

UN MÉTODO PARA LA CUANTIFICACIÓN DE CÉLULAS DE LEVADURAS VIVAS

D. MCLEAN, J. HOLCOMB, K. MAXWELL, J. B. SOMES,

GENPRIME INC., 157 S. HOWARD, SUITE #605, SPOKANE, WA 99201,

D. LOGSDON,

WYEAST LABORATORIES P.O. BOX 425, MT. HOOD, OR 97041

J. E. FLEMING,

DEPARTMENT OF BIOLOGY, EASTERN WASHINGTON UNIVERSITY, CHENEY, WA 99004

RESUMEN

El funcionamiento de la levadura es fundamental para el desarrollo de una cerveza de calidad. Por esta razón, los métodos de análisis de la levadura son un elemento importante del proceso de elaboración de la cerveza. Los métodos tradicionales como conteo con hematócrito y tinción con azul de metileno son rápidos, pero imprecisos y no fiables. El cultivo en portaobjeto es una medida precisa de la viabilidad de la levadura, pero requiere un largo período de incubación de 18 a 24 horas. Como alternativa, hemos desarrollado un ensayo fluorimétrico, el "Easy Count", basado en la actividad metabólica de un cultivo de levadura para proporcionar a los cerveceros con una estimación rápida y precisa del número de células vivas. Este método se comparó con el recuento con el hematócrito como una estimación del número de células, y con ambos, la tinción con el azul de metileno y el cultivo en portaobjetos como medida de la vitalidad y de la predicción del funcionamiento de la fermentación. El método del "Easy Count" se correlacionó con el recuento con hematócrito, azul de metileno, y cultivo en portaobjetos con valores de R^2 de 0,985 / 0,987 y 0,962, respectivamente, con $P < 0.0001$. Se llevó a cabo un análisis de errores en el "Easy Count", hematócrito con las técnicas de tinción con el azul de metileno para múltiples operadores realizando las pruebas. Hubo menos error asociado con el "Easy Count", que con los métodos microscópicos. El "Easy Count", también se utilizó para seguir la actividad de un cultivo durante la fermentación. Estos resultados sugieren que este nuevo método se puede utilizar para determinar el número de las células vivas en una fábrica de cerveza comercial. Por lo tanto, el "Easy Count", podría ser utilizado para determinar correctamente las cantidades para las siembras, seguimiento de la fermentación y la propagación y para otros usos que implican la cuantificación de células.

Palabras clave: levadura, cervecería, hematócrito, fermentación, fluorimetría, cuantificación

ABSTRACT

Yeast performance is critical to the development of quality beer. For this reason, methods of yeast analysis are an important element of the brewing process. Traditional methods including hemacytometer counting and methylene blue staining are rapid, but inaccurate and unreliable. Slide culture is an accurate measure of yeast viability, but requires a lengthy incubation period of 18 to 24 hours. As an alternative, we have developed a fluorometric assay, the Easy Count, based on the metabolic activity of the yeast culture to provide brewers with a rapid and accurate estimation of active cell number. This method was compared to the hemacytometer counting technique as an estimation of cell number, and to both methylene blue staining and slide culture as measures of vitality and prediction of fermentation performance. The Easy Count method correlated to the hemacytometer, methylene blue, and slide culture with R^2 values of .985, .987, and .962 respectively, $P < .0001$. An error analysis was carried out on the Easy Count, hemacytometer and methylene blue staining techniques for multiple operators performing the tests. There was less error associated with the Easy Count than with the microscopic methods. The Easy Count was also used to track the activity of a culture during fermentation. These results suggest that this novel method can be used to determine the active number of cells in a commercial brewery. Thus, the Easy Count could be used to determine correct pitching rates, monitor fermentation and propagation, and for other applications involving cell quantitation.

Keywords: yeast, brewery, hemacytometer, fermentation, fluorimetry, quantification.