

HANNA HABEROWA, ANNA RACZYŃSKA-CABAJ, KLAUDIUSZ GRAJCAR

WPLYW WZBOGACENIA DROŻDŻY PIWOWARSKICH W MAGNEZ NA ICH AKTYWNOŚĆ FERMENTACYJNĄ

Streszczenie

Celem pracy było określenie wpływu dodatku magnezu w postaci soli $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ do podłoża hodowlanych, na wzrost *inoculum* i właściwości fermentacyjne drożdży piwowskich *Saccharomyces cerevisiae*, szczep nr 1 pochodzący z kolekcji własnej. Do hodowli *inoculum* zastosowano dwa podłoża: YPG jako kontrolne i brzeczkę słodową, które wzbogacono w $1,25 \text{ g Mg/dm}^3$. Hodowle prowadzono metodami: a) stacjonarną - 48 h b) z napowietrzaniem przez 24 i 48 h; c) z napowietrzaniem przez 24 h i następnie 24 h bez napowietrzania; w temp. 28°C i pH 5,0 (YPG) oraz 5,5 (brzeczka).

Jak wykazano we wcześniejszych badaniach, metodą stacjonarną uzyskiwano bardzo dobre wyniki wiązania magnezu przez komórki, przy jednoczesnym niskim przyroście biomasy drożdży. Stwierdzono, że niezależnie od rodzaju podłoża, wzbogacenie w magnez stymulowało wzrost i produkcję biomasy drożdży, przy czym plon biomasy był wyższy na podłożu YPG w porównaniu z brzeczką. Ponadto magnez był lepiej wiązany przez komórki w hodowli *inoculum* na podłożu YPG. Użycie do fermentacji *inoculum* hodowlanego na brzeczce pozwoliło na uzyskanie wyższego odfermentowania, przy czym wzbogacenie w magnez nie miało istotnego znaczenia.

Słowa kluczowe: drożdże piwowskie, fermentacja piwowska, wzbogacanie drożdży.

Wprowadzenie

Wzrost drożdży *Saccharomyces cerevisiae*, ich podziały oraz wielkość komórek w dużym stopniu są uzależnione od warunków hodowli oraz składu chemicznego podłoża. Jednym z ważniejszych składników podłoża wpływającym w istotny sposób na morfologię i fizjologię drożdży jest magnez [5, 13, 19]. Pierwiastek ten jest wewnątrzkomórkowym aktywatorem około 300 enzymów [10, 14]. Warunkuje przebieg podstawowych procesów życiowych.

W katabolizmie glukozy (glikolizie) do pirogronianu magnez jest niezbędny do aktywacji enzymów takich, jak: heksokinaza, fosfofruktokinaza, kinaza fosfoglicery-

nianowa, hydrataza fosfopirogronianowa i kinaza pirogronianowa [13]. Dalszy metabolizm pirogronianu, zarówno tlenowy przy udziale dehydrogenazy, jak i beztlenowy przy udziale dekarboksylazy wymaga również obecności magnezu [17].

Szlak beztlenowy prowadzi do fermentacji glukozy przez dekarboksylację pirogronianu i redukcję powstałego aldehydu octowego do etanolu. Szlak tlenowy prowadzi do spalania glukozy [16]. Magnez, obok tlenu, odgrywa zasadniczą rolę w tym, który z tych kierunków będzie dominował.

Kluczowe enzymy metabolizmu pirogronianu: dekarboksylaza pirogronianowa i dehydrogenaza pirogronianowa wykazują różne powinowactwo do wewnątrzkomórkowych wolnych jonów magnezu [13, 17]. Dehydrogenaza pirogronianowa wykazuje większe powinowactwo do jonów Mg^{2+} , dlatego proces oddychania zachodzi już przy bardzo niskim ich stężeniu. Natomiast dekarboksylaza pirogronianowa wykazuje znacznie mniejsze powinowactwo do jonów Mg^{2+} , dlatego reakcja przez nią katalizowana wymaga obecności wyższego stężenia jonów magnezu. Enzymy biorące udział w fermentacji wykazują większą zależność od stężenia jonów Mg^{2+} niż enzymy oddechowe [17]. Zważywszy na to, proces fermentacji nie zdominuje kierunku metabolizmu pirogronianu poniżej ustalonego poziomu wolnych jonów magnezu w komórce. Stąd ważne jest, aby w trakcie hodowli zwiększać poziom magnezu w celu zainicjowania procesu fermentacji i zapewnienia prawidłowego jego przebiegu. Im większe jest stężenie jonów Mg^{2+} w komórce, tym większa wydajność etanolu w fermentacji [3]. Propagacja drożdży w warunkach zwiększonego poziomu jonów magnezu wzmacnia wzrost drożdży i kinetykę fermentacji [6, 10, 18, 19]. Niedobór magnezu powoduje spadek aktywności fermentacyjnej i tempa wzrostu drożdży, szczególnie w przypadku fermentacji stężonych brzeczki ze względu na wysokie ciśnienie osmotyczne [4, 6, 9, 12].

Korzystny wpływ magnezu na efektywność fermentacyjną występuje również przy otrzymywaniu piwa górnej fermentacji, która przebiega w wyższej temperaturze [15, 17].

W niniejszej pracy założono określenie wpływu magnezu związanego przez komórki drożdży piwowarskich na przebieg i efektywność fermentacji brzeczki. Na podstawie wyników wcześniejszych badań [7] jako źródło jonów magnezu wykorzystano $MgCl_2 \cdot 6H_2O$.

Material i metody badań

Badania przeprowadzono z udziałem szczepu drożdży piwowarskich *Saccharomyces cerevisiae* nr 1 pochodzącym z Kolekcji Czystych Kultur Zakładu Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności SGGW. Czystą kulturę przechowywano na skosach brzeczkowo-agarowych (8^oBlg) w temp. 4°C i co 3–4 tygodnie przeszczepiano na świeże skosy.

Podłoża mikrobiologiczne

Jako podłoża kontrolne do hodowli drożdży zastosowano płynne podłoże YPD [1] oraz brzeczke słodową pochodzącą z Browarów Warszawskich „Królewskich” S.A., która również, w postaci skosów służyła do przechowywania szczepów.

Jako podłoża doświadczalne zastosowano:

- podłoże płynne YPD wzbogacone w jony magnezu pochodzące z soli $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ w dawce $1,25 \text{ g Mg/dm}^3$ podłoża,
- brzeczke słodową wzbogaconą w jony magnezu, jw. ,
- brzeczke chmieloną pochodzącą z Browarów Warszawskich „Królewskich” S.A. o zawartości ekstraktu 12%.

Podłoża kontrolne bez dodatku magnezu i podłoża wzbogacone w magnez szczepiono drożdżami wykonując zmyw ze skosu. Hodowlę *inoculum* prowadzono w temp. 28°C następującymi metodami:

- a) stacjonarną – w kolbkach stożkowych o poj. 250 cm^3 , zawierających 80 cm^3 podłoża, czas hodowli 48 h. Hodowlę prowadzono równolegle na podłożu kontrolnym i podłożu wzbogaconym w magnez;
- b) z napowietrzaniem w kolbach okrągłych z płaskim dnem o poj. 500 cm^3 , zawierających 80 cm^3 podłoża, czas hodowli 24 i 48 h, kolby umieszczano w wytrząsarce rotacyjnej (200 obr./min). Hodowlę prowadzono równolegle na podłożu kontrolnym i podłożu wzbogaconym w magnez przed rozpoczęciem hodowli;
- c) z napowietrzaniem/stacjonarną („mieszana”) w kolbach okrągłych z płaskim dnem o poj. 500 cm^3 , zawierających 80 cm^3 podłoża. Przez pierwsze 24 h kolby były umieszczone w wytrząsarce rotacyjnej (200 obr./min), a przez kolejne 24 h hodowlę prowadzono w warunkach stacjonarnych. Hodowlę prowadzono na podłożu kontrolnym i podłożu wzbogaconym w magnez – stosując dodatek magnezu przed rozpoczęciem hodowli i w 24. h hodowli w wytrząsarce, dalsze 24 h prowadzono hodowlę stacjonarną.

Proces fermentacji prowadzono w temp. $8,5^\circ\text{C}$ na słodowej brzeczce chmielonej o zawartości ekstraktu 12%, którą zaszczepiano drożdżami w ilości 0,5% *inoculum* w stosunku do objętości brzeczki. Fermentację prowadzono w 2 wariantach przez 8 dni, w kolbach okrągłych z płaskim dnem o poj. 500 cm^3 , zawierających 300 cm^3 brzeczki:

wariant 1: *inoculum* hodowane na podłożu YPD bez i z dodatkiem magnezu,

wariant 2: *inoculum* hodowane na brzeczce słodowej, bez i z dodatkiem magnezu.

W odstępach 24-godzinnych dokonywano kontroli spadku ekstraktu przy użyciu areometru Ballinga oraz oceniano przebieg fermentacji po zmianach występujących na powierzchni (pojawienie się kręgów). Zawartość biomasy komórkowej w *inoculum* określano w momencie zakończenia hodowli. Biomase otrzymaną z odwirowania 8

cm³ każdej dobrze wymieszanej hodowli ważono, a następnie suszono w temp. 60°C przez 2 h i w temp. 105°C do ustalenia stałej masy [11]. Zawartość magnezu w dwukrotnie przemytej biomacie komórkowej drożdży i podłożach oznaczano metodą atomowej spektrometrii absorpcyjnej ASA [2]. Oznaczanie ekstraktu pozornego dokonywano areometrem Ballinga [8]. Oznaczanie zawartości alkoholu, ekstraktu rzeczywistego i ekstraktu brzezki podstawowej wykonywano piknometrycznie wg PN [12], pobierając do oznaczenia 100 g odgazowanej próby.

Analizę statystyczną uzyskanych wyników przeprowadzono za pomocą programu Statgraphics Plus 4.0. Istotność różnic między wartościami średnimi określano metodą wieloczynnikowej analizy wariancji przy $\alpha=0,05$, a NIR obliczano testem Tukey'a (jako HSD).

Wyniki prezentowane w pracy są średnią z trzech serii badań, przy czym każde jednostkowe doświadczenie (np. hodowla próby kontrolnej) wykonano w trzech równoległych powtórzeniach. Ta sama liczebność dotyczy oznaczeń fizykochemicznych.

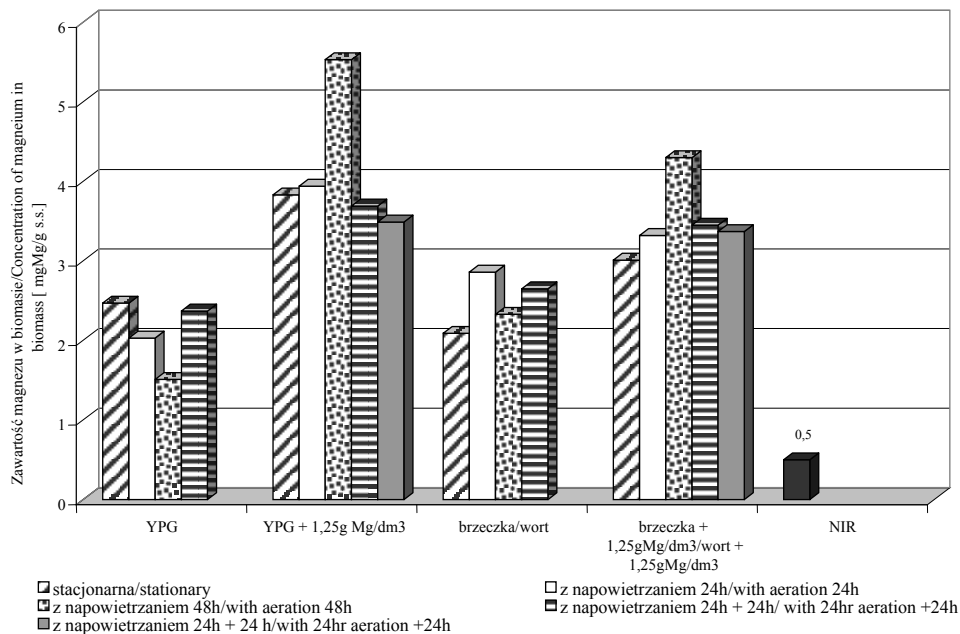
Wyniki i dyskusja

Przeprowadzone badania są kontynuacją prac wykonanych w Zakładzie Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności [m.in. 7] dotyczących wiązania biopierwiastków przez drożdże.

Pierwszy etap pracy stanowiły badania nad wiązaniem magnezu przez użyty do hodowli *inoculum* szczep drożdży piwowarskich *Saccharomyces cerevisiae* nr 1. Oznaczona na wstępie zawartość magnezu w podłożach niewzbogaconych wynosiła: w podłożu YPG – 0,024 g Mg/dm³ (ok. 2% zastosowanej dawki magnezu), a w brzezce słodowej 0,061 g Mg/dm³ (ok. 5% dawki magnezu). Zawartość magnezu w drożdżach hodowanych różnymi metodami na podłożu YPD i brzezce, przedstawiono na rys. 1.

Stwierdzono, że na podłożach kontrolnych w hodowlach z napowietrzaniem następował wyraźny spadek ilości magnezu w biomacie drożdży między 24. a 48. h hodowli. Należy zaznaczyć, że magnezu było zdecydowanie więcej w hodowlach kontrolnych na brzezce.

Wyniki dotyczące plonu biomasy jako średnie przedstawiono na rys. 2. Plon biomasy w *inoculum* kontrolnym hodowanym na podłożu YPD metodą stacjonarną był niższy w porównaniu z wynikami uzyskanymi w analogicznych warunkach na brzezce i to zarówno w próbach kontrolnych, jak i z dodatkiem magnezu. Największy plon biomasy uzyskano na podłożu YPD z magnezem po 48 h hodowli z napowietrzaniem. W hodowli bez magnezu (kontrolnej) plon biomasy w analogicznych warunkach był o ok. 10% mniejszy, ale była to różnica statystycznie nieistotna.



Rys. 1. Zawartość magnezu w biomacie komórkowej *inoculum* drożdży piwowarskich *Saccharomyces cerevisiae* hodowanych na podłożu YPD i brzezce słodowej w zależności od metody i czasu hodowli.

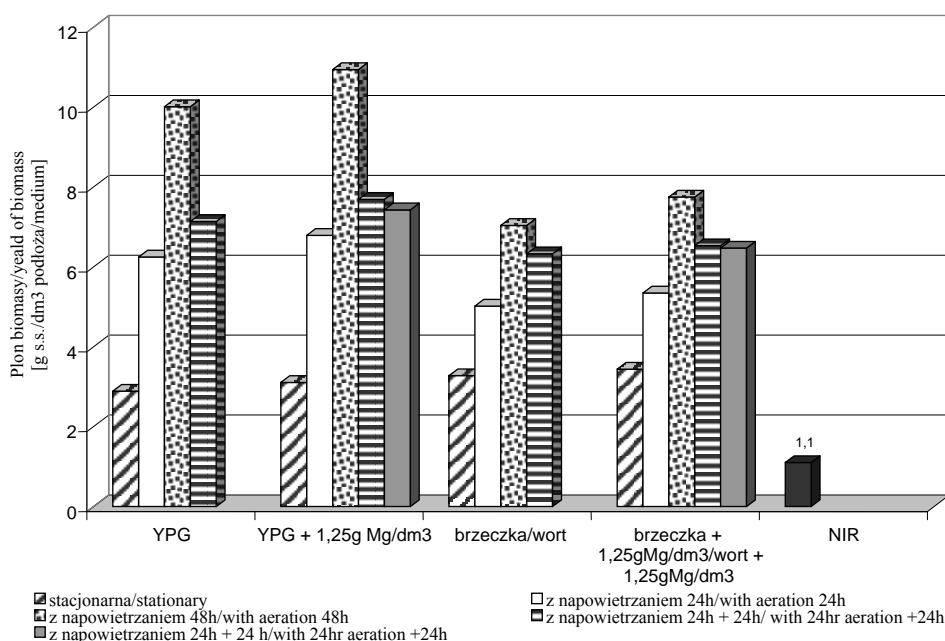
Fig. 1. The content of magnesium in the biomass of the of brewer's yeast culture type *inoculum* grown on an YPG medium and on a brewer's wort depending on the method and time of growing the culture.

W doświadczeniach, gdzie przez pierwsze 24 h hodowla była napowietrzana, a kolejne 24 h prowadzono ją metodą stacjonarną (wariant c) plon biomasy na podłożu YPD był zdecydowanie wyższy w porównaniu z plonem biomasy uzyskanym na brzezce. Największe i statystycznie istotne różnice uzyskiwano w hodowlach z napowietrzaniem po 24 h (25% więcej biomasy w porównaniu z hodowlą na brzezce) i po 48 h (40% więcej).

Stwierdzono, że na podłożach kontrolnych w hodowlach z napowietrzaniem następował wyraźny spadek ilości magnezu w biomacie drożdży między 24. a 48. h hodowli. Należy zaznaczyć, że zdecydowanie więcej magnezu było w hodowlach kontrolnych na brzezce (rys. 1).

Biomasa drożdży hodowanych na podłożach wzbogaconych w magnez zawierała więcej tego pierwiastka w stosunku do prób kontrolnych, przy czym jego ilość w biomacie hodowanej na podłożu YPD była większa od analogicznych prób kontrolnych o 94% po 24 h hodowli i 266% (3,6 razy więcej) po 48 h hodowli. Wzrost zawartości magnezu w biomacie hodowanej na brzezce wzbogaconej był znacznie mniejszy,

ale również wyraźny – analogicznie 15 i 84% w stosunku do próby kontrolnej (hodowla z napowietrzaniem przez 48 h, przy czym magnez dodawany był po 24 h hodowli (wersja c)).



Rys. 2. Wpływ dodatku magnezu na plon biomasy drożdży piwarskich *Saccharomyces cerevisiae* w hodowli *inoculum* na podłożu YPD i brzezce słodowej w zależności od metody i czasu hodowli.

Fig. 2. Effect of magnesium added on the biomass yield of the brewer's yeast *Saccharomyces cerevisiae* in the culture type *inoculum* grown on an YPD medium and on a brewer's wort depending on the method and time of growing the culture.

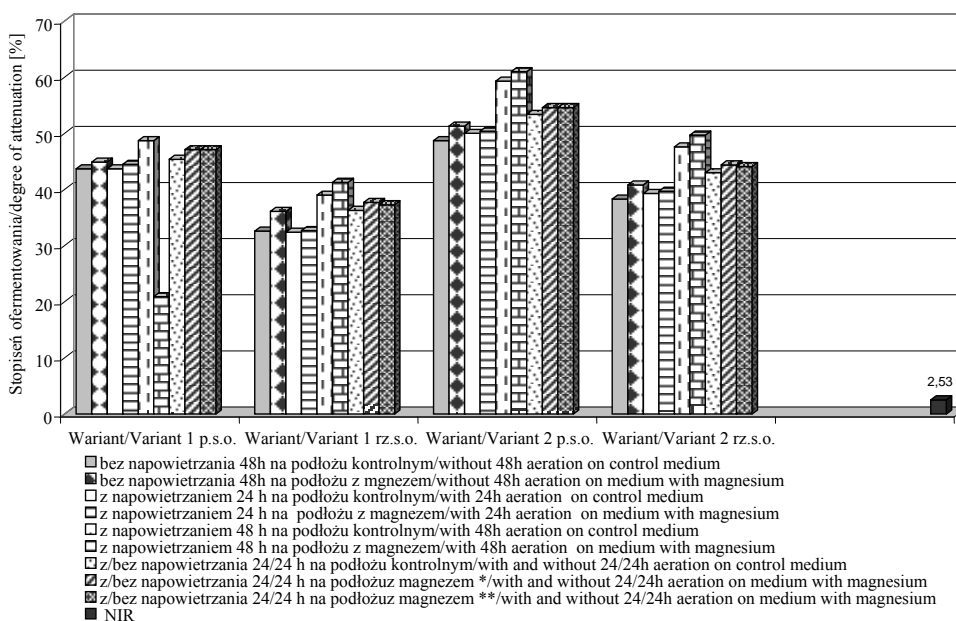
W hodowlach „mieszanych” zawartość magnezu w biomacie drożdży była podobna bez względu na rodzaj podłoża, a różnice okazały się statystycznie nieistotne.

W hodowlach *inoculum* metodami z napowietrzaniem na podłożu YPD kontrolnym i z dodatkiem magnezu zaobserwowano wyższy plon biomasy w porównaniu z analogicznymi hodowlami na brzezce. Największe różnice występowały w hodowlach *inoculum* z napowietrzaniem po 24 i 48 h odpowiednio 25 i 40% więcej w porównaniu z analogicznymi hodowlami na brzezce.

W drugim etapie pracy zbadano wpływ dodatku soli magnezu do podłoża hodowlanego, rodzaju podłoża hodowlanego i metody prowadzenia hodowli *inoculum* na przebieg i efektywność fermentacji. Zastosowano dwa warianty fermentacji, w których

zróżnicowano podstawowe podłoże hodowlane przy zachowaniu tych samych warunków prowadzenia hodowli (czas, temp., napowietrzanie i dodatek magnezu).

Analiza wyników (rys. 3) wskazuje, że dynamika fermentacji, wyrażona spadkiem ekstraktu pozornego, zależała przede wszystkim od podłoża, na którym hodowano *inoculum* i od napowietrzania. Wydaje się, że wzbogacenie *inoculum* w magnez nie miało praktycznego znaczenia.



Rys. 3. Porównanie pozornego i rzeczywistego stopnia odfermentowania w 2 wariantach fermentacji brzeczki, w zależności od metody hodowli *inoculum*.

Fig. 3. A comparison of the apparent and real attenuation degree in two variants of hopped wort fermentation depending on the method of growing an *inoculum* culture.

W nastawach szczepionych *inoculum* hodowanym na brzeczce fermentacja zaczynała się o dobę wcześniej, przy czym użycie 48-godzinnego *inoculum* hodowanego na brzeczce z napowietrzaniem (tab. 1, poz. 5 i 6) umożliwiło uzyskanie najlepszej dynamiki fermentacji, wyrażającej się największym spadkiem ekstraktu pozornego. Odfermentowanie było o ok. 21% większe przy użyciu *inoculum* „brzeczkowego” (wariant 2) w porównaniu z wynikami uzyskanymi przy użyciu *inoculum* „YPD” (wariant 1). W tym przypadku wzbogacenie drożdży w magnez nie miało praktycznie znaczenia, gdyż odfermentowanie było wyższe tylko o ok. 5%.

Tabela 1

Porównanie wpływu wzbogacenia drożdży w magnez na zmiany zawartości ekstraktu pozornego podczas fermentacji w zależności od podłoża użytego do hodowli *inoculum* – YPD i brzezka słodowa.

A comparison of effects obtained by enriching yeast with magnesium on changes in the apparent extract content during the fermentation process depending on the type of medium used to grow culture type *inoculum* i.e. YPD and brewer's wort.

Metoda hodowli <i>inoculum</i> Method of growing the <i>inoculum</i> culture	Zawartość ekstraktu pozornego [%] (m/m) Apparent extract content [%] (w/w)																							
	1 doba 1 day		2 doba 2 days		3 doba 3 days		4 doba 4 days		5 doba 5 days		6 doba 6 days		7 doba 7 days		8 doba 8 days									
	YPD	Brz. Wort	YPD	Brz. Wort	YPD	Brz. Wort	YPD	Brz. Wort	YPD	Brz. Wort	YPD	Brz. Wort	YPD	Brz. Wort	YPD	Brz. Wort								
1 Stacjonarna 48 h (kontrola) Stationary 48 h (control)	12	12	12	12	12	12	11,9	11,9	11,9	10,8	10,7	9,0	8,7	7,8	7,1	6,7	6,0							
2 Stacjonarna 48 h + magnez Stationary 48 h + magnesium	12	12	12	12	12	12	11,9	11,9	11,6	10,8	10,6	8,9	8,6	7,7	6,95	6,5	5,8							
3 Z napowietrzaniem 24 h With 24 h aeration	12	12	12	12	12	12	11,9	11,9	11,4	10,8	10,3	9,0	8,5	7,8	7,0	6,7	5,9							
4 Z napowietrzaniem 24 h + magnez With 24 h aeration 24 h + magnesium	12	12	12	12	12	12	11,9	11,9	11,4	10,8	10,2	9,0	8,4	7,8	6,9	6,6	5,8							
5 Z napowietrzaniem 48 h (kontrolna) With 48 h aeration (control)	12	12	12	12	12	12	11,8	11,7	11,2	10,1	9,8	8,4	8,0	7,2	6,3	6,1	4,8							
6 Z napowietrzaniem 48 h + magnez With 48 h aeration + magnesium	12	12	12	12	12	12	11,8	11,7	11,2	10,1	9,6	8,3	8,0	7,0	6,2	5,8	4,6							
7 Z i bez napowietrzania 24/24 h (kontrolna) With and without aeration 24/24 h (control)	12	12	12	12	12	12	11,8	11,8	11,3	10,5	10,1	8,8	8,4	7,6	6,7	6,5	5,5							
8 Z i bez napowietrzania 24/24 h + magnez* With and without aeration 24/24 h + magnesium*	12	12	12	12	12	12	11,8	11,8	11,3	10,5	10,0	8,8	8,2	7,5	6,6	6,3	5,4							
9 Z i bez napowietrzania 24/24 h + magnez** With and without aeration 24/24 h + magnesium**	12	12	12	12	12	12	11,8	11,8	11,3	10,5	10,0	8,8	8,2	7,5	6,6	6,3	5,4							

Objasnienia: / Explanatory notes: * dodatek magnezu na początku hodowli / magnesium was added right after the growing process of *inoculum* culture started;

** dodatek magnezu w 24. h hodowli / magnesium was added during the 24th hour of the growing process of *inoculum* culture

Tabela 2

Wyniki oznaczeń wykonanych po zakończonej fermentacji brzezki chmielonej *inoculum* hodowanym na podłożu YPD kontrolnym i z dodatkiem soli magnezu $MgCl_2 \cdot 6H_2O$.

A comparison of results obtained after the fermentation process of hopped wort was accomplished; the hopped wort was inoculated with *inoculum* grown on a control medium YPG, and on a medium YPG with magnesium $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ added.

	Metoda hodowli <i>inoculum</i> Method of growing the <i>inoculum</i> culture	Zawartość ekstraktu [%] (m/m) Extract content [%] (w/w)		Zawartość alkoholu [%] (m/m) Alcohol content [%] (w/w)	Stopień odfermentowania [%] Attenuation degree of wort [%]		
		Pozorny apparent	Rzeczywisty Real		Pozorny apparent	Rzeczywisty real	
1	Bez napowietrzania 48 h na podłożu kontrolnym Without aeration, 48 h on the control medium	6,70	8,02	11,9	2,0	43,7	32,6
	Bez napowietrzania 48 h na podłożu z dodatkiem magnezu Without aeration, 48 h on the medium with magnesium added	6,50	7,54	11,8	2,2	44,9	36,1
2	Z napowietrzaniem 24 h na podłożu kontrolnym With aeration, 24 h on the control medium	6,70	8,04	11,9	2,0	43,7	32,4
	Z napowietrzaniem 24 h na podłożu z dodatkiem magnezu With aeration, 24 h on the medium with magnesium added	6,60	8,01	11,9	2,0	44,5	32,7
3	Z napowietrzaniem 48 h na podłożu kontrolnym With aeration, 48 h on the control medium	6,10	7,26	11,9	2,4	48,7	39,0
	Z napowietrzaniem 48 h na podłożu z dodatkiem magnezu With aeration, 48 h on the medium with magnesium added	5,80	6,93	11,8	2,5	50,9	41,3
	Z/bez napowietrzania 24/24 h na podłożu kontrolnym With/ without aeration, 24/24 h on the control medium	6,50	7,58	11,9	2,2	45,4	36,3
4	Z/bez napowietrzania 24/24 h na podłożu z dodatkiem magnezu With/ without aeration, 24/24 h on the medium with magnesium added*	6,30	7,42	11,9	2,3	47,1	37,7
	Z/bez napowietrzania 24/24 h na podłożu z dodatkiem magnezu With/ without aeration, 24/24 h on the medium with magnesium added**	6,30	7,46	11,9	2,3	47,1	37,3

Objasnienia: / Explanatory notes: * dodatek magnezu na początku hodowli / magnesium was added at the beginning of inoculation;

** dodatek magnezu w 24. h hodowli/ magnesium was added during the 24th hour of the growing process of inoculum culture

Tabela 3

Wyniki oznaczeń wykonanych po zakończonej fermentacji brzezki chmielonej zaszczonej *inoculum* hodowanym na podłożu brzezczkowym kontrolnym i z dodatkiem soli magnezu $MgCl_2 \cdot 6H_2O$.
 Results of determining procedures performed after the fermentation process of hopped wort was accomplished; the hopped wort was inoculated with an *inoculum* grown on a brewer's wort, as well as on a brewer's wort with magnesium $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ added.

	Metoda hodowli <i>inoculum</i> Method of growing the <i>inoculum</i> culture	Zawartość ekstraktu [%] (m/m) Extract content [%] (w/w)			Zawartość alkoholu [%] (m/m) Alcohol content [%] (w/w)		Stopień odfermentowania [%] Attenuation degree of wort [%]	
		pozorny apparent	rzeczywisty Real	brzezki podstawowej wort	pozorny apparent	rzeczywisty real		
1	Bez napowietrzania 48 h na podłożu kontrolnym without aeration 48 h on the control medium Bez napowietrzania 48 h na podłożu z dodatkiem magnezu with aeration 48 h on the medium with addition of magnesium	6,00	7,22	11,7	2,3	48,7	38,3	
2	Z napowietrzaniem 24 h na podłożu kontrolnym With aeration 24 h on the control medium Z napowietrzaniem 24 h na podłożu z dodatkiem magnezu With aeration 24 h on the medium with addition of magnesium	5,80	7,04	11,9	2,5	51,3	40,8	
3	Z napowietrzaniem 48 h na podłożu kontrolnym With aeration 48 h on the control medium Z napowietrzaniem 48 h na podłożu z dodatkiem magnezu With aeration 48 h on the medium with addition of magnesium	4,80	6,18	11,8	2,9	59,3	47,6	
4	Z/bez napowietrzania 24/24 h na podłożu kontrolnym With/ without aeration 24/24 h on the control medium Z/bez napowietrzania 24/24 h na podłożu z dodatkiem magnezu With/ without aeration 24/24 h on the medium with addition of magnesium*	5,50	6,73	11,8	2,6	53,4	43,0	
	Z/bez napowietrzania 24/24 h na podłożu z dodatkiem magnezu** With/ without aeration 24/24 h on the medium with addition of magnesium**	5,40	6,62	11,9	2,7	54,6	44,4	
	Z/bez napowietrzania 24/24 h na podłożu z dodatkiem magnezu** With/ without aeration 24/24 h on the medium with addition of magnesium**	5,40	6,65	11,9	2,7	54,6	44,1	

Objaśnienia: / Explanatory notes: * dodatek magnezu na początku hodowli/ magnesium was added at the beginning of growing the *inoculum* culture

** dodatek magnezu w 24 godzinie hodowli/ magnesium was added in the 24th hour of the *inoculum* culture growing process

Skrócenie czasu zafermentowania i lepsza dynamika fermentacji przy zastosowaniu *inoculum* hodowanego na brzezce wynika najprawdopodobniej ze skrócenia lag fazy i lepszego przystosowania drożdży do tego podłoża. Drożdże hodowane na podłożu YPD miały wydłużoną lag fazę i mimo, że plon biomasy był większy na tym podłożu (rys. 2) to proces fermentacji przebiegał wolniej, a zawartość ekstraktu pozornego po 8 dobach była średnio o 15% wyższa w porównaniu z *inoculum* hodowanym na brzezce.

Zarówno pozorny, jak i rzeczywisty stopień odfermentowania nastawów był dość niski, przy czym odfermentowanie nastawów szczepionych *inoculum* hodowanym na podłożu YPD (tab. 2) było znacznie słabsze (średnio o 15%) w porównaniu z odfermentowaniem nastawów szczepionych *inoculum* hodowanym na brzezce (tab. 3). Wzbogacenie *inoculum* w magnez nie miało tu praktycznie znaczenia, chociaż zastosowanie *inoculum* wzbogaconego w magnez spowodowało wyższe odfermentowanie, ale różnica ta była statystycznie nieistotna (rys. 3). Jedyne nastaw szczepiony 48-godzinnym *inoculum* hodowanym na brzezce wykazał odfermentowanie rzeczywiste równe średnio 48%, czyli dolną granicę odfermentowania piw jasnych (tab. 3, poz. 3).

Wnioski

1. Niezależnie od zastosowanego podłoża hodowanego – YPD czy brzezki słodowej – dodatek magnezu w ilości $1,25 \text{ g Mg/dm}^3$ w postaci $\text{MgCl}_2 \cdot 6 \text{ H}_2\text{O}$ nie hamował wzrostu drożdży przy czym plon biomasy był wyższy na podłożu YPD.
2. Biomasa drożdży hodowanych na podłożu YPD zawierała więcej magnezu w porównaniu z biomasa hodowaną na brzezce w tych samych warunkach.
3. Szczepienie nastawów *inoculum* hodowanym na brzezce pozwoliło na szybsze (o dobę) i większe odfermentowanie (średnio o 15%) w porównaniu z wynikami uzyskanymi przy stosowaniu *inoculum* hodowanym na podłożu YPD.
4. Wzbogacenie drożdży w magnez nie miało praktycznie wpływu na przebieg fermentacji i jej dynamikę. Jedyne w przypadku hodowli *inoculum* przez 48 h, na podłożu wzbogaconym w magnez, uzyskano nieznacznie większy stopień odfermentowania (o ok. 5%) bez względu na rodzaj podłoża hodowanego.

Literatura

- [1] Blackwell K.J., Tobin J.M., Avery S.V.: Manganese uptake and toxicity in magnesium-supplemented and unsupplemented *Saccharomyces cerevisiae*. Appl. Microbiol. Biotechnol., 1997, **47**, 180-184.
- [2] Bryłka J.: Eksperymentalna chemia fizyczna. Wyd. SGGW. Warszawa 1995, s. 317-328.
- [3] Chandrasena G., Walker G.M., Staines H.J.: Use of response surfaces to investigate metal interactions in yeasts fermentations. J. Amer. Soc. Brewing Chem., 1997, **55** (1), 24-29.

- [4] D'Amore T., Panchal C.J., Russell I., Stewart G.G.: Osmotic pressure effects and intracellular accumulation of ethanol in yeast during fermentation. *J. Industr. Microbiol.*, 1988, **2**, 365-372.
- [5] Dedyukhina E.G., Eroshin V.K.: Essential metal ions in the control of microbial metabolism. *Proc. Biochemistry*, 1991, **26** (1), 31-37.
- [6] Dombek K.M., Ingram L.O.: Magnesium limitation and its role in apparent toxicity of ethanol during yeast fermentation. *Appl. Environm. Microbiol.*, 1986, **52**, 975-981.
- [7] Duszkievicz-Reinhard W., Gniewosz M., Błażej S., Bugajewska A., Pelikańska-Rek K.: Próby wzbogacenia w magnez drożdży *Saccharomyces cerevisiae* w warunkach hodowli stacjonarnej. Materiały XXXII Sesji Naukowej KTChŻ PAN, Warszawa, 2001, płyta CD.
- [8] Jarczyk A.: Ćwiczenia z technologii żywności. Technologie kierunkowe. Wyd. SGGW. Warszawa 1980, s. 153-156.
- [9] Jones R.P., Greenfield P.F.: A review of yeast ionic nutrition. I. Growth and fermentation requirements. *Proc. Biochemistry.*, 1984, **19** (2), 48-60.
- [10] Mochaba F., O'Connor-Cox E.S.C., Axcell B.C.: Metal ion concentration and release by a brewing yeast: characterization and implications. *J. Amer. Soc. Brewing Chem.*, 1996, **54** (3), 155-163.
- [11] Pasternakiewicz A., Tuszyński T.: Effect of calcium, magnesium, cobalt (II), and zinc cations on the *Saccharomyces cerevisiae* growth. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 1997, **6/47** (4), 61-70.
- [12] PN-A-79093-2: 2000. Piwo.
- [13] Rees E.M.R., Stewart G.G.: The effects of increased magnesium and calcium concentrations on yeast fermentation performance in high gravity worts. *J. Instit. Brewing*, 1997, **103**, 287-299.
- [14] Saltukoglu A., Slaughter J.C.: The effect of magnesium and calcium on yeast growth. *J. Industr. Brewing*, 1983, **89**, 81-83.
- [15] Stewart G.G., D'Amore T., Panchal C.J., Russell I.: Factors that influence ethanol tolerance of brewer's yeast strains during high-gravity wort fermentations. *Master Brewer's Assoc. Amer. Tech. Quart.*, 1988, **25**, 47-53.
- [16] Stryer L.: *Biochemia*. PWN. Warszawa 1997, s. 515-531.
- [17] Walker G.M.: The roles of magnesium in biotechnology. *Critic. Rev. Biotechnol.*, 1994, **14**, 311-354.
- [18] Walker G.M., Birch R.M., Chandrasena G., Maynard A. I.: Magnesium, calcium, and fermentative metabolism in industrial yeasts. *J. Amer. Soc. Brewing Chem.*, 1996, **54**, 13-18.
- [19] Walker G.M., Maynard A. I.: Magnesium-limited growth of *Saccharomyces cerevisiae*. *Enzym. Microbiol. Technol.*, 1996, **18**, 455-459.
- [20] Walker G.M., Maynard A. I.: Accumulation of magnesium ions during fermentative metabolism in *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Industr. Microbiol. Biotechnol.*, 1997, **18** (1), 1-3.

THE EFFECT OF ENRICHING BREWER'S YEAST WITH MAGNESIUM ON ITS FERMENTATION ACTIVITY

S u m m a r y

The objective of this study was to investigate an effect of magnesium ($MgCl_2 \cdot 6H_2O$) added to the culture medium on the growth of *inoculum* and the fermentation properties of brewer's yeast *Saccharomyces cerevisiae*, strain N^o 1 (originating from the authors' own collection).

Two culture media were used to grow *inoculum*: YPG, which was a control medium, and a brewer's wort. The two media were enriched with magnesium by adding 1.25 g Mg/dm^3 to them.

The yeast cultures were developed using the following methods: a) a stationary method - 48 hrs; b) a method with the aeration during a period of 24 hrs and 48 hrs; c) a method with the aeration during the 24 hrs, the next 24 hr period without aeration; at 28⁰C, and with a pH value equaling 5,0 in the case of the YPG, and 5.5 in the case of the wort.

According to what has already been proved in previous experiments, the rate of magnesium being absorbed by cells was very high, and, at the same time, the biomass yield of yeast was low. It was stated that regardless of the type of medium, the enrichment with magnesium stimulated the growth and biomass of the yeast; the biomass yield was higher on the YPG medium than on the brewer's wort. Furthermore, the magnesium was better absorbed by cells in the YPG medium. When *inoculum* grown on the brewery wort was used, the level of the brewery fermentation was higher, although the increase in the content of magnesium in the yeast was of no significant effect.

Key words: brewer's yeasts, brewery fermentation, enrichment of yeast. ☒