

# ADAPTÁCIA VOĽNÝCH A IMOBILIZOVANÝCH PIVOVARSKÝCH KVASINIEK PRI SKVASOVANÍ VYSOKO KONCENTROVANÝCH MLADÍN

JAROSLAVA PÁTKOVÁ, DANIELA ŠMOGROVIČOVÁ, PETRA BAFRNCOVÁ, ZOLTÁN DÖMÉNY, Katedra biochemickej technológie, Chemickotechnologická fakulta, Slovenská technická univerzita, Bratislava

**Kľúčové slová:** imobilizované kvasinky, pivo, stres, trehalóza, very high gravity

## 1 ÚVOD

V súčasnosti sa do popredia dostáva technológia výroby piva kvasením mladín s koncentráciou extraktu vyššou ako 16 %. Hlavnou výhodou tejto technológie je úspora nákladov a zvýšenie štandardnosti vyrábaného piva. Vysoko koncentrované mladiny však nie sú optimálnym prostredím pre kvasinky. Mení sa ich aktivita, a tým je ovplyvnená rýchlosť fermentácie aj výsledné organoleptické vlastnosti piva.

Počas kvasenia vysoko koncentrovaných mladín sú kvasinky vystavené extrémnym podmienkam – vysokej koncentrácii sacharidov, zvýšenej koncentrácii naprodukovaného etanolu, nedostatku živín (ako sú rozpustený kyslík a využiteľný dusík), zvýšenej viskozite prostredia, zvýšenej koncentrácii rozpusteného oxidu uhličitého. V literatúre existuje rozpor, ktorý z týchto faktorov je najškodlivejší počas kvasenia vysoko koncentrovaných mladín. Pravdepodobne však všetky pôsobia na kvasinky a je potrebné eliminovať ich vplyv, aby bola fermentácia ukončená.

Úspešná fermentácia vysoko koncentrovaných mladín je teda závislá na schopnosti kvasiniek rýchlo odpovedať a prispôbiť sa na niekoľko stresov. Na pôsobenie stresových faktorov reagujú kvasinky najprv pasívnym spôsobom, neskôr sa snažia aktívnym mechanizmom eliminovať zmeny vyvolané prostredím. Týmto adaptačným mechanizmom sa napríklad vplyvom vysokého osmotického tlaku zvýši rýchlosť proteosyntézy, dochádza k zvyšovaniu obsahu trehalózy, a zapojeniu metabolickej dráhy na tvorbu glycerolu „high osmola-

rity glycerol response“. Vplyvom vysokej koncentrácie etanolu dochádza zasa k zmenám v obsahu a zastúpení sterolov a mastných kyselín, k zvýšenej syntéze trehalózy a proteínov. Na všetky tieto procesy vyžaduje bunka energiu, a tak poklesne jej rastová schopnosť [1].

Kvasinky sú však schopné eliminovať zmeny vyvolané prostredím a prispôbiť sa stresu. Toto sa využíva aj pri získavaní vysoko osmo- a etanoltolerantných kmeňov izoláciou a selekciou kmeňov z prostredia s nepriaznivými alebo extrémnymi podmienkami. Podľa hypotézy krížovej ochrany získanie tolerance k rôznym typom stresu môže byť dosiahnuté aj počas vystavenia buniek inému typu stresu. Tak sa podarilo získať osmotolerantný kmeň po vystavení kmeňa napríklad krátkodobému teplotnému šoku, zvýšenú etanoltoleranciu kmeňov pri raste v podmienkach vysokého osmotického tlaku [2].

Jednou z metód na zníženie etanolového stresu je aj imobilizácia [3]. K zlepšeniu vlastností kvasiniek prispieva vytvorením ochrannej vrstvy okolo buniek. Táto vrstva znižuje etanolový stres v mikroprostredí, pretože polyméry používané pri imobilizácii napomáhajú transportu etanolu do vnútra bunky aj von [4]. Imobilizované systémy sú už dávnejšie skúmané aj v pivovárníctve [5]. Kvasinky zachytené v pektáte vápenatom boli použité aj na kvasenie vysoko koncentrovaných mladín. Kontinuálnym spôsobom kvasenia v „gas-lift“ reaktore (inertným plynom homogénne miešaný reaktor) sa podarilo úspešne prevkvasiť aj 24% mladinu [6].

Cieľom tejto práce bolo zistiť zmeny

v obsahu trehalózy a vo fermentačnej aktivite voľných a imobilizovaných kvasiniek pri fermentácii vysoko koncentrovaných mladín po odstránení alebo znížení stresu.

## 2 MATERIÁL A METÓDY

**Mikroorganizmus.** V práci bol použitý zbierkový kmeň *Saccharomyces cerevisiae* subsp. *uvarum* var. *carlsbergensis* W 96 (kvasinky spodného kvasenia), udržiavaný na sladínovom agare pri 4 °C, každých 5 týždňov preočkovávaný. Kvasinky boli pomnožené v YPD médiu (glukóza 20 g/l, kvasničný autolyzát 5 g/l, peptón 10 g/l); hodnota pH bola upravená pred sterilizáciou na 5,5; podmienky sterilizácie 120 kPa, 20 minút pri 121 °C.

**Imobilizácia.** Na imobilizáciu bol použitý prírodný materiál polysacharidového typu alginát sodný. Bola pripravená homogénna suspenzia z kvasiniek, sterilnej destilovanej vody a alginátu sodného (2 g/100 ml), ktorá bola pretlačená pomocou vzduchu cez rúru s dýzou do 0,1 mol/l  $\text{CaCl}_2$  a udržiavaná v tomto roztoku 30 minút za stáleho miešania. Po skončení imobilizácie bol roztok  $\text{CaCl}_2$  odfiltrovaný a guľičky s koncentráciou  $5,7 \times 10^{11}$  buniek/l gélu použité na fermentáciu.

**Fermentačné podmienky.** Fermentácie prebiehali na mladine o koncentrácii extraktu 12, 24 a 30 % (12% mladina bola zahustená vo vákuovej rotačnej odparke na koncentráciu extraktu 30 %, a potom nariedená na koncentráciu výsledného extraktu 12 a 24 %) pri 15 °C v 650 ml infúzných fľašiach s kvasnými uzávermi. Pretože



bola 12% mladina pred použitím sterilizovaná, aj farba mladého piva je vyššia, ako je zvyčajné v prevádzkových podmienkach. Celkový objem mladiny bol 400 ml, výsledná koncentrácia buniek v mladine bola  $1 \times 10^7$  buniek/ml. Po skončení fermentácie boli voľné bunky sterilne scentrifugované (5 minút,  $2000 \text{ min}^{-1}$ ) a imobilizované bunky sterilne odfiltrované, premyté fyziologickým roztokom a použité na zakvasenie novej mladiny. Kvasinky kvasiace v prvom cykle 12, 24 alebo 30% mladiny boli v ďalšom cykle rozdelené na dve časti a použité na kvasenie 12 a 24% mladiny tak, aby koncentrácia buniek bola  $1 \times 10^7$  buniek/ml.

**Analytické metódy.** Etanol plynovou chromatografiou (CHROM 5, náplňová kolóna Porapak, FID detektor), redukujúce sacharidy pomocou kyseliny 3,5-dinitrosalicylovej, celkový dusík, voľný aminodúsik, celkové polyfenoly, horkosť boli stanovené podľa Basařovej a kol. [7], skutočný extrakt, zdanlivý extrakt, farba a pH boli merané na Servo Chem Automatic Beer Analyser (Scaba 5600, Tecator AB, Sweden). Imobilizované kvasinky boli pred stanovením rozpustené v hexametafosforečnane sodnom, ktorý bol po rozpustení odfiltrovaný a bunky premyté fyziologickým roztokom. Sušina bola stanovená gravimetricky ( $105^\circ\text{C}$ , 5 h), počet buniek a viabilita pomocou farbenia metylénovou modrou, trehalóza extrakciou s kyselinou trichlóroctovou [8].

### 3 VÝSLEDKY A DISKUSIA

#### 3.1 Trehalóza

Trehalóza je disacharid, ktorý je kvasinkami akumulovaný, ak sú vystavené rôznym stresom – napríklad osmotickému, etanolovému, nedostatku živín [9]. Všetky tieto stresové faktory pôsobia aj pri kvasení vysoko koncentrovaných mladín. Doteraz však nie je objasnené, ako sa budú kvasinky správať po odstránení alebo znížení stresu.

Počas prvého cyklu kvasenia 24 a 30% mladiny, kedy boli vlastne kvasinky prvýkrát vystavené stresu, dochádzalo v priebehu fermentácie k postupnej akumulácii trehalózy vo voľných bunkách. Maximálna dosiahnutá koncentrácia trehalózy v bunke sa zvyšovala so zvyšujúcou sa počiatočnou koncentráciou extraktu mladiny z hodnoty 0,21 g trehalózy/ $10^6$  buniek pred fermentáciou na hodnotu 3,03 g/ $10^6$  buniek pri kvasení 24% mladiny, a až na hodnotu 6,53 g/ $10^6$  buniek pri kvasení 30% mladiny. Voľné bunky kvasiace 12% mladinu obsahovali v závere fermentácie len 0,71 g trehalózy/ $10^6$  buniek. Kvasinky kvasiace v prvom cykle 24 a 30% mladiny preto obsahovali na začiatku druhého cyklu fermentácie vyššiu hladinu trehalózy ako kvasinky nestresované.

Po prvom cykle fermentácie boli kvasinky rozdelené na dve časti a znovu

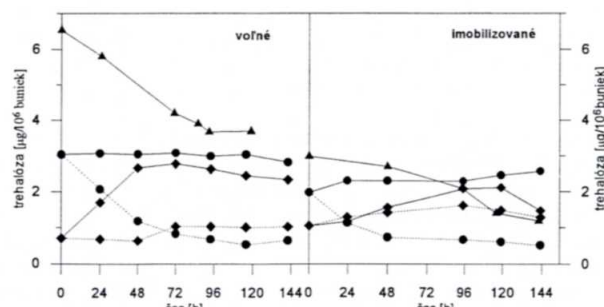
použité na kvasenie 12 a 24% mladiny.

Ak boli na zakvasenie 12% mladiny použité voľné bunky z 12% mladiny, dochádzalo v priebehu fermentácie iba k miernemu nárastu vnútrobunkovej trehalózy. Ak však na kvasenie 12% mladiny boli použité kvasinky kvasiace predtým 24% mladinu, teda adaptované na stres, tak trehalóza v bunkách v priebehu fermentácie klesala, v závere bola o 80 % nižšia ako na začiatku.

V závere fermentácie koncentrácia trehalózy v bunkách najprv kvasiacich 24% mladinu bola dokonca nižšia aj v porovnaní s bunkami najprv kvasiacimi 12% mladinu, a to až o 35 % (obr. 1).

Rovnaké správanie v metabolizme trehalózy bolo pozorované aj pri kvasení 24% mladiny. Ak boli na kvasenie 24% mladiny použité kvasinky kvasiace v prvom cykle 30% mladinu, tak trehalóza v bunkách v priebehu fermentácie klesala. Na konci fermentácie klesla z hodnoty 6,53 g/ $10^6$  buniek na hodnotu 3,72 g/ $10^6$  buniek, čo predstavuje pokles o 45 %. V bunkách kvasiacich predtým 24% mladinu sa obsah trehalózy v priebehu fermentácie udržiaval na približne konštantnej úrovni 3,21 g/ $10^6$  buniek, v závere fermentácie bol pozorovaný mierny pokles. V kvasinkách kvasiacich v prvom cykle 12% mladinu a v druhom 24% mladinu sa obsah trehalózy zvyšoval rovnako, ako keď sú bunky vystavené prvý krát stresu – akumulácia počas počiatočných 48 hodín, potom konštantná hladina trehalózy v bunke 2,66 g/ $10^6$  buniek až do konca fermentácie.

Metabolizmus trehalózy v imobilizovaných bunkách vykazoval rovnaký charakter ako vo voľných bunkách. Počas prvého cyklu fermentácie sa obsah trehalózy v imobilizovaných kvasinkách taktiež zvyšoval so zvyšujúcou sa počiatočnou koncentráciou extraktu, z hodnoty 0,21 g/ $10^6$  buniek pred fermentáciou na hodnotu 1,98 g/ $10^6$  buniek pri kvasení 24% mladiny, a až na hodnotu



Obr. 1 Metabolizmus trehalózy vo voľných a imobilizovaných kvasinkách *S. cerevisiae* W 96 kvasiacich v druhom cykle --- 12 alebo 24% mladinu, ak predtým kvasili ● – 12, ● – 24 alebo ▲ – 30% mladinu pri teplote  $15^\circ\text{C}$

2,99 g/ $10^6$  buniek pri kvasení 30% mladiny. Imobilizované bunky kvasiace 12% mladinu obsahovali v závere fermentácie 1,05 g trehalózy/ $10^6$  buniek.

Aj Majara a kol. [9] zistili, že voľné kvasinky akumulujú trehalózu úmerne k zvyšujúcej sa počiatočnej koncentrácii extraktu mladiny. Hodnoty vnútrobunkovej koncentrácie trehalózy v imobilizovaných kvasinkách sú však o 50 % nižšie v porovnaní s voľnými kvasinkami pri fermentácii za rovnakých podmienok. Dalo by sa teda predpokladať, že imobilizácia chráni čiastočne kvasinky aj pred stresom pri kvasení vysoko koncentrovaných mladín.

V ďalšom cykle, keď boli kvasinky kvasiace v prvom cykle 12, 24 a 30% mladiny rozdelené na dve časti a znovu použité na kvasenie 12 a 24 % mladiny, vykazovali imobilizované kvasinky rovnaké zmeny v koncentrácii trehalózy ako voľné bunky. Použitím nestresovaných imobilizovaných buniek na kvasenie 24% mladiny dochádzalo v priebehu fermentácie k akumulácii trehalózy v bunkách, z hodnoty 1,05 g/ $10^6$  buniek na začiatku druhého cyklu fermentácie až na hodnotu 2,11 g/ $10^6$  buniek v závere fermentácie. Pri fermentácii kvasiniek aj predtým kvasiacich 24% mladinu bol obsah trehalózy konštantný. Ak však na kvasenie 24% mladiny boli použité bunky vystavené predtým väčšiemu stresu, v priebehu fermentácie dochádzalo k poklesu vnútrobunkovej trehalózy a to z hodnoty 2,99 g/ $10^6$  buniek až na 1,39 g/ $10^6$  buniek.

Tab. 1 Parametre fermentácie 12 a 24 % mladiny voľnými a imobilizovanými kvasinkami *S. cerevisiae* W 96 kvasiacimi v prvom cykle 12, 24 alebo 30% mladinu pri teplote  $15^\circ\text{C}$

Mladina [%]	Voľné bunky					Imobilizované bunky				
	$r_p$ [g/l.h]	$r_s$ [g/l.h]	$P_{\max}$ [% obj.]	viab. [%]	$P \times 10^7$ [1/ml]	$r_p$ [g/l.h]	$r_s$ [g/l.h]	$P_{\max}$ [% obj.]	viab. [%]	
12	0,272	0,601	4,58	88	4,05	0,294	0,644	4,89	77	
z 12 → do 12	0,391	0,953	4,91	66	4,07	0,367	1,688	4,87	66	
z 24 → do 12	0,389	0,925	5,01	68	5,33	0,404	1,667	5,30	75	
24	0,335	0,771	6,32	90	4,11	0,341	0,829	7,18	77	
z 12 → do 24	0,566	1,366	8,87	52	5,7	0,510	1,051	9,03	66	
z 24 → do 24	0,725	1,733	9,26	67	7,2	0,740	1,351	9,53	75	
z 30 → do 24	0,992	1,993	9,71	72	7,65	0,816	1,795	10,09	75	

$r_p$  – rýchlosť tvorby etanolu,  $r_s$  – rýchlosť spotreby substrátu,  $P_{\max}$  – maximálna dosiahnutá koncentrácia etanolu,  $P_x$  – koncentrácia buniek v závere fermentácie, viab. – viabilita buniek v závere fermentácie



### 3.2 Fermentačné parametre

V bunkách adaptovaných na stres boli zistené rozdiely nielen v metabolizme trehalózy, ale aj v rýchlosti spotreby substrátu a tvorby etanolu (tab. 1).

Vplyvom samotného recyklu buniek, tj. ak kvasinky boli znovu nasadené do mladiny o tej istej koncentrácii, sa rýchlosť tvorby etanolu voľnými bunkami zvýšila 1,5 krát a imobilizovanými 1,3 krát pri kvasení 12% mladiny. Kvasením 24% mladiny voľnými bunkami sa produkcia etanolu zvýšila 2,5 krát, imobilizovanými dvakrát.

Pri kvasení 12% mladiny neboli zistené výrazné rozdiely v rýchlosti tvorby etanolu kvasinkami kvasiacimi predtým 12 alebo 24% mladinu, a to ani pri kvasení voľnými ani imobilizovanými kvasinkami.

Rýchlosť tvorby etanolu pri kvasení 24% mladiny s použitím voľných kvasiniek z 30% mladiny bola zvýšená o 40 % v porovnaní s kvasinkami z 24% mladiny. Naopak, rýchlosť tvorby etanolu sa znížila až o 20 %, ak boli použité kvasinky, ktoré v prvom cykle kvasili 12% mladinu.

Vysoko koncentrované mladiny sú neoptimálnym prostredím pre kvasinky. Preto, aby kvasinky udržali termodynamickú rovnováhu – konštantný bunkový objem a turgorový tlak, zvyšia svoju energetickú spotrebu, a tak poklesne ich rastová schopnosť [1]. Ak sú kvasinky prvýkrát vystavené stresu, potrebujú určitý čas a energiu na adaptáciu. Naopak, kvasinky vystavené predtým vyššiemu alebo rovnakému stresu nepotrebujú čas na zapojenie adaptačných mechanizmov, a preto je aj výsledná koncentrácia buniek pri rovnakých podmienkach prostredia vyššia. Zvýšenie rýchlosti kvasenia voľnými kvasinkami adaptovanými na stres je teda pravdepodobne dôsledkom vyššieho konečného počtu buniek, a nie zvýšenej fermentačnej aktivity kvasiniek.

K zlepšeniu fermentačných parametrov voľných kvasiniek pravdepodobne prispieva aj selekcia buniek prostredím. Jednou z metód získavania nových kmeňov je ich izolácia zo stresového prostredia [2]. Opakované použitie buniek pri kvasení vysoko koncentrovaných mladín, ktoré sú stresovým prostredím, vytvára vhodné podmienky na selekciu buniek schopných odolávať vysokému osmotickému aj etanolovému stresu, pretože menej tolerantné kvasinky sú mŕtve.

Rýchlosť fermentácie voľnými kvasinkami je pravdepodobne ovplyvnená aj poklesom viability. Viability buniek v závere fermentácie 24% mladiny bola najnižšia u nestresovaných buniek, dosahovala hodnotu 52 %, zatiaľ čo u adaptovaných buniek bola viabilita v závere fermentácie 70 %. Najväčší pokles vo viabilite kvasiniek bol pri tom zaznamenaný práve v závere fermentácie, v prostredí s vysokou koncentráciou etanolu.

Použitím imobilizovaných buniek na kvasenie 24% mladiny boli taktiež pozorované zmeny v rýchlosti tvorby etanolu.

Tab. 2 Parametre piva vyrobeného fermentáciou 12 a 24% mladiny voľnými a imobilizovanými kvasinkami *S. cerevisiae* W 96 kvasiacimi v prvom cykle 12, 24 alebo 30% mladinu pri 15 °C, nariadeného na koncentráciu pôvodného extraktu 12 %

Mladina [%]	12	z 12	z 24	z 24	z 12	z 24	z 30
	1. cyklus	do 12	do 12	1. cyklus	do 24	do 24	do 24
Parameter	voľné bunky						
čas ukončenia fermentácie [h]	159	95	95	189	116	94	71
pôvodný extrakt, w/w [%]	12,0	12,6	12,6	12,0	11,9	11,9	12,5
zdanlivý extrakt, w/w [%]	3,4	3,3	3,3	6,3	3,2	3,2	3,4
skutočný extrakt, w/w [%]	5,1	5,1	5,1	7,4	4,9	4,9	5,1
etanol, w/w [%]	3,61	3,93	3,91	2,43	3,49	3,62	3,83
skutočné prekvasenie [%]	55,8	58,4	58,3	36,8	57,4	57,4	57,2
farba [j. EBC]	23,0	29,1	29,0	25,1	27,0	27,7	23,9
pH	4,29	4,21	4,11	4,40	4,51	4,56	3,80
horkosť [BU]	14	35	32	24	26	26	27
celkový dusík [mg/l]	788	595	700	875	630	665	600
celkové polyfenoly [mg/l]	246	200	194	251	178	184	198
parameter	imobilizované bunky						
čas ukončenia fermentácie [h]	115	95	95	163	143	119	94
pôvodný extrakt, w/w [%]	12,4	12,5	12,6	12,2	12,5	12,0	12,3
zdanlivý extrakt, w/w [%]	3,2	3,3	3,4	6,4	3,4	3,2	3,3
skutočný extrakt, w/w [%]	5,0	5,1	5,2	7,6	5,1	4,9	5,0
etanol, w/w [%]	3,85	3,85	4,18	2,8	3,51	3,73	3,97
skutočné prekvasenie [%]	58,2	57,7	57,7	36,5	57,5	57,4	57,6
farba [j. EBC]	20,5	24,6	27,1	24,0	23,1	24,9	27,8
pH	4,26	4,16	4,38	4,42	4,53	4,76	4,77
horkosť [BU]	28	26	31	30	26	27	31
celkový dusík [mg/l]	859	665	735	943	700	875	595
celkové polyfenoly [mg/l]	161	226	184	160	183	175	196

Imobilizované kvasinky z 30% mladiny zvýšili rýchlosť tvorby etanolu o 10 %, z 12% mladiny znížili rýchlosť tvorby etanolu o 30 %. Pri fermentácii imobilizovanými kvasinkami však zvýšenie rýchlosti tvorby etanolu adaptovanými kvasinkami nie je tak výrazné. Môže to byť vysvetlené tým, že ak sú kvasinky uzavreté v géli, ich rastová rýchlosť je obmedzená [10], a tým je obmedzený aj konečný počet fermentujúcich buniek. Taktiež viabilita imobilizovaných kvasiniek adaptovaných na stres bola v závere fermentácie 24% mladiny približne rovnaká 75 %, pri použití buniek kvasiacich predtým 24 alebo 30% mladinu. Zaujímavé je, že viabilita imobilizovaných kvasiniek najviac poklesla na začiatku fermentácie, teda vtedy, ak boli bunky vystavené vysokej koncentrácii sacharidov. V závere fermentácie, v prítomnosti vysokej koncentrácie etanolu sa už výrazne nemennila. Tieto výsledky potvrdzujú, že imobilizácia chráni bunku pred etanolovým stresom [3,10], ale nedostatočne ju chráni pred osmotickým stresom.

### 3.3 Parametre piva

Primárna fermentácia bola považovaná za ukončenú, ak skutočné prekvasenie dosiahlo aspoň 58 %, čo bolo dosiahnuté vo všetkých mladinách v 2. cykle fermentácie. Fermentácia 24% mladiny v 1. cykle voľnými aj imobilizovanými bunkami však skončila už po dosiahnutí koncentrácie etanolu 6,32 alebo 7,18 % obj., pričom ďalej sa už koncentrácia sacharidov a naprodukovaného etanolu výrazne nemennila. Pri vzájomnom porovnaní pív (tab. 2) neboli zistené žiadne výrazné rozdiely medzi

mladými pivami vyrobenými z 12 alebo 24% mladiny kvasinkami kvasiacimi predtým 12, 24 alebo 30% mladinu. Skutočné prekvasenie sa pohybovalo od 57,2 % do 58,4 % a obsah etanolu v rozmedzí od 3,62 do 3,94 % obj. Použitím na stres adaptovaných kvasiniek na kvasenie 24% mladiny sa však výrazne skrátil čas potrebný na ukončenie primárnej fermentácie. Na dôkladnú senzorickú analýzu je však potrebné previesť experimenty vo väčšom meradle.

### Podakovanie

Práca bola vypracovaná s podporou Slovenskej grantovej agentúry VEGA, grant č. 1/6252/99 a grant č. 1/7347/20.

### Literatúra

- [1] GERVAIS, P., et al.: Biotechnol Bioeng. **40**, 1992, s. 1435
- [2] SHARMA, S.C.: FEMS Microbiol. Lett. **152**, 1997, s. 11
- [3] CIESAROVÁ, Z., et al.: Folia Microbiol. **43**, 1998, s. 55
- [4] CASEY, G., INGLEDEW, W.M.: Crit. Rev. Microbiol. **13**, 1986, s. 219
- [5] ŠMOGROVIČOVÁ, D., et al.: Biotech. Tech. **4**, 1997, s. 261
- [6] DÖMÉNY, Z., et al.: Kvasny Prum. **45**, 1999, s. 120
- [7] BASAŘOVÁ, G., a kol.: Pivovarsko – sladařská analytika, Merkanta Praha, 1992
- [8] STEWART, P.R.: Methods in cell biology, Academic Press New York, 1975
- [9] MAJARA, M., et al.: J. Am. Soc. Brew. Chem. **54**, 1996, s. 149
- [10] NORTON, S., DAMORE, T.: Enzyme Microbiol. Technol. **19**, 1994, s. 365

Lektorovala

Prof. Ing. Gabriela Basařová, DrSc.

Do redakcie došlo 21. 2. 2000



**Pátková, J. – Šmogrovičová, D. – Bafrncová, P. – Dömény, Z.: Adaptácia voľných a imobilizovaných pivovarských kvasiniek pri skvasovaní vysoko koncentrovaných mladín.** Kvasny Prum. 47, 2001, č. 1, s. 7–10.

V práci bolo porovnávané kvasenie vysoko koncentrovaných mladín nestresovanými alebo na stres adaptovanými kvasinami. Pretože adaptácia kvasiniek je značne závislá na genetickom základe kmeňov kvasiniek a ich fyziologickom stave, výsledky práce možno považovať za znázornenie možnosti správania sa len pivovarských kvasiniek.

Použitím nestresovaných buniek na kvasenie vysoko koncentrovaných mladín dochádzalo v priebehu fermentácie k akumulácii trehalózy v bunkách. Ak sa však na kvasenie mladín použili bunky vystavené predtým väčšiemu stresu, v priebehu fermentácie dochádzalo k poklesu vnútrobunkovej trehalózy. Tieto závery sa potvrdili pre voľné aj pre imobilizované kvasinky.

Pri kvasení vysoko koncentrovaných mladín voľné aj imobilizované kvasinky predtým vystavené stresu dosahovali vyššiu rýchlosť tvorby etanolu ako nestresované kvasinky. Pri vzájomnom porovnaní pív neboli zistené žiadne výrazné rozdiely pri kvasení 12 alebo 24% mladín stresovanými alebo nestresovanými kvasinkami. Použitím na stres adaptovaných kvasiniek sa však výrazne skrátil čas potrebný na fermentáciu 24% mladiny.

**Pátková, J. – Šmogrovičová, D. – Bafrncová, P. – Dömény, Z.: Adaptation of Free and Immobilized Brewery Yeast during Attenuation of Highly Concentrated Hopped Worts.** Kvasny Prum. 47, 2001, No. 1, p. 7–10.

The attenuation of highly concentrated hopped worts by means of non-stressed or stress-adapted yeast was compared in this work. As the yeast adaptation is very dependent on the genetic base of the yeast strain and its physiological state, the results of the study can be considered as a representation of possible behaviour of solely brewery yeast. The use of non-stressed cells for attenuation of highly concentrated hopped worts led to the accumulation of trehalose in cells during the fermentation process. If, however,

some cells, previously exposed to higher stress, were used for the wort attenuation, the intracellular trehalose dropped. These conclusions were confirmed both for free and immobilized yeast. During the attenuation of highly concentrated hopped wort the free and immobilized yeast, previously exposed to stress, achieved higher speed of ethanol formation than the non-stressed yeast. In mutual comparison of beers no marked difference was observed in the process of fermentation of 12 or 24 % hopped worts by means of either stressed or non-stressed yeast. The use of the stress-adapted yeast resulted, notwithstanding, in a considerably shorter time necessary for the fermentation of a 24 % hopped wort.

**Pátková, J. – Šmogrovičová, D. – Bafrncová, P. – Dömény, Z.: Adaptation freier und immobilisierter Brauereihafen bei der Vergärung hochkonzentrierter Würzen.** Kvasny Prum. 47, 2001, Nr. 1, s. 7–10.

In der Arbeit wurde die Vergärung hochkonzentrierter Würzen durch nicht unter Stress stehende Hefen und durch auf Stress adaptierte Hefen verglichen. Weil die Adaptation der Hefen stark von der genetischen Basis der Hefestämme und von ihrem physiologischen Zustand abhängt, können die Ergebnisse der Forschungsarbeit als massgebend nur für das Verhalten der Brauereihafen interpretiert werden.

Bei der Anwendung nichtstressierter Zellen zur Vergärung hochkonzentrierter Würzen wurde im Verlauf der Fermentation eine Akkumulation der Trehalose in den Zellen festgestellt. Wenn jedoch zur Fermentation der Würzen Zellen benutzt wurden, die man vorher einem grösseren Stress ausgesetzt hat, konnte im Verlauf der Fermentation eine Abnahme der intrazellularen Trehalose festgestellt werden. Diese Einwirkungen wurden nicht nur für die freie, sondern auch für die immobilisierte Hefen bestätigt.

Bei der Vergärung hochkonzentrierter Würzen erzielten freie und auch immobilisierte Hefen, die vorher dem Stress ausgesetzt wurden, eine höhere Geschwindigkeit der Äthanolbildung im Vergleich mit den nichtstressierten Hefen. Bei dem gegenseitigen Vergleich der Fertigbiere wurden keine mar-

kante Unterschiede bei der Vergärung von 12 oder 24 % Würzen durch stressierte und nichtstressierte Hefen festgestellt. Bei der Anwendung von auf Stress adaptierten Hefen wurde jedoch die zur Fermentation von 24 % Würze benötigte Zeit wesentlich verkürzt.

**Паткова, Й. – Шмогровицова, Д. – Бафрнцова, П. – Дэмены, З.: Адаптация несвязанных и иммобилизованных пивоваренных дрожжей при сбраживании высококонцентрированного сусла.** Kvasny Prum. 47, 2001, № 1, стр. 7–10.

В статье сравнивается брожение высококонцентрированных сусел при помощи нестрессованных или к стрессу адаптированных дрожжей. Так-как адаптация дрожжей в значительной степени зависит от генетической основы штаммов дрожжей и их физиологического состояния, можно считать результаты работы иллюстрацией возможного действия только пивоваренных дрожжей.

При использовании нестрессованных клеток для брожения высококонцентрированных сусел появлялось в течение ферментации аккумуляирование трегалозы в клетках. Однако при использовании для брожения клеток подвергавшихся раньше более высокому стрессу, появлялось в течение ферментации понижение внутриклеточной трегалозы. Эти результаты были подтверждены как в случае несвязанных, так и иммобилизованных дрожжей. При брожении высококонцентрированных сусел несвязанные и иммобилизованные раньше подвергавшиеся стрессу дрожжи оказывали более высокую скорость образования этанола, чем дрожжи раньше неподвергавшиеся стрессу. При взаимном сравнении пив не были обнаружены значительные разницы при брожении 12ти или 24процентных сусел при помощи дрожжей раньше подвергавшихся или неподвергавшихся стрессу. Однако при использовании к стрессу адаптированных дрожжей в значительной степени сократилось время нужное для ферментирования 24процентного сусла.