

LEVADURAS

(Clase 1)



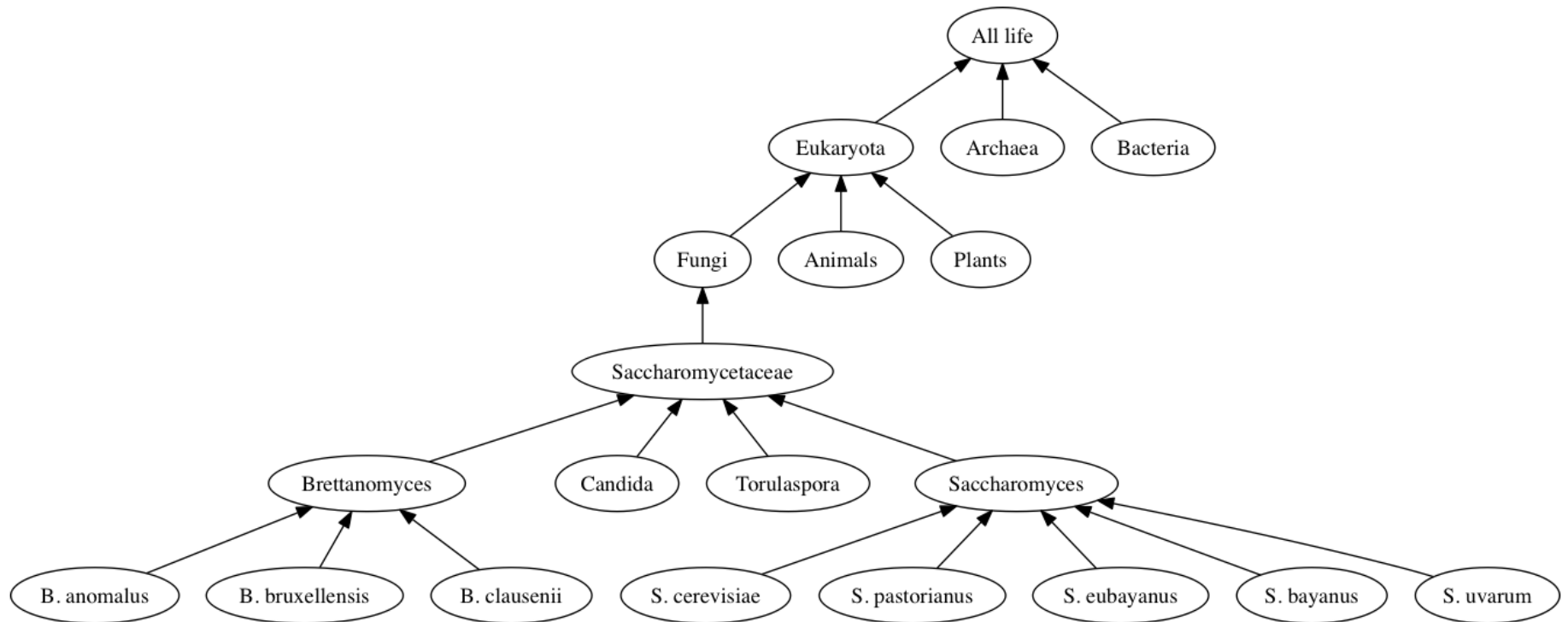
Lic. Sebastián Oddone

ESPECIALISTA EN FERMENTACIONES INDUSTRIALES

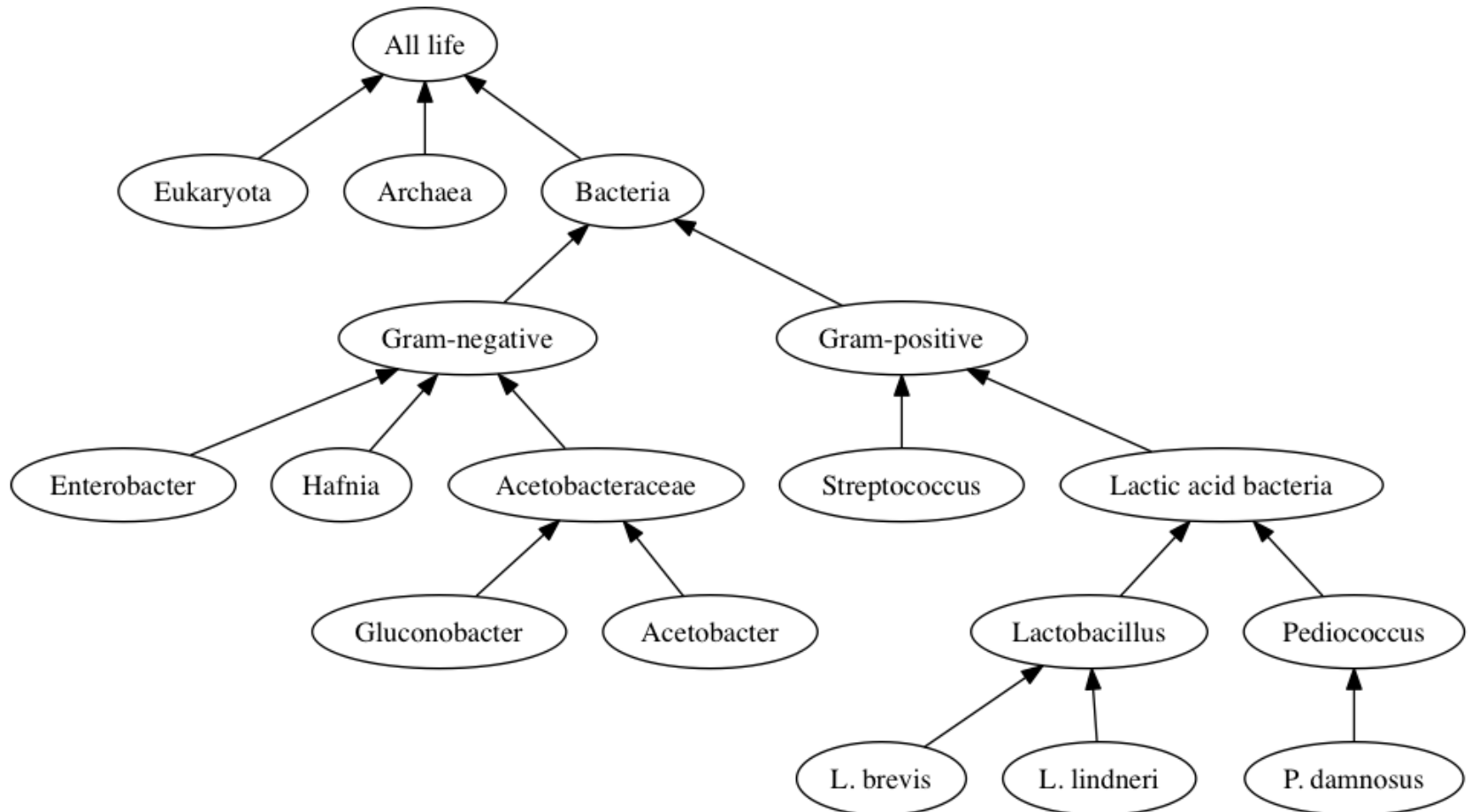
Programa Tentativo

- **1er Mes**: Metabolismo y Fermentación
- **2do Mes**: Cepas de levaduras y bacterias, características.
- **3er Mes**: Manejo de levaduras. Reutilización, starters, pre-hidratación, etc.

Taxonomía (levaduras)



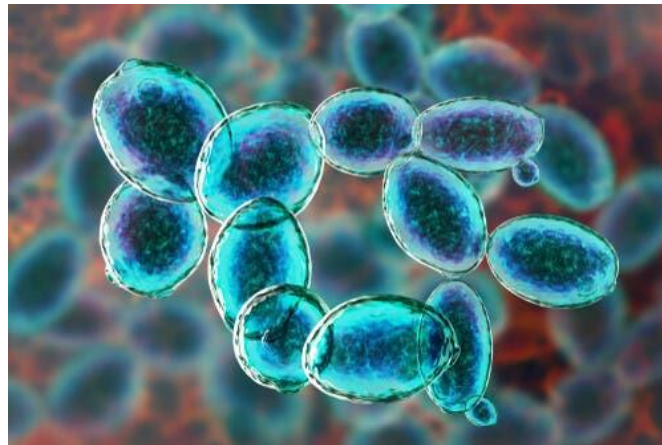
Taxonomía (bacterias)



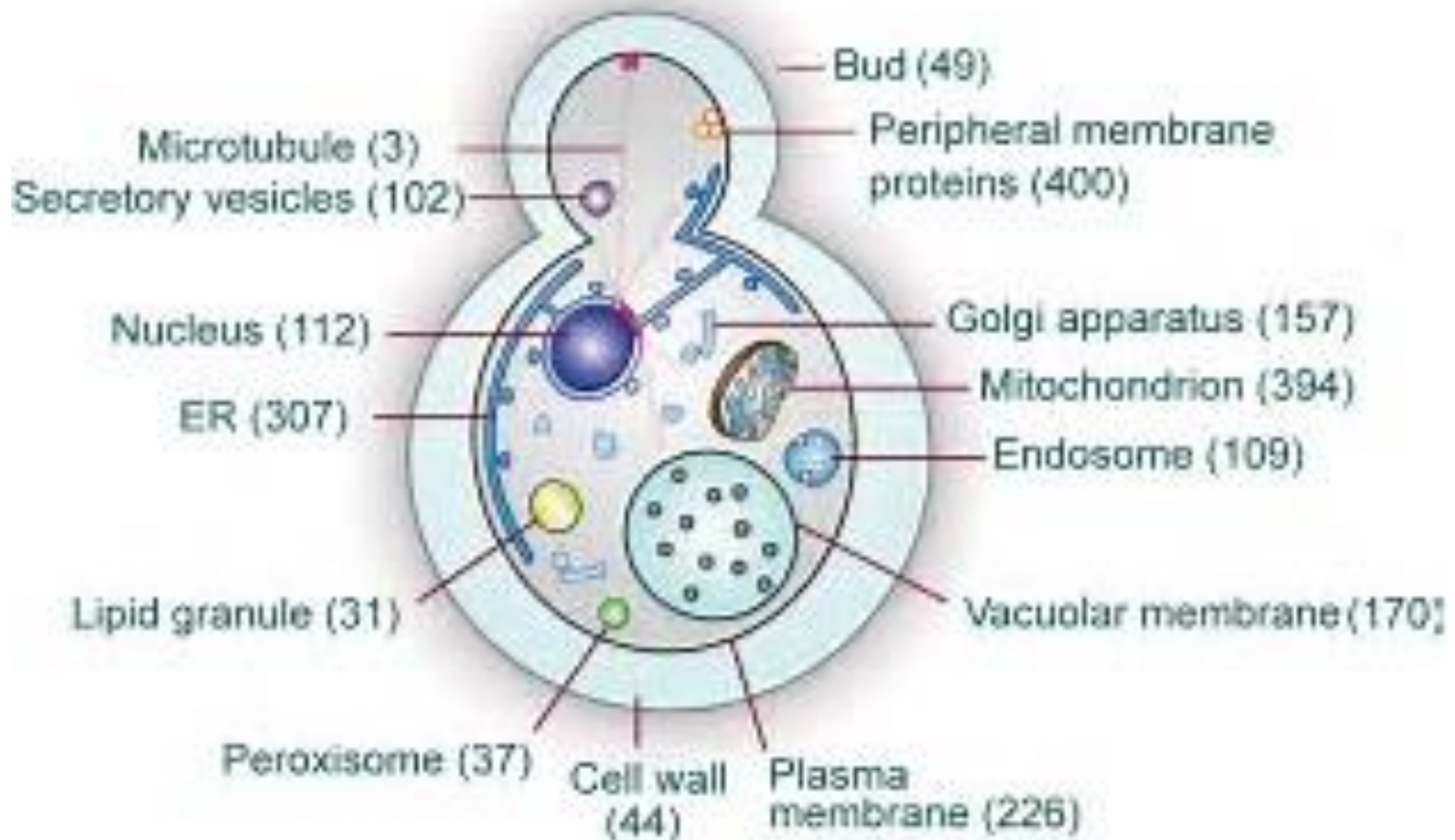
Saccharomyces sp.

**Primer cultivo puro de
levaduras 1883**

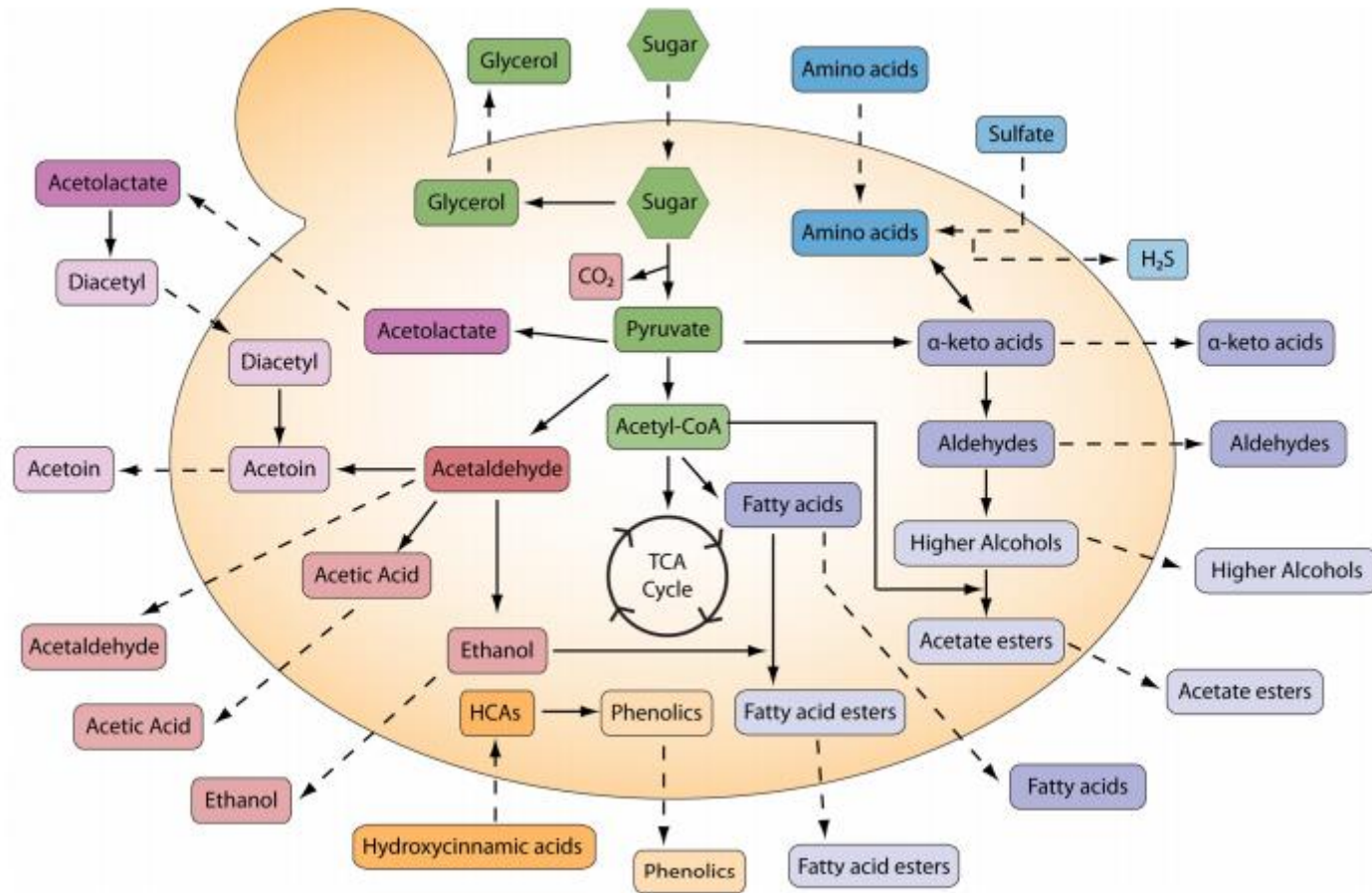
**Secuenciación del
genoma completo
1996**



Saccharomyces sp.



Son una máquina metabólica



Las levaduras convierten un 46% del extracto en CO₂, un 48% en etanol, un 5,5% en nuevas levaduras y 1% en metabolitos secundarios

¿Por qué la levadura produce estos compuestos?

- (+) ethanol
- (+/-) CO₂
- (+/-) acetic acid
- (+/-) diacetyl
- (+) isoamyl alcohol
- (+) 2-phenylethanol
- (+) ethyl acetate
- (+) isoamyl acetate
- (+) 2-phenylethyl acetate
- (+) 4-ethylphenol
- (+) 4-ethylguaiacol
- (+) methionol



Drosophila spp.

- (+) isoamyl alcohol
- (+) 2-phenylethanol
- (+) 2-methyl-1-butanol



Vespa spp.

- (+) ethanol
- (+) acetaldehyde
- (+) isobutanol
- (+) 2-methyl-1-butanol
- (+) isoamyl alcohol
- (+) 2-pentanol
- (+) 1-butanol
- (+) 1-propanol
- (+) ethyl acetate



Carpophilus spp.

- (-) ethanol
- (-) acetic acid



bacteria

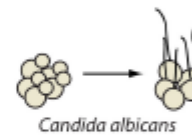
- (-) isoamyl alcohol
- (-) 2-phenylethanol
- (-) 2-phenylethyl acetate



Aspergillus spp.

Penicillium spp.

- (+) CO₂
- (+) tyrosol
- (+) tryptophol
- (+) 2-phenylethanol



Candida albicans



Saccharomyces cerevisiae

- (+) acetaldehyde
- (+) H₂S



Saccharomyces cerevisiae

- (+) ethyl hexanoate
- (+) ethyl pentanoate



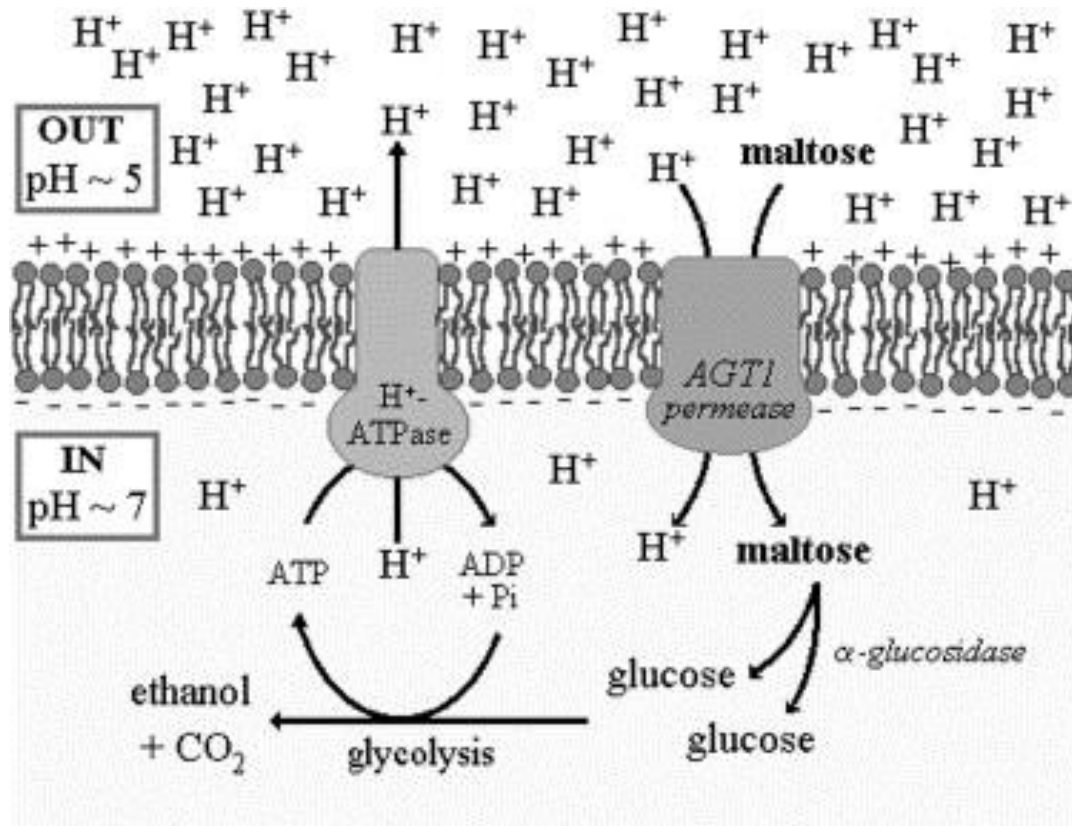
Eisenia fetida
(earthworm)

Metabolismo

Los azúcares son compuestos que contienen energía, y por medio del metabolismo los seres vivos los degradan para extraer dicha energía y utilizarla en otras reacciones y/o acciones

Una vez que la levadura es inoculada comienza a alimentarse y crecer en número

Consumo de azúcares (atraviesan la membrana)

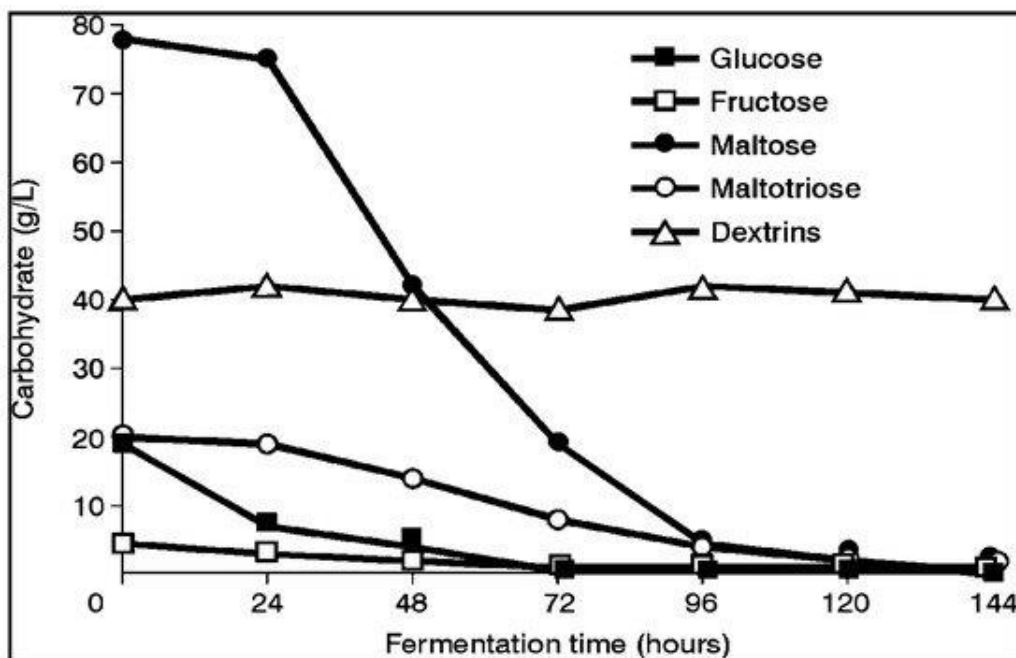


Metabolismo de azúcares

Los distintos azúcares se absorben en orden

En presencia de glucosa los canales de ingreso de maltosa y maltotriosa están reprimidos

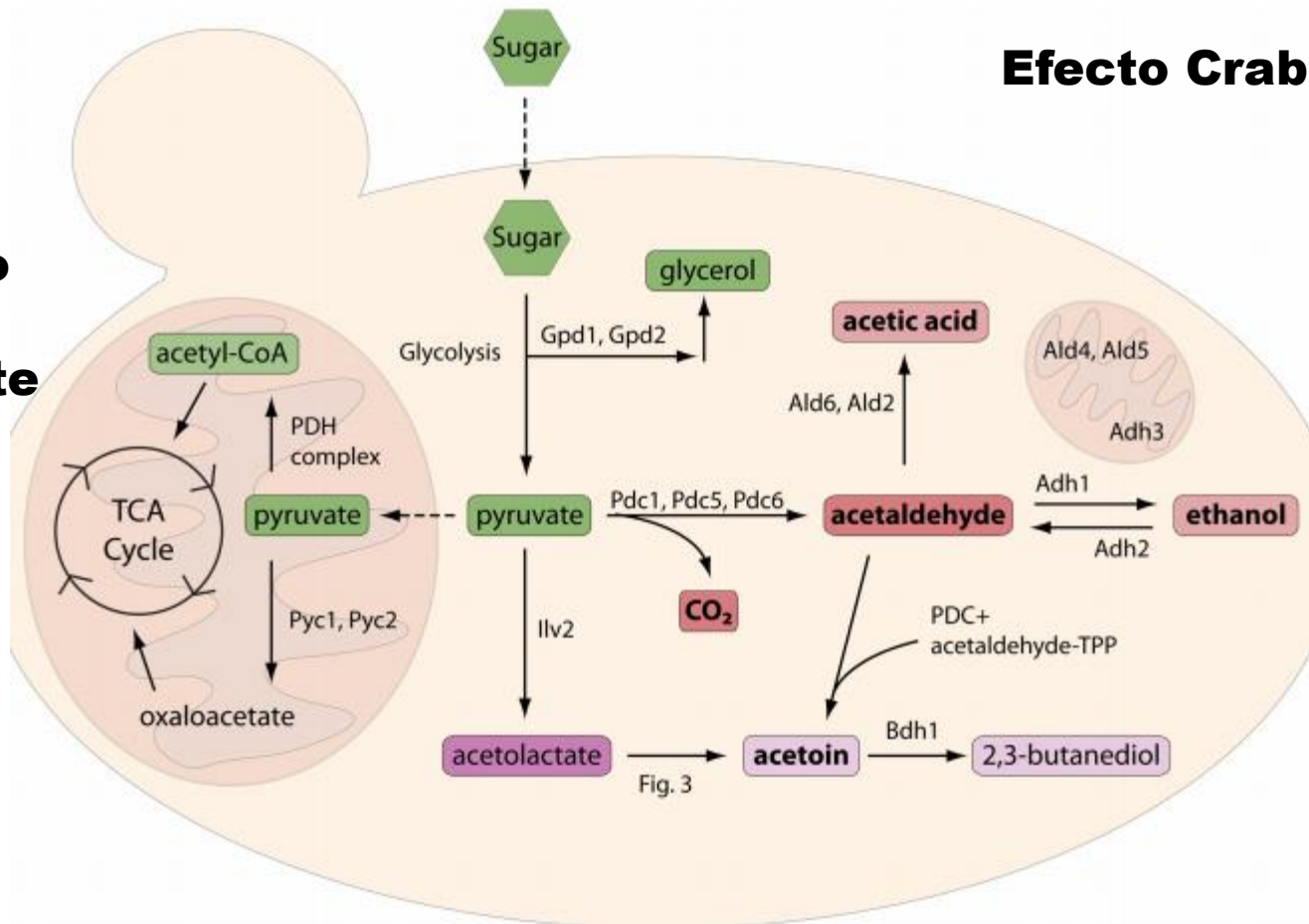
El grado de uso de maltotriosa define el nivel de atenuación de la levadura.



La producción de etanol y CO₂

**Mucho
más
eficiente**

Efecto Crabtree



Acetaldehído

También aumenta con la alta densidad y la alta tasa de inoculación

Parameter	Condition	Effect on acetaldehyde production	Reference
Temperature	Increase	Increase	Romano et al. (1994)
Oxygen	Increase	Increase	Branyik et al. (2008), Curiel et al. (2016)
Medium composition			
C source	Non-fermentable	Increase	Romano et al. (1994)
SO ₂	Increase	Increase	Jackowetz et al. (2011)

La levadura produce acetaldehído como señal para regular el crecimiento

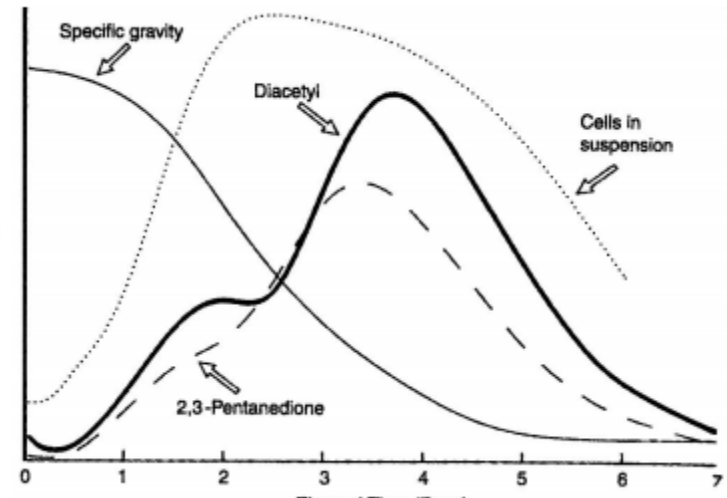
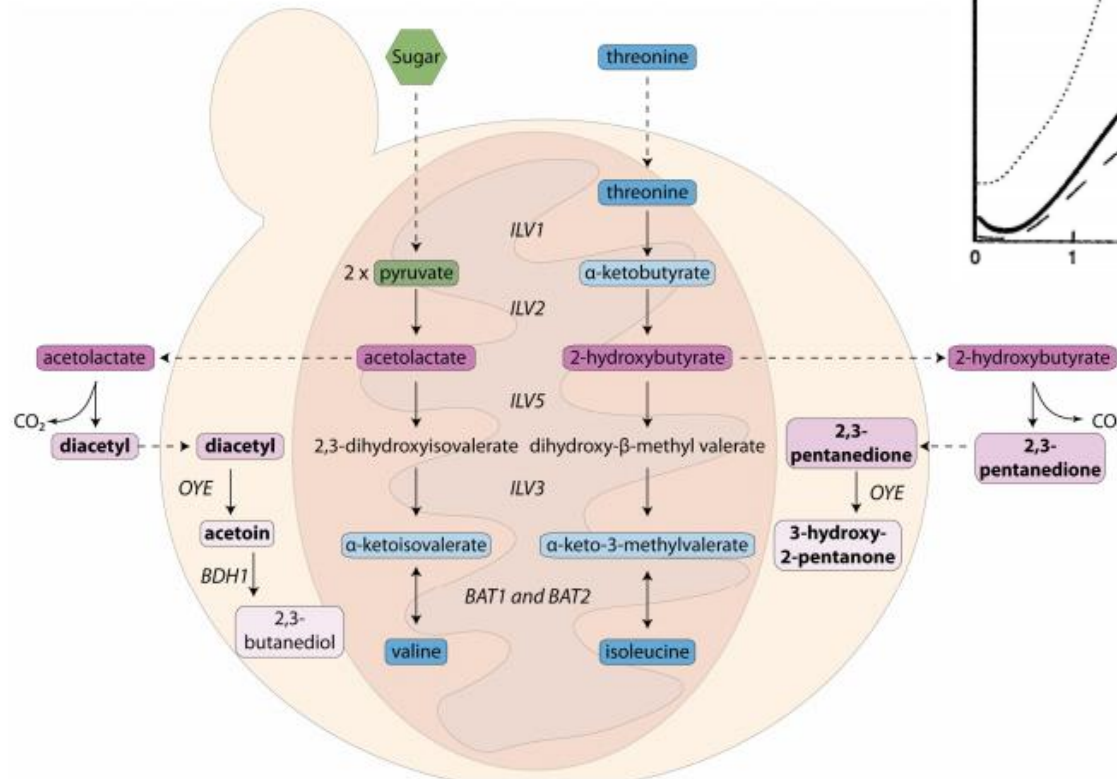
En bajas cantidades ofrece aromas deseados

En altas cantidades son off-flavors (muy manzana verde, pasto)

A altas temperaturas de fermentación (28-30°C) se favorece la generación de acetaldehído. Si ingresa oxígeno al fermentador aumenta la generación de acetaldehído por oxidación del alcohol

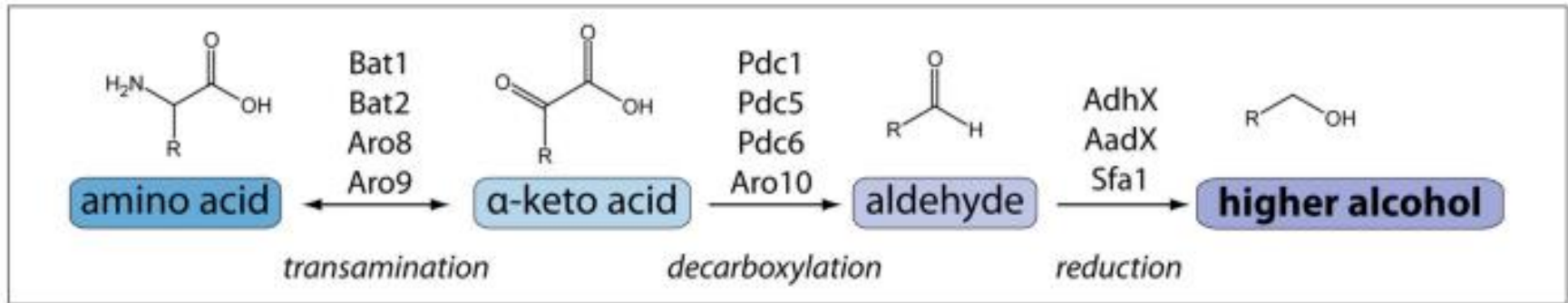
Se reduce con la maduración, se vuelve a asimilar

Diacetilo (la caca de la levadura)



Como bajarlos
2da Fermentación
Evitar el Cold Crash
Cepas no tan
floculantes

Alcoholes superiores



Su presencia en cerveza da la sensación de “calentamiento”, y son los responsables del dolor de cabeza

Como los alcoholes superiores son producidos principalmente durante el crecimiento, luego todo lo que favorezca el crecimiento favorecerá la producción de alcoholes superiores.

Altas temperaturas desde el inicio de la fermentación, alto nivel de oxígeno, suplementación de aminoácidos o vitaminas

Esteres

Como bajarlos

Alta Oxigenación

Alta Presión

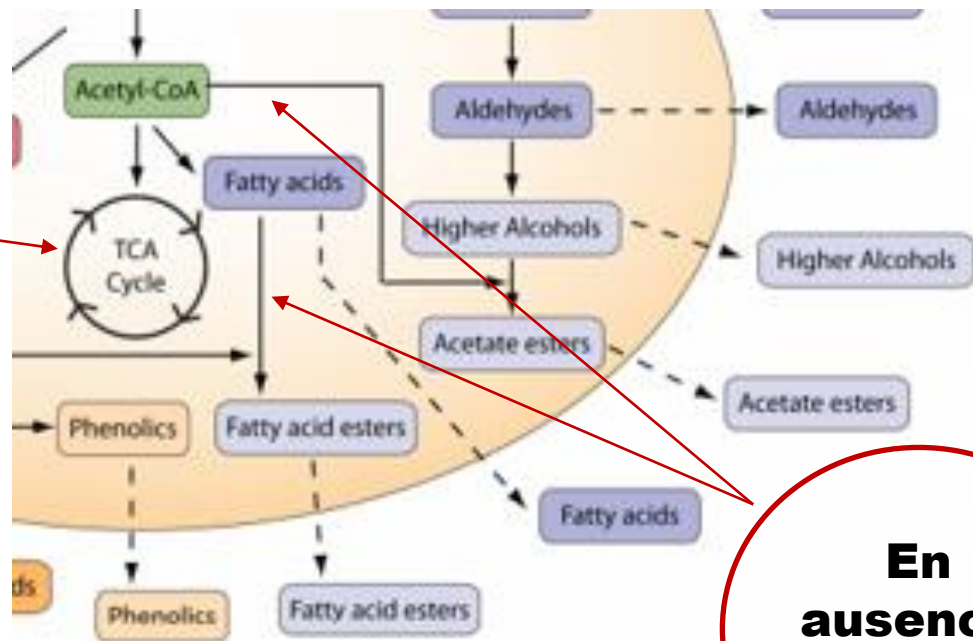
**Baja concentración
de alc. superiores**

Como subirlos

**Alta Temperatura
(luego del 2do día)**

**Alta concentración
de azúcares simples
y alta densidad**

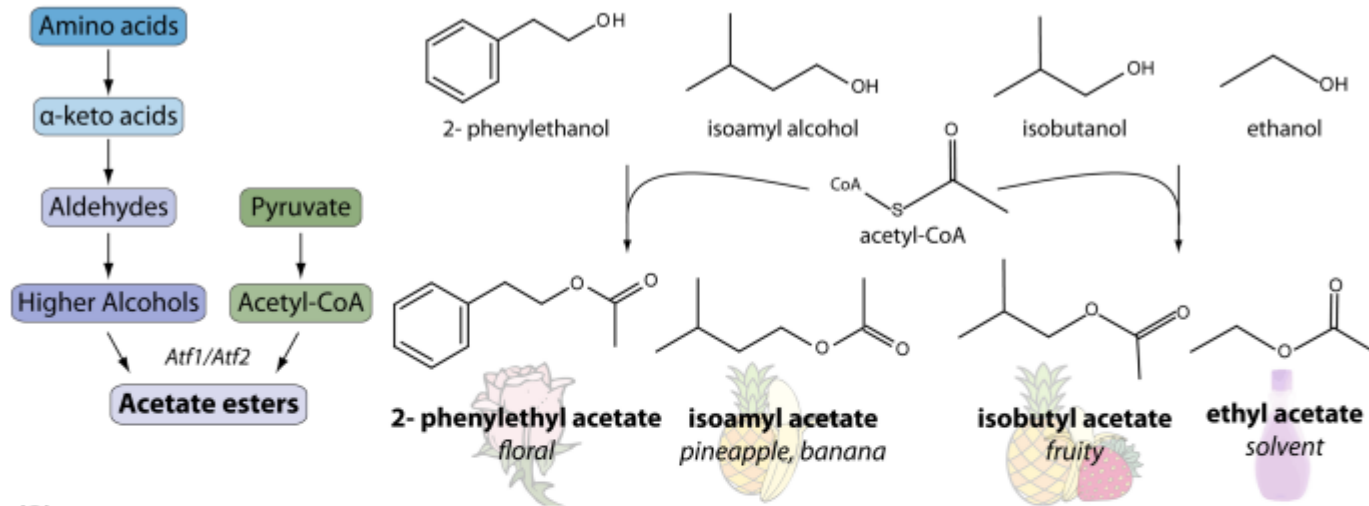
**En presencia
de O₂ favorece
la producción
de esteroides**



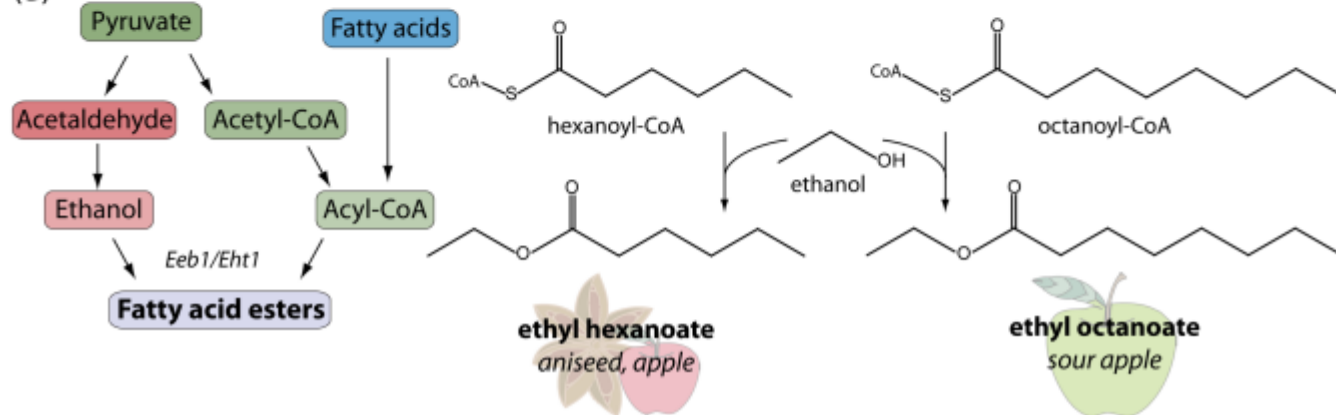
**En
ausencia
de O₂**

Esters

(A)



(B)

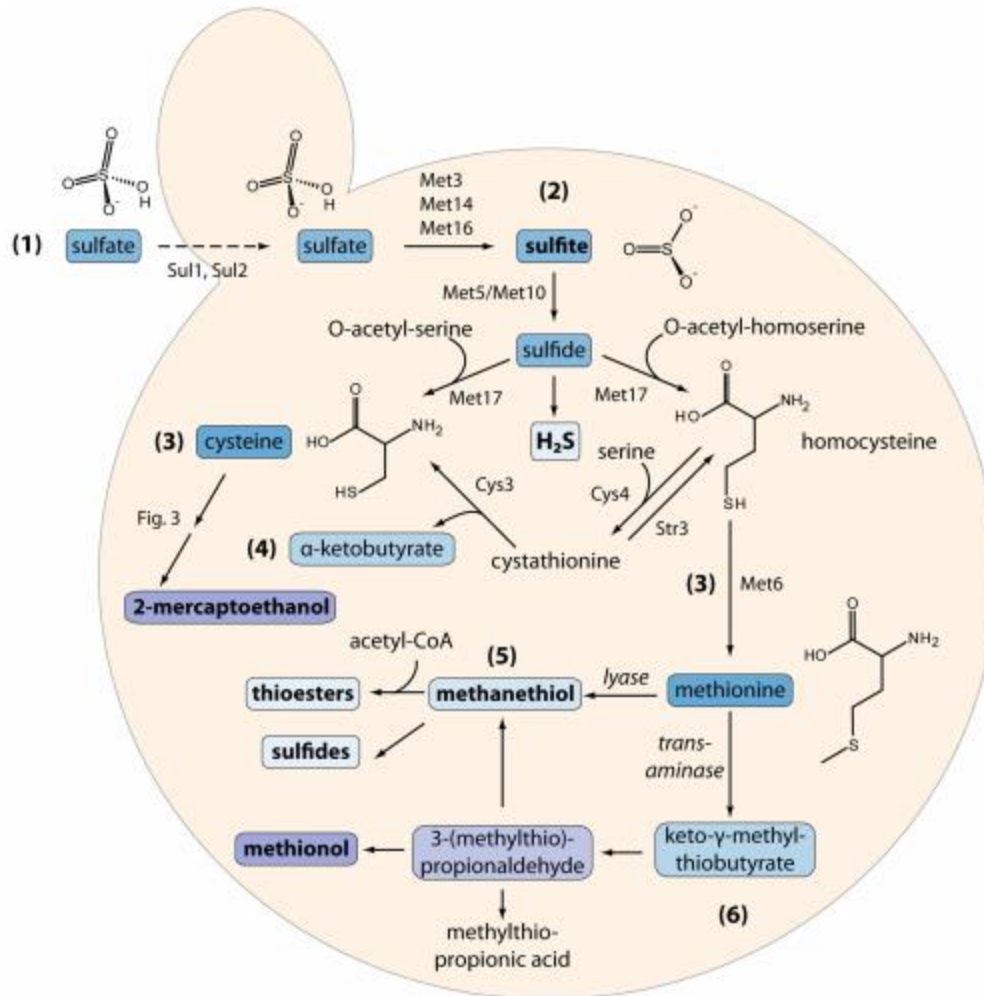


Esteres

Table 1. Major esters and higher (fusel) alcohols in beer [4].

Flavour Congeners	Organoleptic Threshold (mg/L)
Esters	
Ethyl acetate (fruity, solvent-like)	3.0
Isoamyl acetate (fruity, banana aroma)	1.2
Isobutyl acetate (pineapple)	0.7
Ethyl caproate (sour apple)	0.22
Ethyl caprylate (sour fruit)	0.9
Phenyl ethyl acetate (roses, honey, fruity)	0.4
Higher alcohols	
Amyl alcohol (Alcohol)	65
Isobutanol (Solvent)	70
Propanol (Solvent)	200
Methyl butanol (Banana, medicinal)	65
Phenyl alcohol (Roses, sweet, perfume)	125

Compuestos sulfurados



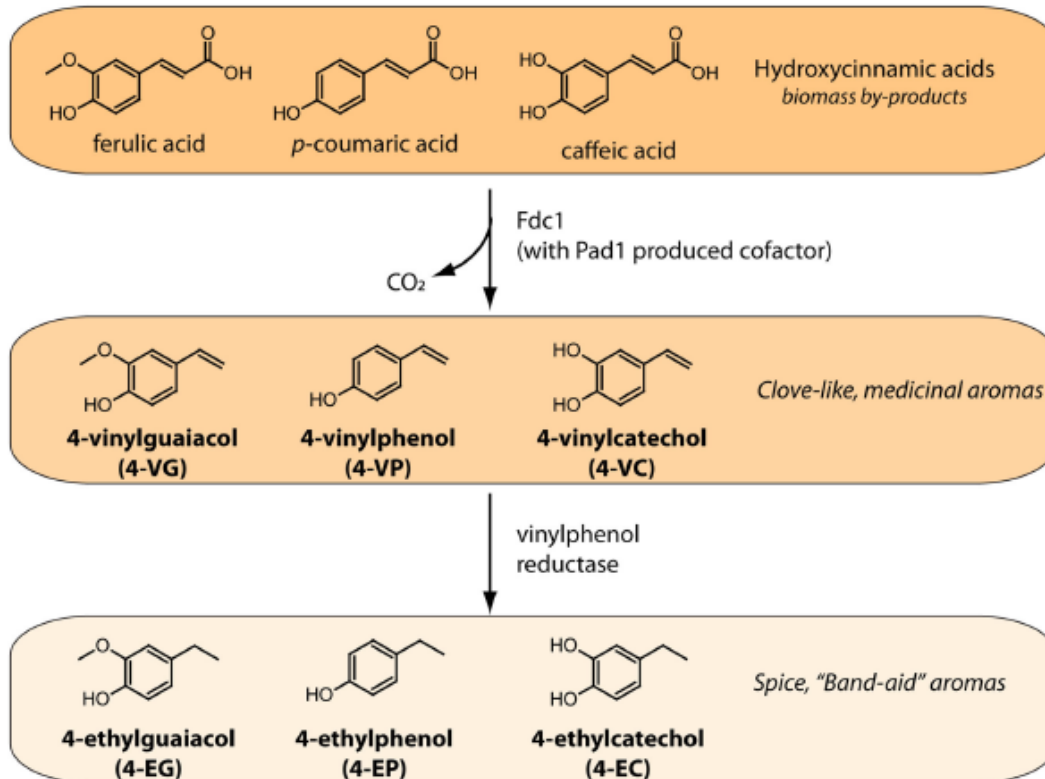
**Un bajo nivel de nitrógeno
podría derivar en mayor
producción de H₂S**

**Las bajas temperaturas
favorecen los sulfurados
(los sulfuros son volátiles)**

H₂S: huevo podrido
SO₂: fósforo quemado
Tioles: goma quemada
DMS: proviene de la
malta (choclo)

**Para reducir los sulfuros
mantener una fermentación
activa y sana**

Compuestos fenólicos



Compuestos derivados de los vegetales que podrían ser tóxicos para la levadura

La levadura los convierte en otros compuestos menos tóxicos por intermedio de una descarboxilación

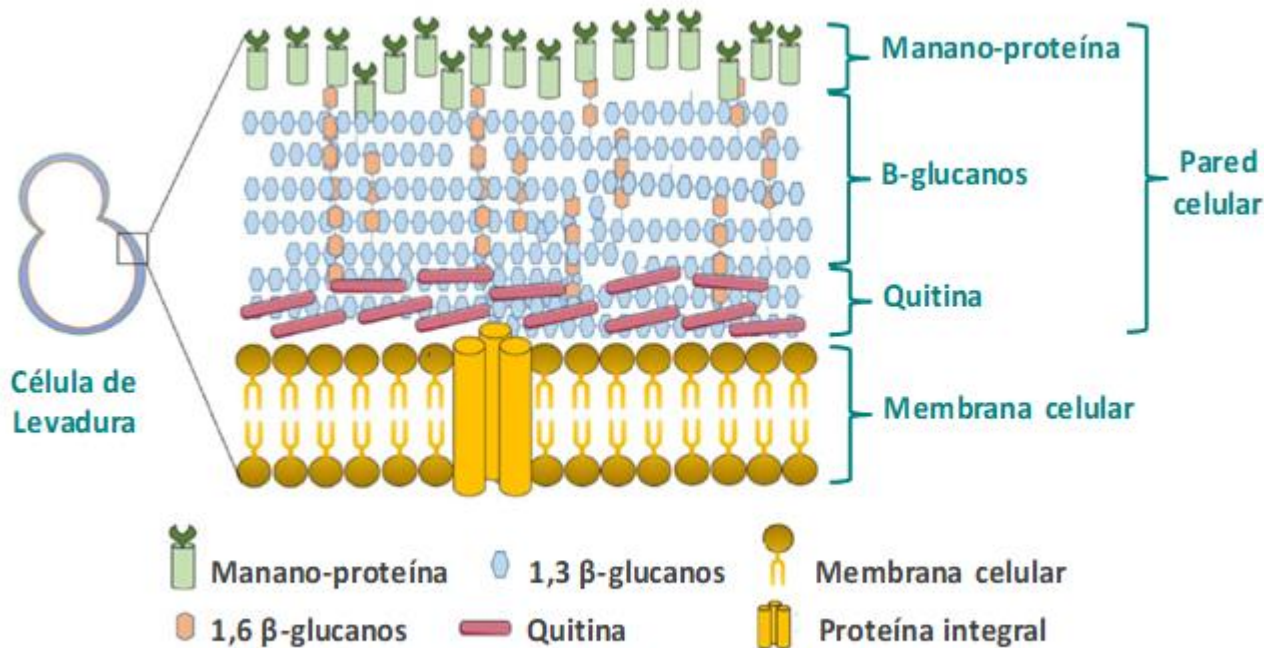
Sin embargo, la mayoría de las cepas comerciales han sido seleccionadas para no realizar la conversión

Durante la maduración

- **Algunos esteres se van degradando como el Acetato de Isoamilo**
- **Otros esteres se van generando como Etilnicotinato (solvente, medicinal), Etilpiruvato (pasto recién cortado) y Etilactato (mantecoso)**
- **Bajan los niveles de acetaldehído y diacetilo (carbonilos)**
- **Bajan los compuestos de sulfuro**

Pared celular de la levadura

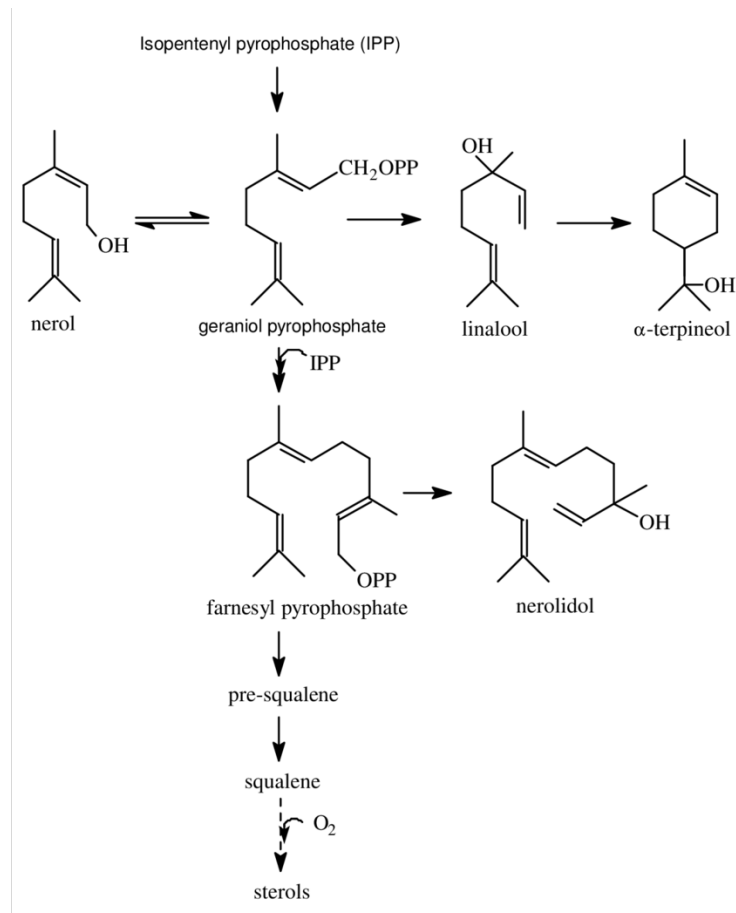
Figura 1. Estructura de la pared celular de la levadura *S. cerevisiae*.



PARED: posee grupos fosfato y carboxilo que al pH del mosto se encuentran con cargas negativas

MEMBRANA: bicapa de fosfolípidos. La oxigenación del mosto permite que esta bicapa sea fluida

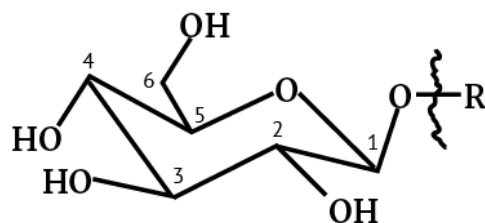
Oxigenación del mosto



Biotransformación

1- clivaje de glicósidos

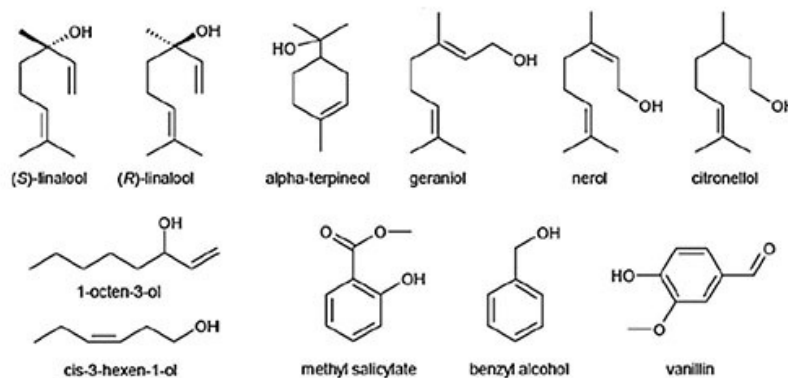
Figure 1: Structure of a glycoside



β -D-Glycosides
R=Aglycones

"R" represents the flavor molecule.

Figure 2: Examples of glycosidically-bound aroma compounds



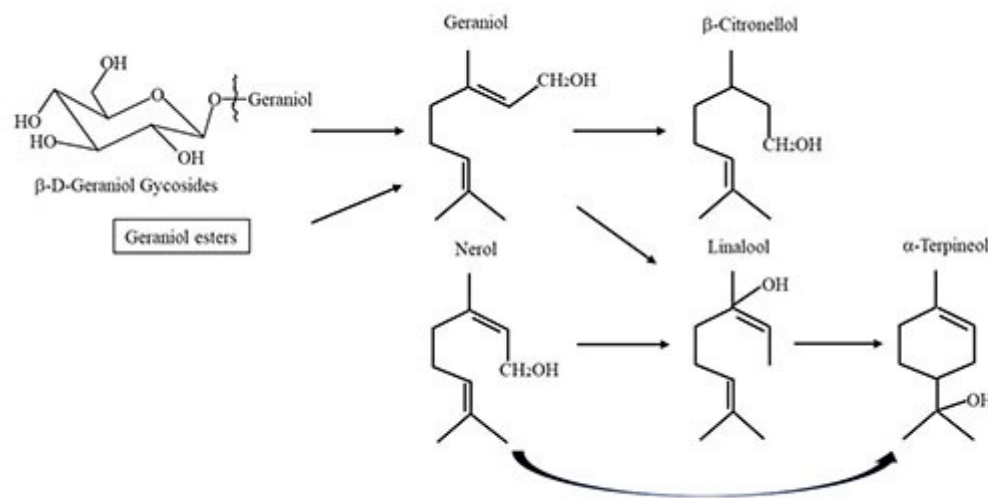
Adapted from Daenen³

El glicósido no aporta aroma, sin embargo el compuesto liberado del clivaje sí lo hace.

Biotransformación

2- transformación de terpenos

Figure 3: Biotransformation pathway of monoterpene alcohols by yeast



Adapted from K. Takoi, et al. Brewing Science 70, 177–186, 2017

Las levaduras pueden metabolizar algunos compuestos del lúpulo y transformarlos en otros, con otras características de aroma y sabor

Biotransformación

3- liberación de tioles

Las levaduras también pueden liberar “Tioles” a partir de sus precursores. Dichos compuestos sulfurados otorgan a la cerveza potentes aromas frutales, exóticos, uva, maracuyá.

Lúpulos con altos niveles de
Tioles **libres**

Citra
Apollo
Eureka!
Simcoe

Lúpulos con altos niveles de
“**precursores**” de Tioles

Citra	Hellertau
Simcoe	Perle
Eureka!	Saaz
Apollo	Calypso
Cascade	Sorachi Ace