

## EXPERIENCIA SOBRE CONSERVACION DE LEVADURAS

QUIM. IND. NESTOR M. TORRES PEDEMONTE

(Efectuada bajo la dirección del Prf. P. Beraud, Jefe del Laboratorio de Levaduras, y en colaboración con el Ing. Agr. L. Giúdice, en el Servicio de Fermentaciones del Instituto Pasteur de Paris).

El objeto de este trabajo de investigación fué el de comparar la aptitud de los cultivos más usuales como medios de conservación de levaduras, así como la influencia de una mayor o menor concentración de substancias nitrogenadas.

A tal efecto, se controló durante un tiempo dado, el estado de conservación de tres razas de levaduras cultivadas en distintos medios y conservadas luego en ellos o en agua azucarada, según un procedimiento análogo al preconizado por Hansen.

Las levaduras utilizadas fueron: un *saccharomyces cerevisiae* (la levadura de cerveza Noël) y *saccharomyces ellipsoideus* (la levadura de panadería Springer y la de Champagne, Verzenay).

Se prepararon distintos medios de cultivo, a saber: jugo de uva, mosto de cerveza, agua de levadura, malto-peptona, medio mineral, y peptona-bacteriológica, ajustándolos de manera que tuviesen 7,5% de azúcar.

El medio mineral estaba constituido por: 75 grs. de sacarosa, 5 grs. de sulfato de amonio, 0,5 grs. de fosfato monopotásico, 0.2 grs. de sulfato de magnesio; 1 gr. de ácido tartárico, 1 gr. de melaza y agua hasta un litro.

El caldo de malto-peptona contenía, según los casos, 1, 5, 10, 15 o 20 grs. por litro de malto-peptona Vaillant, más 75 grs. de sacarosa y 1 gr. de ácido tartárico y el de peptona bacteriológica: 1, 5, 10, 15 o 20 grs. de peptona bacteriológica de igual procedencia, más 75 grs. de sacarosa y 1 gr. de ácido tartárico.

El agua de levadura: 75 grs. de sacarosa por litro, 30 grs. de levadura de cervecería seca y 1 gr. de ácido tartárico.

El mosto de cerveza y jugo de uva, a partir de soluciones concentradas que se ajustaron mediante diluciones hasta igual contenido en azúcar por litro.

Se repartieron todos los medios en frascos de 70-80 c.c. y en tubos de ensayo de 17 m/m., agregando 50 c.c. en los primeros y 10 c.c. en los últimos; se esterilizaron todos en autoclave a 110° C durante 1/4 de hora.

Cada levadura sufrió previamente, tres pasajes sucesivos sobre cada medio, con fines de adaptación; se sembraron entonces, en los frascos respectivos (dos para cada medio) y se dejaron en la estufa

a 30° C, temperatura poco conveniente para su conservación, de modo de apresurar los resultados, pues de hacerlo a temperatura más baja, se hubiera tardado mucho en apreciar las diferencias existentes.

Luego de una fermentación normal y para comparar simultáneamente el grado de conservación de las levaduras en el líquido que sobrenada sobre sus depósitos, con el obtenido por su reemplazo por agua azucarada, se tomó una de las dos series de frascos y se les extrajo el líquido mediante una bombita de vacío adicionada de una pipeta Pasteur en su extremo. Se lavaron estérilmente las levaduras, por centrifugación, con agua destilada sacarosada al 5% y se volvieron a poner en el frasco primitivo, del medio y levadura correspondiente, llevando a un volumen aproximado al que tenía (50 c.c.) con dicha solución azucarada.

Terminada esta operación, se llevaron nuevamente las dos series de frascos (84 en total) a la estufa a 30° C, donde se dejaron alrededor de un mes.

Mientras tanto, se preparó el material y medios para sembrar las levaduras en conservación, de manera de poder observar su estado al microscopio y hallar el porcentaje de células aún vivas en cada frasco. Con tal fin, se preparó mosto de cerveza gelosado al 3%, que se distribuyó en tubos de ensayo de 22 m/m., en volúmenes adecuados como para formar luego, al ser vertidos en cajas de Petri, una capa de 0,5 a 0,7 ctms. de altura. Es sobre esta fina capa, sólida y transparente, rica en principios nutritivos, que se sembraron al cabo de un mes, las levaduras en conservación.

Conviene ir preparando las cápsulas de Petri poco antes de hacer la siembra y en número de acuerdo a las preparaciones que se observarán por día. Transcurrido el tiempo fijado, se fueron sembrando una a una con las levaduras correspondientes a cada frasco, cuidando de no sembrar una cantidad excesiva, que dificulte la observación y desagregarlas bien, de manera que no queden agrupadas, dando la impresión de formar colonias o, en el caso de estar vivas, formar varias colonias juntas, que se confundirán unas con otras. Constatar pues, si la preparación ha sido bien hecha (densidad y distribución de las células), y en caso afirmativo dejarla durante 24 horas en la estufa a 25° C, para que se desarrollen aquéllas que están en condiciones de hacerlo, que serán las que nos darán la pauta sobre la buena o mala conservación en cada medio de cultivo ensayado.

Hecho el recuento de colonias formadas, por medio del microscopio, se obtuvieron los resultados siguientes:

## QUIMICA INDUSTRIAL

	Medio inicial			agua sacarosada		
	Spring- ger	Alta	Verze- may	Spring- ger	Alta	Verze- may
Jugo de uva . . . . .	25	11	21	4	15	13
Medio mineral . . . . .	11	10	31	0	30	30
Mosto de cerveza . . . . .	51	17	2	15	21	1
Agua de levadura . . . . .	37	28	0	43	7	23
Malto Peptona . . . . . 1p. 1000	50	41	13	17	26	0
Malto Peptona . . . . . 5p. 1000	53	40	12	31	4	11
Malto Peptona . . . . . 10p. 1000	43	16	19	7	35	16
Malto Peptona . . . . . 15p. 1000	40	13	17	9	12	8
Malto Peptona . . . . . 20p. 1000	11	11	16	17	3	5
Peptona Bact. . . . . 1p. 1000	26	40	21	0	0	2
Peptona Bact. . . . . 5p. 1000	50	29	52	0	17	12
Peptona Bact. . . . . 10p. 1000	21	22	52	11	21	27
Peptona Bact. . . . . 16p. 1000	15	22	50	14	23	7
Peptona Bact. . . . . 20p. 1000	15	18	43	6	14	7

El cuadro observado nos permite hacer las constataciones siguientes:

1) Que el efecto de los diferentes medios sobre la conservación, es muy variable según la raza de levadura.

2) Que en las condiciones de experiencia, las levaduras se han conservado menos en el agua sacarosada que en los medios de cultivo iniciales.

3) Que la conservación es función del contenido del medio en nitrógeno. Pasa por un máximo para un cierto valor de éste contenido y luego decae. Por tal motivo, la práctica del enriquecimiento de los medios en nitrógeno, a la cual se recurre generalmente, cuando se busca obtener cantidades abundantes, no está exenta de peligros.