también fermentan en todo tipo de otros recipientes, desde barriles de calidad alimenticia hasta botes de basura o directamente en la olla de hervor. Varios cerveceros caseros incluso están experimentando con fermentaciones abiertas quitando las tapas de sus cubos de plástico. Los cerveceros caseros son creativos y muchos son tremadamente apasionados por su hobby. Algunos usan versiones pequeñas de fermentadores cónicos profesionales. Algunos modelos vienen con alta tecnología de calentamiento y enfriamiento, soportes, accesorios sanitarios y más.

Figura 4.6:



Fermentadores típicos de cervecería casera: garrafón de vidrio (carboy). Better Bottle, cubo de plástico, Fotos cortesía de MoreBeer.com.

Figura 4.7:



Fermentadores cilindro cónicos de tamaño casero de alta tecnología con refrigeración / calentamiento termoeléctrico y otras opciones. Fotos cortesía de MoreBeer.com.

Los cerveceros caseros a menudo usan barriles Cornelius inoxidables, antes utilizados por los productores de refrescos, para servir sus cervezas caseras. Algunos incluso eligen fermentar en estos recipientes. Los beneficios son la durabilidad y la capacidad de realizar transferencias cerradas. El inconveniente es el tamaño y las dimensiones del recipiente. Su forma alta y estrecha da como resultado características de fermentación diferentes a las de la mayoría de los otros fermentadores de tamaño casero. El tamaño de 5 galones (19 litros) también hace que sea imposible producir cinco galones completos de cerveza terminada sin diluir con agua, porque no hay suficiente espacio libre. Aun así, los cerveceros que los usan para la fermentación parecen gustarle. Si lo intenta, asegúrate de encontrar alguna forma de aliviar la acumulación de presión de CO₂ durante la fermentación. Mientras que el recipiente es bastante fuerte, una presión lo suficientemente alta puede matar a la levadura. Incluso si la presión no alcanza niveles fatales, la presión elevada de CO₂ puede disminuir el crecimiento de la levadura, reducir la producción de ésteres y aumentar la producción de diacetilo y acetaldehído.

Fermentadores Comerciales

Las cervecerías históricamente utilizaron fermentadores de madera abiertos, fermentadores de piedra abiertos y fermentadores de cobre abiertos. Eventualmente comenzaron a usar tanques de acero inoxidable que aún estaban abiertos a la atmósfera. Estos tanques fueron mucho más fáciles de mantener limpios y desinfectados que la madera u otros materiales. En los fermentadores abiertos, la levadura actúa rápidamente y los cerveceros pueden recolectar fácilmente la levadura desde la parte superior. (Consulte “Recolección superior” en la sección “Manejo de levadura”, páginas 149-152). Todavía es algo raro en los Estados Unidos, pero hay un número creciente de cervecerías artesanales que usan la fermentación abierta. Sierra Nevada mantiene algunos de sus fermentadores abiertos originales y los utiliza para cervezas especiales. Produce la famosa Big foot Barleywine-Style Ale en fermentadores abiertos de 100 barriles. Estos son casi diez veces más pequeños que sus fermentadores más grandes, pero Sierra Nevada cree que las fermentaciones en los fermentadores más pequeños y abiertos dan más carácter y singularidad a la cerveza. Lo mismo es cierto para Jolly Pumpkin Artisan Ales, donde el propietario Ron Jeffries se esfuerza por crear cervezas de carácter único. Anchor Brewery en San Francisco dice que la fermentación abierta es crítica para el carácter de la Anchor Steam Beer.

Figura 4.8:



Fermentación abierta en Magic Hat Brewery, South Burlington, Vermont. Foto cortesía de Teri Fahrendorf.

La poca profundidad de los fermentadores abiertos, el fácil acceso al oxígeno atmosférico e incluso las esquinas cuadradas de algunos fermentadores abiertos tienen un efecto sobre el carácter de la cerveza. Sin duda, el mismo mosto fermentado en un fermentador cilíndrico no tendría el mismo sabor. Hoy en día, la mayoría de las cervecerías profesionales usan tanques cilindro cónicos (Figura 4.9). Estos son mucho más altos que anchos, están hechos de acero inoxidable y tienen un fondo cónico y una parte superior cerrada. Es fácil ver por qué el negocio de la fabricación de cerveza se trasladó a fermentadores cilíndricos, porque tienen muchas ventajas.

- Requieren menos espacio en el piso, lo cual es importante cuando pagas el alquiler por metro cuadrado.
- Puedes usar sistemas de limpieza in situ (CIP), que son mucho más fáciles que los humanos con cepillos de fregado.
- Los fermentadores cilíndricos ofrecen una buena higiene, ya que están sellados del ambiente.
- El fondo cónico y la naturaleza vertical aprovechan la dinámica de fluidos para garantizar una buena mezcla y una fermentación rápida.
- Para recolectar levadura, solo espera y luego abre una válvula en la parte inferior.
- Por lo general tienen un protector aislante, por lo que el control de la temperatura está a solo un botón de distancia.

Figura 4.9:

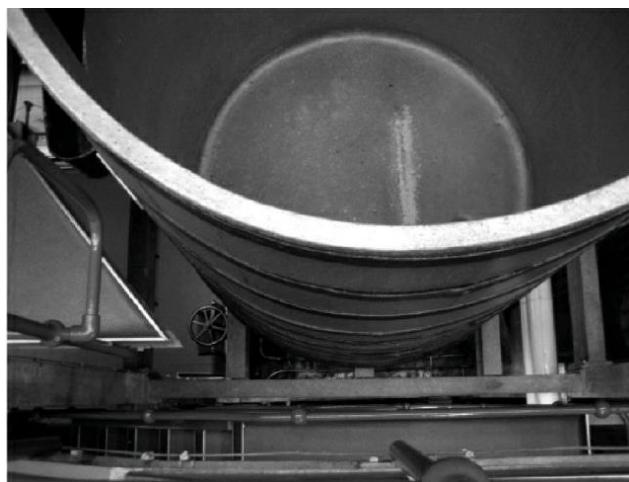


Fermentadores cilindro cónicos en Goose Island Beer Company. Foto cortesía de Peter Symons.

Uno de los primeros aspectos de interés en la venta de los tanques cilíndricos cónicos era que un cervecero podía usarlos tanto para la fermentación como para el acondicionamiento una vez que se había retirado la levadura. Rara vez vemos eso hoy, ya que la mayoría de las cervecerías pequeñas usan tanques de acondicionamiento separados, pero este es uno de los aspectos de interés ahora asociados con las versiones para cerveceros caseros de los tanques cilindro cónicos. El aspecto más interesante de estos fermentadores es su geometría. Cuanto más vertical es el fermentador, más rápida es la fermentación. La dinámica de fluidos del cono crea un movimiento de burbujas de CO₂ desde la parte inferior del cono hasta el centro del tanque. Cuanto más alto es el tanque, más grande se forma la burbuja cuando alcanza la superficie. El movimiento de CO₂ ayuda a llevar la cerveza a la parte superior, donde migra hacia abajo a lo largo de los lados del fermentador. La posición de las camisas de enfriamiento puede incluso mejorar este efecto o puede afectar la velocidad de la fermentación. La Fuller's Brewery en Londres ahora usa fermentadores cilíndrico cónicos, pero tanto ellos como muchas otras cervecerías británicas solían usar tanques con un “sistema de caída” (Figura 4.10). El cervecero transferiría el mosto a un tanque abierto, y después de 24 horas “dejaría caer” el mosto a otro tanque más abajo. Esto ayudaba a eliminar la rotura de frío y recogía oxígeno para las primeras etapas de la fermentación.

El tanque era poco profundo y un tobogán “Griffin” dirigiría la levadura desde la parte superior del tanque hacia los recipientes de recolección.

Figura 4.10:



Mirando hacia el interior en un recipiente de caída en Fuller's Brewery. Foto cortesía de Peter Symons.

Durante la mitad del siglo XIX, la elaboración de la cerveza estaba en auge en Burton Upon Trent, Inglaterra, la Bass Brewery estaba en Burton, y desarrolló un método de fermentación y recolección de levadura llamado sistema Burton Union. Los cerveceros colocaban una serie de barriles de madera en línea, con cada uno conteniendo un cuello de cisne saliendo por la parte superior del barril. El cuello de cisne se vaciaba en un vertedero. La cerveza fermentaba en los barriles, y el CO₂ de la fermentación empujaba el exceso de levadura a través del cuello del cisne, donde se acumulaba en el vertedero y permitía que la cerveza volviera al barril. En aquel entonces, se pensaba que esta era una excelente manera de “limpiar” la cerveza.

Figura 4.11:



Sistema Burton Union de Marston's. Foto cortesía de Matthew Brynildson.

Desafortunadamente, este era un sistema costoso, ya que la elaboración de cerveza comercial requería muchos toneles de madera pequeños y el empleo de un tonelero para cuidarlos. Bass usó este sistema hasta la década de 1980 y ahora está casi extinto. Marston's en Burton todavía lo usa para fermentar aproximadamente el 10 por ciento de Marston's Pedigree (Figura 4.11). Esto recolecta suficiente levadura para inocular todo el mosto hecho en la cervecería y mantiene viva la tradición y el sabor. Incluso esta modesta cantidad de producción en Burton Unions requirió millones de dólares en inversión y mantenimiento continuo. Firestone Walker Brewery de Paso Robles, California, usa una versión modificada de Burton Union, que llama Firestone Union (Figuras 4.12-4.14). En lugar de los complejos cuellos de cisne y el vertedero, utiliza tubos flexibles que van hacia los cubos.

Todavía existe el costo de los barriles, pero es mucho menos costoso que un Burton Union. El cervecer Matt Brynildson dice que la cervecería experimenta una mejor atenuación, una reducción más rápida del diacetilo y un excelente desarrollo del sabor en los barriles. Las cervezas comienzan la fermentación en fermentadores cilíndricos cónicos inoxidables bajo temperaturas controladas para el desarrollo del sabor apropiado. Despues de 24 horas, los cerveceros transfieren la cerveza de fermentación activa a los unions, que no tienen temperatura controlada. Aunque la fermentación puede alcanzar altas temperaturas, las primeras 24 horas bajo control de temperatura aseguran que cualquier fermentación cálida en las barricas no dé como resultado características típicas de fermentación a altas temperaturas. La fermentación en los unions empuja una cantidad considerable de levadura marrón de los barriles, dejando una cerveza más limpia. La cerveza termina la fermentación y la reducción del diacetilo (maduración) en los barriles, antes de ser transferida a un tanque inoxidable con temperatura controlada para la estabilización en frío y la posterior eliminación de la levadura.

Figura 4.12:



Sistema Union de Firestone. Foto cortesía de Arie Litman.

Figura 4.13:



Llenando el sistema Union de Firestone. Foto cortesía de Matthew Brynildson.

Figura 4.14:



El sistema Union de Firestone empuja la levadura marrón fuera de los barriles, lo que resulta en una cerveza más limpia. Foto cortesía de Matthew Brynildson.

El sistema de fermentación cuadrado de Yorkshire fue una vez popular en el norte de Inglaterra, aunque rara vez lo vemos utilizado en la actualidad. Tradicionalmente, los recipientes eran cuadrados o rectangulares y estaban hechos de pizarra, con una plataforma de recolección por encima del nivel del mosto. Durante la fermentación, la levadura se levanta a través de los agujeros en la plataforma donde el cervecerio puede colectarla. Muy pocas cervecerías todavía usan este sistema, ya que es costoso deconstruir y mantener. La cervecería Black Sheep en Masham, North Yorkshire, fue pionera en el uso de una versión redonda hecha de acero inoxidable, que se cree proporciona un sabor amargo y sedoso a las cervezas (Figura 4.15).

Figura 4.15:



La Black Sheep Brewery en Masham, North Yorkshire, utiliza un sistema cuadrado moderno y redondo hecho de acero inoxidable. Fotos cortesía de Black Sheep Brewery.

¿Cuál es el futuro de los sistemas de fermentación? Los grandes tanques de acero inoxidable son caros y requieren productos químicos peligrosos para mantenerse

limpios, por lo que podríamos ver sistemas de fermentación desechables más económicos en el futuro. La industria biofarmacéutica ha adoptado bolsas estériles para la fermentación. Se usan por muchas razones, por ejemplo, para depender menos de los procedimientos de limpieza y sanitización. Ya existen tanques para servir cerveza recubiertos con bolsas, y las tiendas de cerveza en América del Norte usan sistemas de fermentación desechables forrados con bolsas. ¿Tal

vez estos revestimientos podrían incluso ser biodegradables? Otra innovación puede ser fermentación agitada. Los fermentadores agitados son populares en la industria biofarmacéutica por su fermentación más rápida, pero la industria de la cerveza se ha alejado de ellos debido al temor a la recolección de oxígeno y la formación de ésteres. Muchas cervecerías los han estado analizando recientemente, y hay un creciente interés en los fermentadores agitados para una velocidad de fermentación mejorada, pero ¿a qué costo para el sabor de la cerveza?

Uso de Antiespumantes

La fermentación genera mucho CO₂ y crea mucha espuma. Este es un problema particular cuando un cervecero está tratando de aprovechar al máximo su capacidad de fermentador, dejando muy poco espacio libre. Asegurar que tenga suficiente espacio libre puede ser costoso, ya que algunos fermentadores necesitarían más del 25 por ciento de capacidad adicional para acomodar la formación de espuma, por lo que la opción que la mayoría de las cervecerías consideran es la adición de antiespumante. Los cerveceros usualmente agregan antiespumante cerca del final del hervor. Esto lo sanitiza y lo mezcla en el mosto. La mayoría de estos productos están basados en silicona, y agregarías aproximadamente 5 mililitros por barril de los EE. UU. o 1 mililitro por cada 20 litros. Además de permitir un llenado más completo del fermentador y evitar el rebalse o blowoff (lo que también mejorará la utilización del lúpulo), los productos antiespumantes pueden mejorar la retención de la espuma evitando proteínas con

espuma positiva de la desnaturalización en la espuma. Al final de la fermentación y antes del envasado, el cervecero filtra el antiespumante o lo deja sedimentar por gravedad. Dados estos atributos positivos, ¿por qué muchas cervecerías evitan el antiespumante? Muchos cerveceros no desean agregar nada a su cerveza, aparte de la malta, el lúpulo, el agua y la levadura. Para estos fabricantes de cerveza, el antiespumante no es una opción. Algunos cerveceros también se preocupan por el efecto del antiespumante sobre la salud de la levadura, aunque parece que los productos antiespumantes actualmente en el mercado tienen poco o ningún impacto en la salud o rendimiento de la levadura.

Temperaturas de Fermentación

Cuando la levadura fermenta la cerveza, crea calor a partir de la energía del metabolismo. El calor de la fermentación elevará la temperatura del mosto, y si la temperatura no está contenida, la levadura puede morir de calor extremo crear sabores no deseados mutar uno de los trabajos principales del cervecero es controlar la temperatura

de la fermentación. En una pequeña cervecería o cervecería casera, esto puede ser bastante fácil. En sistemas de fermentación grandes, esto requiere una ingeniería más complicada. ¿Qué temperatura es mejor para la fermentación? Depende del tipo de cepa de levadura, del tipo de cerveza y de los sabores que busca el fabricante. Tradicionalmente, los cerveceros fermentan ales con temperaturas de alrededor de los 20° C (68° F), y lagers de los 10° C (50° F). Sin embargo, estas no son las temperaturas que prefiere la levadura. Las cepas ale crecen más rápido a 32° C (90° F) y las cepas lager a 27° C (80° F), entonces ¿por qué fermentamos nuestras cervezas a temperaturas más bajas? A temperaturas de fermentación más altas, la levadura fermenta demasiado rápido y crece demasiado, y puede crear sabores que no queremos en nuestra cerveza, como los alcoholes fusel. En el transcurso de la historia de la elaboración de cerveza, los cerveceros y la levadura se han asentado en un rango de temperatura que no es demasiado bajo para la levadura, pero lo suficientemente bajo como para moderar la tasa de crecimiento celular y mejorar el sabor de la cerveza.

Diferencias de temperatura para cepas Lager y Ale

Las cepas lager no pueden tolerar las mismas altas temperaturas que las cepas ale. De hecho, las cepas lager mueren a temperaturas mucho más bajas que las cepas ale, por lo que es importante mantener las cepas lager más frías durante la manipulación, el transporte y el almacenamiento. Un método de laboratorio para diferenciar levadura ale y lager se aprovecha de este hecho al incubar las células de levadura a más de 32° C (90°F). Si las células crecen, son levaduras ale.

Hablemos de la levadura ale con más detalle. Desde una perspectiva de sabor, es importante mantener la fermentación a las temperaturas correctas, por lo general alrededor de los 20° C (68° F). Esta no es una temperatura fría para los humanos; la mayoría de la gente tendría dificultades para distinguir la diferencia entre una cerveza a 20° C y 22° C (68° F y 72° F). Sin embargo, para una cepa de levadura sumergida en cerveza, esa es una gran diferencia. Recuerde que las levaduras son células individuales. Una pequeña diferencia en la temperatura es algo que perciben fácilmente. Si la temperatura aumenta de 20° C (68° F), las células acelerarán su metabolismo hasta que alcance el máximo de la célula. Si la temperatura continúa aumentando, las células comenzaran a expresar proteínas de choque térmico para proteger sus membranas celulares.

Lo mismo ocurre con una caída de temperatura significativa de 20° C (68° F). Las células cambian del metabolismo a la expresión de proteínas de choque térmico para proteger su membrana celular. No dejes que el nombre te engañe, las levaduras expresan proteínas de choque térmico en respuesta al estrés y el estrés puede provenir de una serie de factores ambientales. Estas proteínas ayudan a evitar que otras proteínas se desarrollen

en condiciones estresantes. Desafortunadamente, la expresión de proteínas de choque térmico elimina la capacidad de la célula para expresar otras proteínas necesarias para la división celular, la fermentación u otras funciones celulares. Desde la perspectiva de un cervecer, cuanto menor es la temperatura de fermentación, más lenta es la actividad de la levadura. Las temperaturas excesivamente bajas producen fermentaciones lentas, flojas y posiblemente estancadas. Las temperaturas más altas resultan en una mayor actividad de la levadura, hasta cierto punto. Las temperaturas excesivamente altas, superiores a 35° C (95° F) para la levadura ale detendrán la fermentación. Ten en cuenta que las temperaturas de fermentación más altas también aumentan la producción de metabolitos secundarios y compuestos activos desabor. White Labs utilizó la cromatografía de gases para comparar dos cervezas del mismo mosto, ambas fermentadas con WLP001 California Ale Yeast. El laboratorio mantuvo una fermentación a 19° C (66° F) y la otra a 24° C (75° F), una temperatura que se encuentra comúnmente en muchas cervecerías.

Figura 4.16:

Compuesto	Umbral de percepción	19°C (66°F)	24°C (75°F)
Etanol	1.4% ABV	4.74% ABV	5.04% ABV
1-Propanol	600 ppm	23.78 ppm	22.76 ppm
Acetato de etilo	30 ppm	22.51 ppm	33.45 ppm
Alcohol isoamílico	70 ppm	108.43 ppm	114.92 ppm
Diacetilo total	150 ppb	7.46 ppb	8.23 ppb
2,3-pentanediona total	900 ppb	5.09 ppb	3.17 ppb
Acetaldehido	10 ppm	7.98 ppm	152.19 ppm

Comparación de cromatografía de gases de dos cervezas del mismo mosto y levadura, fermentadas a diferentes temperaturas.

La fermentación a más grados muestra un pequeño aumento en la producción de etanol, alcoholes fusel y ésteres, pero en el análisis sensorial, las cervezas tenían un sabor muy diferente. La principal diferencia de sabor fue un aumento sustancial de acetaldehído, 10.5 veces mayor que el umbral de percepción. La levadura produce la mayoría de los compuestos de sabor en las primeras 72 horas de fermentación, por lo que este es el momento más crítico para el control de la temperatura. Si la temperatura es demasiado baja, la fermentación puede tardar mucho tiempo para comenzar. Si es demasiado alta, la levadura producirá muchos compuestos de sabor. La levadura de primera generación es particularmente susceptible a la temperatura de inoculación. Cerca del final de la fermentación, el control de la temperatura sigue siendo muy importante. Si estás enfriando tus fermentadores a un ritmo constante (como un cervecero casero que depende de un refrigerador o una temperatura ambiente fría) y no tienes en cuenta los cambios en la producción de calor de levadura, la fermentación puede detenerse tempranamente. La levadura se frena y produce menos calor hacia el final de la fermentación. Si tu enfriamiento no se ajusta a esta disminución, la levadura puede detectar esta caída de temperatura, lo que hace que se vuelva lenta o deje de fermentar. Esto puede dar como resultado una densidad final mayor a la anticipada, junto con la levadura que no logra limpiar algunos de los compuestos intermedios de la fermentación. Esto tiende a ser un problema con la elaboración de las lagers, donde las temperaturas ya son bajas y las capacidades de los equipos de enfriamiento son más altas. Sin embargo, los cerveceros que fermentan ales a una temperatura agresivamente baja, con el objetivo de una cerveza más limpia, también pueden enfrentar este problema. Cuando se trabaja con una inoculación apropiada de levadura saludable, la temperatura de inicio óptima para la mayoría de las fermentaciones es solo un par de grados (1° a 2° C / 3° F) por debajo de la temperatura de fermentación buscada. Inocula la levadura y lentamente eleva o permite que la temperatura alcance la temperatura de fermentación deseada en el transcurso de 18 a 36 horas. Una vez que alcances la temperatura de fermentación, mantén la temperatura constante hasta por lo menos el último tercio a un cuarto de la fermentación. En ese momento, sube la temperatura varios grados o más (2° a 5° C / 4° a 10° F) en el transcurso de un día o dos. La levadura ya ha producido la mayoría de los compuestos de sabor, por lo que hay poco riesgo de un aumento de los sabores. El beneficio es que la temperatura más alta cerca del final de la fermentación ayuda a la actividad de la levadura. Es más probable que la levadura se atenúe por completo y reduzca los compuestos intermedios producidos anteriormente en la fermentación. El aumento en la actividad también ayudará a expulsar algunos compuestos volátiles, como el azufre. Este es un truco especialmente bueno en la elaboración de las lagers, donde las fermentaciones más frías y lentas tienden a retener más de los compuestos aromáticos volátiles. Por supuesto, si la temperatura de

fermentación ya es bastante alta, como en una fermentación de cerveza al estilo belga extrema, deberás tener cuidado de no sobrecalentar la levadura.

Control de la Temperatura de Fermentación

La mayoría de las cervecerías comerciales ahora usan fermentadores cilíndricos cónicos y controlan su temperatura con camisas de enfriamiento llenas de glicol u otro fluido. Controlan la temperatura de fermentación en uno o más puntos en el fermentador, y regulan el flujo de refrigerante para mantener la temperatura deseada. Los tanques pueden tener múltiples encamisados, proporcionando más capacidad y la posibilidad de controlar diferentes porciones del fermentador a voluntad. Es particularmente importante tener el cono con encamisado, ya que la levadura pasará un tiempo en el cono cuando se asiente. La capacidad de controlar los encamisados a diferentes temperaturas puede ser ventajosa. Por ejemplo, con un ajuste de temperatura separado para el cono, el cervecero puede enfriar el cono antes de dejar caer la temperatura de fermentación del tanque, esto fomenta la flokulación y asegura que el cono esté lo suficientemente frío como para evitar que la levadura acumule demasiado calor mientras se encuentra en el cono hasta que sea recolectada. Es importante que el cervecero sepa dónde comienza y termina el encamisado del fermentador, y tomar una muestra de la temperatura de la cerveza regularmente. No solo puede ser incorrecto un indicador, sino que la estratificación y los puntos muertos pueden hacer que las temperaturas varíen según los puntos de un fermentador. La siguiente historia ilustra el problema. Un cervecero en Texas llamó para hablar sobre sabores desagradables en su cerveza. Usó múltiples cepas de levadura en su cervecería y estaba obteniendo un sabor desgradable, “terroso” con una sola cepa. Su postura era que debía haber algo mal con la cepa. Sin embargo, no era una característica normal de la levadura, y otras cervecerías no estaban experimentando el mismo sabor desgradable. Como estaba en pleno verano en Texas, sospechamos que tenía algo que ver con el calor. El cervecero pronto encontró el problema. Cuando los fermentadores estaban llenos, la parte superior de la cerveza fermentando estaba por encima de la última camisa de refrigeración. La cepa de levadura en cuestión es una excelente colecta dora superior, y se decidió a permanecer en la parte superior de la cerveza. Desafortunadamente, durante el caluroso verano de Texas, sin refrigeración, la parte superior de la cerveza estaba demasiado caliente. La levadura se elevaría a la superficie de la cerveza, se cocinaría hasta la muerte y luego volvería a caer, añadiendo sabores de autolisis. Las otras cepas de levadura en uso se

comportaron de manera diferente. Caían al fondo rápidamente, y nunca se quedaban en la parte superior, por lo que no se desarrollaron los mismos sabores. El cervecero resolvió el problema haciendo batches de cerveza un poco más pequeños durante el verano para mantener la levadura dentro de la zona de enfriamiento encamisada.

Control de la Temperatura de Fermentación para el Cervecer Casero

Los cerveceros caseros utilizan una variedad de métodos de control de temperatura, que van desde la refrigeración termoeléctrica de alta tecnología a un método de “no hacer nada y rezar”. Es una pena que la mayoría dependa de la suerte de la temperatura ambiente para controlar la fermentación. Una de las mejores cosas que un cervecer puede hacer para mejorar su cerveza es manejar la temperatura de fermentación. Esto es mucho más importante que usar fermentadores sofisticados o incluso elaborar cerveza totalmente de grano. El cervecer de extracto experimentado con control de temperatura y un excelente entendimiento de la fermentación casi siempre eclipsarán al cervecer que elabora todo con granos, confiando en la suerte para el control de la temperatura. La falta de un control de temperatura adecuado hace que sea más difícil para la levadura hacer lo que quieras que haga.

Si le facilita las cosas, la levadura te recompensará con los sabores que deseas. El siguiente paso a partir de la elaboración de cerveza solo cuando el informe del clima indique que no hará demasiado calor o demasiado frío durante la próxima semana o dos, es utilizar refrigeración natural. Primero, intenta elegir una ubicación para tu fermentador que esté lo más cerca posible de la temperatura de fermentación deseada. Las paredes interiores, los armarios y los sótanos tienden a tener temperaturas más estables, ya que están más alejados de los cambios exteriores en el clima. Mantente atento a los conductos de calefacción/refrigeración o radiadores también. Echar aire caliente sobre un fermentador durante el día y apagarlo por la noche puede arruinar la fermentación, ya que la levadura no da buenos resultados con grandes oscilaciones de temperatura. Para hacer frente a las temperaturas ambiente altas, muchos cerveceros caseros ponen su fermentador en un baño de agua y luego agregan hielo según sea necesario para mantener la temperatura baja. A veces esto está en un cubo de plástico o incluso en la bañera familiar. El beneficio de este método es que es barato y no hay partes móviles para romper. El gran inconveniente es que requiere mucha atención y mucha práctica para mantener las temperaturas donde las deseas, especialmente cerca del final de la fermentación cuando la levadura ya no genera tanto calor. Sin embargo, si tienes mucho tiempo y disfrutas

jugueteando con tu fermentador tanto como sea posible, este método puede funcionar. Otra cosa buena sobre el método del baño de agua es que también funciona para elevar la temperatura. Todo lo que necesitas es una inversión nominal en un calentador de acuario. Cuando uses un calentador, ten algunas cosas en mente. La combinación de agua y electricidad es mortal. Utiliza siempre una salida de interruptor de circuito de falla a tierra (GFCI) para tu calentador y deja un lazo en el cable más bajo que la salida, para evitar que el agua corra hacia él. Al comprar un calentador para el baño de agua, deberás conseguir uno que sea completamente sumergible o idear alguna otra manera de mezclar el agua calentada. Al colocar un calentador sumergible cerca del fondo, se desarrollan corrientes de convección que mezclan el agua. El tamaño del calentador es simple. Se necesitan 0.1018 vatios durante 24 horas para proporcionar 8.34 BTU, que es la cantidad de energía requerida para calentar un galón de agua en 5° C (1° F). Si crees que tu configuración requiere aproximadamente 8° C (15° F) de entrada de calor durante 24 horas, y el volumen total de tu fermentador más el baño de agua es de 76 litros (20 galones), necesitarás un calentador de al menos 30.54 vatios.

$$\begin{aligned} \text{Entrada de calor de 24 horas} \times \text{volumen de líquido total} \times 0.1018 &= \text{vataje} \\ \text{requerido } 15 \times 20 \times 0.1018 &= 30.54 \text{ W} \end{aligned}$$

Sin embargo, la realidad es que necesitarás un calentador más grande que eso. Estos calentadores no son 100 por ciento eficientes en la conversión de electricidad en calor, y el índice del calentador puede no representar de manera realista su producción real. Tienes un gran margen para seleccionar un calentador de potencia adecuado, y es difícil obtener un calentador demasiado grande. Sin embargo, si obtienes un calentador mucho más importante de lo que necesitas y el controlador interno se atasca, podrías acabar matando a tu levadura con temperaturas que excedan su límite superior. El enfriamiento evaporativo es otro método popular de contrarrestar el calor en fermentadores de tamaño casero. En este método, el cervecero coloca el fermentador en una bandeja de agua y pone una tela que cubre el fermentador, con el extremo colgando en el agua. El efecto de mecha lleva agua a la tela, donde se evapora. La conversión del agua líquida a un estado gaseoso requiere una energía considerable, que ayuda a enfriar el fermentador. Algunos materiales de tela funcionan mucho mejor que otros. Nuestro consejo es evitar las telas artificiales y usar algodón. Las telas con alta textura, como las telas de toalla, pueden funcionar mejor o peor que las telas de baja vellosidad. Un pequeño ventilador que sopla sobre la tela ayudará a aumentar la velocidad de enfriamiento, pero este método no es muy efectivo cuando la humedad es alta. Una vez más, el gran inconveniente de este método es controlar las temperaturas con precisión durante todo el curso de la fermentación. Se necesita mucha atención

para evitar que la temperatura oscile varios grados en el transcurso del día. Esa falta de precisión no es lo suficientemente buena si quieres hacer la mejor cerveza posible. Tanto el calentamiento como el enfriamiento se vuelven mucho más fáciles si se agrega un controlador de temperatura de conmutación. Vienen en todos los tamaños y tipos, de analógico a digital, con varias configuraciones y grados de precisión. Lo mejor de un controlador es que ajusta automáticamente el calentamiento o enfriamiento cuando la levadura genera más o menos calor durante las diferentes fases de la fermentación. El inconveniente para el cervecero casero de pocos recursos es el costo, pero la mayoría de los cerveceros caseros, una vez que adquieren uno, creen que bien valen la inversión. Con un controlador, calentar se vuelve mucho más fácil. Las tiendas de cervecería casera venden envolturas de calefacción especiales, o incluso puedes usar una almohadilla térmica. No desearás utilizar ningún dispositivo que concentre el calor en un área pequeña, ya que a medida que el calentador cicla, es posible que se rompa un garrafón de vidrio. Los cerveceros caseros pueden enfriar fácilmente sus fermentadores con un refrigerador que tengan demás o un freezer y un controlador de temperatura. Muchos cerveceros caseros se dan cuenta rápidamente del valor de tener un refrigerador extra en el garaje. Algunos cerveceros caseros prefieren usar un freezer en lugar de un refrigerador. Los freezers suelen tener un mejor aislamiento que los refrigeradores y vienen en configuraciones que pueden proporcionar más espacio utilizable. Evita los freezers de carga superior, a menos que tengas un par de brazos muy fuertes. Cargar fermentadores en un freezer así puede ser un reto en el mejor de los casos. El principal inconveniente de los freezers es que no están diseñados para funcionar a las típicas temperaturas de fermentación. Hacer funcionar freezers a temperaturas ale, e incluso temperaturas de lager, generalmente resulta en un problema de humedad. El freezer, con su alta capacidad de enfriamiento y buen aislamiento, termina no funcionando con la

frecuencia suficiente para lidiar con la humedad. La humedad se acumula en el freezer y le sigue el óxido. Muchos cerveceros caseros con freezers gastan dinero y tiempo en lidiar con el problema de la humedad. (Un DampRid o un ventilador de computadora adicional para mover el aire interior pueden ayudar.) Otro problema con la capacidad de enfriamiento excesiva es el potencial de hacer que la temperatura de fermentación oscile al aplicar mucho enfriamiento demasiado rápido. Muchos cerveceros caseros piensan inicialmente en usar un freezer porque quieren una cerveza lager a temperaturas cercanas a 0° C (32° F). Sin embargo, eso todavía es más cálido de lo que un freezer normalmente ejecuta, y aun así no es la mejor opción. La mayoría de los refrigeradores pueden enfriar lo suficiente como para lograr una cerveza lager adecuadamente. Cuando se usa un refrigerador o un freezer en un controlador, es importante evitar ciclos cortos del compresor. Los ciclos cortos ejecutan el ciclo de enfriamiento del refrigerador o freezer, lo apagan y luego lo

reinician antes de que las presiones hayan tenido la oportunidad de igualarse en el sistema. Esto puede dañar el compresor y acortará su vida útil. Algunos controladores tienen una configuración de ciclo anti-corto, lo que retrasa el reinicio del compresor durante un período de tiempo determinado. Esta es una gran opción para quienes compran un controlador para un refrigerador o freezer. Si tienes un controlador sin esta función, debes asegurarte de no dejar la sonda del controlador colgando en el aire. Usa la masa de la cerveza en fermentación para ayudar a evitar ciclos rápidos del controlador, ya sea conectando la sonda al exterior del fermentador o usando un termo pozo. Hay una serie de formas adicionales y muy creativas para enfriar o calentar un fermentador. Uno de los métodos más interesantes es el uso de enfriamiento y calentamiento termoeléctrico de estado sólido en los fermentadores cilíndricos cónicos de fabricación casera de MoreBeer of Concord, California. La compañía ha construido tanto calentamiento como enfriamiento en un dispositivo que está conectado al exterior de sus fermentadores. El cervecero casero, al igual que su contraparte comercial, solo necesita seleccionar la temperatura adecuada en el controlador. El principal inconveniente de este método es el costo. En todos estos métodos, es fundamental que midas la temperatura de la cerveza. Usted deseara controlar la temperatura de la cerveza, no la temperatura del aire. Muchos cerveceros caseros cometan el error de ver una temperatura de fermentación recomendada y piensan que es la temperatura de la habitación donde colocan el fermentador. La temperatura del aire en una habitación puede variar ampliamente durante el día. Incluso puede cambiar drásticamente en unos pocos minutos, pero eso no significa que la cerveza esté fermentando a la misma temperatura. Cuanto más grande es el batch de cerveza, más tarda la temperatura de la cerveza en cambiar a partir del aire circundante. Por el contrario, el fermentador puede estar calentándose debido a la actividad de la levadura, pero la temperatura de un batch de cerveza hace poco para cambiar la temperatura de una habitación grande o un refrigerador. Existen varias formas de medir la temperatura de la cerveza. Los termómetros de tiras adhesivas funcionan bastante bien. Son bastante precisas, pero se deterioran con el tiempo y eventualmente necesitan ser reemplazados. Si estás utilizando un controlador de temperatura, una opción popular es un termo pozo. El termo pozo se construye como parte del fermentador o se inserta a través de un tapón en la cerveza. Coloca la sonda del controlador dentro del termo pozo y mide con precisión la temperatura de la cerveza. Una opción menos costosa y menos invasiva es simplemente pegar la sonda controladora en el exterior del fermentador. Si haces esto, debes cubrir la sonda con algún tipo de aislamiento. Esto puede ser cualquier cosa, desde varias capas de plástico de burbujas, desde un paño doblado hasta un bloque de espuma de poliestireno. La espuma de poliestireno es una excelente opción, ya que generalmente es gratis y altamente efectivo. Con el lado

expuesto de la sonda cubierto, la lectura coincidirá con la temperatura de la cerveza dentro del fermentador muy de cerca. Siempre que haya actividad de fermentación en el fermentador, la temperatura será la misma en toda la cerveza. Amplios controladores de temperatura tienen configuraciones para el diferencial, que es la diferencia entre el punto de ajuste del controlador y el punto donde se apaga o se enciende. Para la fermentación, generalmente querrás usar una configuración tan ajustada como lo permita el control. Un ajuste diferencial de 0,5° C (1° F) es lo mejor, pero solo si está midiendo la temperatura de la cerveza. Con algunos controladores, es posible un diferencial muy pequeño. Usar un ajuste de menos de 0,5° C (1° F) puede ocasionar que el controlador haga ciclos rápidamente. Si tu controlador no tiene protección contra un ciclo corto, entonces aumenta el diferencial para evitar ciclos rápidos. Algunos controladores también te permiten controlar el calentamiento y el enfriamiento desde el mismo controlador, lo cual es una buena opción, especialmente en áreas con veranos e inviernos extremos.

Optimización del Sabor de la Fermentación

La levadura aporta gran parte del aroma y sabor a la cerveza. Los ésteres, los alcoholes fusel, los aldehídos y otros compuestos se combinan con el etanol, el dióxido de carbono y hasta la sensación en boca para formar el carácter de una cerveza, y todas estas son propiedades de la fermentación de la levadura. De hecho, incluso con los mismos ingredientes exactos, las diferentes fermentaciones producen resultados diferentes. Esto sucede porque muchas vías enzimáticas están involucradas en la fermentación de la levadura. Los factores ambientales no solo afectan genes son activos, sino también qué tan activas crecen las células de levadura, la salud de las células, qué azúcares consumen y muchas otras cosas. Todo lo que hacemos por la levadura, desde la temperatura hasta la nutrición, tiene un gran impacto en el crecimiento de la levadura. No debería sorprender que una forma en que un cervecero puede optimizar los sabores de la fermentación sea comprender y controlar el crecimiento de la levadura.

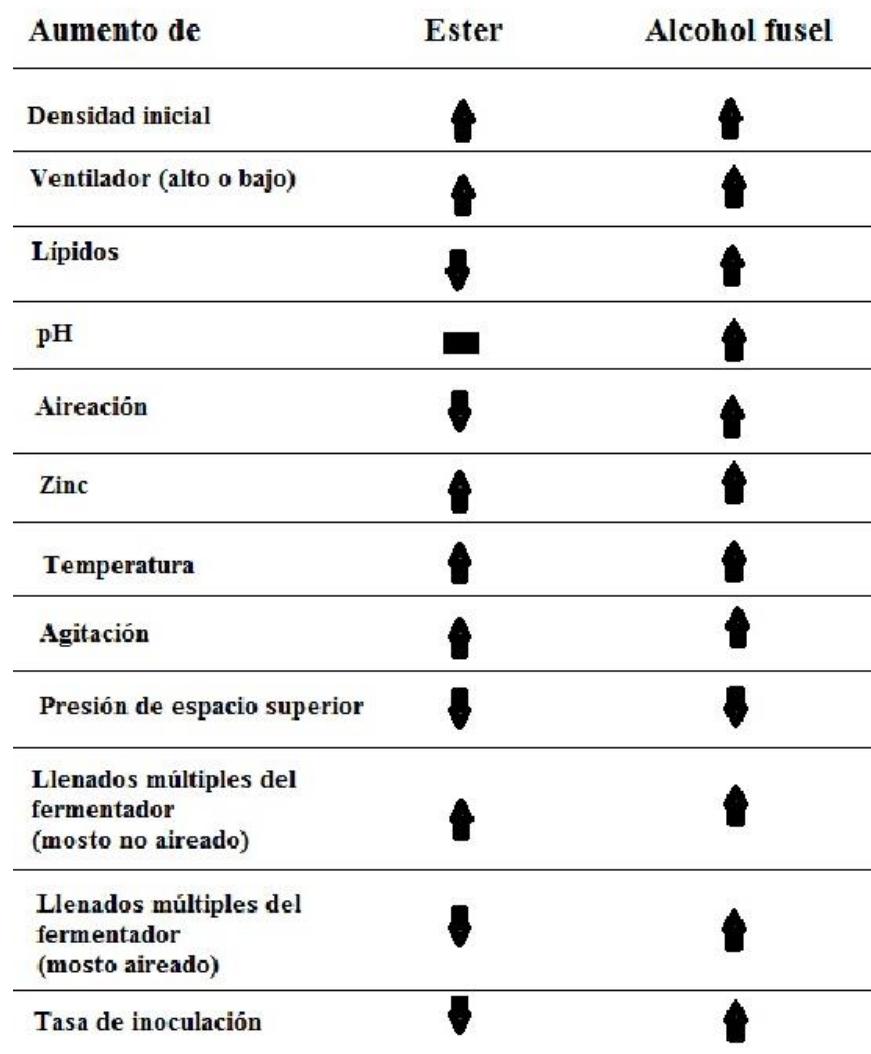
Figura 4.17:

Compuesto de la fermentación	Sabor o aroma
Acetato de etilo	frutado, solvente
Alcoholes superiores	dolor de cabeza
Acetato de isoamilo	banana, pera
Acetaldehido	manzana verde (cerveza verde)
Diacetilo	manteca
Sulfuro de hidrógeno	huevos podridos
DMS o DMSO	vegetal, maíz hervido
Fenoles	especiado, pimiento, clavo de olor, ahumado, medicinal

Contribuciones al sabor de los compuestos de la fermentación.

Una parte importante del control del crecimiento de la levadura es saber cuánta levadura estás agregando a tu fermentación. Diferentes tasas de inoculación generarán diferentes cantidades de crecimiento celular. La tasa de crecimiento afecta la cantidad y la composición de los compuestos de sabor. Si agregas 10 unidades de levadura, y al final de la fermentación tienes 75 unidades de levadura, tendrás una cantidad diferente o un conjunto de compuestos de sabor. Más crecimiento celular generalmente da como resultado más compuestos de sabor. Esto surgirá nuevamente cuando analicemos las tasas de inoculación, porque la tasa de inoculación también tendrá un impacto en la cantidad de levadura que crece.

Figura 4.18:



Aumento de varios factores de fermentación y cómo afectan la producción de éster y fusel en la cerveza. (Laere, et al., 2008)

Figura 4.19:

Compuesto de sabor	Umbral de sabor en la cerveza	Nivel típico en la cerveza	Nivel típico en el vino	Nivel típico en el whiskey
Acetato de etilo	20-40 mg/L	10-50 mg/L	<150 mg/L desired	100-200 mg/L
Hexanoato de etilo	0.15-0.25 mg/l	0.07-0.5 mg/L	0.3-1.2 mg/L	
Acetato de isoamilo	1-2 mg/L	0.5-5 mg/L	0.1-4 mg/L	2.5 mg/L
Ácido caprílico	5-10 mg/L	2-8 mg/L		1.5 mg/L
2-fenil etanol	125 mg/L	25-40 mg/L		5-50 mg/L
n-propanol	800 mg/L	10-100 mg/L	10-70 mg/L	
Alcohol amílico (2-Metil-2-butanol)	50 mg/L	10-150 mg/L		100 mg/L
Alcohol isoamílico (3-Metil-2-butanol)	70 mg/L	30-150 mg/L	6-490 mg/L	200 mg/L
4-vinilo guaiacol	0.3 mg/L	0.05-0.55 mg/L		
Glicerol	2500 mg/L	1400-3200 mg/L	2500-15000 mg/L	5000-15000 mg/L
Acetaldehido	10-20 mg/L	2-20 mg/L	5-100 mg/L	2-3 mg/L
Diacetil	0.07-0.15 mg/l	0.01-0.6 mg/L	0.02-0.6 mg/L	0.6 mg/L
Total SO₂	20 mg/L	10-100 mg/L		
H₂S	4 µg/l	1-200 µg/l	10-80 mg/L	
DMS	25-50 µg/l	20-150 µg/l	10-60 mg/L	
Ácido acético	60-120 mg/L	30-200 mg/L		30-50 mg/L
Etanol (%)	1.5-2%	3-8%	5-15%	30-60%

Compuestos de fermentación y su umbral de sabor en la cerveza. Rangos típicos en cerveza, vino y whisky (Meilgaard, 1975; Saison, et al., 2008; Reed, et al., 1991)

La cepa y la condición de la levadura también afectan el carácter del lúpulo de una cerveza. Por ejemplo, las comparaciones de la fermentación de White Labs California Ale (WLP001) y la English Ale (WLP002) a la misma tasa de inoculación y temperatura muestran los resultados anteriores en un nivel de IBU's terminado más alto que el segundo. Muchos factores determinan las IBU's finales de una cerveza, y la levadura es un jugador importante. Las diferencias en la superficie de la célula, el tamaño de la celda, las tasas de inoculación, las tasas de crecimiento y las características de floculación juegan un papel importante en la determinación de la cantidad de ácidos de lúpulo isomerizados que llegan a la cerveza terminada.

Final de la Fermentación

Atenuación

En la elaboración de cerveza, la atenuación es la medida de cuan completamente la levadura fermentó el mosto, y generalmente se expresa en un porcentaje. Cuanto más azúcar descompone la levadura durante la fermentación, mayor es la atenuación. Para calcular la atenuación, el cervecero verifica la densidad específica del mosto con un densímetro u otra herramienta capaz de medir la densidad de la cerveza antes de inocular la levadura y de nuevo después de la fermentación. La densidad específica del agua pura es de 1.000 a 4° C, y el mosto tiene una densidad más alta en relación con el agua debido a los azúcares presentes. Cuantos más azúcares se disuelvan en el mosto, mayor será la densidad de la solución. A medida que la levadura consume los azúcares, la densidad de la solución disminuye. Los cerveceros expresan la diferencia en la medición inicial y la medición final como un porcentaje de la atenuación aparente. La mayoría de los densímetros modernos tienen una escala de densidad específica, pero diferentes industrias históricamente han utilizado otras escalas, como Plato para la elaboración de cerveza y Brix para la elaboración del vino. Cualquier escala es aceptable, siempre que el cervecero utilice la misma escala para las mediciones antes y después de la fermentación. Siempre debes registrar la densidad inicial (DI), la densidad terminal o final (DF) y cualquier otra medición de densidad específica, junto con las fechas y horas de las mediciones. Un cervecero puede aprender mucho sobre el progreso y la calidad de la fermentación mediante chequeos diarios de la densidad específica de la cerveza, aunque es crítico asegurarse de que ningún muestreo no contamine la cerveza. Una vez que la densidad permanece igual durante tres días seguidos, es muy probable que la fermentación se haya completado. Al medir la atenuación usando la densidad específica, puedes calcular el porcentaje de atenuación usando la siguiente ecuación:

[$(DI-DF)/(DI-1)$] x 100

Por ejemplo, si la densidad inicial es 1.060 y la densidad final es 1.012, entonces la atenuación aparente es 80 por ciento. Llamamos a esto atenuación aparente, porque el alcohol es menos denso que el agua y la presencia de alcohol afecta la lectura posterior a la fermentación. Para obtener el nivel real de atenuación, el cervecero debe eliminar el alcohol y reemplazarlo con agua. Por lo general, solo las cervecerías más grandes llegan a tal extremo para informar la atenuación “real”, mientras que la atenuación que la mayoría de los otros cerveceros miden es una atenuación “aparente”. En general, cuando un cervecero menciona atenuación, la referencia es a la atenuación aparente, que es lo que hacemos en este libro. Si bien es posible que algunas fermentaciones alcancen una atenuación aparente del 100 por ciento o mayor, es bastante raro que una fermentación de cerveza consuma todos los azúcares presentes y alcance una atenuación real del 100 por ciento. Ten en cuenta que la presencia de etanol exagera la atenuación aparente debido al etanol que tiene una densidad específica más baja que el agua. Una atenuación real del 100 por ciento es rara, porque el mosto de cerveza contiene una mezcla compleja de carbohidratos, y muchos de ellos no se pueden fermentar. El mosto contiene cinco azúcares fermentables: glucosa, fructosa, sacarosa, maltosa y maltotriosa. Típicamente, el mayor porcentaje es maltosa, seguida de maltotriosa y glucosa. La levadura no puede fermentar las dextrinas, y las cepas de levadura difieren en su capacidad de fermentar maltotriosa. El rango de atenuación para las cepas de levadura cervecera en la cerveza es típica mente del 65 al 85 por ciento. En contraste, los vinos a menudo alcanzan el 100 por ciento de atenuación, debido a los azúcares simples presentes. Si bien los carbohidratos complejos resultan en una mayor densidad final, no contribuyen al dulzor residual de una cerveza. Una cerveza bien fermentada con muchos carbohidratos complejos tiene una sensación más completa en boca, pero no necesariamente tiene un sabor dulce. Si hay una impresión de dulzor en una cerveza completamente atenuada, a menudo es el resultado de otros factores, como la presencia de varios alcoholes y otros compuestos de sabor. Las características del mosto y las condiciones de fermentación hacen que la atenuación varíe; por lo tanto, cada cepa de levadura tiene un rango de atenuación previsto en lugar de un solo número de atenuación. Verificar el nivel actual de atenuación contra el rango predicho es una forma de ver si la levadura ha completado, o está por completar, la fermentación. Estar dentro del rango no es garantía de que la fermentación esté completa en un 100%, pero no estar dentro del rango (para el mosto medio) sería un indicador de un problema. Muchos cerveceros cometen el error de preocuparse por una cerveza antes incluso de controlar la atenuación. Es posible que la cepa de levadura ya haya alcanzado el nivel de atenuación esperado. La regla general es que cuanto mayor sea la

densidad inicial de una cerveza, mayor será la densidad final. Sin embargo, dos mostos de composición diferente pueden alcanzar diferentes niveles de atenuación, incluso con la misma levadura y la misma densidad inicial. Controlar la atenuación es un paso simple para crear una cerveza consistente y de alta calidad. ¿Cómo sabrás cuándo ha fallado la fermentación si no le has seguido la pista a la atenuación de los batches exitosos? El nivel de atenuación es una pieza clave de conocimiento al solucionar problemas de fermentación. Todo lo que un cervecero debe hacer es una simple verificación de la densidad específica al comienzo y al final de la fermentación y realizar algunos cálculos simples.

Floculación

Siempre es posible que la levadura se niegue a descender o a flocular demasiado pronto. Algunas cepas altamente floculentas pueden descender prematuramente, causándole problemas al cervecero. ¿Por qué usar una cepa altamente floculante si pudiera dar como resultado una cerveza subatenuada? ¿Por qué usar levadura floculante baja si es una molestia para preparar cerveza clara? En ambos casos, la respuesta es sabor. Algunas de las variedades más difíciles y temperamentales pueden ser las más interesantes en términos de sabor. En general, las condiciones más frías favorecen la floculación, mientras que los niveles más altos de azúcar, la presencia de oxígeno y la mala salud de la levadura inhiben la floculación. En la mayoría de los casos, es algo que el cervecero, el laboratorio o el manipulador hicieron durante la vida del cultivo que causó un cambio en la floculación. Las levaduras no deciden por sí mismas a cambiar los patrones de floculación. Cualquiera de los siguientes puede hacer que un cultivo cambie los patrones de floculación:

- Técnicas de recolección y almacenamiento
- Deficiencia de minerales, nutrientes u oxígeno
- Mutación de la levadura
- Contaminación de levadura salvaje
- Malta contaminada con micotoxinas.

Independientemente del nivel de floculación de una cepa, las temperaturas más bajas de la cerveza resultan en una mayor tasa de floculación. Más levadura abandona la solución a 4°C (40°F) en comparación con 21°C (70°F), y más levadura abandona a 0°C (32°F) en comparación con 4°C (40°F). Algunas cepas de levadura requieren dos semanas o más a 4°C (40°F) para clarificar por completo. Cuanto más floculenta es una cepa, más caliente es la temperatura a la que es capaz de flocular. Por

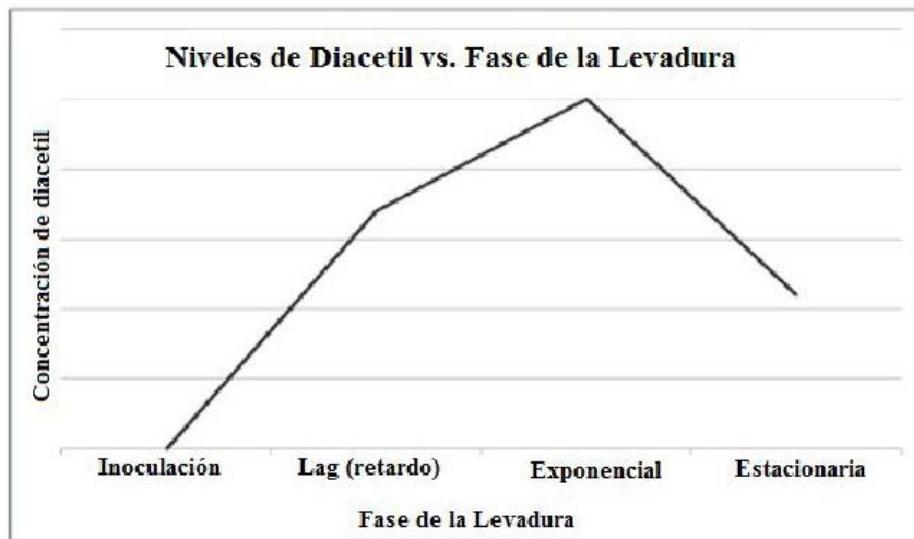
ejemplo, una cepa ale altamente floculante floculará bien a 18° C (65° F). Si una semana o dos a temperaturas frías no ayuda, o no puedes esperar tanto para que la cerveza se aclare, tus opciones incluyen clarificación, filtrado, centrifugación o una combinación de los tres. Muchos libros sobre elaboración de cerveza describen bien el filtrado y la centrifugación, por lo que no los describiremos en detalle. La ventaja del filtrado es que es bastante económico, rápido y consistente, pero expone la cerveza a una posible contaminación. La centrifugación te permite controlar mejor el proceso, dejando más levadura si lo deseas, pero tiende a ser costoso. El clarificador es barato y efectivo, pero los resultados pueden variar. Los cerveceros deben encontrar la dosis de clarificación óptima para su cerveza. Dado que los clarificadores dependen de la reticulación, muy poco o demasiado agente clarificador puede dar resultados pobres. Otro problema común es mezclar adecuadamente los clarificantes con la cerveza. Tu filosofía al agregar clarificantes debe ser agregar solo lo suficiente para lograr tu objetivo. Si planeas acondicionar tu cerveza en botella, la concentración de levadura después de la clarificación puede ser bastante baja. Las ales clarificadas con cola de pescado (isinglass) típicamente contienen menos de 100.000 células por mililitro, pero querrás 1 millón de células por mililitro de cerveza para lograr una carbonatación adecuada y oportuna. El isinglass es un agente de clarificación de levadura eficaz hecho de vejigas natatorias de peces. Es colágeno subnatural con tres polipéptidos de colágeno asociados en una estructura de triple hélice. Si bien la gelatina es un agente clarificador alternativo, no es tan eficaz como la cola de pescado. La gelatina está desnaturalizada y está compuesta por polipéptidos únicos. Hay muchas formas de isinglass en el mercado, incluidos los liofilizados, en pasta y líquidos. La preparación y el uso de isinglass dependen de la forma del producto. Debes hidratar correctamente el isinglass para que funcione. El isinglass prehidrolizada es fácil de usar. A unos 16° C (60° F), se mezcla a alta velocidad durante unos minutos, se deja reposar durante media hora y está listo para usar. Si estás utilizando un producto que no está hidrolizado previamente, debes hacer una solución adecuadamente acidificada con agua estéril y un ácido orgánico. Ajústalo a un pH de aproximadamente 2.5 y mezcla lentamente una cantidad apropiada de isinglass, generalmente alrededor de 0.5 por ciento en peso. Mezcla y enciende durante 30 minutos, luego deja reposar durante 24 horas a unos 16° C (60° FC). Una vez preparada adecuadamente, debe ser una solución translúcida y espesa. Cuando agregas el isinglass a la cerveza, el mayor pH de la cerveza hace que el colágeno comience a precipitar de la solución. A medida que cae a través de la cerveza, el colágeno cargado positivamente se une electrostáticamente con las células de levadura cargadas negativamente, llevando la levadura al fondo del fermentador. No todas las levaduras responderán de la misma manera a las clarificaciones, con algunas cepas más o menos afectadas. Lo ideal es que primero deseas realizar

una prueba para asegurarte de que estás utilizando la cantidad correcta de agente clarificador y nada más. Mide muestras iguales de cerveza en contenedores de 23 a 30centímetros (9 a 12 pulgadas) de altura. Agrega cantidades iguales de clarificadores a cada uno. Un buen punto de partida es aproximadamente un mililitro de isinglass por litro de cerveza. Una vez que hayas determinado la tasa más efectiva, puede aumentar proporcionalmente desde allí.

Descanso de Diacetil

La levadura tiene la capacidad de reducir el diacetil enzimáticamente. Durante el crecimiento, la levadura produce acetolactato, el precursor del diacetilo. Más tarde, durante la fase estacionaria, la levadura reabsorbe el diacetilo y lo convierte en acetoína y posteriormente en 2,3butanodiol. Tanto la acetoína como el 2,3-butanodiol pueden escapar de la célula, pero ambos tienen un alto umbral de sabor y contribuyen poco en términos de sabor.

Figura 4.20:



Línea de tiempo típica de diacetil versus la fase de levadura.

La salud de la levadura y la actividad de la levadura juegan un papel importante en los niveles de diacetilo. Dado que la temperatura juega un papel importante en la actividad de la levadura, tu control de la temperatura también afecta los niveles

de diacetilo. A medida que aumenta la temperatura de fermentación, también lo hace la producción y reducción de diacetilo. Una temperatura más alta da como resultado un crecimiento de levadura más rápido y más acetolactato. Cuanto mayor es el pico de acetolactato, mayor es el pico de diacetilo, pero esto no es necesariamente malo, ya que una temperatura más alta también aumenta la reducción de diacetilo. Una cerveza de fermentación cálida puede tener un pico de diacetilo más alto que una cerveza de fermentación fría, pero la reducción de diacetilo ocurre mucho más rápido a temperaturas ale. La mayoría de las cepas de levadura, cuando están sanas y activas, reducirán rápidamente el diacetilo por debajo del umbral de sabor con tiempo y temperaturas suficientes. Si bien las tasas de crecimiento de levadura más bajas pueden reducir la cantidad de acetolactato producido, puede dar como resultado niveles más altos de diacetilo en la cerveza terminada si la menor tasa de crecimiento da como resultado una fermentación mediocre. Es frecuente que las cervezas que fermentan más lentamente y producen menos acetolactato tienen problemas de diacetilo, ya que la levadura todavía está produciendo lentamente acetolactato hasta la fermentación. A menudo son las cervezas que fermentan más lentamente y producen menos acetolactato las que

tienen problemas de diacetilo, ya que la levadura todavía está produciendo lentamente acetolactato hasta la fermentación. La clave aquí, además de garantizar la salud de la levadura y la fermentación vigorosa, es proporcionar suficiente tiempo de maduración y temperatura para la reducción del diacetilo en cada cerveza. No separes la cerveza de la levadura antes de que haya tenido la oportunidad de reducir los compuestos intermedios creados durante la mayor parte de la fermentación. Separar la levadura de la cerveza demasiado pronto o enfriarla antes puede dejar una cantidad considerable de precursores de diacetilo y diacetilo en la cerveza. Aunque es posible que no sientas el gusto del diacetilo, la cerveza aún puede contener niveles altos del acetolactato precursor del diacetilo. Cualquier extracción de oxígeno durante las transferencias o el envasado probablemente dará como resultado el diacetilo, y una vez que elimines la levadura, no hay una forma simple de deshacerse del diacetilo o su precursor. Antes de separar la levadura y la cerveza o enfriarla cerveza, realiza una prueba de fuerza para determinar el diacetilo (consulta “Tu Propio Laboratorio de Levadura Hecho Fácil”). Es una manera simple y efectiva de determinar si tu cerveza tiene cantidades excesivas del acetolactato precursor. Como la reducción del diacetilo es más lenta a temperaturas más frías, una cerveza fermentada en frío puede requerir un descanso de diacetilo. Para realizar un descanso de diacetilo en una fermentación lager, simplemente eleva la temperatura a un rango de 18° a 20° C (65° a 68° F) durante un período de dos días cerca del final de la fermentación. Si bien es posible hacer un descanso de diacetilo una vez que la fermentación

alcanza la densidad final, el tiempo adecuado para el descanso del diacetilo es de dos a cinco puntos de densidad específicos (0.5° a 1° P) antes de alcanzar la densidad final. Algunos cerveceros de lager prefieren un perfil de fermentación de Narziss, que incorpora reducción de diacetilo. Los primeros dos tercios de la fermentación ocurren a una temperatura de 8° a 10° C (46° a 50° F), luego la temperatura aumenta a 20° C (68° F) durante el último tercio de la fermentación. Otra técnica practicada por algunos cerveceros de lager consiste en agregar mosto recién fermentado (kraeusen), que reducirá el diacetilo durante la carbonatación y el almacenamiento. Para la producción de ales, la fermentación generalmente ya está en un rango más cálido, de 18° a 21° C (65° a 70° F). La modificación de la temperatura no es absolutamente necesaria, pero un descanso de dos días a temperatura de fermentación una vez que la cerveza ha alcanzado el final, puede ayudar a reducir el diacetilo. Si la fermentación fue lenta, elevar la temperatura 3° C (5° F) por encima de la temperatura de fermentación acelerará la reducción del diacetilo. Lo que no quieras hacer es permitir que la temperatura de fermentación baje al final de la fermentación. Esto ralentizará o detendrá la reducción del diacetilo. Muchos cerveceros cometan el error de bajar la temperatura de la cerveza inmediatamente después de alcanzar la densidad final, ya que asumen que la fermentación está completa y que la cerveza está lista.

Lagering

Parece que cada cerveza mejora con un período de acondicionamiento en frío. ¿Cuánto tiempo y qué tan frío parece variar según la cerveza? El tiempo de acondicionamiento para ales tiende a ser más corto que los tiempos para las lagers. La fermentación fría de las lagers tiene muchas consecuencias para una cerveza. En un ambiente fresco, usualmente de 10° a 13° C (50° a 55° F), la levadura trabaja más lentamente y produce menos ésteres y alcoholes fusel. Sin embargo, la fermentación más lenta y la temperatura fría también mantienen más azufre en solución y bajan la reducción del diacetilo. Jean De Clerck publicó una lista de los objetivos del proceso de la gering en 1957 que todavía son válidos en la actualidad:

- Permitir que la levadura y la materia turbia se asienten.
- Carbonatar la cerveza con carbonatación artificial o fermentación secundaria.
- Mejorar el sabor.
- Precipitar el turbio frío, para evitar la formación de turbidez cuando la cerveza se enfriá después de la filtración.
- Evitar la captación de oxígeno para evitar la oxidación (De Clerck, 1957).

Una vez que se completa la fermentación, incluidos todos los pasos, como el descanso de diacetilo, debes disminuir la temperatura de la cerveza. Esto fomenta la floculación de cualquier levadura restante. Puedes enfriar tanto las cervezas ales como las lagers a temperaturas cercanas al punto de congelación. Muchas personas

preguntan si pueden bajar de golpe la temperatura de la cerveza, o deberían bajarla lentamente. La preocupación radica en enviar a la levadura a un estado latente, impidiendo así que continúe la absorción de compuestos durante el largo período de acondicionamiento en frío. La realidad es que ocurre muy poco una vez que llevas la levadura a menos de 4° C (40° F). Si deseas que la levadura esté activa y continúe la reducción de los subproductos de la fermentación, esto sucede mucho más rápido a temperaturas más altas. En lo que respecta a la actividad de la levadura, bajar de golpe la temperatura o bajarla lentamente produce una pequeña diferencia de sabor si se baja la cerveza a menos de 4° C (40° F). Sin embargo, una reducción muy rápida de la temperatura (menos de 6 horas) al final de la fermentación puede causar que la levadura excrete más compuestos de éster en lugar de retenerlos. Además, si planeas utilizar la levadura para volver a reinocularla, debes evitar los cambios de temperatura muy rápidos (hacia arriba o hacia abajo), ya que pueden hacer que la levadura exprese proteínas de choque térmico. El acondicionamiento lager tradicional utiliza una reducción de temperatura lenta. A medida que la fermentación se ralentiza y la levadura comienza a flocular, el cervecero comienza el proceso de enfriamiento lento de la cerveza a una velocidad de 0,5° a 1° C (1° a 2° F) por día. Utilizan esta velocidad de enfriamiento lento para evitar enviar la levadura a la latencia. Después de unos días, la cerveza ha alcanzado una temperatura cercana a 4° C (40° F) y todavía quedan algunos azúcares fermentables, de 1° a 2° P aproximadamente. En este punto, el cervecero transfiere la cerveza a los tanques de cerveza. Los tanques están cerrados y la cerveza genera presión de CO₂, controlada por una válvula de purga para evitar la sobre carbonatación o dañar la levadura con una presión excesiva.

Aunque son caros en términos de capacidad de almacenamiento, algunas cervecerías aún lagerizan su cerveza durante meses para ponerla en buenas condiciones. Lo que hay que recordar si quieres utilizar esta técnica es que depende del control preciso de la temperatura para que la fermentación continúe lentamente durante todo el período de lagering. La levadura necesita permanecer activa por un largo tiempo si va a reducir los subproductos de la fermentación.

Acondicionamiento en Botella

Solemos pensar en la levadura por su papel en la fermentación, pero también puede desempeñar un papel después de la fermentación cuando se carbonata la cerveza en la botella. Los cerveceros pueden carbonatar la cerveza por dos métodos: mediante levadura o mediante carbonatación forzada. La mayoría de las cervecerías comerciales fuerzan la carbonatación de su cerveza, pero un número sorprendente se toma la molestia de acondicionar en botellas. Los cerveceros también se refieren al acondicionamiento en botellas como re-fermentación en botella, fermentación secundaria o fermentación final. Es posible que haya escuchado a la gente decir que la carbonatación a partir del acondicionamiento en botellas es algo diferente de la carbonatación forzada. Si esto es cierto o no, una cosa es cierta: el dióxido de carbono es el mismo en ambos. Aunque el dióxido de carbono es el mismo, algunas cervecerías grandes recogen el CO₂ de la fermentación y luego lo inyectan nuevamente en la cerveza en el momento del embotellado. Hay una serie de razones para esta práctica, incluidas las ambientales, pero en el pasado, la Reinheitsgebot alemana prohibió a los cerveceros agregar algo a la cerveza, excepto el agua, la malta, el lúpulo y la levadura. Al recolectar el CO₂ de la fermentación, podrían inyectarlo nuevamente, ya que era parte de la cerveza. Tradicionalmente los cerveceros carbonataban toda la cerveza a través de un período de acondicionamiento con levadura. Sigue siendo el método para algunos cerveceros caseros, pequeños fabricantes de cerveza, productores de cerveza de barril y numerosos cerveceros especiales y regionales, como Coopers en Australia y Sierra Nevada. Es más costoso, pero los beneficios pueden ser sustanciales. La levadura en la botella ayuda a eliminar el oxígeno, que es muy dañino para el sabor de la cerveza. Las cervecerías más pequeñas tienen dificultades para mantener el oxígeno fuera de sus botellas, por lo que a menudo tiene mayor beneficio para ellos el acondicionamiento en botellas. Las desventajas son que los resultados pueden variar, los consumidores tienen una reacción aspecto negativa a la aparición de levadura en la botella, y la posible destrucción autolítica de células de levadura, que pueden liberar compuestos de sabor desagradable en la cerveza. Los resultados del acondicionamiento en botella pueden variar porque confías en que la levadura fermente por segunda vez en un ambiente ya lleno de alcohol, a un pH más bajo y en presencia de poca comida. Las cervezas con alto contenido de alcohol pueden presentar un problema para el acondicionamiento en botella, ya que el alcohol se vuelve cada vez más tóxico con una mayor concentración.

Los cerveceros también pueden encontrar que las cervezas que utilizan bacterias, Brettanomyc es o levadura salvaje son difíciles de carbonatar adecuadamente, ya que

estos microbios pueden utilizar una variedad de carbohidratos que quedan en una cerveza atenuada por la levadura, causando la sobre carbonatación. Mientras mayor sea la cantidad de levadura, mayores serán los sabores de autolisis eventuales y viceversa. Lo mismo vale para la salud de la levadura. Si tuvo una fermentación primaria problemática, o hay alguna razón para dudar de la salud de la levadura al final de la fermentación, entonces deberás agregar levadura fresca en el momento del embotellado. Una buena regla empírica es 1 millón de células por mililitro de cerveza filtrada, que es de diez a veinte veces menos levadura que la que utilizamos para la fermentación. Por lo general, las cervecerías filtran la cerveza primero, luego agregan 1 millón de células por mililitro a la cerveza. Para la cerveza sin filtrar, además de la salud de la levadura, el cervecero debe tener en cuenta la población de levadura existente. Después de que la levadura se haya asentado en la botella, debería parecer nada más que una pizca de levadura en el fondo. Si hay una capa gruesa o montículo de levadura en el fondo de la botella, usaste demasiada. Recuerda sólo necesitas lo suficiente para carbonatar la cerveza, y cualquier exceso no sirve para nada. Las cervezas de alta densidad requerirán más levadura para la carbonatación, hasta 5 millones de células por mililitro, debido a los altos niveles de alcohol. La cerveza casera, si no la filtras, generalmente tiene levadura más que suficiente en suspensión (1 millón de células por mililitro) para carbonatar la cerveza. Si la cerveza se mantuvo durante un mes o más antes de ser embotellada, o si el cervecero agregó mucha clarificación post-fermentación, puede garantizar un poco añadir levadura adicional en el embotellado. Sin embargo, en la mayoría de los casos, siempre y cuando la salud de la levadura sea buena, simplemente agregar algo de azúcar en el momento del embotellado debería ser suficiente para carbonatar la cerveza. Al agregar levadura, debe estar en la mejor salud posible, libre de contaminantes y colectada a partir de una generación temprana (hasta la tercera generación). En una cervecería comercial, el laboratorio debe verificar la condición de la levadura antes de usarla en el acondicionamiento en botella. ¿La pequeña refermentación en botella aportará sabor? Generalmente no, especialmente si usas la misma cepa que fermenta la cerveza. Sabemos de un cervecero que usa una cepa Weizen alemana para carbonatar una pale ale neutra sin ningún tipo de sabores a cerveza de trigo. Sin embargo, en cualquier momento que fermente la levadura, producirán algunos ésteres y alcoholes fusel, por lo que la cantidad de carbonatación, el tipo de cerveza y la cepa utilizada determinan si el bebedor percibirá esos compuestos de re-fermentación o no. Si eres un cervecero comercial, debes tener en cuenta si has agregado sabor durante el acondicionamiento en botella. Ese puede ser tu objetivo, pero debes entenderlo. Haz una degustación a ciegas de la cerveza antes y después del acondicionamiento en botella usando un panel de degustación de tamaño estadísticamente válido. Si detectas problemas o sabores en boca, como terroso, cartón u otros compuestos de sabor indeseados, debes investigar. Usa

una cepa de levadura diferente, usa diferentes cantidades de levadura o modifica tus métodos. Cuando acondicionas tu cerveza en botella siempre existe la posibilidad de que algunas o quizás todas las botellas no desarrollen carbonatación. ¡La levadura viva no siempre funciona! Como cervecero comercial, considéralo obligatorio retener la cerveza y confirmar la carbonatación antes de ponerla a la venta. Esto generalmente implica de una a dos semanas de tiempo de almacenamiento en la cervecería. Mantener el inventario hasta que se carbonate se suma al costo del acondicionamiento en botella y es uno de sus inconvenientes. La forma en que almacenes la cerveza también afectará el grado de carbonatación. Si almacenas las botellas demasiado frías, la levadura no metabolizará activamente el azúcar. Si almacenas las botellas demasiado calientes, la levadura puede morir antes de crear CO₂. Mantén tu cerveza a una temperatura de 18° a 21° C (65° a 69°F) para la carbonatación, y presta atención a cómo se almacenan las botellas. Los resultados inconsistentes pueden ocurrir cuando no hay suficiente circulación de aire alrededor de las botellas. Si estás embotellando una cerveza nueva para tu línea de productos o usando una nueva cepa de levadura, es mejor hacer una prueba con diez o veinte botellas antes de embotellar un batch completo. ¡Es muy difícil abrir todas las botellas de una tirada y volver a hacer las adiciones de levadura

y

azúcar, técnicamente hablando, puedes usar casi cualquier cepa para acondicionar tu cerveza en botella! Puedes usar la misma levadura que utilizaste en la fermentación principal, o puedes filtrar y agregar una cepa de levadura diferente. Con los años, muchas cervecerías han afirmado que filtran su cepa de levadura primaria y acondicionan en botella con una segunda cepa, a fin de proteger el secreto de su levadura, pero en muchos casos, la historia es solo un mito. La mejor opción es usar una cepa con propiedades de atenuación similares que formen un sedimento fino. Por ejemplo, la WLP002 es una cepa altamente floculenta, y muchas personas asumen que sería genial para la cerveza acondicionada en botella. El problema es que es muy floculante, forma grumos. Cuando viertes la cerveza, los

grumos pueden permanecer juntos y caer en tu cerveza, lo cual no es muy agradable para el bebedor. Compara esa con la WLP001. Si bien esta cepa no flocula tan fácilmente como la WLP002, flocula bien cuando está fría y se adhiere al vidrio. Más importante aún, forma una fina capa uniforme en el fondo de la botella en lugar de grumos. A menos que envases la cerveza mientras todavía tiene suficiente azúcar para carbonatar, necesitarás azúcar adicional para la carbonatación. Los cerveceros a menudo debaten sobre el mejor azúcar para el acondicionamiento en botellas, y la mayoría de los cerveceros caseros usan azúcar de maíz. Algunos se juegan por el extracto de malta seco. Algunas cervecerías usan mosto fresco. Un estudio encontró que el azúcar utilizado tiene un impacto en el acondicionamiento en

botellas. Encontró que la glucosa, la fructosa y la sacarosa fermentan a la misma velocidad, pero la maltosa no fermenta por completo. Los investigadores creían que esto se debía a la presión de CO₂ creada en las botellas, que tenía un mayor impacto en la absorción de maltosa que los otros azúcares (van Landschoot, et al., 2007). El contenido residual de azúcar también afecta la floculación, por lo que no consumir todo el azúcar embotellado podría afectar la sedimentación. En la mayoría de los casos, deberás utilizar azúcares simples cuando se acondicione en botella.

Acondicionamiento en Barril

El acondicionamiento en barriles a nivel de cervecería es un proceso simple. El cervecero prepara la cerveza para la carbonatación y la clarificación y luego depende del tabernero manejar el resto de la tarea. Cuando se habla de acondicionamiento en barrica, el término “acondicionamiento” no es lo mismo que “condición”, que es la cantidad de

CO₂ en la cerveza. El acondicionamiento es en realidad parte del proceso de maduración desde la cervecería al vaso. Las grandes cervezas de barril dependen pesadamente del manejo apropiado una vez que la cerveza ha salido de la cervecería. El papel del cervecero, aparte de elaborar una gran cerveza, es colocar la cerveza en las barricas limpias y sanitizadas una vez que alcanza aproximadamente 2° P por encima de su densidad final prevista. Aunque la levadura continúa consumiendo los azúcares residuales y crea alcohol y otros subproductos, el objetivo principal del azúcar es carbonatar la cerveza en el barril. Si tu cerveza se ha atenuado más de lo previsto, puedes agregar azúcar de cebado, siempre que no dé como resultado una carbonatación excesiva. El objetivo es una cerveza carbonatada a un contenido restringido de 1 a 1.2 volúmenes de CO₂. Tu cerveza debe tener un recuento de células de alrededor de 1 millón a 3 millones por mililitro para el acondicionamiento en barril. Como la mayoría de los bebedores prefieren una cerveza clara, agregarás el isinglass para acelerar la sedimentación de la levadura y otros sólidos. Deberás agregar el isinglass justo antes de sellar el barril durante varios días. Una vez sellado dale unas vueltas al barril para mezclar la cerveza con el clarificador, luego déjalo reposar para que carbonate y sedimente. Un aspecto importante de la cerveza acondicionada en barril es la temperatura. No solo es importante para el sabor y el aroma cuando se toma la cerveza, sino también para la efectividad de los clarificantes y la carbonatación. A pesar de que la cerveza se carbonatará más rápidamente a temperaturas más cálidas, el isinglass funciona mejor por debajo de los 15° C (59° F). Si la temperatura es demasiado alta, el isinglass se vuelve menos efectivo, y a una temperatura lo suficientemente alta se desnaturaliza. Cuando

se trabaja con cerveza de barril, uno de los principales beneficios del isinglass sobre la gelatina es que el isinglass es bueno para restablecerse si se la remueve. Pero el isinglass pierde esta propiedad si ha sido desnaturalizado. El cervecero necesita mantener la cerveza de barril a la temperatura adecuada, una que dé como resultado el nivel correcto de carbonatación en el tiempo correcto. Esta puede variar de 10° a 14°C (50° a 57° F). Si esta es la primera vez que trabajas con el acondicionamiento en barril, prueba con una temperatura cercana a 12°C (54°F).

Parte 5. Levadura, Crecimiento, Manejo y Almacenamiento.

Tasas de Inoculación

La cerveza consistente y de alta calidad requiere mediciones precisas. Una de las mediciones más importantes, especialmente en términos de fermentación, es la tasa de inoculación. Sin tasas de inoculación consistentes, el sabor puede cambiar significativamente de un batch a otro. ¿Cuáles son las consecuencias de sobre inocular o sub inocular? En general, la sub inoculación afecta más el sabor, mientras que la sobre inoculación afecta negativamente la salud de la levadura durante generaciones. Sin embargo, ambas pueden resultar en una fermentación menos que ideal con altos niveles de diacetilo, acetaldehído y baja atenuación. Una tasa de inoculación demasiado alta también puede dar como resultado ésteres bajos o inesperados, sabores de autolisis de la levadura y una retención pobre de la espuma. Una tasa de inoculación demasiado baja también puede dar como resultado una fermentación más lenta y tiempos de retardo muy largos, lo que permite que las bacterias competidoras y la levadura salvaje crezcan en el mosto. Si tienes que elegir entre la sub inoculación y la sobre inoculación, la sobre inoculación es un poco más tolerante antes de que los defectos de fermentación sean evidentes. Bastantes cerveceros se preocupan por determinar un recuento exacto de células. Aunque saber el recuento exacto ayuda, la consistencia es más importante. Una vez que hayas determinado la cantidad (independientemente de cómo la estés midiendo), y que funcione bien para tu cerveza, querrás usar esa misma cantidad cada vez. El método más simple para determinar la cantidad de levadura es midiendo el volumen o el peso del barro. Una vez que tengas una medida del barro de levadura, puedes usar un microscopio o un espectrofotómetro para contar las células y luego determinar cuántas células tienes en el barro entero. Lo bueno de usar un microscopio es que es más barato, y también puedes usarlo para verificar la viabilidad de las

células. (Consulta “Tu Propio Laboratorio de Levadura Hecho Fácil” para obtener más detalles).

Una tasa de inoculación frecuentemente citada es de 1 millón de células por mililitro de mosto por grado Plato.

Células a inocular = (1 millón) x (mililitros de mosto) x (grados Plato del mosto)

Si bien muchos cerveceros se apegan a esta fórmula, es más una guía que una regla dura y rápida. Preferimos tasas ligeramente más bajas para las ales (0.75 millones) y ligeramente más altas para las lagers (1.5 millones). Sin embargo, debes determinar la tasa de inoculación ideal para cada cerveza de tu producción. Muchas ales estarán ideales en 0.75 millones y muchas lagers en 1.5 millones. Algunas cervezas pueden requerir más o menos antes de que sientas que tu producto es perfecto. Las tasas de inoculación varían según la cepa de levadura y el estilo de cerveza. Encontrarás que las cervezas lager requieren tasas de inoculación más altas, aproximadamente el doble de lo que inoculas para una ale. Cuando elaboras algunas cervezas ales al estilo británico y de trigo al estilo alemán, es posible que la tasa ideal sea un poco más baja, a menudo alrededor de 0,5 a 0,75 millones. Ten en cuenta que estas tasas sugeridas son para reinocular la levadura colectada, porque eso es lo que los cerveceros están haciendo la mayor parte del tiempo. Al inocular un nuevo cultivo de laboratorio cultivado con aireación y buena nutrición, un cervecer puede usar hasta un 50 por ciento menos de inoculado. Para los cerveceros caseros

que podrían estar trabajando con cultivos de levadura que han estado en las tiendas por un tiempo, la necesidad de revitalizar la levadura o aumentar la velocidad de inoculación entra en juego. Veamos un ejemplo de cálculo de la tasa de inoculación para un mosto de pale ale de 12° P. Como es un mosto de ale, usaremos una tasa de 0.75. Multiplica tu tasa de inoculación (0.75) por la densidad específica del mosto en Plato (12) para determinar cuántos millones de células deseas por mililitro de mosto. En este ejemplo, quieres 9 millones de células por mililitro. Las células por mililitro (células / ml) se convierten en tu unidad de medida estándar. A continuación, multiplica ese número (9 millones de células / ml) por el volumen de mosto (en mililitros), para determinar el número total de células a inocular. Si se trata de un batch de 20 litros (5.3 galones) de cerveza casera:

$$\text{(tasa de inoculación) x (mililitros de mosto) x (grados Plato de mosto) = células necesarias}$$
$$(750.000) x (20.000) x (12) = 180.000.000.000$$

En este ejemplo, necesitarías 180 mil millones de células para inocular tu batch de cerveza casera a una tasa de 0.75 millones. ¿Qué pasaría si fuera un lote comercial de 10 hectolitros?

$$(750.000) x (1.000.000) x (12) = 9.000.000.000.000$$

Ahora necesitas medir la cantidad adecuada de levadura. Típicamente, los barros de levadura están en el rango de 1 billón a 3 billones de células por mililitro, pero depende de cómo fueron recolectadas. Si has hecho un conteo de células, entonces tendrás una buena idea de la densidad; de lo contrario, deberás estimar.

Estimación de la Densidad de la Levadura

Si deseas tener una idea de cómo son las diferentes densidades de barro, obtén un vial de levadura White Labs y prueba este experimento. El volumen total del vial es de 47 mililitros, y cada uno tiene un nivel de llenado promedio de 36 mililitros. Ese nivel de llenado está cerca de la curva cerca de la parte superior, donde el vial se vuelve recto. Una vez que el vial se ha mantenido en posición vertical durante un buen tiempo, la levadura se amontona en la parte inferior del vial, aproximadamente 14 mililitros de espacio. Una vez que eso sucede, la levadura (excluyendo el líquido que está arriba) tiene una densidad muy alta, alrededor de 8 mil millones de células / ml. Si agitas el vial, para que la levadura se mezcle uniformemente en el líquido, tendrá una densidad de alrededor de 3 mil millones de células / ml. Si mezclas el contenido del vial con 16 mililitros adicionales de agua, ahora tienes una idea de cómo se ve una suspensión de 2 mil millones de células / ml. Agrega 50 mililitros más de agua y esa es una suspensión espesa de mil millones / mililitro. Ten en cuenta que la levadura colectada a partir de la fermentación a menudo tiene más materia no mineral en ella que la levadura propagada en el laboratorio, por lo que deberás tenerlo en cuenta en tus cálculos. Hay otro truco útil para estimar la densidad sin un microscopio. En un tubo de ensayo de vidrio estándar de 13 por 100 mm, una suspensión de levadura de menos de 1 millón de células / ml no es visiblemente turbia. Por encima de 1 millón de células / ml, es visiblemente nublado. Puedes ajustar la densidad de la celda mediante dilución en serie hasta que la muestra apenas sea visible. Al rastrear el número de diluciones, debes poder calcular la densidad original y usar diluciones en serie para obtener otras concentraciones. Encontrarás algunas

otras densidades comunes durante el proceso de elaboración. Al comienzo de la fermentación, la densidad celular es de alrededor de 5 a 15 millones por mililitro, y es de alrededor de 25 a 60 millones por mililitro al final. Una vez que colectes la levadura de la parte superior o inferior, lo más probable es que tengas entre 0,8 mil millones y 2 mil millones de células por mililitro. Si estás trabajando con levadura seca, determinar cuánto inocular es relativamente fácil. La mayoría de las levaduras secas contienen alrededor de 7 mil millones a 20 mil millones de células por gramo, dependiendo del tamaño de la célula y de otro material que no contenga levadura, pero esa no es la cantidad de células viables por gramo que tendrás una vez que rehidrates la levadura. Eso depende de una serie de factores, como las técnicas de almacenamiento y rehidratación. Averigua de tu proveedor cuántas células viables por gramo puedes esperar (que pueden ser tan bajas como 5 mil millones), luego simplemente divide la cantidad de células necesarias por el número de células viables, y sabrás el peso en gramos de levadura seca necesitada. Por supuesto, esto supone que toda la levadura esté activa y que la rehidraten adecuadamente siguiendo las recomendaciones del fabricante antes de inocular. Si no se rehidrata correctamente la levadura seca, se producirá la muerte de aproximadamente la mitad de las células. Una vez que conozcas la densidad de tu barro, divide el total de células requeridas por la concentración de células / ml en el tanque de retención o en el contenedor de almacenamiento de levadura para determinar cuántos mililitros de barro de levadura necesitas. Para nuestro ejemplo del tamaño de una cerveza casera, necesitamos 180 mil millones de células. Si determinamos o suponemos que tenemos un barro que contiene 2 mil millones de células por mililitro, entonces necesitaríamos 90 mililitros de barro. Si se trata de un barro de 1 billón / ml, entonces necesitaríamos el doble. Muchas cervecerías comerciales inoculan en función del peso. Para algunos volúmenes de levadura, eso veces puede ser considerablemente más fácil de medir. Cada célula de levadura pesa alrededor de 8×10^{-11} gramos (Haddad y Lindegren, 1953), por lo que 100 mil millones de células solo pesan unos 8 gramos sin ningún líquido para el barro. Dependiendo de varios factores, una densidad de 2 billones de células por mililitro pesa estimativamente 1.02 gramos por mililitro (el agua pesa 1 g / ml y la levadura 1.087g / ml). Para nuestro ejemplo casero, si quisieramos medir nuestro barro en peso, necesitaríamos aproximadamente 92 gramos de barro. Para nuestro ejemplo comercial, necesitaríamos 9 litros de barro a una densidad de mil millones de células por mililitro. Por peso, eso es aproximadamente 9,1 kilos (20 libras). Puedes ver cómo pequeños errores en la estimación de la densidad del barro podrían tener un impacto significativo en tu tasa de inoculación. Lo ideal sería que primero hicieras un recuento de células preciso para calcular la densidad del barro. De hecho, el recuento celular requiere una medida de precisión

al trabajar con pequeños volúmenes de líquido y técnicas de recuento. Cualquier error se multiplica muchas veces y puede generar un margen de error considerable, por lo que la medición por peso o volumen no es un método tan malo. Por lo tanto, si no puedes contar la densidad celular con un microscopio, no te desesperes. Recuerda que el nombre del juego es consistencia. Si sientes que puedes inocular demasiado poco o mucho, intenta subir o bajar la cantidad que midas. En teoría, mientras tu densidad de barro permanezca igual y tu método de medición permanezca uniforme, deberías poder marcar la tasa ideal para tu cerveza en función del sabor. De todos modos, es mucho más fácil permanecer constante si tienes la capacidad de medir con precisión e inspeccionar tu levadura. Una cosa también vale la pena repetir: es importante usar la misma cantidad y la misma tasa de crecimiento cada vez para garantizar la misma producción de sabor de un batch a otro. La cantidad de células, la cantidad que cultivan y la velocidad a la que crecen influyen en tu cerveza. Cuando llega el momento de inocular la levadura, es fácil manejar una inoculación de tamaño casero. En una escala comercial, puede ser difícil. El problema con arrastrar baldes abiertos de barro es la posibilidad de una mayor contaminación. Muchas cervecerías comerciales que usan fermentadores cilíndricos cónicos utilizarán una transferencia de “cono a cono” para inocular la levadura para el siguiente batch. El cervecero transfiere la levadura del fondo de un fermentador cónico a otro a través de una tubería blanda o dura. A muchos cerveceros les gusta este método, ya que evita exponer la levadura a cualquier contaminante transportado por el aire, y no requiere almacenamiento de levadura por separado. Si vas a transferir de cono a cono, ten en cuenta lo siguiente:

- Coloca el brazo de inserción en la mejor ubicación del cono para recolectar la levadura (por encima del turbio y debajo de las células no flotantes) según se determine por experiencia.
- Toma una muestra de levadura antes de bombear de cono a cono. Evalúa la muestra físicamente (apariencia, olor) y, en caso de duda, envíe una muestra al laboratorio para la viabilidad y el conteo de células antes de bombear la levadura.
- Usa una bomba de desplazamiento positivo controlada por variador de frecuencia (VFD) y calibra bombeando levadura a una potencia estándar colocando en un recipiente inoxidable calibrado (usa un antiespumante para matar la espuma). Una vez que calibras la bomba, podrás inocular un volumen exacto de levadura.
- Si no puedes transferir la levadura a un nuevo Batch de mosto dentro de un día o dos de asentamiento, es mejor eliminar la levadura o almacenarla en frío. Otra pregunta común sobre las tasas de inoculación incluye fermentadores más grandes que requieren múltiples llenados. ¿Deberías calcular tu tasa de inoculación según el primer llenado o el volumen total al final? La regla general es que, si vas a llenar el

tanque en un solo día, debes inocular la cantidad de levadura para el tanque lleno. Si su llenado se extiende durante dos días, debe determinar el paso en función de la cantidad de mosto agregado durante el primer día de elaboración. El mosto y el oxígeno que agregas durante el primer día hacen que la levadura crezca, a menudo duplicando la levadura en 24 horas. Si agregas mosto y oxígeno adicional el segundo día, no necesitas más levadura o inoculación reducida.

Propagación de la Levadura

Una de las mejores cosas de la levadura es que con la debida atención a las prácticas sanitarias y la salud de la levadura, casi cualquier persona puede cultivar levaduras de tamaños pequeños en volúmenes que se puedan inocular. Al propagar la levadura, las necesidades de sanitización y oxígeno son mucho más altas que cuando se elabora cerveza. Los resultados de la propagación pueden afectar el sabor de la cerveza, pero no nos preocupamos por el sabor de la propagación. La propagación no se trata solo de cultivar masa de levadura, sino de cultivar la levadura más saludable posible. Una cantidad menor de levadura muy saludable producirá una cerveza mucho mejor que una gran cantidad de levadura no saludable. Siempre que puedas trabajar de forma sanitaria, la propagación de la levadura es sencilla e incluso ha llegado a la comunidad de los cerveceros caseros, donde se refieren a la propagación como “starters”.

Propagación de Cervecería Comercial

En cervecerías comerciales grandes, la propagación es un proceso de dos etapas. El laboratorio maneja la primera etapa de propagación, haciendo crecer la levadura desde un cultivo puro a partir de una pendiente o placa hasta un tamaño donde la cervecería necesite hacerse cargo. Las cervecerías pequeñas pueden hacer tanto los pasos de laboratorio como los de cervecería, o pueden adquirir el paso de laboratorio de un tercero y cultivarlo en su cervecería hasta que tenga un tamaño que se pueda inocular. Algunas cervecerías no hacen ninguna de las dos cosas; compran un cultivo para inocular y evitan cualquier propagación interna. Es fundamental que el laboratorio se centre en la pureza y la salud del cultivo que proporcione a la cervecería. La clave para una propagación de laboratorio exitosa incluye:

- Técnica aséptica. El personal del laboratorio debe ser competente en técnicas asépticas para garantizar la pureza del cultivo.

- Medios de crecimiento estériles. El mosto de la cervecería no es estéril. Cultivar cultivos de baja contaminación requiere medios estériles. Cada paso en el proceso amplifica cualquier contaminación del paso anterior.
- Nunca exceder los incrementos apropiados en el volumen de aumento. Las tasas de inoculación adecuadas aseguran un crecimiento saludable y un uso eficiente de los medios.
- Aireación
- Temperatura. Ligeramente más alta que en la fermentación normal, 20° a 25° C (68° a 77° F), aumenta las tasas de crecimiento. A demás, es crítico que el espacio del laboratorio esté limpio y sanitizado. Idealmente el laboratorio debe ser un entorno totalmente controlado y estéril. En realidad, los laboratorios de cervecerías están lejos de ese estándar, y en muchas cervecerías, el mosto de laboratorio proviene del hervor de la cervecería, pero no esterilizado. Aun así, la cervecería puede tomar muchas medidas para garantizar un laboratorio exitoso, como proporcionar un medio para limpiar y desinfectar el ambiente en sí. El personal debería poder sanitizar todas las superficies de los ambientes a intervalos regulares. Una habitación totalmente azulejada u otra superficie adecuada permite que el personal llimpie y sanitase las paredes, el techo y el piso con regularidad. Un deshumidificador mantiene los niveles de humedad bajos, lo que ayuda a evitar que crezcan cultivos no deseados en las superficies.

Figura 5.1:

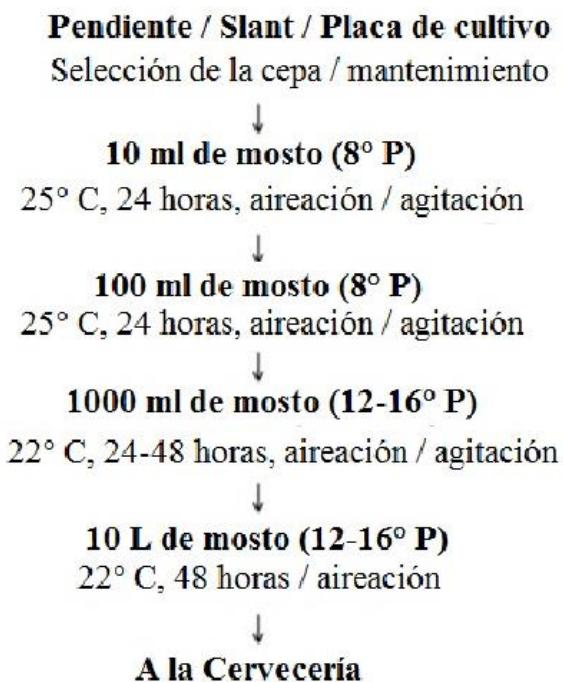


La propagación requiere un ambiente de laboratorio adecuado.

Una vez que el laboratorio de propagación esté sanitizado, otras herramientas pueden ayudar a prevenir la contaminación.

Las luces ultravioletas, botas de goma, una compuerta estanca o puertas dobles y un entorno de presión positiva ayudan a mantener alejados a los organismos no deseados. Un laboratorio podría propagar levadura ale para su cervecería siguiendo estos pasos:

Figura 5.2:



Propagación típica de laboratorio para levadura ale.

Una vez que el laboratorio completa la propagación en pequeñas etapas, transfiere el cultivo a la cervecería. El proceso de laboratorio suele durar al menos cinco días, aunque puede extenderse hasta dos semanas o más. Incluso después de que el laboratorio transfiera el cultivo a la cervecería, debe continuar supervisando y probando la levadura a medida que avanza a través de la cervecería. El objetivo de la cervecería es similar al del laboratorio: producir suficiente biomasa de levadura en buenas condiciones fisiológicas para inocular en un batch de producción de cerveza. La levadura en este punto ha crecido hasta tal punto que ahora puede competir de manera efectiva con otros organismos, por lo que la mayoría de las cervecerías no hacen más que hervir el mosto que usan para la propagación. Un aumento proporcional de una cervecería típica podría ser:

Figura 5.3:

	1 bbl	→	10 bbl	→	60 bbl	→	300 bbl	→	900 bbl
Ale	72° F (22° C)		68° F (20° C)						
Lager	64° F (18° C)		64° F (18° C)		61° F (16° C)		57° F (14° C)		54° F (12° C)

bbl = Barril

Pasos de propagación y temperaturas típicos de la cervecería para las cepas ale y lager.

El laboratorio generalmente propaga cepas ale y lager a la misma temperatura, de 20° a 25° C (68° a 77° F), pero la cervecería a menudo comenzará a bajar la temperatura de la propagación de la levadura lager en etapas, de modo que la levadura esté lista para temperaturas de fermentación lager. Algunas cervecerías continuarán escalando la propagación por un factor de 10, mientras que otras utilizan incrementos cada vez más pequeños, como en la Figura 5.3. Este proceso puede tomar otros cinco a quince días y requerirá el uso de uno a cuatro recipientes. A la mayoría de las cervecerías les gusta apuntar de 100 a 200 millones de células por mililitro para la propagación. Esto es de dos a cuatro veces más células por mililitro que una fermentación de cervecería. Si bien podrían propagar la levadura a 300 millones de células por mililitro o más, muchos cerveceros sienten que el crecimiento de la levadura a un conteo de células demasiado alto a menudo resulta en fermentaciones anormales. Como se mencionó anteriormente, Christian Hansen desarrolló el primer método de cultivo de levadura pura en 1883, y muchos sistemas de propagación actuales todavía usan esta tecnología, llamada frasco de Carlsberg. El volumen es pequeño, generalmente de 25 a 50 L (6 a 13 galones), y este es el primer paso de la cervecería después del laboratorio. El cervecer calienta el mosto dentro del recipiente para desinfectarlo, lo que minimiza cualquier posible contaminación. Una vez que el mosto se ha enfriado, el cervecer lo inocula con levadura pura y agrega aire u oxígeno.

¿Dónde está la Levadura?

Una cervecería compró un cultivo de levadura de White Labs para inocular en 10 barriles. El plan era comenzar en 10 barriles y luego incrementarlo en etapa

s hasta la cantidad final de elaboración de 500 barriles. La cervecería verificó el conteo de células al día siguiente y descubrió que era solo de 400,000 células por mililitro. ¿Dónde estaba la levadura? La cervecería pasó la semana siguiente luchando por cultivar más

levadura, pero resulta que la levadura ya estaba allí, estaba en la espuma. Más tarde, después de mezclar el contenido del tanque, el recuento de células pasó de 6 millones por mililitro a 35 millones por mililitro. Esto sucede mucho con las cepas de levadura ale. Un cervecer recolecta la levadura del fondo de un tanque y no encuentra mucha levadura. Si no puedes encontrar la levadura en la parte inferior, verifica la parte superior. Es posible que tengas que transferir la cerveza para obtener la levadura, y si la propagación aún está en curso, vuelva a mezclarla con la cerveza. Siempre es una buena idea verificar la densidad de la cerveza y usar la disminución de la densidad como una forma de controlar el éxito de la propagación. Una compañía danesa, Scandi Brew (ahora propiedad de Alfa Laval), todavía fabrica un recipiente llamado "Frasco de Carlsberg". Hoy los fabrica de acero inoxidable, y los frascos tienen conexiones para hacer transferencias sanitarias dentro y fuera del recipiente. Los frascos Carlsberg típicamente se venden por \$ 5,000 a \$ 8,000. Los sistemas de propagación más grandes generalmente consisten de uno a cuatro recipientes, con aireación. Alfa Laval Scandi Brew, Frings y Esau & Hueber son tres proveedores bien conocidos.

Sus sistemas arrancan en \$ 100,000 a \$ 150,000 para un sistema con capacidad de 10 hectolitros, que puede inocular en fermentadores de 100 a 150 hectolitros. Los tres sistemas de estos fabricantes producen una alta aireación y altos recuentos de células. Si bien los altos niveles de aireación pueden generar espuma, puedes usar productos anti espuma para minimizar la acumulación de espuma o comprar un antiespumante mecánico. Estos sistemas usan un proceso de fermentación por batches. El cervecer agrega todo el mosto al tanque a la vez, y el crecimiento de la levadura se limita a ese volumen de medio. Esto es diferente del proceso de batch alimentado, que los fabricantes

utilizan para producir la mayoría de las levaduras secas, la levadura de panadería y la levadura para las necesidades farmacéuticas. En el proceso de batch alimentado, el operador inocula medios de baja densidad (típicamente 2° P) con levadura. La levadura comienza a crecer, y el nivel de glucosa están bajo que la levadura evita el efecto Crabtree. A medida que la levadura se queda sin carbono (el azúcar), el sistema introduce más a un ritmo lento. El sistema mide la entrada de carbono para mantener la fase de crecimiento. No es tan simple como bombear azúcar lentamente; el proceso debe monitorear los niveles de oxígeno disuelto o etanol para garantizar que la levadura permanezca limitada en carbono. De lo contrario, se convierte en un proceso normal de Crabtree. Si aumentan los niveles de oxígeno disuelto, entonces la levadura no está consumiendo todo el oxígeno disponible porque su crecimiento se ha ralentizado. Si el etanol

comienza a aumentar, la levadura ya no está en crecimiento aeróbico. De cualquier manera, el sistema necesita restringir la afluencia de la fuente de carbono. ¿Deberían los cerveceros usar un proceso de batch alimentado? Estos son equipos costosos, y los sistemas deben estar en su lugar para asegurarse de que la levadura se mantenga limitada en carbono, de lo contrario, los beneficios se desperdician. Existe una clara ventaja de producir más levadura por tanque, pero la mayoría de los fabricantes de cerveza están preocupados de que la levadura no se comporte igual en la fermentación. La levadura de un proceso de batch alimentado se encuentra en un estado metabólico diferente que la levadura tomada de un proceso de fermentación discontinuo. La preocupación del cervecer es que esto podría conducir a anomalías en la fermentación ya un conjunto diferente de compuestos de sabor. Tal vez sería posible usar un proceso de batch alimentado si la levadura pasó por un paso de batch adicional al final. Por supuesto, entonces tendrías que tener en cuenta el equipo adicional, los gastos y el tiempo. Muchos cerveceros han intentado adoptar el proceso por batches alimentados, pero pocos lo emplean. A David Quain, coautor de *Brewing Yeast & Fermentation* y antiguo gurú de la levadura de Bass / Coors, se le preguntó una vez si alguna vez usaron un proceso de batch alimentado. Su respuesta, “el batch alimentado no tiene cabida en la elaboración de cerveza”. (Conversación personal con Chris White).

Propagación en la Elaboración Casera

La propagación en la elaboración casera es algo más fácil, porque no necesitas tanta levadura como una cervecería comercial; es esencialmente toda la escala de laboratorio. El mayor desafío para la mayoría de los cerveceros caseros es cumplir con los requisitos sanitarios. La escala de laboratorio, comenzando a partir de placas, es la misma que para las cervecerías comerciales. Sin embargo, en lugar de propagar a 10 litros, puedes detenerte en dos, que puedes usar directamente en tu cerveza. La mayoría de los cerveceros caseros no pasan por todo el proceso de propagación a partir de placas. En cambio, realizan el último paso de propagación de “cervecería”, haciendo crecer un cultivo de tamaño casero. Los cerveceros caseros

llaman a este proceso “hacer un starter”. Inicialmente, el dominio de los cerveceros caseros más avanzados, el starter se ha convertido en una técnica popular para muchos cerveceros caseros en los últimos años. Un starter es un pequeño volumen de mosto que la levadura usa como primer

paso para multiplicarse y prepararse para fermentar un batch de cerveza. El propósito del starter es crear suficiente levadura limpia y saludable para fermentar tu batch en condiciones óptimas. El enfoque principal de un starter siempre debe ser la salud de la levadura primero y el crecimiento celular en segundo lugar. Muchos cerveceros se enfocan erróneamente en el crecimiento celular a expensas de la salud de la levadura. Es mucho mejor tener un número menor de células jóvenes muy sanas que tener una gran cantidad de células débiles. Siempre debes hacer un starter si sospechas que la viabilidad o la vitalidad de tu levadura pueden ser bajas. Por ejemplo, si tienes un paquete de levadura líquida que ha estado en tránsito durante el calor del verano durante muchos días, debe hacer starter. Nunca debes hacer un starter si no puedes manejar los pasos de manera higiénica o si no puedes proporcionar una nutrición adecuada para la levadura. Si puedes elaborar con éxito un batch de cerveza no contaminada, debes poder hacer con éxito un starter. A demás, aunque te resulte fácil cultivar más levadura, no te dejes llevar. El sobre inocular puede dar como resultado un perfil de fermentación menos que ideal (por ejemplo, ésteres bajos o inesperados, sabores de autolisis de levadura y mala retención de la espuma) en comparación con una tasa de inoculación adecuada. Otro caso en el que normalmente no desearás hacer un starter es con levaduraseca. La levadura seca no es costosa, y generalmente es más barato, más fácil y más seguro comprar más levadura seca que hacer un gran starter. Muchos expertos sugieren que colocar levadura seca en un starter agota las reservas de células que el fabricante de la levadura intenta incorporar a su producto. Para la levadura seca hacer una rehidratación adecuada en agua del grifo; no hagas un starter.

Elaboración de un Starter

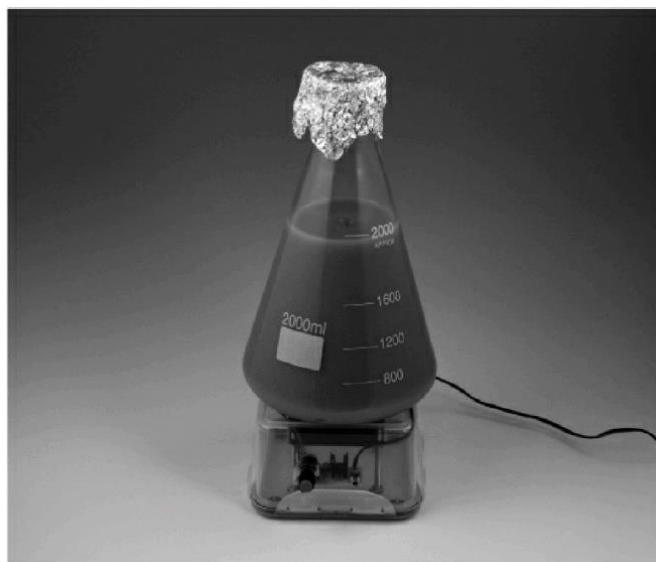
Un starter es fácil de hacer. Es como un mini batch de cerveza, con enfoque en el crecimiento y la salud de la levadura. Necesitarás un recipiente limpio y sanitizado capaz de contener el starter, más algo de espacio libre en la parte superior (head space), papel de aluminio, extracto de malta seco claro (DME), nutrientes de levadura y agua. Cuando prepares el mosto del starter, necesitas equilibrar la salud de la levadura, el crecimiento de la levadura y la conveniencia. Los starters hechos a una densidad muy baja resultan en un crecimiento mínimo. Si terminas con varios pasos de starter debido a un mosto de menor densidad, entonces el manejo adicional es menos conveniente y más probable que introduzcas contaminación. Tampoco necesitas hacer un starter de alta densidad para cultivar levadura. Cuanto mayor es la densidad, más presión ejerce sobre la levadura. Los cerveceros no deberían creer el mito de que la levadura se aclimata a la fermentación de alta densidad a partir de un starter de alta densidad. En general, cuando se

trata de levadura razonablemente saludable, mantén la densidad del mosto del starter entre 1.030 y 1.040 (7° a 10° P). Si estás tratando de revivir una levadura estresada, por ejemplo, cultivando levadura de una cerveza acondicionada en botella o de un slant viejo, usa un mosto de starter de baja densidad, aproximadamente 1.020 (5° P). Los starters de baja densidad son más fáciles para la levadura, pero producen menos crecimiento. Los starters de alta densidad dan como resultado un mayor crecimiento, pero son más estresantes para la levadura. La forma más fácil de hacer batches pequeños de mosto de starter es con medidas métricas, usando una proporción de 10 a 1. Agregue 1 gramo de extracto de malta seco (DME) por cada 10 mililitros de volumen de mosto final. Por ejemplo, para hacer 2 litros de mosto de sarter, agrega agua a 200 gramos de extracto de malta seco hasta que tengas 2 litros de volumen total. Agrega 1/8 de cucharadita de nutrientes de levadura, hierve 15

minutos, enfriá a temperatura ambiente, transfírelo a un recipiente sanitizado y agrega levadura. Cuando se usa un frasco o matraz de Erlenmeyer hecho de vidrio de borosilicato (como Pyrex o Bomex) es aún más fácil. Coloca el extracto de malta seco y el agua en el Erlenmeyer, pon un trozo de papel de aluminio sobre la parte superior, echa los nutrientes y coloca el matraz directamente sobre el quemador de la cocina. Hierve suavemente durante 15 minutos, deja que se enfrie y luego agrega la levadura. Si deseas utilizar el mosto estéril, puedes usar una olla a presión o una autoclave para preparar el mosto, en lugar de hervir. Seguir este proceso básico da como resultado el tipo de números de crecimiento que se muestran en la Figura 5.5. Sin embargo, es bastante simple aumentar la cantidad de crecimiento de levadura mediante la adición de oxígeno y agitación. Si tienes oxígeno puro a mano, puedes agregar una dosis de oxígeno a u starter al comienzo. Obtendrás levadura mucho más saludable y mucho más crecimiento de levadura si proporcionas una fuente pequeña y continua de oxígeno durante todo el proceso. El oxígeno es fundamental para el crecimiento de la levadura, y no proporcionar oxígeno a la levadura puede tener un impacto negativo a largo plazo en la salud de la levadura. La levadura usa oxígeno para sintetizar ácidos grasos insaturados y esteroles, que son fundamentales para crear una membrana celular saludable y un buen crecimiento celular. Con el oxígeno presente, la levadura crece rápidamente. Sin oxígeno, la levadura crece mucho más lentamente y alcanza una masa total de células más baja. Hay varias maneras de agregar oxígeno: agitación intermitente, sacudidas continuas, una placa de agitación, oxígeno puro o una bomba de aire con un filtro estéril. Si tienes una placa de agitación, ese es quizás el método más efectivo. Una placa de agitación proporciona un buen intercambio de gases, mantiene la levadura en suspensión y elimina el dióxido de carbono, todo lo cual aumenta el crecimiento de la levadura (alrededor de dos a tres veces más levadura que un starter sin agitación) y mejora la salud de la levadura. Sin embargo, hay dos

cosas que debes tener en cuenta al usar un plato de agitación. La primera es que algunas placas de agitación pueden generar suficiente calor para empujar el starter en un rango de temperatura que es perjudicial para la levadura, especialmente si se usa en un ambiente cálido. Una pequeña placa de agitación que probamos agregó 3° C (5° F) a la temperatura ambiente, por lo que querrás dar cuenta de este aumento de temperatura al hacer un starter. La segunda cosa a tener en cuenta es que la acción de la placa de agitación de aspirar aire al líquido puede provocar que la temperatura del starter refleje los cambios en la temperatura del aire circundante. Las grandes fluctuaciones de temperatura en la habitación provocarán grandes fluctuaciones en la temperatura del starter, y grandes oscilaciones en la temperatura del starter causan resultados inferiores a los resultados fabulosos. Cuando uses una placa de agitación, no tapes el recipiente del starter con un airlock. Una pieza sanitizada de papel de aluminio, un tapón de algodón o un tapón de espuma transpirable es todo lo que necesitas. Las bacterias y la levadura salvaje no pueden escalar, y una cubierta holgada permitirá un mejor intercambio de gases. Puedes encontrar información sobre cómo hacer tu propia placa de agitación barata en Internet, y las tiendas de cervecería casera más avanzadas venden modelos a precios razonables.

Figura 5.4:



Starter sobre una placa de agitación casera. Foto cortesía de Samuel W.Scott.

Si no tienes un plato de agitación, agitar el starter tanto como sea posible hace una gran diferencia en la cantidad de crecimiento y salud de la levadura. Por esta razón, algunos cerveceros caseros en Australia comenzaron a usar botellas

de refrescos de plástico de 2 litros para los starters. El cervecero puede evacuar fácilmente cualquier dióxido de carbono acumulado de la botella al quitar la tapa y apretarla, y luego extraer aire fresco como reemplazo. (Necesitarás trabajar en un ambiente libre de polvo para evitar absorber el polvo junto con tu carga de levadura salvaje y bacterias). Este también es un recipiente útil para sacudir el starter. Nuestras pruebas mostraron que agitar vigorosamente un starter cada hora produce aproximadamente el doble de células creadas que cuando se utiliza un starter que no se agita. El aire continuo de una bomba y filtro estéril también puede ser bastante efectivo. Los principales problemas son poder controlar el flujo de aire para evitar la formación excesiva de espuma y la evaporación del starter. En este caso, la agitación es casi tan eficaz como la aireación intermitente con una bomba. Si puedes configurar tu aireación para que sea estéril, sin espuma, y para mezclar todo el volumen del mosto del starter aunque continuamente, entonces puede ser tan eficaz como una placa de agitación. A la levadura le va mejor cuando la configuración inicial libera continuamente el dióxido de carbono que crea, los mantiene en suspensión y distribuidos uniformemente por toda la solución, y les proporciona acceso a cantidades razonables de oxígeno. Cada vez que hagas un starter, ten en cuenta los cuatro factores principales que afectan el crecimiento y la salud de la levadura: nutrientes, temperatura, azúcares y pH. Los nutrientes clave incluyen oxígeno, zinc, aminoácidos y nitrógeno. El oxígeno es una de las cosas que muchos cerveceros ignoran, sin embargo, es crítico para la supervivencia y el crecimiento de la levadura y tiende a ser el factor más limitante para la mayoría de los starters. Casi todos preguntan si deberían agregar lúpulos a los starters. A un nivel de aproximadamente 12 IBU o más, los lúpulos agregan cierta protección antimicrobiana. La acción antimicrobiana es un resultado de la trans-isohumulona, un componente de los ácidos alfa isomerizados, que permite que los compuestos del lúpulo “invadan” a las bacterias grampositivas y disminuya la absorción de nutrientes por parte de las células (Fernández y Simpson, 1993). Aunque las bacterias del ácido láctico son grampositivas, algunas cepas son resistentes al lúpulo, de ahí su contaminación de la cerveza. Aunque agregar lúpulo confiere cierta actividad microbiana, es discutible cuánto ayuda, ya que los ácidos alfa isomerizados también afectan negativamente la viabilidad de la levadura. Tal vez sea mejor tener menos material flotando, con menos gasto y menos pasos de qué preocuparse. Si necesitas depender de los lúpulos para mantener tu propagación pura, entonces debes volver a revisar tu proceso. Usa mosto hecho con malta para los starters. El azúcar en el starter debe ser maltosa, no simple azúcar. La levadura cultivada exclusivamente con azúcares simples deja de producir la enzima que les permite descomponer la maltosa. Dado que la preparación del mosto es principalmente

maltosa, fermentarlo con levadura cultivada con azúcar simple da como resultado una cerveza que no se atenuará adecuadamente. El pH de un starter debe ser de alrededor de 5, pero si no puedes probarlo, no te preocunes. El mosto típico tiene un pH entre 4 y 6, por lo tanto, usa un extracto de malta seco de calidad decente, y siempre que no tengas agua extrema, el pH debería estar bien. Si tienes una fuente de agua de pH muy alto, puedes considerar usar al menos una parte de agua destilada o de ósmosis inversa en sus starters. Al agregar levadura al starter, trabaja en un área sin corrientes de aire e intenta mantener los contenedores abiertos durante el menor tiempo posible. El diseño del empaque de White Labs evita que la levadura entre en contacto con las superficies externas del vial. Sin embargo, es posible que la levadura y las bacterias salvajes se asienten en el borde que sobresale cerca de la parte superior, por lo que es una buena idea sanitizar la parte superior del vial para evitar que caiga polvo asentado en el starter. Despues de agitar el vial para aflojar la levadura que está dentro, déjalo reposar unos minutos y abre lentamente la parte superior para evitar la formación excesiva de espuma. Los paquetes de Wyeast no requieren “golpearse” antes de hacer un starter, aunque ciertamente no perjudica. La levadura no está en la pequeña parte que aprietas, sino que está en el paquete principal. Sin embargo, aún recomendamos hacer estallar el paquete dentro. El líquido en el paquete pequeño es una fuente de nutrientes y azúcar de alta calidad, y ayuda a enjuagar la levadura del paquete principal. Aunque la posibilidad de contaminación durante el vertido es extremadamente baja, debes sanitizar el exterior del paquete Wyeast antes de abrirlo, así como las tijeras si las usa para abrir el paquete. Los starters de temperaturas más altas (hasta 37° C, 98° F) equivalen a un crecimiento más rápido de la levadura, pero existen límites prácticos en cuanto a qué tan alto puede llegar, y la levadura lager tiende a ser especialmente sensible a las altas temperaturas. El uso de temperaturas de propagación muy altas afecta negativamente a la viabilidad y estabilidad de la levadura resultante. Otro problema con un crecimiento muy rápido o un crecimiento excesivo es que puede dar como resultado membranas celulares más débiles debido a concentraciones más bajas de ácidos grasos no saturados. Por el contrario, un starter demasiado frío produce un crecimiento más lento y, a menudo, menor, por lo que recomendamos no propagar la levadura fría. Una buena regla general es mantener los starters entre 18° y 24°C (65° y 75° F). A algunos cerveceros les gusta mantener los starters de levadura tipo lager unos grados más fríos y las levaduras ale unos grados más calientes, pero una temperatura alrededor de los 22° C (70° F) logra un buen equilibrio de salud y una propagación eficiente de las levaduras ale y lager. Algunos cerveceros esperan hasta que la levadura consuma todos los azúcares del mosto del starter y se asienten antes de inocular. Ellos decantan el mosto usado e inoculan solo la levadura en su batch de cerveza. Esto es particularmente ventajoso cuando se usan starters grandes sometidos a aireación continua o la placa de agitación. El

Líquido del starter en este caso a menudo no tiene un buen gusto, y deberías evitar agregarlo a tu cerveza. Si el tamaño del starter es superior al 5 por ciento del volumen de cerveza, deja que la levadura se asiente primero y luego inocula solo la levadura. Si usas este método, asegúrate de que la levadura se asiente por completo antes de decantar el mosto usado. Almacenar la levadura en el mismo recipiente durante ocho a 12 horas adicionales después de que alcanza la densidad final le permite acumular sus reservas de glucógeno. Al separar el mosto usado de la levadura demasiado pronto, se descartan selectivamente los individuos menos floculantes y de mayor atenuación en la población de levadura. Puedes terminar con una inoculación de levadura que no atenuará la cerveza por completo. Permite que la propagación del starter complete el ciclo de fermentación antes de decantar. A otros cerveceros les gusta inocular el starter tan pronto como la fase decrecimiento esté completa y la levadura aún esté en su punto más alto de actividad. Algunos consideran que este es el momento óptimo para utilizar la levadura para el siguiente paso de un starter o para fermentar un batch de cerveza. La idea es que la levadura no tiene que volver a salir de la etapa inactiva, asegurando así una actividad de levadura más rápida en la cerveza. Si vas a inocular un starter en un kraeusen alto, lo mejor es mantener el starter dentro de los 5° a 6° C (5° a 10° F) de la temperatura del mosto del batch principal. Inocular un starter muy cálido y activo en el mosto frío puede aturdir a las células, y con las cepas lager esto puede afectar la atenuación, la floculación y aumentar la producción de sulfuro de hidrógeno. Si bien puedes enfriar lentamente el starter con el tiempo, a menudo se frustrará el objetivo de inocular a un alto kraeusen. Cada vez que la levadura detecta una gran caída de temperatura, se frena y desaparece, por lo que, si deseas inocular en lo alto de la actividad, es mejor mantener el starter más cerca de las temperaturas de fermentación desde el principio. Si bien hay beneficios y desventajas para ambos métodos, el método del kraeusen alto es el único que se usa si estás intentando reiniciar una fermentación trabada o reducir la atenuación de una cerveza unos pocos puntos más. La presencia de alcohol y el bajo nivel de azúcares evitan que la levadura salga de la latencia para fermentar lo que queda. Al inocular la levadura a un kraeusen alto, las células continuarán consumiendo los azúcares restantes. La mayoría de los starters a esta densidad específica, temperatura y tasa de inoculación alcanzan su densidad celular máxima dentro de las 12 a 18 horas. Las bajas tasas de inoculación y las bajas temperaturas pueden extender ese tiempo a 36 horas o más, pero la mayor parte del crecimiento siempre debe completarse dentro de las 24 horas.

¿Cuál es el Mejor Tamaño de un Starter?

Lo más importante que debes saber sobre el tamaño inicial es que la tasa de inoculación afecta la tasa de crecimiento. En otras palabras, la “tasa de inoculación” de tu starter tiene un gran efecto en la cantidad de nuevas células de levadura que verás a partir de toda propagación. No es el volumen del starter lo que es importante, sino la cantidad de células que agregas en relación con ese volumen. A una tasa de inoculación demasiado alta, obtienes muy poco crecimiento. Si usas una tasa de inoculación demasiado baja, entonces realmente no estás haciendo un starter, estás fermentando cerveza. Así como la tasa de inoculación afecta el crecimiento en un batch de cerveza, lo cual es importante para el sabor de la cerveza, también afecta el crecimiento en un starter, aunque el sabor no importa. Lo ideal es que cultive tu levadura en un volumen suficientemente grande de mosto para garantizar una salud óptima de la levadura y obtener una cantidad decente de crecimiento para tu problema. Olau Nielsen introdujo el concepto de factor de rendimiento, que es una medida del crecimiento celular frente a la cantidad de extracto (azúcares) consumido (Nielsen, 2005). Es un número útil para comparar la efectividad de los métodos de propagación.

$$\text{Factor de rendimiento} = (\text{millones / ml células final} \rightarrow \text{millones / ml células inicial}) / \text{disminución de la densidad } {}^{\circ}\text{P}$$

Por ejemplo, si inoculas un starter de 1 litro con 100 mil millones de células, es 100 millones por mililitro. Si ese starter crece a 152 mil millones de células, tienes 152 millones por mililitro al final. Comenzando con 9° P de mosto y terminando con 2° P de azúcar después de que el starter esté completo, significa que la levadura usó hasta 7° P de azúcar.

$$\text{Factor de rendimiento} = (152 - 100) / 7 = 7.4$$

Cuanto más eficientemente crece la levadura, mayor es el factor de rendimiento. Un factor de rendimiento mayor a 20 indica crecimiento aeróbico, y un número menor que eso es típico de la fermentación anaeróbica. La mayoría de los cerveceros caseros (que están haciendo starters) nunca alcanzan ese nivel de crecimiento. Se requiere un control muy preciso de los azúcares y el oxígeno durante todo el ciclo para lograr tasas de crecimiento tan elevadas. No te preocupes, en una escala de cervecería casera o pequeña, no es crítico obtener todo el crecimiento posible. La salud de la levadura y mantener el cultivo puro es mucho más importante. Sin

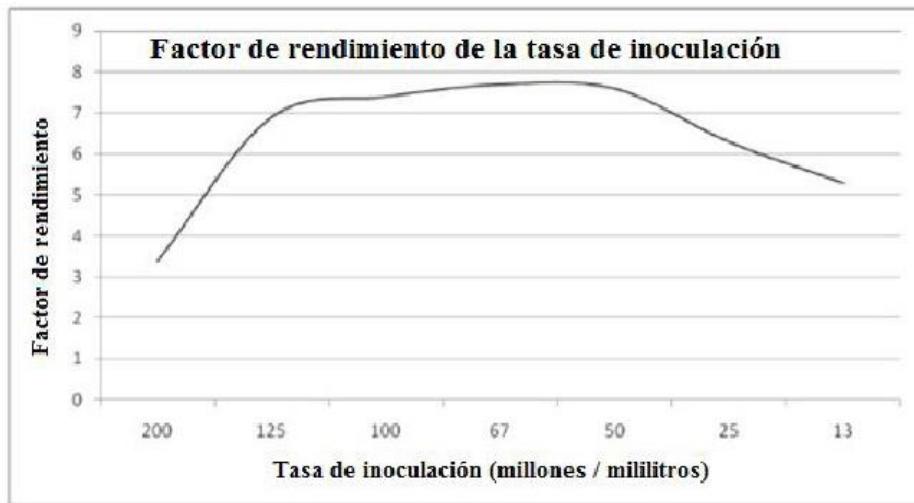
embargo, es útil entender en qué punto no estás cultivando mucha levadura, en qué punto estás maximizando tu crecimiento y en qué punto realmente solo estás haciendo cerveza. Un factor que hace que sea difícil para los cerveceros caseros obtener un buen rendimiento es que a menudo hacen un starter a partir de una gran población de levadura. El paquete de levadura líquida promedio para cerveceros caseros tiene aproximadamente 100 mil millones de células. Con ese tipo de cultivo, necesitas un gran starter para lograr un crecimiento sustancial. Realizamos experimentos utilizando 100 mil millones de células de White Labs WLP001 en diferentes tamaños de starter. Usamos recipientes del mismo material y la relación altura-ancho para cada starter. No agregamos oxígeno suplementario o agitación del starter, y todos estaban a la misma temperatura de 21°C (70°F) y una densidad específica de 1.036 (9° P). La densidad final, después de que el starter estuvo completo, fue 1.008 (2° P).

Figura 5.5:

Volumen del starter (litros)	Tasa de inoculación (millones / ml)	Nuevas células creadas (billones)	Células totales al final (billones)	Número de duplicaciones	Factor de rendimiento
0.5	200	12	112	0.1	3.4
0.8	125	38	138	0.4	6.9
1	100	52	152	0.5	7.4
1.5	67	81	181	0.8	7.7
2.0	50	105	205	1.1	7.6
4.0	25	176	276	1.8	6.3
8.0	13	300	400	3.0	5.3

Efecto de la tasa de inoculación en el factor de rendimiento para las tasas de propagación típicas, comenzando con 100 mil millones de células.

Figura 5.6:



Curva del factor de rendimiento a través de las tasas de inoculación.

¿Nota el efecto del starter pequeño? Una alta concentración de levadura en un a pequeña cantidad de mosto produce muy poco crecimiento.

El starter de 500 mililitros apenas creció, solo una fracción del doble. El hecho fundamental es que la levadura no puede crecer a menos que tenga suficiente azúcar y nutrientes para que cada célula se divida. Si bien las células no se multiplican mucho cuando la tasa de inoculación es tan alta, pueden beneficiar a las células existentes. El consumo de azúcar, nutrientes, oxígeno y la producción de compuestos como los esteroides mejoran la salud de las células. Los starters rara vez tienen un lado negativo; incluso si hay poco crecimiento de levadura, un starter ayuda a revivir la levadura para la fermentación activando el metabolismo y, por lo tanto, la fermentación comienza más rápido. Si quisieras obtener un factor de rendimiento más alto con el starter de 800 mililitros, necesitarías una tasa de inoculación más pequeña. A medida que disminuye la tasa de inoculación, el factor de rendimiento aumenta. En este ejemplo, una vez que la tasa de inoculación cae a 67 millones / ml (100 mil millones de células en 1,5 L de mosto), se produce un crecimiento significativo. El factor de rendimiento puede mostrarnos cómo diferentes parámetros de propagación afectan nuestro proceso. Podríamos registrar el rendimiento de oxígeno, densidad específica, zinc, agitación o cualquier cantidad de otros factores. Si graficamos el rendimiento en este ejemplo contra la tasa de inoculación, vemos una curva que indica qué tasa de inoculación es la más efectiva. Finalmente, a medida que aumenta el volumen del starter, el factor de rendimiento disminuye. De hecho, a medida que

los volúmenes se aproximan a las fermentaciones del tamaño de la cerveza, el rendimiento disminuye significativamente.

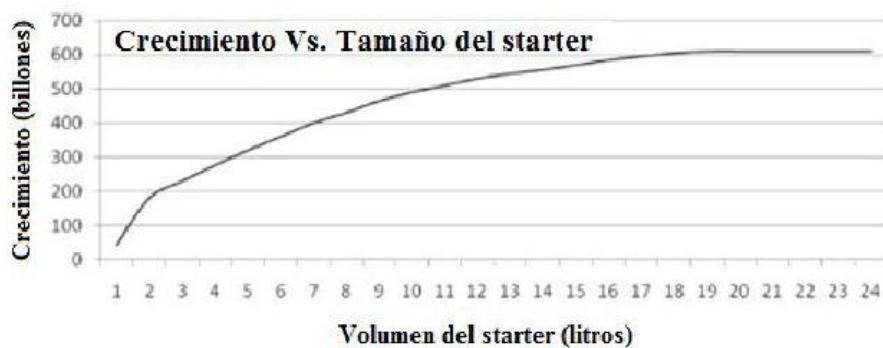
Figura 5.7:

Volumen del starter (litros)	Tasa de inoculación (millones / ml)	Nuevas células creadas (billones)	Células totales al final (billones)	Número de duplicaciones (billones)	Factor de rendimiento
20	5	500	600	5	3.6

Efecto de la tasa de inoculación en el factor de rendimiento para las tasas típicas de fermentación de cerveza, comenzando con 100 mil millones de células.

Inocular levadura a tasas de fermentación de la cerveza da como resultado un crecimiento similar a la cerveza, duplicaciones y desarrollo del sabor. La inoculación a tasas de tipo de propagación da como resultado sabores de crecimiento y tipo de propagación. Eso no significa que no haya un crecimiento adicional para starters más grandes y tasas de inoculación más bajas, pero existe un límite en cuanto a cuánto crecimiento y cuánta duplicación es posible para las células. Finalmente, cuando la tasa de inoculación alcanza aproximadamente 4 millones / ml, la tasa de crecimiento se estabiliza. De hecho, sin esfuerzos adicionales, los 100 mil millones de células no crecerán en más de 600 mil millones de células. Sin la fermentación aeróbica alcanzará el límite de la capacidad de la levadura de duplicar, no importa cuánto más mosto esté presente. Esto no significa que siempre debas buscar la tasa de inoculación más rentable cuando se propaga la levadura, especialmente como cervecero casero. Si lo que estás planeando requiere varios pasos para hacer crecer tu levadura y las transferencias múltiples, ten en cuenta que con cada transferencia existe la posibilidad de introducir niveles más altos de contaminación. ¿Recuerdas nuestro anterior ejemplo de índice de inoculación casero? Queríamos 180 mil millones de células en total para nuestro batch de 20 litros de cerveza a 12° P. Si estuvieramos haciendo un starter de las mismas especificaciones que en la Figura 5.5, necesitaríamos un paquete de levadura líquida (100 mil millones de células) en un starter de 1.5 litros. Por supuesto, si usas parámetros diferentes, los resultados variarán, y la única manera de saber con certeza cuántas células obtienes de tu propagación es contarlas. Sin embargo, es posible estimar con un grado razonable de precisión cuántas células crecerá una tasa de inoculación específica en una propagación determinada. La Figura 5.9 muestra la cantidad de levadura que puedes esperar que crezca usando un simple starter y paquetes de levadura líquida.

Figura 5.8:



Un experimento similar que utiliza la misma cepa de levadura, tasa de inoculación, densidad inicial y temperatura que en las Figuras 5.5 y 5.7. Esto muestra los resultados de 100 mil millones de células en starters de tamaño creciente, hasta el típico tamaño de batch casero. Una curva muestra cómo la cantidad posible de duplicaciones y crecimiento se vuelve limitada a medida que disminuye la tasa de inoculación.

Figura 5.9:

Volumen del starter en litros		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	25	28	32	
		100	1																							
		150		1																						
		200			1																					
		250				1																				
		300		2		1																				
		350		2			1																			
		400			2				1																	
		450		3	2					1																
		500		3		2					1								1							
		550		3		2														1						
		600		4	3			2																		
		650		4		3				2									2							
		700			4	3					2								2							
		750				4	3					2								2						
		800				5	4	3				3								2						
		850				5		4			3									2						
		900				5		4			3									2						
		950					5		4			3							3							
		1000						6	5	4	3	2							3							

Tamaño de starter necesario para aumentar un número determinado de células. Los números en la cuadrícula representan la cantidad de paquetes de levadura líquida (~ 100 mil millones de células) para agregar a un starter. Por ejemplo, para cultivar alrededor de 400 mil millones de células, se hace un starter de 4 litros usando dos paquetes o un starter de 9 litros usando un solo paquete.

Si está utilizando una placa de agitación, o aireación, el rendimiento será mayor. Una forma fácil de determinar la cantidad adecuada de levadura para tu batch y la cantidad

de alimento que necesita es la Calculadora de Tasa de Inoculación gratuita (Pitching Rate Calculator) en www.mrmalty.com.

Starters Escalonados

Como vimos anteriormente, existe un límite para la cantidad de crecimiento posible a partir de una propagación dada. Puedes ir por un crecimiento más grande, pero no necesariamente obtendrás más levadura. Para cultivar grandes volúmenes de levadura, debes mover los resultados de la propagación a otro volumen de mosto. O usa un mayor volumen de mosto para este próximo paso, o recolecta una porción de la levadura para volver a crecer, dejando a un lado el resto en el almacenamiento. La regla general es que cada paso debe ser exactamente diez veces el volumen del paso anterior, pero esa no es una regla difícil y rápida. Hay mucho margen en el tamaño de los pasos. Ciertamente, la proporción de tamaño de un paso a otro puede afectar la salud de la levadura y la cantidad de crecimiento celular. Hacer los pasos innecesariamente pequeños requerirá más pasos, más transferencias y aumenta la cantidad de trabajo. Cada transferencia, cada alimentación, cada paso de manejo que haces también aumentan las posibilidades de contaminación. Por el contrario, pasos muy grandes pueden no generar el crecimiento de ninguna levadura adicional. Una vez que la tasa de inoculación inicial cae por debajo de cierto nivel, la curva de crecimiento alcanza una meseta (Figura 5.8, página 142). Esto solo consume mosto, a menos que el starter sea en realidad un batch de cerveza. En general, deseas apuntar un aumento en cada paso de cinco a diez veces el tamaño del paso anterior, pero no olvides las consideraciones prácticas de manejo, sanitización y crecimiento celular. Aquí hay un ejemplo simple de preparar un starter escalonado. Suponte que estás tratando de cultivar un paquete de levadura de cerveza líquida para proporcionar suficientes células para inocular 18 litros (5 galones) de 1.048 (11.9° P) de mosto de lager. Empiezas con unos 100 mil millones de células, pero quieres aumentarlas a 337 mil millones. Ten en cuenta que la tasa de inoculación afecta la cantidad de crecimiento posible. En este caso, necesitarías aproximadamente 6 litros de mosto de starter para cultivar esa cantidad de levadura. Si estuvieras limitado a un tamaño más pequeño para tu propagación, usarías varios pasos para cultivar tu levadura. Veamos un ejemplo con un tamaño de starter máximo de 2 litros:

1. Haz un starter con 200 g de extracto de malta seco agregando agua para hacer 2 litros de volumen terminado.

2. Agrega el vial de levadura y cultívalo de 24 a 48 horas.
3. Ahora deberías tener un poco más de 200 billones de células.

Has creado el equivalente de otro vial de levadura. Refrigerá hasta que toda la levadura se asiente y decante el mosto usado. Si tuvieras que agregar otros 2 litros de mosto de starter, no duplicarías la levadura a 400 mil millones. Recuerda el efecto de aumentar la tasa de inoculación. Si agregaste 2 litros más, solo crearías aproximadamente 100 mil millones de células adicionales. Esto te acerca bastante a los 337 mil millones deseados. Eso es menos que los 6 litros de mosto que hubieras necesitado de otra manera. Eso se debe a la disminución de los rendimientos de las bajas tasas de inoculación en los grandes starters. Empiezas a hacer cerveza en lugar de levadura, pero los starters más grandes son más seguros porque requieren menos transferencias. ¿Y si tuvieras un recipiente que solo te permitiera hacer un starter de 1 litro?

1. Haz un starter con 100 gramos de extracto de malta seco, agregando agua para hacer 1 litro de volumen terminado.
2. Agrega el vial de levadura y cultívalo de 24 a 48 horas.
3. Ahora deberías tener alrededor de 150 mil millones de células. Creaste 50 mil millones de células nuevas.
4. Refrigerá hasta que toda la levadura se asiente y decante el mosto usado.

Aquí es donde la gente se confunde. Si tuvieras que agregar otro litro de mosto de starter, no crearías otros 50 mil millones de células. En cambio, crearías solo 18 mil millones. ¿Recuerdas el efecto de aumentar la tasa de inoculación? (Figura 5.5). Has alcanzado una tasa de inoculación inicial que produce menos crecimiento. Si tuvieras que colectar la levadura cultivada y luego agregar 1 litro de mosto, podrías cultivar más levadura.

Trabajando con Levadura Seca

Si bien la mayoría de los cerveceros comerciales rehidratan su levadura seca antes de inocular, muchos cerveceros caseros simplemente espolvorean la levadura seca sobre su mosto. Tal vez lo leyeron en un libro, o su experto local les dijo que la rehidratación no era necesaria. Técnicamente, la cerveza fermentará si arrojas suficiente levadura no rehidratada, pero no le estás dando a la levadura la oportunidad de hacer la mejor cerveza posible. Saltarse la rehidratación mata a la mitad de las células lanzadas. Además de tener solo la mitad de la levadura necesaria, las células muertas

comienzan a descomponerse de inmediato y afectan el sabor de la cerveza. ¿Por qué alguien recomendaría saltarse la rehidratación? Por la misma razón, evitaría hacer un starter: su proceso es insalubre o perjudicial para la salud de la levadura. Incluso si rehidratas la levadura, puedes matarla fácilmente si no controlas la temperatura del agua. Si tu proceso de rehidratación presenta cantidades significativas de bacterias o levadura salvaje, quizás sería mejor que no emplees estos pasos adicionales hasta que puedas dominar el proceso de manera sanitaria. En situaciones como esta, un experto puede aconsejar saltarse la rehidratación y simplemente agregar más levadura para compensar la pérdida de células viables. Cada cepa de levadura tiene su propio proceso óptimo de rehidratación, pero el proceso básico es el siguiente:

1. Levanta la temperatura de la levadura seca a temperatura ambiente.
2. En un recipiente sanitizado, prepara una cantidad de agua corriente estéril a 41° C (105° F) igual a 10 veces el peso de la levadura (10 ml / g de levadura).
3. Espolvorea la levadura seca sobre la superficie del agua, tratando de evitar la formación de grumos grandes y secos. Deja reposar durante 15 minutos, luego revuelve suavemente.
4. Una vez que la levadura se haya reconstituido, revuelve suavemente una vez más para formar una crema, y deje reposar otros 5 minutos.
5. Con cuidado y lentamente, ajusta la temperatura de la levadura dentro de los 8° C (15° F) de la temperatura del mosto.
6. Inocula la crema resultante en el recipiente de fermentación, idealmente tan pronto como sea posible.

Figura 5.10:



Rehidratando la levadura seca. Fotos cortesía de Samuel W. Scott.

Controlar la temperatura es la parte más importante del proceso. La temperatura de rehidratación generalmente varía de 35° a 41° C (95° a 105° F) aunque algunos cerveceros pueden sugerir un rango de temperatura más bajo. La

temperatura ideal para cada producto de levadura seca puede variar, y debes esforzarte por averiguar por parte del fabricante qué temperatura es la óptima para su producto. No intentes rehidratar la levadura en agua fría. El calor es crítico para la célula durante los primeros momentos de la reconstitución de su membrana celular frágil. Las temperaturas más bajas provocan que más material celular se filtre fuera de la celda durante la rehidratación, lo que daña permanentemente la célula.

A la temperatura de rehidratación óptima, es posible recuperar el 100 por ciento de las células. Una temperatura demasiado fría puede provocar la muerte de más del 50 por ciento de la población. Debes medir la temperatura del agua en el recipiente de rehidratación justo antes de agregar la levadura. La temperatura del agua puede disminuir significativamente si el recipiente es más frío que el agua. La mayoría del agua corriente filtrada funciona bien para la rehidratación. Idealmente, el contenido de mineral debe oscilar entre 250 y 500 partes por millón de dureza. Durante los primeros momentos de rehidratación, la célula no puede regular lo que pasa a través de la membrana. Los niveles altos de azúcares, nutrientes, ácidos de lúpulo u otros compuestos pueden entrar libremente y dañar las células. Esta es la razón por la cual la adición de levadura seca directamente al mosto produce un porcentaje tan alto de células muertas y dañadas. Algunas fuentes recomiendan agregar extracto de malta o azúcar al agua, pero recomendamos agregar un producto como GO-FERM o GO-FERM PROTECT de Lallemand. Lallemand diseñó estos productos para la rehidratación con levadura seca. Proporcionan una selección de micronutrientes biodisponibles en un momento en que la levadura actúa como esponjas. El resultado es una levadura más saludable que está mejor preparada para la fermentación al final de la rehidratación. Cuando la levadura haya alcanzado una consistencia cremosa, ajusta su temperatura a 8°C (15° F) o menos de la temperatura del mosto. Evita los grandes diferenciales de temperatura que pueden causar que la levadura produzca mutantes pequeños. Puedes hacer el ajuste en pasos de 3° C (5° F) más o menos usando pequeñas adiciones del mosto principal a la levadura, dejando pasar unos minutos entre cada corrección para que la levadura se ajuste. También puedes mezclar suavemente con cada adición para garantizar una temperatura constante en toda la levadura. Una vez que la levadura esté lista, agrégala al mosto lo antes posible. A temperaturas cálidas, las células de levadura agotan rápidamente sus reservas de energía.

Manejo de la Levadura

El hecho de que los cerveceros puedan tomar un subproducto de la producción de cerveza, guardarlo y reutilizarlo en sucesivas fermentaciones es único. Podemos hacer esto porque la levadura sigue viva y saludable después de la mayoría de las fermentaciones de cerveza. En el vino, el nivel de alcohol después de la fermentación es tan alto que la levadura no es reutilizable. En la mayoría de la producción de cerveza, el nivel de alcohol presente después de la fermentación es relativamente bajo y la levadura no muere, como ocurre en la producción de vino. De hecho, los cerveceros comerciales fermentan la mayoría de sus batches con levadura recolectada. El problema para la mayoría de los cerveceros comerciales no es si volver a usar la levadura, sino cómo almacenarla y mantenerla saludable para futuras sesiones de elaboración. Muchos cerveceros caseros nunca consideraron reutilizar la levadura como una posibilidad, pero en realidad no es tan difícil como algunos pueden creer. El manejo de la levadura se refiere a las mejores prácticas cuando se trabaja con levadura. El aspecto más importante de trabajar con levadura es mantener un cultivo puro. Un buen cervecer:

- Evita corrientes de aire, brisas
- Utiliza un entorno estéril o una llama abierta durante las transferencias
- Minimiza el vertido de un contenedor a otro
- Usa papel de aluminio u otras cubiertas sanitarias
- Utiliza un 70% de alcohol en spray u otro sanitizante apropiado
- Practica limpieza general en cada oportunidad

Recolección de Levadura

Como ya dijimos, es una práctica común en la cervecería comercial recolectar levadura para su reutilización. Los cerveceros generalmente recolectan la levadura una vez que se completa la fermentación, pero ese no es el único momento en que un cervecero puede cosecharla. En algunos casos, el cervecer puede recolectar la levadura floculante temprana antes de que la fermentación se complete al 100 por ciento, con el fin de separar la cerveza de la levadura que puede descomponerse por autolisis. La levadura floculante temprana contiene más células muertas y más turbio (trub). Al recolectar tempranamente, el cervecer por lo general descarta la levadura o la usa como un nutriente en la olla de elaboración. El cervecer no lo retiene para su reutilización porque la reinoculación de la levadura de floculación temprana a menudo da como resultado una menor atenuación con cada reutilización. Hay dos lugares en el fermentador donde la levadura se reúne en

una cantidad lo suficientemente grande como para recolectar: la parte inferior y la parte superior. Todas las cepas de levadura finalmente alcanzan la parte inferior del fermentador, si se les da suficiente tiempo, y en la mayoría de los casos, es más fácil para un cervecer recolectar levadura del fondo. La recolección de levadura desde la parte superior no siempre es posible, ya que no todas las cepas son buenas productoras superiores y no todos los diseños de fermentador permiten un cultivo superior.

Recolección de Levadura

Las cepas ale también se conocen como levadura de fermentación superior. Durante la fermentación, la superficie hidrofóbica de la levadura ale hace que los floculantes de levadura se adhieran al CO₂ y suban a la superficie de la cerveza. En el pasado, los cerveceros que usaban cepas ale siempre recolectaban levadura al espumarla desde la parte superior de las fermentaciones. Es bastante probable que esta sea la razón por la cual una cervecería podría reutilizar la levadura durante cientos de años. Mientras los cerveceros practicaron una buena sanitización y recogieron la muy saludable levadura de la parte superior, las cervezas mantuvieron su calidad. Hoy en día, la recolección de levadura del fondo es la norma, y la mayoría de los cerveceros utilizan fermentadores cilíndricos cónicos que ayudan en la limpieza y la recolección de levadura. Si bien estos recipientes ayudan a recolectar la levadura del fondo, la calidad de la levadura recolectada no es tan buena como la recolectada en el cultivo superior. La levadura cultivada en la parte superior se eleva en la fermentación cuando tiene una alta viabilidad, alta vitalidad y está relativamente libre de turbios (trub). Cuando la levadura desciende al fondo de un fermentador cónico, se mezcla con levadura muerta, trub y bacterias. El tiempo que tarda la levadura en depositarse en el fondo también somete a la levadura a un estrés adicional, y está bajo presión hidrostática en fermentadores altos. Las mutaciones y las células muertas se acumulan más rápidamente en estas condiciones, por lo que hoy en día las cervecerías solo reutilizan su levadura un promedio de cinco a diez generaciones antes de comenzar con un nuevo cultivo. Si bien hay algunas excepciones específicas de la cepa, generalmente cuanto más floculante es una cepa de levadura, mayor es su tendencia a elevarse a la superficie durante la fermentación. Después de las primeras 12 horas de fermentación, muchas cepas ale de levadura se elevan a la superficie y fermentan desde la parte superior de la cerveza durante tres o cuatro días durante la producción de CO₂. Durante este tiempo, el cervecer puede recolectar levadura desde la parte superior del fermentador. A demás de obtener una gran cosecha de levadura, el cambio de inoculación a recolección es mucho más rápido. No tienes que esperar a que la levadura se deposite en el fondo antes de poder

reutilizarla. La desventaja radica en exponer la cerveza al medio ambiente. Si tienes una sala de fermentación sanitizada y controlada, las técnicas como el cultivo superior y la fermentación abierta pueden ser muy beneficiosas. El diseño del fermentador también es un factor en el cultivo superior. Los fermentadores grandes, planos y abiertos facilitan la recolección con cubos, palas o en una escala más pequeña con una taza o cuchara grande. Los fermentadores de tapa cerrada, con pequeñas aberturas de acceso, requieren un equipo especializado para “aspirar” la levadura de la superficie de la cerveza. Aunque pocas cervecerías comerciales fuera de Gran Bretaña recolectan de la parte superior hoy en día, el proceso está ganando un pequeño pero apasionado seguimiento entre los cerveceros artesanales y cerveceros caseros, porque bajo las condiciones adecuadas, el cultivo superior es una técnica exitosa y efectiva de manejo de levadura. ¿Puedes recolectar de la parte superior tu levadura favorita o no? Si bien puedes recolectar la mayoría de las cepas ale, el nivel de éxito depende no solo de la levadura, sino también del equipo utilizado, el tiempo y la geometría del fermentador. Por ejemplo, White Labs English Ale (WLP002) es una levadura muy floculante. Se ve grumosa incluso antes de la fermentación. Esta es una gran levadura de alto crecimiento en la escala más pequeña, aunque en los fermentadores cilíndricos altos que se encuentran en la elaboración comercial, varios informes del campo afirman que la levadura no logra crear una cantidad suficiente como para lograr un cultivo superior exitoso y que la levadura solo puede ser recolectada desde el fondo del fermentador. Tal vez sea el tamaño de

la burbuja, la presión hidrostática o algún otro factor, pero es importante recordar que el medio ambiente juega un papel casi tan importante en el éxito del cultivo superior como la cepa de levadura. Incluso muchas cepas de levadura lager darán la mejor cosecha superior si la cervecería tiene los fermentadores adecuados. Sudwerk Restaurant & Brewery en Davis, California, comenzó a producir en 1989 con equipos de fermentación abierta de Alemania. En 1998, cambió la mayor parte de su equipo de fermentación a cilindros cónicos cerrados, pero retuvo cuatro fermentadores abiertos. Los cerveceros recogen con éxito la levadura de la parte superior mediante el uso de una pala de acero inoxidable dos días después de la fermentación. Otras buenas cepas ale de recolección superior son las cepas weizen de tipo belga y alemana. A estas cepas les gusta fermentar desde la parte superior y no son muy floculantes. Debido a que no son muy floculantes, no son buenas cepas de cultivo de fondo. Cuando un cervecero las recoge repetidamente del fondo del fermentador, está recolectando solo, lo más floculante de las células. En el transcurso de unas pocas reinoculaciones, la población de levadura tiende a volverse más floculenta, descendiendo en lugar de permanecer en suspensión. A menos que estés elaborando una kristall weizen, eso ciertamente no es un rasgo deseado.

Al cosechar en la parte superior, puedes sacar muchas generaciones de estas cepas únicas con una mínima acumulación en niveles de floculación y atenuación.

Técnicas y Tiempos de la Recolección Superior

Para el día dos o tres de fermentación, la levadura de recolección superior habrá subido a lo más alto. Si una cepa es una buena recolectora superior, forma una espuma gruesa sobre la cerveza en fermentación y está lista para la recolección. La levadura permanecerá en la superficie durante una gran parte de la fermentación, pero la mayoría de las cepas de recolección superior no son lo suficientemente fuertes como para permanecer en la superficie hasta el final de la fermentación. En este momento puedes recolectar la levadura sacándola o espumándola de la superficie. La superficie de la espuma de levadura es rica en proteínas, por lo que deberás descartar la primera capa de la superficie. El segundo o tercer descremado

y más profundo generalmente contiene la mejor levadura para reutilizar. Para recolectar la levadura, puedes usar muchas herramientas diferentes. En el pasado, los

cerveceros pasaban

una tabla de madera sobre la superficie del fermentador plano abierto. Hoy en día, las cervecerías que producen los cultivos superiores de fermentadores abiertos usan acero inoxidable. Puedes usar casi cualquier cosa para recolectar la levadura, como paletas, palas, cubos u otros dispositivos. Cualquiera que sea el equipo que uses para el cultivo superior, asegúrate de limpiarlo y sanitizarlo antes de cada uso y de que la transferencia de la superficie de la levadura al contenedor de almacenamiento se realice de la manera más higiénica posible. Cuando trabajes con fermentadores grandes asegúrate de que haya una plataforma de trabajo estable y segura. Cuando se trate de volúmenes más grandes de levadura, considere usar una centrífuga sanitaria, desplazamiento positivo (DP) o bomba peristáltica. Una bomba es buena, porque puedes bajar la manguera de entrada por debajo de la capa de superficie rica en proteínas de la levadura y recoger la levadura más limpia y más deseable justo por debajo. Mueve la manguera de entrada justo debajo de la superficie, aspirando la levadura. La salida de la bomba debe ir a un recipiente limpio y sanitizado. Un cubo inoxidable con una tapa floja funciona bien. En una escala pequeña como la fermentación en un cubo de plástico de aproximadamente 25 litros (6 galones) o un pequeño fermentador cónico de acero inoxidable con una tapa extraíble, el cervecer puede simplemente quitar la tapa y recolectar o espumar la levadura con una cuchara grande de acero inoxidable. Ten en cuenta que cuando quites la tapa, la cerveza está adherida a la levadura salvaje y a las bacterias que caen desde arriba. Intenta abrir la tapa solo cuando no haya movimiento de aire, y no

quites la tapa por completo. Mantén un borde en su lugar para que la tapa actúe como un escudo contra el polvo que cae desde arriba. Cuando se trabaja con un fermentador con una abertura restringida, como un garrafón de vidrio (carboy) o plástico, el cervecer necesita idear algún método para aspirar la levadura de la superficie. Algunos cerveceros han utilizado con éxito un tapón de dos orificios o una tapa de garrafón, ingresando aire estéril o CO₂ a través de un orificio e insertando un trasvasador u otra pieza de tubería rígida en el otro orificio como una varilla de vacío (Figura 5.11). El cervecer conecta el tubo a la varilla o trasvasador, que descarga en a un recipiente sanitizado. Al bajar el tubo de trasvase en la levadura, la presión del CO₂ de la fermentación fuerza la levadura a salir a través del tubo al recipiente de recolección. Algunos cerveceros presurizan el recipiente con CO₂ suplementario para una recolección más rápida, pero esto puede ser muy peligroso, incluso fatal, a menos que el cervecer sepa lo que está haciendo y tenga extrema precaución. Siempre que trabajes con un recipiente presurizado, existe la posibilidad de explosión y gran daño corporal. Siempre usa presiones muy bajas y controladas con precisión, y asegúrate de que la tubería nunca se bloquee.

Figura 5.11:



Dispositivo de recolección superior de cervecería casera. Fotos cortesía de Samuel W. Scott.

La levadura recolectada desde la parte superior durante la fermentación es muy activa, así que asegúrate de usar un recipiente de recolección que pueda aliviar el exceso de presión antes de que el recipiente falle. Además, si planeas almacenar el barro de levadura, elimina gas periódicamente, ya que la acumulación de CO₂ puede matar rápidamente a la levadura.

Recolección Inferior

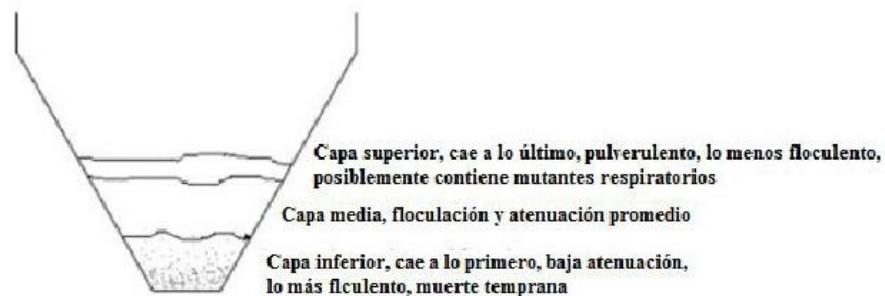
La mayoría de cerveceros caseros y cervecerías en los Estados Unidos recolectan levadura del fondo del fermentador. Incluso si la cervecería está haciendo cerveza con cepas de cultivo superior, rara vez practica cultivos superiores. Es una pena, ya que el cultivo superior puede dar como resultado una excelente recolección de levadura para el siguiente batch. El cultivo de fondo se ha vuelto popular porque es fácil con el equipo que está en uso hoy en día. La mayoría de los cerveceros comerciales fermentan en fermentadores cilíndricos cónicos, que están cerrados en la parte superior. Dentro del fermentador, la levadura puede subir o no a la superficie durante la fermentación, pero el cervecerio tiene poco acceso a ella si lo hace. Finalmente, todas las levaduras comienzan a asentarse y descienden y se compactan en el fondo cónico del fermentador, donde el cervecerio puede abrir una válvula para extraer la levadura. Sin embargo, toda esta facilidad tiene un costo: hay un alto porcentaje de trub en la levadura recolectada en el fondo; en comparación con el cultivo superior, toma más tiempo antes de que el cervecerio pueda recolectar la levadura; la levadura está bajo presión hidrostática; tanto la levadura mala como la buena están presentes en el cono y, a menudo hay una refrigeración inadecuada del cono. Si la recolección inferior es tan mala, ¿por qué hacerlo? Bueno, en algunos casos, la levadura no es buena levadura de alto crecimiento, pero todavía son bastante buenas para producir el perfil de cerveza deseado. En otros casos, el diseño del equipo requiere la recolección de fondo. En estos casos, es necesario optimizar el tiempo y el proceso de recolección de la levadura desde el fondo del fermentador para garantizar una calidad de cerveza óptima.

Técnicas y Tiempos de la Recolección Inferior

En la mayoría de las configuraciones comerciales, es importante recolectar la levadura lo más rápido posible. Una vez que se completa la fermentación, la levadura comienza el proceso de utilizar sus reservas y descomponerse. El medio ambiente y la salud de la levadura juegan un papel importante en la rapidez con la que se puede producir el agotamiento de las reservas y la descomposición de las células. Con grandes fermentadores cilindro-cónicos, donde la levadura se junta en el cono, la descomposición puede ser muy rápida. El mejor momento para recolectar levadura del fondo del tanque es uno o dos días después de iniciar el enfriamiento. Bajo estas condiciones, esperar solo 24 horas más puede reducir la viabilidad de la levadura hasta en un 50 por ciento. Esto está en contraste directo con los fermentadores pequeños, de tamaño casero. Con una levadura saludable que se extiende a lo largo del

ancho fondo de un balde o un garrafón de vidrio con una cerveza de potencia promedio, la viabilidad de la levadura disminuye a un ritmo más lento. Independientemente de ese hecho, siempre es mejor recolectar la levadura en la primera oportunidad que aún respete las necesidades de la cerveza.

Figura 5.12:



Capas de levadura en un fermentador cónico después de la sedimentación.

El problema principal con los fermentadores cilíndricos cónicos es la acumulación de calor; lo mejor es tener enfriado con camisa en el cono. Es incluso mejor tener un control de temperatura separado para la cubierta del cono, por lo que el cervecero puede establecer la temperatura de la levadura más fresca que la cerveza. La levadura es un aislante sorprendentemente bueno, y la temperatura de la levadura en el centro del cono puede ser de 5° C (10° F) más alta que el punto establecido de la camisa de enfriamiento (Lenoel, et al., 1987). La levadura que deseas recolectar está en el centro del cono. Estas células de levadura no son las más o menos floculantes, se atenúan por completo y no tienen cicatrices excesivas. Mantener la levadura que deseas recolectar a una temperatura más alta no ayuda a preservar la viabilidad. Este gradiente de temperatura no es un problema con los fermentadores como los garrafones de vidrio, los cubos y los fermentadores comerciales de fondo redondo, ya que tienen superficies de fondo grandes, relativamente planas. La levadura se asienta en una capa ancha y delgada que tiende a disipar bien el calor y permite que más levadura permanezca en contacto con la cerveza. Si bien varía según la cepa, un cervecero casero que comience con levadura saludable de alta calidad por lo general no tiene que preocuparse por la autolisí durante un tiempo considerable. La descomposición de la levadura en el recipiente casero promedio es mínima, incluso después de dos o tres semanas a las temperaturas de fermentación, e incluso más si se enfriá. Por supuesto, si el cervecero desea reutilizar la levadura, aun así, es

mejor recolectarla de ocho a 12 horas después de que se complete la fermentación. La recolección de levadura de un fermentador cónico es relativamente fácil. Primero asegúrate de que el tanque tenga una presión superior adecuada de dióxido de carbono o que tenga algún otro método para compensar el volumen perdido, como la ventilación. Sanitiza la válvula inferior y realiza las conexiones apropiadas para dirigir la levadura al recipiente de recolección. Abre la válvula y desecha el primer tercio de la levadura. Cuando se drene del fermentador, verás que la levadura inicial está llena de trub. Estas son las células de levadura más floculentas que murieron temprano, las células que no se atenuan por completo y las células con otros rasgos indeseables. A medida que continúa drenando la levadura, el barro se aclarará de color y, dependiendo de la cepa, puede adquirir una consistencia cremosa.

Este es generalmente el segundo tercio de la masa de levadura y es la parte considerada la mejor para reinocular. Esta es la levadura con menos cicatrices de brotes, levadura con atenuación promedio y levadura con pocas mutaciones. Una vez que recolectas la levadura para reinocular, la tercera parte restante puede descartarse. Esta última porción de levadura tiene un rendimiento más lento, y puede ser poco floculante, excesivamente pulverulenta y excesivamente atenuante. Si el fermentador está equipado con un tubo de trasvase, puedes usarlo para recolectar la levadura deseada. Gira el brazo hasta que esté dentro de la capa de levadura ideal, recolecta la levadura y luego vierte el resto a través del drenaje inferior. Sin un fermentador cónico, no es tan fácil recolectar la capa de levadura media, pero aún puedes recolectar una buena levadura. Cuando trabaje con fermentadores grandes, primero transfiera la cerveza y luego use una pala para espumar la capa superior de levadura, y luego recolecta la capa preferida de levadura del medio. Mientras que los fermentadores de fondo plano a menudo tienen válvulas de descarga, el drenaje de la levadura de ellos tiende a mezclar las capas de levadura. Cuando se trabaja con fermentadores caseros como cubos o garrafones de vidrio la única opción es recolectar toda la torta de levadura y luego tratar de separar lo bueno de lo malo. Una vez que se complete la fermentación, deja que la levadura se asiente, ya sea a temperatura de fermentación o más fría. Trasvasa la cerveza por medio de un sifón sanitizado al barril o al balde de embotellado, dejando cerca de un litro (1 cuarto de galón) de cerveza con la levadura. Si no quieres dejar cerveza, puede volver a agregar agua estéril una vez que completes la transferencia de cerveza. Más líquido en el fermentador hace que sea más fácil romper la torta de levadura, pero también resulta en la necesidad de un recipiente de recolección más grande. Agita el fermentador para romper la levadura libre del fondo. Puede requerir una agitación significativa para convertir la torta de levadura nuevamente en barro. Limpia la abertura del fermentador con una solución de alcohol al 70 por ciento. Si estás usando un

garrafón de vidrio, también puedes flamear brevemente la apertura. Vierte la suspensión de levadura resultante en un recipiente estéril o, al menos, sanitizado. Los envases de plástico de boca ancha son los mejores. Si usas un recipiente de vidrio, no sellas el recipiente con fuerza. En su lugar, use papel de aluminio o una tapa holgada, para evitar romper el recipiente si la levadura aumenta la presión. Antes de usar la levadura recolectada deberás enjuagarla para separar las células muertas y trub. Consulta la sección sobre “Enjuague” para más detalles. En la elaboración casera, el concepto de “fermentación secundaria” fue bastante popular durante varios años. La creencia era que el transvase de la cerveza de un fermentador a otro haría un par de cosas para la cerveza. La primera era que sacaría la cerveza de la levadura en el fondo del fermentador, antes de que la levadura se descompusiera y causara sabores desagradables en la cerveza. La segunda era que el trasvase de la cerveza la aclaraba más rápido. Ambos puntos no son completamente válidos. En un batch del tamaño de una cerveza casera, con levadura saludable extendida a través de un fermentador de fondo ancho, hay poco riesgo de sabores de autolisis en la cerveza a menos que la dejes reposando caliente durante un par de semanas después de la fermentación. Aunque la vida útil de la levadura depende de la cepa, cada cepa debe ser buena durante al menos una semana. Por supuesto, no debes dejar la cerveza en la levadura por más tiempo de lo necesario, pero esperar unos días extra para que la cerveza se aclare no debería ser un problema. Si estás planeando hacer cervezas agrias o hacer dry hopping, agregar fruta o madurar en roble (cualquier cosa que requiera ya sea cerveza sin levadura o más tiempo de almacenamiento en caliente), entonces la transferencia de la cerveza a un recipiente limpio vale la pena. La segunda teoría, que la cerveza se aclara más rápido después del trasvase, también es ilógica, a menos que la floculación aumente de alguna manera después de la transferencia, el tiempo que tarda en despejarse la cerveza debería aumentar, no disminuir. El trasvase vuelve a mezclar las partículas que lentamente se desplazaban hacia abajo a través de la cerveza. En todo caso, esto ralentiza el proceso de claridad de la cerveza. Además, ten en cuenta que la gran superficie de levadura en el fondo del fermentador no es inerte. Todavía tiene un impacto en la maduración del sabor de la cerveza. La eliminación de la cerveza de esta levadura puede ralentizar la utilización de compuestos como el acetaldehído y el diacetilo. ¿Por qué este trasvase secundario posiblemente hace que sea más difícil recolectar la mejor levadura para su reutilización? Si realizas el trasvase mientras todavía hay levadura en suspensión y recolectas la levadura caída, estás seleccionando las células más floculantes de la población. Estas son las células menos atenuantes y menos activas. La reutilización posterior puede dar como resultado cervezas que no se atenúan como se esperaba. Si viertes esa levadura y esperas a recolectar la levadura del segundo recipiente, estás seleccionando las células menos

floculantes y más atenuantes. Reutilizar esta parte de la población puede dar como resultado cervezas donde la levadura nunca se asienta. Si deseas reutilizar la levadura, piensa qué tipo de presión selectiva estás aplicando a tu población de levadura. La recolección temprana o tardía selecciona los atributos que hacen que la levadura se comporte de esa manera.

Mantenimiento y Almacenamiento de la Levadura

La levadura es un organismo vivo, y es más saludable cuando se alimenta de azúcares de mosto. Cuando se completa la fermentación, las células floculan, finalmente caen al fondo del fermentador y entran en estado de reposo. La levadura en este punto, almacenada bajo cerveza, es estable. Muchos cerveceros están de acuerdo en que siempre que no sea una cerveza con alto contenido de alcohol, el mejor lugar para almacenar la levadura es la cerveza fermentada. ¿Eso significa que el mejor almacenamiento está en el fermentador? No. Deberías remover la levadura de la cerveza una vez que haya hecho su trabajo. Incluso si recolectas la levadura para su reutilización, aún debes remover la levadura de la cerveza o la cerveza de la levadura al final de la fermentación.

Recipientes de Almacenamiento

Idealmente, usarías levadura recolectada inmediatamente. Esto deja poco tiempo para que las células se debiliten y mueran y para que crezcan las bacterias. Sin embargo, preparar cerveza el mismo día no siempre es posible, ya que es posible que no tengas los recursos para elaborar otra cerveza inmediatamente. Un método común para almacenar levadura en cervecerías es en barriles de refrescos de acero inoxidable de 5 galones. Están disponibles, el tamaño es conveniente para muchas cervecerías, puedes modificar la tapa para que se ajuste a sus necesidades, y como están construidas principalmente de acero inoxidable, un cervecero puede limpiarlas y desinfectarlas utilizando los suministros existentes. Mientras que los refrescos funcionan bien en su mayor parte, no son el recipiente de almacenamiento de levadura ideal. Ellos tienen dos defectos significativos. Una, es que tienen piezas pequeñas y juntas, que pueden albergar bacterias y pueden ser difíciles de limpiar a la perfección. La otra es que las tapas no ventilan la presión hasta que alcanza un nivel muy alto. El dióxido de carbono puede acumularse rápidamente en el barro de levadura, y presiones tan bajas como 20 libras por pulgada cuadrada pueden resultar fatales para la levadura. Es necesario dejar la válvula de presión abierta (y cubierta con papel de aluminio) o ventilar y agitar el barril al

menos una vez al día para purgar el exceso de presión manualmente. Un mejor recipiente puede ser un cubo de acero inoxidable con una tapa que se ajusta sobre el borde del cubo, lo que evita que las partículas en el aire se acumulen donde puedan caer en el recipiente cuando el cervecer lo abra. Los cerveceros caseros a veces pueden encontrar versiones más pequeñas de tales recipientes en tiendas de suministros de cocina bien surtidas. La ventaja de estos tipos de contenedores de almacenamiento es que también están hechos de acero inoxidable y eliminan fácilmente el exceso de CO₂. Siempre que la tapa no sea demasiado gruesa o esté sellada mediante un dispositivo de fijación, la acumulación de presión es mínima.

La desventaja es que estos recipientes pueden ser difíciles de almacenar o transportar, y es mucho más fácil quitar la tapa accidentalmente y posiblemente contaminar la inoculación. Una cervecería puede usar otros recipientes para el almacenamiento de levadura. Algunos cerveceros evitan el plástico, porque se rayan fácilmente y las marcas pueden albergar bacterias, pero en realidad puede ser una buena opción.

Asegúrate de usar un plástico de calidad alimenticia de alta calidad, como polietileno o polipropileno, y asegúrate de usar el recipiente solo para el almacenamiento de levadura. La ventaja del plástico es que una sección transversal del barro de levadura es visible, por lo que puedes evaluar la condición y cantidad de levadura a simple vista. Por ejemplo, si extraes el barro de levadura y está muy líquido, no sabrás cuánta levadura utilizarás en el siguiente batch sin contar bajo el microscopio. Al usar un recipiente de plástico transparente o translúcido para almacenar la levadura, puedes ver la cantidad de levadura que se sedimenta e inocular en consecuencia. Por supuesto, cuando uses cubos de plástico con tapas que sellen, tendrás que ventilar como lo harías al usar barriles.

Para el cervecer casero, los contenedores más pequeños de polipropileno de boca ancha de medio litro, 1 y 2 litros tienen la ventaja de que son baratos y el cervecer puede esterilizarlos en una autoclave. Muchos cerveceros caseros usan frascos de vidrio Mason o jarras de un galón para almacenar la levadura. Son baratos, fáciles de sanitizar, y

ver el barro en ellos es mucho más fácil que a través del plástico. Sin embargo, el gran inconveniente del vidrio es que es tan fácil de romper; bajo presión, puede ser francamente peligroso. Si usas cualquier recipiente con una tapa roscada, deje la tapa suelta. Engancha solo las primeras dos vueltas de rosca, lo que permite que cualquier presión escape fácilmente, pero es lo suficientemente segura para que la tapa no se caiga. En todos los casos puedes obtener protección adicional cubriendo la parte superior del contenedor con un trozo de papel de aluminio. Independientemente del tipo de contenedor que uses, rotúlalo como un

contenedor “solo de levadura”. Usa un recipiente separado para cada cepa y etiquétalos con claridad. Guarda la levadura en un área limpia y refrigerada. Si puedes, evita usar la alacena de alimentos o el refrigerador de la familia. Parece que cada cocinero, cantinero o familiar curioso abrirá cualquier recipiente que diga “NO ABRIR”. Un refrigerador dedicado, incluso uno usado, es una buena inversión. Un paso importante que muchos cerveceros se saltean es la documentación. Documenta todo y mantén buenos registros. Debes prestar especial atención a las temperaturas de la fermentación, los tiempos, los patrones de floculación y la atenuación de cerveza en cerveza, y mantener esa información junto con la levadura recolectada. No olvides registrar datos como las cualidades sensoriales de la cerveza, la fuente de la levadura, el número de generaciones, las temperaturas de almacenamiento, el tiempo de almacenamiento, etc. Confía en nosotros; olvidarás qué levadura es y cuándo la recolectaste, y mucho menos si la cerveza se atenuó adecuadamente.

Vida Útil

Todo cervecer preguntará: “¿Cuánto tiempo puedo almacenar mi levadura antes de que se haya pasado demasiado para volver a usarla?” Eso depende de muchos factores. A menudo, los cerveceros preguntan: “recolecté esta levadura X semanas atrás de nuestra pale ale, ¿está bien reutilizarla hoy?”. Realmente necesitas poder responder una serie de preguntas antes de adivinar la condición de levadura:

- ¿Cuál era la condición de la levadura en el momento de la recolección?
- ¿Fue recolectada de la parte superior o del fondo?
- ¿Qué cerveza fermentó previamente?
- ¿Qué tipo de cepa es?
- ¿Cuáles fueron las condiciones de almacenamiento?

La realidad es que no hay forma de conocer la condición real de la levadura y su capacidad de fermentar otra cerveza sin probar la viabilidad, el recuento de células y la pureza. (Consulta “Tu Propio Laboratorio de Levadura Hecho Fácil” para obtener detalles sobre cómo realizar estas pruebas). Ciertamente, en un entorno comercial donde están en juego miles de dólares, vale la pena probar cada inoculación para verificar su viabilidad y pureza antes de volver a usarla. Un cervecer casero puede asumir un mayor riesgo, ya que la pérdida de un batch de cerveza no tiene un precio tan alto, aunque el precio emocional puede ser alto. Cuanto más tiempo un cervecer almacena un inóculo de levadura, mayor es la importancia de probar primero la levadura para asegurarse de que sea saludable y esté lo suficientemente activa para la fermentación. La viabilidad de la levadura y la salud

disminuyen en el almacenamiento, y cuanto más tiempo se almacena la levadura, menor es la viabilidad y la salud del inóculo. Al mismo tiempo, cualquier bacteria presente tiene la oportunidad de crecer, especialmente en condiciones de almacenamiento cálido. Muchos otros factores afectan la viabilidad de un inóculo de levadura. Por ejemplo, los altos niveles de ácidos alfa isomerizados afectan la viabilidad. A muchos cerveceros les gusta afirmar que el alto amargor del lúpulo protege una cerveza del deterioro bacteriano. Eso es cierto hasta cierto punto. La acción de recubrimiento de compuestos de lúpulo en las membranas celulares inhibe la replicación de algunas bacterias. Sin embargo, lo mismo es cierto con la levadura. La levadura recolectada de cervezas altamente amargas tendrá niveles de viabilidad más bajos.

El alcohol también puede plantear un problema para la levadura. El alcohol es tóxico para la levadura, y cuanto mayor sea el nivel de alcohol en una cerveza, mayor será el impacto sobre la salud y la felicidad de la levadura. Todas estas condiciones de la cerveza afectan

la salud posterior de la levadura recolectada, pero aún más importante es el tiempo entre la reinoculación y las condiciones de almacenamiento. No importa qué tan saludable sea tu levadura recolectada, puedes conducirla rápidamente a un estado inutilizable con manejo y almacenamiento inadecuados. Los cerveceros a menudo preguntan: “¿cuál es el mejor medio de almacenamiento para la levadura?” Depende de muchos factores. Si vas a reutilizar la levadura rápidamente, y el contenido de alcohol de la cerveza con la que está mezclada es de aproximadamente 5 a 6 por ciento por volumen o menos, entonces ese es el mejor medio de almacenamiento. Si la cerveza es alta en alcohol, entonces es mejor sacar la levadura del alcohol. Algunos sugieren usar mosto fresco, mientras que otros sugieren agua destilada estéril. El problema con el uso del mosto es que también está proporcionando alimentos para cualquier bacteria presente, y es mejor que la levadura esté inactiva durante el almacenamiento a que esté activa. Almacena la levadura recolectada en frío, en el rango de los 1° a 2° C (33° a 36°F), e idealmente reutilízala dentro de uno a tres días. La mayoría de los cerveceros a pequeña escala no siguen esta regla, especialmente si necesitan administrar múltiples variedades para múltiples productos. En la práctica, cuando se comienza con una levadura razonablemente saludable, una semana de almacenamiento es aceptable para todas las cepas de levadura, y muchas cepas son todavía lo suficientemente viables para el reinoculado directo después de dos semanas de almacenamiento. Todo se vuelve un poco dudoso después de ese punto, con algunas cepas que mantienen la viabilidad más tiempo que otras. En general, las cepas limpias ale lo hacen bastante bien, al igual que las levaduras lagers, las cepas afrutadas y altamente floculantes son un poco menos estables, y lo peor parecen ser las cepas weizen alemanas.

Después de cuatro semanas, la viabilidad de la levadura suele ser del 50 por ciento o menos. Idealmente, no deseas inocular levadura que haya caído por debajo del 90 por ciento de viabilidad.

Vida Útil de la Levadura Seca

La levadura seca solo está latente, no está muerta o inerte. Almacenar levadura seca a temperaturas de refrigeración aumenta su vida útil. Almacenada a 24° C (75° F), la levadura seca pierde aproximadamente el 20 por ciento de su viabilidad por año. Almacenado bajo temperaturas típicas de refrigeración de 3° C (38° F), solo pierde alrededor del 4 por ciento de su viabilidad por año. Cerca del final de la fermentación, la levadura intenta crear una reserva de glucógeno, para llevarla a través de los tiempos lentos que se avecinan y usarla como energía para la futura replicación y fermentación. Cuando la levadura se almacena, lentamente consumen sus reservas de glucógeno para mantenerse con vida. La privación de glucógeno debilita sus paredes celulares y las hace más susceptibles a la ruptura. Las temperaturas de almacenamiento en frío retrasan este proceso, y un beneficio adicional es que también retarda el crecimiento bacteriano. Sin embargo, debes evitar la congelación de la levadura, ya que los cristales de hielo romperán las paredes celulares. Las células rotas liberan sus contenidos en el barro, proporcionando nutrientes para que las bacterias se multipliquen. Es inevitable que se rompan algunas células, por lo que su recolección de barro de levadura y tu método de almacenamiento deben estar lo más libres de contaminación posible. Para estar seguro de que un inóculo de levadura es aceptable, debes probar la viabilidad, vitalidad y posible contaminación de la levadura después del almacenamiento y antes de su uso. No importa qué, lo mejor es sea fresca. La levadura reinoculada el mismo día en que se recolectó es el objetivo. Debes almacenar la levadura entre 1° a 2° C (33° y 36° F) y usarla dentro de los siete días. Considera 14 días el máximo tiempo de almacenamiento, descartando cualquier barro más viejo.

Reutilización de la Levadura

Los cerveceros siempre han reutilizado (reinoculado) la levadura, mucho antes de que supieran que la levadura era responsable de la producción de la cerveza. De hecho, la continua reutilización de la levadura por parte de los cerveceros finalmente condujo a la impresionante variedad genética de cepas cerveceras, y a su idoneidad para la elaboración de cerveza. Con una cuidadosa atención a la recolección y la reutilización, un cervecer debe obtener al menos cinco a diez

generaciones de levadura de alta calidad de cada cultivo inicial. La clave para reutilizar la levadura con éxito es recolectarla en la etapa óptima para esa cepa e inocular un conteo de células consistente o peso celular húmedo. La consistencia ayuda a identificar problemas antes de que se vuelvan significativos. Cuando se elabora cerveza, la fermentación de primera generación con levadura extraída del laboratorio generalmente toma de uno a tres días más para completarse que una reinoculación de levadura saludable. El nuevo cultivo de laboratorio tiene que adaptarse a un nuevo entorno. El cambio de un cultivo de laboratorio a un cultivo de fermentación de cervecería toma un par de generaciones. La mayoría de los cerveceros informan que la levadura “se asienta” y funciona mejor en la tercera generación. Una razón clave para esto es que cuando se reutiliza la levadura, generalmente se hace con más células, produciendo una fase de latencia más corta y una fermentación general más rápida. El cultivo de laboratorio a menudo tiene menos células, pero la viabilidad y la vitalidad tienden a ser mucho mayor. Los cerveceros responden con más células debido a dos problemas. El primero es que la levadura recolectada y almacenada a menudo tiene una viabilidad menor que un cultivo de laboratorio, especialmente si el cervecero recolecta del fondo su levadura. El segundo problema posible es la contaminación, ya que la levadura recolectada rara vez es tan limpia como un cultivo de laboratorio. Dado que las condiciones estériles rara vez existen en una cervecería, el inóculo puede aumentar en el recuento de levaduras bacterianas y salvajes con cada inóculo posterior. Al inocular un recuento de células más alto, la fermentación procede más rápido, pero también afecta el sabor. Las cervecerías grandes a menudo mezclan la cerveza de primera generación con otros batches para mantener los sabores consistentes, pero la mayoría de las cervecerías más pequeñas encuentran que las diferencias de sabor con las cervezas de la primera generación están dentro de las tolerancias generales. Los cerveceros reutilizan la levadura no solo para ahorrar dinero o tiempo, sino también para crear mejores y más interesantes bebidas alcohólicas. Muchos académicos dicen que la gente comenzó a reutilizar la levadura en el siglo XII, pero parece poco probable que la gente hiciera cerveza durante 7,000 años sin reutilizar la levadura; tal vez fue solo que nadie lo documentó. La singularidad de la levadura cervecera actual indica una práctica mucho más antigua de reutilización de la levadura. ¿Cuánto tiempo lleva domesticar la levadura salvaje en la levadura de cerveza? Debe haberle llevado miles de años reinoculando. Michael Lewis, profesor de elaboración de cerveza en la Universidad de California en Davis, dijo una vez que pensaba que sería una tesis interesante para un estudiante determinar cuánto tiempo lleva domesticar la levadura de cerveza. (Conversación personal con Chris White.) Si tuvieras que comenzar con la levadura recolectada de una planta en tu jardín, ¿cuántas generaciones tardarían esas levaduras salvajes en adoptar las características de la

levadura de cerveza de hoy en día? Quizás lo descubramos algún día si alguien toma a Lewis en su sugerencia de tesis, pero por ahora, debemos hacer una conjetura. Parece razonable creer que las civilizaciones anteriores descubrieron que algunas de las mejores cervezas vienen durante la segunda y tercera generación de levadura, porque la levadura ha pasado por un proceso de selección natural donde las células más fuertes sobreviven. En aquel entonces, la primera cerveza decente que elaboró un cervecero fue probablemente cuando descubrió que podía reiniciar la fermentación al reutilizar un poco de la cerveza de su último batch, a pesar de que no tenía ningún concepto de levadura viva. Entonces ¿cuántas veces puede un cervecero reutilizar un inóculo de levadura? La vida de un cultivo de levadura depende en parte de las condiciones de elaboración y de la cepa involucrada. Por ejemplo, un cervecero que usa los fermentadores de hoy en día puede reutilizar cepas ale de ocho a diez veces, mientras que las lagers pasan de tres a cuatro generaciones. Los tanques altos de acero inoxidable con fondos cónicos facilitan la recolección de levadura, pero ejercen presión sobre la levadura, reduciendo la cantidad efectiva de reutilizaciones. Hoy en día, aunque no usemos levadura durante cientos de generaciones debido a los equipos modernos, todavía queremos obtener la mejor cerveza posible mediante la reutilización de la levadura. Mientras que muchos cerveceros encuentran que en la tercera generación su levadura está en su mejor momento, algunos pueden encontrar que su levadura deja de funcionar. A menudo, el problema es con técnicas inadecuadas de recolección o almacenamiento. Eso no quiere decir que la levadura en sí misma no pueda ser un problema. Si el cultivo de levadura no fue saludable o inestable a partir de las propagaciones del laboratorio, puede mostrar problemas más adelante en la fermentación. Esta es la razón por la cual los laboratorios deben tener cuidado al hacer la propagación de la levadura. Deben prestar atención estricta a la selección, las condiciones de crecimiento, el tiempo de propagación y la pureza después de la propagación. Cuando un laboratorio no respeta las necesidades de la levadura, la fermentación puede continuar normalmente en la primera generación, pero presentará problemas un par de generaciones más tarde. Las levaduras funcionan bien durante generaciones, pero los defectos o la debilidad potencial en los procedimientos de manipulación de levadura de una cervecería también pueden aparecer después de unas pocas fermentaciones. No hay solo un conjunto de mejores prácticas, y la mayoría de los cerveceros están haciendo un buen trabajo, de lo contrario, más cervecerías tendrían problemas mucho más frecuentes y graves. Aun así, los problemas de levadura después de varias generaciones a menudo se deben a algo bajo el control del cervecero, como el tiempo de almacenamiento, las condiciones de almacenamiento o las técnicas de recolección. Los cerveceros caseros también pueden reutilizar la levadura con

excelentes resultados, y para algunos estilos de cerveza, la reinoculación es la única manera de fermentarlos adecuadamente. Muchos cerveceros caseros entran en la reutilización de la levadura no para ahorrar dinero, sino más bien porque la reinoculación y la fermentación adecuada pueden marcar la diferencia entre la buena cerveza y la excelente cerveza. Por supuesto, si no le prestas atención estricta a los fundamentos de sanitización, recolección, tiempo de almacenamiento y tasas de inoculación, es probable que la reutilización de levadura termine en fracaso, aunque sea exitosa. El lugar donde la gran mayoría de los cerveceros caseros principiantes se equivoca es la falta de sanitización. Creen que su técnica es perfecta, pero la realidad es muy corta. En muchos casos, la diferencia entre una cerveza casera mala y una buena es solo sanitización. (Esto también se aplica a muchas cervecerías artesanales de

nueva creación).

No culpes a tu levadura, equipo o receta si el problema es su sanitización. Incluso si piensas que la sanitización no es la culpable, comienza revisando tus procedimientos de sanitización y presta estricta atención a los detalles. La técnica de recolección es otra área problemática para muchos cerveceros caseros. Recolectar la levadura demasiado temprano, recolectar solo la levadura altamente floculante es un error común. Otros cerveceros caseros descartan la mayor parte de la levadura en un “trasvase al secundario” y luego solo recolectan la levadura menos floculante y más atenuativa. El resultado es un cultivo que en la próxima reutilización no floculará en absoluto. Piensa en la presión selectiva que estás introduciendo cuando recolectas levadura para reutilizarla. (Consulta “Recolección de levadura”). El tiempo de almacenamiento también es crítico y un área común para que los cerveceros caseros tropiecen. Es muy fácil demorar la elaboración de la cerveza durante una semana o dos cuando no se elabora para ganarse la vida. Recuerda que las levaduras son organismos vivos. Dejarlas morir de hambre durante un mes o más no es la mejor manera de tratarlas. Si deseas reutilizar la levadura, oblígatela a elaborar nuevamente dentro de las dos semanas, si no antes. Tu levadura y tu cerveza lo apreciarán. Varios cerveceros caseros han adoptado la práctica de trasvasar la cerveza de un fermentador al final de la fermentación y luego agregar un nuevo batch de mosto encima de la torta de levadura. Esta es una mala práctica. ¿Puede esta práctica hacer una buena cerveza? Absolutamente. ¿Hará la mejor cerveza posible? Absolutamente no. La levadura al final de la fermentación no es solo levadura saludable. Hay muchas células muertas presentes, así como también todo el material del turbio y restos de lúpulo del mosto anterior. Debes recolectar la levadura, observar la población, eliminar las células muertas y el material sin levadura enjuagando, y luego reutilizar solo la cantidad adecuada de células en el siguiente batch. No seas haragán. Siempre limpia y sanitiza tu fermentador entre batches, y siempre asegúrate de inocular la cantidad correcta de células para la cerveza que estás elaborando. El crecimiento de

la levadura es importante para el sabor de la cerveza, y el exceso de inoculación (especialmente con trub excesivo) puede tener un efecto negativo. Lo ideal es que solo reutilice levaduras que sean viables en más del 90 por ciento, pero la mayoría de los cerveceros simplemente compensan una menor viabilidad al usar más barro. Esto puede ser exitoso, pero también puede conducir a fermentaciones problemáticas. La salud general de la levadura puede ser baja, por lo que es posible que el barro no produzca el rango esperado de compuestos de sabor y aroma y que no se atenúe correctamente independientemente de la cantidad de levadura que agregues. Para verificarla viabilidad, un cervecer necesita un microscopio, pero incluso sin uno, al menos puede realizar una prueba rápida y fácil. Comenzando el día anterior a la elaboración, agrega 10 mililitros de barro espeso de levadura a 1 litro de mosto. Presta atención al inicio de la fermentación; está comprobando que la fermentación comienza con un tiempo de demora normal para esa cepa (de 4 a 12 horas). Si el tiempo de demora es más largo de lo que has visto en fermentaciones previas con esa cepa en tu cervecería, puedes intentar compensarlo usando más levadura. Por supuesto, el uso de este enfoque también afectará el carácter de la fermentación. La reutilización de un cultivo de baja viabilidad agrega un número significativo de células de levadura muertas o moribundas, que pueden afectar el carácter de la cerveza. Si la prueba muestra un tiempo de demora muy largo (más de 24 horas), es mejor re cultivar que tratar de agregar suficiente levadura para compensar. Siempre debes tener levadura extra, no usada y saludable a mano en caso de que tengas un problema con la levadura que deseas usar. Otra buena práctica es monitorear el pH de tus barros de levadura almacenados. Si has medido un aumento de más de 1.0 pH desde la recolección de la levadura, indica una muerte celular significativa, y debes descartar el barro. Para evaluar si hay contaminación, debes colocar el barro espesa en medios especializados de tres a cinco días antes de la elaboración. Debes verificar el barro de bacterias aeróbicas, bacterias anaeróbicas y levadura salvaje. De las tres, las bacterias anaeróbicas son las más difíciles de erradicar para un cervecer. Las bacterias anaeróbicas más comunes son las bacterias del ácido láctico *Lactobacillus* y *Pediococcus*. Si los recuentos de bacterias son superiores a 1 por mililitro, y la levadura salvaje es más de 1 por 0.1 mililitros, no se debe elaborar con ese cultivo de levadura. Cubrimos los procedimientos para estas pruebas en “Garantía de calidad de levadura y cerveza”. Si has almacenado la levadura durante dos semanas o más, pero aún resulta limpia, es posible que debas considerar la revitalización de la levadura antes de usarla. Ve la sección sobre “Revitalización” para más detalles.

Viabilidad y Vitalidad

¿Cómo miden los cerveceros la calidad de la levadura? Los cerveceros usan dos términos para discutir la salud de la levadura: viabilidad y vitalidad. Usamos el término viabilidad para referirnos a que la levadura está viva o muerta, y la expresamos como

un porcentaje de células vivas dentro de la población. Si cada célula en un cultivo de levadura está viva, llamamos a eso una viabilidad del 100 por ciento. Si la mitad de la levadura en un cultivo está viva, ese cultivo es solo 50 por ciento viable. Anteriormente mencionamos que, debido a consideraciones de sabor, no debes reutilizar la levadura a menos que la viabilidad sea del 90 por ciento o superior. Es importante señalar que algunos métodos para probar la viabilidad son inexactos cuando la viabilidad es inferior al 90 por ciento, por lo que la viabilidad real de un cultivo anterior puede ser cuestionable. ¿Qué nos dice la viabilidad sobre la condición de las células de levadura en una población? ¿Nos dice si la levadura está sana o no? No, solo nos dice si la levadura está muerta o viva. Si queremos saber la condición de la levadura llamamos a eso vitalidad. La vitalidad es una medida de la actividad metabólica de la levadura. Si un cultivo de levadura es muy saludable, fuerte y listo para la fermentación, llamamos a eso alta vitalidad. Si las células son viejas, están cansadas, mueren de hambre y no son capaces de una buena fermentación, llamamos a eso baja vitalidad. La vitalidad se correlaciona con el rendimiento de la fermentación. Desea levadura de alta vitalidad para la fermentación. Si bien puedes superar la viabilidad menos que ideal con un aumento en la cantidad de levadura, no puedes superar la baja viabilidad con más células. Antes de usar células de baja vitalidad, debes hacer un esfuerzo para devolverlas a un estado saludable.

Los métodos para evaluar la viabilidad celular y la vitalidad se centran alrededor de tres principios generales: pérdida de la capacidad de replicación, pérdida de la actividad metabólica y daño celular. Cubriremos los procedimientos para acceder a la viabilidad y la vitalidad en “Tu Propio Laboratorio de Levadura Hecho Fácil”, pero es importante introducir el concepto aquí porque debes tener en cuenta la salud de la levadura al volver a inocularla. Dependiendo del nivel de salud de la levadura, es posible que necesites inocular más levadura al comienzo de la fermentación, oxigenar más, o quizás realizar un starter o propagación para revitalizar las células.

Figura 5.13:

Viabilidad	Vitalidad
Azul de metileno	Poder ácido
Azul de metileno alcalino	pH intracelular
Citrato azul de metileno	Prueba de fermentación
Conteo de placas, Unidades formadoras de colonias (CFUs)	Azul de metileno alcalino
Capacidad	Liberación de magnesio
Manchas fluorescentes	Manchas fluorescentes

Métodos de viabilidad y pruebas de vitalidad.

Desafiar las células de levadura con tintes vitales es el estándar para las pruebas de viabilidad. El teñido de tinte vital comprueba la integridad de la pared celular, así como la capacidad de la célula para reducir o extruir el tinte y permanecer incolora. El estándar para evaluar la viabilidad de la levadura desde la década de 1920 ha sido la tinción con azul de metileno. Sin embargo, los investigadores cuestionan si este es el mejor método, dada su mala reproducibilidad e inexactitud con viabilidades por debajo del 90 por ciento. Algunos investigadores han introducido otros tintes, como el violeta de metileno, como una alternativa de tinción mejorada, mientras que otros han explorado la modificación del método del azul de metileno agregando citrato para mejorar la precisión. Puede haber instancias en las que midas una viabilidad de más del 90 por ciento en tu inóculo, pero aun así te encuentras con una fermentación que lentamente se arrastra. ¿Cómo es eso posible? Es muy posible que una inoculación mida alta viabilidad solo para tener una fermentación débil. No olvides que la levadura puede tener una alta viabilidad, pero aun así tener una baja vitalidad si la condición fisiológica (vitalidad) de la levadura es pobre, lo más probable es que tenga una fermentación deficiente. Desafortunadamente, la mayoría de las pruebas de vitalidad siguen siendo costosas, lentas, controvertidas y no fáciles de usar. Un método crudo para determinar si un inóculo de levadura es viable es inocular una porción (a la tasa de inoculación apropiada) en una fermentación de prueba del tamaño de

laboratorio. Si la fermentación comienza dentro del tiempo esperado, entonces es muy probable que la levadura tenga la vitalidad suficiente para usarse en un batch de cerveza.

Revitalización

Si las pruebas revelan que tu levadura tiene poca vitalidad después del almacenamiento, puedes revitalizarla con mosto fresco. En general, no recomendamos revitalizar la levadura agotada por malas condiciones de almacenamiento o almacenamiento a largo plazo. Una cervecería comercial siempre debe obtener un cultivo fresco de alta vitalidad. Ciertamente, un cervecero casero tiene un poco más de libertad si está dispuesto a aceptar resultados menos que ideales. Para revitalizar un cultivo de levadura:

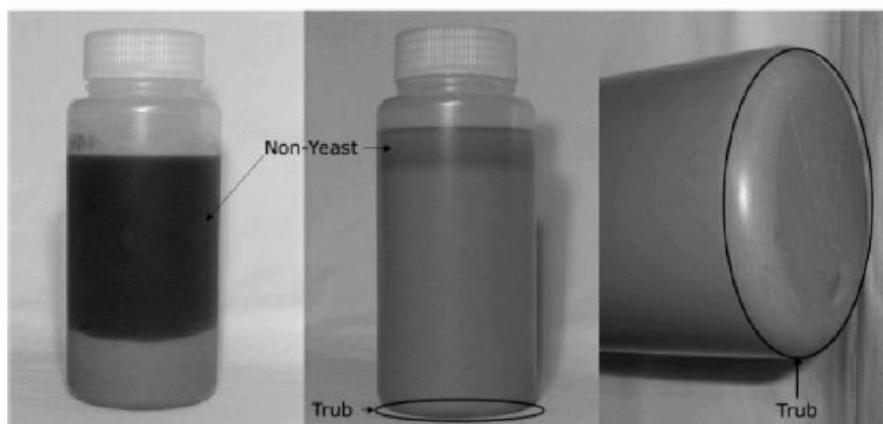
1. Puede comenzar este proceso la mañana del día de elaboración. Primero, determina la cantidad de levadura que necesitas para inocular y colócala en un recipiente adecuado, como un recipiente inoxidable.
2. Deja que la temperatura de la levadura suba de 21° a 24° C (70° a 75° F). Si necesitas aplicar calor, evita aplicar temperaturas altas o desiguales.
3. Asépticamente agrega mosto estéril (o tan cerca de estéril como sea posible), de alta densidad (1.080 SG, 20° P) a una tasa de 0.50 mililitros por cada 10 mililitros de volumen de barro de levadura. Por ejemplo, agregarías 10 mililitros de mosto a 200 mililitros de barro de levadura.
4. Mantén a una temperatura de 21° a 24° C (70° a 75° F) durante 4 a 12 horas sin aireación ni agitación.
5. La levadura viva activa debe convertir el mosto en barro. Las células muertas y otras materias no minerales deben descender al fondo del contenedor. Decanta la porción barrosa activa en tu mosto, dejando atrás las células que se hundieron hasta el fondo.

Enjuague

La pregunta que muchos cerveceros caseros se hacen es, “¿Cómo selecciono solo la mejor levadura si recolecto todo el contenido del fermentador?” La respuesta está en el enjuague de la levadura. Si bien no puedes reemplazar por completo la selección de la levadura ideal con una pala, puedes ayudar a separar el trub, las células muertas y el alcohol de tu inóculo. El enjuague también puede valer la pena en entornos comerciales, especialmente para la levadura recolectada de una

cerveza de alta densidad. La levadura no se almacena bien en un ambiente con alto contenido de alcohol. Si bien en general no deseas reutilizarla levadura de cervezas de alta densidad (por encima de 1.070), algunas cervecerías belgas y pequeñas cervecerías comerciales no tienen otra opción, ¡porque eso es todo lo que hacen!

Figura 5.14:



Enjuague de levadura con un inóculo de levadura relativamente limpio. Comenzando con un barro recolectado que se ha sedimentado (izquierda), decanta la cerveza, agrega agua estéril, agita vigorosamente y deja reposar de 10 a 15 minutos. Una capa de material no mineral se forma en la parte superior y debajo una gran capa de levadura limpia (en el medio). En la parte inferior, se establece una capa de células muertas, restos de lúpulo y otros trubs (derecha). Decanta la capa superior e inocula la capa intermedia en tu mosto. Una vez que hayas recolectado la levadura, colócala en un recipiente estéril o sanitizada lo suficientemente grande para los sólidos de la levadura más al menos cuatro veces más agua estéril. Los contenedores más altos y más estrechos permiten una mejor separación. Cuanto mayor es la proporción de sólidos de levadura y agua, más fácil es separar la levadura. Agrega agua fría y estéril a los sólidos de la levadura, pero retén alrededor del 10 por ciento del espacio libre en el recipiente. Este espacio superior ayuda a romper los flóculos de levadura y a mezclar la levadura con el agua. Sella el contenedor y agita vigorosamente. La idea es romper los flóculos. Después de unos minutos de agitación, deja el recipiente y deja que la levadura y los sólidos se asienten. En cuestión de minutos verás una pequeña capa de células muertas, levadura marrón y restos de lúpulo en el fondo. La capa superior debe ser la más grande, con una capa cremosa de levadura y agua. Si esperas más tiempo, una capa comienza a formarse en la parte superior que es principalmente agua con la más ligera de células, proteínas y otras materias. Una vez que veas algo de estratificación, generalmente en 10 minutos, desechar la capa superior acuosa,

vierte la capa intermedia de buena levadura en otro recipiente estéril o sanitizado y desecha la capa inferior. Si encuentras que la levadura todavía parece tener cantidades excesivas de trubs, puedes repetir este proceso tantas veces como lo necesites. Sin embargo, evita sobrecargar tu levadura sin razón. Cuanto mayor sea el número de trasvases, mayor será el contacto con más contenedores, mayor será la exposición a los contaminantes en el aire, más bacterias y levaduras salvajes que estés agregando a tu inóculo.

Lavado

El lavado es muy diferente del enjuague. En el enjuague de la levadura, estás utilizando la dilución de un barro para estimular una mejor estratificación del trub y la levadura, lo que le permite separar los dos. En el lavado de la levadura, estás usando la acidificación u otros medios químicos para reducir la cantidad de bacterias activas, dañar demasiadas células de levadura. El lavado con ácido tiene diferentes efectos sobre diferentes cepas de levadura y reduce el rendimiento y la viabilidad de la levadura. Recomendamos reiniciar desde un nuevo cultivo cuando te enfrentas con un inóculo contaminado. El lavado ácido no elimina completamente las bacterias. No es una solución completa, y no debes confiar en ella para limpiar un inóculo contaminado. Consideralo solo como una medida preventiva contra pequeñas cantidades de bacterias. A menudo es menos efectivo contra las bacterias del ácido láctico e ineficaz contra la levadura salvaje y el moho. Después de una o dos reinoculaciones, la cantidad de bacterias puede volver a alcanzar niveles que afectan el sabor. Estos son los pasos para el lavado con ácido:

1. Pon la levadura a 2° a 4° C (36° a 40° F) y mantén esa temperatura durante todo el proceso.
2. Determina la cantidad de levadura que necesitas para la fermentación y colócalo en un recipiente adecuado, como un recipiente inoxidable. Comienza el procedimiento de lavado con ácido 120 minutos antes del momento en que inocularás la levadura.
3. Agrega ácido fosfórico de grado alimenticio, mezclándolo bien, hasta que el pH del barro esté entre 2.0 y 2.5 pH. Deberás mantener la levadura a este pH durante 60 a 90 minutos, revolviendo continuamente.
4. Agrega la mezcla completa al fermentador. Deberás alimentar la levadura con mosto lo antes posible. Agrega levadura fría al mosto caliente puede provocar un choque de temperatura, pero es importante que mantengas frío el ácido o dañarás la levadura.

El lavado ácido adecuado en sí ya causa daños a la levadura, pero dejar que la temperatura aumente amplía el impacto en las células. El lavado ácido ha existido por bastante tiempo, pero una alternativa más nueva y más efectiva es el lavado con dióxido de cloro. La mayoría de las cervecerías usan DIOXY Chlor de BIRKO o Star-Xene de Five Star. Algunas tiendas de cervecería casera han comenzado a llevar tabletas de dióxido de cloro, que son una forma conveniente para los cerveceros caseros. Independientemente del producto que uses, debes seguir las instrucciones del fabricante para el lavado de la levadura. Aquí hay una descripción general:

1. De nuevo, trabajando a una temperatura de 2° a 4° C (36° a 40° F), acidifica el agua a pH 3 usando un ácido de calidad alimenticia.
2. Agrega DIOXYChlor o Star-Xene al agua acidificada. Estás buscando una concentración de 20 a 50 ppm de clorito de sodio una vez mezclado con el barro de levadura que estás tratando.
3. Después de 15 minutos, agrega al barro de levadura que planeas inocular, mezclando bien.
4. Deja reposar por un mínimo de 30 minutos.
5. Agrega la mezcla completa al fermentador.

Transporte de la Levadura

Para la mayoría de los cerveceros, un factor crítico en el que rara vez piensan es “¿qué ocurre con tu levadura entre el laboratorio y la cervecería?” Obviamente, la levadura está viva y sana cuando sale del laboratorio, pero comienza a deteriorarse y muere en el transporte. El transporte lleva tiempo, y a veces suceden retrasos, lo que nunca es bueno para un cultivo vivo. La temperatura también es un factor en el transporte, con temperaturas calientes que aceleran el proceso metabólico de la levadura y temperaturas muy bajas que posiblemente congelen las células. Todo esto hace que llevarla levadura a las instalaciones de producción de cerveza sea fundamental para las cervecerías de todos los tamaños, independientemente de si la levadura proviene de su propio laboratorio o de un tercero. Las grandes cervecerías abordan estos problemas de varias maneras. Anheuser-Busch, por ejemplo, almacena y cultiva toda su levadura en un solo lugar, en parte por razones de seguridad, y envía la levadura líquida a fábricas satelitales de todo el mundo. Otras cervecerías grandes propagan la levadura en múltiples instalaciones, por lo que el transporte es un problema menor, pero crea el potencial para variar la calidad de la levadura de un lugar a otro. Los laboratorios de propagación de levadura

envían levadura a clientes múltiples y variados en todo el mundo, haciendo que el transporte no sea solo un aspecto crítico de los negocios sino también un dolor de cabeza increíble, a veces. El éxito en el transporte de la levadura depende de varios factores, incluida la velocidad de entrega, el cruce de las fronteras internacionales, las regulaciones del estado y/o nación, y la tasa de desgaste de la levadura, que depende de la cepa y la salud inicial de la levadura. Si necesita enviar levadura, existen medidas que puedes tomar para garantizar tus posibilidades de transporte exitoso. Comienza con la levadura más saludable posible. La levadura con mayores reservas de glucógeno usará ese glucógeno para ayudar a resistir los rigores del envío. Dejar la levadura en el paso de propagación o la fermentación durante ocho a 12 horas adicionales después de alcanzar la densidad final permitirá que la levadura reconstruya sus reservas de glucógeno. Intenta enviar la menor cantidad posible de células y haz que el destino cultive la levadura. Cuantas menos células envíes, más barato será el embalaje y el envío. Las pendientes o placas de envío pueden ser exitosas, ya que la levadura tiene un suministro de alimentos listo para ayudarla durante el viaje, y el peso total es mínimo y no es probable que tenga fugas. Aísla completamente tus envíos contra las fluctuaciones de temperatura. En cualquier cosa que no sea clima frío, agrega suficientes paquetes de hielo para congelador o paquetes fríos químicos para mantener una temperatura tan baja durante el envío como sea posible. Lo mejor es evitar el uso de hielo seco, ya que congelará la levadura. Como te puedes imaginar, mantener una gran cantidad de barro en frío puede ser problemático. La masa térmica más grande ayuda a que el barro se mantenga frío, pero las densas concentraciones de levadura rápidamente aumentan el calor interno. La temperatura es un problema tan grande con el envío de levadura que es posible que debas adjuntar un indicador tiempo-temperatura o un indicador de congelación al recipiente de levadura. Puede decirte qué tipo de temperaturas experimentó el cultivo en su tránsito. Los indicadores de tiempo-temperatura muestran cuánto tiempo estuvo a una temperatura más alta que el punto de control. Los indicadores de congelación muestran bajas temperaturas durante un período de tiempo determinado, por lo que puedes ver si fue suficiente para congelar la levadura o no. El valor de estos indicadores, de uno o dos dólares cada uno, es que te informarán si el cultivo es cuestionable antes de perder un batch de mosto. Si tienes una lectura positiva, debes validar la salud y la viabilidad del cultivo antes de su uso. Recomendamos empacar todos los cultivos de levadura en contenedores no rompibles. Preferimos el plástico, ya que el acero inoxidable puede abollarse, gotear y es pesado para enviar. Asegura la abertura del contenedor para su transporte y

hielo para congelador o paquetes fríos químicos para mantener una temperatura tan baja durante el envío como sea posible. Lo mejor es evitar el uso de hielo seco, ya que congelará la levadura. Como te puedes imaginar, mantener una gran cantidad de barro en frío puede ser problemático. La masa térmica más grande ayuda a que el barro se mantenga frío, pero las densas concentraciones de levadura rápidamente aumentan el calor interno. La temperatura es un problema tan grande con el envío de levadura que es posible que debas adjuntar un indicador tiempo-temperatura o un indicador de congelación al recipiente de levadura. Puede decirte qué tipo de temperaturas experimentó el cultivo en su tránsito. Los indicadores de tiempo-temperatura muestran cuánto tiempo estuvo a una temperatura más alta que el punto de control. Los indicadores de congelación muestran bajas temperaturas durante un período de tiempo determinado, por lo que puedes ver si fue suficiente para congelar la levadura o no. El valor de estos indicadores, de uno o dos dólares cada uno, es que te informarán si el cultivo es cuestionable antes de perder un batch de mosto. Si tienes una lectura positiva, debes validar la salud y la viabilidad del cultivo antes de su uso. Recomendamos empacar todos los cultivos de levadura en contenedores no rompibles. Preferimos el plástico, ya que el acero inoxidable puede abollarse, gotear y es pesado para enviar. Asegura la abertura del contenedor para su transporte y

colócalo dentro de una bolsa de plástico para atrapar cualquier fuga inadvertida durante el envío. Usa la forma de transporte más rápida posible. Si tu embarcador lo permite, usa calcomanías “Cultivo vivo” y “Proteger del congelamiento y el calor” en la caja. Si el plan es transportarlo a través de tu propio vehículo de forma regular, entonces valdría la pena invertir en mantenedoras de hielo termoeléctricas de “auto enfriamiento”, que funcionan con 12 voltios de potencia. Tan solo 30 minutos a temperaturas elevadas, como un automóvil estacionado al sol, pueden reducir drásticamente la viabilidad del cultivo.

Parte 6. Tu Propio Laboratorio de Levadura Hecho Fácil.

Calidad Desde el Principio

Ya sea que elabores cerveza para ti o elabores para venderla a miles de consumidores, quieres hacer la mejor cerveza posible. Cuando Sierra Nevada Brewing Company construyó su primera cervecería en 1980, no tenía mucho dinero ni sofisticados equipos de elaboración de cerveza. La cervecería solo produjo una pequeña cantidad de cerveza en el primer año, pero una cosa que no escatimaba era la calidad: tenía un laboratorio desde el principio (Grossman, 2009). Muchas cervecerías pequeñas consideran que un laboratorio es demasiado avanzado o innecesario cuando se abren. Se dicen a sí mismos que lo agregarán más tarde. ¿Pero cuándo? ¿Cuándo alcancen 3.000 barriles, 10.000 barriles, 100.000 barriles? Sierra Nevada se dio cuenta de que, si prestaba atención a la calidad desde el principio, sería una mejor cerveza. Al principio, la cervecería midió la contaminación y el consumo de oxígeno, pero lo usó como base para agregar nuevos pasos de control de calidad a medida que crecía. Sierra Nevada ahora tiene tres laboratorios y reinvierte continuamente en equipos y personal de laboratorio de alta gama. A lo largo de los años, hemos escuchado de muchas cervecerías nuevas que quieren hacer una cerveza tan buena como Sierra Nevada Pale Ale, pero rara vez tienen éxito. ¿Por qué? Una razón es que la mayoría no coincide con el estricto control de calidad practicado en Sierra Nevada. Configurar un laboratorio y desarrollar un sólido programa de control de calidad no tiene por qué ser complicado. De

hecho, algunas prácticas de laboratorio muy sencillas pueden mejorar drásticamente la calidad de tu cerveza sin que te cueste mucho tiempo o dinero.

Instalación de Tu Laboratorio

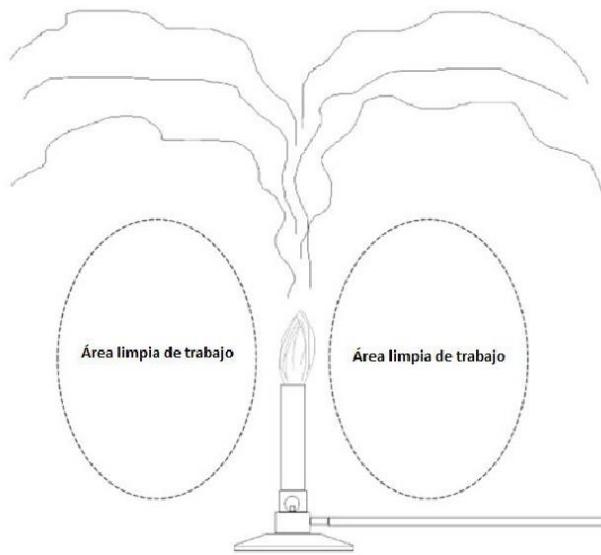
Hay dos roles principales para un laboratorio de cervecería: microbiología y análisis analítico. La microbiología en el laboratorio de cervecería se centra en el cultivo de levadura y la garantía de calidad tanto para la levadura como para la cerveza. El análisis analítico implica probar los ingredientes sin elaborar y la cerveza terminada para obtener parámetros como la frescura, los niveles de lúpulo, el color de la cerveza y más. La mayoría de las cervecerías grandes tienen su microbiología perfeccionada y concentran el espacio de laboratorio adicional y el personal en el análisis analítico. Deben asegurarse de mantener la misma consistencia de batch a batch y de envase a envase. Una vez que hayas dominado las necesidades microbiológicas de tu cervecería, la consistencia depende del análisis analítico. Las cervecerías artesanales y los cerveceros caseros tienden a centrarse más en la microbiología, porque esto tiene un mayor impacto en sus cervezas. Los consumidores pueden aceptar alguna variabilidad con la cerveza artesanal de un batch a otro, pero no defectos en la microbiología. El control sobre la microbiología puede ser más difícil cuando se elabora cerveza en restaurantes, cocinas, almacenes abiertos o en tu patio trasero.

Consideraciones Ambientales

El entorno de un laboratorio de levadura es fundamental para producir cultivos de calidad y reducir el riesgo de introducción de contaminantes. El aspecto más importante es crear un espacio con una configuración de aire limpio. Un laboratorio avanzado a menudo se configura como una “sala limpia”, está cerrada y el aire se suministra a través de unidades de filtración HEPA o ULPA que eliminan los microorganismos del aire y proporcionan una presión positiva, evitando el aire no filtrado. Las campanas de flujo laminar ofrecen una protección similar en una presentación más pequeña, proporcionando un banco de trabajo continuamente bañado en aire limpio. Cuando no puedes emplear una sala limpia o un banco de trabajo, puedes tomar medidas para mejorar el ambiente de tu laboratorio. Muchos

cerveceros artesanales y cerveceros caseros no tienen un espacio dedicado a un laboratorio. Si bien esto no es ideal, a menudo es posible encontrar una ubicación en el hogar o la cervecería y hacerlo aceptable. Tu laboratorio puede estar en casi cualquier lugar, siempre que conozcas los posibles contaminantes y puedas controlar su origen. Las corrientes de aire, los ventiladores, los armarios polvorrientos y las encimeras sucias son todas amenazas para las técnicas de cultivo puro. Todas las superficies de laboratorio deben estar lo suficientemente limpias como para comer y libres de cosas que se interpongan en el camino. No siempre es necesario que esté libre de polvo, ya que se puede limpiar el área con alcohol isopropílico al 70% antes de trabajar, pero ten cuidado, ya que también necesitarás trabajar con una llama abierta.

Figura 6.1:



La corriente ascendente de un quemador Bunsen crea un área de trabajo limpia.

Antes de sacar cualquier cultivo y comenzar a trabajar, asegúrate de haber eliminado la fuente de las corrientes de aire. Los ventiladores y el viento pueden soplar contaminantes transportados por el aire al área de trabajo. Cierra las ventanas y apaga los ventiladores de la zona, incluida la calefacción central y el aire. A pesar de que ahora has eliminado el movimiento del aire, las bacterias y las levaduras salvajes todavía están descendiendo constantemente. Para contrarrestar esto, enciende una llama, como una lámpara de alcohol o un mechero Bunsen, y trabaja cerca de la corriente ascendente que crea (Figura 6.1). Esta es una barrera económica y efectiva que empuja a las bacterias y la levadura en el aire hacia arriba y lejos de los cultivos y medios estériles. El fuego es una herramienta muy útil, ya que puede matar microorganismos al contacto. Flamear la apertura de un vaso de vidrio pasándolo a través de una llama mata a los microbios en y alrededor de la

apertura. Debes adquirir el hábito flamear tanto a la tapa como a la abertura de un recipiente inmediatamente después de abrirlo e inmediatamente antes de volver a sellarlo. Ten cuidado cuando trabajes con una llama abierta, y no exageres; unos cuantos pases rápidos a través de la llama harán el truco. Los tubos de ensayo de vidrio y los matraces Erlenmeyer a menudo están hechos de Pyrex o Bomex y soportan el calentamiento, ¡pero ten cuidado con otras partes de vidrio y plástico y sus dedos! Por supuesto, hay otras consideraciones sobre cómo abordar tu laboratorio y tu trabajo. Asegúrate de tener una iluminación adecuada, ya que gran parte del trabajo que harás será con cultivos pequeños. Mantén el cabello y la ropa alejados del trabajo y de las llamas abiertas. Una bata de laboratorio adecuada no es solo una declaración de moda. Mantén los materiales de laboratorio fuera de tu ropa y mantén el material de tu ropa fuera de la superficie de trabajo. También deberás instalarte en un área donde haya poco tráfico peatonal, vibración y ruido. Las personas que caminan por un área generan corrientes de aire, levantando el polvo de las superficies. La vibración y el ruido dificultan el trabajo. Las temperaturas excesivamente altas o bajas no solo lo hacen incómodo para trabajar, sino también pueden dificultar el trabajo con ciertos medios. Repasemos los aspectos importantes de tu espacio de laboratorio:

- Limpieza general.
- Sin flujo de aire o muy bajo.
- Mínimo tráfico peatonal, ruido y vibración.
- Usa ropa adecuada y mantén el cabello hacia atrás.
- Iluminación adecuada y temperatura ambiente.
- Limpia las superficies antes de comenzar a trabajar.
- Proporcionar un entorno libre de microbios dentro del espacio de trabajo.

Seguridad del Laboratorio

Durante la manipulación y transferencia de cultivos vivos de levadura, las técnicas de trabajo sanitizado a menudo requieren el uso de llamas y / o productos químicos. Prestar atención estricta a la seguridad no es solo para el beneficio de la levadura sino también para el individuo que trabaja en el laboratorio. La falta de atención a la seguridad en el laboratorio puede conducir rápidamente a lesiones o la muerte. Si no estás seguro de cómo trabajar de forma segura, no debes intentar el trabajo. En la cervecería y el laboratorio, comúnmente utilizamos varios productos químicos para sanitizar los contenedores y el equipo antes del trasvase de cultivos. Estos pueden incluir yodóforo, soluciones cloradas y bromadas, soluciones de ácido peracético y alcoholes (isopropanol o etanol). Por las mismas

razones que estos químicos son efectivos como desinfectantes, pueden ser peligrosos para los humanos. Es importante seguir las instrucciones de la etiqueta para utilizar estos productos químicos de manera segura y para asegurar su máxima eficacia como sanitizantes. Considera lo siguiente:

- Solo usa productos químicos debidamente etiquetados. Lee las etiquetas o las hojas de datos de seguridad del material (MSDS) para comprender los efectos sobre la salud de los sanitizantes utilizados en el laboratorio. Algunos son riesgos de inhalación; otros pueden causar efectos irritantes o corrosivos en los ojos y la piel. Asegúrate una ventilación adecuada y el uso de equipo de protección personal. Mantén copias de MSDS para todos los productos químicos.
- Lee las etiquetas para evitar mezclar productos químicos incompatibles y evitar almacenarlos en contenedores con los que no son compatibles. Si trasvasas cualquier cantidad a un contenedor secundario, asegúrate de etiquetar correctamente ese contenedor también. Esto evita la confusión y permite la separación de materiales incompatibles.
- Sigue las instrucciones del fabricante para la dilución. El uso de algunos productos químicos con toda su fuerza puede ser más peligroso, puede no aumentar la efectividad y puede aumentar los costos.
- Asegurar la eliminación adecuada de los contenedores y las soluciones de sanitización utilizadas. Estos requisitos variarán según los requisitos legales por ubicación.

El manejo de líquidos inflamables requiere algunas consideraciones especiales:

- Asegúrate de mantener los contenedores de líquidos a granel en un lugar separado del stock de trabajo. Un sitio de almacenamiento aprobado es fundamental cuando se trabaja con volúmenes más grandes.
- Asegúrate de tener los extinguidores de incendio clasificados apropiadamente en las áreas donde usas o almacenas líquidos inflamables. Conoce el procedimiento para activar el extintor antes de que ocurra un incendio.
- Trabajar en una superficie sellada, resistente al fuego, sin armarios bajos u otro material inflamable por encima.
- Los contenedores de metal son preferibles para la manipulación y el almacenamiento de la mayoría de los líquidos inflamables, ya que pueden conectarse a tierra para evitar chispas de electricidad estática durante la transferencia de líquidos, y no son tan susceptibles a los efectos de un incendio externo.
- Asegúrate una ventilación adecuada cuando distribuyas o uses líquidos inflamables. Esto ayuda a proteger al usuario de la inhalación de vapores y reduce la probabilidad de acumular vapor que puede provocar una atmósfera inflamable.

- Las fuentes de ignición, tales como chispas o llamas abiertas, no deberían estar presentes donde uses o dispenses líquidos inflamables. Debes tener especial cuidado si se usan esterilización a la llama y desinfectantes líquidos inflamables en las proximidades.
- Elimina o reduce la presencia de materiales combustibles como cortinas, manteles, almohadillas absorbentes de bancos de laboratorio, toallitas húmedas, contenedores de desechos, etc.
- Asegurar el almacenamiento y la eliminación adecuados de los materiales utilizados para trabajar o limpiar líquidos inflamables. Los trapos empapados en solventes inflamables o toallas de papel en una papelera son un serio peligro de incendio.

Debes usar equipo de protección personal cuando manipules materiales peligrosos. Considera lo siguiente:

- No escatimes en el equipo de seguridad apropiado.
- Las gafas de protección química diseñadas adecuadamente evitan que los líquidos salpiquen o goteen en los ojos. Las gafas de seguridad por sí solas, incluso con protectores laterales, no ofrecen tanta protección contra salpicaduras de líquido.
- El objetivo de un protector facial es proteger las partes de la cara que no sean los ojos.

Al usar un protector facial, aún requiere protección ocular adicional.

- Los guantes vienen en muchos tamaños, longitudes y materiales de construcción.
- Los guantes de látex son ineficaces para la protección contra solventes como los alcoholes.
- Los guantes de nitrilo o neopreno son una mejor opción para trabajar con desinfectantes líquidos inflamables y a base de agua.
- Inspecciona los guantes regularmente para asegurarte de que no tengan fugas.
- Los guantes deben quedar bien, no demasiado grandes ni demasiado pequeños.
- Se recomienda una cubierta corporal resistente a productos químicos, como una plataforma, cuando se manipulen productos químicos en exceso de pequeñas cantidades.

Ya sea en el entorno casero o comercial, un suministro de agua fresca debe estar disponible. Si un individuo está expuesto a una sustancia química en la piel o en los ojos, en la mayoría de los casos, el fabricante del producto recomendará enjuagar el área afectada durante 15 minutos con agua corriente limpia. En un entorno comercial /industrial, una ducha de lavado de ojos por seguridad debe estar presente,

debidamente probada y mantenida. En el hogar, un fregadero, una ducha o una manguera de jardín deberían estar disponibles para este propósito. Siempre lee

las precauciones de seguridad para los materiales que uses, ten un plan para lidiar con las emergencias y ten el equipo para llevar a cabo ese plan antes de comenzar a trabajar. Siempre busca asistencia médica después de un accidente que involucre la exposición a productos químicos. Trabajar de manera segura es una cuestión de reconocer y anticipar los peligros, evitarlos o eliminarlos, y tener un plan de acción en caso de que las cosas se salgan de control.

Equipamiento del Laboratorio

Configuración de laboratorio

- Balance, triple haz o electrónico, cuando se trabaja con cantidades de sub-gramos.
- Papel de pesada.
- Agitador orbital o placa de agitación con barras de agitación magnéticas.
- Microonda.
- Antorcha de propano.
- Mechero Bunsen con fuente de gas, lámpara de alcohol o soplete de propano.
- Alambre de inoculación para transferir pequeñas cantidades de células de un medio a otro. Disponible como esterilizado, de un solo uso o como asa bacteriológica reutilizable hecha de acero inoxidable, nicrom, platino u otro alambre. Esteriliza el metal flameando antes de cada transferencia. Las asas requieren enfriamiento antes de las transferencias, lo que se puede hacer sumergiendo el asa en agua estéril o tocando el asa caliente en una superficie de agar antes de recoger una colonia. Las asas vienen en diferentes tamaños y grososores de alambre. El alambre más delgado se calienta y enfria más rápido que el alambre más grueso. Algunas asas tienen dos tamaños diferentes en los extremos opuestos de un solo mango. En general, usaría las asas más grandes para las placas y las asas más pequeñas o los alambres para los slants.
- Gradilla de tubos de ensayo.
- Tubos de ensayo con tapa de rosca (vidrio y material desechable estéril, 16 x 120 mm, 16 x 150 mm).
- Platos de Petri estériles (100 x 15 mm y 60 x 15 mm).
- Matraces Erlenmeyer (50 ml, 100 ml, 250 ml, 500 ml, 1 L).
- Botellas de vidrio Pyrex (500 ml y 1 L).
- Cilindros graduados (100 ml, 500 ml).
- Vaso graduado (1 L).
- Tapones de espuma o algodón transpirable.
- Pipetas estériles (1 ml, 10 ml).

- Pipetas de cristal Pasteur o pipetas de transferencia estériles.
- Pipetas aforadas.
- Termómetro de laboratorio.
- Hisopos de laboratorio.
- Envoltura de Parafilm-laboratorio utilizada para evitar que las placas y los bordes se sequen.
- Papel de aluminio.
- Ropa (bata de laboratorio, cubiertas de zapatos, cubierta de cabello, mascarilla, protección para los ojos).
- Guantes de nitrilo.
- Lentes de seguridad.
- Guantes de protección contra el calor.
- Autoclave u olla a presión. Se utiliza para esterilizar el equipo y los medios utilizados en el cultivo.
- Cinta indicadora de esterilización.
- Medidor de pH o tiras de pH (el medidor de pH requiere soluciones de calibración y soluciones de limpieza /almacenamiento).
- Microscopio (objetivo de inmersión en aceite 10X, 40X y 100X con oculares 10X o 16X).
- Portaobjetos y cubre objetos.
- Aceite de inmersión.
- Kit de limpieza de lentes.
- Agar. Se utiliza para solidificar los medios de mosto en pendientes y placas. El agar degradado de laboratorio no es terriblemente caro, pero si tienes un presupuesto ajustado, el polvo de agar que se vende en los mercados especializados y en las tiendas de alimentos saludables funciona bien.
- Medio de cultivo (a base de malta, 1.040 de hierba esterilizada).
- Incubadora (comercial o improvisada, como caja de espuma de poliestireno con almohadilla térmica y ventilador para computadora).
- Baño de agua (comercial o alternativo como calentador de toallitas para bebés o calentador de acuario).
- Extintor de incendios.
- Botiquín de primeros auxilios.
- Estación de lavado de ojos.
- Hojas de datos de seguridad del material (MSDS) en todos los productos en uso.

Detección de contaminación

- Aparato de filtración de membrana.

- Filtros de membrana (tamaño de poro 0.45 micras para prueba, 0.2 micras para filtro estéril).
- Almohadillas de membrana.
- Bomba de vacío (puede ser una bomba de mano manual de bajo costo).
- Fórceps de metal.
- Espátula de metal.
- Medios de prueba selectivos (varios, basados en la prueba).
- Lava la botella para isopropanol y agua.
- Platos de Petri estériles (100 x 15 mm).
- Bolsas o contenedores de muestreo estériles.
- Agar.
- Medio de cultivo (a base de malta, 1.040 de mosto esterilizado).
- Esparcidores de células.
- Kit de tinción de Gram (requiere microscopio, portaobjetos y cubreobjetos).
- Cámara anaeróbica (o paquetes anaeróbicos en un recipiente grande y hermético). Si bien existen medios anaeróbicos, una cámara anaeróbica es el método preferido para las pruebas periódicas de organismos anaeróbicos.

Recuento de células, viabilidad, vitalidad

- Azul de metíleno (opcional: ácido cítrico, solución tampón de glicina 0.1 M a pH 10.6, violeta de metíleno 3RAX).
- Hemo citómetro con cubreobjetos.
- Pipeta.
- Tubos de cultivo con tapón de rosca para realizar una dilución en serie.
- Microscopio (ocular 10X, 10X, 40X, 100X objetivos de inmersión en aceite).
- Solución limpiadora de lentes e hisopos apropiados.
- Contador de mano.
- Medidor de pH.
- Agua desionizada.
- Tubo de centrífuga cónico de 50 ml.
- Barra de agitación cónica• Solución de glucosa al 20%.

Almacenamiento y propagación de levadura

- Agar.
- Medio de cultivo (a base de malta, 1.040 de mosto esterilizado).
- Agitador o plato agitador.
- Matraces Erlenmeyer (50 ml, 100 ml, 250 ml, 500 ml, 1 L, 2 L).

- Tubos de ensayo con tapa roscada (16 x 120 mm, vidrio y desechables estériles).
- Platos de Petri estériles (100 x 15 mm).
- Pipetas estériles (1 ml, 10 ml).
- Bombilla de pipeta o Pipetter.
- Centrífuga, tubos de microcentrífuga de 1,5 ml, glicerol y una pequeña hielera (para cultivos congelados).
- Aceite mineral estéril.

Pruebas de fermentación

- Medio de cultivo (a base de malta, 1.040 de mosto esterilizado).
- Botellas de vidrio Pyrex (500 ml y 1 L).
- Matraces Erlenmeyer (50 ml, 100 ml, 250 ml, 500 ml, 1 L).
- Cilindros graduados.
- Pipetas estériles (1 ml, 10 ml).
- Bombilla de pipeta o pipetter.
- Agitador o plato agitador.

¿Cuánto Laboratorio Necesita Mi Cervecería?

¿Cuánto deberías invertir en un laboratorio para tu cervecería? Puedes ir de simple (menos de cien dólares) a complejo (que cuesta muchos miles). La cantidad que inviertas depende no solo de lo que deseas lograr, sino también del tamaño de tu operación, filosofía y más. Las cervecerías grandes no tienen opción real si quieren tener éxito. Las cervecerías de menor escala que tienen un control mucho más estricto sobre la distribución, como los brewpubs que no se distribuyen fuera del restaurante, tienen más flexibilidad. Los cerveceros caseros tienen la mayor flexibilidad, ya que no venden su cerveza y tienen el control final sobre quién la bebe. Aun así, un número sorprendente de cerveceros caseros muestran más interés en establecer un laboratorio y controlar la calidad de la cerveza que muchas pequeñas cervecerías comerciales. El hecho es que muchas cervecerías pequeñas en todo el mundo no tienen garantía de calidad formal. Las cervecerías pequeñas a menudo son operaciones de una persona, y la cervecería siente que no hay suficiente tiempo para el análisis de calidad. ¿Significa esto que producirán cerveza mala? No necesariamente. La belleza del proceso de elaboración es que, si sigues las buenas prácticas y eres un cervecer experto, puedes hacer una cerveza buena y estable. Por supuesto, si no pruebas tus productos, pueden pasar por alto problemas antes de que tengas la oportunidad

de reconocerlos, y la primera señal de problemas aparece solo después de que los clientes se quejan o las ventas que disminuyen perjudican a la cervecería. Esto siempre nos parece impactante, porque las medidas de aseguramiento de la calidad tienen consecuencias importantes para la calidad de la cerveza y la satisfacción del cliente. Hacer cerveza de calidad inferior o cerveza que se vuelve pobre rápidamente durante la distribución afecta negativamente las ventas y el crecimiento. Si se deja continuar, esto eventualmente amenazará la supervivencia de la cervecería. Considera el valor de la reputación de la cervecería y compárala con el costo de financiar un laboratorio modesto. Entonces ¿dónde empiezas? Cualquier cervecería, por pequeña que sea, debería realizar pruebas básicas de fermentación forzada y mosto forzado. Son simples, económicos, fáciles y te pueden decir una cantidad considerable sobre el lado frío y caliente de tu cervecería. Puedes agregar otras pruebas simples y de bajo costo, como fuerza de diacetil y pruebas de fermentación. Otra práctica valiosa pero barata es el análisis sensorial. El análisis sensorial puede ser tan simple como probar la cerveza de forma regular y llevar anotaciones, o puedes incluir un panel formal de expertos. Independientemente de la complejidad, siempre debes tratar la degustación con seriedad, no solo como una excusa para beber cerveza. Debes diseñar un programa sensorial consistente y regular, como probar toda la cerveza en los tanques a las 10 a.m. todos los días de la semana. Hemos visto muchos casos en los que se desarrolló un problema en un fermentador y, sin controles regulares, se perdieron muchas más tandas de cerveza. Sin un programa de degustación regular, los cerveceros suelen estar demasiado ocupados como para recordar tomar muestras de las cervezas y pensar en la calidad de la cerveza. El siguiente paso es realizar recuentos de células y verificar la viabilidad y vitalidad de las levaduras. No es muy costoso o difícil de dominar. El tiempo requerido para realizar este tipo de pruebas en un inóculo de levadura es mínimo, especialmente cuando se compara con el tiempo invertido en hacer un batch de cerveza. Toda cervecería que envasa y distribuye cerveza debería, como mínimo, analizar su cerveza, agua, fermentadores y otros equipos para detectar posibles contaminaciones. Debe diseñar y seguir un procedimiento regular de muestreo, que incluya botellas o barriles y ubicaciones en toda la cervecería. Las cervecerías que envasan también deben considerar la prueba VDK (que incluye el diacetil) como un requisito, porque el precursor no tiene sabor. Una vez que la cerveza llega al mercado, el diacetilo puede aparecer cuando el precursor se oxida. Si bien la prueba barata de fuerza de diacetil es un buen primer paso, no puede decirte la cantidad presente. Las pruebas VDK requieren un aparato de destilación y un espectrofotómetro o un cromatógrafo de gases, por lo que la cervecería necesita invertir en el equipo o enviar muestras a un laboratorio. El laboratorio puede crecer desde allí,

tomando mediciones de oxígeno (sobre mosto y cerveza final), rastreando y manteniendo la salud de la levadura, iniciando nuevas propagaciones cuando las condiciones lo requieran, y llevando a cabo un análisis aún mayor de la cerveza. No existe un límite superior a lo que tu laboratorio puede lograr, pero cada cervecería debe esforzarse por realizar al menos algunas pruebas básicas internas.

Si bien puede requerir una inversión de tiempo, realizar pruebas en el sitio significa poder obtener información rápida para tomar decisiones críticas sobre la calidad de la cerveza.

Esterilización

Si bien muchos cerveceros frecuentemente usan la palabra “esterilizar”, a menudo usan la palabra incorrectamente (Figura 6.2). Cuando elaboramos cerveza, rara vez esterilizamos nada. En cambio, limpiamos y sanitizamos. Sin embargo, el laboratorio de levadura requiere un mayor nivel de pureza y necesitamos esterilizarlo. No deseas cultivar un cultivo de levadura solo para descubrir que también has cultivado bacterias o levaduras salvajes al mismo tiempo. Un punto clave a tener en cuenta es que no puedes sanitizar o esterilizar algo que no está limpio. Un laboratorio exitoso es un laboratorio limpio. Debes contar con protocolos y procedimientos que te obliguen a mantener operaciones limpias y sanitizadas en tu laboratorio y cervecería.

Figura 6.2:

Limpiar	La limpieza es la remoción de suciedad, aceites, proteínas y otros materiales hasta que la superficie esté libre de la presencia de sustancias extrañas. No es posible sanitizar hasta que la superficie esté limpia
Sanitizar	La sanitización es la reducción de los microorganismos, usualmente con calor o químicos, hasta un punto considerado no dañino para los humanos. No garantiza una tasa de muerte de 100 por ciento, sino más bien un promedio de muerte del 99,9 por ciento. Los productos para la sanitización a menudo no se enjuagan a las concentraciones adecuadas
Desinfectar	La desinfección es una reducción de microorganismos a una muerte mínima de 99,999 por ciento. Los químicos usados en la desinfección a menudo son inseguros para el consumo, requiriendo un enjuague luego de su uso.
Esterilizar	La esterilización es la completa inactivación de todos los organismos: hongos, bacterias, virus y epuras. Se requiere de vapor a un mínimo de 15 minutos a 121° C (250° F) o 3 minutos a 134° C (273° F). El calor seco requiere al menos dos horas a 160° C (320° F)

Niveles de sanitización

Calor Húmedo

El método de esterilización más común es alguna forma de calor: húmedo, seco o llama. El tipo de objeto que estés esterilizando a menudo determina el mejor método. Una de las mejores herramientas para esto es la autoclave; este utiliza vapor a presión para alcanzar temperaturas en el rango de 121° a 134° C (250° a 273° F). Como mínimo, un objeto requiere un tiempo de retención de 15 minutos a 121° C (250° F) o 3 minutos a 134° C (273° F) para esterilizarlo. El tiempo de mantenimiento comienza cuando la cámara y los elementos que contiene han alcanzado la temperatura objetivo, por lo que su tiempo total excederá el tiempo de mantenimiento. Ciertos artículos, como líquidos o artículos densos o voluminosos, pueden requerir tiempos de espera más largos para garantizar que los objetos hayan alcanzado la temperatura correcta y el tiempo mínimo. Para el laboratorio promedio en una cervecería pequeña, solo necesitas esterilizar en una escala relativamente pequeña, lo que puedes hacer en una olla a presión. Puedes usar una olla a presión para suministros de laboratorio a pequeña escala, como utensilios de laboratorio o medios para planchas, pendientes y propagación de

levadura. Estas ollas a presión son ideales para usar en cervecerías caseras, ya que son económicas y fáciles de usar. Las autoclaves verdaderas vienen en todos los tamaños y tienden a ser considerablemente más caros a medida que se vuelven más grandes y más automatizados. La principal ventaja de estas autoclaves más grandes es que tienen cámaras más grandes, lo que permite que más cantidad de elementos o elementos más grandes pasen por un ciclo al mismo tiempo. A menudo vienen con algún nivel de automatización o ciclos especiales de enfriamiento que hacen posible ejecutar más ciclos con menos esfuerzo. Cuando seleccionas una autoclave, determina el artículo más grande que crees que necesitarás esterilizar y luego busca una unidad con un tamaño de cámara que lo acomode. Para una esterilización efectiva, el vapor debe penetrar en cada rincón y grieta. Una autoclave superpoblada es una autoclave ineficaz. Si estás usando una autoclave u olla a presión más simple, deberás purgar el aire manualmente de la cámara al comienzo del ciclo. Es importante que准备 adecuadamente los objetos que entran en la autoclave. Todos los contenedores de sellado hermético necesitan sus tapas entreabiertas, ya que pueden implosionar o explotar con los cambios de presión de la autoclave. Además, si estás esterilizando líquidos, al final del ciclo no deberás ventilar la autoclave rápidamente, ya que hará que el líquido hierva rápidamente y salga de los recipientes. Debes limpiar todos los objetos correctamente, ya que cualquier suciedad tiene el potencial de proteger a los organismos. Si tu autoclave tiene medidores o gráficos, registra los datos de cada ejecución o incluye la impresión junto con cualquier otra documentación, como los registros de laboratorio diarios. También puedes usar cinta indicadora de cambio de color para marcar los artículos antes de esterilizar en autoclave. Es útil, ya que proporciona una indicación visual rápida de que un objeto es estéril. Sin embargo, adquiere el hábito de retirar la cinta adhesiva durante el uso, para que luego alguien no piense que un recipiente no esterilizado es estéril.

Calor Seco

El calor seco es otra opción para esterilizar objetos, pero requiere un mayor calor y tiempos de mantenimiento más largos, que a menudo no son adecuados para algunos materiales. El calor seco requiere al menos dos horas a 160° C (320° F) para esterilizar un objeto. El calor más alto y los tiempos más largos son necesarios para transferir suficiente energía térmica para inactivar cualquier organismo presente. El contacto con el vapor es mucho más efectivo para transferir la energía necesaria para inactivar un organismo. ¿Alguna vez

accidentalmente has puesto tu mano sobre una olla de agua hirviendo? ¿Alguna vez has metido la mano en un horno a 100° C (212° F)? Si lo has hecho, entonces estarás familiarizado con cuánto más caliente el vapor en tu piel, debido a la energía contenida en el agua vaporizada. Cuando el vapor vuelve a convertirse en líquido en la piel, libera enormes cantidades de calor. Aun así, el calor seco tiene algunas ventajas. Para muchos con un presupuesto reducido, la esterilización en seco tiene la ventaja de su costo y la capacidad de esterilizar objetos grandes, ya que puedes usar un horno doméstico común. Si estás utilizando un dispositivo de este tipo, ten en cuenta que la configuración de temperatura puede ser muy inexacta. Cada vez que uses un horno doméstico, haz una copia de seguridad con un buen termómetro de laboratorio. Por supuesto, los ahorros en los costos iniciales del equipo a menudo se pierden rápidamente en el tiempo adicional requerido para cada ciclo de esterilización. Es posible utilizar tiempos más cortos con hornos de ventilación forzada o temperaturas más altas.

Incineración

Algunos objetos no requieren una esterilización completa. Por ejemplo, cuando utilizas un alambre de inoculación, solo esteriliza la longitud del alambre, no el mango. En el laboratorio, flamear es el método de elección para alambres de inoculación y alambres rectos, pero teóricamente podrías usarlo en cualquier objeto pequeño que la llama no destruya. Cuando flamees alambre, trabaja desde la punta hacia atrás hasta el mango y luego hacia la punta, asegurándote de que la porción debajo de la llama se ilumine en rojo. Si hay mucho material en el cable y lo colocas directamente en la llama, puede “explotar” cuando el líquido en su interior hierva. Además de ser un peligro para el usuario, puede enviar el material volando a otras superficies, lo que no es una buena técnica aséptica. Es una buena idea limpiar el cable antes de encenderlo, o primero mantener el alambre sobre la llama hasta que se seque cualquier material en el circuito antes de bajarlo a la llama. Una vez flameado, puedes enfriar el alambre al tocarlo en el medio estéril antes de tomar una levadura u otra muestra.

Figura 6.3:



Antes de cada transferencia, flamea el alambre de inoculación hasta que brille rojo para esterilizarlo.

Otra práctica que involucra la flama es sumergir el objeto o limpiarlo con alcohol al 70%, luego encenderlo y quemarlo. Esto deja menos residuos que flamear el objeto hasta que se ponga rojo. Sin embargo, ten la máxima precaución cuando trabajes con alcohol y llamas, ya que los resultados pueden ser mortales.

Tindalización

Los nuevos cerveceros a menudo piensan que pueden esterilizar algo hirviéndolo por 15 minutos. Hervir un objeto en agua o hirviendo un líquido durante 15 minutos mata a la mayoría de las bacterias vegetativas y puede inactivar virus, pero es ineficaz contra muchas esporas bacterianas y fúngicas. El hervor no es esterilización, pero puede matar a la mayoría de los microbios que afectan a los cerveceros. Si tienes más tiempo en tus manos que dinero, puedes probar la tindalización, un proceso en el que hierves durante 20 minutos un día, luego al día siguiente, y así sucesivamente hasta que hayas hervido el líquido cuatro veces. El período de incubación entre cada ebullición proporciona a las esporas resistentes al calor la posibilidad de germinar, y el siguiente hervor las mata. Desafortunadamente esto no esteriliza el agua, ya que el medio hervido debería ser compatible con el crecimiento del organismo. Ve a comprar una buena olla a presión en su lugar.

Prueba de Autoclave

Ser capaz de esterilizar los medios es una función crítica de un laboratorio, es importante que el laboratorio verifique periódicamente si la autoclave funciona correctamente. La forma más común de hacerlo es mediante el uso de un indicador biológico, generalmente un organismo (suministrado en una cápsula de vidrio) que es muy difícil de matar. El usuario ejecuta la cápsula a través de un ciclo de esterilización para ver si fue exitosa.

Materiales

- Cápsula 3M Attest Biological Indicator (o producto similar).
- Autoclave u olla a presión.

Procedimiento

1. Coloque la cápsula 3M Attest Biological Indicator en una botella de prueba de medio. También puedes incluir una cápsula indicadora en cualquiera de los otros artículos que se esterilizan en autoclave.
2. Permite que se ejecute el ciclo completo de autoclave.
3. Cuando finalice el ciclo, espera hasta que el manómetro indique 0 psi y ventila cuidadosamente la autoclave. Permite que el contenido se enfríe durante al menos 10 minutos.
4. Retira con cuidado el indicador biológico de la botella de líquido y / o en cualquier otro lugar donde esté incluido.
5. Verifica la etiqueta del vial indicador para ver si el color cambia de rosa a marrón o lo que especifique el fabricante.
6. Doble la cápsula suavemente para romper el interior y liberar el líquido. Haz lo mismo con un control etiquetado no autoclavado para el crecimiento bacteriano.
7. Coloca los indicadores biológicos en una incubadora a 56° C (133° F).
8. Examina el tubo indicador a las 8, 12, 24 y 48 horas para cualquier cambio de color. Un cambio de color amarillo indica crecimiento bacteriano.
9. Compara el vial con el control sin autoclave en cada punto de tiempo. Desea que la cápsula permanezca en el color original, lo que indica que el ciclo mató a la bacteria.
10. Después de verificar los resultados, descarta todo el material utilizado en la ejecución de prueba.

Cultivo de Levadura

Cada vez que trabajas con levadura viva, estás trabajando con un cultivo de levadura. Cuando se fermenta un batch de cerveza, se puede considerar que es un cultivo de levadura. Cuando propagas levadura, estás cultivando levadura. Sin embargo, muchas personas usan el término cultivo de levadura para referirse a los pasos más pequeños a partir de slants y placas que realizarías antes de la propagación. Toma en cuenta que el aislamiento y la propagación de levaduras de pequeños tamaños de colonias requiere condiciones estériles y medios estériles. O necesitarás comprar medios preesterilizados, o necesitará una olla a presión o autoclave

Figura 6.4:



Una placa adecuadamente estriada dará como resultado colonias aisladas cultivadas a partir de una sola célula. Foto cortesía de Samuel W. Scott.

Placas y Tubos Inclinados (Slants)

Los laboratorios usan placas y tubos inclinados en todas las bacterias y el trabajo de levadura. Tradicionalmente, los laboratorios hacían placas con placas de Petri de vidrio. En la actualidad, la mayoría de los laboratorios utilizan placas de Petri de plástico desechables preesterilizadas que vienen desde 20 hasta una manga. Puedes

comprarlos en varios tamaños desde 60 hasta 120 mm de diámetro. Hemos encontrado que 100 mm es un tamaño conveniente para la mayoría del trabajo. Las placas y los slants están hechos con agar, una sustancia similar a la gelatina que se licua a temperaturas superiores a 42° C (107° F) y forma un gel a menos de 37° C (99° F). Una vez solidificado, la levadura u otros organismos pueden crecer sobre la superficie. Una placa y una pendiente (slant) tienen el mismo material en el interior, pero una pendiente tiene una mayor vida útil porque tiene una tapa con tapa roscada y no se seca tan rápido. Los tapones con juntas sellan mejor que los que no tienen, extendiendo la vida útil. Debes sellar las tapas sin juntas con cinta de vinilo (cinta aislante o eléctrica) o Parafilm. Una placa sin sellar tiene una vida útil más corta, especialmente en el almacenamiento de baja humedad. Puedes extender la vida útil de una placa sellándola alrededor de la circunferencia con cinta de vinilo o Parafilm. La cinta de vinilo es mucho más económica y viene en una variedad de colores, que puede usar para ayudar a codificar el color de tu trabajo. Otro beneficio del sellado de placas con cinta de vinilo es que mantiene la placa unida, lo que reduce la probabilidad de contaminación al manipular las placas. Una pendiente puede durar hasta un año, pero debes re cultivar pendientes cada cuatro a seis meses para evitar mutaciones. Una pendiente es tu cultivo madre, que debe permanecer puro debido a su uso poco frecuente. Cuando contaminas una pendiente, pierdes tu cultivo madre. Puedes realizar copias de seguridad o nuevas pendientes de los más antiguos siguiendo las técnicas de transferencia estériles.

Almacenamiento a Largo Plazo

Puedes usar otras técnicas de almacenamiento para proteger los cultivos a largo plazo. Los laboratorios comerciales y universitarios usan cultivos ultracongelados como cultivos madre permanentes, pero esto está más allá de los medios de la mayoría de los pequeños cerveceros o cerveceros caseros. Algunos cerveceros caseros informan el éxito con los cultivos de congelación en un congelador estándar, aunque el tiempo que puedes almacenar un cultivo de esta manera puede no ser más largo que con una pendiente bien preparada. Depende mucho de tu técnica y la cepa. También puedes almacenar una pendiente bajo el aceite, que era el método de laboratorio utilizado antes de la congelación y es una opción decente para la pequeña cervecería. En la Figura 6.5, enumeraremos la vida útil estimada de cada método. La diferencia entre la vida útil máxima y la vida útil confiable es la tasa de mutación. Si bien es posible almacenar un cultivo cálido durante muchos años y tener células vivas, ese no es el

verdadero objetivo del almacenamiento de levadura a largo plazo. Lo que estás forzando es un cultivo libre de mutaciones. Cuanto más caliente almacenas un cultivo, cuanto más crece un cultivo, mayor es la tasa de mutación. El calor, el oxígeno y los nutrientes disponibles aumentan la incidencia de la mutación, y eso es lo que impide que la mayoría de estos métodos sean verdaderas opciones de almacenamiento a largo plazo. La desecación no es una buena opción, ya que el proceso mismo puede introducir mutaciones.

Figura 6.5:

Método	Vida útil confiable	Máximo de vida útil
Barro recolectado (3° C / 38° F)	2 semanas	6 meses
Placa de agar (3° C / 38° F)	1 mes	1 año si está sellado
Agar inclinado (3° C / 38° F)	3 meses	1-2 años
Cultivo clavado (Agar stab) (3° C / 38° F)	4 meses	2-3 años
Immersion agua (3° C / 38° F)	6 meses	3-5 años
Immersion aceite (3° C / 38° F)	4-6 meses	10-14 años
Desecación (3° C / 38° F)	--	3-6 años
Freezer hogareño (-19° C / -19° F)	0-2 años	5+ años

Resumen de métodos para almacenamiento de levadura. El problema con el almacenamiento a largo plazo no es la viabilidad, sino el mantenimiento de un cultivo libre de mutaciones.

La placa es tu cultivo de trabajo. También proporciona una mirada a la pureza de tu levadura, ya que otros microorganismos además de la levadura que contaminarán tu cerveza también pueden crecer en la placa como una colonia visible. Esto te permite identificar la presencia de posibles contaminantes sin un microscopio de alta potencia. Por supuesto, este método no garantizará la pureza de un

cultivo, pero si ves más de un tipo de colonia, puedes estar seguro de que el cultivo no es puro. Si detectas crecimientos extraños en tu placa, está contaminada y debes desecharla.

Preparación de Tubos de Agar y Placas

Puedes comprar pendientes y placas preparadas, pero ten cuidado con la variedad de bajo costo. Prueba cualquier placa o pendiente que compres o fabriques incubando una muestra aleatoria. Si hay crecimiento, entonces todas las placas o pendientes de ese batch son sospechosas. Si eres serio acerca de tu trabajo de laboratorio, te recomendamos aprender a hacer tus propias placas. Puedes recuperar fácilmente el costo inicial en equipos y suministros a lo largo del tiempo, y el trabajo involucrado no es excesivo. Se preparan platos con agar del 1 al 2 por ciento mezclado con otros materiales que proporcionan alimentos con levadura u otras capacidades especiales al medio, de 10 a 20 gramos de agar junto con 1 litro de líquido. Las pendientes requieren un medio ligeramente más firme. Mientras más agar uses, más firme será el medio. Algunos laboratorios prefieren trabajar con una superficie más suave, mientras que otros prefieren uno más firme. Para cultivar y hacer crecer la levadura de cerveza, deberás utilizar un azúcar a base de malta, tanto para tu medio sólido utilizado en placas y pendientes como para tu medio líquido cuando propagues un cultivo. Puedes comprar casi cualquier medio que desees como polvo premezclado, o puedes mezclar el tuyo propio. El proceso básico consiste en mezclar el polvo con agua destilada o mosto, calentar hasta que se disuelva, esterilizar y luego verter en placas utilizando una técnica aséptica. Si estás haciendo pendientes, el proceso es el mismo, salvo que rellenes las pendientes a partir del medio disuelto y luego los esterilice.

Aquí está el proceso para crear tu propio medio. Vas a hacer placas y pendientes en este procedimiento:

1. Prepara 1 litro de 1.040 g de mosto, sin lúpulo y con cualquier nutriente que quieras agregar, como *Servomyces*. Hierve el mosto hasta que se forme un turbio caliente, enfriá y filtra el material de rotura.
2. Mide 15 gramos de agar en polvo y espolvorea sobre la superficie del mosto. Permite que el polvo se hidrate por unos minutos. No revuelvas hasta que el agar aparezca completamente hidratado.
3. Mezcla o agita para mezclar, luego caliente en un horno de microondas o lentamente en una estufa para derretir el agar y hierve por un par de minutos hasta que el agar

esté completamente disuelto (verifica los granos translúcidos de agar en la parte inferior).

4. En este punto, puedes pipetear la solución en tubos adecuados para pendientes. Debes agregar suficiente solución para que, al inclinarse en ángulo, desarrolle una superficie de trabajo de buen tamaño en el tubo, pero no tanto que el agar se encuentre a unos pocos centímetros de la abertura del tubo. Lo mejor es probar primero con agua para determinar qué ángulo y cuánto volumen necesita por tubo. Generalmente, el mejor ángulo está entre 20 y 35 grados, pero no es crítico. Una vez que determines cuánto medio necesitas, puedes comenzar a llenar los tubos con una pipeta. No te preocunes por trabajar estéril en este punto, ya que las pendientes entrarán en la autoclave. Coloca los tapones sueltos en los tubos, coloca los tubos en posición vertical en una gradilla y coloca la gradilla en la autoclave.
5. Transfiere la solución de agar restante a un recipiente adecuado con una tapa suelta, o cubre con papel de aluminio, y colócalo en la autoclave para esterilizar con vapor.
6. Después de la esterilización, permite que la mezcla se enfrié lo suficiente como para manipularla, pero aun así vierte pausadamente.
7. Saca las pendientes y colócalas en ángulo, con el extremo de la tapa apuntalado hacia arriba para hacer la inclinación adecuada.
8. Si puedes sostener el matraz cómodamente con la mano desnuda, sostenlo hasta tu mejilla, y debería sentirse bastante cálido, pero no incómodo. En este punto, el agar está cerca de fijarse, y debes actuar rápidamente. Si intentas verter con el agar demasiado frío, saldrá con bultos y no se asentará en las placas. Si viertes demasiado caliente, las placas terminarán con un exceso de condensación debajo de la tapa.
9. Coloca tus placas estériles con las tapas cerradas.
10. Trabajando debajo de la cubierta o usando una técnica aséptica, quita rápidamente la lámina o tapa del matraz, inclina la tapa sobre una de las placas y vierte (generalmente de 15 a 20 ml) en cada placa.
11. Notarás que se forma condensación en las tapas. Una vez que las placas se hayan enfriado y el agar se haya asentado, puedes apilarlas varias veces, en volverlas con una banda elástica y voltearlas sobre sus párpados. No los envuelvas en Parafilm o cinta de vinilo hasta que la condensación se disipe. Colócalos en un área cálida (27° C / 80° F) durante uno o dos días, y la condensación se debe evaporar.
12. Las placas y las pendientes están listas para usar en este punto. Aprieta las tapas en las pendientes antes de guardar. Si deseas almacenar las placas sin secarse, envuelve una cinta continua de vinilo alrededor del borde o envuelva toda la placa en Parafilm para sellarla.
13. Guarda las placas invertidas en un recipiente cerrado.

Estriado de una Placa

Rayar una placa de agar es una manera rápida y fácil de aislar la levadura y verificar la pureza. Al rayar una placa, sumerge un asa de inoculación estéril en la fuente de levadura y ejecuta el ciclo sobre la superficie del agar en un patrón, con el objetivo de detener las últimas células espaciadas lo suficientemente separadas para que una sola célula tenga espacio suficiente para crecer en una colonia aislada. Al seleccionar solo colonias de aspecto normal cultivadas a partir de células individuales, se comienza con un cultivo puro.

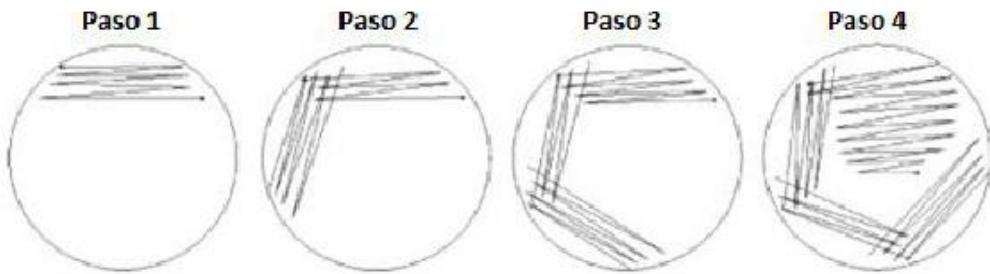
Procedimiento

1. Para comenzar, limpia un área y enciende una lámpara de alcohol o un mechero Bunsen.
 2. Coloca la placa cerca de la llama, con la tapa puesta y la superficie de agar hacia abajo apuntando hacia abajo. Siempre guardas tus platos con la porción llena de agar en la parte superior; la superficie de agar para rayas apuntando hacia abajo. Esto evita que cualquier material transportado por el aire caiga sobre la superficie de la placa.
 3. Selecciona un asa desechable estéril o esteriliza tu asa de inoculación en la llama.
 4. Mientras mantienes el asa en el área limpia cerca de la llama, abre la pendiente u otra fuente de levadura y pasa la abertura a través de la llama.
 5. Inserta el asa de inoculación en el tubo inclinado, y tócalo a la superficie del agar para enfriar el asa. Solo toca el asa de la colonia de levadura, no tomes un asa cargada. Quieres una pequeña cantidad de levadura. Retira el asa, teniendo cuidado de mantenerla en el área limpia alrededor de la llama, pero no tan cerca como para dañar la levadura.
 6. Vuelva a encender y cerrar rápidamente la pendiente.
 7. Coloca la pendiente hacia abajo y levanta el lado del agar de la placa, solo gíralo en el área limpia cerca de la llama.
 8. Corre la punta del asa hacia adelante y hacia atrás muchas veces en una sección pequeña. Flamea el asa. Gira la placa 90 grados y pasa el asa por la sección que acabas de rayar y raya una nueva sección. Gira la placa de nuevo y repite el rayado.
- El objetivo
es primero depositar las células en la placa, luego extraer menos células hacia otra área despejada, separando cada célula cada vez. Si ves levadura en la placa, tomaste demasiado de la pendiente. Debes extender unas pocas células, invisibles a simple vista, a través de la superficie. Colocar demasiada levadura en un área hace que sea imposible crecer y seleccionar desde una sola célula, que es tu objetivo (Figura 6.6).
9. Voltea la superficie de agar hacia abajo y vuelve a colocarla sobre la cubierta.
 10. Cultiva la placa durante dos o tres días a temperatura ambiente (22° C , 72° F), la placa llena de agar en la parte superior, la superficie del

agar apuntando hacia abajo. Un cultivo de levadura densa crecerá en la primera área que rayas, cada vez más delgada en las rayas posteriores. Si tu proceso no dio lugar a colonias aisladas, debes rastrear una nueva placa.

11. Una vez que tengas suficiente crecimiento, sella los bordes de la placa con cinta de vinilo o Parafilm y refrigerera.

Figura 6.6:



Raya, luego rota para terminar con células individuales distribuidas por la placa en el paso 4.

Estriado de una pendiente (Slant)

Para crear nuevas pendientes, solo se necesita una cantidad mínima de levadura para transferirla a la superficie del agar, por lo que una pequeña asa puede ser más eficaz cuando se raya una nueva pendiente. Al seleccionar la levadura para una pendiente, debes elegir entre una colonia de levadura pura, y una placa puede proporcionar una fuente pura de levadura. En una placa adecuadamente preparada, las colonias crecen a partir de una sola célula. Antes de seleccionar una colonia para tu pendiente, debes inspeccionarlas todas para asegurarte de que no tengan un color extraño, sean translúcidas o tengan una forma extraña. Si el perímetro de una colonia no es liso, uniforme y consistente, no uses esa colonia.

Procedimiento

1. Limpia un área y enciende una lámpara de alcohol o un mechero Bunsen. Recuerda seguir la técnica estéril, flamea todas las aberturas y trabaja rápidamente en el área limpia de una llama abierta.
2. Selecciona un asa desechable estéril o esteriliza tu asa en la llama.
3. Abre la placa u otra fuente de levadura.

4. Toca el asa de la superficie de agar para enfriar. Usa el asa para recoger la levadura de una colonia pura en la placa. Solo necesitas pinchar un poco de levadura.
5. Coloca la placa hacia abajo y levanta la pendiente.
6. Abre la pendiente, inserta el asa de inoculación y coloca la levadura en una línea serpentina en el centro de la superficie del agar. No hay necesidad de romper la superficie del agar o de untar toda la superficie. Poniendo menos células en la pendiente y dándoles espacio y comida para el crecimiento puedes extender la vida de la pendiente. Una pequeña cantidad puede ser muy útil, así que usa muy poca levadura.
7. Vuelve a encender y cierra la pendiente. Deja la tapa suelta mientras crecen, y las colonias deben aparecer durante dos o tres días a 22° C (72° F).
8. Una vez que el crecimiento esté completo, aprieta la tapa y la pendiente estará lista para el almacenamiento en frío. Si quieres adquirir un cultivo maestro de la cerveza embotellada, primero ponla en una placa. Si el resultado son colonias puras, entonces puedes hacer una pendiente desde esa placa. Sin embargo, puede haber más de una cepa, e incluso levadura salvaje en esa cerveza. Deberás hacer varias pendientes, seleccionando de diferentes colonias. También debes hacer algunos ensayos de fermentación a pequeña escala de la levadura antes de comprometer un batch completo a un cultivo desconocido. Para crear una pendiente de respaldo o para transferir de pendiente a pendiente, sumerge rápidamente tu asa en la levadura en la superficie de la primera pendiente y depositala en la segunda pendiente.

Procedimiento

1. Coloca dos pendientes en una gradilla.
2. Afloja ambas tapas.
3. Levanta y abre la pendiente fuente, flamea la abertura, recoge la levadura, tapa y vuelve a colocar en la gradilla.
4. Levanta y abre la pendiente de destino, manteniendo el asa dentro del área estéril.
5. Flamea la abertura y deposita la levadura sobre la superficie.
6. Repite sin apretar y deja a 22° C (72° F).
7. Vuelve a colocar la pendiente original en el refrigerador con la tapa ajustada y sellada. Deja que la nueva pendiente crezca, y colócalo en el refrigerador una vez que aparezca una bola de levadura blanca cremosa en la superficie.

Clavados

Los clavados son útiles para los organismos que se desarrollan mejor en condiciones anaeróbicas, como algunas bacterias. Un clavado es un tubo de

agar parcialmente lleno, de aproximadamente 3 centímetros de profundidad y se deja solidificar verticalmente. Para inocular un clavado, usa una aguja o un asa y apriétalo en el centro del agar hasta que llegue al fondo del tubo. Tira del asa hacia afuera y sella el tubo. Si tienes problemas para empujar tu asa hasta el fondo del clavado, es probable que estés usando demasiado agar en tu medio.

Inmersión en Aceite

La inmersión en aceite extiende la vida de las pendientes. Antes de que el almacenamiento en cultivo congelado se generalizara, este era el método que usaría un laboratorio de levadura para el almacenamiento a largo plazo. La idea es superponer la superficie de la pendiente con aceite mineral estéril, para que permanezca bajo el aceite y fuera del alcance del oxígeno en todo momento. La vida útil aumenta a un mínimo de dos años, aunque hay información que indica que algunas muestras de *Saccharomyces* han sido viables después de 14 años de almacenamiento a temperatura ambiente. Por supuesto, la viabilidad no garantiza que la cultura esté libre de mutaciones. Mientras más cálido sea el almacenamiento, mayor será la incidencia de la mutación, así que almacena tus cultivos en frío (3° C / 38° F).

Procedimiento

1. Despues de inocular tus pendientes e incubarlos, agrega una capa de aceite mineral estéril.
2. Almacena a alrededor de 3° C (38° F).

Inmersión en agua

Almacenar la levadura bajo el agua, a diferencia de debajo de la cerveza, es cada vez más popular. El almacenamiento en agua destilada estéril pone a la levadura en reposo, y algunos informes sugieren que la levadura puede almacenarse de esta manera durante años sin refrigeración. En general, solo harías esto con pequeñas cantidades de levadura, que luego propagas en tu laboratorio. Sin embargo, es posible que esto funcione con barros más grandes. Algunos cerveceros ahora están intentando esto. La clave es usar agua destilada estéril y lavar el barro de levadura varias veces en agua estéril destilada para eliminar cualquier rastro de cerveza.

Procedimiento

1. Agrega de 2 a 3 mililitros de agua destilada a un tubo de rosca, y esterilízalos en la autoclave o en la olla a presión. Enfría a temperatura ambiente antes de usar.
2. Usando un asa estéril, transfiere una colonia de una placa al agua. Solo quieres una pequeña cantidad de levadura, del tamaño de una cabeza de cerilla. Evita recoger el medio sólido debajo.
3. Tape el tubo con fuerza. Si las tapas no tienen una junta, envuelva la tapa con cinta de vinilo o todo el tubo en Parafilm para sellar.
4. Puedes almacenar estos viales a temperatura ambiente durante meses, aunque la refrigeración puede prolongar el almacenamiento durante más tiempo.

Congelación

Es posible que hayas oído que los bancos de levadura profesionales almacenan sus existencias congeladas a -80° C, y pueden almacenar la levadura congelada de manera indefinida. Mientras que el almacenamiento a -80° C es la mejor manera de prevenir la mutación, también es posible almacenarlos a -20° C y obtener mejores resultados que el almacenamiento a temperatura de refrigerador. La evidencia anecdótica sugiere que es posible lograr tiempos de almacenamiento de hasta cinco o más años con una mutación mínima. La dificultad es que los resultados pueden variar dependiendo de la salud de la levadura cuando se congela, cepa de levadura, control de temperatura y muchas otras condiciones de almacenamiento. Tu objetivo es poner la levadura en el punto máximo de salud y almacenarla a -20° C con un daño mínimo. Cuanto mejor sea la condición de la levadura cuando se congele, mejor será su condición al descongelarse. Recoge la levadura para el almacenamiento de una propagación de laboratorio limpio. Deseas utilizar la levadura que está en su mejor momento de salud, con una gran reserva de glucógeno y trehalosa. De hecho, la capacidad de las células para tolerar la congelación se correlaciona con los niveles de glucógeno y trehalosa celular (Kandror, et al., 2004). Cuanto mayor es la temperatura del freezer, más corta es la vida útil y la estabilidad del cultivo. Es importante que una vez que congele la levadura, no permitas que se derrita. Si no tienes un freezer a -80° C, necesitarás un congelador confiable, bien aislado y libre de heladas. Puedes utilizar un freezer sin escarcha, pero tiene un ciclo de calentamiento para evitar la acumulación de hielo. Una vez que congeles tus cultivos, colócalos en una hielera de espuma de poliestireno dentro del congelador. Esto ayudará a estabilizar las fluctuaciones de temperatura y mejorará la

vida de almacenamiento. Deberás agregar alguna forma de crio protector a tu levadura antes de freezar, como el glicerol. Los crio conservantes como el glicerol funcionan previniendo la lisis osmótica. Normalmente, a medida que el medio alrededor de las células se congela, hay cada vez menos agua líquida en la superficie de la célula, lo que crea un gradiente osmótico. Esto saca el agua de la celda por ósmosis y mata a la célula. Agregar un crio protector evita que esto suceda. Puede ser complicado obtener buenas congelaciones de levadura que no mueran al descongelarse después del almacenamiento. Algunos laboratorios congelan rápidamente los microbios usando nitrógeno líquido, aunque no todos los laboratorios de levadura lo consideran necesario o beneficioso cuando se trabaja con levadura y simplemente colocan los cultivos en el freezer a -80° C. Algunos cerveceros caseros han utilizado baños de hielo seco / etanol o hielo seco / acetona para congelar rápidamente sus muestras antes de colocarlas en el freezer. El uso de un congelador libre de escarcha provoca oscilaciones de temperatura que congelarán y descongelarán el cultivo, causando daños repetidos a las células. Cuando se almacena a -20° C, puede resultar beneficioso aumentar la cantidad de crio protector utilizado, de modo que el cultivo no se congele. Esto proporciona los beneficios de la baja temperatura, pero evita la pérdida de viabilidad por congelación y ciclos repetidos de congelación / descongelación. Además, agregar 1 gramo por litro de ácido ascórbico como antioxidante para prevenir la oxidación de los lípidos de la membrana también puede mejorar la viabilidad (Sidari y Caridi, 2009).

Materiales

- Glicerol estéril
- Solución de YPD estéril
- CryoTubes estériles o tubos de microcentrífuga con tapa de rosca
- Centrífuga
- Pipetas estériles
- Pipeta mecánica
- Freezer
- Caja de espuma de poliestireno (para almacenamiento a -20° C)
- Ácido ascórbico (para almacenamiento a -20° C)

Procedimiento para almacenamiento a -80° C

1. Recoge un cultivo y cultívala en 10 mililitros de medio por 48 horas. El crecimiento se realiza antes de este tiempo, pero la levadura crea reservas de glucógeno después del crecimiento.

2. Mueve el cultivo de 10 mililitros a un entorno de 4° C (40° F) y manténlo durante otras 48 horas para alentar a la levadura a desarrollar trehalosa.
3. Debajo de la campana o cerca de una llama vuelve a suspender la levadura en el cultivo de 10 mililitros y transfiera 1 mililitro a un tubo de micro centrífuga estéril de 1,5 ml. Etiqueta el tubo con el nombre, el número y la fecha de la cepa.
4. Centrifuga los tubos de 3 a 4 minutos. Retira con cuidado y coloca en una gradilla debajo de la campana.
5. Desecha el líquido con cuidado, guardando el sedimento de levadura en la parte inferior.
6. Agrega 1 mililitro de solución de glicerol al 15 por ciento, 85 por ciento de YPD al tubo y vuelve a suspender suavemente la levadura con una pipeta estéril.
7. Sella herméticamente, envuelve con Parafilm y colócala en cajas apropiadas dentro del congelador a -80° C.
8. Para revivir la levadura, selecciona una parte del cultivo con una punta de pipeta y ponla en una placa o descongele todo el cultivo sujetándolo con la mano enguantada hasta que alcance la temperatura ambiente, y luego agrega a 100 mililitros de medio decrecimiento líquido.

Procedimiento para almacenamiento a -20° C

Puedes seguir el mismo procedimiento que para el almacenamiento a -80° C, pero puede ser posible aumentar drásticamente la viabilidad resultante siguiendo este procedimiento modificado.

1. Sigue los pasos 1 a 5 del procedimiento de -80° C.
2. Prepara una solución de 50 por ciento de glicerol y 50 por ciento de YPD.
3. Agrega 1 gramo por litro de ácido ascórbico a su solución.
4. Agrega 1 mililitro de la solución al tubo y vuelve a suspender suavemente la levadura con una pipeta estéril.
5. Sella herméticamente, envuelva Parafilm, coloca los tubos en posición vertical dentro de una pequeña hielera de espuma de poliestireno y luego coloca la nevera portátil en el freezer.
6. Para revivir la levadura, selecciona una parte del cultivo con una punta de pipeta y mezclala o calienta todo el cultivo sosteniéndolo con la mano enguantada hasta que alcance la temperatura ambiente, y luego agrégala a 100 mililitros de medio decrecimiento líquido.

Selección de Colonias

La selección adecuada de colonias es una parte vital del cultivo de levadura. Aquí es donde todo comienza, y si eres descuidado al elegir colonias, puedes conducir la propagación de levaduras poco saludables. Para comenzar, retira la placa de agar de sualmacenamiento y deja que se caliente de forma natural a temperatura ambiente. Este es el mismo principio que utilizas cuando inoculas levadura en el mosto recién hecho. Siempre debes asegurarte de que la levadura tenga aproximadamente la misma temperatura que el medio de crecimiento, lo que previene el choque de levadura relacionado con la temperatura. Después de que la placa de cultivo alcanza la temperatura ambiente, examina cuidadosamente las colonias de levadura. Mira la placa desde ambos lados en un área bien iluminada. Mentalmente selecciona las colonias que deseas cultivar. Escanea la superficie del agar en busca de colonias de aspecto inusual o cualquier área con moho. El moho a veces aparece como una sustancia transparente que se extiende por la placa, por lo que puede ser difícil de ver. Otras veces, el moho es obvio y se ve como un crecimiento velludo, de aspecto similar a los que crecen en el pan, el queso y la fruta. Otras veces, el molde es una mezcla de los dos. Si observas algún moho en tu placa, debe comenzar de nuevo con una placa diferente. Si insistes en usar esa placa por alguna razón, selecciona cuidadosamente una colonia y vuelve a rayarla en una placa nueva.

Figura 6.7:



Examina las colonias en la placa o pendiente antes de la transferencia. Trabaja en el área limpia de la llama. Selecciona solo colonias que estén separadas de sus vecinos.

Las bacterias son más difíciles de identificar, ya que pueden parecer colonias de levadura al principio, pero generalmente se vuelven más translúcidas y, a veces, de color. Las colonias brillantes son generalmente indicativas de una infección bacteriana, mientras que las colonias deformes a menudo resultan ser levaduras salvajes. Las colonias de levadura cultivadas a partir de una sola célula son discos redondos, cremosos de color manila blanquecino o lechoso con un pico en el centro. Las diferentes cepas mostrarán diferentes morfologías y texturas, y debes familiarizarte con la consistencia y la apariencia de las cepas con las que estás trabajando, por lo que es más probable que notes cualquier cambio. En general, evita cualquier crecimiento de aspecto anormal. Si determinas que tu placa no contiene contaminantes, tu siguiente paso es elegir qué colonias transferir. En la mayoría de los casos, deberá elegir más de una colonia para comenzar tu cultivo y mantener la diversidad genética. Cada colonia contiene al menos 1 millón de células, todas generadas a partir de la misma célula madre. Eso significa que cualquier mutación que la célula tenga, aberrante o no, existe en todas las células hijas en desarrollo. Al comenzar a cultivar una cultura, deseas tener una buena cantidad de variedad genética presente. En teoría, las células de levadura más fuertes sobrevivirán y proliferarán en el entorno que les proporciones, y el cultivo resultante será más sano y más viable. Las células de levadura atraviesan muchas divisiones celulares en un corto período de tiempo, lo que acelera el proceso de selección natural. Con la levadura, la selección natural ocurre durante unos pocos días de propagación, a diferencia de los siglos que puede requerir para otras especies. Te recomendamos que selecciones alrededor de diez colonias individuales. En otras palabras, elige diez colonias que puedas distinguir fácilmente como colonias individuales que no comparten ningún límite con ninguna otra colonia. Esto ayuda a garantizar que la colonia no fue privada de nutrientes durante su crecimiento. Las colonias que comparten frontera con otras colonias de levadura están en competencia directa por los nutrientes de sus vecinos. Su acceso a los nutrientes necesarios se limita a la cantidad de nutrientes que la levadura puede luchar lejos de su vecino. Esta no es una situación de crecimiento ideal para las células de levadura, y las colonias que crecen sin competencia tienen menos probabilidades de ser físicamente deficientes. El tamaño relativo de una colonia a otra también es una parte importante de tus criterios de selección. Las colonias que elijas no deben ser ni demasiado grandes ni demasiado pequeñas, pero ten en cuenta que cuando las colonias están muy juntas, tienden a ser más pequeñas. Sin embargo, una colonia que es demasiado pequeña comparada con las otras en una placa es indicativa de un mutante respiratorio. Los mutantes respiratorios son células que tienen una mutación en su vía respiratoria y no pueden utilizar oxígeno. Esto hace que formen colonias más pequeñas, ya que no pueden utilizar nutrientes de la misma manera que las células normales. Estas células no pueden crecer tan rápido ni competir por nutrientes, y tendrán

problemas para metabolizar los azúcares y nutrientes que se encuentran en el mosto. Esto conduce a todo tipo de problemas en la fermentación, como la fermentación lenta o débil o la atenuación incompleta, así como los bajos niveles de crecimiento de la levadura. También deberías desconfiar de las colonias que son demasiado grandes, estas colonias pueden ser grandes porque se han fusionado con otra colonia o porque están cubriendo una colonia mutante respiratoria que han superado. A demás, estas colonias más grandes no son tan saludables porque han agotado el suministro de nutrientes a su alrededor y han agotado todos sus recursos. Las células de levadura en estas colonias se han dividido más veces que aquellas células de colonias medianas y son más débiles. El tamaño real de las colonias depende de muchas variables. En general, seleccionarás entre colonias que van desde 1/8 a una pulgada (3 a 5 mm), pero deja que la experiencia sea tu guía. Presta atención a las colonias que eliges y los resultados que obtienes de una propagación cultivada a partir de ellas. Documenta todo (las fotos son una buena idea) y usa esa información al analizar los datos de tus paneles de degustación.

Comienzo de la Propagación a partir de una Placa

Para propagar la levadura de una placa, vas a seleccionar una cantidad de colonias de una placa y transferirlas a un medio líquido estéril. Tienes opciones sobre cuál es el mejor tamaño de líquido, pero recomendamos de 10 a 25 mililitros. Este es un volumen conveniente para los tubos disponibles. Prepara tu medio estéril antes de tiempo usando viales de plástico para el transporte. Vienen en una variedad de tamaños, desde 10 mililitros en adelante. Un buen tamaño para el primer paso de una placa es un contenedor de 30 a 50 mililitros. Al comenzar la propagación de un cultivo que has almacenado durante mucho tiempo o la levadura recolectada de una botella de cerveza, el uso de un medio de menor densidad ejerce menos estrés osmótico sobre las células. Una densidad específica de 1.020 es una buena opción. Después del primer crecimiento, puede cambiar a un medio más concentrado, como 1.040 de DI.

1. Para comenzar, limpia un área y enciende una lámpara de alcohol o un mechero Bunsen. Recuerda seguir la técnica estéril, flamea todas las aberturas y trabaja rápidamente en el área limpia de una llama abierta.
2. Identifica las colonias que recolectarás.
3. Selecciona un asa desechable estéril o esteriliza tu asa en la llama.
4. Trabajando rápidamente en el área limpia alrededor de la llama, abre la placa y toca el asa con la superficie de agar para enfriar. Usa el asa para recoger una

colonia de la placa. En este caso, estás tratando de recoger toda la colonia, pero debes evitar excavar en el agar o tocar cualquier colonia circundante.

5. Coloca la placa y levanta el vial de transporte.
6. Abre el vial, flamea la abertura, sumerge el asa de inoculación en el medio líquido y agita la levadura. Repite hasta que hayas recolectado varias colonias.
7. Cierra el vial. Puedes dejar la tapa suelta mientras crecen, o puedes perforar un agujero en la tapa con un cable caliente y cubrirlo con un cuadrado de Parafilm.
8. Coloca el vial en posición vertical sobre una mesa vibratoria, si tienes una. Esto ayuda a airear y mezclar la levadura con el medio. Mantén el cultivo durante uno o dos días a 22° C (72° F).
9. Una vez que se completa el crecimiento, el cultivo está listo para el siguiente paso de propagación.

El cultivo puede aparecer ligeramente turbio, y eventualmente aparecerá un sedimento de levadura blanca en la parte inferior, lo que te da cierta seguridad de que el cultivo ha crecido. Muchos cerveceros preguntan cuántas células hay en este punto. Si bien podemos estimar cuántas células pueden estar presentes, es mucho mejor que hagas un conteo de células. Pequeñas diferencias en el proceso pueden crear grandes variaciones en los recuentos de células en esta etapa. Debes contar para saber qué puedes esperar de su proceso. Refrigerado, los resultados de este primer paso se mantendrán durante hasta siete días, pero es mejor si lo transfieres inmediatamente al siguiente paso. El siguiente tamaño recomendado es diez veces su volumen anterior, de 100 a 250 mililitros. Si deseas reducir los pasos, puedes aumentar el volumen a un múltiplo de veinte, pero comenzarás a alcanzar un nivel de rendimientos de crecientes. También deberás darle a la levadura 48 horas en lugar de 24 si realizas pasos más grandes. Idealmente utilizarás frascos y medios estériles durante todos estos pasos, hasta que transfieras el cultivo la cervecería. Un método simple para esterilizar los matraces es cubrirlos con un tapón de aluminio y colocarlos en el horno a 177° C (350° F) durante dos horas. Puedes preparar tus frascos con días de anticipación; solo evita abrir la tapa de aluminio. Si no puedes esterilizar tu equipo con vapor o calor seco, usa agua hirviendo para pasteurizar todo. Si eliges medios químicos de sanitización, debes hacer un seguimiento enjuagando con agua estéril o hervida, especialmente en los pasos de propagación más pequeños. Grandes cantidades de sanitizante residual pueden afectar el crecimiento de tu cultivo. Si no tienes un medio preesterilizado para agregar al matraz, puedes verter un medio caliente hervido en su lugar. En cualquier caso, cubrir rápidamente con papel de aluminio sobre la parte superior, creando una tapa suelta que se extienda por los lados alrededor de 76 mm (3 pulgadas). Una

vez que el medio está a temperatura ambiente, puedes agregar el cultivo del paso anterior.

Agita el vial para volver a suspender la levadura en la solución. Desenrosca la tapa lentamente, ya que ahora puede haber presión en el vial si no hiciste un orificio de ventilación. Flamea el vial y la abertura del matraz y vierte rápidamente el contenido del vial en el matraz. Vuelve a colocar la tapa de la lámina y agita el matraz o colócalo

en

una placa de agitación o en una mesa de agitación, si tienes una, para airear y mezclar la levadura en la solución. Mantén a 22° C (72° F) por uno o dos días completos antes de su uso. Deberías ver la actividad dentro de las 12 a 24 horas. Puedes repetir este proceso en tamaños más grandes hasta que alcances el tamaño que necesita la cervecería o el tamaño necesario para tu batch de cerveza casera.

- Revisa todo tu proceso y ten todo lo que necesitas a mano antes de abrir cualquier recipiente.
- Trabaja a 7cm (3 pulgadas) de la llama siempre que trabajes con cultivos para maximizar el escudo proporcionado por la llama.
- Afloja las tapas antes de hacer una transferencia, para que sean más fáciles de abrir.
- Cada vez que transfieras cultivos o medios de un recipiente a otro, flamea las aberturas.
- Realiza transferencias rápidamente, dejando los viales y las placas abiertas durante el menor tiempo posible.
- Siempre agita la levadura en la solución antes de la transferencia, ya que normalmente se pegará al fondo.
- La aireación mejora el crecimiento y la salud de la levadura, al igual que la mezcla. Agitar o sacudir mejora el crecimiento celular.
- Siempre escribe las fechas y nombres en los cultivos usando un marcador permanente. Tener incluso algunos viales sin etiqueta es una pesadilla.
- No congeles tus placas ni tus pendientes. Guárdalas en el refrigerador.
- Envuelve las placas con envoltura de plástico, Parafilm o cinta de vinilo para evitar el secado prematuro. Asegúrate de cerrar bien las tapas de las incisiones antes de guardarlas en el refrigerador.
- No te asustes. Que te diviertas. En el peor de los casos, necesitarás comenzar de nuevo.

Mantenimiento de un Catálogo de Levaduras

La mejor forma de almacenar una biblioteca de levadura es a -80° C, pero eso no es práctico para la mayoría de las cervecerías. El almacenamiento a cualquier temperatura más cálida da como resultado una deriva genética a lo largo del

tiempo. Cuanto más caliente almacenas tus cultivos, y cuanto más crece la levadura, más rápida es la deriva. Muchos cerveceros caseros nuevos en el cultivo de levadura sueñan con almacenar cada variedad que encuentran. Desafortunadamente, cada cepa viene

con una pequeña cantidad de sobrecarga, no solo en el espacio de almacenamiento, sino en el trabajo involucrado para confirmar periódicamente que el cultivo no se ha desviado demasiado en almacenamiento y para volver a cultivar para otro período de almacenamiento. Si tienes tiempo e interés puedes almacenar tantas como quieras, pero muchos cerveceros caseros encuentran que es mejor almacenar solo los cultivos que no puedes reemplazar fácilmente. Al mantener menos cepas, es más probable que las vuelvas a cultivar con mayor frecuencia, lo que da como resultado un cultivo más sano y menos mutado a lo largo del tiempo. Para crear una biblioteca de levadura de tus cepas recolectadas, primero purifica y prueba los cultivos que vas a almacenar. Las cepas de levadura de muestras de cerveza o muestras de fermentación necesitan purificación y análisis. La purificación por múltiples rondas de placas en placas de medio de mosto es el método recomendado. Puede tomar muchas rondas de propagación y pruebas para obtener levadura libre de contaminantes. Una vez que tienes una placa que crees que es un cultivo puro, elige diez colonias individuales y realiza diez fermentaciones de prueba. Estás intentando evaluar la diversidad de la placa, tratando de garantizar que tenga un cultivo puro. Si todas las muestras de fermentación de prueba son iguales para todos los parámetros (por ejemplo, velocidad, atenuación, floculación, sabor y aroma), tu trabajo ya está hecho. Si los resultados son diferentes, debes determinar qué cepa o múltiples cepas debes conservar y trabajar para purificar tu cultivo. Un buen paso siguiente es aislar las colonias de la fermentación de prueba que representan el comportamiento ideal de la levadura. Después de haber purificado tu cultivo, puedes utilizar cualquiera de las técnicas descriptas en este capítulo para el almacenamiento. Las pendientes o pendientes por inmersión en aceite son quizás la mejor combinación de facilidad de uso y tiempo de almacenamiento. La congelación es otra posibilidad, aunque puede no funcionar igual de bien para todos.

Captura de Levadura

Estamos bastante seguros de que no somos los únicos que llevamos encima un par de viales de transferencia estériles de 50 mililitros, en caso de que encontremos una levadura que queremos llevar a casa. En la vida de un bebedor de cerveza, hay muchas oportunidades para recoger cepas de levadura interesantes.

En Marcha

Cuando estás en el camino, necesitas ser un poco más guerrillero que en el laboratorio. Lleva un par de viales, quizás unos cuantos hisopos estériles envueltos individualmente, y un encendedor de butano barato. Si te encuentras con una superficie que podría tener una levadura o bacteria interesante, simplemente frótala y vuelve a colocarla en el envoltorio. Si los hisopos son lo suficientemente cortos, puedes colocarlos en uno de los viales para evitar que se seque. Si crees que vas a hisopar mucho, puedes incluir algunos mililitros de agua estéril en cada vial. Si te encuentras con una cerveza embotellada con sedimentos, simplemente recolecta la levadura como lo harías en el laboratorio haciendo girar el sedimento, flameando las aberturas y transfiriendo rápidamente a tu vial. Una vez que llegues a casa, coloca los contenidos en la placa para que puedas analizar la pureza y la uniformidad de la muestra. Si bien hay muchas historias de una muestra furtiva de esta o aquella cervecería durante una visita, no consideramos que sea un comportamiento adecuado. Pregunta primero, incluso si crees que se negarán.

Cerveza Embotellada

La mayoría del sedimento de cerveza puede ser una buena fuente de levadura. Sin embargo, a menudo puede ser impredecible dependiendo de la cerveza, y siempre debes probar su pureza antes de hacer un batch de cerveza para la fermentación. Hay algunos desafíos, como tratar de recuperar la levadura de una cerveza filtrada o pasteurizada. Aunque la cerveza filtrada puede contener levadura, es difícil cultivar cantidades tan pequeñas. Si estás decidido, la filtración de membrana de una o más botellas puedes producir suficientes células vivas para comenzar. Si la cerveza está pasteurizada, tus posibilidades

son extremadamente escasas. Incluso si hay células en la cerveza, lo más probable es que estén muertas. El alcohol, la presión (CO₂), la temperatura, el manejo, la contaminación y el tiempo, todo funciona en contra de la supervivencia de la levadura y la posibilidad de cultivarla a partir de una botella. Cuando la levadura se asienta en una botella de cerveza, lentamente le quita a la cerveza cualquier rastro de minerales, elementos y algunos azúcares residuales. Una vez que la levadura se queda sin recursos, recurren a alimentarse del material de células muertas de levadura. Si mediste el pH de una cerveza condicionada en botella con el

tiempo, notarás un aumento a medida que las células mueren y liberan compuestos alcalinos en la cerveza. Además de la muerte celular, la levadura viva puede mutar. Las mutaciones ocurren cuando los fragmentos de ADN de la levadura se reorganizan. A pesar de que la levadura de cerveza es bastante resistente a las mutaciones, las mutaciones pueden desarrollarse con el tiempo y, finalmente, se hacen evidentes en la población de levadura. El resultado es que no siempre se debe esperar que la levadura recolectada de una cerveza embotellada funcione exactamente igual que en la cervecería original. Es muy difícil obtener levadura de calidad comercial de cerveza en botella, pero puedes obtener levadura agradable y diversa para usar en algunos batches caseros. El proceso de cultivo de levadura a partir de una botella es fácil cuando se trabaja con cerveza no filtrada o acondicionada en botella.

1. Refrigera la botella por una semana para obtener un buen sedimento de levadura en el fondo de la botella.
2. Retira la botella del refrigerador, sanitiza toda la parte superior de la botella, especialmente el área del borde, y ten listo un recipiente de recolección de levadura estéril. Trabaja en tu banco de laboratorio en un ambiente limpio.
3. Retira la tapa de la botella con un abridor desinfectado, flamea la abertura de la botella y cuidadosamente vierte la cerveza en un vaso, que puedes beber una vez que hayas terminado.
4. Deja de verter cuando se acerque al sedimento, agita la cerveza restante para removerla levadura, vuelve a flamear la abertura de la botella y viértela en el recipiente de recolección estéril.
5. Si la cerveza con la que estás trabajando tiene una mezcla de levadura, tienes dos opciones. Puedes cultivar el cultivo tal como está y elaborar con eso o dividirlo y tratar de descubrir qué colonias representan la mezcla adecuada que estás tratando de copiar.
6. Si estás trabajando con una sola cepa, colócala y usa las técnicas de laboratorio de este libro para purificar y probar la cepa.

Control de Calidad de la Levadura y la Cerveza

Esta sección cubre algunas pruebas comunes de calidad de levadura y cerveza, suficientes para manejar gran parte de las pruebas relacionadas con la levadura que necesitarás. Si bien la ciencia de la prueba de calidad de la cerveza es mucho más extensa que la contaminación y el diacetil, estos son buenos puntos de partida para una prueba de calidad.

Figura 6.8:

Tipo de organismo	Descripción de sabor
Bacteria anaeróbica	Ácido láctico
Bacteria aeróbica	Entérico, vómito
Levadura salvaje	Fenólico, curita

Deterioro común por organismos en cerveza.

Idealmente, un cervecero quiere cero unidades formadoras de colonias (CFU) de estos organismos cuando el laboratorio prueba tu cerveza. Los cerveceros debaten el nivel en que comienzan los problemas de sabor, pero la regla de oro es que 100 CFU por categoría se consideran “limpias”. El problema con números bajos es que la presencia de solo unas pocas CFU puede crecer rápidamente a varios cientos de UFC rápidamente, de ahí el deseo de mantener resultados de laboratorio de CFU cero en todo momento. En los últimos diez años, White Labs ha probado alrededor del 10 por ciento de toda la cerveza artesanal de EE. UU. Para detectar organismos que alteran la cerveza. El ochenta por ciento de las muestras analizadas tenían cero UFC en las tres pruebas, mientras que el 20 por ciento tenía niveles que oscilaban entre una UFC y miles. Hubo una distribución uniforme de bacterias anaeróbicas, bacterias aeróbicas y levaduras salvajes como el organismo de descomposición. Aunque no es una certeza, podríamos formular la hipótesis de que una quinta parte de la cerveza que esas cervecerías produjeron durante ese lapso de diez años necesitaba alguna mejora en los procedimientos de limpieza y sanitización. Una muestra de levadura puede tener un grado variable de salud y un grado variable de pureza. La única forma de conocer la calidad de la levadura es realizar análisis de laboratorio para determinar la contaminación, el recuento de células y la salud. Para evaluar la contaminación, debes colocar el barro espeso en medios especializados de tres a cinco días antes de su uso. Si bien puede parecer obvio que necesitas verificar el barro de levadura en busca de bacterias aeróbicas, bacterias anaeróbicas y levadura silvestre, también debes probar tu agua, mosto y equipo de elaboración. De los tres tipos de organismos, las bacterias anaeróbicas son las bacterias más comunes que se encuentran en el barro de levadura de cerveza, y son las más difíciles de erradicar para un cervecero. Las bacterias anaerobias más comunes son las bacterias del ácido láctico, *Lactobacillus* y *Pediococcus*

Figura 6.9:

Nombre del medio	Tipo de medio	Organismo cultivado	Organismos comunes en la cervecería
Universal Beer Agar (UBA)	Aeróbico (puede ser usado anaeróticamente)	Levadura salvaje, bacterias	<i>Lactobacillus</i> , <i>Pediococcus</i> , <i>Acetobacter</i> , <i>Enterobacter</i>
Wallerstein Differential (WLD)	Aeróbico (puede ser usado anaeróticamente)	Levadura salvaje, bacterias, moho	<i>Brettanomyces</i> , <i>Candida</i> , Levadura salvaje tipo <i>Saccharomyces</i> , <i>Lactobacillus</i> , <i>Acetobacter</i>
Schwarz Differential Agar (SDA)	Aeróbico (puede ser usado anaeróticamente)	Bacterias	Bacterias de ácido acético, <i>Bacillus</i> , <i>Lactobacillus</i> , <i>Enterbacter</i>
Hsu's Lactobacillus and Pediococcus (HLP)	Anaeróbico	Bacterias	<i>Lactobacillus</i> y <i>Pediococcus</i>
Lin's Wild Yeast Medium (LWYM)	Aeróbico	Levadura salvaje	Levadura salvaje tipo <i>Saccharomyces</i>
Lin's Cupric Sulfate Medium (LCSM)	Aeróbico	Levadura salvaje	Levadura Salvaje no <i>Saccharomyces</i>
MacConkey Agar	Aeróbico, para muestra de filtración de agua	Bacterias entéricas	<i>Escherichia</i> , <i>Klebsiella</i> , <i>Enterobacter</i> , <i>Hafnia</i> y <i>Citrobacter</i>

Pruebas de cervecería comunes para contaminantes.

Figura 6.10:

Muestra para probar	Frecuencia de prueba	Contaminantes comunes	Cantidad (es) de la muestra	Máximo aceptable CPU	Opciones de medios
Agua (enjuague o de entrada)	Semanal	Bacteria entérica	100 ml filtrada con membrana	≤ 10	MacConkey Agar
Mosto (tomado entre el enfriador y el fermentador)	Cada elaboración	Bacteria ácido acético Bacteria ácido láctico	Placa de vertido 1ml aeróbico 1ml anaeróbico	0 0	UBA o WLN (sin Cycloheximida)
Fermentador	Cada pendiente (después de 24 horas y otra vez luego de 5 días)	Bacteria ácido acético Bacteria ácido láctico	Placa de vertido 1ml aeróbico 1ml anaeróbico	0 0	SDA o WLD HLP
Barro de levadura (usado en propag. propagaciones & recolecc. y almacen.)	Todas las post recolección		1:100 dilución para prueba usando placa de vertido		SDA o WLD HLP
		Levadura salvaje sin Saccar. Levadura salvaje con Saccharomyces	1 ml aeróbico 1 ml anaeróbico	0 0	LCSM o Lysine LWYM
		Salud de la levadura & viabilidad	1 ml aeróbico 1 ml anaeróbico	≤ 1 ≤ 1	Metilo azul
				Redondear las células ovoides < 90% viables	
Tanque de servido y clarificación (luego del filtrado)	Una vez por semana o después de cada llenado	Bacteria ácido acético Bacteria ácido láctico	100 ml filtrada con membrana 1ml anaeróbico	≤ 10 ≤ 10	SDA o WLD HLP
Equipamiento (filtro, líneas botellas)	Cada pendiente	Bacteria ácido acético	Hisopo + 100 ml filtrada con membrana, aeróbica	≤ 10	SDA o WLD
Botellas y Barriles	Al menos un six-pack de botellas o uno o dos barriles de cada serie de embotellado o embarrillado	Bacteria ácido acético	5 ml de una muestra en una placa con 10-20ml de medio (usualmente una fuerte proporción de agar)	≤ 10	SDA o WLD

Régimen típico de prueba de cervecería.

Métodos con Placas

Al verificar la contaminación, la fuente y la concentración de la muestra determinan el método de prueba. Cuando se trabaja con cerveza o agua filtradas, el mejor método es la filtración de membrana de una muestra de 100 mililitros cultivada en una placa. Cuando la concentración de organismos es baja, la filtración de la membrana te permite muestrear un volumen mayor. Plaquear unos pocos mililitros de cerveza ya filtrada o agua sin filtración de membrana sería muy impredecible, y lo más probable es que no encuentres ninguna contaminación. Cuando se trabaja con cerveza sin filtrar, cerveza acondicionada en botella o cerveza en fermentadores, el recuento de levadura es mucho más alto y la filtración de membrana a menudo no funciona, ya que se obstruirá fácilmente. En este caso, el método de la placa de vertido es el mejor, ya que puedes tomar muestras de hasta 10 mililitros en una placa de vertido de 100 milímetros.

Cuando se trabaja con barro de levadura, las pruebas típicas consisten en remo-
ver una muestra de 10 mililitros, diluirla en una proporción de 1: 100 con agua estéril y
utilizar el método de la placa de extensión o de la placa de vertido y un medio adecuado. (Si
los recuentos de bacterias son más de 1 por mililitro y la levadura salvaje es más
de 1 por 0.1 mililitro, no debe usar el barro de levadura).

Filtración de Membrana

La mejor manera de tener una buena idea de la calidad de tu cerveza o agua es la filtración
de membrana de aproximadamente 100 mililitros. El aparato para la filtración
de membrana varía en costo. El costo inicial de un aparato reutilizable es de
aproximadamente \$ 100, y requiere el uso de una autoclave para la
esterilización, pero
si planeas realizar muchas pruebas, la unidad reutilizable es más económica. E
mpresas como Nalgene fabrican unidades estériles desechables ya equipadas con filtro de
membrana y almohadilla. Las unidades desechables cuestan alrededor de \$ 8 por uso.

Materiales

- 100 ml de cerveza o muestra de agua.
- Aparato de filtración de membrana.
- Bomba de vacío (bombas de mano o bombas de aspiración de agua son opciones de bajo costo).
- Almohadilla de filtro (47 mm de diámetro).
- Membrana (tamaño de poro de 0.45 micras).
- Placas de medios.
- Espátula metálica o fórceps.
- Antiespumante.
- Incubadora (cámara anaeróbica si se prueban bacterias anaeróbicas).

Procedimiento

1. Retira las placas de medios apropiadas (consulte la Figura 6.10 para ver las opciones de medios selectivos) del almacenamiento en frío y permite que se calienten a la temperatura ambiente.
2. Ensambla el aparato de filtración de membrana debajo de una campana de flujo laminar o cerca de un mechero Bunsen.

- A) Si estás trabajando con un aparato reutilizable, usa pinzas esterilizadas y coloca una almohadilla estéril y una membrana en la parte superior de la base del filtro. Si estás utilizando un filtro de membrana cuadriculado, coloca la rejilla de la membrana hacia arriba.
- B) Si estás trabajando con una muestra de cerveza carbonatada, puedes agregar algunasgotas de antiespumante a la parte inferior de la unidad de filtro.
- C) Cuidadosamente reemplaza la parte superior del filtro en la base.
3. Para cada muestra, vierte 100 mililitros de cerveza en la copa superior (graduada) en la unidad de filtro. Marca la tapa de la unidad de filtración con tipo de muestra.
 4. Coloca la tapa de nuevo en la copa superior.
 5. Engancha la bomba de vacío a la unidad de filtro y enciéndala. Permite que tu muestra de líquido se transfiera desde la parte superior de la unidad a la base inferior.
 6. Apaga la bomba y libera cuidadosamente la aspiradora. Retira el filtro de membrana con pinzas esterilizadas y coloca la membrana (no la almohadilla) con la rejilla hacia arriba, directamente en la parte superior del medio seleccionado. Intenta colocar la membrana lo más plana posible y evita atrapar burbujas debajo de la membrana. Puedes quitar y volver a aplicar la membrana si es necesario. Vuelve a colocar la tapa en la placa y etiqueta con el nombre y la fecha de la muestra.
 7. Repite el procedimiento con otra muestra. Debes usar una nueva unidad de filtración de membrana para cada muestra. Para garantizar que tu proceso y equipo estén sanos y estériles, es posible que debas realizar pruebas de control con agua estéril.
 8. Una vez que todas las muestras estén completas, invierte las placas y colócalas en una incubadora. Puedes revisar las placas todos los días para ver el crecimiento. Usualmente toma de tres a cinco días en la incubadora para la enumeración de colonias.

Vertido en Placas

El método de vertido de placa consiste en mezclar una muestra (normalmente de 1 a 10 ml) con el medio mientras todavía está lo suficientemente caliente como para ser líquida, pero no tan caliente que mate los organismos que deseas cultivar. Una vez que el medio se solidifica, la placa se invierte y se incuba. Hay algunos problemas a tener en cuenta al hacer placas de vertido. El error más común es mezclar la muestra y el medio antes de que el medio se haya enfriado lo suficiente, matando algunas o todas las bacterias y afectando el resultado. Otro problema común es no mezclar la muestra suficientemente con el medio. Si no agitas la mezcla lo suficiente, no obtendrás una distribución pareja de colonias, lo que dificultará su recuento con precisión. También debes evitar mezclar una muestra muy

fría con el medio, ya que puede bajar la temperatura lo suficiente como para que el medio se solidifique alrededor de las gotas de la muestra.

Materiales

- Muestra de cerveza.
- Placas de Petri estériles.
- Medio en forma líquida inmóvil, 45°-50° C (113°-122° F).
- Pipeta.
- Incubadora (cámara anaeróbica si se prueban bacterias anaeróbicas).

Procedimiento

1. Prepara el medio apropiado y asegúrate de que la temperatura sea correcta (consulta la Figura 6.10, para ver las opciones de medios selectivos).
2. Pipetea una alícuota de la muestra en la placa. Puedes probar muestras de 1 a 2 mililitros en placas de 60 milímetros y muestras de hasta 10 milímetros en placas de 100 milímetros. Si la concentración de organismos es alta, puede requerir la preparación de una dilución de la muestra para obtener un recuento exacto.
3. Vierte el medio aún líquido en la placa a una profundidad de al menos varios milímetros mientras agitas la placa para distribuir la muestra uniformemente. Alternativamente puedes mezclar la muestra y el medio en un matraz Erlenmeyer y luego verter en una placa.
4. Espera a que el medio se solidifique e invierta.
5. Coloca en una incubadora (anaeróbica si es necesario), con el lado medio hacia arriba, a 30° C (86° F) durante tres días.
6. Registra los resultados, incluyendo el número, tipo, tamaño y color de las colonias observadas. Algunas bacterias pueden crecer en la superficie, mientras que otras formarán colonias con forma de lente dentro del agar. Para muestrear las colonias sumergidas, clavar a través del agar con un asa.

Esparcido en Placas

El método de la placa extendida implica diluir la muestra y luego transferir una pequeña cantidad a la superficie de una placa de agar. A continuación, esparce la muestra y cualquier organismo de manera uniforme sobre toda la superficie con un esparcidor. Esta técnica se limita a la cantidad de líquido que

la superficie de agar puede absorber en un período de tiempo razonable, generalmente no más de 0.1 mililitros en una placa de 100 milímetros.

Materiales

- Muestra de barro de levadura.
- Placas de medios.
- Pipeta estéril.
- Esparcidor de vidrio.
- Fuente de llama.
- 70% de alcohol isopropílico en un vaso de precipitados lo suficientemente profundo como para sumergir el extremo del esparcidor.
- Incubadora (cámara anaeróbica si se prueban bacterias anaeróbicas).

Procedimiento

1. Diluye la muestra para proporcionar una concentración apropiada de organismos.

Es posible que debas preparar varias diluciones para obtener colonias separadas adecuadamente para contar. Pipetea 0.1 mililitros de la muestra en el centro de la superficie del agar.

2. Retira el esparcidor del baño de alcohol y pasa brevemente a través de la llama, quemando el alcohol. Si mantienes la varilla en la llama por mucho tiempo, se calentará y puede quemarte la mano. Permite que el esparcidor se enfrié en el área alrededor de la llama o toca la superficie del agar lejos de la muestra.

3. Extiende la muestra sobre la superficie del agar con el esparcidor. Mueve el esparcidor hacia adelante y hacia atrás de arriba a abajo a través de la placa varias veces. A diferencia de la formación de rayas con un asa para aislar colonias, debes retroceder varias veces por la superficie para distribuir la muestra lo más uniformemente posible.

Gira la placa 90 grados y repite. Gira la placa 45 grados y repite. No esterilices el esparcidor entre cada vuelta de la placa.

4. Vuelve a colocar la tapa en la placa, y espera varios minutos hasta que el líquido de la muestra se absorba en el agar. Asegura la tapa y volteá la placa boca abajo, con el lado medio hacia arriba, antes de colocarla en la incubadora.

5. Incuba (anaeróbico si es necesario) con el lado medio hacia arriba a 3° C (86° F) durante tres días.
6. Registra los resultados, incluyendo el número, tipo, tamaño y color de las colonias observadas.

Verificación de Placas

Los laboratorios usan placas para el cultivo de levadura y para la prueba de contaminación de muestras líquidas, pero también puedes usar placas para evaluar el entorno de tu cervecería. Puedes establecer placas abiertas e inspeccionar cualquier crecimiento para determinar qué tan limpio o sucio está el aire en un área en particular. Llamamos a estas “placas de verificación”. Aquí hay un ejemplo donde esto será útil. Una fábrica de cerveza reportó gushing en algunas de sus botellas, lo que parece una contaminación de levadura salvaje, pero no había probado las botellas a fondo. Colocamos placas de control en muchos lugares del área de elaboración y embotellado y algunas en el exterior. Al igual que con muchas pequeñas cervecerías, mantuvo la mayoría de las puertas abiertas (incluidas las puertas enrollables) todo el día. La mayoría de las cervecerías pequeñas tampoco colocan sus líneas de embotellado en una sala limpia separada, por lo que están sujetas al ambiente exterior. Las placas exteriores mostraron niveles enormes de levadura salvaje, al igual que las placas interiores. El hisopado de las botellas vacías y el cultivo de la cerveza mostraron la misma levadura salvaje que afuera.

Materiales

- Placas de WLN y WLD (Véase la sección de medios de Wallerstein).
- Incubadora.

Procedimiento

1. Permite que las placas WLN y WLD se calienten.
2. Aparta un conjunto de placas de control. No las abras, ya que deben probar la esterilidad de los platos.
3. Etiqueta una placa WLN y una placa WLD para cada área a probar, junto con la fecha actual.
4. Coloca las placas WLN y WLD etiquetadas en áreas como la cervecería, el área de fermentación, el área de laboratorio, el área de vertido de levadura, el área de embotellado, etc., con las cubiertas retiradas y la superficie expuesta.
5. Deja cada plato abierto durante 60 minutos.

6. Después de 60 minutos, cierra y recoge todas las placas, incluidos los controles, y colócalas en una incubadora, con el lado medio hacia arriba, a 86 ° F (30 ° C) durante tres días.
7. Registra los resultados, incluidos el número, tipo, tamaño y color de las colonias observadas.

Hisopado

Esta es una prueba más directa que las placas de control. En lugar de revisar lo que cae en el plato desde el aire, pasas un hisopo de algodón estéril en un área, lo transfieres a un plato y ves qué crece. Esta es una gran manera de verificar el interior de las mangueras, tanques, juntas e intercambiadores de calor.

Materiales

- Placas de medios.
- Hisopos estériles.
- Incubadora.

Procedimiento

1. Permite que las placas se calienten a temperatura ambiente.
2. Etiqueta las placas con el área limpia y la fecha. Usa placas WLD o SDA para detectar bacterias. Usa placas LCSM u otras placas de levadura silvestre para evaluar la levadura salvaje.
3. Toma un hisopo de algodón estéril y raya un plato. Etiqueta esta placa como “Control”. Esto asegura que tus hisopos sean estériles y el medio sea bueno.
4. Toma otro hisopo de algodón estéril y frota el área a analizar.
5. Raya las placas apropiadamente etiquetadas.
6. El mismo hisopo se puede rayar en dos o más placas si se usan varios tipos de medios.
7. Coloca en una incubadora, con el lado medio hacia arriba, a 30° C (86° F) durante tres días.
8. Registra los resultados, incluidos el número, tipo, tamaño y color de las colonias observadas.

Toma de Muestra del Fermentador

A menudo, la cerveza que deseas probar todavía está en el fermentador. Debes obtener una muestra limpia para evitar lecturas falsas en el laboratorio. Es importante que todo el personal tome muestras utilizando el mismo método. La falta de atención a la limpieza y sanitización puede dar lugar a pruebas microbianas inconsistentes y fermentadores contaminados. El método es simple: trabaja lo más asépticamente posible. Es importante que prepares tus materiales antes de salir para la recolección. Retira todas las alhajas de las manos y los antebrazos y lava minuciosamente. Si es posible, usa guantes de látex y usa isopropanol en tus manos enguantadas. Para obtener los mejores resultados, trabaja cerca de una llama. Puedes usar una llama de gas portátil para esterilizar el punto simple. Trabaja lo más rápido posible una vez que hayas abierto tu recipiente estéril.

Materiales

- Recipientes de recolección estériles marcados con tipo de muestra y fecha.
- Hisopos de muestreo de algodón o espuma.
- 70% de isopropanol o toallitas asépticas.
- Llama de gas portátil.

Procedimiento

1. Ten a mano tu botella de recolección estéril y etiquetada con la tapa desenroscada (no quites la tapa todavía).
2. Limpia el interior de la espita / grifo con un hisopo humedecido con isopropanol. Repite hasta que esté impecablemente limpio.
3. Usa una toallita antiséptica o isopropanol para limpiar el exterior del grifo.
4. Flamea el grifo con la llama portátil, si es posible.
5. Abre la válvula y permite que unas 12 onzas (0,33 L) de cerveza fluyan a través del grifo antes de recoger en la botella estéril. Recolecta un mínimo de 120 mililitros para pruebas microbianas completas. Cierra la tapa de forma segura.
6. Repite el procedimiento de limpieza después de la recolección de muestras y devuelve las muestras al laboratorio para su procesamiento. El procesamiento puede incluir filtración por membrana o recubrimiento.

Prueba de Mosto Forzada

La prueba de mosto forzado es una manera simple y muy efectiva de verificar que el lado caliente del proceso de elaboración esté limpio. Despues de que haya enfriado

el mosto, recolecta una pequeña cantidad antes de inocular la levadura. Puedes tomar múltiples muestras en cada paso del proceso para ayudar a aislar cualquier problema con el lado frío. Una vez que tengas las muestras, incúbalas para ver si aumenta la contaminación. Si ves crecimiento pronto, después de uno o dos días, sabes que hubo un problema de contaminación. Aquí hay un procedimiento básico:

Materiales

- Recipiente de recolección de mosto estéril.
- Incubadora o lugar cálido.
- Mesa vibratoria (opcional).

Procedimiento

1. Recoge asépticamente una muestra de mosto del fermentador antes de inocular la levadura.
2. Coloca en la incubadora a 30° C (86° F) durante tres días, en una mesa de agitación, si está disponible.
3. Inspecciona si hay turbidez, burbujas, olores desagradables, comenzando el primer día.
4. Consulta la Figura 6.11 para ver los resultados.

Figura 6.11:

Duración	Resultado
1 dia	Muy sucio, intercambiador de calor y mangueras. La cerveza deberá tirarse
2-3 días	Contaminación principal. Se necesita limpiar el problema, la mayor parte de la cerveza será afectada. No se deberá recolectar levadura para reusarla desde este batch.
3-6 días	Acumulación de contaminación leve, limpiar el problema. La cerveza puede no ser afectada.
7 o más días	Muy limpio, continuar con el trabajo.

Resultados de la prueba de mosto forzado.

También puedes verificar la estabilidad del mosto inoculado, para ver si el inóculo o el proceso de inoculación introdujeron alguna contaminación.

Materiales

- Recipiente de recolección de mosto estéril.
- Solución de cicloheximida.
- Incubadora o lugar cálido.
- Mesa vibratoria (opcional).

Procedimiento

1. Recolecta asépticamente una muestra de mosto del fermentador después de inocular la levadura.
2. Agrega 1 mililitro de solución de cicloheximida por 100 mililitros de muestra. Claramente marca la muestra como veneno.
3. Coloca en la incubadora a 30° C (86° F) durante 3 días, en una mesa de agitación, si está disponible
- .4. Inspecciona si tiene turbidez, burbujas, olores desagradables, pero no la degustes, ya que es venenoso.
5. Consulta la Figura 6.11 para ver los resultados y compáralo con el resultado no inoculada.
6. Desecha la muestra de manera segura y adecuada. Puedes realizar las mismas pruebas con cerveza envasada para verificar la estabilidad del proceso de envasado. Si embotellás cerveza, simplemente deja a 30° C (86° F) e inspecciona su condición con el tiempo. También puedes tratar algunas muestras con cicloheximida, pero ten mucho cuidado para evitar que alguien pruebe la cerveza por accidente.

Prueba de Fermentación Forzada

Deberías considerar hacer una prueba de fermentación forzada (también conocida como prueba de atenuación forzada) para cada cerveza. Una vez que el mosto se aísla, se inocula y está listo para la fermentación, extrae una muestra de mosto de manera aséptica. Extrae una muestra suficientemente grande para permitir al menos una prueba de densidad específica y cualquier otra prueba que deseas realizar. Vas a obligar a la fermentación a alcanzar su máxima atenuación a través de alta temperatura y agitación constante. El resultado suele ser una densidad final

ligeramente inferior a la fermentación principal, razón por la cual los cerveceros una vez llamaron a esto la prueba del Límite de Atenuación (LA).

Materiales

- Recipiente de recolección de mosto estéril.
- Incubadora o lugar cálido.
- Mesa vibradora o placa de agitación (opcional).

Procedimiento

1. Recoger asepticamente una muestra de mosto inoculado del fermentador. 2. Coloca en la placa de agitación o en la mesa de agitación, si tiene uno, a 27° C (80° F). 3. Una vez que se detenga toda la actividad, toma una lectura de densidad específica. Esta es la densidad mínima, el límite de atenuación posible con esa combinación de levadura y mosto. Esta fermentación de prueba debe alcanzar la densidad final más rápido que su fermentación principal. Puedes usar esta información para ayudarte a tomar decisiones sobre tu fermentación principal. Si la fermentación principal parece detenerse temprano, ya sabrás qué nivel de atenuación fue posible. Si necesitas hacer ajustes de temperatura en la fermentación principal en función de un porcentaje de atenuación, sabrás qué valor representa el 100 por ciento de la atenuación.

Diacetilo Forzado

Las cervecerías grandes miden los niveles de diacetilo con cromatografía de gases (o como niveles totales de VDK con un espectrofotómetro). Un cromatógrafo de gases o espectrofotómetro está fuera del alcance de muchas cervecerías pequeñas y de la mayoría de los cerveceros caseros, pero existe una forma simple y no cuantitativa de determinar si tu cerveza tiene potencial de diacetilo. Los precursores de diacetilo se convierten en diacetilo a través de la oxidación. Puedes forzar esta conversión en el laboratorio, usando calor y oxígeno para cambiar los precursores sin sabor en tu cerveza a diacetilo en poco tiempo.

Materiales

- Dos vasos o copas.
- Papel de aluminio.
- Baño de agua caliente.

- Baño de agua helada.
- Termómetro.

Procedimiento

Caliente el baño de agua a 50° a 71° C (140° a 160° F).

2. Recoge la cerveza en cada vaso y cúbrelo con papel de aluminio.
3. Coloca un vaso en el baño de agua caliente, mientras mantienes el otro a temperatura ambiente.
4. Despues de 10 a 20 minutos, retira la cerveza del baño caliente y enfria a la misma temperatura que la otra muestra. Un baño de agua con hielo es efectivo para enfriar.
5. Retira la lámina de aluminio y huele cada muestra. Si hueles el carácter mantecoso del diacetilo en una o ambas muestras, sabrás que tu cerveza tiene el precursor del diacetilo.

Figure 6.12:

Cerveza a temperatura ambiente	Cerveza calentada	Conclusión
Negativo	Negativo	Sin precursor presente, la cerveza está lista
Negativo	Positivo	Precursor presente, la cerveza necesita más tiempo en la levadura
Positivo	Positivo	La cerveza tiene muchos precursores o podría estar contaminada. Si no es una cuestión de bacterias, la cerveza necesita más tiempo en la levadura

Resultados de la prueba de fuerza Diacetilo.

Si el diacetilo está presente, no transfieras ni envases la cerveza. Déjalo en la levadura y continúa revisando a diario. Elevar la temperatura de la cerveza unos pocos grados también aumentará la tasa de captación de diacetilo. Si ya has transferido

la cerveza de la levadura, te ayudará preparar kraeusening o agregar más levadura en fermentación activa.

Método de Espectro Amplio para Dicetona Vecinales (VDK)

Si tienes acceso a un espectrofotómetro, este método te permite cuantificar los niveles de diacetil en tu cerveza.

Reactivos

- A) Solución de -Naftol. Disuelve 4 gramos de naftol ($C_{10}H_7OH$) en 100 mililitros de isopropanol, 99.6%. Agrega aproximadamente 0.5 gramos de carbón vegetal y agita la mezcla por aproximadamente 30 minutos, luego filtra. Almacena el filtrado en la oscuridad en una botella de color ámbar.
- B) Solución de KOHcreatina. Disuelve 0.3 gramos de creatina en 80 mililitros desolución de 40% de KOH (acuoso) y filtra. Almacenar en un contenedor de polietileno en refrigeración.
- C) Diacetil, solución madre. Prepara una solución acuosa que contenga 500 miligramos por litro. Almacena en una botella ámbar en el refrigerador.
- D) Diacetil, solución de trabajo. Prepárese inmediatamente antes del uso diluyendo 1 ml de solución madre en 100 mililitros con agua; concentración 5,0 miligramos por litro.

Aparatos

- Colorímetro o espectrofotómetro.
- Equipo de destilación, preferiblemente todo vidrio.
- Frascos volumétricos, 10 ml.
- Cilindros graduados, 50 ml.
- Manta calefactora para matraces hirvientes.

Calibración

Prepara una curva estándar de 0,5, 1,0, 1,5, 3,0 y 4,0 mililitros de solución de diacetil activo en matraces aforados de 10 ml. Agrega agua para llevar el volumen en cada uno a aproximadamente 5.0 mililitros. Usa 5 mililitros de agua para el reactivo en blanco. Desarrolla el color como en el paso 2 a continuación.

Procedimiento

1. Destilar 100 mililitros de cerveza descarbonatada en un cilindro graduado de 50 mililitros que contenga 5 mililitros de agua. Recolecta aproximadamente 15 mililitros de destilado y diluye a 25 mililitros con agua. Pipetea una alícuota de 5 milímetros en un matraz volumétrico de 10 mililitros.
2. Desarrollo del color. Agrega 1 mililitro de solución de naftol (reactivo a) a cada matraz y agita. Agrega 0.5 mililitros de solución de KOH-creatina (reactivo b) a no más de 4 o 5 frascos a la vez. Rellena para marcar y agitar vigorosamente durante exactamente 1 minuto. Deja reposar y mide absorbancia a 530 nm contra reactivo blanco entre 5 y 6 minutos después de la agitación. Repite este procedimiento hasta que todas las muestras hayan sido medidas.
3. Traza los valores de absorbancia para estándares contra miligramos por litro de diacetil. Lee las incógnitas del gráfico y calcula el contenido de diacetil de la cerveza.

Ensayos de Fermentación

El propósito de una prueba de fermentación a escala de laboratorio es imitar la fermentación de producción en una escala mucho más pequeña; 1.5 litros es un tamaño que funciona bien. Esta prueba permite a un cervecero experimentar con una nueva cepa de levadura o cepas múltiples, no solo para la atenuación, sino también para la tasa de fermentación y los compuestos de sabor. Puedes ejecutar varias pruebas a la vez sin que se vuelva demasiado engorroso. Recoge 1,5 litros de mosto caliente (hervido y lupulado, como de costumbre), para cada prueba que deseas realizar, en un recipiente grande y estéril. Enfría el mosto a la temperatura de fermentación deseada, luego oxigénalo de acuerdo con los estándares normales de la cervecería. También puedes agregar una pequeña cantidad de antiespumante esterilizado al mosto en este momento para evitar la formación de espuma. Transfiere 1,5 litros de mosto a los recipientes para la fermentación usando técnicas asépticas. Ahora estás listo para inocular la levadura a tu tasa de inoculación correcta. Es fundamental que utilices una tasa de inoculación lo más precisa posible, ya que las fermentaciones a menor escala son más propensas a errores en la tasa de inoculación. Como con todas las fermentaciones, escala de laboratorio o producción principal, debes registrar y monitorear las temperaturas de fermentación desde el inoculado hasta el final. Además, lleva un registro de las lecturas de densidad diarias de cada fermentación durante siete días. El control de temperatura es el parámetro más importante para perfeccionar; de lo contrario, la cerveza de fermentación de prueba no tendrá el sabor de la cerveza de fermentación principal. Graficar estas

lecturas de densidad a lo largo del tiempo proporciona una comparación visual de la atenuación entre las diferentes fermentaciones. Más allá de eso, puedes analizar la cerveza resultante para cosas tales como amargor y compuestos de sabor. Este método a escala de laboratorio permite un amplio volumen para las lecturas de densidad diarias, así como para los análisis posteriores a la fermentación.

Demanda de Oxígeno de la Cepa de Levadura

Las cepas de levadura difieren en su requerimiento de oxígeno. Algunas son estimuladas por bajos niveles de oxígeno disuelto, mientras que otras requieren altos niveles de oxígeno disuelto para alcanzar la atenuación adecuada (Jakobsen y Thorne, 1980). Las cepas de levadura muy floculantes tienden a tener una gran demanda de oxígeno (observaciones de White Labs). Incluso si encuentras que tu cepa de levadura tiene una baja demanda de oxígeno durante la fermentación, el nivel de oxígeno disuelto puede afectar su capacidad de sobrevivir el almacenamiento y el número de generaciones que puede reutilizarse. Otra cosa a tener en cuenta es que existe una correlación entre la demanda de oxígeno y el tipo de propagación necesaria. Por ejemplo, las cepas de levadura con una alta demanda de oxígeno necesitan más oxígeno durante la propagación para tener una fermentación exitosa. Debes realizar esta prueba en tus cepas de cervecería para determinar las necesidades de oxígeno para cada una. Lo mejor es probar al menos seis veces, con la levadura seleccionada de diferentes generaciones y condiciones de almacenamiento.

Materiales

- Medidor de oxígeno disuelto.
- Placa de agitación.
- Equipo de fermentación de prueba.

Procedimiento (Modificado de Jakobsen y Thorne, 1980)

1. Para cada cepa de levadura, establece cuatro fermentaciones de prueba.
2. Oxigena cada uno de los cuatro ensayos a 0, 2, 5 y 10 ppm, respectivamente.

3. Inocula la levadura a una tasa de 10 millones / mililitro de mosto, como se hizo en las fermentaciones de prueba.

4. Toma lecturas de densidad cada 24 horas durante siete días.

- Supón que la prueba de 10 ppm es la medida del 100 por ciento de atenuación o realiza una prueba de límite de atenuación. El nivel de aireación, que produce una atenuación del 50 por ciento en dos días, determina si la levadura tiene una demanda de oxígeno baja, media o alta. También puedes hacer esto de forma no cuantitativa, sin pruebas de fermentación, variando los niveles de oxígeno disuelto en diferentes cervezas.
 - Bajo, estimulado por menos de 5 ppm.
 - Medio, estimulado por 5 ppm.
 - Alto, estimulado por 10 ppm o más.

Figura 6.13:

O ₂ requerido	Mínimo oxígeno requerido para alcanzar el 50% de atenuación		
	2 ppm	5 ppm	10 ppm
Alto	no atenuó el 50% en 2 días	no atenuó el 50% en 2 días	50% de atenuación alcanzado en 2 días
Medio	no atenuó el 50% en 2 días	50% de atenuación alcanzado en 2 días	
Bajo	50% de atenuación alcanzado en 2 días		

Resultados de la prueba de demanda de oxígeno.

No existe un consejo definitivo sobre cómo estos niveles de demanda de oxígeno equivalen a la cantidad de oxígeno disuelto que requiere una cepa en la preparación para la fermentación de un batch de cerveza, pero puede darte una buena idea de qué probar. Si estás experimentando con una cepa de alto requerimiento, asegúrate de oxigenar adecuadamente. Si estás experimentando

con una cepa de bajo requerimiento, tal vez reducir tus niveles de oxígeno disuelto desarrollaría el perfil de sabor que deseas.

- Alto requerimiento, pruebe de 10 a 14 ppm.
- Requisito medio, pruebe 10 ppm.
- Bajo requerimiento, pruebe de 7 a 10 ppm.

Prueba del Yodo para el Glucógeno

La levadura usa glucógeno como un compuesto de almacenamiento de hidratos de carbono, más o menos al igual que los humanos usan grasas. Las levaduras acumulan glucógeno cerca del final de la fermentación, ya que la falta de azúcar las priva de nutrientes. Las levaduras usan glucógeno para vivir durante el almacenamiento, y también dependen de sus reservas de glucógeno cuando las agregas al mosto. Cuando conviertes

levadura en mosto, utilizan su glucógeno para el metabolismo. La levadura con buenas reservas de glucógeno comienza la fermentación más rápido. Existen métodos complicados (enzimáticos) y métodos simples (el color del yodo se mide con un espectrofotómetro) para cuantificar la cantidad de glucógeno presente.

Materiales

- Espectrofotómetro de espectro visible.
- Cubetas de 1 cm.
- Pipetas.

Procedimiento (*Quain y Tubb, 1983*)

1. Mantén las muestras de levadura en hielo para evitar la descomposición del glucógeno durante el ensayo.
2. La concentración de levadura debe ser de 4 miligramos por mililitro de peso seco, o de 20 a 25 miligramos por mililitro de peso húmedo.
3. Mezcla reactivo de yodo / yodo de potasio con agua destilada (yodo 1 mg / ml en yoduro de potasio 10 mg / ml).
4. Suspende la levadura en reactivo e inmediatamente mide la absorbancia a una longitud de onda de 660 nm.
5. Usa levadura sin teñir como blanco.

6. Obtén concentración de glucógeno en mg / ml (x). La absorbancia es proporcional a la concentración de glucógeno.

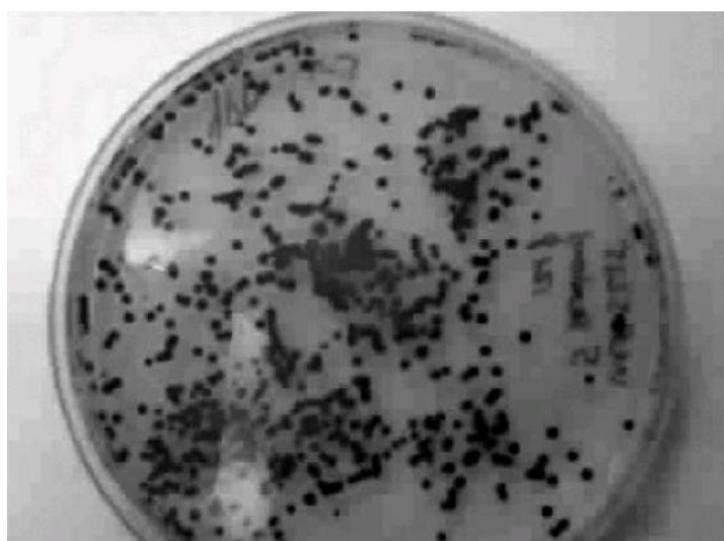
$$x = (y - 0.26) / 1.48, \text{ con } y \text{ como absorbancia.}$$

Si no tienes un espectrofotómetro, puedes estimar el glucógeno visualmente. El reactivo teñirá las células ricas en glucógeno (aproximadamente 1 mg / ml) de color marrón muy oscuro y las células con bajo contenido de glucógeno (0,1 mg / ml) de color amarillo.

Prueba de Mutación (petite) Respiratoria

Una de las mutaciones más comunes de la levadura de cerveza es los mutantes deficientes respiratorios, también conocida como mutación pequeña. Esta mutación cambia la capacidad de la levadura para respirar. El resultado es que crecen muy pequeñas en placas aeróbicas (de ahí el nombre de mutantes pequeños). Si las mutaciones se acumulan a más del 1 por ciento de la población de levadura, el resultado puede ser un rendimiento deficiente de la fermentación y problemas de sabor como el fenólico y el diacetil.

Figura 6.14



Prueba de mutación respiratoria (pequeña). Las colonias que se tiñen de un color rosado o rojo son normales. Las colonias que no cambian de color son deficientes respiratorios.

Materiales

- Placas de agar de malta.
- Agar.
- 2 botellas de vidrio estériles de 250 ml.
- Agua destilada.
- Cloruro de triféniltetrazolio (TTC).
- NaH₂PO₄ (anhidro, peso molecular 120.0).
- Na₂HPO₄ (anhidro, peso molecular 141.96) NOTA: debes usar guantes, gafas protectoras y mascarilla cuando manipules el TTC.

Procedimiento

1. Diluye la muestra de levadura de 500 a 1000 células / mililitro. Coloca 0,1 mililitros de esta solución de levadura en una pequeña placa de agar de malta. Para reproducibilidad, haz cinco placas para cada muestra de levadura.
2. Deja que las placas se incuben durante dos o tres días a 80 ° F (27 ° C).
3. Prepara soluciones de superposición:

Solución A

Coloca en una botella estéril de 500 ml:

- 1.26 g de NaH₂PO₄
- 1.16 g de Na₂HPO₄
- 3 g de agar, llena con agua destilada hasta la marca de 100 mililitros, agita los contenidos y coloca la tapa sin apretar.

Solución B

Coloca en otra botella de 500 ml:

- 0.2 g TTC llena con agua destilada hasta la marca de 100 mililitros, agita los contenidos y coloca la tapa sin apretar.

4. Autoclave u olla a presión cada solución a 121 ° C (250 ° F) durante 15 minutos. Combina las dos soluciones cuando alcancen aproximadamente 55 ° C (131 ° F).
5. Superponer cada placa con aproximadamente 10 mililitros de la solución TTC, asegurando de que las colonias estén completamente cubiertas. Dejar que las placas se incuben durante 1 a 3 horas a 27 ° C (80 ° F) y registrar los resultados inmediatamente. Dejar las placas para incubar por más tiempo o colocar las placas en un lugar de almacenamiento en frío para contarlas más tarde permite que el TTC se oxide y comprometa los resultados de la prueba.

6. Las colonias que se tiñen de un color rosado o rojo son normales. Las colonias que no cambian de color son deficientes respiratorios.

7. Cuenta el número de colonias teñidas y no teñidas para determinar el porcentaje de mutantes respiratorios en el cultivo. Un nivel aceptable es menos del 1 por ciento.

Medio de Extracto de Levadura Peptona Dextrosa (YPD o YEPD =Yeast Extract Peptone Dextrose)

Puede preparar YPD como un caldo o como un medio sólido. Utilizarás YPD para placas y pendientes en algunos procedimientos de prueba, aunque también puedes usar medios basados en malta. Para el cultivo y la propagación, deberás utilizar un medio a base de malta en lugar de YPD (consulta “Cultivo de levadura”). El YPD no contiene maltosa, por lo que no es un medio apropiado para el cultivo de levadura para la fermentación.

Materiales

- Extracto de levadura
- Agar
- Peptona
- Agua destilada
- Dextrosa
- Botella estéril

Procedimiento para la solución

1. Pesa 10 gramos de extracto de levadura, 20 gramos de peptona y 10 gramos de dextrosa en una botella estéril.
2. Agrega agua destilada para hacer 1 litro.
3. Cierra la tapa herméticamente y agita bien el contenido.
4. Afloja la tapa, cubre con papel de aluminio y escribe la fecha y el tipo de medio en el contenedor.
5. Esteriliza en un autoclave u olla a presión, 121° C (250° F) durante 15 minutos.
6. Deja que se enfrie el medio antes de usar.
7. Alternativamente, puedes agregar dextrosa estéril después de la esterilización en autoclave para evitar que los carbohidratos se descompongan.

Procedimiento para el sólido

1. Pesar 10 gramos de extracto de levadura, 20 gramos de peptona, 20 gramos de dextrosa y 20 gramos de agar en una botella estéril.
2. Agrega agua destilada para hacer 1 litro.
3. Cierra la tapa herméticamente y agita bien el contenido. Afloja la tapa y lleva al microondas para disolver los sólidos, teniendo cuidado de evitar que el medio hierva. Ten cuidado al manipular la botella, ya que estará muy caliente.
4. Una vez que el agar se disuelva, cubre la tapa con papel de aluminio y escribe la fecha y el tipo de medio en la botella.
5. Esteriliza en un autoclave u olla a presión, 121° C (250° F) durante 15 minutos.
6. Deja que el medio se enfrié a aproximadamente 55° C (131° F) antes de usar para verter las placas.

Prueba de Bacterias

La cantidad de organismos perjudiciales capaces de destruir tu cerveza es en realidad bastante pequeña, pero los efectos de estos pocos pueden ser terribles. Debido a la presencia de resinas de lúpulo (que actúan como agentes antibacterianos), bajo pH, altas temperaturas de cocción, etanol y fermentación anaeróbica, la cerveza es un ambiente hostil con recursos limitados para la mayoría de los organismos. Sin embargo, hay algunos organismos que prosperan en la cerveza. Aunque ninguno de estos puede causar la muerte o una enfermedad grave, pueden causar un gran daño a su cerveza. *Lactobacillus*: la bacterias que daña las cervezas más común. Los *Lactobacillus* son resistentes a los compuestos del lúpulo y se comportarán en condiciones anaeróbicas. Abundan en tu boca y en el grano, que es una de las razones por las que no debes moler tu grano donde el polvo pueda llegar al lado frío de tu proceso. La evidencia de *Lactobacillus* es una acidez agria similar a la leche en mal estado, así como posibles sabores a diacetil. Por lo general, crean una turbidez similar a la levadura no floculante. *Pediococcus*: a veces se encuentra en las últimas etapas de la producción de cerveza, especialmente en las lagers. Pueden ser similares a *Lactobacillus* y producirán acidez, sabores de diacetil y, a veces, viscosidad y pegajosidad. *B. coagulans* y *B. stearothermophilus*: estos microorganismos menos conocidos pueden causar la descomposición del mosto cuando un cervecero deja el mosto durante largos períodos a temperaturas más altas 65° a 80° C (150° a 175° F) y puede crear altos niveles de ácido láctico. Bacterias de ácido acético: *Acetobacter* y *Gluconobacter* funcionan principalmente en condiciones aeróbicas y oxidan el etanol en dióxido de carbono y agua, lo que produce vinagre. *Obesumbacterium*

proteus: Estas bacterias son capaces de tolerar un amplio rango de pH (4.4 a 9) pero carecen de resistencia a los compuestos del lúpulo. Son responsables del sulfuro de dimetil, del disulfuro de dimetil, del diacetil y de los aceites de fusel. Estos producen sabores vegetales vegetativos o cocidos. **Zymomonas:** Estas bacterias pueden fermentar la glucosa o la fructosa en etanol y producir acetaldehído y sulfuro de hidrógeno. Esto puede producir un aroma de huevo podrido en la cerveza terminada.

Medio Agar Universal para Cerveza (UBA = Universal Beer Agar)

El Universal Beer Agar (UBA) es un medio que contiene nutrientes y agar. Le agregas cerveza durante la preparación, lo que supuestamente hace que el UBA esté más cerca que otros medios del entorno natural que se encuentra en una cervecería. Al usar la cerveza para preparar el medio, se vuelve más selectivo para los microorganismos que se han adaptado a la presencia de compuestos de cerveza, como el lúpulo y el alcohol. Esto reduce la posibilidad de falsos positivos de organismos que no producen cerveza. También, puedes agregar cycloheximide (1 mg / L) para suprimir el crecimiento de la levadura cuando se prueba el barro de levadura en busca de contaminación bacteriana.

Materiales

- Medio UBA.
- Agua destilada.
- Cerveza.
- Cicloheximida (opcional).
- Autoclave u olla a presión.
- Erlenmeyer de 500 ml.
- Tapón de espuma o algodón.

Procedimiento

1. Pesa 5.5 gramos de UBA en el Erlenmeyer.
2. Agrega 75 mililitros de agua destilada (y cicloheximida, si deseas suprimir el crecimiento de levadura). Cerrar con un tapón de espuma o algodón, y llevar el contenido a ebullición durante 1 minuto con agitación constante para disolverlo.
3. Mientras el medio esté caliente, mezcla 25 mililitros de cerveza sin gas.
4. Autoclave a 121° C (250° F) durante 10 minutos. Las temperaturas más altas o las duraciones más largas son perjudiciales para el medio.

5. Después de esterilizar en autoclave, puedes usarlo para verter placas cuando alcanza de 45° a 50° C (113° a 122° F) o verter alícuotas de 12 a 15 mililitros del medio en placas de Petri estériles y dejar solidificar. Puedes usar las placas solidificadas para otros métodos de prueba.
6. Guarda las placas sin usar en el refrigerador y protege de la luz del día. La vida útil de las placas preparadas es de aproximadamente una semana y dos meses para el medio almacenado en botellas.
7. Una vez plaqueadas las muestras, cierra e invierte las placas. Coloca en una incubadora a 30° C (86° F) en un ambiente anaeróbico para detectar bacterias que estropean la cerveza o un ambiente aeróbico para detectar bacterias que se descomponen en la levadura y el mosto.
8. Examina las placas diariamente durante tres días para el crecimiento. Selecciona colonias idénticas y típicas para una identificación adicional mediante tinción de Gram u otros métodos.

Medio de Lactobacilos Pediococcus de Hsu (HLP = Hsu's *Lactobacillus Pediococcus*)

El medio *Lactobacillus Pediococcus* de Hsu, como su nombre lo indica, prueba la presencia de bacterias de ácido láctico Grampositivo de los géneros *Lactobacillus* y *Pediococcus*. El HLP contiene cicloheximida, que mata a la levadura, pero permite que crezcan las bacterias anaeróbicas. Inocular el medio mientras todavía está en forma líquida (45° C, 113° F) le permite solidificarse alrededor de la muestra creando un ambiente anaeróbico. El HLP también contiene depuradores de oxígeno para eliminar el oxígeno restante del medio. Anaeróbicos, resistentes al calor y resistentes al lúpulo, *Lactobacillus* y *Pediococcus* son los dañinos de cerveza más comunes. Esto hace que HLP sea uno de los medios más populares utilizados en los laboratorios de elaboración de cerveza.

Materiales

- Medio HLP.
- Agua destilada.
- Agar.
- Pipetas estériles.
- Pipeta mecánica.
- Tubos de cultivo con tapa de rosca estériles de 16 x 150 mm.
- Erlenmeyer de 500 ml.
- Tapón de espuma o algodón.

- Incubadora.

Procedimiento

PRECAUCIÓN: usa gafas, guantes y máscaras al pesar HLP.

1. Pesar 7 gramos de medio HLP y 2 gramos de agar. Mezcla con 100 mililitros de agua destilada en el Erlenmeyer.
2. Cierra el matraz con un tapón de espuma permeable o un tapón de algodón.
3. Calentar a ebullición, agitando los contenidos frecuentemente hasta que el HLP se disuelva por completo.
4. Deja que se enfrie en una campana o banco de laboratorio. Si vas a usar la mezcla más adelante, deja que se enfrie a temperatura ambiente, luego coloca en un lugar frío durante no más de dos semanas.
5. Si usarás la mezcla de inmediato, toma una lectura para asegurarte de que esté a la temperatura correcta de 45° C (113° F) antes de verter los tubos.
6. Pipetea 1 mililitro de la muestra para analizarla en un tubo de rosca estéril de 16 x 150mm. Marca cada tubo con un número de muestra y fecha.
7. Transfiere 17 mililitros de medio HLP a cada tubo y cierra bien las tapas.
8. Invierte suavemente dos veces para distribuir la muestra de manera uniforme a través del tubo.
9. Coloca los tubos en una incubadora a 30° C (86° F) durante 48 horas.
10. Realiza un recuento preliminar. Los lactobacilos aparecen como colonias blancas en forma de lágrima invertida y los pediococcus aparecen como colonias esféricas blancas.
11. Vuelve a colocar en la incubadora a 30° C (86° F) durante 24 a 48 horas adicionales.
12. Realiza un recuento final.

Medio de Agar Diferencial Schwarz (SDA = Schwarz Differential Agar)

Puedes utilizar el Agar Diferencial de Schwarz (SDA), también conocido como Agar Multi-Diferencial de Lee (LMDA), para detectar la presencia de bacterias aeróbicas y/o anaeróbicas. El SDA contiene carbonato de calcio (CaCO₃) para ayudar a identificar bacterias productoras de ácido, verde de bromocresol para diferenciar las características de la colonia por color y, opcionalmente, cicloheximida para matar el crecimiento de la levadura. Las bacterias de ácido acético (*Acetobacter*, *Gluconobacter*) mostrarán una zona de halo alrededor de las colonias y aparecerán de color azul verdoso en la parte inferior. Debido a que estos organismos a menudo son resistentes a los efectos negativos del alcohol, el ácido y el lúpulo, la cerveza es un medio hospitalario. La turbidez, la viscosidad y los sabores extraños son el resultado incluso de una pequeña cantidad de contaminación

con Acetobacter o Gluconobacter. Puedes usar el mismo medio en condiciones anaeróbicas para detectar Lactobacillus y Pediococcus. Las colonias de Lactobacillus mostrarán una zona de halo y aparecerán de un blanco verdoso con un centro verde oscuro y una parte inferior amarilla. Los pediococos crecen más lentamente que los otros organismos. Aparecerán más pequeños con una estrecha zona de halo.

Materiales

- Medio SDA.
- Cicloheximida (opcional).
- Agua destilada.
- Autoclave u olla a presión.
- Pipetas estériles.
- Pipeta mecánica.
- Placas de Petri estériles.
- Erlenmeyer de 500 ml.
- Tapón de espuma o algodón.
- Incubadora.

Procedimiento

1. Pesa 8.3 gramos de SDA en un Erlenmeyer de 500 ml.
2. Agrega 100 mililitros de agua destilada y 10% de cicloheximida si deseas suprimir el crecimiento de levadura. Cerrar con un tapón de espuma o algodón y llevar el contenido a ebullición durante 1 minuto con agitación constante para disolverlo.
3. Autoclave a 121° C (250° F) durante 10 minutos. Las temperaturas más altas o las duraciones más largas son perjudiciales para el medio.
4. Después de esterilizar en autoclave, haz girar el matraz con frecuencia mientras se enfria para mantener el CaCO₃ suspendido, pero evita crear espuma.
5. Una vez que el medio alcance 45° C (113° F), vierte alícuotas de 12 a 15 mililitros del medio en placas de Petri estériles y permite que se solidifique. Para asegurar la distribución uniforme de CaCO₃, evita mover las placas después de verterlos.
6. Si hay espuma en la superficie después del vertido, flamea con un mechero Bunsen para romper las burbujas.
7. Una vez que las placas se vuelvan firmes, invierte y dejé secar durante la noche en una incubadora a 30° C (86° F). Evita secar más caliente o más de lo necesario.
8. Diluye la muestra para la prueba a una concentración entre 100 y 900 células bacterianas por mililitro. Tu objetivo es tener de 25 a 50 colonias

por placa. Es posible que debas preparar varias diluciones diferentes para mejorar tus posibilidades de obtenerla concentración correcta.

9. Pipetea 0.1 mililitros de la muestra en una placa SDA y extiéndelos con un esparcidor celular estéril.

10. Cierra e invierta las placas. Coloca en una incubadora a 30° C (86° F) en un ambiente anaeróbico para detectar bacterias que estropean la cerveza o un ambiente aeróbico para detectar bacterias que se descomponen en la levadura y el mosto.

11. Si bien es posible que las colonias se formen más temprano, la colonización bacteriana tarda de cuatro a siete días en desarrollarse lo suficiente como para identificar al organismo.

Medio de MacConkey

MacConkey es un medio diferencial que selecciona bacterias Gram-negativas (como *Escherichia coli*) e inhibe el crecimiento de bacterias Gram-positivas debido al violeta cristal y las sales biliares. Contiene dos aditivos que lo hacen diferencial: rojo neutro (un indicador de pH) y lactosa (un disacárido).

Materiales

- Medio MacConkey.
- Agua destilada.
- Autoclave u olla a presión.
- Placas de Petri estériles.
- Erlenmeyer de 500 ml.
- Tapón de espuma o algodón.
- Incubadora.
- 100 ml de cerveza o muestra de agua.
- Aparato de filtración de membrana.
- Bomba aspiradora.
- Almohadilla de filtro (47 mm de diámetro).
- Membrana (tamaño de poro de 0.45 micras).
- Espátula metálica o fórceps.
- Incubadora.

Procedimiento

1. Pesa 5 gramos de agar MacConkey en el Erlenmeyer.

2. Agrega 100 mililitros de agua destilada. Cerrar con un tapón de espuma o algodón y llevar el contenido a ebullición durante 1 minuto con agitación constante para disolverlo.
3. Autoclave a 121° C (250° F) durante 15 minutos.
4. Una vez que el medio alcance los 45° C (113° F), vierte alícuotas de 12 a 15 mililitros en placas de Petri estériles y déjalos solidificar.
5. Sigue el proceso para la filtración de membrana de la muestra de 100 mililitros.
6. Invierte la placa y colócala en una incubadora a 30° C (86° F). Puedes revisar la placa todos los días para ver si está creciendo. Usualmente toma de tres a cinco días en la incubadora para la enumeración de colonias. Las colonias fermentadoras de lactosa aparecen de rojo a rosa. Otras bacterias forman colonias incoloras.

Tinción de Gram

El científico danés Hans Christian Gram inventó la tinción de Gram en 1884 en un esfuerzo por ayudar a la taxonomía de las bacterias. La tinción de Gram te permite separar las bacterias no identificadas en dos grupos: grampositivo y Gram negativo. Si bien la separación puede no parecer importante en la clasificación de bacterias, tiene un gran valor para los laboratorios de elaboración de cerveza. Seis de los aproximadamente dieciocho contaminantes bacteriológicos comunes de la fábrica de cerveza son Gram- positivos. Aunque esto no proporciona una identificación definitiva de la bacteria, es una herramienta útil para reducir el campo de posibles dañinos de la cerveza. El procedimiento de tinción de Gram consiste en una tinción primaria, un agente de captura, un agente decolorante y una tinción de contraste. Las células Gram-positivas retienen la mancha violeta cristal y aparecen violetas. Las células Gram-negativas no retienen la tinción de cristal violeta y retienen la contratinción de color rosa de safranina en su lugar. Mientras que las células Gram-positivas y Gram-negativas pueden tomar el colorante violeta cristal, solo las células Gram-positivas pueden retenerlo. El agente decolorante destruye parcialmente la pared de células Gram-negativas, inhibiendo su capacidad de retener el tinte de cristal violeta y permitiendo que la safranina tome control. Además de la ayuda de identificación bacteriana, la tinción de Gram aumenta la definición de estructura y patrón celular. Puedes complementar la tinción de Gram con otras pruebas, como la reacción de catalasa y la reacción de oxidasa, para identificar el microbio en cuestión.

Materiales

- Portaobjetos.

- Botella enjuagada llena de agua.
- Cristal violeta.
- Yodo de Gram.
- 95% de alcohol etílico.
- Safranin.

Preparando un Frotis

1. Usando un asa de inoculación, transfiere una gota del cultivo al portaobjeto. Si el cultivo contiene demasiadas bacterias, el frotis será demasiado denso, lo que hace que una buena tinción sea casi imposible.
2. La cantidad adecuada de bacterias será un punto de material apenas visible en el ciclo.
3. Extiende la gota a un diámetro del tamaño de una moneda de diez centavos (unos 18mm) y deja secar al aire.
4. Sostén el portaobjetos con un broche, y fíjalo sobre una llama suave durante unos segundos. Mantén el portaobjetos moviéndose sobre la llama para evitar puntos calientes. Esto ayuda a adherir el cultivo al portaobjeto sin quemarlo y causar cambios morfológicos.

Procedimiento

1. Prepara un frotis bacteriano del cultivo en cuestión.
2. Usando pinzas o un broche para sujetar el portaobjetos, inunda el frotis con cinco gotas o menos de violeta cristal y espera 60 segundos.
3. Vierte la mancha y enjuaga muy suavemente debajo del grifo o con una botella de enjuague. Solo debes enjuagar el exceso de tinte, no eliminar la mancha del portaobjeto. No enjuagues excesivamente.
4. Inunda el portaobjeto con cinco gotas más o menos de yodo de Gram durante 60 segundos.
5. Vierte el yodo y enjuaga.
6. Decoloriza agregando gotas de alcohol etílico al 95% sobre el frotis hasta que la solución salga limpia. Espera demasiado tiempo o enjuaga demasiado, y eliminarás demasiada tinción de las células. Este es uno de los pasos más importantes. Si siempre obtienes resultados Gram-negativos incluso cuando se tiñen bacterias Gram-positivas, entonces estás exagerando.
7. Tan pronto como se aclare, enjuaga inmediatamente con agua.
8. Inunda el portaobjetos con cinco gotas más o menos de contratinción de safranina durante 30 segundos.
9. Vierte la contratinción y enjuaga.

10. Agita el exceso de agua o seca suavemente con una toalla de papel y deja que se seque al aire.

11. Examina bajo un microscopio. Gram-positivo es azul o morado y Gram-negativo es rosado o rojo.

Pruebas de Levaduras Salvajes

Al igual que las bacterias, puedes detectar levaduras salvajes con medios especializados, aunque es más difícil detectar levaduras salvajes que bacterias. La levadura salvaje se comporta más como la levadura de cerveza, por lo que una pequeña cantidad de contaminación de la levadura salvaje puede ser difícil de encontrar dentro de una gran población de levadura de cerveza. Sin embargo, es importante hacer el esfuerzo, ya que la levadura salvaje puede crear sabores plásticos, fenólicos y similares a curitas. Existen varios tipos de medios que puedes usar para ayudar en la búsqueda de levadura salvaje.

Medio de Levadura Salvaje de Lin o Medio de Sulfato Cúprico de Lin (LWYM = Lin's Wild Yeast Medium o LCSM = Lin's Cupric Sulfate Medium)

El Medio de Levadura Salvaje de Lin (LWYM) usa cristal violeta para inhibir el crecimiento de la levadura de cerveza y al mismo tiempo permite que la levadura salvaje *Saccharomyces* crezca. Si deseas seleccionar levadura salvaje (no *Saccharomyces*) el medio de sulfato cúprico de Lin (LCSM) utiliza sulfato cúprico para permitir el crecimiento de levadura salvaje sin *Saccharomyces*. Al colocar en placas en cualquiera de estos medios, puedes determinar si hay levadura salvaje con la levadura de cerveza. Ciertas cepas de levadura de cerveza aún mostrarán micro colonias en medios de levadura salvaje, por lo que es importante conocer su morfología típica y tener en cuenta cualquier diferencia anormal.

Materiales

- LWYM o LCSM.
- Agua destilada.
- Pipetas estériles.
- Pipeta mecánica.
- Tubos de cultivo estériles de 16 x 150 mm.

- Erlenmeyer de 500 ml.
- Tapón de espuma o algodón.
- Incubadora.
- Autoclave u olla a presión.

Procedimiento

1. Mide 4 gramos de LWYM o LCSM en 100 mililitros de agua destilada en un matraz Erlenmeyer de 500 ml.
2. Agrega 1 mililitro de solución de cristal violeta (LWYM) o solución de sulfato cúprico (LCSM).
3. Disuelve el medio calentando hasta hervir. Arremolinar con frecuencia.
4. En autoclave o cocina a presión a 121° C (250° F) durante 15 minutos.
5. Vierte las placas estériles con alícuotas de 12 a 15 mililitros del medio y déjalo solidificar.
6. Refrigera las placas LWYM durante 24 a 48 horas antes de usar, pero usa dentro de los cinco días. Puedes usar placas LCSM inmediatamente o refrigerarlas, pero utilícelas en tres días.
7. Diluye el cultivo de levadura en aproximadamente 5 millones de células por mililitro. Pipetea 0.2 mililitros de la muestra diluida en LWYM o LCSM. Dispersa el cultivo sobre la superficie, usando un esparcidor celular estéril.
8. Coloca en una incubadora y mantén a 28° C (82° F) durante cuatro a seis días. Puedes asumir colonias distintas (ignora las micro colonias) que pueden ser levaduras salvajes.

Medio de Lisina

Los medios de lisina utilizan L-lisina para proporcionar a los organismos una fuente de nitrógeno. La mayoría de las levaduras de *Saccharomyces* no pueden usar la lisina como su única fuente de nitrógeno, lo que las hace lisinas negativas. Muchas otras cepas de levadura (que no son *Saccharomyces*) utilizan lisina-N y crecen en medio de lisina, lo que las hace lisígenas.

Materiales

- Agua destilada.
- Extracto de levadura.
- Monohidrocloruro de Lisina.
- Agar.

- Erlenmeyer de 500 ml.
- Placas de Petri estériles de 100 x 15 mm.
- Pipeta estéril.
- Esparcidor de células estéril.
- Tapón de espuma o algodón.
- Autoclave u olla a presión.
- Membrana de filtración estéril.

Procedimiento

1. Disuelve 2,35 gramos de extracto de levadura en 100 mililitros de agua destilada y filtro estéril.
2. Agrega 0.5 gramos de lisina y 4.0 gramos de agar a 100 mililitros de agua destilada, y autoclave a 121° C (250° F) por 15 minutos. Mientras aún esté líquido, agrega el líquido del paso anterior.
3. Enfría a 45° a 50° C (113° a 122° F). Mezcla bien 1 mililitro de muestra de prueba con 12 a 15 mililitros del medio de lisina en una placa estéril y deja solidificar.
4. Diluye el cultivo de levadura a aproximadamente 5 millones de células por mililitro. Pipetea 0.2 mililitros de la muestra diluida en la placa. Extender uniformemente sobre la superficie con un esparcidor celular estéril.
5. Incuba a 27° C (80° F) durante dos a seis días, y determina la cantidad de levadura salvaje por mililitro de la muestra original.

Medio de Wallerstein

Los medios nutritivos de Wallerstein Laboratories vienen con y sin cicloheximida. El medio diferencial de Wallerstein Laboratories (WLD) contiene cicloheximida, que es un antibiótico que mata a la mayoría de las levaduras y mohos que se elaboran, al tiempo que permite el crecimiento de bacterias cerveceras comunes. Wallerstein

Laboratories Nutrient (WLN) no contiene cicloheximida y no es selectivo, lo que permite el crecimiento de la levadura de cerveza, la levadura salvaje, las bacterias y el moho. Tanto WLN como WLD contienen indicador verde de bromocresol, que hará que los medios se aclaren de azul a amarillo o verde claro en presencia de bacterias que secretan ácido. También puedes incubar placas de Wallerstein aeróbica y anaeróbicamente. Las condiciones aeróbicas ayudarán a identificar el ácido acético y las bacterias entéricas, mientras que las condiciones anaeróbicas ayudarán a identificar Lactobacillus y Pediococcus.

Materiales

- Agua destilada.
- Medio en polvo WLN o WLD.
- Erlenmeyer de 500 ml.
- Placas de Petri estériles de 100 x 15 mm.
- Tapón de espuma o algodón.
- Autoclave u olla a presión.

Procedimiento

1. Pesar 8 gramos de medio WLN o WLD y colocar en Erlenmeyer de 500 ml.
2. Agrega 100 mililitros de agua destilada, déjalos en remojo durante 10 minutos y luego agita para mezclar. Cerrar con un tapón de espuma o algodón, y llevar el contenido a ebullición durante 1 minuto con agitación constante para disolverlo.
3. Autoclave a 121° C (250° F) durante 15 minutos.
4. Deja que el medio se enfríe un poco (aproximadamente 20 minutos) antes de verter las placas. Alternativamente, una vez que el medio se haya enfriado, puedes cerrar la tapa herméticamente y colocarla en un lugar de almacenamiento en frío para recalentarla y verterla más tarde.
5. Mientras el medio se está enfriando, marca las placas estériles con el tipo de medio y la fecha.
6. Vierte las placas estériles con alícuotas de 12 a 15 mililitros del medio y deja que se solidifique.
7. Diluye el cultivo de levadura en aproximadamente 5 millones de células por mililitro. Pipetea 0.2 mililitros de la muestra diluida en la placa. Dispersa el cultivo sobre la superficie, usando un esparcidor celular estéril.
8. Coloca en una incubadora y mantén 48 horas aeróbicamente a 30° C (86° F) para bacterias o anaeróbicamente a 27° C (80° F) para levadura.
9. Las colonias de bacterias del ácido láctico crecerán más anaeróbicamente. Las colonias se verán igual, pero serán más pequeñas cuando se desarrollen aeróbicamente. Las colonias de *Pediococcus* aparecen de color verde amarillento y son lisas, mientras que las colonias de *Lactobacillus* aparecen de color verde oliva y pueden ser lisas o ásperas.
10. Solo verás bacterias de ácido acético (*Acetobacter*, *Gluconobacter*) en placas cultivadas aeróbicamente. Las colonias aparecerán de color verde azul y la textura es suave. El medio que rodea las colonias también cambiará de color debido al ácido que producen las bacterias.

11. Las bacterias entéricas (Citrobacter, Enterobacter, Klebsiella, *Obesumbacterium*) varían de azul verdoso a amarillo verdoso y a veces son translúcidas. Tienen una textura suave y viscosa, pero el medio alrededor de las colonias no cambia de color, ya que no producen ácido.

Dilución Serial

Muchas veces tu trabajo de laboratorio requerirá una concentración específica de células de levadura. Por ejemplo, es imposible contar las células sin obtener primero la concentración correcta de levadura. Demasiado poco o demasiado, y no podrás obtener un recuento exacto. Por supuesto, la cantidad de dilución necesaria depende de la concentración inicial y la concentración final deseada. Si necesitas hacer más de una dilución 1:10, es mejor hacer una dilución en serie para mayor precisión.

Materiales

- Tubos estériles con tapa de 13 x 100 ml con 9 mililitros de agua estéril en cada uno.
- Pipeta estéril.
- Bomba de pipeta.

Procedimiento

1. Configura los tubos de ensayo en un estante para diluciones sucesivas (según la tasa de dilución deseada).
2. Etiqueta la tasa de dilución de cada tubo y afloja las tapas.
3. Agita la levadura y pipetea 1 mililitro de levadura en el tubo de agua de 9 mm. Bombéala pipeta varias veces en el tubo para mezclar la levadura y el agua. Esto crea una dilución de 1:10.
4. Usando la misma pipeta, quita 1 mililitro de esta levadura diluida y coloca en el siguiente tubo de agua. Esto crea una dilución 1: 100.
5. La siguiente dilución hace 1: 1000, que es la dilución habitual para contar la suspensión de levadura.
6. Puedes continuar con más diluciones si es necesario.

Conteo de Células

Una de las maneras más comunes de contar la cantidad de células de levadura en una suspensión líquida es con un microscopio y un hemocitómetro. También es conveniente, porque puedes agregar tintes simples a la levadura y determinar la viabilidad al mismo tiempo. Antes de poder realizar un conteo de células, necesitas tener la concentración correcta de levadura. Muy pocas células en suspensión, y no verás suficientes células para contar con precisión. Demasiadas células en suspensión y el campo del hemocitómetro estará demasiado lleno para obtener un recuento exacto. Algunas fuentes de levadura necesitan más dilución que otras. Aquí hay una guía para el conteo de células:

Figura 6.15:

Cerveza	Sin dilución
Cerveza fermentando	dilución 1:10 o 1:100
Barro de levadura	dilución 1:1000

Requisitos comunes de dilución para diversas fuentes de levadura.

Materiales

- Microscopio con un aumento mínimo de 400X para contar la levadura. Necesitas iluminación incorporada, condensador ajustable con control de diafragma de apertura, platina mecánica y ocular binocular. Sin los controles de etapa mecánica x / y, es casiimposible contar las células. Mientras que un microscopio de contraste de fase puede ser mejor para obtener imágenes de los detalles finos, un microscopio de campo brillante mucho menos costoso es más que adecuado para contar células.
- Hemocitómetro.
- Desliza el cubreobjetos del hemocitómetro (más grueso que el cubreobjetos estándar).
- Pipetas de vidrio de punta fina.
- Contador de mano.
- Pipetas de transferencia.
- Toallitas Kimwipes (o similar).
- Solución de azul de metileno (si también se verifica la viabilidad).

Preparación de la muestra

1. El paso más crítico de este procedimiento es preparar una muestra debidamente diluida. Una muestra altamente concentrada puede ser demasiado difícil de contar, y una muestra muy diluida puede dar resultados erróneos. Desea menos de 100 células por campo de microscopio (5 x 5 cuadrados) a 400X. Asegúrate de anotar tu factor de dilución (consulta “Dilución en serie”, pág. 244).
2. Al preparar la muestra, puedes usar agua destilada. Los grupos de levadura también producen imprecisiones. Si estás trabajando con una cepa altamente floculenta, primero intente agitar violentamente. Si aun así no se rompe, es posible que debas usar una solución de H₂SO₄ al 0.5 por ciento en lugar de agua destilada o agrega EDTA, que unirá el calcio y permitirá que la levadura se separe. Para usar EDTA, centrifuga la levadura y elimina el líquido. Vuelve a agregar el mismo volumen de una solución de EDTA (100 g /L, 0.268 M) y procede con normalidad.
3. Si estás combinando el conteo de células con las pruebas de viabilidad de las células de levadura, tu etapa de dilución final debe ser mezclar 1 mililitro de su muestra de levadura con 1 mililitro de solución de azul de metileno. Mezcla y déjalo reposar durante aproximadamente uno o dos minutos antes de llenar la cámara del hemocitómetro. De nuevo, asegúrate de que la muestra esté bien mezclada.
4. Es imperativo que mezcles bien tu muestra (sin introducir burbujas). Una vez que hayas preparado la dilución correcta, mezcla la muestra invirtiendo y / o agitando durante varios minutos. Es posible que debas ventilar la muestra para evitar la acumulación de presión.
5. Es importante que la muestra contenga la menor cantidad de burbujas de aire posible, de gas si es posible.

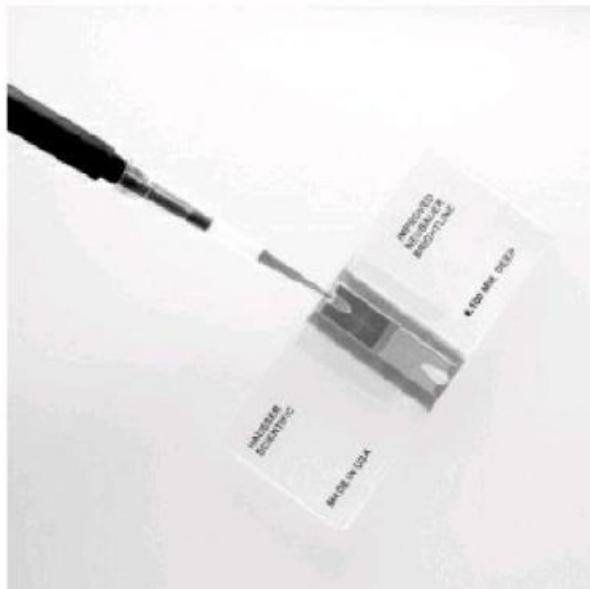
Procedimiento

1. Asegúrate de que tu hemocitómetro esté limpio y seco antes de su uso. Puedes limpiarlo con agua. Si es necesario, puedes frotar suavemente la cámara de recuento con una toallita sin pelusa (Kimwipe), pero un enjuague adecuadamente después de cada uso evitarás que tengas que fregar la cámara.
2. Coloca un cubreobjetos de manera que el vidrio cubra ambas áreas de conteo por igual.
3. Coloca la punta de una pipeta de vidrio en el líquido de muestra, y deja que se llene por acción capilar (extendido hacia arriba automáticamente). Seca todo exceso de la punta en una toalla de papel antes de llenar la cámara del hemocitómetro. Coloca suavemente la punta de la pipeta en el borde de la cámara en el corte grabado y dispensa (Figura 6.16). Ten cuidado de no llenar

demasiado la cámara; la muestra no debe fluir al foso. Si la cámara muestra burbujas de aire, tiene áreas secas (insuficientemente llenas) o está desbordando, debes limpiar el hemocitómetro y comenzar de nuevo.

4. Coloca con cuidado el hemocitómetro en la platina del microscopio. Comienza con un aumento bajo para centrar el hemocitómetro (Figura 6.20). Trabaja hasta 400 aumentos, teniendo en cuenta la distribución de las células de levadura en la cámara. Si las celdas aparecen distribuidas uniformemente, puedes usar el método de recuento de células corto. Si las células aparecen agrupadas, es posible que debas utilizar el método de conteo de células largo o preparar otra muestra. Si parece que tienes muy pocas células o más de 100 células por cuadrícula pequeña de 5 x 5, entonces debes preparar una nueva muestra. Idealmente, debería haber aproximadamente 50 células por cuadrícula pequeña de 5 x 5.

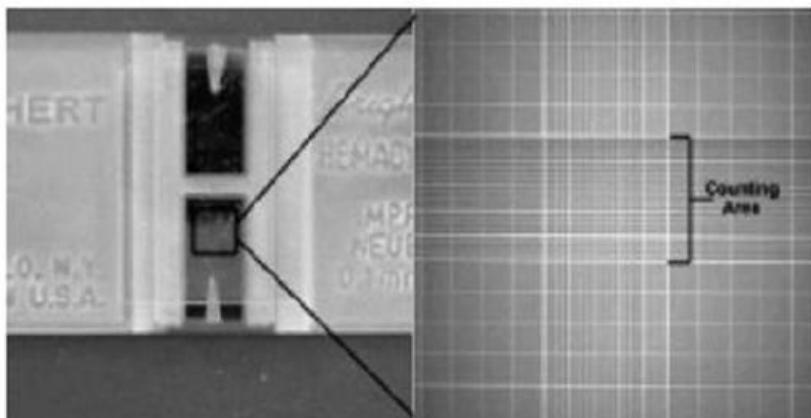
Figura 6.16:



Llenando el hemocitómetro.

5. Contarás las células en los cuadrados ubicados centralmente dentro del área de 1 mm x 2 trazada en la cámara (Figura 6.17). Es útil establecer un protocolo de conteo para todos los conteos de células. Por ejemplo, no contamos células tocando o situadas en las líneas del límite superior e inferior, mientras que sí contamos las células que tocan o se encuentran en la parte inferior o en las líneas fronterizas izquierdas (Figura 6.21). Consideramos que los brotes de células de levadura emergen de las células madre solo si el brote tiene al menos la mitad del tamaño de la célula madre.

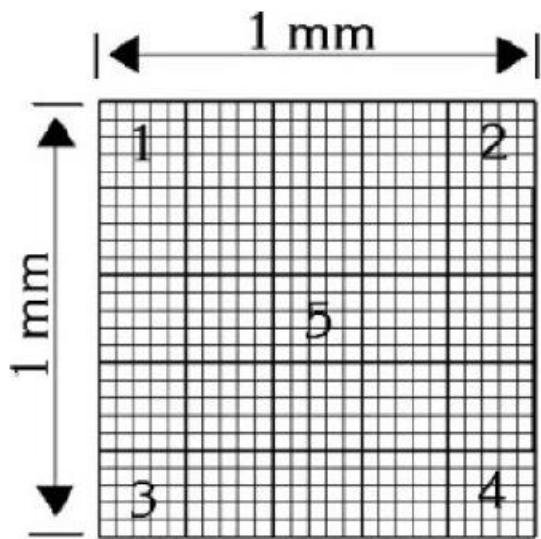
Figura 6.17:



Cámara del hemocitómetro y rejilla de conteo magnificada.

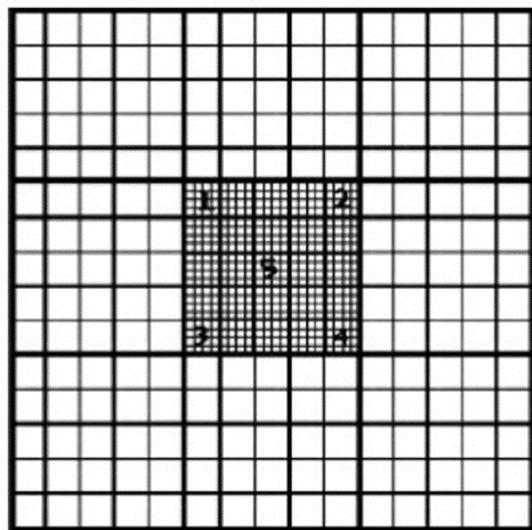
6. Si se realiza el conteo de viabilidad, las células muertas se teñirán de azul oscuro, ya que no pueden metabolizar el tinte intruso (Figura 6.22). Las células de color azul pálido y las células en círculos que se tiñen de azul no están muertas. Si estás realizando un conteo de células y un recuento de viabilidad simultáneamente, es mejor contar todas las células (tanto vivas como muertas) en el contador del dispositivo portátil y registrar células muertas anotadas en un conteo escrito o en un segundo dispositivo de conteo.

Figura 6.18:



Rejilla de conteo, números agregados.

Figura 6.19:



Rejilla de conteo magnificada, números agregados.

Método de conteo corto, para celdas uniformemente distribuidas

1. Cuenta las células dentro de los 5 cuadrados numerados (Figuras 6.18 y 6.19).
2. Hay 25 de estas cuadrículas más pequeñas. Para estimar el número total de celdas en toda la grilla, multiplica las 5 grillas contadas por 5.
3. Toda la cámara contiene una cantidad precisa de líquido, 1 / 10,000 mililitros. Para calcular cuántas células habría en un mililitro, multiplica el total de células en la cuadrícula por 104 (o 10,000).
4. La fórmula es:

$$\text{Células de levadura/mililitro} = \text{células contadas} \times 5 \times \text{factor de dilución} \times 10^4$$

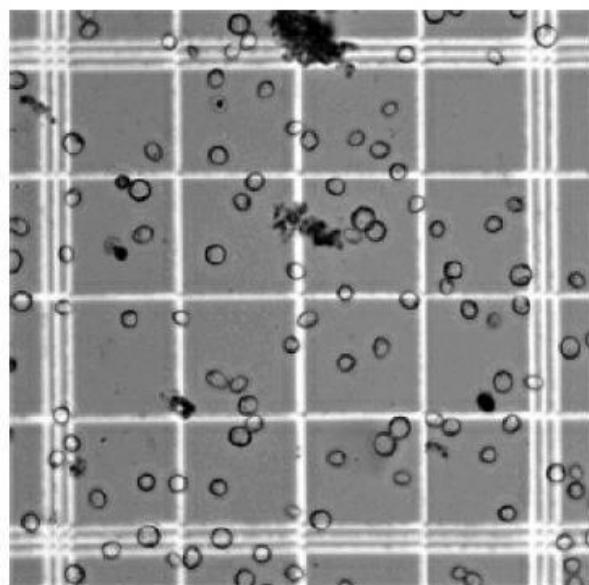
Por ejemplo, si diluiste la levadura en un factor de 200 y contaste 220 células dentro de los 5 cuadrados numerados, calcularías:

$$\text{Células de levadura/mililitro} = 220 \times 5 \times 200 \times 10,000 = 2,200,000,000 \text{ o } 2.2 \text{ billones de células/mililitro}$$

Método de conteo largo, para células distribuidas de forma despareja

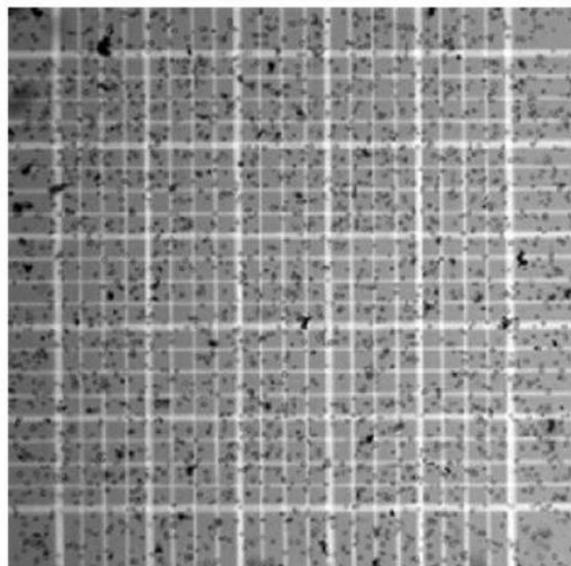
1. Cuenta las células dentro de los 25 cuadrados (Figuras 6.18 y 6.19). Esta es la cantidad total de células en toda la grilla.

Figura 6.20:



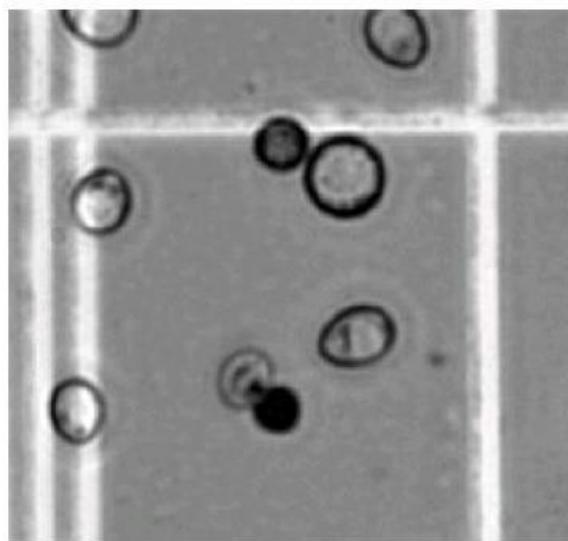
Cámara de hemocitómetro completa de 25 cuadrados de conteo a 10 aumentos. Las células están distribuidas uniformemente, y puedes usar el método corto, contando solo cinco de los cuadrados.

Figura 6.21:



Las células de levadura se ven fácilmente y se cuentan a 400X. El turbioaparecerá como globos, visto aquí en la parte superior y en el centro de la cuadrícula, teñido con tinte. Usa el mismo protocolo de conteo (reglas) para cuando cuentas una célula o no. No se cuentan las células que tocan o que se encuentran en la parte superior y en las líneas de límite triple correctas. Cuenta las células que se encuentran en la parte inferior o en las líneas izquierdas. Solo se cuentan los brotes de levadura si tienen al menos la mitad del tamaño de la célula madre. En esta imagen, contarías 69 celdas en total, con 1 muerta.

Figura 6.22:



Las células muertas se tiñen de azul oscuro. Las células que todavía están claras o de color azul pálido siguen vivas (a la izquierda del centro).

Las células brotando pueden teñirse de azul oscuro, pero aún están vivas (centro). Las células brotando están ocupadas con el metabolismo del crecimiento y no metabolizan el colorante.

2. Toda la cámara contiene una cantidad precisa de líquido. Para calcular cuántas células habría en un mililitro, multiplica el total de células en la cuadrícula por 104 (o 10,000).

3. La fórmula es:

$$\text{Células de levadura/mililitro} = \text{células contadas} \times \text{factor de dilución} \times 104$$

Por ejemplo, si diluyes la levadura por un factor de 200 y contabilizas 1.100 células dentro de los 25 cuadrados, deberías calcular:

Células de levadura/mililitro = 1,100 x 200 x 10,000 = 2,200,000,000 o 2.2 billones de células/mililitro

Cálculo de viabilidad.

La fórmula para calcular la viabilidad:

Viabilidad % = (total contado - recuento de células muertas) / total contado x 100

Suponiendo que contáramos 35 muertas de nuestras 1,100:

Viabilidad % = (1,100 - 35) / 1,100 x 100 = 96.8%

Viabilidad

El método ampliamente aceptado para la prueba de viabilidad se tiñe con azul de metíleno. Mientras que el azul de metíleno es el método más aceptado en la industria, la mayoría no lo considera una prueba válida cuando los valores caen por debajo del 90%, y algunas personas prefieren otros colorantes también descritos a continuación. Las condiciones alcalinas (10.6 pH) del azul de metíleno alcalino y la violeta dan como resultado una penetración celular más rápida y se dice que proporcionan una evaluación más realista de la viabilidad de la levadura. Consulte “Conteo de células” para obtener más información sobre cómo contar y calcular el porcentaje de viabilidad.

Azul de Metíleno (MB)

El azul de metíleno está disponible en muchas formas y grados. Generalmente puedes comprarlo en función del precio y la comodidad. Para preparar una solución madre a partir de polvo:

1. Pesar 0,1 gramos de azul de metíleno y colocar en un recipiente.
2. Agrega agua destilada hasta un volumen final de 100 mililitros.
3. Haz girar la botella para disolver el polvo.
4. Esta es una solución de azul de metíleno al 0.1 por ciento. Mezcla o compra una solución madre de azul de metíleno (0.1%). Cuando diluyas la levadura para el conteo de células, agrega 1 mililitro de tu muestra de levadura a 1 mililitro de azul de metíleno como tu paso final. Mezcla y déjalo reposar durante

aproximadamente uno o dos minutos antes de llenar la cámara del hemocitómetro. Las células muertas se tiñen de azul oscuro, ya que no pueden metabolizar el tinte intruso (Figura 6.22). Las células de color azul pálido y las células brotando que se tiñen de azul no están muertas.

Azul de Metileno Citrato (CMB)

1. Pese 2 gramos de ácido cítrico y colócalo en un recipiente.
2. Agrega 10 mililitros de solución de 0,1% de azul de metileno al ácido cítrico.
3. Agrega agua destilada para obtener un volumen total de 100 mililitros. Esta es una solución al 0.01 por ciento.
4. Diluye la muestra de levadura con agua desionizada estéril a una concentración de 1×10^7 células por mililitro. Agrega 0,5 mililitros de esa suspensión de levadura a 0,5 mililitros de CMB y agita suavemente.
5. Cuenta las células microscópicamente después de dos minutos. Cuenta las células azul oscuro como muertas. Repite la prueba dos veces más y promedia los resultados.

Azul de Metileno Alcalino (AMB)

1. Diluye diez veces la solución de azul de metileno (0,1%) con una solución tampón de glicina 0,1 M a pH 10,6.
2. Agrega 0,5 mililitros de suspensión de levadura (1×10^7 células / ml) a 0,5 mililitros de solución alcalina de tinción de azul de metileno.
3. Mezcla e incuba durante 15 minutos a temperatura ambiente.
4. Cuenta las células microscópicamente. Cuenta las células azul oscuro como muertas. El azul pálido y las células no teñidas se cuentan como vivientes. Repite la prueba dos veces más y promedia los resultados.

Violeta de Metilo Alcalino (AMV)

Prepara AMV usando el mismo método que con AMB, sustituyendo el violeta de metileno 3RAX por azul de metileno. Considera las células muertas que muestran cualquier variación de rosa. Realiza la prueba tres veces y promedia los resultados.

Conteo en Placa Estándar (SPC)

Un método sin tinción para probar la viabilidad es el conteo de placa estándar. Agregas una cantidad conocida de levadura a una placa y cuentas las colonias que resultan. Por ejemplo, si colocas exactamente 100 células y 95 crecen en colonias, esa sería

una viabilidad del 95 por ciento. Los laboratorios rara vez usan este método debido al error asociado con la determinación del número de células plaqueadas. Para realizar esta prueba, diluye la levadura con agua desionizada estéril para lograr una concentración de 1×10^3 células por mililitro. Pipetear 0,1 mililitros de solución de levadura diluida por placa en tres o más placas de agar nutritivo de 100 x 15mm y distribuir uniformemente. Incubar las placas a 27° C (80° F) durante 42 horas. Cuenta las colonias individuales en cada placa y utilícelas para calcular la viabilidad promedio como un porcentaje.

Vitalidad

No hay ningún método estándar para las pruebas de vitalidad. La industria continúa buscando un método rápido, fácil y reproducible. Actualmente, el método más popular es la prueba de poder ácido. La idea es que la levadura activa disminuirá el pH de un medio (lo acidificará), por lo que cuanto más rápido la levadura acidifique el medio, mayor será su vitalidad.

Prueba de Poder de Acidificación (AP)

Materiales

- Medidor de pH.
- Agua desionizada.
- Tubo de centrífuga cónico de 50 ml.
- Barra de agitación cónica.
- Solución de glucosa al 20%.

Procedimiento

1. Calibra tu medidor de pH usando el método de 2 buffers antes de cada serie de ensayos.
2. Ajusta el agua desionizada a aproximadamente 6.5 pH.
3. Coloca 15 mililitros de agua desionizada estéril en un tubo de centrífuga cónico de 50ml que contenga una barra de agitación cónica.
4. Controla el pH del agua mientras agitas constantemente durante cinco minutos.

5. Al final de los cinco minutos, registra la lectura de pH (AP0) y agrega 5 mililitros de barro de levadura enjuagada y concentrada (1×10^9 células / ml) al tubo de centrífuga.
6. Agita durante 10 minutos y registra el pH (AP10).
7. Inmediatamente agrega 5 mililitros de glucosa al 20 por ciento.
8. Agita durante 10 minutos y toma una lectura final de pH (AP20). La potencia de acidificación es la diferencia entre las lecturas AP20 y AP0.
9. Repite dos veces más y promedia los resultados.

Diferenciación de la Levadura Ale y Lager

Puede haber momentos en los que no se sabe si una cepa es una levadura ale o una lager. Tal vez hayas adquirido una nueva cepa, o quizás quieras asegurarte de que no has contaminado cruzada mente un cultivo ale y uno lager. Puedes diferenciar cepas ale y lager por dos métodos, ya sea por la capacidad de crecer a 37° C (99° F) o por la capacidad de crecer con melibiosa.

Por Crecimiento a 37°C

La levadura lager tiene una tolerancia a la temperatura más baja que las cepas ale. Las cepas ale pueden crecer a 37° C (99° F) pero la levadura lager no puede.

Materiales

- Micropipeta.
- Puntas de pipeta estériles.
- Guantes.
- Mechero Bunsen.
- Encendedor.
- Esparcidor de células.
- Placas grandes YPD.
- Tubos de ensayo con 9 mililitros de agua estéril.
- Incubadoras.

Procedimiento

1. El primer paso varía según el tipo de muestra. Si la levadura se almacena en una placa, coloca de 5 a 10 colonias de levadura en 9 mililitros de agua estéril usando técnicas

asépticas. Si la muestra de levadura está en una solución de malta, realiza una dilución 1:10 usando una técnica aséptica.

2. Agita el tubo de ensayo para que no haya levadura en el fondo.
3. Tendrás que preparar dos placas YPD por muestra de levadura: una para incubar a 25°C (77° F) y otra a 37° C (99° F). Rotula los tubos de ensayo y las placas YPD con el nombre de la muestra o el número y la fecha.
4. Lleva las muestras y placas YPD cerca de la llama. Abre la tapa y pipetea 150microlitros de la dilución de levadura en cada placa YPD.
5. Extiende la dilución de levadura uniformemente en la placa. (Asegúrate de usar un esparcidor celular esterilizado).
6. Repite este procedimiento para todas las muestras.
7. Deja que las placas se sequen durante aproximadamente una hora. Coloca una placa YPD en una incubadora a 37° C (99° F) y la otra en una incubadora a 25° C (77° F) durante tres días.
8. Registra los resultados de crecimiento, o no crecimiento, a ambas temperaturas. Tanto la levadura ale como la lager pueden crecer a 25° C (77° F), pero solo las levaduras ale pueden crecer a 37° C (99° F).

Procedimiento

1. El primer paso varía según el tipo de muestra. Si la levadura se almacena en una placa, coloca de 5 a 10 colonias de levadura en 9 mililitros de agua estéril usando técnicas asépticas. Si la muestra de levadura está en una solución de malta, realiza una dilución 1:10 usando una técnica aséptica.

2. Agita el tubo de ensayo para que no haya levadura en el fondo.
3. Tendrás que preparar dos placas YPD por muestra de levadura: una para incubar a 25°C (77° F) y otra a 37° C (99° F). Rotula los tubos de ensayo y las placas YPD con el nombre de la muestra o el número y la fecha.
4. Lleva las muestras y placas YPD cerca de la llama. Abre la tapa y pipetea 150microlitros de la dilución de levadura en cada placa YPD.
5. Extiende la dilución de levadura uniformemente en la placa. (Asegúrate de usar un esparcidor celular esterilizado).
6. Repite este procedimiento para todas las muestras.

Por Crecimiento en Melibiosa

La levadura Lager puede fermentar el carbohidrato melibiosa y la levadura Ale no. Muchos fabricantes de cerveza hablan de esto como la capacidad de fermentar rafinosa que es un azúcar compuesto de melibiosa y fructosa.

Materiales

- Extracto de levadura.
- Peptona.
- Glucosa.
- Agua destilada.
- Verde de bromocresol.
- Tubos de ensayo con tapa rosada (150 x 12 mm).
- Tubos Durham (60 x 5 mm).
- Melibiosa.
- Filtros de membrana, tamaño de poro de 0.45 μm .
- Incubadora.
- Balance.
- Autoclave.
- Asa de inoculación.
- Pipetas.
- Isopropanol.
- Agua esterilizada.

Procedimiento

1. Prepara un caldo de fermentación de extracto de levadura y peptona disolviendo 4,5 gramos de extracto de levadura, 7,5 gramos de peptona y 30 mililitros de verde de bromocresol en 1 litro de agua destilada. Distribuye alícuotas de 2 mililitros en tubos de ensayo con tapa de rosca de 150 x 12 mm, cada uno con un tubo Durham invertido de 60x 5 mm. Poner en autoclave a 121° C (250° F) durante 15 minutos para esterilizar.
2. Prepara una solución de melibiosa al 12 por ciento disolviendo 12 gramos de melibiosa en 100 mililitros de agua destilada. Filtra estéril la solución.
3. Prepara una solución de glucosa al 6 por ciento disolviendo 6 gramos de glucosa en 100 mililitros de agua destilada. Filtra estéril la solución.
4. Saca las placas de levadura para probar.
5. Sanitiza el banco de laboratorio y los guantes usando isopropanol. Prepara la llama.
6. Vas a preparar tres tubos para cada cepa para analizar: melibiosa, glucosa y extracto de levadura-peptona.
7. Prepara 4 por ciento de tubos de caldo de fermentación de melibiosa. Uno a la vez, acerca cada tubo de caldo de fermentación de extracto de levadura y peptona a la llama. Pipetea

1 mililitro de solución de melibiosa al 12 por ciento en el tubo. Cierra la tapa y reserva.

8. Prepara tubos de caldo de fermentación de glucosa al 2 por ciento. Lleva los tubos de caldo de fermentación de extracto de levadura y levadura cerca de la llama. Pipetea 1 mililitro de la solución de glucosa al 6 por ciento en los tubos de ensayo. Este es tu control positivo.

9. Prepara los tubos de caldo de fermentación de levadura y peptona. Lleva los tubos de caldo de fermentación de extracto de levadura y levadura cerca de la llama. Pipetea 1 mililitro de agua estéril en los tubos de ensayo. Este es tu control negativo.

10. Usando un asa de inoculación estéril, toma de 2 a 4 colonias de levadura (dependiendo de su tamaño) de la placa.

11. Toma un tubo de cada caldo de cultivo y coloca cuidadosamente las colonias en el caldo. Asegúrate de flamear el asa de inoculación cada vez antes de volver a la placa para obtener más colonias.

12. Coloca en la incubadora a 25° C (77° F).

13. Verifica los días 1, 2, 3 y 7. Registra cualquier cambio del colorante indicador en amarillo y la producción de gas en el tubo Durham. El control negativo (tubo de caldo de fermentación de extracto de levadura-peptona) no debe mostrar cambio de color ni producción de gas. El control positivo (tubo de caldo de fermentación de glucosa) debe mostrar un cambio distinto al amarillo, lo que indica producción de ácido y producción de gas en el tubo de Durham. Si estos controles no muestran estos resultados, entonces la prueba no es válida.

14. Son los tubos de caldo de fermentación de melibiosa los que indican si la cepa es una levadura ale o una levadura lager. Si hay producción de ácido y gas, entonces puedes asumir que la cepa es una levadura lager. Si no hay indicación de ácido (color amarillo) y no producción de gas (atrapado en el Tubo Durham) entonces puedes asumir que la cepa es una levadura ale.

Medio X-alfa-GAL

Este es otro método para probar la levadura para ver si una muestra de levadura tiene la capacidad de fermentar melibiosa. Utilizarás X-alfa-GAL (5-Bromo-4-Chloro-3-indolyl alpha-D-galactósido), que es un sustrato cromogénico para la alfa-galactosidasa. La alfa-galactosidasa es la enzima que hace posible que una célula utilice melibiosa. La levadura Lager tiene actividad alfa-galactosidasa, la levadura ale no.

Materiales

- N, N-dimetilformamida o dimetilsulfóxido.
- 5-Bromo-4-cloro-3-indolil-alfa-D-galactósido (X-alfa-GAL).
- Glicerol.
- D-galactosa.
- Extracto de levadura.
- Bactopeptone.
- Agar.
- Etanol.
- Tubos de ensayo.
- Hemocitómetro.
- Placas de Petri.
- Asa de inoculación.
- Micropipeta.
- Puntas de pipeta estériles.
- Guantes.
- Vial de reactivo.
- Matraz de 2 litros.
- Agua destilada.
- Mechero Bunsen.
- Esparcidor de celda.
- Placas grandes YPD.
- Microscopio.

Procedimiento

1. Prepara la solución madre de X-alfa-GAL disolviendo 25 miligramos de X-alfa-GAL con 1,25 mililitros de N, N-dimetilformamida o dimetil sulfóxido en un vial de reactivo. Almacena a 4° C (39° F) en la oscuridad.
2. Esteriliza el banco de laboratorio y prepara la llama.
3. Etiqueta cada placa de agar YPD con el nombre y la fecha de la muestra de levadura apropiados.
4. Pipetea 100 microlitros de solución stock X-alfa-GAL en cada placa de agar YPD. Extiéndelo uniformemente usando el esparcidor celular. Flamea al esparcidor entre cada uso. Deja que la placa permanezca en la oscuridad durante 30 a 60 minutos.
5. Determina el recuento celular de la muestra con un hemocitómetro y un microscopio.
6. Coloca probetas de agua de 9 mililitros en una gradilla. Diluye la muestra de levadura de 100 a 200 colonias por 100 microlitros.

7. Lleva una placa YPD y diluye la muestra cerca de la llama. Abre la placa YPD, pipetea 100 microlitros, y extiéndelos uniformemente con un esparcidor celular. Repite el proceso para todas las muestras de levadura, flameando el esparcidor entre cada uso.
8. Deje secar. Incuba las placas en la oscuridad a 25° C (77° F) durante 6 días.
9. Cuenta las colonias. Registra la cantidad de colonias azul-verdes (lager) y el número de colonias blancas (ale).

Diferenciación de Cepas de Levadura

Colonia Gigante

Es difícil distinguir cepas individuales de levadura ale o lager entre sí por apariencia. Una técnica clásica es cultivar la levadura hasta que formen una colonia gigante. En el plaqueado normal, se cultiva la levadura en placas durante aproximadamente dos días, pero si se cultivan más tiempo, las colonias adquieren una apariencia diferente. Resulta que este es un fenómeno específico de cepa; diferentes cepas muestran diferentes morfologías de colonias gigantes. No es un método exacto, pero se puede decir que dos colonias gigantes son cepas diferentes simplemente por su apariencia. Al tomar imágenes de cepas conocidas después de cultivarlas en colonias gigantes, puedes usarlas como referencia más adelante para ayudar a identificar diferentes cepas (Figura 6.23).

Figura 6.23:



Diferentes cepas muestran diferentes morfologías de colonia gigante.

Las mutaciones también causan que las colonias gigantes adquieran una apariencia diferente, por lo que este puede ser un método útil para asegurar que las mutaciones no se acumulen en una población de levaduras.

Materiales

- Cultivo de levadura o barro.
- Agua y tubos estériles.
- Pipetas estériles.
- Placas WLN.
- Esparcidor de célula.

Procedimiento

Este protocolo de colonia gigante es una versión modificada de los métodos tradicionales, que puede implicar tiempos de incubación de 30 días y medios especializados. Este requiere una incubación de 7 días y un medio WLN.

1. Usa una dilución en serie para diluir la muestra de levadura a 100 células por mililitro.
2. Bajo la llama, transfiere estéril 30 microlitros de la suspensión de levadura diluida al centro de una placa WLN. Tu objetivo es plaquear solo de 1 a 3 células.
3. Utilizando un esparcidor celular esterilizado, extiende el cultivo alrededor de la placa.
4. Coloca en una incubadora a 28° C (82° F). Permitir el crecimiento de 5 a 7 días o hasta que se formen colonias gigantes.

Conjunto de Cepas Múltiples

El medio WLN contiene verde de bromocresol, que es un colorante que absorbe la levadura *Saccharomyces* y normalmente no se metaboliza. El medio es inicialmente azul-verde y se vuelve claro a medida que las colonias de levadura en desarrollo toman el colorante. Diferentes cepas toman el tinte de diferentes maneras, y puedes usar este conocimiento para diferenciar las cepas en el cultivo.

Materiales

- Cultivo de levadura o barro.

- Agua y tubos estériles.
- Pipetas estériles.
- Placas WLN.
- Esparcidor de células.

Procedimiento

1. Usa una dilución serial para diluir la muestra de levadura de 500 a 1,000 células por mililitro.
2. Transfiere 0.1 mililitros de esta solución de levadura a la placa WLN y extiéndelos con un esparcidor celular esterilizado.
3. Deja que las placas se incuben durante 2 a 3 días a 27° C (80° F).
4. Inspecciona cuidadosamente las colonias para determinar el número de cepas presentes y los porcentajes relativos en el cultivo. Las diferencias pueden ser bastante sutiles, por lo que puedes necesitar usar otras pruebas para diferenciar las cepas. Si comenzaste con dos cepas en cantidades iguales, el cultivo debe mostrar una mezcla igual de dos colonias de aspecto diferente. Si tu cultivo de cepas mezcladas ha cambiado sustancialmente la composición, deberías considerar comenzar un nuevo cultivo.

Parte 7. Solución de Problemas.

A veces, a pesar de los mejores esfuerzos de un cervecer para hacer todo bien, la fermentación simplemente no funciona como se planeó. Creemos que es mejor si comprendes por qué se produjo un problema, por lo que, en lugar de brindarte solo una solución en esta sección, también ofrecemos sugerencias sobre cómo pensar sobre el origen de los problemas comunes de fermentación.

Fermentación Lenta, Trabada e Incompleta, la Fermentación No Empieza

En la mayoría de los casos, es raro tener una fermentación que nunca comienza, a menos que el cervecer haya cometido un grave error. En general, cuando un cervecer piensa que la fermentación no va a comenzar, es solo que el inicio se retrasa. Si esta es una ale y han pasado menos de 18 horas desde la inoculación, o si es una lager con menos de 36 horas, entonces es muy pronto para suponer que la

fermentación no comenzó. Si finalmente comienza, es posible que deseas revisar la información en esta sección sobre las fermentaciones que tardan en iniciarse. Hay varias causas posibles para que la fermentación no comience por completo, pero el centro más común se basa en la salud de la levadura o la temperatura del mosto. Si la gran mayoría de la levadura está muerta, o la temperatura es tan baja o tan alta que la levadura no pudo comenzar, entonces es posible que tengas una fermentación que no se inicia. Antes de realizar cualquier otra acción, inspecciona el fermentador en busca de signos de un anillo de kraeusen sobre la superficie de la cerveza, y toma lecturas de densidad y de pH. No es extraño que la fermentación se produjera tan rápido que pasara desapercibida para el cervecero. Si la densidad específica de la cerveza ha bajado, pero no a los niveles normales de atenuación, y no ves actividad, revisa la información sobre la fermentación incompleta. Si la densidad específica sigue siendo la misma que en la inoculación, pero el pH ha disminuido de 0.5 a 0.8, entonces es probable que la fermentación esté en curso, aunque no haya signos visibles. En este caso, lo más probable es que debas revisar tus procedimientos para determinar las tasas de inoculación, los niveles de oxígeno y la salud de la levadura. Si no hay cambio de densidad o cambio de pH en los tiempos indicados, es hora de inocular levadura adicional. Idealmente, inocularías la levadura ya activa y en el punto álgido de la fermentación de otro batch de cerveza. Si no tienes esa levadura disponible, entonces otro barro almacenado, propagación de laboratorio, paquete de levadura líquida o levadura seca rehidratada son aceptables. Si la fuente es la misma que el paso anterior, confirma que la levadura sea viable antes de inocular de nuevo. Esto puede ser tan simple como colocar un poco de levadura en un pequeño volumen de mosto a una temperatura cálida de 27° C (80° F) para ver si fermentará. También deberá oxigenar el mosto de nuevo. No hay necesidad de preocuparse por la oxidación y el envejecimiento en este punto, ya que el daño se realizó con la primera dosis de oxígeno si la levadura no la consumió. Este segundo paso de levadura va a utilizar la segunda dosis de oxígeno. Una vez que comience la fermentación, querrás determinar exactamente qué salió mal. Considera las siguientes posibilidades:

1. ¿La levadura estaba muerta, o tenía muy baja viabilidad o vitalidad antes de inocular?
 - A) ¿Revisaste la salud de la levadura?
 - B) ¿Cuál fue la fuente de la levadura?
 - C) ¿Cómo fue transportada, almacenada y manipulada antes de la inoculación? La congelación de paquetes de levadura, starters o barros es más común que lo que piensas.
2. ¿Fue el mosto lo que mató a la levadura?
 - A) ¿Podría la temperatura del mosto haber sido tan alta como 32° C (90 °F)?
 - B) ¿Es posible que el mosto se congeló en algún momento?

C) Aunque poco probable, ¿podría ser que la malta estuviera contaminada con micotoxinas? La malta almacenada en áreas calientes y húmedas puede alcanzar niveles inaceptables. Consulta “Contaminación de malta”.

D) ¿Pudo haber alguna otra fuente de contaminación, en niveles lo suficientemente altos como para dañar o inhibir la levadura?

3. ¿Podrían las condiciones haber sido tan desfavorables para el crecimiento de la levadura que la levadura no pudo comenzar en absoluto?

A) Esto es bastante raro también, siempre y cuando sigas las pautas generales e inocules levadura saludable. Dado el tiempo suficiente, avanzará un poco.

B) ¿Fue la temperatura excesivamente fría? Las temperaturas muy bajas pueden impedir que la levadura se active, en especial si se tomaron en estado de reposo de un ambiente frío y se inocularon en mosto frío. A menos que estés familiarizado con una cepa y sus necesidades de temperatura, apégate a los rangos de temperatura recomendados para una cepa. Es posible que no notes una pequeña caída en la temperatura, pero la levadura es mucho más sensible a los cambios de temperatura.

C) ¿Proporcionaste suficiente oxígeno para la levadura?

D) ¿El mosto era suficiente en nutrientes para la levadura? Usa agua destilada como fuente de la cerveza sin agregar sales minerales, o hacer mosto con grandes porcentajes de azúcares no provenientes de la malta, puede evitar que la levadura crezca.

4. ¿Tiene trub atrapado la levadura en la parte inferior del fermentador? Las variedades inglesas muy floculentas inoculadas en el mosto con grandes cantidades de turbio y lúpulo pueden evitar que la levadura arranque. Considera limitar la cantidad de material trasvasado al fermentador. Si crees que esta es la causa, agita el fermentador cada 15 minutos durante las primeras horas después de la inoculación.

Sin Actividad Después de “X” Horas

Antes que nada, no entres en pánico. Muchos cerveceros, especialmente los cerveceros caseros, ponen demasiado énfasis en ver una fase de latencia muy corta, a menudo en detrimento del sabor de la cerveza. Recuerda que una cantidad apropiada y la tasa de crecimiento de la levadura es vital para desarrollar el sabor de la cerveza. Verifique los siguientes parámetros:

1. ¿Has esperado una cantidad adecuada de tiempo? Una fase de latencia (lag) de doce horas para una cerveza y más para una lager es bastante normal. La temperatura de lager más fría causa un metabolismo de levadura más bajo.

2. Si es una lager, ten más paciencia. Cuanto más frío es el líquido, más dióxido de carbono toma antes de que la cerveza alcance el punto de saturación y las burbujas comiencen a formarse y subir a la superficie. Si estás trabajando con un fermentador que te permite ver la superficie de la cerveza, acércate a la

superficie y enfoca una buena linterna sobre la cerveza en un ángulo bajo. Si hay burbujas pequeñas comenzando, verás un destello en la superficie.

3. Verifica la temperatura de fermentación y asegúrate de medir la temperatura de la cerveza con precisión. Si es así, ¿la temperatura está en un rango aceptable para la levadura? Considera aumentar la temperatura, especialmente si la fermentación lleva ya 24 horas. Una vez que hayas resuelto el problema, determina por qué ocurrió en primer lugar:

1. ¿Comenzaste con una inoculación saludable de levadura en la cantidad adecuada para el batch de cerveza?
2. ¿Tu proceso de propagación o almacenamiento, favoreció la salud de la levadura, no solo el conteo de células?
3. ¿Proporcionó el oxígeno, la velocidad de lanzamiento y los nutrientes que la levadura necesita para un crecimiento y fermentación adecuados?
4. Además, considera la temperatura inicial del mosto. Si bien hay algunos beneficios al comenzar con una temperatura de fermentación ligeramente más baja y permitir que la temperatura suba durante el primer o segundo día, esto solo es válido para levadura muy saludable en el mosto que proporciona una nutrición adecuada y niveles de oxígeno. Si no estás proporcionando esas condiciones, entonces es mejor comenzar con una temperatura de fermentación más cálida.
5. ¿La mutación en tu levadura cosechada o propagada ha causado cambios en el comportamiento?

La Fermentación No Termina

Las fermentaciones que no terminan tienden a tener varias causas: mala salud inicial de la levadura, ambiente pobre en la levadura, bajas tasas de crecimiento o contaminación. Antes de realizar cualquier acción, toma una lectura de densidad específica y compárala con los resultados de tu prueba de fermentación forzada. Si la cerveza tiene una densidad menor que la prueba de fuerza, entonces hay una contaminación bacteriana o de levadura salvaje. Lo más probable es que la cerveza deba ser desechada, aunque aún podría ser bebible por un corto tiempo, dependiendo del tipo de organismo contaminante. Si la lectura de la densidad específica es cercana o coincidente con la prueba de fuerza, entonces puede ser solo un caso de interpretación errónea de la evolución del dióxido de carbono como fermentación. El hecho de que un airlock, una manguera de aireación, burbujea muy lentamente, eso no significa que la cerveza aún esté fermentando. Si estás calentando la cerveza, harás que cambie el punto de saturación de CO₂ de la cerveza, y el CO₂ saldrá de la solución. Lo mismo ocurre con cualquier tipo de movimiento o vibración, que también puede hacer que una solución saturada

burbujeo, al igual que sacudir un refresco. Si la densidad específica es mucho más alta de lo que indica la prueba de fuerza, entonces la fermentación puede estar aún avanzando lentamente. Si no hiciste una prueba de fuerza, entonces no puedes estar seguro de que la cerveza no haya alcanzado la densidad final adecuada para ese mosto. A pesar de que una receta puede sugerir qué densidad final terminal debe alcanzar tu cerveza, aún depende de tu proceso de producción de mosto. Si todavía hay levadura activa, aumenta la temperatura de fermentación en un mínimo de 2° C (5° F) para aumentar la tasa metabólica de la levadura. También puedes despertar la levadura o inocular levadura adicional que esté en el pico de su actividad de fermentación. Si eso no ayuda, puedes considerar la adición de más oxígeno también. Consulta la sección de solución de problemas de “Atenuación” para obtener más ideas.

La Fermentación Parece Incompleta

Consulta la sección de solución de problemas de “Atenuación”.

Cambios en la Floculación

Los cambios de floculación en cultivos de levadura pueden ocurrir bastante veloz

y pueden ser un indicador de muchos otros problemas de salud de la levadura y fermentaciones problemáticas. Una de las causas más comunes de cambio en la floculación es la presión selectiva del cervecero. Si tu recolección y reutilización de levadura siempre favorecen a la levadura más floculante o menos floculante, encontrarás que la población de levadura cambia rápidamente para contener solo esas células. Cuando veas un cambio, sospecha que es la causa más probable. La siguiente causa probable de los cambios de floculación es la mutación de la levadura. Las mutaciones generalmente aumentan con cada generación y pueden dar como resultado cambios fisiológicos en la levadura que inhiben la floculación. Por ejemplo, la levadura mutante respiratoria (*petite* mutante) es menos floculante que la levadura sin esa mutación. Si la levadura es alta en mutantes pequeños, entonces el cervecero generalmente tiene la culpa. Otras posibles razones para la falta de floculación incluyen altos niveles de azúcar que permanecen en la cerveza, turbulencia insuficiente en el fermentador durante la fermentación (posiblemente el diseño del fermentador o bajo vigor de fermentación) y deficiencia de calcio. El calcio juega un papel clave en la floculación de células de levadura. Aunque solo se necesita una pequeña cantidad de calcio para que ocurra la floculación

(niveles inferiores a 10-8 molar pueden evitar la floculación), garantizar un mínimo de cincuenta partes por millón de calcio en el agua de preparación evitará problemas de floculación relacionados con el calcio. Si estás haciendo tu propia agua con agua destilada o con tratamiento de ósmosis inversa, este podría ser el problema. Una razón para la floculación prematura de la levadura puede estar relacionada con la malta. Aunque los investigadores aún no han determinado la causa exacta, existe un vínculo potencial entre la malta mal modificada, la cebada contaminada y la floculación. La investigación ha demostrado que la contaminación con hongos de malta puede crear cofactores que se unen a las células de la levadura y hacen que desciendan de la solución prematuramente. Esto continúa siendo el foco de gran parte de la investigación actual sobre elaboración de cerveza relacionada con los patrones de floculación. Las temperaturas excesivamente bajas o altas también pueden afectar la floculación, así que tenlo en cuenta también.

Sabores y Aromas

Puede haber una serie de causas para el sabor de la fermentación y los problemas de aroma, que van desde la contaminación hasta el control de la temperatura y más. Es importante conocer y controlar todos tus parámetros de fermentación para lograr tasas consistentes de crecimiento y fermentación. Debes saber la cantidad de levadura que estás inoculando y cuánto crecimiento estás logrando al medir la cantidad de levadura al final de la fermentación. Ese es un gran paso hacia la consistencia de la fermentación.

Carácter Frutado y Alcoholes Fusel

La razón más común para altos niveles de alcoholes y ésteres calientes, especialmente para cerveceros caseros, es un control de temperatura insuficiente. Para algunas cepas de levadura, un cambio de uno o dos grados en la temperatura puede causar grandes diferencias en la producción de subproductos metabólicos. Muchos otros factores influyen en la producción de éster y fusel, ya sea que estés tratando de aumentar o disminuir sus concentraciones. Revisa la sección sobre “Optimizar el sabor de la fermentación” y especialmente la Figura 4.18, que muestra cómo los factores de fermentación afectan estos compuestos de sabor y aroma.

Azufre

Es importante garantizar una fermentación vigorosa y dejar que la fermentación se complete antes de tapar el fermentador. A algunos cerveceros les gusta tapar el fermentador cerca del final de la fermentación para carbonatar la cerveza atrapando el CO₂ restante. Al hacer esto, el cervecerio también atrapa cualquier azufre en la cerveza, que no desaparecerá sin esfuerzos extraordinarios. Esto se aplica tanto a la elaboración de las ales como de las lagers. Se necesitan aproximadamente 24 horas después de la fermentación a la temperatura de fermentación para que la evolución del CO₂ elimine todo el azufre. Si descubres que tienes una cerveza embarrilada con azufre sustancial, puedes forzar el carbonatado de la cerveza, luego purgar la presión una vez por hora durante un día, re carbonatar la cerveza cada noche. Después de dos o tres días, revise el carácter de la cerveza nuevamente. Si todavía hay una necesidad de reducción de azufre, continúa hasta que se reduzca a niveles aceptables. Ten en cuenta que estás formando espuma en la cerveza al usar este proceso, y puedes afectar la retención de la espuma si continúas así durante muchos días.

Fenoles

Algunas cepas de levadura de cerveza y la mayoría de las levaduras nativas producen compuestos fenólicos aromáticos a través de una reacción de descarboxilación de los ácidos fenólicos que se encuentran naturalmente en la malta, como el ácido ferúlico. Los sabores fenólicos no deseados suelen ser una consecuencia de la contaminación de levadura salvaje, ya sea por levadura nativa o contaminación cruzada de otras cepas utilizadas en la cervecería. En general, si la fuente es levadura nativa, también dará como resultado una super atenuación de la cerveza. La contaminación de levadura nativa también tiende a producir levadura muy pulverulenta que se niega a flocular. En condiciones normales, la mutación en la levadura de cerveza no fenólica no debería ser un problema, aunque es otra posible fuente de sabores fenólicos, y sería un indicador de que es hora de volver a cultivar la levadura de inoculación. A menudo, los cerveceros suponen que la causa fue la mutación, cuando es más probable que hayan introducido levadura fenólica en algún lugar de su proceso. También es posible que otros organismos de descomposición del mosto produzcan compuestos fenólicos. En general, es una buena idea analizar tus procesos de limpieza y sanitización si encuentras fenoles no deseados en tu cerveza. Cuando se trabaja con levadura productora de fenol, la cantidad de compuestos fenólicos que produce la levadura está relacionada con la salud celular y las tasas de crecimiento. En general, los factores que aumentan el crecimiento aumentan

la producción de compuestos fenólicos. Ten en cuenta que el cloro presente en el agua de preparación o introducido a través de desinfectantes clorados o limpiadores se combinará con fenoles de malta para crear cloro fenoles. Estos pueden producir potentes sabores y aromas medicinales. No confundas esto con un problema de la levadura.

Acetaldehído

El acetaldehído es un paso intermedio en la producción de etanol. En una fermentación saludable que se puede completar, la levadura finalmente tomará y convertirá el acetaldehído. Hay varios motivos para altos niveles de acetaldehído:

- Remover la cerveza de la levadura temprano, antes de que haya completado la fermentación.
- La oxidación del etanol después de la fermentación es completa.
- La conversión de etanol en vinagre por bacterias de ácido acético, aunque esto sea compañía de un carácter obvio de vinagre.
- Parámetros de fermentación que fomentan fermentaciones excesivamente rápidas, como la sobre inoculación y altas temperaturas de fermentación.

Diacetil

El diacetil es una parte natural de la fermentación, y ciertas cepas producen más que otras. Sin embargo, la levadura metaboliza naturalmente el diacetil en compuestos sin sabor durante la fermentación activa. Varios factores determinan la cantidad de diacetil que queda después de la fermentación:

- La fermentación incompleta puede dejar altos niveles de diacetil en la cerveza, porque no hubo suficiente tiempo de contacto entre la levadura y el mosto para absorber el diacetil producido durante la fermentación.
- Una temperatura más cálida al comienzo de la fermentación, mientras la levadura está creciendo, crea niveles más altos de precursor de diacetil. Si sigues esto con una fermentación sin brillo, quizás bajando las temperaturas, resulta en niveles más altos de diacetil al final de la fermentación. Este es un patrón común para muchos cerveceros caseros: inocular la levadura caliente para compensar el bajo conteo de células o la mala salud de la levadura y luego permitir que la cerveza fermente más fría a medida que la actividad de la levadura disminuye. La levadura saludable con el tiempo y la temperatura adecuados al final de la fermentación da como resultado una cerveza con niveles muy bajos de diacetil.

- Aireación insuficiente en la inoculación.
- Algunas bacterias producen diacetil. Las bacterias del ácido láctico también producen ácido láctico, a veces creando un sabor rancio a mantequilla. Algunas pequeñas cervecerías y muchos cerveceros caseros tienen dificultades para embotellar la cerveza de una manera que elimine las bacterias del ácido láctico. Esta es una razón por la cual una cervecería puede embotellar cerveza de gran sabor, solo para que desarrolle sabores de presión, acidez y diacetil en tan solo ocho semanas.

Agrio

La contaminación bacteriana es la causa más común de sabores y aromas ácidos en la cerveza. Los cerveceros con mayor frecuencia encontrarán bacterias de ácido láctico o bacterias de ácido acético. El *Lactobacillus* generalmente produce una característica agria y ácida en la cerveza, mientras que *Acetobacter* produce sabores similares al vinagre. Existen otros organismos, como *Brettanomyces*, que pueden producir ácido acético bajo condiciones específicas. Si tu cerveza está agria, revisa las pruebas de contaminación en la sección de laboratorio para ayudar a determinar en qué parte del proceso estás introduciendo los organismos que causan el deterioro y toma las medidas adecuadas para resolver el problema.

Demasiado Dulce

La mala formulación de recetas es responsable de muchas cervezas demasiado dulces, pero ¿qué es lo que buscas cuando una receta de confianza resulta demasiado dulce? Muy a menudo, cuando una cerveza resulta demasiado dulce, es un problema de atenuación. Cuando una prueba de fermentación forzada muestra que no es un problema de atenuación, existen algunas otras posibles causas. Si bien no puede ser una cerveza excesivamente dulce, un problema que los cerveceros a menudo ignoran es que el área de superficie de las células de levadura en fermentación afecta significativamente el nivel de IBU. En términos generales, cuanto mayor es el material de superficie celular total, menor es la cantidad de ácidos alfa isomerizados que llegan a la cerveza terminada. La tasa de inoculación de la levadura, la tasa de crecimiento de la levadura, la cepa, la salud de la levadura, la generación de inoculación y otros factores dan como resultado más o menos IBUs en la cerveza terminada. El cervecero debe esforzarse por obtener tasas de inoculación constantes, tasas de crecimiento consistentes y una excelente salud de la levadura en cada batch de

cerveza. Al controlar estos factores, los ajustes en tu receta tienen un impacto más controlado en la proporción de amargor / dulzor. Otra posible explicación es que algunos alcoholes tienen un carácter dulce, y esos alcoholes podrían estar produciendo los sabores dulces. Sin embargo, cuando esta es la causa, probar la cerveza proporciona un dulzor inicial que se desvanece. No produce una dulzura empalagosa. Si pruebas un dulzor inicial que se desvanece y deja una sensación de cerveza más seca, es indicativo de dulzor relacionado con el alcohol. El dulzor empalagoso es indicativo de una falta de atenuación o una formulación de receta deficiente. Las cervezas que son demasiado dulces, pero no empalagosas pueden deberse a problemas con la receta o que la levadura extraiga compuestos más amargos delo previsto. Para problemas de falta de atenuación, consulta “Atenuación”.

Demasiado Seco

Al igual que con las cervezas que son demasiado dulces, la formulación de recetas pobres es probablemente uno de los problemas más comunes, sin embargo, si estás trabajando con una receta de confianza y tienes un problema con el carácter excesivo de cerveza seca, entonces hay algunas otras posibilidades. Una vez más, una prueba de fermentación forzada es una buena herramienta para descubrir el origen del problema. A menudo, los organismos bacterianos u otros organismos contaminantes pueden hacer que una cerveza se sobre atenúe en exceso. Si la cerveza no está demasiado atenuada, podría ser un problema relacionado con el proceso:

- pH inadecuado durante el macerado y el lavado.
- ¿Cambios en la química del agua? A menudo, los proveedores de agua proporcionan agua diferente durante las distintas estaciones del año.
- Cambios en el suministro de malta. Ten en cuenta que, en su mayor parte, la temperatura del macerado no determina el dulzor de una cerveza. Los azúcares de cadena larga no son muy dulces. Si la levadura ha fermentado completamente una cerveza de alta temperatura, entonces la densidad final de la cerveza puede ser bastante alta, pero el carácter general de la cerveza puede ser bastante seco. Por el contrario, una cerveza con una baja densidad final puede resultar mucho más dulce. Hay muchos factores, que incluyen el área superficial de las células de levadura y los alcoholes producidos durante la fermentación, que afectan el carácter final de la cerveza.

Autolisis

Para la mayoría de los cerveceros caseros que trabajan con fermentadores de fondo ancho y levadura saludable, la autolisis no debería ser un gran problema. Algunas cepas están sujetas a la autólisis más rápido que otras, pero en general, si mantienes la cerveza / levadura a temperaturas razonables y recolectas la levadura en un período de tiempo razonable, no deberías experimentar ningún problema con la autólisis. Lo mismo no es cierto para los cerveceros comerciales que trabajan en una escala mucho mayor. Los fermentadores muy altos que concentran la levadura firmemente en un cono tienden a aumentar la tasa de autólisis. Si esto representa tu configuración, asegúrate de proporcionar una refrigeración adecuada al cono (o parte superior del fermentador, si es superior) y recolecta la levadura lo antes posible después de que haya hecho su trabajo. Un factor que puede afectar tanto a los cerveceros caseros como a los profesionales es envasar cerveza con cantidades excesivas de levadura. Solo requiere 1 millón de células por mililitro para carbonatar una cerveza adecuadamente. Más que eso eventualmente producirá niveles más altos de sabores de autólisis en tu cerveza.

Carbonatación

Falta de Carbonatación

No hace falta mucha levadura para carbonatar una cerveza. Sin embargo, para lograr una carbonatación constante y oportuna, debes usar levadura saludable en la cantidad adecuada a temperaturas constantes. Si estás trabajando con cervezas de alto contenido alcohólico, es beneficioso filtrar la levadura y re-inocularla con levadura fresca y activa para la carbonatación en botella.

- Use levadura fresca si es posible.
- Asegúrate de haber proporcionado la cantidad adecuada de azúcar, en función de la temperatura de la cerveza. Consulta “Apéndice D: Tasas de cebado y volúmenes de CO₂” en “Elaboración de estilos clásicos” por Jamil Zainasheff y John Palmer para obtener gráficos útiles para determinar la cantidad de dióxido de carbono presente en una cerveza determinada y la cantidad de imprimación requerida.
- Almacena las botellas a una temperatura lo suficientemente alta para la carbonatación, dejando espacio entre las botellas para que todas ellas carbonaten igual.
- Si sanitizas químicamente las botellas, asegúrate de medir la concentración de sanitizante. No adivines cuando mezcles soluciones y permite un tiempo de

drenaje adecuado para el producto que estés utilizando. Las concentraciones excesivas de productos sanitizantes pueden afectar la salud de la levadura y la carbonatación.

Sobrecarbonatación

La sobrecarbonatación es el resultado de un exceso de azúcar presente en el momento del envasado o de la presencia de un organismo que puede consumir carbohidratos complejos y producir gas.

- Ten en cuenta la cantidad de CO₂ disuelto presente en la cerveza al calcular la cantidad de azúcar. Consulte “Apéndice D: Tasas de cebado y volúmenes de CO₂” en “Elaboración de estilos clásicos” para obtener gráficos útiles para determinar la cantidad de CO₂ presente en una cerveza determinada y la cantidad de imprimación requerida.
- Tu prueba de fermentación forzada te dará una buena idea de si tu cerveza se ha atenuado por completo antes del envasado.
- Si el problema es la contaminación, generalmente dará como resultado un cambio en el sabor de la cerveza y una carbonatación excesiva.

Atenuación

Muchas veces, un cervecero establece su expectativa de atenuación en función de una receta o los valores de atenuación dados para una cepa de levadura en particular. Esto puede o no ser realista. Independientemente de lo que hagas para preparar tu levadura para la fermentación, la verdad es que la composición del mosto prevalece, sobre todo... cuando se trata de lograr que la levadura atenúa la cantidad deseada. Si realizas una prueba de fermentación forzada, sabrás el nivel máximo de atenuación que debes esperar para ese mosto. Si tu prueba de fermentación muestra que la cerveza solo se atenuará a 1.020 (5° P) con la levadura que estás usando, entonces esperar que baje a 1.012 (3° P) no es realista. Por la misma lógica, si tu batch de cerveza cae por debajo de 1.020 (5° P), tienes algún tipo de problema de contaminación, como levadura salvaje o bacterias. Si te encuentras con problemas de atenuación, la prueba de fermentación forzada es una herramienta valiosa.

Baja Atenuación

Es común que la fermentación del batch principal caiga un punto o dos menos que la atenuación máxima que muestra la prueba de fermentación forzada. Cuanto mayor es la densidad inicial, cuanto más lejos está de la atenuación máxima, es probable que la cerveza termine. Si la cerveza es considerablemente inferior a la atenuación esperada, y has eliminado la fermentación del mosto como problema, entonces hubo algún tipo de problema de fermentación. Investiga las siguientes posibilidades:

- La temperatura de fermentación fue demasiado baja y la levadura no estuvo lo suficientemente activa como para completar la fermentación. También es importante evitar los cambios de temperatura, especialmente al principio durante la fase de retardo y cuando la fermentación se acerca al final. La levadura es muy sensible a pequeños cambios de temperatura. Cuando la levadura empieza a disminuir la velocidad de fermentación, producirá menos calor, y si la temperatura es demasiado baja, se detendrá /disminuirá repentinamente, lo que hará que sea muy difícil alcanzar la densidad terminal.
- La velocidad de inoculación fue demasiado baja, por lo que no hubo suficientes células para completar la fermentación. Sin suficientes células para realizar la fermentación, las células de levadura en solución tienen que trabajar más de lo normal para completar el trabajo. Estas células se cansan y trabajan en exceso, y a menudo abandonan antes de que finalicen. La levadura en la fermentación de la cerveza raramente logra un crecimiento de más de tres a cuatro veces.
- La sobre inoculación crónica también puede producir una atenuación deficiente incluso en la primera generación. En general, la fermentación comenzará rápidamente y terminará normalmente, pero las sucesivas generaciones comenzarán a presentar problemas de salud. La viabilidad disminuye con el tiempo, y la población en general se vuelve lenta, ya que la fermentación está produciendo pocas células nuevas.
- La falta de oxígeno al comienzo de la fermentación restringió el crecimiento y afectó la salud de las células. Recuerda que las cervezas de alta densidad podrían beneficiarse de una dosis adicional de oxígeno alrededor de la marca de 12 horas. Al igual que con las tasas de inoculación incorrectas, el impacto de la desoxigenación crónica puede ser más evidente en generaciones sucesivas, ya que la levadura no está equipada con los bloques de construcción adecuados para la síntesis de lípidos fuertes para la reproducción y el crecimiento celular. Esto también puede contribuir a un bajo rendimiento cuando se recolectan levaduras.
- La mutación de la levadura también puede afectar la atenuación. En general, la prueba de fermentación forzada debería revelar estos problemas, pero es

possible que la mutación no afecte la prueba con agitación y calor, pero que aún tenga un efecto sobre la fermentación principal.

- La mala salud de la levadura y la falta de nutrientes críticos como el zinc pueden hacer que la fermentación se estanke antes de que llegue a la densidad terminal.
- La mezcla incorrecta en el fermentador puede provocar estratificación y falta de atenuación. Cuando rellenes varias veces un fermentador o diluyas el mosto altamente concentrado, debes mezclar las dos soluciones adecuadamente. El llenado de alta velocidad y la dirección del mosto entrante desde la parte inferior del fermentador hacia arriba en lugar de arriba hacia abajo ayudarán a mezclar los dos.
- Si estás reutilizando tu levadura y la recolectas demasiado pronto, puedes estar ejerciendo una presión selectiva sobre la población, causando la falta de atenuación. La levadura que desciende primero es la menos atenuante de la población. Si tu proceso los favorece, el tono será cada vez menos atenuante con el tiempo. También puedes afectar negativamente la salud de la levadura al dejar la levadura en la cerveza durante largos períodos de tiempo, y eso también puede afectar la atenuación de los futuros batches. Aquí hay algunos métodos comunes que los cerveceros usan para tratar de conducir una cerveza para atenuar un poco más:
 - Despierta la levadura. O bien introduce cuidadosamente dióxido de carbono a través del fondo del tanque de fermentación, o cuando uses un fermentador de cervecería casera más pequeño, puedes inclinarlo al borde y hacer girar la cerveza. Esto debería hacer que una levadura vuelva a la cerveza y eliminará el CO₂, que puede estar inhibiendo la levadura.
 - Trasvasa la cerveza o la levadura. Trasvasar la cerveza o sacar la levadura del fondo e inclinarla hacia arriba en la parte superior hace las mismas cosas que despertar la levadura, pero también agrega algo de oxígeno y asegura que la levadura y los azúcares restantes del mosto se mezclen uniformemente.
 - Aumenta la temperatura. Las temperaturas más altas aumentan la actividad de la levadura. Dentro de unos límites razonables, esta es una de las mejores formas de ayudar a la levadura a alcanzar la densidad final deseada.
 - Agrega más levadura. Muchos cerveceros preguntan si pueden echar un poco de levadura de Champagne seca para terminar la fermentación. Aquellos que dicen que funciona probablemente lidian con una cerveza que tiene grandes cantidades de azúcares simples restantes, ya que la levadura de Champagne no consumirá los azúcares más largos del mosto. Puedes agregar más levadura de cerveza, pero es difícil reiniciar una fermentación que se detiene. Una cerveza parcialmente fermentada no es un lugar apto para la levadura, ya que tiene alcohol y no contiene oxígeno, no tiene suficientes nutrientes y no tiene suficiente azúcar. Solo agrega levadura que esté en su punto máximo de actividad. Agrega la levadura a un poco de mosto, deje

que alcance alto krausen, y luego mezcla todo en la cerveza. Si agregas suficiente levadura en su pico de actividad no deberías necesitar agregar oxígeno a la cerveza.

- Agregue enzimas si el problema fue con la composición de azúcar de mosto, esto a menudo ayudará. Sin embargo, si se trata de un problema de fermentación esto no ayudará.

Alta Atenuación

Si tu cerveza se atenuó más que el máximo mostrado por la prueba de fermentación forzada, tienes un problema de contaminación. Es imperativo que ubiques la fuente de la contaminación y la elimines de tu cervecería. Hacer la vista gorda no resuelve el problema. Revisa la sección de laboratorio para obtener información sobre cómo realizar la prueba de tu levadura y tu entorno de la cervecería.

Problemas de almacenamiento de la Levadura

Declive o Baja Viabilidad de la Levadura

Otro gran problema para los cerveceros es la disminución de la viabilidad de la suspensión de levadura recolectada. Hay dos razones fundamentales para una pérdida de viabilidad. O bien la levadura tenía mala salud en el momento de la recolección o bien las condiciones de almacenamiento eran menos que ideales. La mala salud en la recolección tiene muchas de las mismas causas que la fermentación lenta: sobre inoculado, bajo oxígeno disuelto y baja viabilidad inicial. Si la fermentación fue normal y fuerte, es probable que la levadura esté sana al final de la fermentación. Sin embargo, tus acciones después de la fermentación podrían haber causado una pérdida de viabilidad. Si no recolectas la levadura lo suficientemente rápido del fermentador, puedes ejercer una gran presión sobre las células, como el alcohol, el pH y el estrés hidrostático. Para una salud óptima, debes recolectar levadura ale 24 horas después del final de la fermentación y la levadura lager dentro de tres a cinco días. Muchas veces, cuando pequeñas cervecerías aumentan el tamaño del fermentador, comienzan a notar problemas de viabilidad con la levadura recolectada. Esto puede deberse a que cuanto mayor y más alto es el fermentador, mayor es el estrés osmótico en la levadura. Además, mantener la levadura fresca mientras está en el fermentador puede ser un problema. A menudo, el enfriamiento del cono es inadecuado, o con la levadura de alto rendimiento, la parte superior del fermentador puede no ser lo suficientemente fría, lo que resulta en temperaturas estresantes para la levadura. Si estás seguro de que recolectaste

levadura saludable, entonces el problema es con tus prácticas de almacenamiento de levadura.

Vida Útil Inadecuada

En primer lugar, asegúrate de tener las expectativas correctas de cuánto tiempo puedes almacenar la levadura y así poder utilizarla para una fermentación de calidad. Si la levadura goza de buena salud al final de una fermentación con promedio de densidad y promedio de lúpulo, entonces puedes almacenar levadura durante dos semanas y reutilizarla sin dificultad. Después de eso, los resultados siempre serán muy variables. Ten en cuenta lo siguiente al almacenar la levadura:

- La presión de dióxido de carbono, incluso una pequeña cantidad, es perjudicial para la levadura durante el almacenamiento. El CO₂ daña las paredes celulares de las levaduras y puede acumularse fácilmente con la levadura almacenada.
- En la mayoría de los casos, las temperaturas de almacenamiento más bajas dan como resultado una mayor vida útil, a menos que accidentalmente congeles la levadura. Una ola de frío puede hacer que las temperaturas de almacenamiento de la levadura bajen a menos de cero. Esto es especialmente cierto cuando se usan refrigeradores viejos que pueden no ser capaces de satisfacer la demanda durante el día. A medida que baja la temperatura ambiente, también lo hace la temperatura del refrigerador. En este caso, es mejor almacenar tu levadura algunos grados más calientes, si existe peligro de congelación accidental.
- En algunos casos, no debes volver a usar la levadura de cervezas con alto contenido de alcohol o IBUs muy altas, que enfatizan la levadura y afectan la viabilidad.
- Mantener la levadura en la cerveza por un período adicional de ocho a 12 horas después de la fermentación les permite acumular sus reservas de glucógeno antes del almacenamiento.
- ¿El equipo de almacenamiento está limpio e higiénico? Esto incluye mantenerlos libres de contaminantes químicos y altos niveles de sanitizantes que puedan afectar la salud de la levadura.

Problemas de Lavado

El problema más común con el lavado con ácido o el lavado con dióxido de cloro es utilizar un pH incorrecto o una concentración incorrecta. Necesitas medir el pH

con precisión. Vale la pena invertir en un medidor de pH decente y en las soluciones de calibración para garantizar que obtenga el pH correcto.

Problemas de Enjuague

El error más común que se comete cuando se enjuaga la levadura es no utilizar un volumen de agua lo suficientemente grande o no saber en qué capa está la levadura. Si no utilizas al menos de tres a cuatro veces más agua que los sólidos de levadura, el barro será demasiado denso para permitir que los sólidos más pesados caigan al fondo en un período de tiempo razonable. Cuanto más delgado es el barro, mejor es la separación. No confundas la capa más delgada en la parte superior como levadura. Puede haber algunas células allí, pero es principalmente proteínas y quizás otro material celular ligero, que puedes descartar.

Problemas de Transporte

La mayoría de los problemas con el transporte se centran en la temperatura. Comienza con la levadura más saludable posible, controla la temperatura y prueba la levadura en el extremo receptor.

Problemas de Propagación/Starter

Si comienzas con una colonia saludable de levadura y proporcionas las entradas correctas de azúcar, nutrientes, oxígeno y temperatura, la propagación siempre debe realizarse normalmente. Los principiantes en la propagación a menudo se preguntan por qué no ven burbujas en la superficie de un recipiente agitado. La respuesta es que la agitación es efectiva para expulsar cualquier exceso de CO₂ a medida que se forma y las burbujas más grandes y visibles son raras. Presta atención al color y la opacidad de la propagación. Si se vuelve nublado, eso es causado por un aumento en la población. Ten en cuenta lo siguiente:

- Comienza desde una fuente de levadura saludable. Si comienzas con un cultivo mutado, la propagación resultante puede retener esa mutación. Es posible que las células no mutadas superen a las mutantes, pero no hay garantía. En caso de duda, usa técnicas de cultivo puro o comienza de nuevo.
- Usa solo fuentes de azúcar con alto contenido de maltosa. Usa una fuente a base de malta, que proporcione nutrientes esenciales para la levadura.

Cultivar levadura en el azúcar simple resulta en levadura que no puede fermentar maltosa.

- Aireación de suministro y una mezcla de nutrientes apropiada que incluye zinc.
- Propagar la levadura caliente, alrededor de 22° C (72° F).
- Usa un plato agitador, un agitador orbital, o agita frecuentemente el recipiente para eliminar el CO₂ y ayuda a mezclar la levadura con los azúcares restantes.

Contaminación de la Malta

La malta tiene un buen número de organismos en su superficie, como *Lactobacillus*. El hervor mata a la gran mayoría de estos organismos, y el cervecero no necesita preocuparse. Sin embargo, hay mohos y hongos que pueden producir micotoxinas que sobrevivirán al hervor. Esto rara vez es un problema con la malta, ya que proviene del malteador, sino que es causada por las malas condiciones de almacenamiento en la cervecería. Los climas cálidos y húmedos son especialmente problemáticos y pueden causar un rápido crecimiento de moho y altos niveles de micotoxinas. Si bien el macerado elimina una gran parte de las micotoxinas presentes, las micotoxinas que llegan al hervidor no se desnaturalizan. Las micotoxinas tales como tricotecenos (Flannigan, et al., 1985) inhiben el crecimiento de *Saccharomyces cerevisiae*, que a su vez puede afectar la atenuación. Diversas toxinas también pueden interactuar con la pared celular de la levadura y afectar la floculación. Esto es exactamente lo que se supone que deben hacer estas toxinas en la naturaleza: ayudar a un organismo a superar la levadura.

Cuadro de Solución de Problemas

Problemas de Rendimiento

Figura 7.1:

Factor	Problema		
	Fermentación lenta/trabada incompleta	Viabilidad baja/decreciente	Cambios en floculación
aminoácidos libres (FAN) deficiencia en aminoácidos	*		
Deficiencia en minerales (Zn, Ca, etc.)	*		*
Contaminación (levadura salvaje / bacterias)	*		*
Sub inoculación	*		
Sobre inoculación	+ (durante varias generaciones)	*	
Bajo oxígeno disuelto	*	*	*
Alto oxígeno disuelto		*	
Mosto de alta densidad	*	*	
Alta concentración de etanol (>9 %)	*	*	
Temperatura de fermentación incorrecta	*		
Temperatura de fermentación vacilante	*		
Levadura reutilizada recolectada demasiado tarde			
Levadura reutilizada recolectada demasiado temprano	*	+	*
Insuficiente enfriamiento del cono del fermentador		*	
Acumulación de CO ₂ en el fermentador	*	*	
Mezcla incompleta en el fermentador	*	*	
Mutación de la levadura	*		*
Dehidratación de la levadura	*	*	*
Malta en malas condiciones submodificada	*		
Contaminación de la malta con microorganismos	*		*
* Mala salud de la levadura (baja viabilidad / vitalidad)	+	*	

El ‘•’ indica que el Factor es una potencial causa. La ‘X’ indica el que Factor es la causa más común del Problema. * Muchos factores conducen a una mala salud de la levadura, como deficiencia mineral, hiperpigmentación, baja DO, mosto de alta gravedad, alta concentración de etanol, retraso en la recolección de levadura, enfriamiento insuficiente del cono del fermentador, acumulación de CO₂ en el fermentador, mezcla incompleta del fermentador.

Problemas de Sabor

Figura 7.2:

Factor	Problema				
	Ésteres fusel	Alcohol	Azufre	Acetaldehido	Autolisis
aminoácidos libres (FAN) deficiencia en aminoácidos	+		•		
Deficiencia en minerales (Zn, Ca, etc.)	•	•		•	•
Contaminación (levadura salvaje / bacterias)	•	•	•	•	
Sub inoculación	+	++	+	+	•
Sobre inoculación	-			+	+
Bajo oxígeno disuelto	+	-			
Alto oxígeno disuelto	-	+		•	
Mosto de alta densidad	+	+			
Alta concentración de etanol (>9%)	+	+			•
Temperatura de fermentación incorrecta	+ X -	+ X -	•	•	
Temperatura de fermentación vacilante				•	

	Esteres fusel	Alcohol	Azufre	Acetaldehido	Autolisis
Levadura reutilizada recolectada demasiado tarde				•	
Levadura reutilizada recolectada demasiado temprano				•	
Insuficiente enfriamiento del cono del fermentador					+
Acumulación de CO₂ en el fermentador	-	-	+		
Mezcla incompleta en el fermentador					
Mutación de la levadura					
Dehidratación de la levadura	+	•	•	•	•
Malta en malas condiciones submodificada					
Contaminación de la malta					
* Mala salud de la levadura (baja viabilidad / vitalidad)			•		•

El ‘•’ indica que el Factor es una potencial causa. El signo ‘+’ indica el que Factor causa un incremento.

El signo ‘-’ indica un decrecimiento. * Muchos factores conducen a una mala salud de la levadura, como deficiencia mineral, hiperpigmentación, bajo DO, mosto de alta densidad, alta concentración de etanol, retraso en la recolección de levadura, enfriamiento insuficiente del cono del fermentador, acumulación de CO₂ en el fermentador, mezcla incompleta del fermentador.

Figura 7.3:

	Fenoles	Sobre carbonatación	Ácido láctico	Diacetil
aminoácidos libres (FAN) deficiencia en aminoácidos				+
Deficiencia en minerales (Zn, Ca, etc.)				
Contaminación (levadura salvaje / bacterias)	*	*	+	*
Sub inoculación	+			+
Sobre inoculación				
Bajo oxígeno disuelto				
Alto oxígeno disuelto				
Mosto de alta densidad				
Alta concentración de etanol (>9%)				
Temperatura de fermentación incorrecta				*
Temperatura de fermentación vacilante				*

Levadura reutilizada recolectada demasiado tarde					
Levadura reutilizada recolectada demasiado temprano	•				
Insuficiente enfriamiento del cono del fermentador					
Acumulación de CO2 en el fermentador	• -				
Mezcla incompleta en el fermentador	•				
Mutación de la levadura	•	•			
Dehidratación de la levadura	•				
Malta en malas condiciones submodificada					
Contaminación de la malta	•				
* Mala salud de la levadura (baja viabilidad / vitalidad)	•				

El ‘•’ indica que el Factor es una potencial causa. El signo ‘+’ indica el que Factor causa un incremento.

El signo ‘-’ indica un decrecimiento. * Muchos factores conducen a una mala salud de la levadura, como deficiencia mineral, hiperpigmentación, bajo DO, mosto de alta densidad, alta concentración de etanol, retraso en la recolección de levadura, enfriamiento insuficiente del cono del fermentador, acumulación de CO₂ en el fermentador, mezcla incompleta del fermentador.

Referencias

Prefacio

- Schlenk, F. "Early Research on Fermentation. A Story of Missed Opportunities." En A.Cornish-Bowden, *New Beer in an Old Bottle: Eduard Buchner and the Growth of Biochemical Knowledge*. Valencia, España: Universitat de València, 1997, 43–50.

Parte 1

- De Clerck, J. *A Textbook of Brewing*, vol. 2. Londres: Chapman & Hall, 1958, 426-429.

Parte 2

- Bamforth, C. "Beer Flavour: Esters." *Brewers Guardian* 130, no. 9 (2001), 32-34.

- Bamforth, C. "Beer Flavour: Sulphur Substances." *Brewers Guardian* 130, no. 10(2001), 20-23.

- Boulton, C., y D. Quain. *Brewing Yeast and Fermentation*. Oxford, U.K.: Blackwell Science Ltd., 2001.

- Briggs, D. E., J. S. Hough, R. Stevens y T. W. Young.
Malting & Brewing Science, vol. 1. London: Chapman & Hall, 1981.

- Casey, G. "Yeast Selection in Brewing." En C. J. Panchal, *Yeast Strain Selection*. New York: Marcel Dekker, 1990, 65-111.

- Fugii, T. "Effect of Aeration and Unsaturated Fatty Acids on Expression of the *Saccharomyces cerevisiae* Alcohol Acetyltransferase Gene." *Applied and Environmental Microbiology* 63, no. 3 (1997), 910-915.

- Hazen, K.C. y B. W. Hazen. "Surface Hydrophobic and Hydrophilic Protein Alterations en *Candida Albicans*." *FEMS Microbiology Letters* 107 (1993), 83-88.

- Kruger, L. "Yeast Metabolism and Its Effect on Flavour: Part 2." *Brewers Guardian* 127(1998), 27-30.

- Mathewson, P. R. *Enzymes*. Eagan Press, 1998, 1-10.

- Meilgaard, M. C. "Flavor Chemistry of Beer: Part II: Flavor and Threshold of 239Aroma Volatiles." *MBAA Technical Quarterly* 12 (1975), 151-168.

- Mussche, R. A. y F. R. Mussche. "Flavours in Beer." *Conferencia de Cerveceros Artesanales de 2008 (Craft Brewers Conference)*, Chicago.

- Pasteur, L. *Studies on Fermentations, The Disease of Beer, Their Causes, and the Means of Preventing Them*. Londres: MacMillan and Co., 1879.
Reimpresión.BeerBooks.com, 2005.

- Quain, D. E. y R. S. Tubb. "A Rapid and Simple Method for the Determination of Glycogen in Yeast." *Journal of the Institute of Brewing* 89 (1983), 38-40.
- Smart, K. A. "Flocculation and Adhesion." *European Brewery Convention 1999 Monograph* 28. Nuremberg: Fachverlag Hans Carl, 2000, 16-29.
- Walker, G. M. *Yeast Physiology and Biotechnology*. New York: John Wiley & Sons, 1998.
- Zöcklein, B. W., K. C. Fugelsang, B. H. Gump y F. S. Nury. *Wine Analysis and Production*. Gaithersburg, Md.: Aspen Publishers, 1999, 101.

Parte 3

- Aguilar Uscanga, M. G., M. L. Delia y P. Strehaiano. *Applied Microbiology and Biotechnology*, vol. 61, no.2 (2003).
- Boulton y Quain, *Brewing Yeast and Fermentation*.
- Casey, "Yeast Selection in Brewing." - Fix, G. J. y L. A. Fix. *An Analysis of Brewing Techniques*. Boulder, Colorado: Brewers Publications, 1997, 57-65.
- Mussche y Mussche, "Flavours in Beer."
- Prahl, T. *Apple Wine Fermentation, Using Indigenous Yeasts as Starter Cultures* (2009) 27-28.
- Quain, D. "Yeast Supply, the Challenge of Zero Defects." *25th European Brewery Convention* (1995), 309-318.
- Shimwell, J. L. *American Brewer*, 1947, no. 80, 21-22, 56-57.

Parte 4

- Boulton, C. A., A. R. Jones, E. Hinchliffe. "Yeast Physiological Condition and Fermentation Performance." *23rd European Brewing Congress* (1991), 385-392.
- Boulton, C. A. y D. E. Quain. "Yeast, Oxygen, and the Control of Brewery Fermentations." *21st European Brewing Convention* (1987), 401-408.
- D'Amore, T., G. Celotto y G. G. Stewart. "Advances in the Fermentation of High Gravity Wort." *Registros de la European Brewery Convention Congress* (1991), 337-344.
- De Clerck, *A Textbook of Brewing*.
- Fix and Fix, *An Analysis of Brewing Techniques*, 75-81.
- Grossman, K. Seminar. Universidad de California en Davis, octubre 3, 2009.
- Hull, G. "Olive Oil Addition to Yeast as an Alternative to Wort Aeration." *MBAA Technical Quarterly* 45, no. 1 (2008), 17-23.

- Jones H. L., A. Margaritis y R. J. Stewart. "The Combined Effects of Oxygen Supply Strategy, Inoculum Size and Temperature Profile on Very High Gravity Beer Fermentation by *Saccharomyces Cerevisiae*." *Journal of the Institute of Brewing* 113, no.2 (2007), 168-184.
- Laere, S. D., K. J. Verstrepen, J. M. Thevelein, P. Vandijck y F. R. Delvaux. "Formation of Higher Alcohols and Their Acetate Esters." *Cerevisia, Belgian Journal of Brewing and Biotechnology*, vol. 33, no. 2 (2008), 65-81.
- Landschoot, A. V., N. Vanbeneden, D. Vanderputten y G. Derdelinckx. "Extract for the Refermentation of Beer in Bottles." *Cerevisia, Belgian Journal of Brewing and Biotechnology*, vol. 32, no. 2 (2007), 120-129.
- McLaren, J. I., T. Fishborn, F. Briem, J. Engmann y E. Geiger. "Zinc Problem Solved?" *Brauwelt International*, vol. 19, no. 1 (2001), 60-63.
- Meilgaard, "Flavor Chemistry of Beer: Part II."
- O'Connor-Cox, E. S. C. y W. M. Ingledew. "Effect of the Timing of Oxygenation on Very High Gravity Brewing Fermentations." *Journal of the American Society of Brewing Chemists* 48, no. 1 (1990), 26-32.
- Parker, N. "Are Craft Brewers Underaerating Their Wort?" *MBAA Technical Quarterly* 45 no. 4 (2008), 352-354.
- Priest, F. G. y I. Campbell. *Brewing Microbiology*, 3rd ed. New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers, 2003, 22-42.
- Reed, G. y T. W. Nagodawithana. *Yeast Technology*, 2nd ed. New York: Van Nostrand Reinhold, 1991.
- Saison, D., D. De Schuttera, B. Uyttenhovea, F. Delvauxay F. R. Delvauxa. "Contribution of Staling Compounds to the Aged Flavour of Lager Beer by Studying Their Flavour Thresholds." *Food Chemistry*, vol. 114, no. 4 (15 de junio, 2009), 1206-1215.
- Shinabarger, D. L., G. A. Kessler y L. W. Parks. "Regulation by Heme of Sterol Uptake in *Saccharomyces Cerevisiae*." *Steroids* 53 (1989), 607-623.
- Takacs, P. y J. J. Hackbarth. "Oxygen-Enhanced Fermentation." *MBAA Technical Quarterly* 44 (2007), 104-107.
- Walker, G. M. "Role of Metal Ions in Brewing Yeast Fermentation Performance." *Brewing Yeast Fermentation Performance*, Oxford, U.K.: Blackwell Science Ltd., 2000, 86-91.

Parte 5

- Fernandez, J. L. y W. J. Simpson. *Journal of Applied Bacteriology* 75 (1993), 369.
- Haddad, S. y C. Lindegren. "A Method for Determining the Weight of an Individual Yeast Cell." *Applied Microbiology* 1, no.3, (1953), 153-156.

- Lenoel, M., J. P. Meuier, M. Moll y N. Midoux. "Improved System for Stabilizing Yeast Fermenting Power During Storage." *Proceedings of the 21st European Brewing Congress*, 1987, 425-432.

- Nielsen, O. "Control of the Yeast Propagation Process: How to Optimize Oxygen Supply and Minimize Stress." *MBAA Technical Quarterly*, vol. 42, no. 2 (2005), 128-132.

Parte 6

- American Society of Brewing Chemists. *Methods of Analysis*, 8va edición revisada. Yeast -3. St. Paul, Minn.: ASBC, 1992.

- Hulse, G., G. Bihl, G. Morakile y B. Axcell. "Optimisation of Storage and Propagation for Consistent Lager Fermentations." En K. Smart, *Brewing Yeast Fermentation Performance*. Oxford, U.K.: Blackwell Science, 2000, 161-169.

- Jakobsen, M. y R. W. Thorne. "Oxygen Requirements of Brewing Strains of *Saccharomyces Uvarum*, Bottom Fermenting Yeast." *Journal of the Institute of Brewing* 86 (1980), 284-287.

- Kandror, O., N. Bretschneider, E. Kreydin, D. Cavalieri y A. L. Goldberg. "Yeast Adapt to Near-Freezing Temperatures by STRE/Msn2,4-Dependent Induction of Trehalose Synthesis and Certain Molecular Chaperones." *Molecular Cell*, vol. 13, no. 6 (26 demarzo, 2004), 771-781.

- Quain and Tubb, 38-40.

- Sidari, R. y A. Caridi. "Viability of Commercial Wine Yeasts During Freezer Storage in Glycerol-Based Media." *Folia Microbiologia* 54, no. 3 (2009), 230-232.

Parte 7

- Flannigan, B., J. G. Morton y R. J. Naylor. "Trichothecenes and Other Mycotoxins." New York: John Wiley & Sons, (1985), 171.

- Kapral, D. "Stratified Fermentation, Causes and Corrective Action." *MBAA Technical Quarterly* 45, no. 2 (2008), 115-120.