

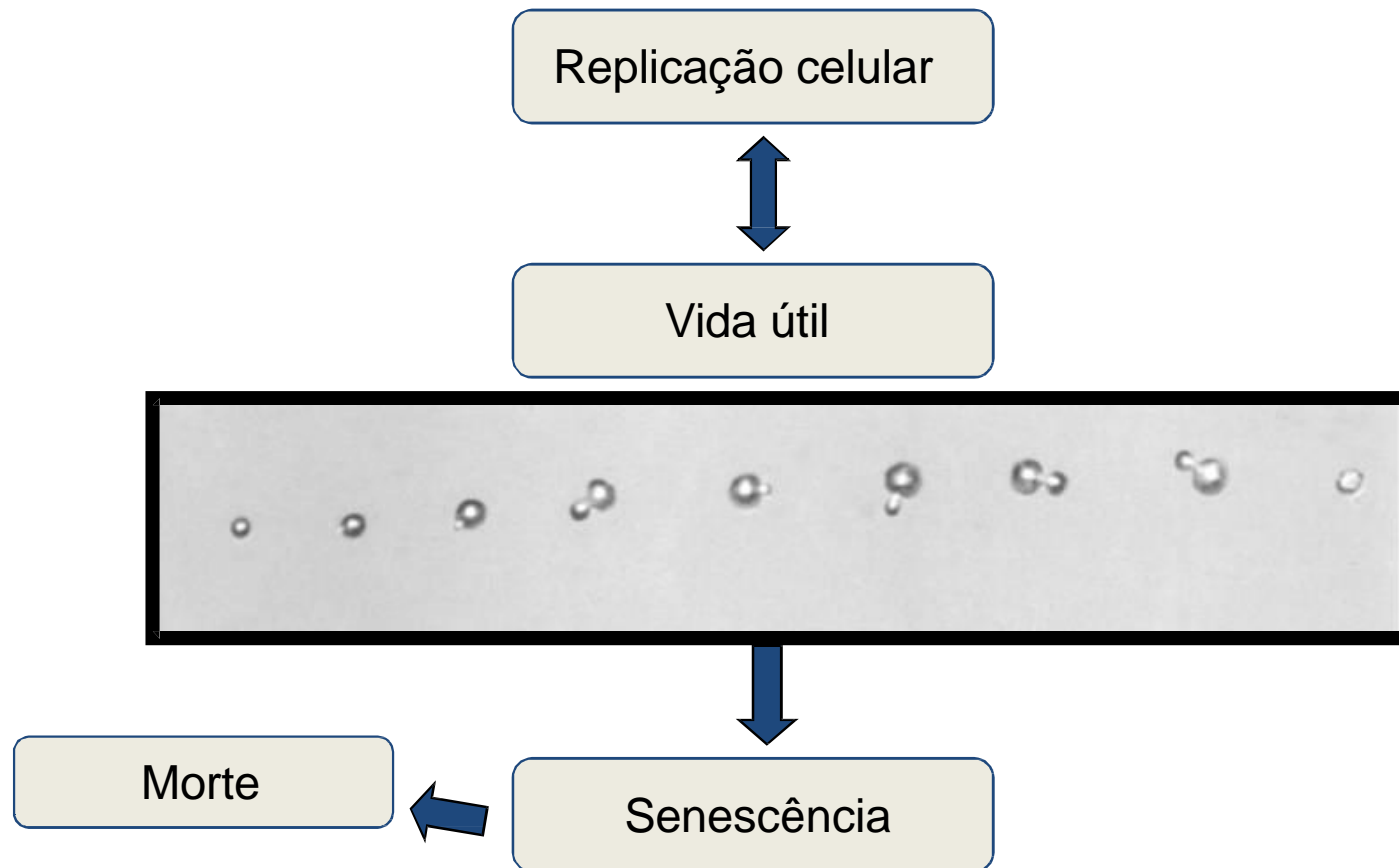
Os sinais vitais da levedura cervejeira e como evitar estresse

Sylvie Van Zandycke, Ph.D.
Director of Sales and Marketing

Esboço

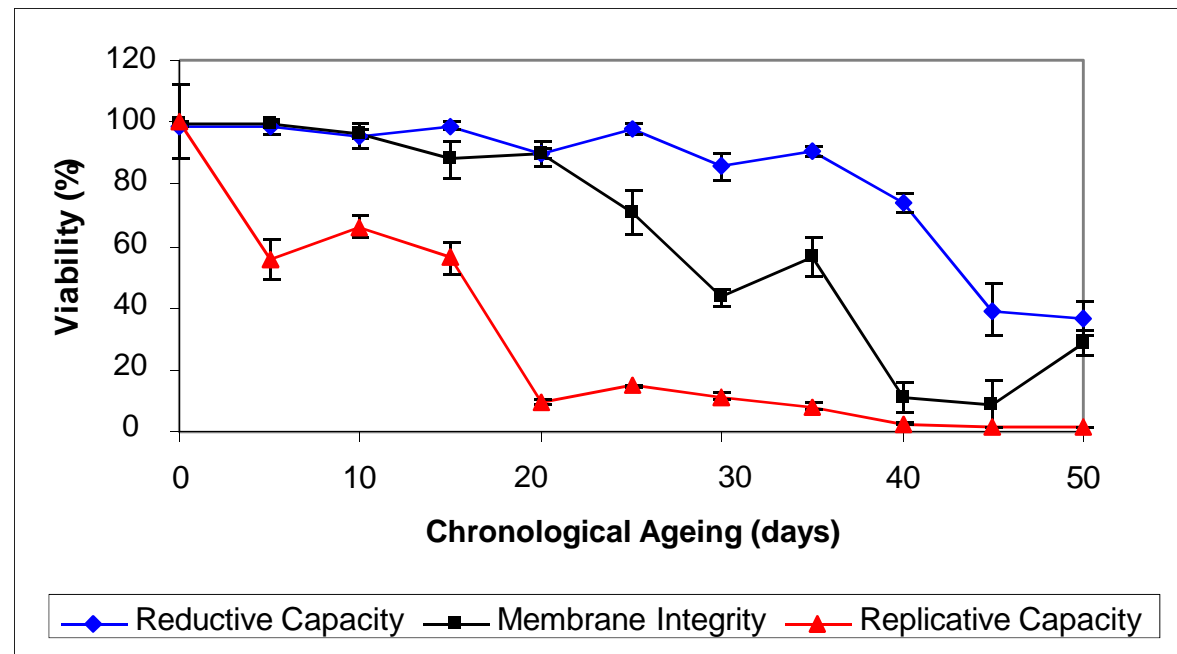
- O que significa viabilidade? Uma célula morta está... Realmente morta?
- O que é vitalidade e por que é importante?
- Medida de viabilidade e vitalidade – métodos ultrapassados e as últimas tecnologias
- Estresse da levedura e como evitar

A vida útil replicável da célula de levedura



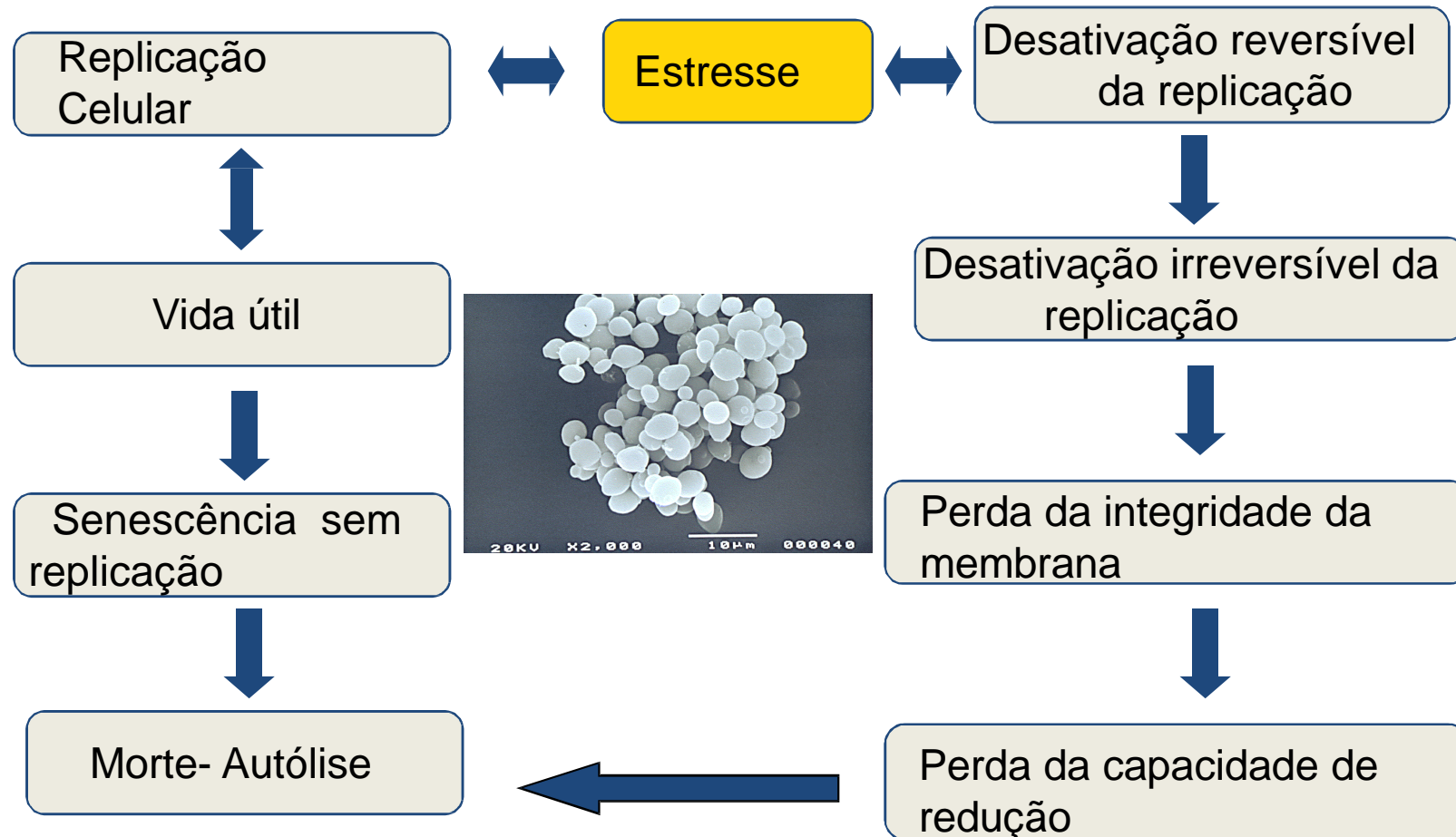
Powell *et al*, 2000

Uma morte lenta sob estresse...

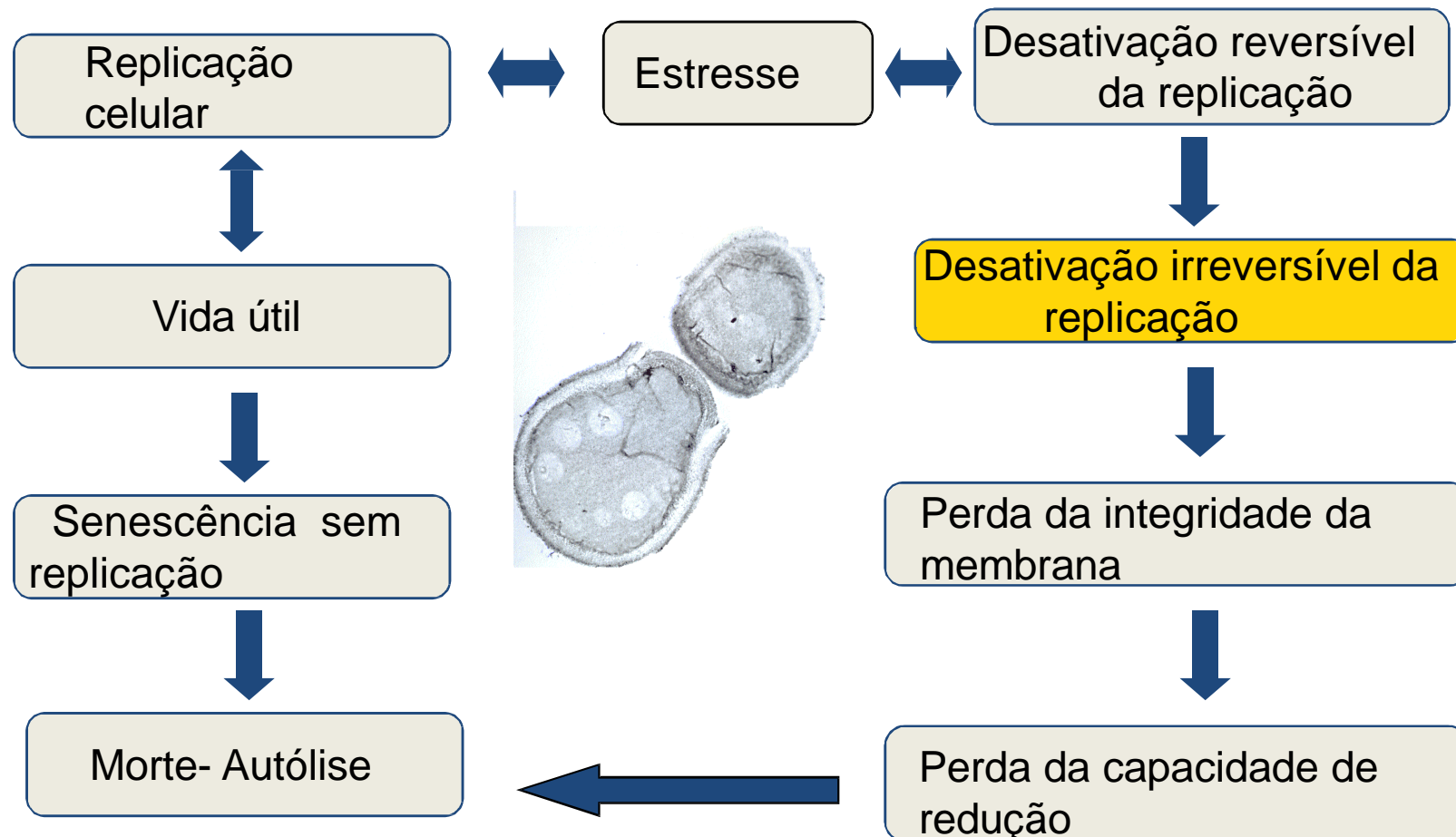


Maskell *et al*, 2003 FEMS Yeast Research

Quando a levedura é estressada...

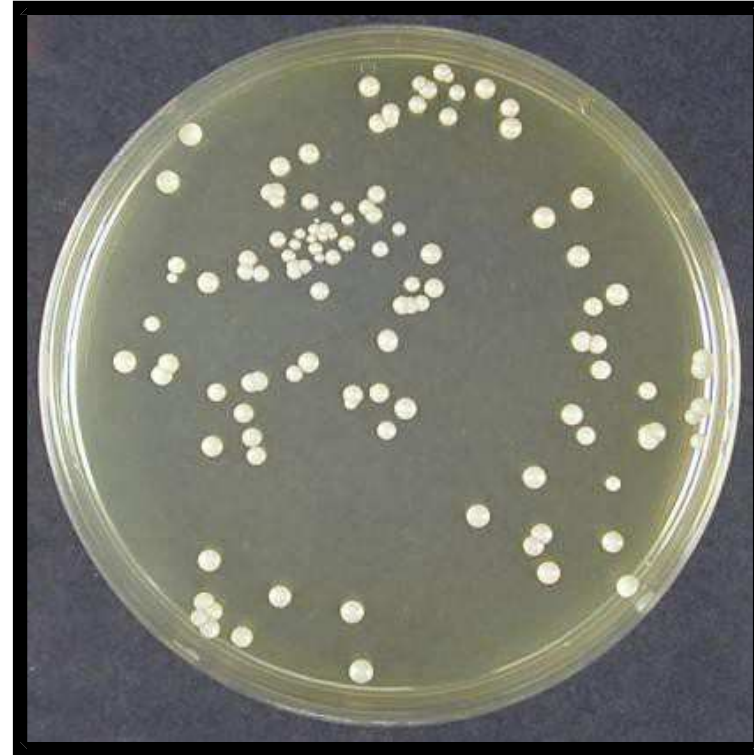


Determinação da capacidade de replicação

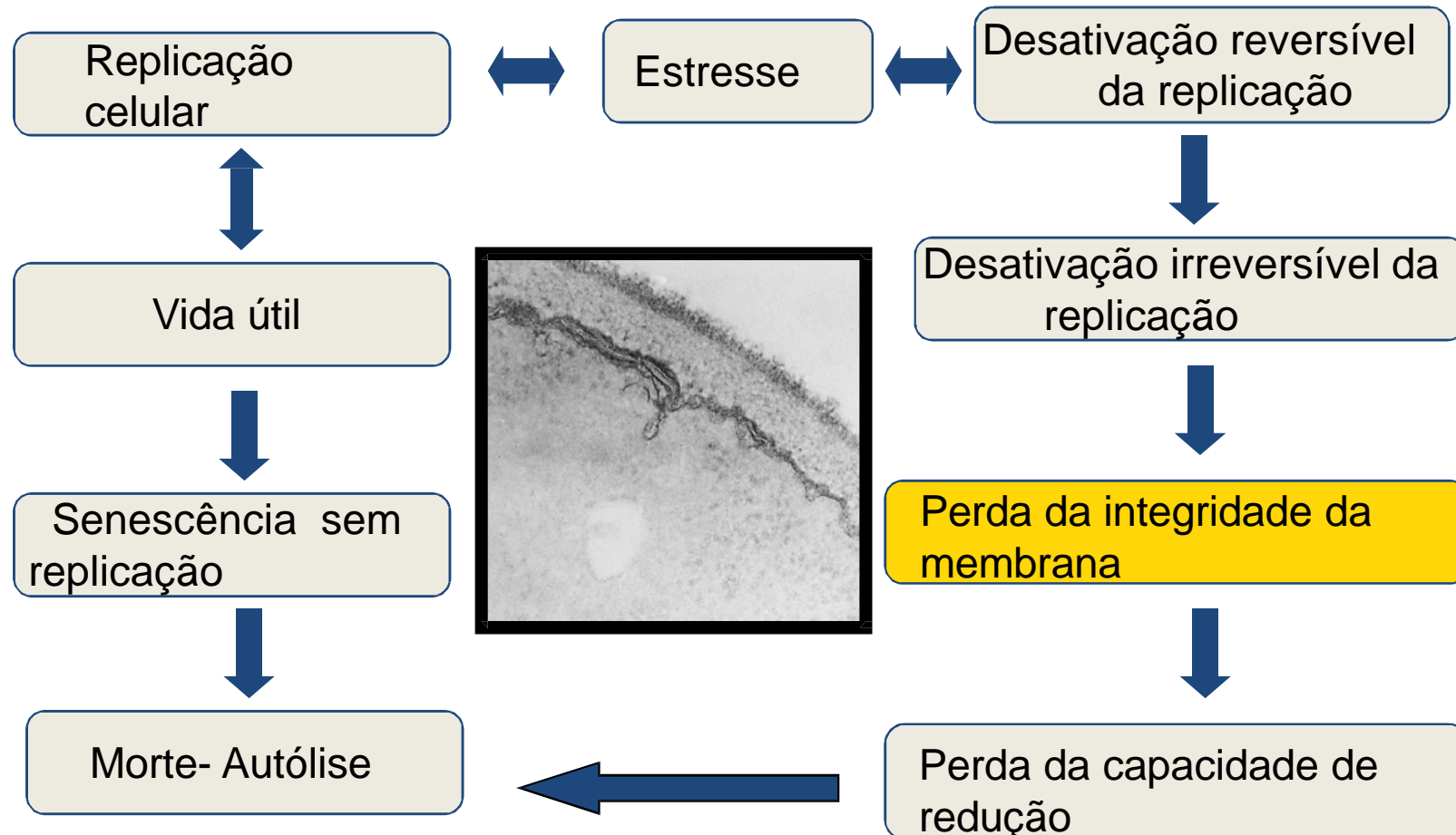


Capacidade de replicação

- Contagem em placas - Lenta 48h
- Contagem no microscópio
 - Rápida 18h
- Taxa de brotamento
 - Mais rápida 6h

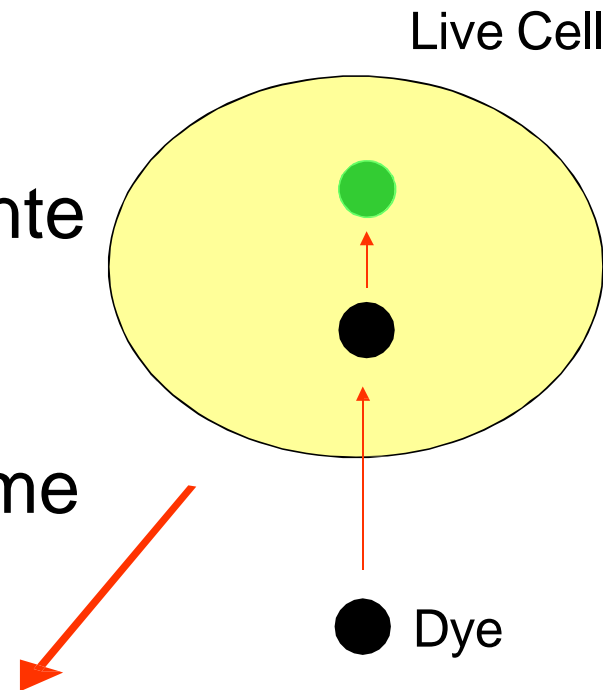
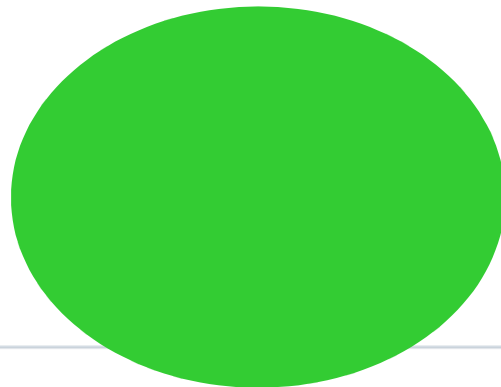


Determinação da integridade de Membrana



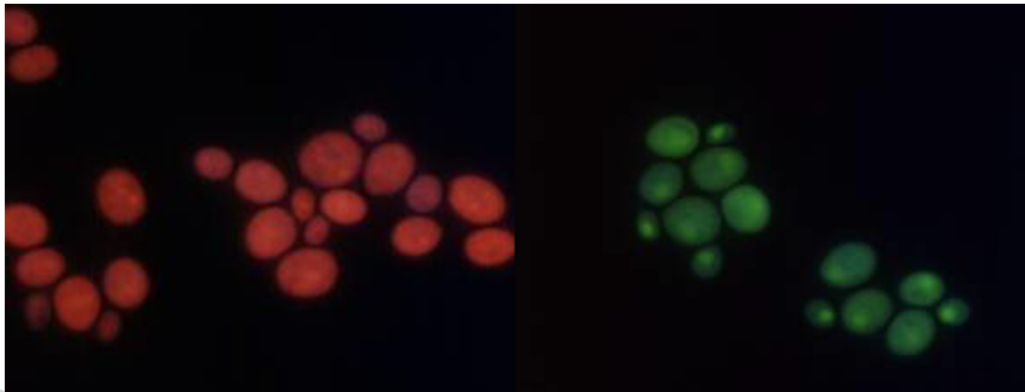
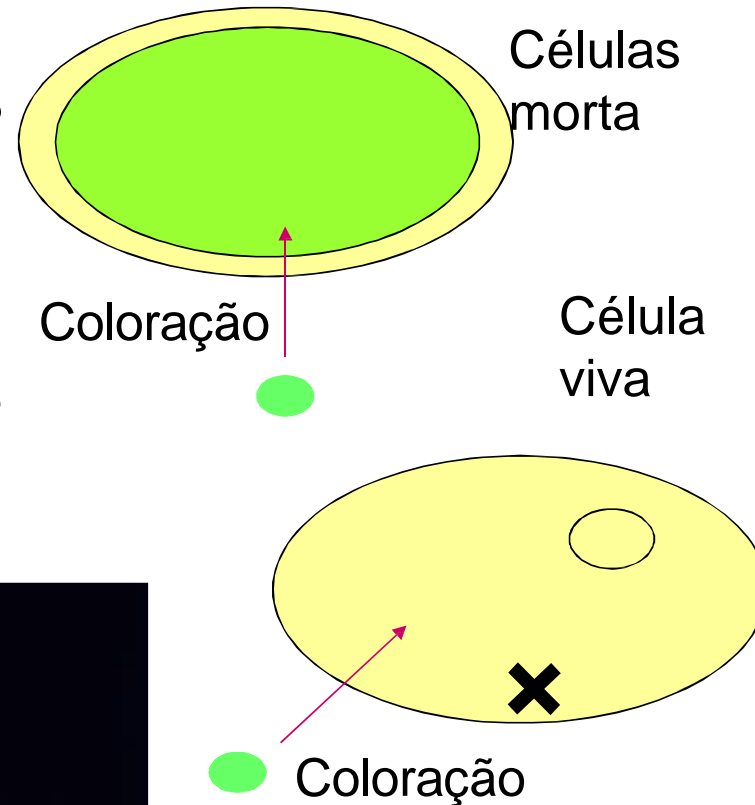
Morte da membrana permeável

- Baseado na ação de esterases
- Conversão de uma cor não fluorescente em uma fluorescente
- Marca as células vivas
- Calceína AM, Diacetato de Fluorescina, CFDA, Chemchrome Y

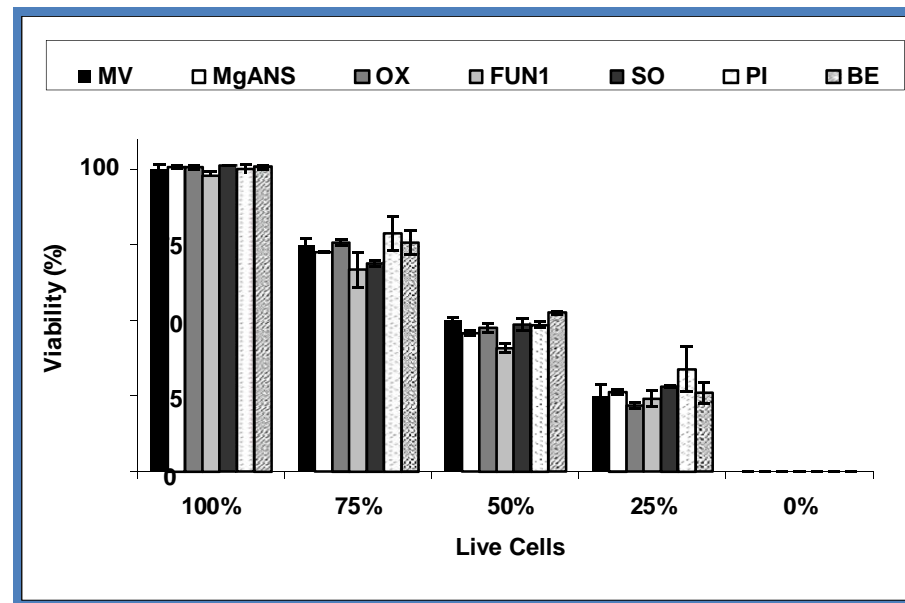


Morte da membrana impermeável

- Se liga em ácidos nucleicos ou proteínas e membranas
- Marca células mortas
- Mancha de Sytox, iodeto de propídio, Oxonol, MgANS

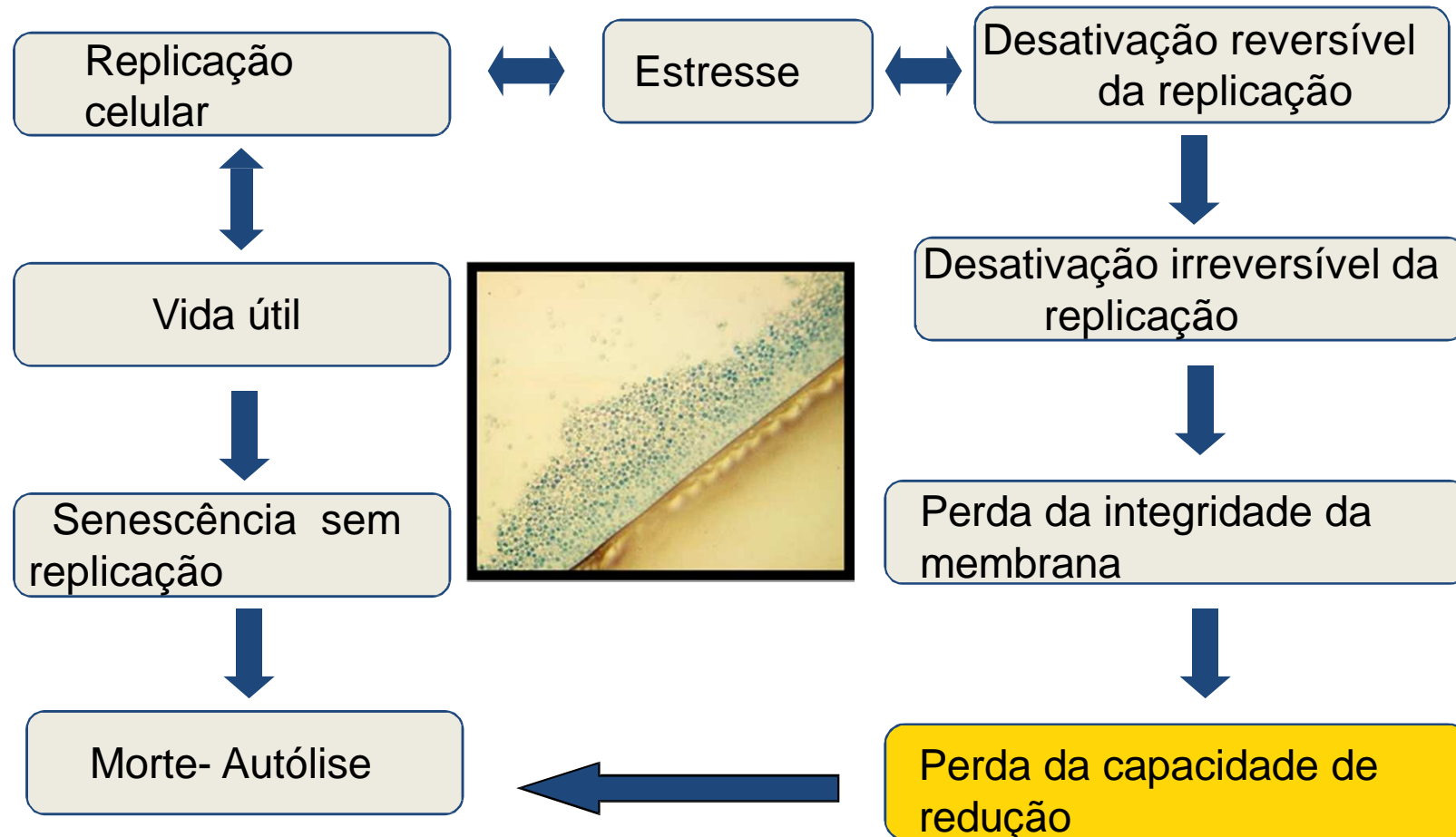


Viabilidade de uma cepa Lager utilizando vários Fluoróforos

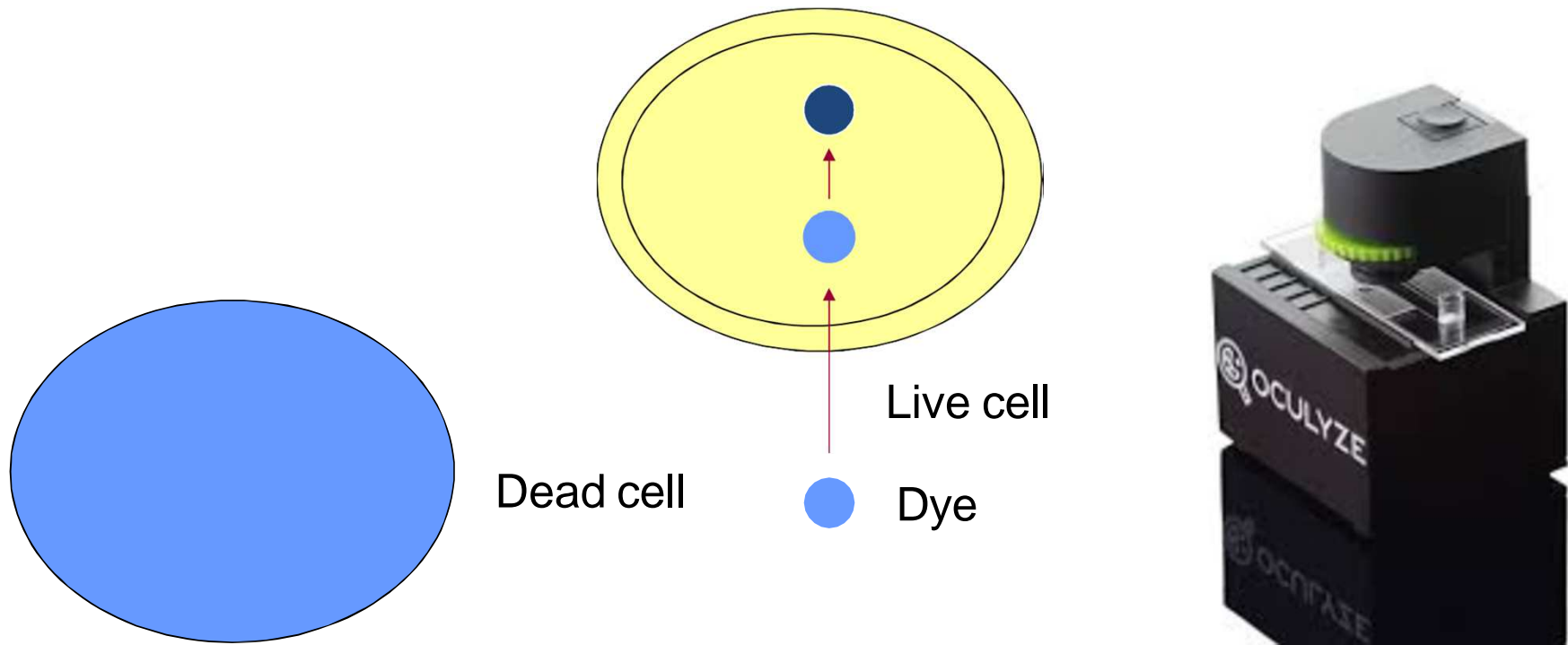


Viability of mixed live / dead yeast populations of lager strain L138.
Reproduced from Van Zandycke *et al* (2003).

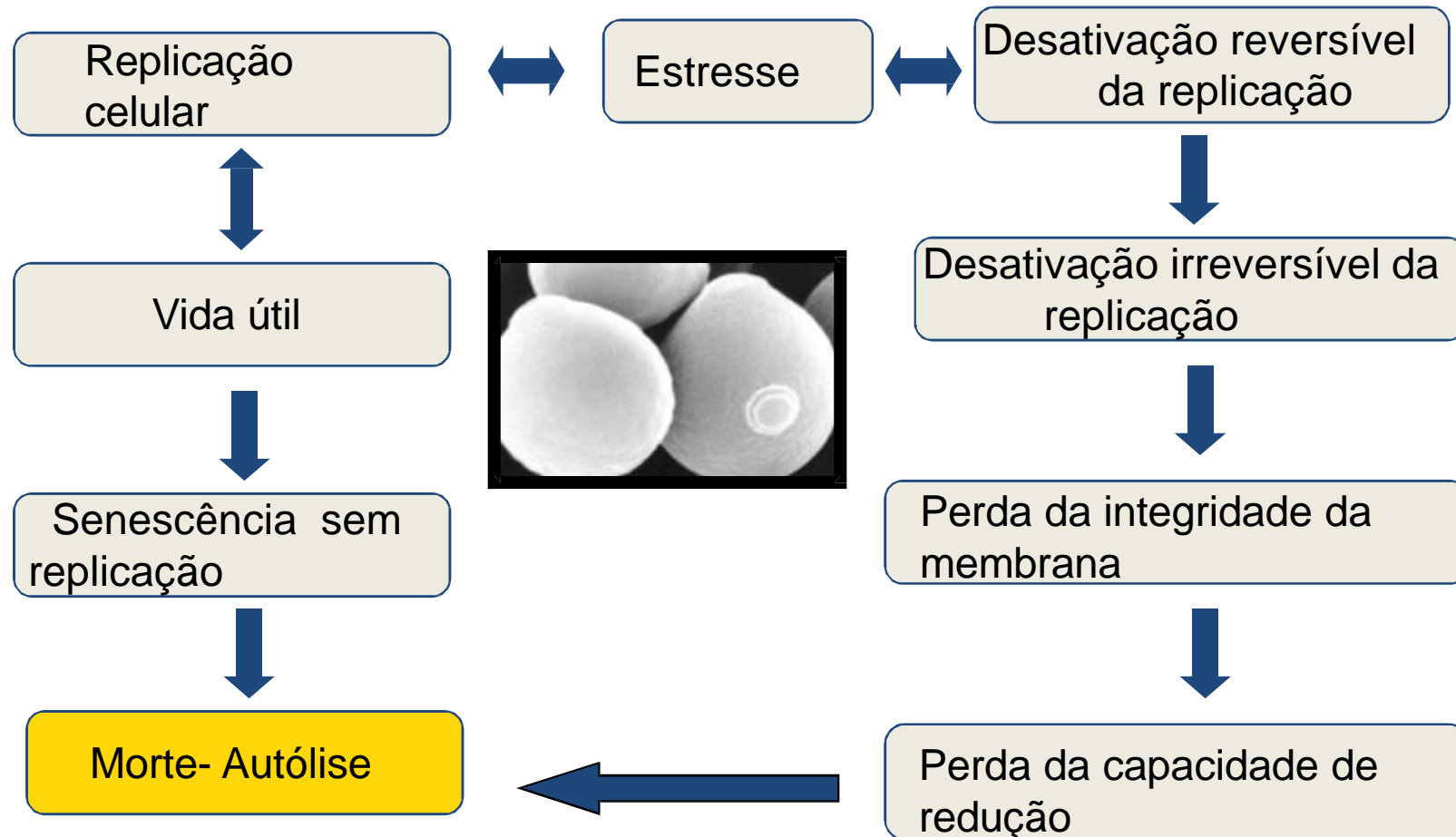
Determinação da capacidade de redução



Microscopia com corantes



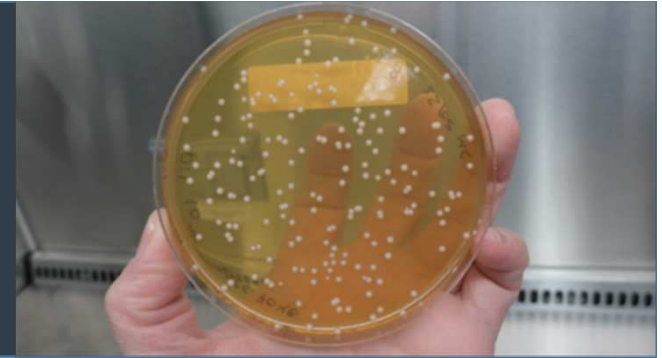
Determinação da autólise celular



pH do fermento coletado

- Diagnóstico fácil e barato da condição do fermento
- Indicador de autólise da levedura
- Aumento de pH em lamas mais velhas

Viabilidade do fermento Seco



- Viabilidade do fermento é irrelevante, células vivas/g é importante e recomendações de dosagem
- Dosar a mesma quantidade de células vivas cada vez = consistência
- Medir a viabilidade do fermento seco deveria ser feito utilizando um método de replicação celular e não azul de metileno.



Reidratar ou não reidratar

Vamos manter simples

- Se você tem alguma dúvida sobre reidratação ou como fazer – **NÃO** reidrate
- Não reidratar, não vai comprometer sua cerveja
- Reidratar corretamente vai permitir à levedura lentamente voltar a sua forma original Isso é mais importante para:
 - Cervejas high-gravity
 - Leveduras Lager
 - Refermentação em garrafa

Documento útil – Best practice

REHYDRATION PROTOCOL



WHY REHYDRATION IS RECOMMENDED (BUT NOT ESSENTIAL)?

Rehydration is a simple process which allows the dry yeast to become liquid yeast, reducing the osmotic stress and enhancing a homogeneous dispersion.

WHAT IF I DO NOT REHYDRATE THE YEAST?

In case of sprinkling the yeast onto the wort, please take into account the following recommendations:

- Do not soak the sachet or pack into the wort, avoiding direct contact.
- Sprinkle the yeast all over the wort surface.
- Maintain high hygienic conditions during the direct pitching.

In most cases, dry-pitched fermentations proceed normally without any problems. However, this option is not recommended in high gravity worts (above 16°P or SG 1.065) or in soured worts with low pH.



YEAST REHYDRATION PROCESS

Step by Step

- Sanitize the upper part of the pack (e.g. ethanol 70%) and the scissors before opening.
- Sprinkle the yeast on the surface of 10 times its weight in clean, sterilized water at 30-35°C (86-95°F).
- Leave it undisturbed for 15 minutes, stir gently to suspend yeast completely.
- Leave it for 5 more minutes at 30-35°C (86-95°F).
- Temperate in steps at 5-minute intervals of 10°C to the temperature of the wort by mixing aliquots of wort in order to adjust the temperature of the hydrated yeast, with no delay.



Please Do Not

- Do not use distilled or reverse osmosis water, as it will result in loss of viability.
- Do not stir right after sprinkling, as it may break the yeast cell membrane.
- Do not allow attemperation to be carried out by natural heat loss. This will take too long and could result in loss of viability or vitality.

FAQ

Should I oxygenate my wort?

Our yeast contains adequate reserves of carbohydrates and unsaturated fatty acids to achieve active growth. **It is unnecessary to aerate** wort upon first use.

However, in high gravity wort (> 16°P), some oxygenation would be beneficial in order to promote the synthesis of unsaturated fatty acids and sterols, which leads to new membrane cell formation. If oxygenation is not possible, then increase the pitch rate for high gravity worts to ensure an adequate population of fermenting cells.

What if I pitch the yeast at a much different temperature than my wort?

Temperature differences greater than 10°C between yeast and wort will result in a temperature shock. This will cause the formation of petite mutants, leading to long-term or incomplete fermentation and possible formation of undesirable flavors in your beer.

Ferramenta do cervejeiro – cálculo de inóculo

The screenshot shows a web browser window displaying the Lallemand Brewing Pitching Rate Calculator. The browser's address bar shows the URL: `lallemandbrewing.com/en/canada/brewers-corner/brewing-tools/pitching-rate-calculator/`. The page header includes the breadcrumb: `Lallemand Brewing / Brewer's corner / Brewing tools / Pitching rate calculator`. The main content area features a banner with the text "BREWING TOOLS" and "GLOBAL CONTACTS" over a background image of brewing ingredients. Below the banner, the "PITCHING RATE CALCULATOR" section contains the following text: "This calculator will help you determine the amount of LalBrew® yeast needed for your fermentation. If you would like to speak with a technical representative about your specific fermentation needs please send us a message [here](#)."

The calculator form includes the following fields:

- Yeast:
- Gravity units:
- Original gravity:
- Volume units:
- Batch volume: Liters

A "Submit" button is located below the form. At the bottom of the browser window, the Windows taskbar is visible, showing various application icons and the system clock displaying 7:39 PM on 8/1/2019.



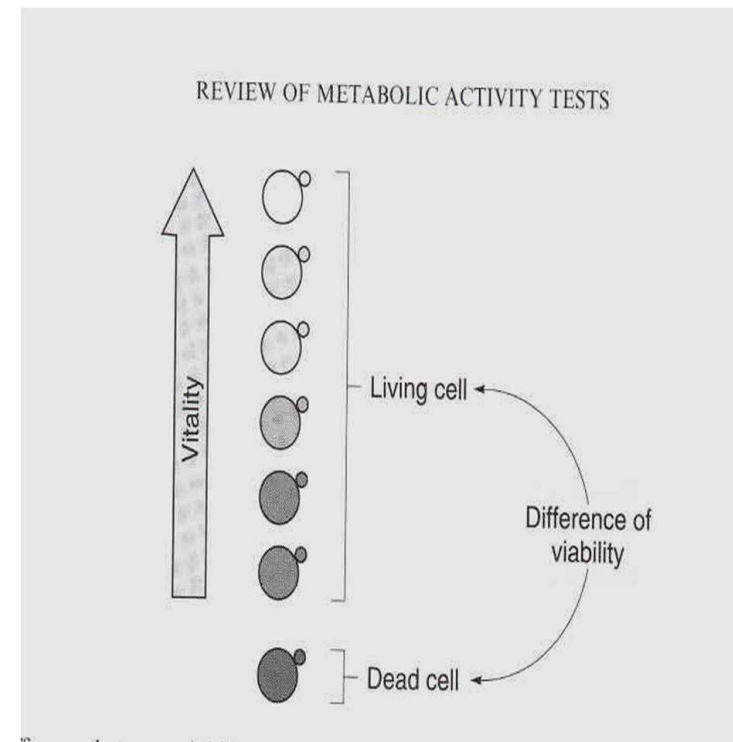
Vitalidade da Levedura

LALLEMAND BREWING

LALLEMAND

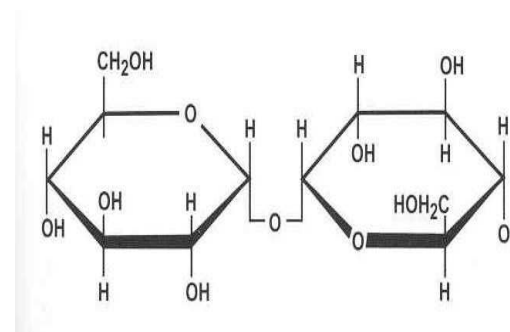
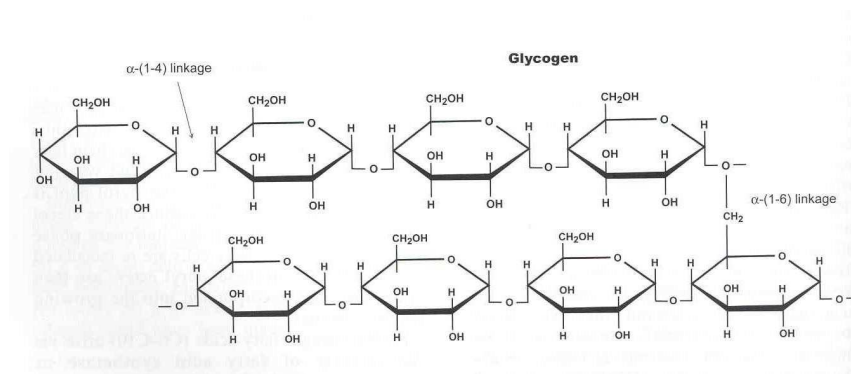
Vitalidade

- Habilidade em resistir ao estresse e ainda fermentar
- Previsão da performance de fermentação
- Indicador de qualidade



Medindo os componentes celulares relacionados a vitalidade

- **Glicogênio**
 - Polissacarídeo composto de muitas unidades de glucose
 - Quebrado por uma amiloglucosidase
- **Trealose**
 - Dissacarídeo composto de 2 unidades de glucose
 - Quebrado por trealase



A vantagem do fermento seco

- Produzido na presença de uma grande quantidade de oxigênio
- Não necessita oxigenar / aerar o mosto
- Níveis altos de glicogênio
- Níveis altos de trealose

Como evitar estresse

- Reidratação correta ou sem reidratação
- Reutilização OK – Leveduras Lallemand Premium garantem reutilização
 - Depende da cepa
 - 5-10 vezes
 - Não após High gravity, dry hopping, uso de especiarias etc.
- Muito alta / baixa taxa de inóculo – seguir recomendações
- Níveis adequados de zinco especialmente para high gravity

Como o estresse se manifesta

- Mutações
 - Pequenos mutantes
 - Mutações na floculação
- Morte celular / autólise
- Variações no padrão de fermentação
- Perfil sensorial alterado

Fermentos cervejeiros Lallemand

LalBrew[®]
**PREMIUM
SERIES**

NEW LOOK, SAME HIGH QUALITY.
The same consistency, technical support,
and expertise you've come to expect from
Lallemand Brewing.

AVAILABLE IN 11G SACHETS AND 500G BRICKS

The image displays a grid of 24 yeast product packages from the LalBrew Premium Series. Each package is labeled with its specific yeast type and style, such as 'AMERICAN WEST COAST ALE YEAST', 'LAGER YEAST', 'BRITISH STYLE ALE YEAST', and 'WHEAT ALE YEAST'. The packages are arranged in four columns and six rows, with each package showing its unique color scheme and branding.

WHAT WE OFFER | OUR PRODUCTS | BREWING YEASTS | BACTERIA FOR BREWING | ENZYMES | YEAST NUTRIENTS | PROCESS AIDS | SENSORY KITS | PAGE 13

LALLEMAND
LALLEMAND BREWING

Conclusões

- Viabilidade do fermento não é apenas uma questão de vida ou morte
- Não existe uma maneira de medir vitalidade apenas diferentes parâmetros para medir a atividade da levedura
- É melhor prevenir o estresse do que ter que lidar com ele
- Seguir as recomendações do fabricante – toda a cepa é diferente!
- Solicitar as fichas técnicas e boas práticas
- Pedir conselho – da Cooperativa Agraria e da Lallemand
- Escolher a cepa correta para o perfil sensorial correto
- Tentar coisas diferentes – We Brew With You®
 - Misturar cepas
 - Mosto Sour
 - Reutilizar fermento

Um Time de Especialistas que podem ajudar na resolução de problemas e suporte técnico



Obrigado e Referências

- Prof. Katherine Smart
- Boulton & Quain Brewing Yeast and Fermentation 2006
- White and Zainasheff 2010 Yeast
- Layfield and Sheppard 2015 MBAA TQ review
- Time Lallemand Brewing