

EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD DETERIORANTE DE BACTERIAS LÁCTICAS PRESENTES EN UNA CERVECERÍA ARTESANAL

Rodríguez-Saavedra Magaly, García-González Celia, González de Llano Dolores, Moreno-Arribas M. Victoria

Instituto de Investigación en Ciencias de la Alimentación (CIAL), CSIC-UAM, c/ Nicolás Cabrera 9, 28049 Madrid, España.

magaly.rodriguez@estudiante.uam.es, victoria.moreno@csic.es

Las bacterias ácido lácticas (BAL) son las principales causantes del deterioro de la cerveza debido a la producción excesiva de ácido láctico, diacetilo y turbidez, pudiendo ocasionar que ésta sea imbebible, lo que origina considerables pérdidas económicas. Las cervezas artesanales son más susceptibles al deterioro ya que normalmente se comercializan sin filtrar y pasteurizar.

El objetivo de este estudio es identificar y evaluar la capacidad deteriorante de las BAL presentes en el proceso productivo de una cervecería artesanal, después de la limpieza y sanitización.

Se ha seleccionado una fábrica que elabora más de 15 marcas/variedades de cerveza en su producción, diferentes a los estilos "sour" y "lambics"; la cual utiliza levadura cervecera del género *Saccharomyces spp.* para la fermentación del mosto, considerándose la presencia de BAL como una potencial fuente de contaminación en los procesos de producción y en el producto final.

Para la toma de muestras, se ha tenido en cuenta las zonas con mayor probabilidad de contaminación primaria o secundaria, seleccionándose los puntos más críticos. Se tomaron 60 muestras que incluyen la monitorización ambiental, hisopados de superficie de equipos y accesorios (Fig. 1), productos intermedios, cerveza embotellada y producto terminado del almacén. Después del cultivo y aislamiento, se lograron identificar 15 aislados

mediante pruebas morfológicas, fenotípicas, bioquímicas y por espectrometría de masas MALDI-TOF Biotyper.

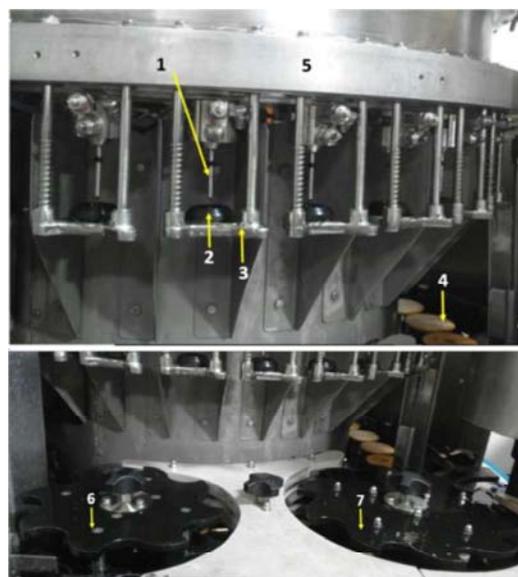


Figura 1. Puntos de hisopado en máquina llenadora de botellas, donde 1: tubo de llenado, 2: tulipa, 3: portatulipa, 4: portabotella, 5: condensado en llenadora, 6: estrella de ingreso a llenadora y 7: estrella de ingreso a coronador.

Las principales especies bacterianas detectadas pertenecen a los géneros *Lactobacillus*, *Pediococcus* y *Leuconostoc*, estando la mayoría de ellas presentes en zonas que podrían ocasionar una contaminación indirecta como lo son las estrellas de la máquina llenadora de botellas.

Para estudiar la capacidad alterante de la cerveza, se indujo a las bacterias a crecer en medios con concentración de lúpulo y etanol en forma creciente, con el objetivo de simular el proceso de adaptación de las mismas al ambiente cervecero y de seleccionar a los aislados más resistentes. Así mismo, se utilizó una bacteria de referencia procedente de una cervecería de gran escala, que se caracteriza por ser lúpulo resistente.

Con los aislados que lograron adaptarse, se evaluó la capacidad deteriorante a través de su crecimiento microbiano (placas de 96 pocillos) en cervezas estériles con diferentes unidades de amargor (IBU), porcentajes de etanol (0,5-12% ABV) y en el rango de pH de 3,25 a 5,0. Todos los aislados estudiados crecieron en el rango de pH de 4,25 a 5,00 y a bajos porcentajes de alcohol, lo que demuestra la susceptibilidad microbiana de las cervezas sin alcohol (<0,5%) en la producción artesanal. *L. brevis* creció incluso a pH 3,25 así como, a elevados IBUs y a altas concentraciones de etanol. Por lo que esta bacteria podría causar un deterioro incluso en cervezas ácidas o “sour beer”, cervezas con alto amargor como las Indian Pale Ale “IPA” y cervezas con altos porcentajes de etanol como las “Eisbock”.

Por otro lado, se estudió la capacidad alterante de estos aislados en cerveza embotellada en fábrica. La inoculación se realizó previo al coronado de las botellas. Este estudio permite evaluar el desarrollo microbiano en condiciones reales de un producto envasado en planta, ya que tiene en cuenta la presencia de levadura activa, concentración de CO₂ y la presión dentro de la botella. Las botellas, fueron mantenidas a 25 °C simulando las condiciones de almacenamiento y transporte del producto y los análisis se realizaron en el día 5 y 15, simulando los

días de cuarentena del producto en el almacén, en el primer caso y en el segundo simulando la presencia del producto en el mercado. Se evaluó el crecimiento microbiano, los cambios en los parámetros fisicoquímicos como pH, y de acidez total expresada en porcentaje de ácido láctico, y la generación de metabolitos bacterianos relevantes para las características sensoriales de la cerveza, entre los que se incluye el ácido acético por HS-SBSE (Headspace Stir Bar Sorptive Extraction) acoplada a Cromatografía de Gases con detección por Espectrometría de masas (GC/MS). El aislado *L. brevis* produjo el mayor descenso de pH, notable incremento en la concentración de ácido acético y de la acidez total, detectándose incluso en el día 5.

Lactobacillus brevis aislada del ambiente cervecero artesanal, fue la especie bacteriana que mostró mayor capacidad deteriorante, llegando a producir una turbidez visualmente detectable y a deteriorar cervezas aparentemente con menor riesgo microbiológico como las de estilo IPA.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido realizado gracias a la financiación del MINECO (AGL2015-64522-C2-1-R-).

REFERENCIAS

- [1] G. Menz, C. Andrighetto, A. Lombardi, V. Corich, P. Alfred, F. Vriesekoop, *J. I. Brewing*, **2010**, *116* (1), 14-22.
- [2] C. Garofalo, A. Osimani, V. Milanović, M. Taccari, L. Aquilanti, F. Clementi, *J. Food Sci.*, **2015**, *80*, M2845-M2852.
- [3] D. Matoulková, P. Kubizniaková, *Kvasny Prum.*, **2015**, *61* (3), 76-88.
- [4] L. Rodhouse, F. Carbonero, *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, **2017**, *14*, 1-12.