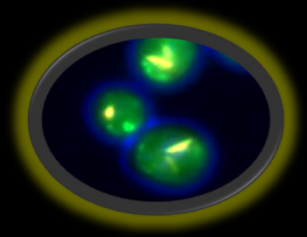
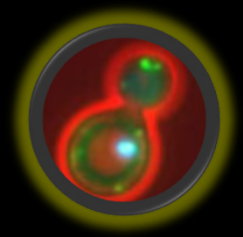
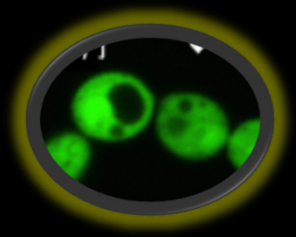
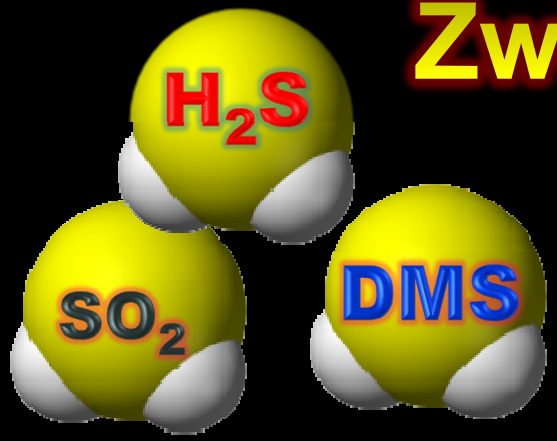
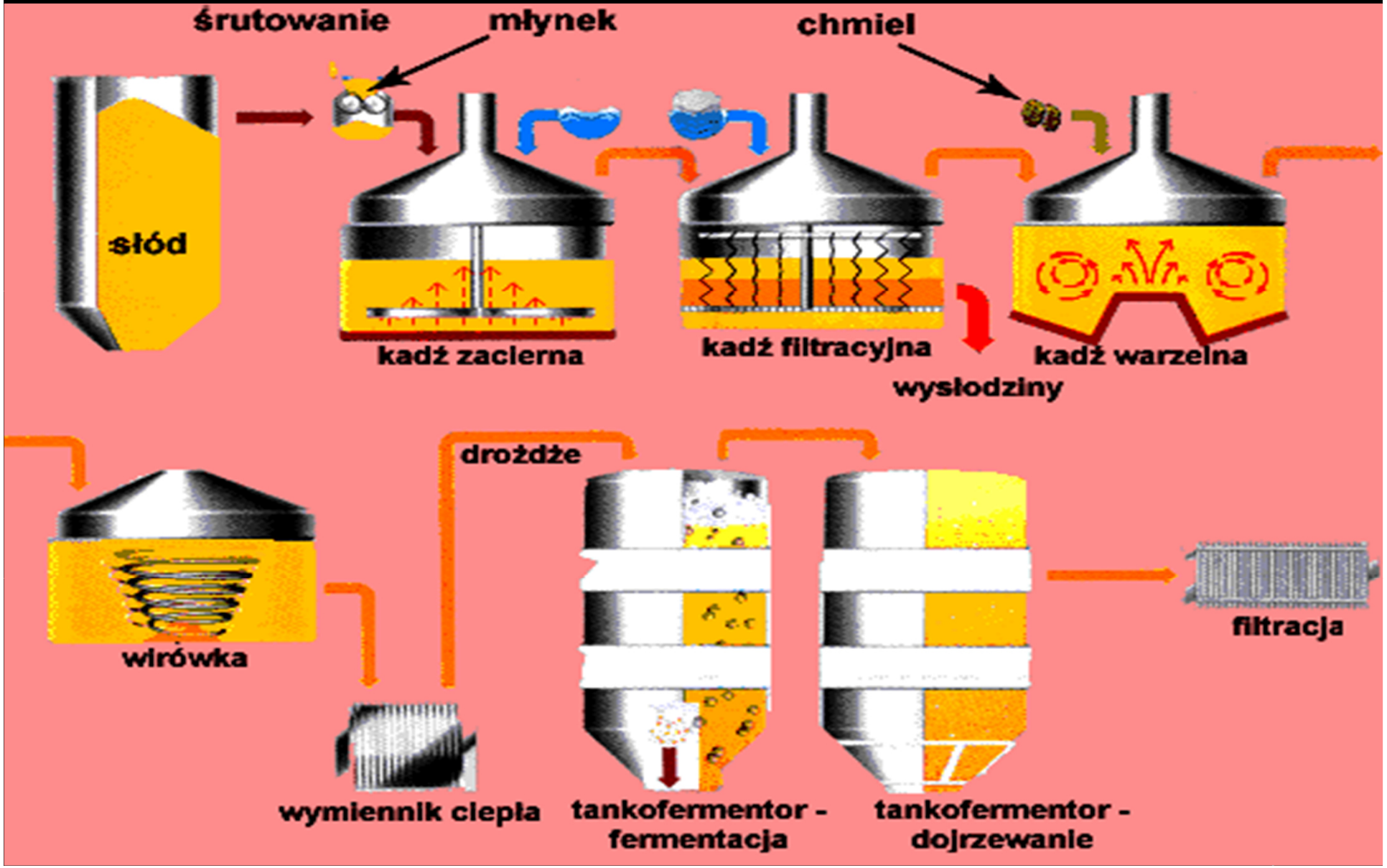




Drożdże browarnicze a produkty uboczne procesu fermentacji: Związki siarkowe

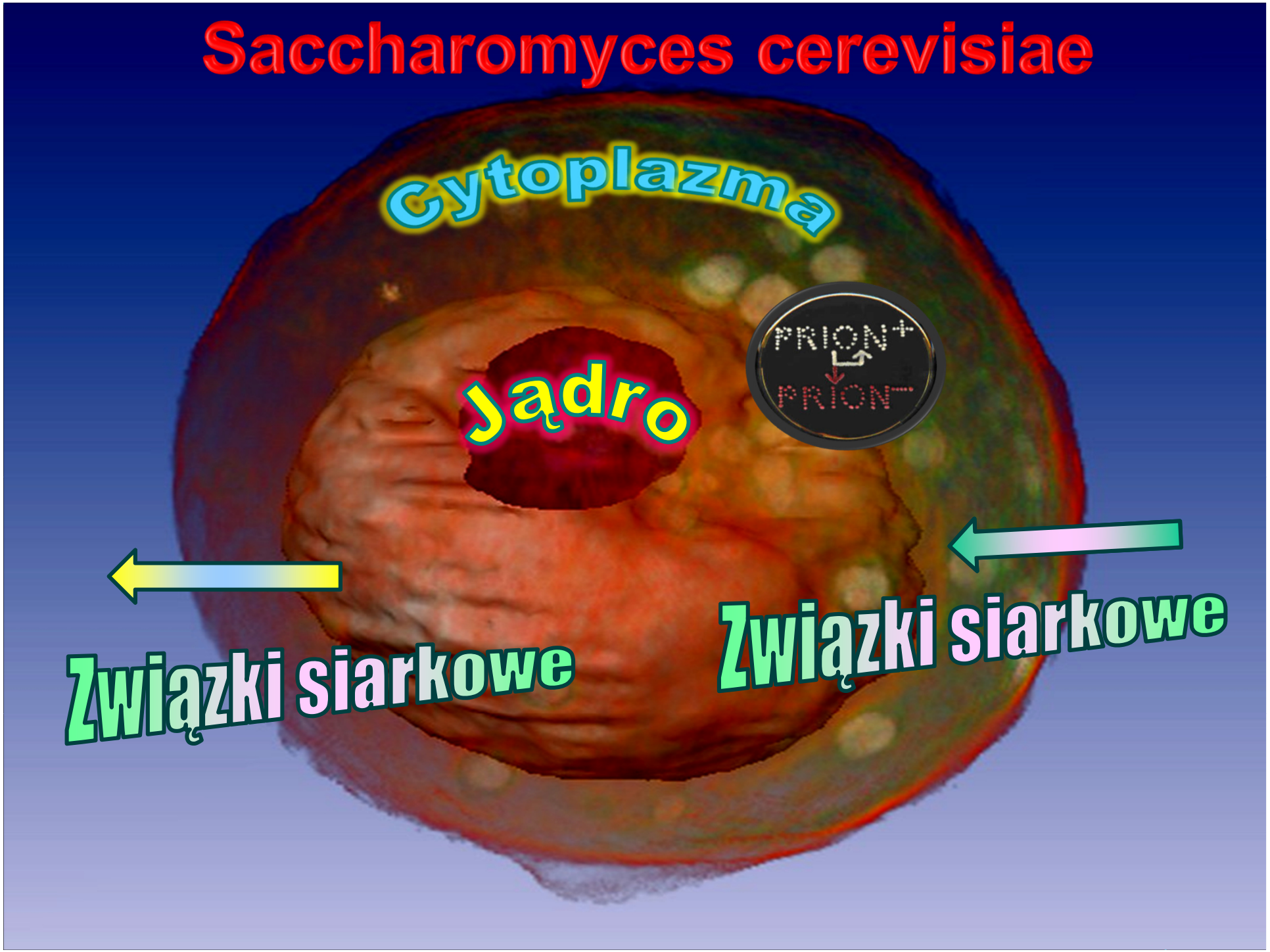


Dr. habil. Anna Salek
International Bio-Consulting, Germany
Ciechocinek, 2009

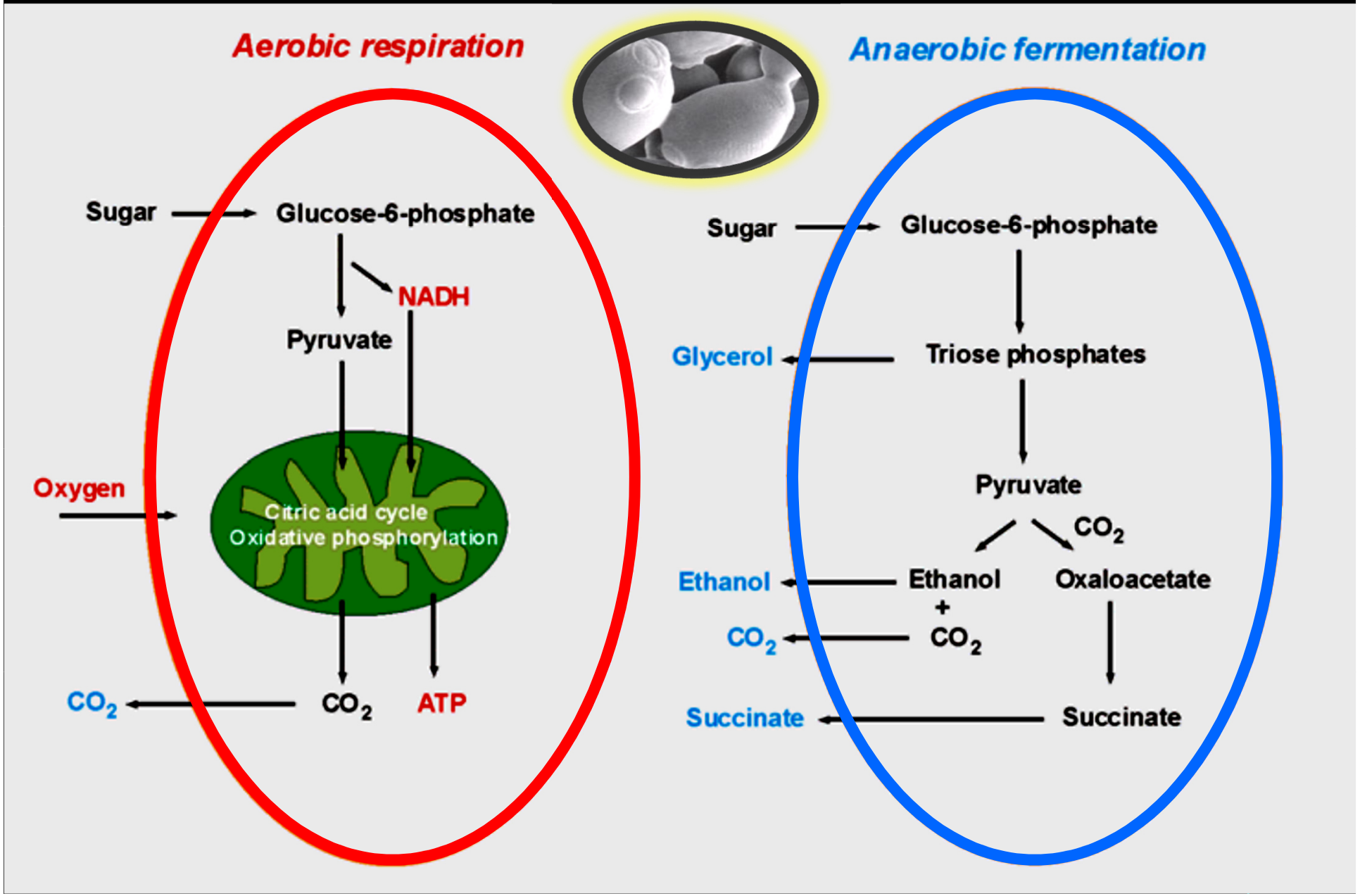
Klasyczny proces produkcyjny piwa



Saccharomyces cerevisiae



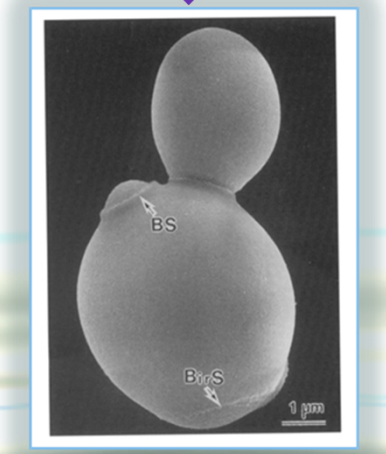
Metabolizm drożdży



Fermentacja brzeczki

BRZECZKA

(węglowodany, aminokwasy, itd.)



Wzrost drożdży

Proces anaboliczny

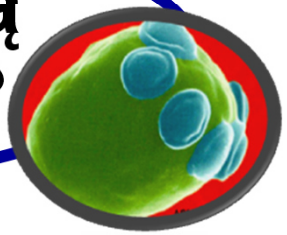
Etanol + CO_2

Proces kataboliczny

Inne metabolity i związki zapachowe

Związki zapachowe w fermentacji drożdży browarniczych

- Jakie związki zapachowe powstają podczas procesu produkcji piwa?



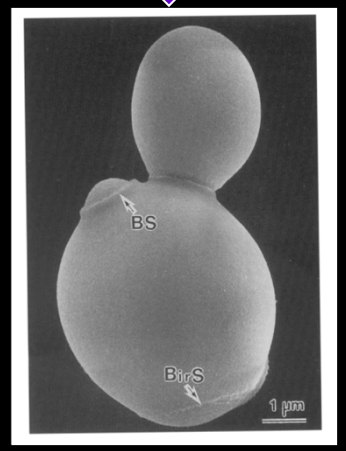
- Co wpływa na produkcję związków siarkowych? Stres komórkowy???

- Jakie ilości VSC są wyczuwalne sensorycznie? Próg wyczuwalności?

Fermentacja drożdży browarniczych: Metabolity

BRZECZKA

(węglowodany, aminokwasy, itd.)



Związki autolizy drożdży

Glicerol

Aldehydy & ketony

Wyższe alkohole (fuzle)

Estry

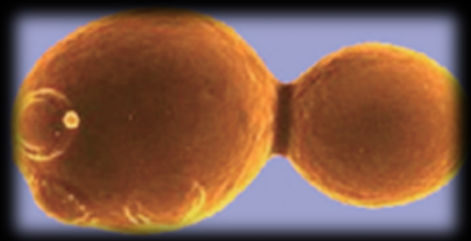
Związki siarkowe

Kwasy organiczne

Analiza metabolitów po fermentacji

Produkcja glicerolu

Ilościowo - glicerol jest jednym z najważnieszych produktów fermentacji drożdży, powodując wzrost lepkości oraz ekstraktu piwa.



Alkohole wyższe

Wyższe alkohole nie ulegają zmianom podczas dojrzewania piwa.

Alkohole alifatyczne

- n propanol
- butanol
- 2-metyl-butanol-1
3-metyl-butanol-1

Alkohole aromatyczne

- 2-fenyl-etanol
- tryptofol- n propanol
- butanol
- 2-metyl-butanol-1
- 3-metyl-butanol-1

Wielowartosciowe alkohole

- 2,3-butandiol
- glicerol

80 % alkoholi powstaje podczas fermentacji browarniczej

Związki karbonylowe produkowane przez drożdże

Wiele związków karbonylowych

ma istotny wpływ na zapach piwa, m.in.:

- **aldehyd octowy,**
- **dwuacetyl**

Zapach autolizy drożdży

- **Autoliza drożdży – zapach mięsny:**

- autoliza zachodzi w wyniku uwalniania się proteaz,

- **Wzrost autolizy następuje podczas:**

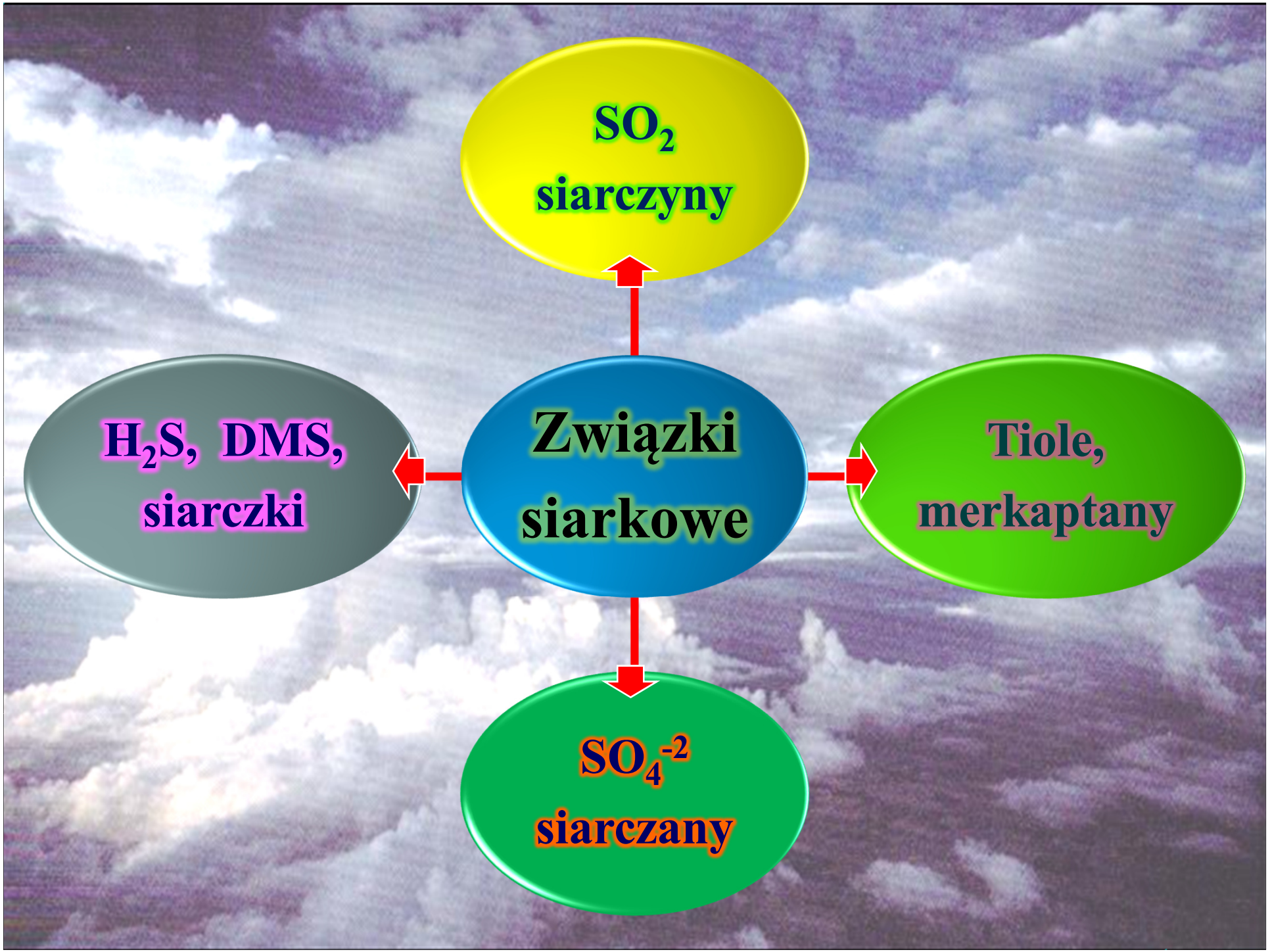
- długiego prztrzymywania piwa nad drożdżami,

- podwyższonej temperatury przetrzymywania drożdży,

- przy niskim pH

- **Spadek autolizy następuje podczas:**

- okresowego odbierania starszych drożdży


SO_2
siarczyny
H_2S, DMS,
siarczki
Związki
siarkowe
Tiole,
merkaptany
SO_4^{-2}
siarczany

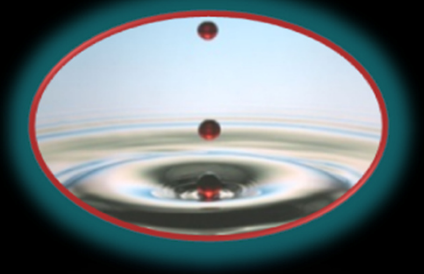
Źródła związków siarkowych

- **Słód:** źródło aminokwasów siarkowych, witamin, jak biotyna i tiamina oraz VSC: DMS,SMM, DMSO

- **Chmiel:** zdegradowane izohumulony reagują z tiolami, produkując, wielofunkcyjne tiole lub metylotiooctan (CH_3-S-CO-R, tioester)

Źródła związków siarkowych

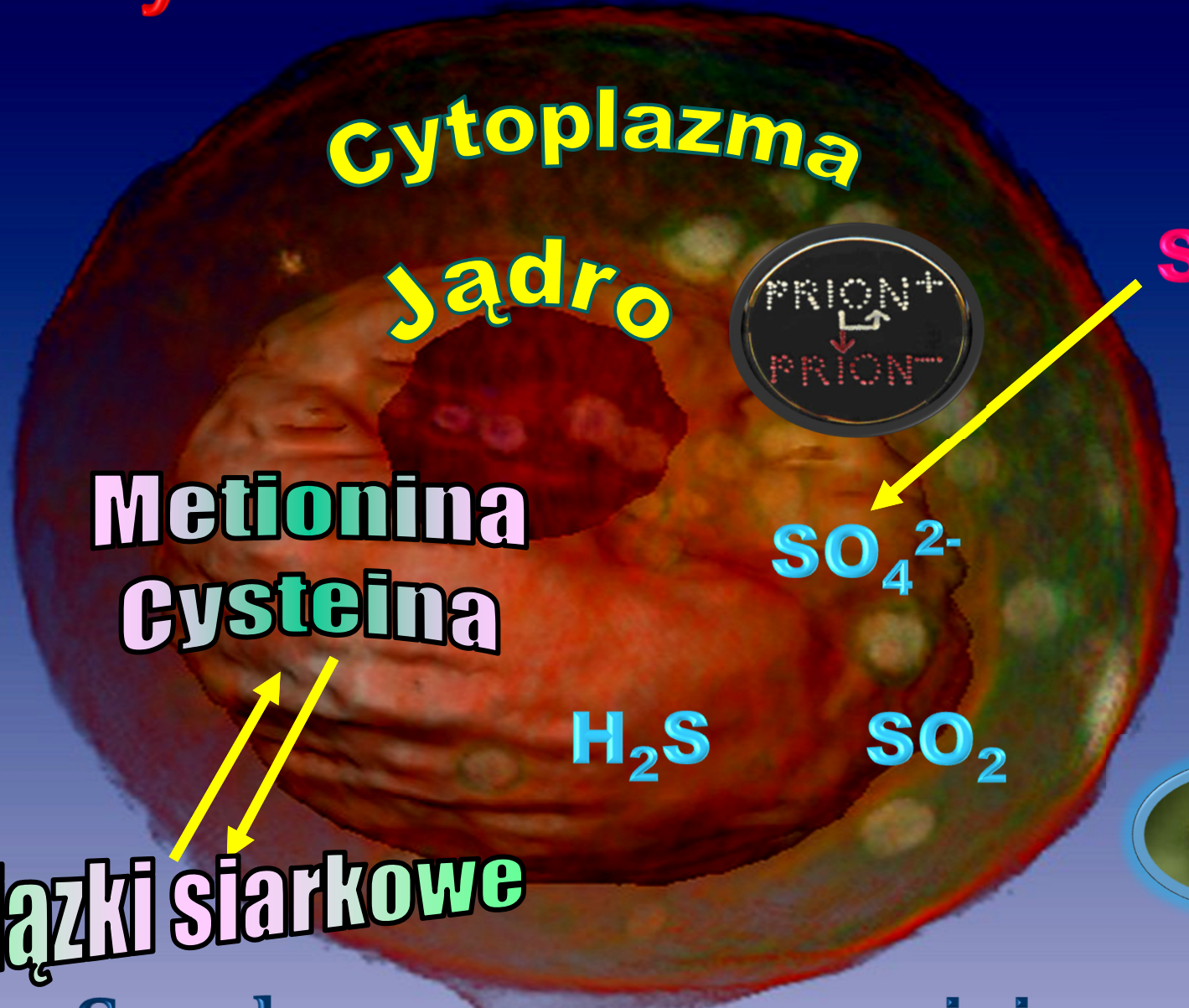
- **Suplementy:** dodatek aminokwasowów i związków mineralnych oraz witamin do brzeczki



- **Woda technologiczna:** źródłem anionów SO_4^{-2} i powstających z nich SO_3^{-2}, a następnie H_2S w wyniku metabolizmu drożdży

drożdży

Zmiany metaboliczne w drożdżach



Cytoplazma

Jądro

SO_4^{2-}

Metionina
Cysteina

SO_4^{2-}

H_2S

SO_2

Związki siarkowe

Saccharomyces cerevisiae

Związki zapachowe w fermentacji drożdży browarniczych

- Jakie związki zapachowe powstają podczas procesu produkcji piwa?
- Co wpływa na produkcję związków siarkowych? Stres komórkowy???

Stres !!

- Jakie ilości VSC są wyczuwalne sensorycznie? Próg wyczuwalności?

Rodzaje stresu komórkowego

- **Stres ogólny (*general stress response, GSR):***

  wywołuje akumulację trehalozy i glikogenu;

- **Stres fizyczny (np. podwyższone ciśnienie osmotyczne HG):**

  wywołuje produkcję glicerolu *(high osmolarity glicerol,* HOG) i usztywnienie ściany komórkowej (*cell wall integrity*, CWI);

- **Stres fizyczny (np. podwyższona temperatura środowiska):**

  wywołuje syntezę np. *heat shock protein,* HSP, a ogólnie HSR (*heat shock response*);

- **Stres chemiczny (np. oksydacyjny przez superoksydanty):**

  wywołuje szereg zmian w metabolizmie drożdży, m.in. w metabolizmie związków siarkowych (w tym VSC)

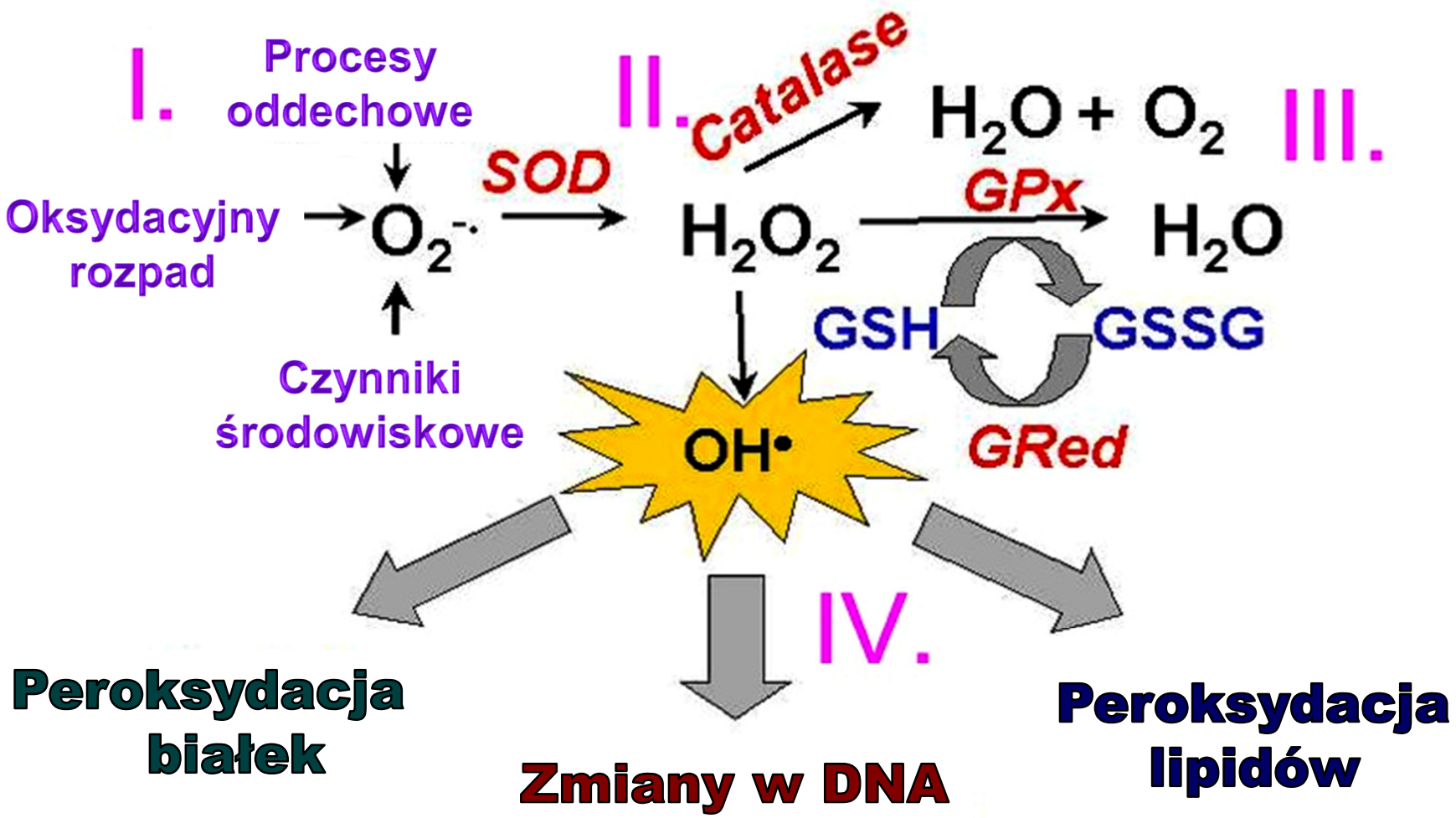
Stres oksydacyjny

Wszystkie organizmy tlenowe, w tym drożdże browarnicze, podczas procesów metabolicznych są narażone na działanie różnego rodzaju utleniaczy, jak np.: H_2O_2, rodników (O_2^{-*}) i wolnych rodników (OH^*).

Tego typu stres oksydacyjny powoduje zmiany:

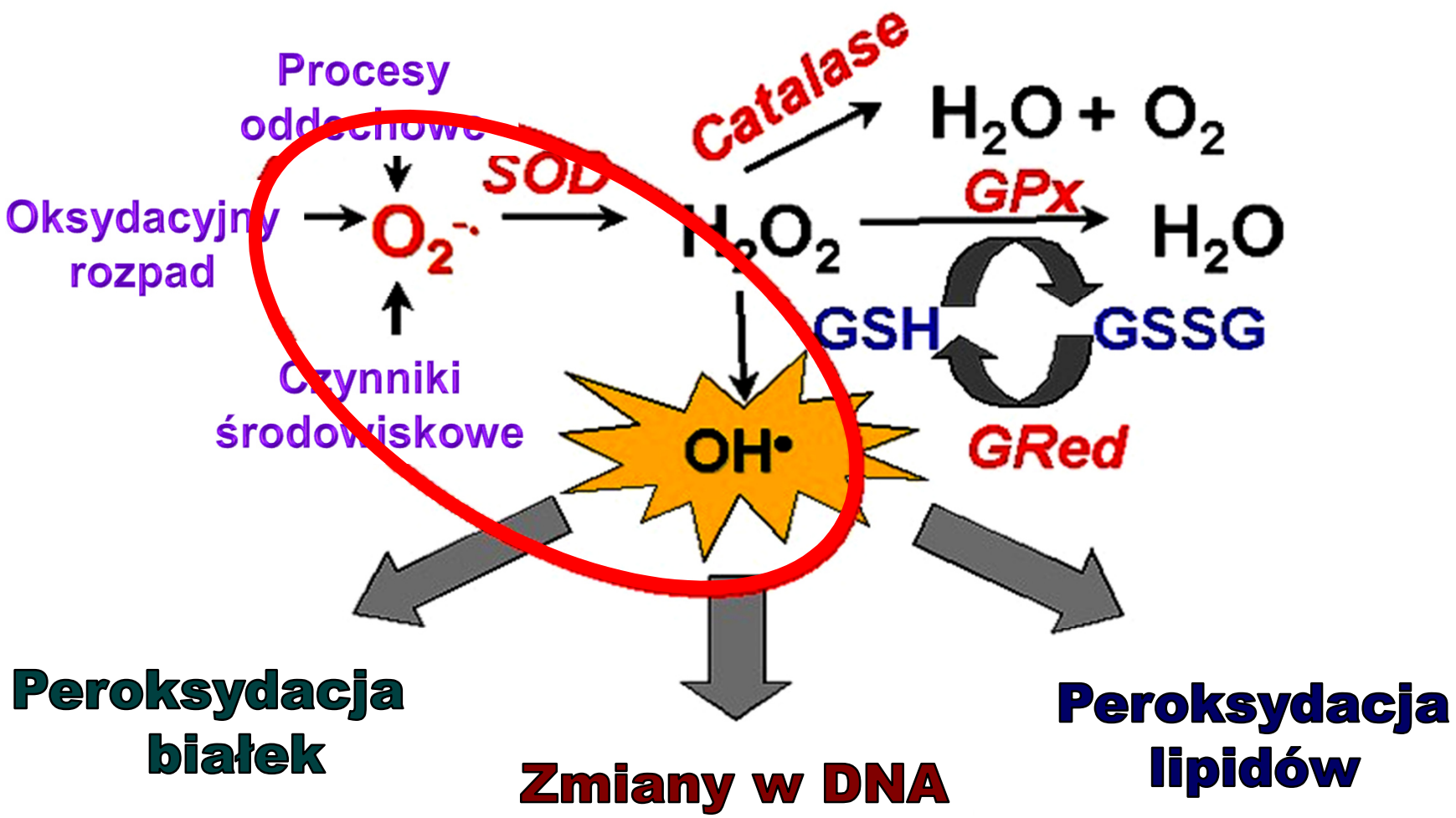
- w genetypie, komórki, polegających na zakłóceniach w syntezie DNA, mutacjach genów;
- w fenotypie, tj. w metabolizmie związków siarkowych oraz w strukturze, budowie i w funkcjonowaniu białek

Stres oksydacyjny – źródła



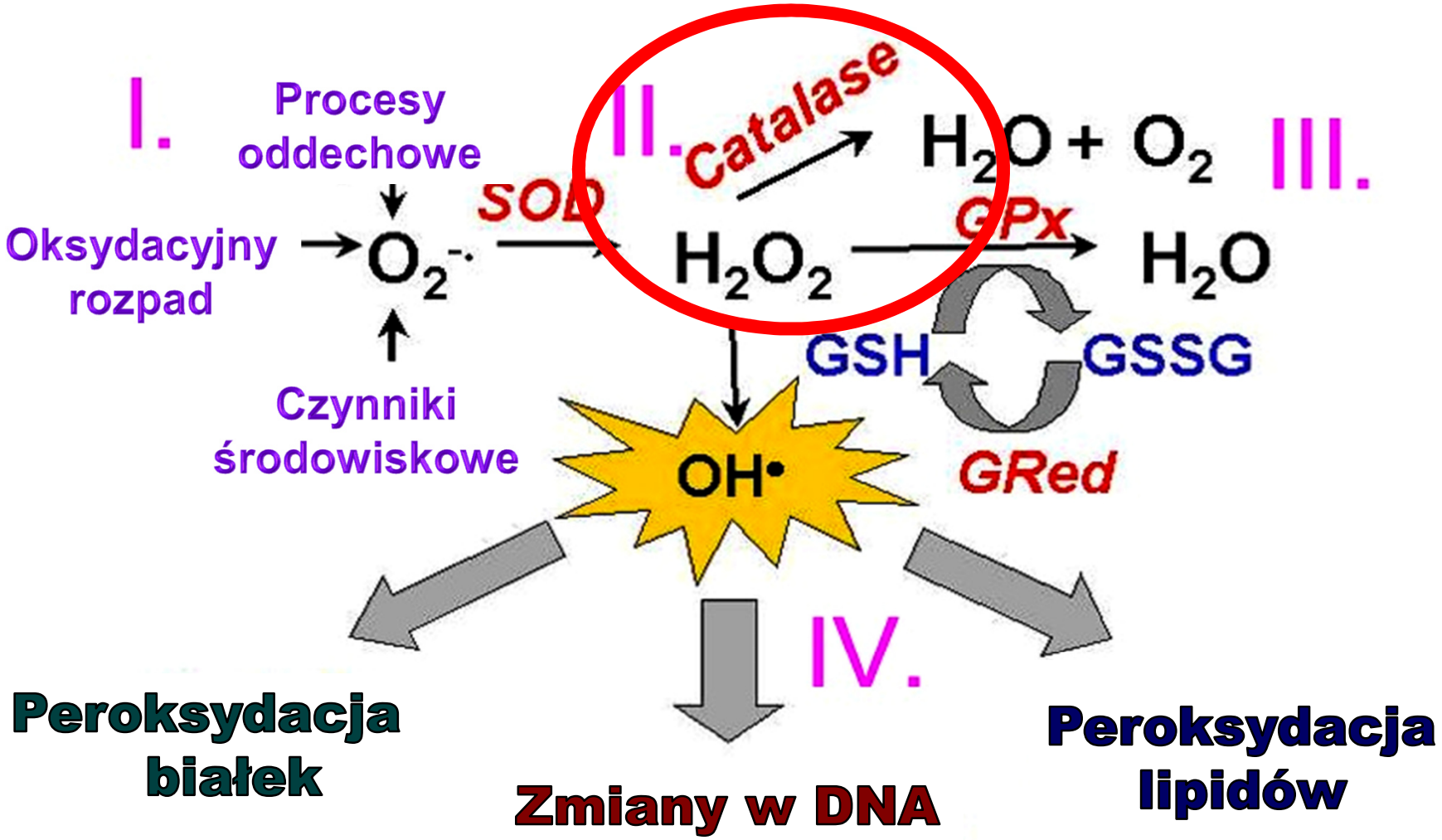
by G.P.Eckert
www.biozentrum.uni-frankfurt.de/Pharmakologie/index.html

Stres oksydacyjny – wolne rodniki



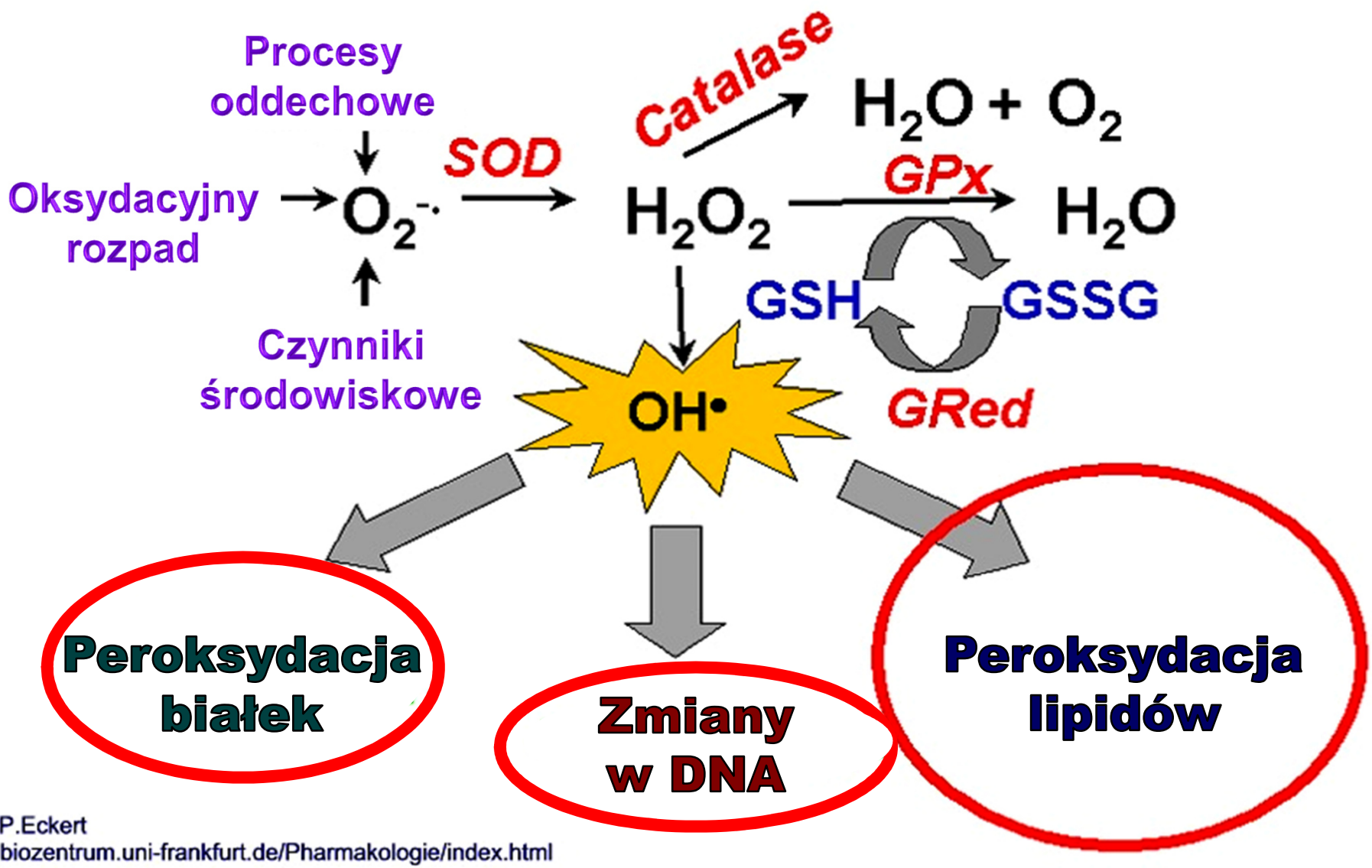
by G.P.Eckert
www.biozentrum.uni-frankfurt.de/Pharmakologie/index.html

Stres oksydacyjny – źródła



by G.P.Eckert
www.biozentrum.uni-frankfurt.de/Pharmakologie/index.html

Stres oksydacyjny - peroksydacje



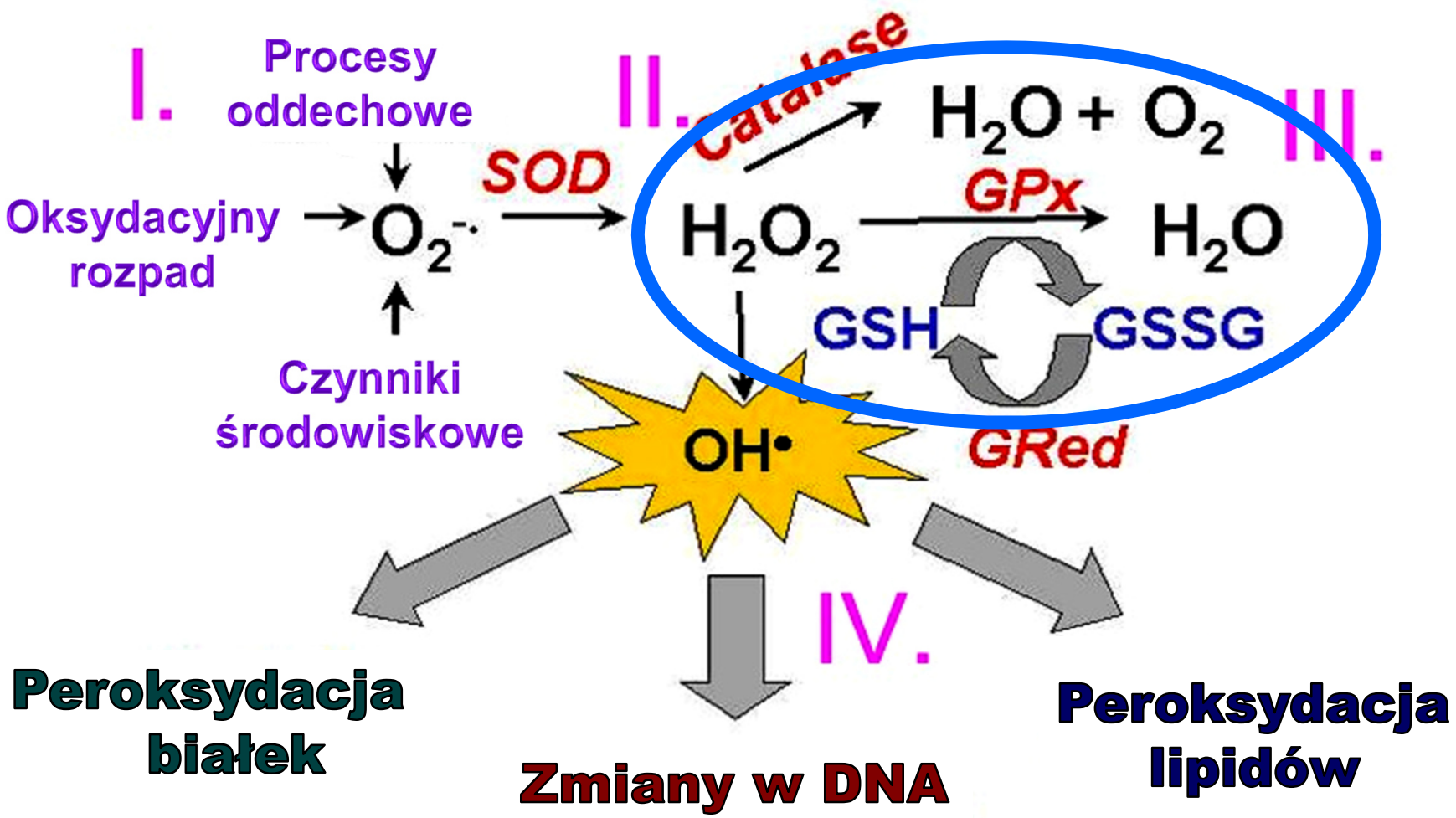
by G.P.Eckert
www.biozentrum.uni-frankfurt.de/Pharmakologie/index.html

Efekt stresu oksydacyjnego

Stres oksydacyjny wywołuje u drożdży:

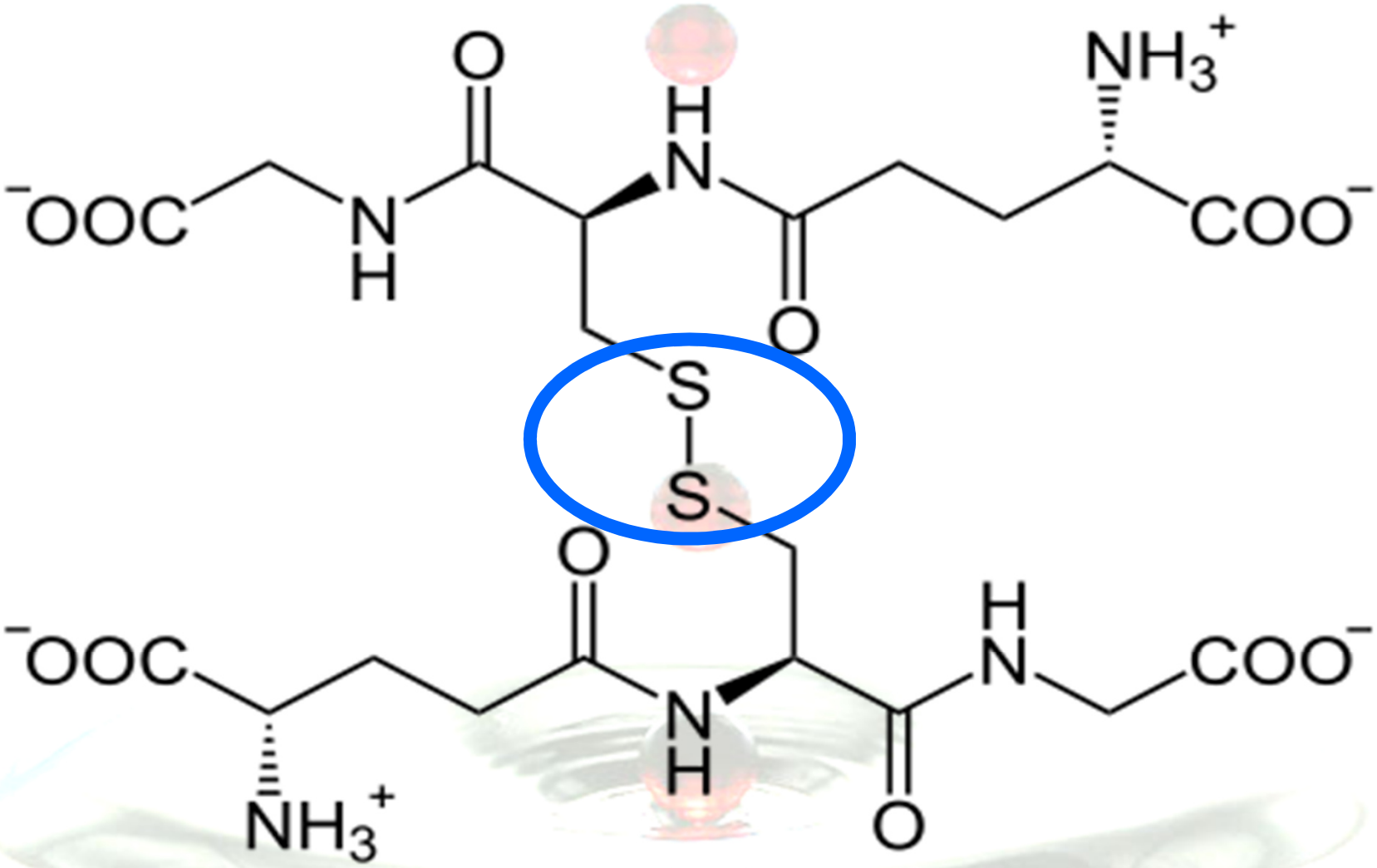
- **podwyższoną produkcję etanolu i siarczynów (w tym też lotnych związków siarkowych),**
- **ograniczenie przyswajania składników odżywczych z brzeczki w wyniku inhibicji glukozo-6-fosfo-dehydrogenazy,**
- **zahamowanie syntezy glutationu, związku o właściwościach antyoksydacyjnych**

Stres oksydacyjny a rola glutationu

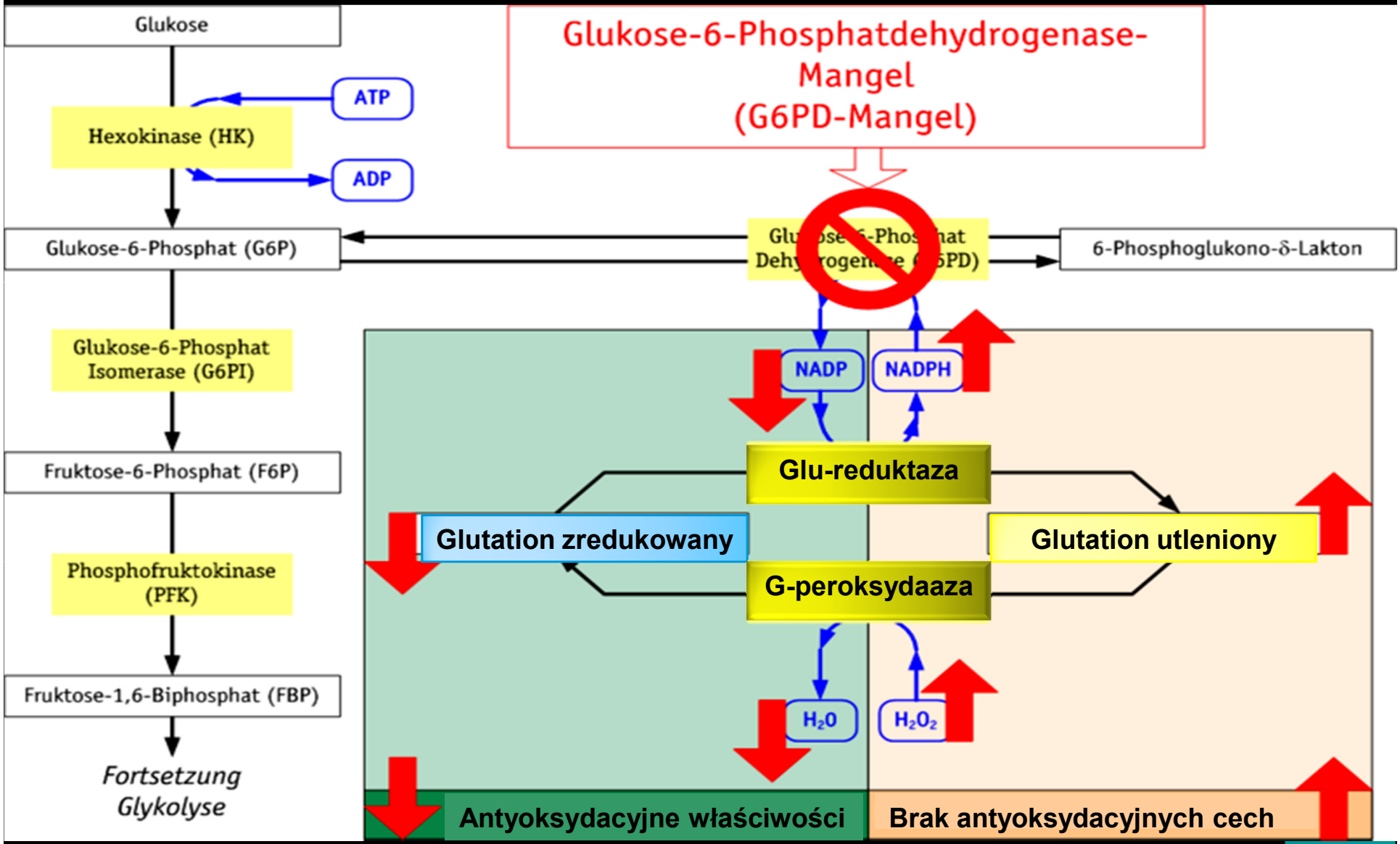


by G.P.Eckert
www.biozentrum.uni-frankfurt.de/Pharmakologie/index.html

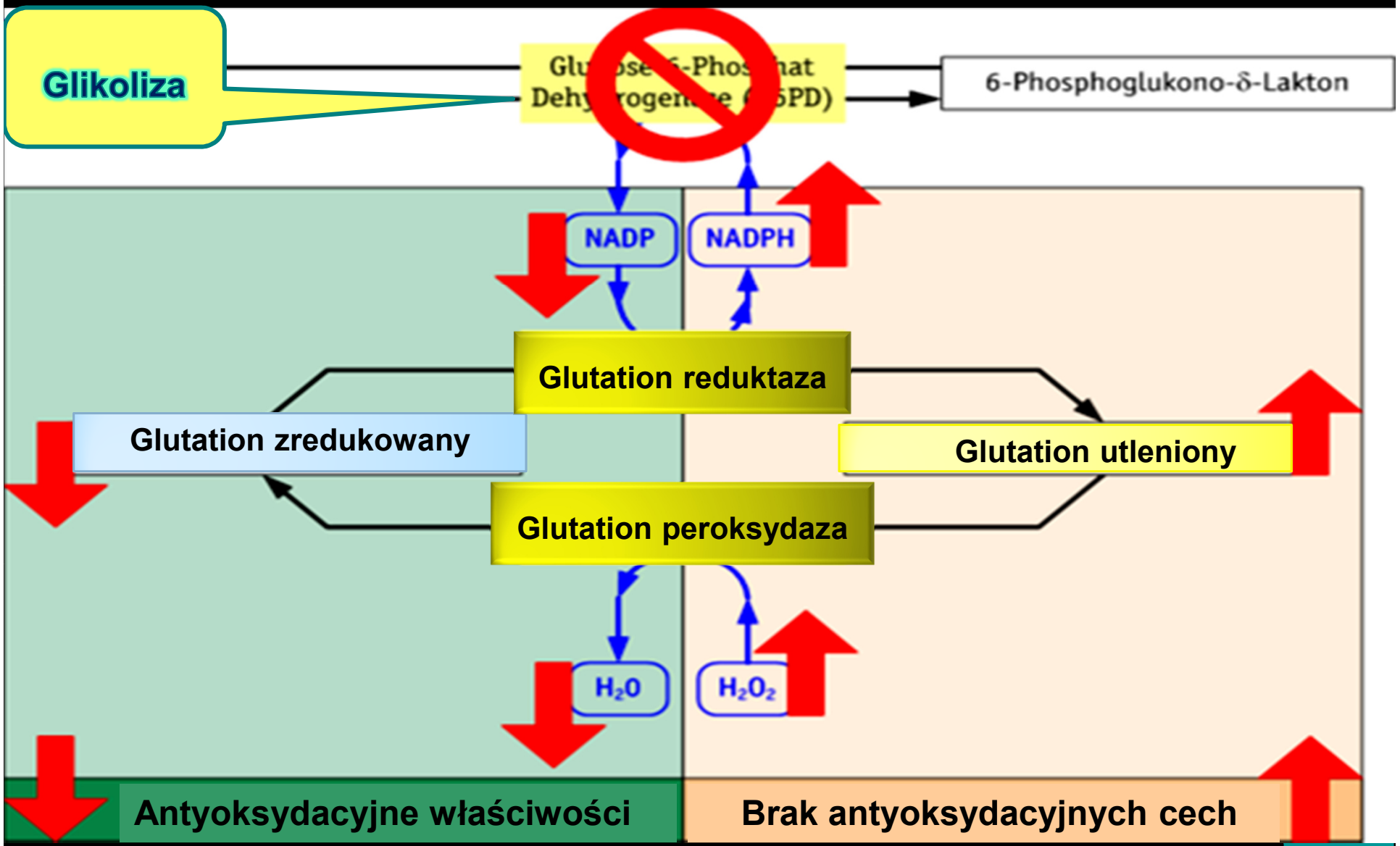
Struktura dwusiarczku glutationu



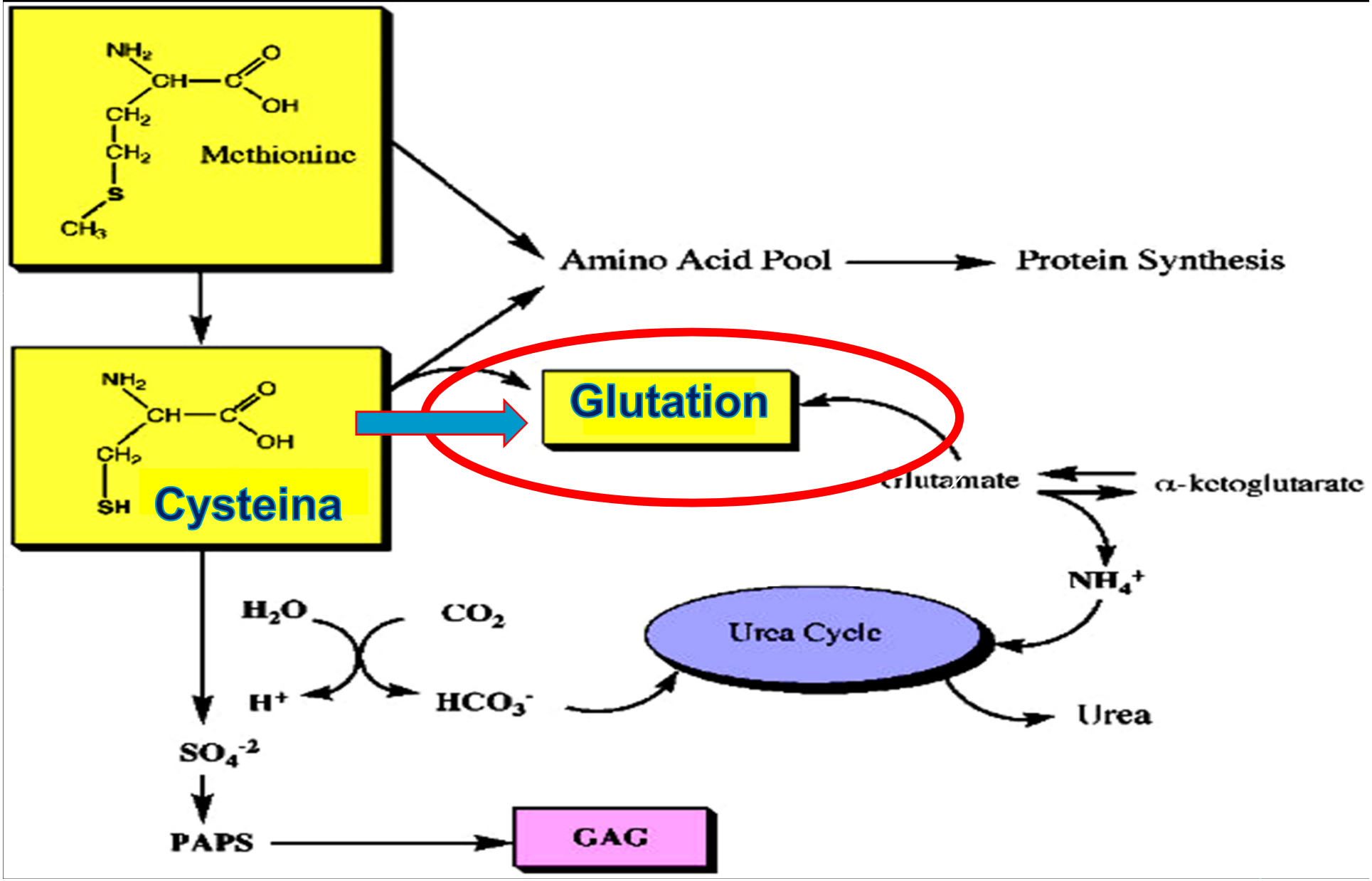
Stres oksydacyjny a glikoliza



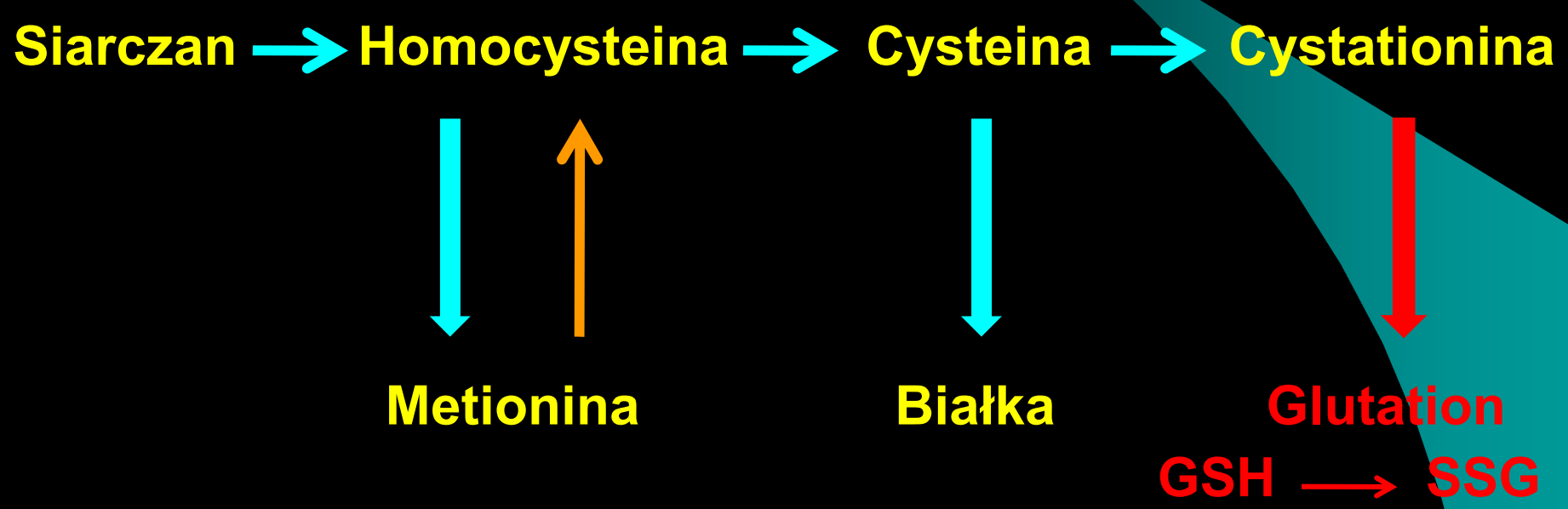
Stres oksydacyjny a rola glutationu



Drogi syntezy glutationu



Drogi syntezy: metioniny cysteiny i glutationu

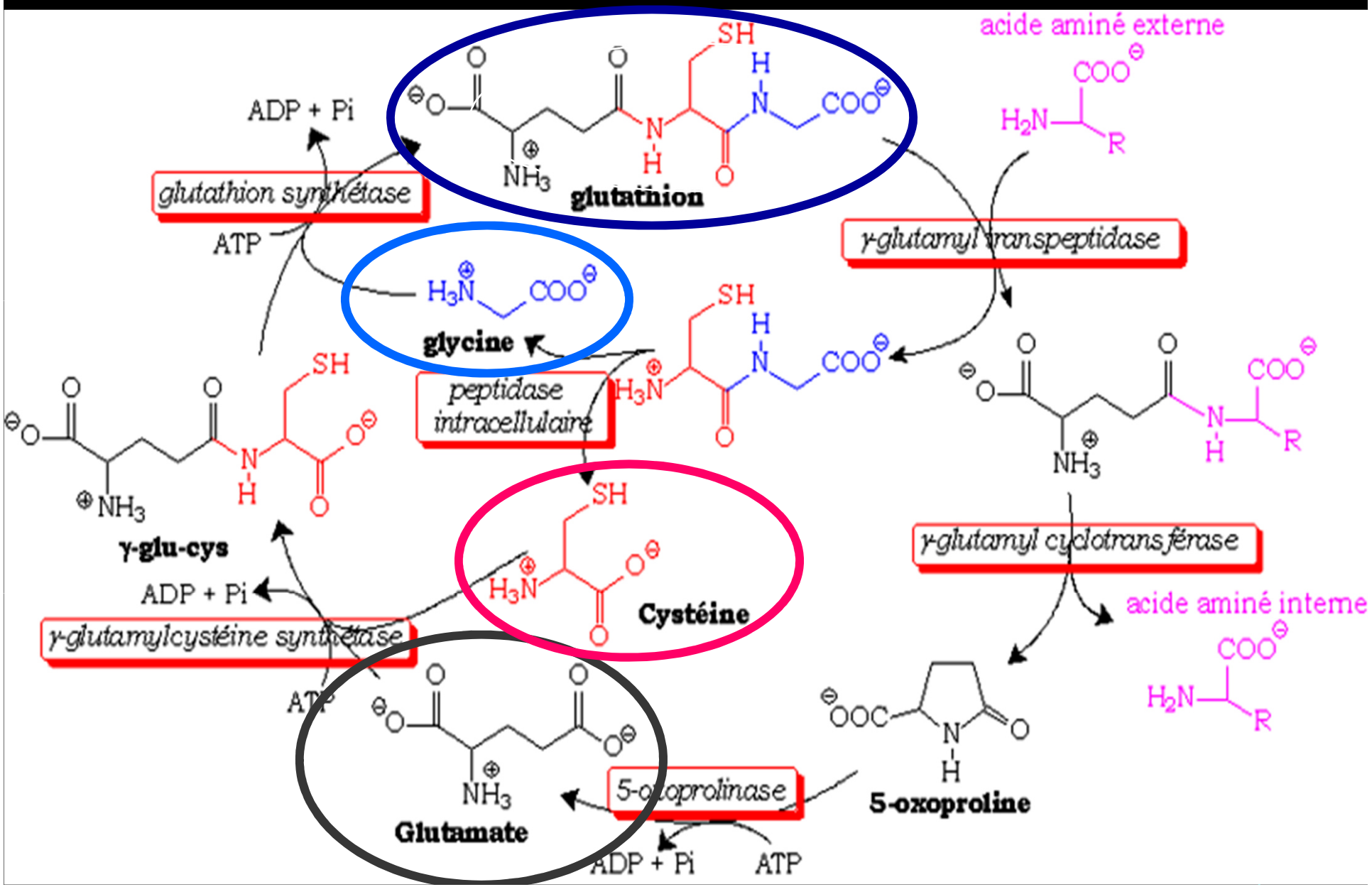


Struktura glutationu

γ-Glutamylcysteinylglycin

Glutathion

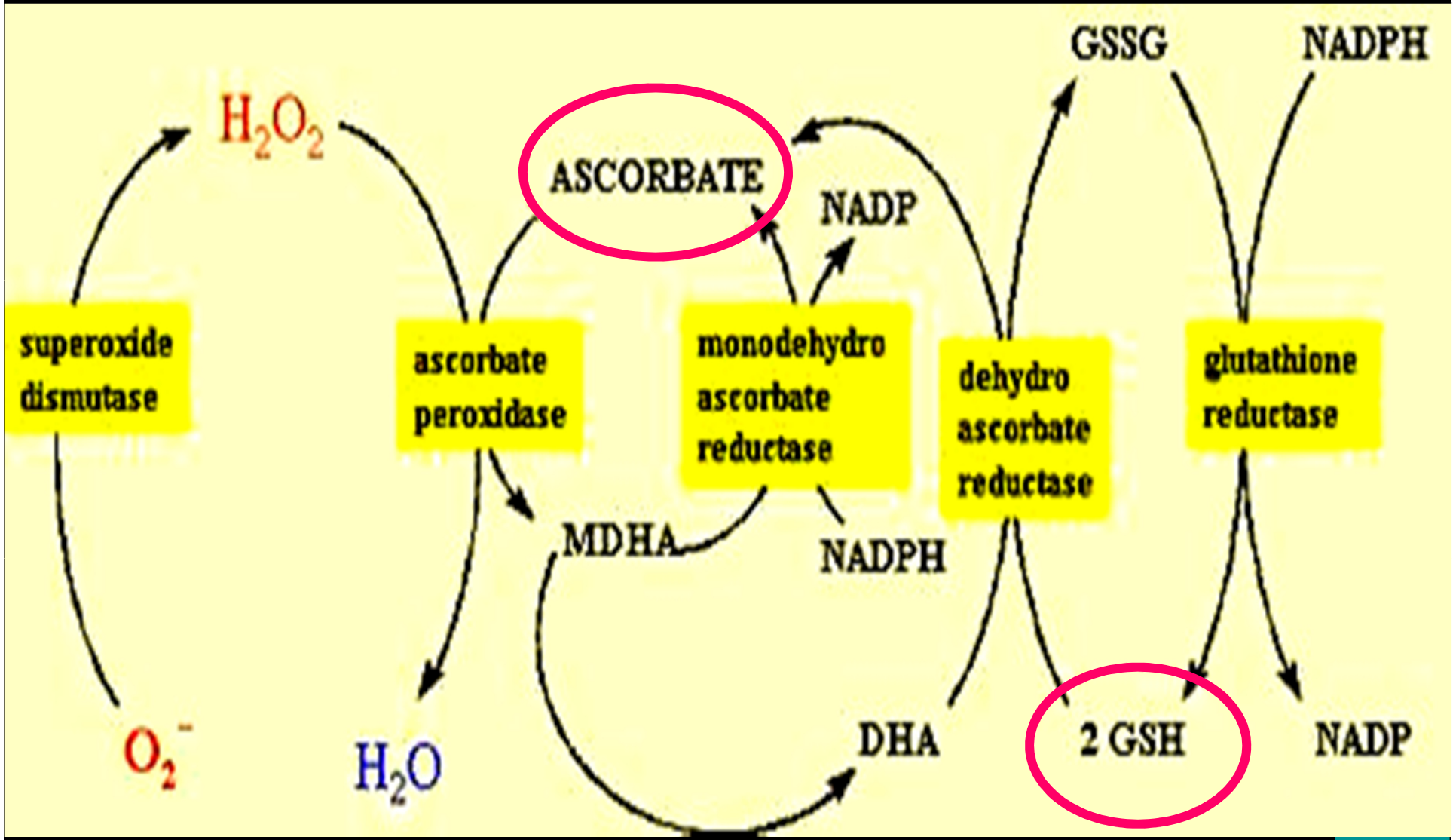
Drogi syntezy glutationu



Czynniki indukujące stres komórkowy

- Przejście z warunków anaerobowych do aerobowych: dla drożdży jest to stres oksydacyjny;
- 100 genów (i ich mutacje) jest odpowiedzialnych za ochronę komórki drożdżowej przed stresem oksydacyjnym;
- Warunki przechowywania drożdży nastawnych, tj. wysoka temperatura, długotrwała cyrkulacja biomasy przez wymiennik ciepła – wywołuje stres fizyczny;
- Podwyższone ciśnienie środowiska w czasie fermentacji, np. ciśnienie osmotyczne w brzeczce i ciśnienie powietrza ponad brzeczką – powoduje stres fizyczny

Rola antyoksydantów podczas stresu



Związki zapachowe w fermentacji drożdży browarniczych

- Jakie związki zapachowe powstają podczas procesu produkcji piwa?
- Co wpływa na produkcję związków siarkowych? Stres komórkowy???

- Jakie ilości VSC są wyczuwalne sensorycznie? Próg wyczuwalności?

Zmiany zapachu wyczuwalne sensorycznie

- Parametry oceny piwa:

  aromat i inne zapachy oraz odór,

- W piwie istnieje ponad 1000 aromatów i niekorzystnych zapachów.

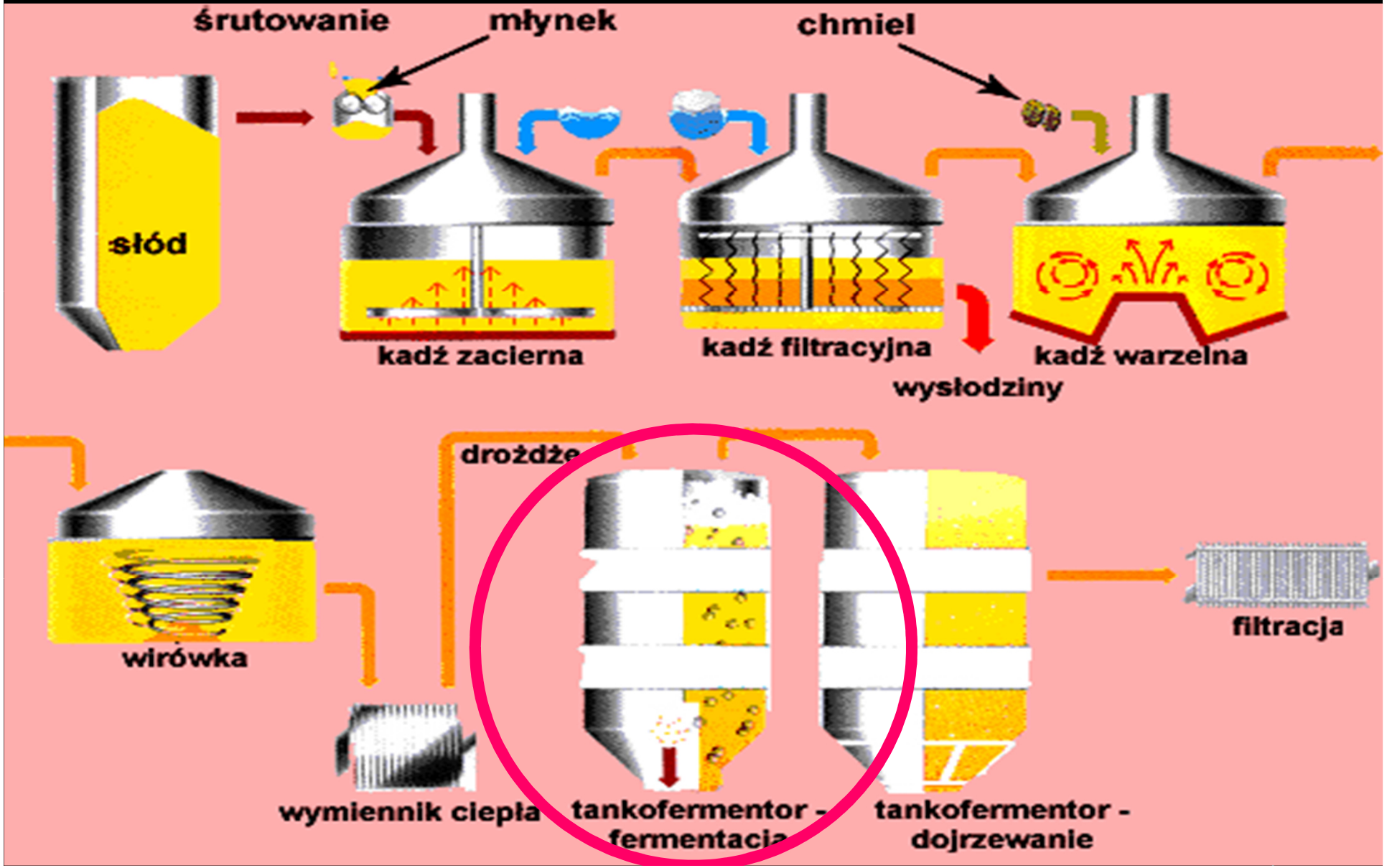
- Większość zapachów (lub odorów) pojawia się podczas fermentacji brzeczki.

Próg wyczuwalności typowych metabolitów drożdży

Produkt fermentacji	Stężenie
etanol, CO_2 , glicerol alkohole wyższe, kwasy organiczne, krótko-łańcu-chowe kwasy tłuszczowe,	g/l
estry, aldehydy, SO_2	mg/l = ppm
H_2S, dwuacetyl	µg/l = ppb
3-metylo-2-butene-1-tiol	ng/l = ppt

Związki siarkowe formowane podczas procesu fermentacji

Klasyczny proces produkcyjny piwa



Związki siarkowe formowane podczas fermentacji

- SO_2, dwutlenek siarki
- tiole, jak np. H_2S, metanetiol (H_3C-SH), etanetiol H_2C-$(SH)_2$
- tioestry, jak: metylo-tio-octan CH_3-S-CO-R oraz etylo-tiooctan CH_3-CH_2-S-CO-R
- siarczki, tj. siarczek dwumetylu, DMS: H_3C-S-CH_3

Próg wyczuwalności związków siarkowych

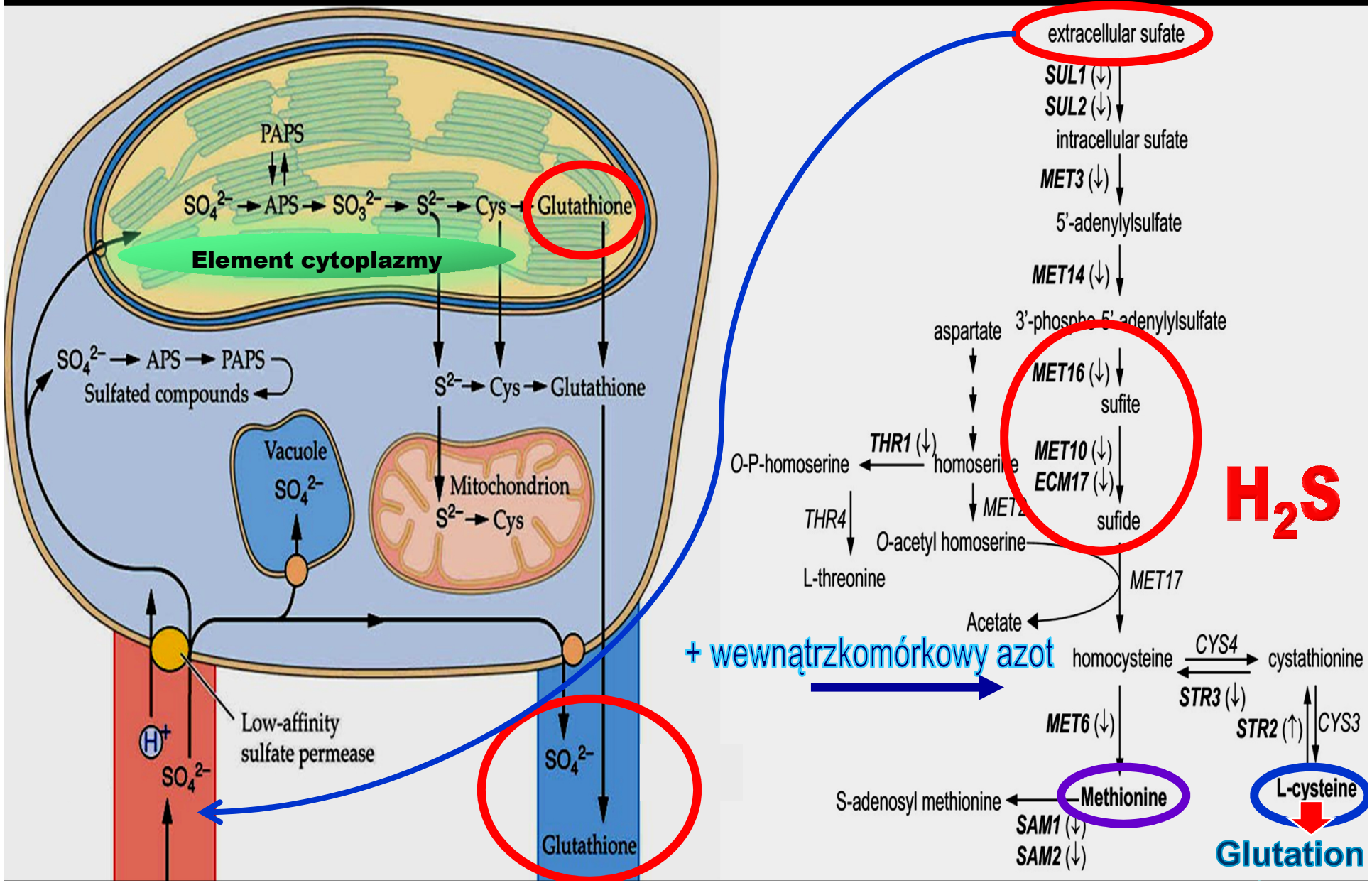
Dwutlenek siarki, SO_2	15 – 30 mg/l →	(ppm)
Siarkowodór, H_2S	1,0 - 5 µg/l →	(ppb)
Siarczek dwumetylu, DMS	20 – 40 µg/l →	(ppb)
Metanetiol, CH_3-SH	0,2 – 0,5µg/l →	(ppb)
3-metyl-2-butene-1-tiol	4 – 50 ng/l →	(ppt)

Poziom związków siarkowych w czasie fermentacji

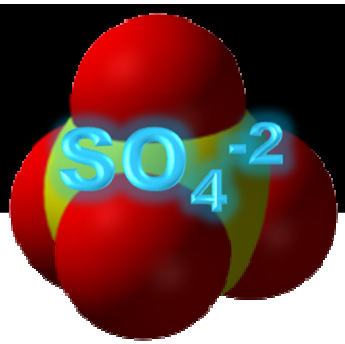
- Wzrast w wyniku:

- niskiego napowietrzania brzeczki,
- ograniczonego wzrostu drożdży,
- spowolnionej fermentacji,
- słabego odprowadzania gazów pofermentacyjnych,
- krótkiego czas magazynowania piwa

Metabolizm siarki w drożdżach



Metabolizm siarczanów



SO_4^{-2} extracellular sufate

SUL1 (↓)
SUL2 (↓)

intracellular sufate

MET3 (↓)

5'-adenylylsulfate

MET14 (↓)

3'-phospho-5'-adenylylsulfa

SO_2

aspartate

MET16 (↓)

sufite

H_2S

THR1 (↓)

O-P-homoserine ← homoserine

MET10 (↓)
ECM17 (↓)

THR4

MET2

sufide

O-acetyl homoserine

L-threonine

MET17

Acetate

homocysteine ⇄ cystathionine

CYS4 →
STR3 (↓) ←

MET6 (↓)

STR2 (↑) ↑ ↓ *CYS3*

S-adenosyl methionine ← **Methionine**

SAM1 (↓)
SAM2 (↓)

L-cysteine

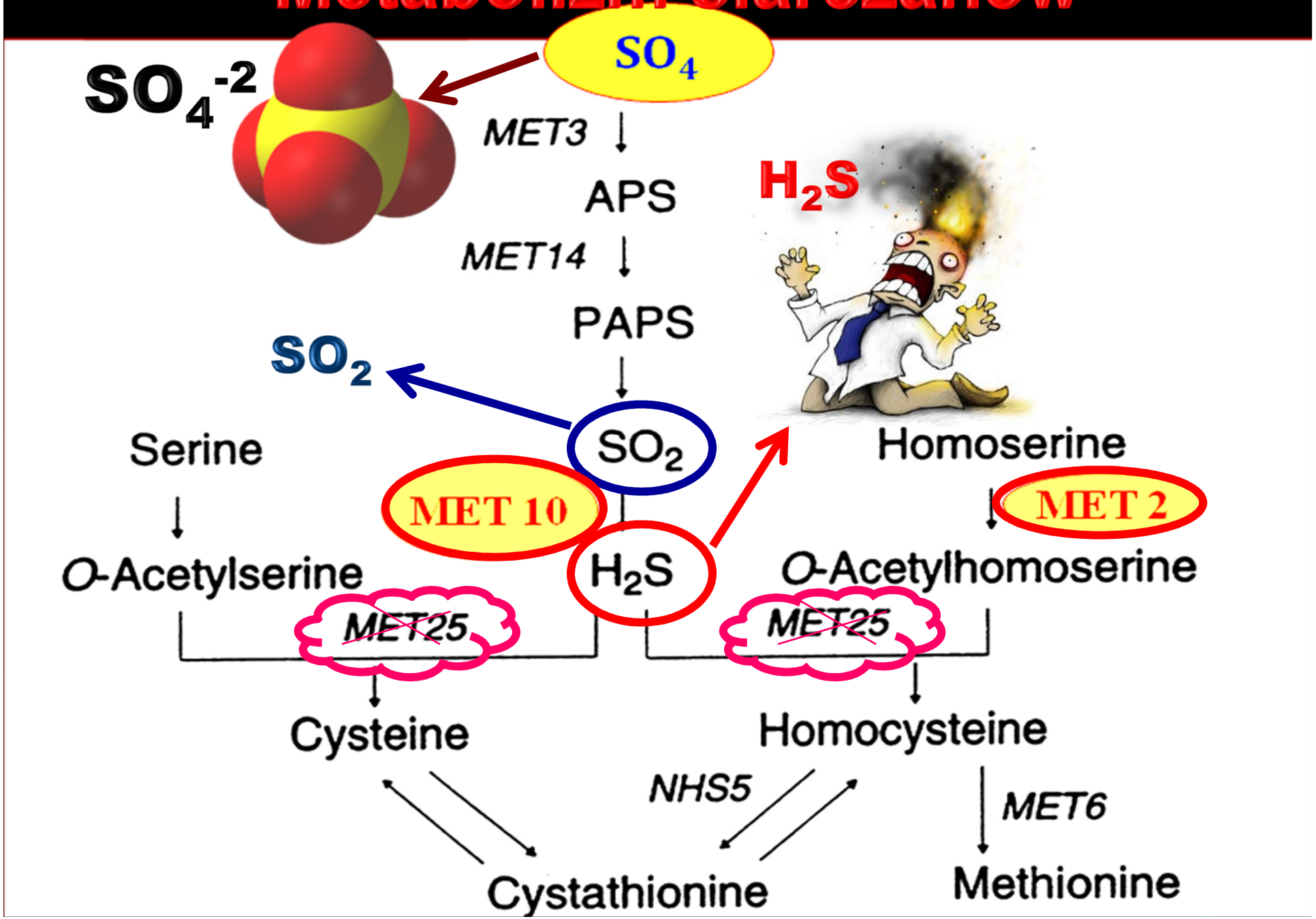
Glutation

Czynniki regulujące poziom SO_2

Wzrost stężenia SO_2 następuje w wyniku:

- słabego napowietrzania brzeczki fermentacyjnej,
- podwyższonego ekstraktu brzeczki (HG), rodzaju i ilości węglowodanów,
- suplementacji brzeczki fermentacyjnej w związki azotowe, a szczególnie w aminokwas asparaginę, metioninę i cysteinę,
- niskiego poziomu lipidów w brzeczce,
- wysokiej temperatury przechowywania drożdży, co obniża wewnątrzkomórkowy glikogen i osłabia stan fizjologiczny komórek lub ... mutacja w genie MET10

Metabolizm siarczanów

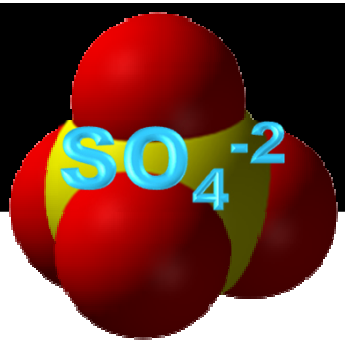


Czynniki regulujące poziom SO_2

Spadek stężenia SO_2 następuje w wyniku:

- dużej zawartości O_2 i lipidów w brzeczce nastawnej,
- burzliwej fermentacji o obniżonej temperaturze początkowej,
- zwiększenie ilości lipidów w brzeczce nastawnej,
- dodatku metioniny, blokującej geny odpowiedzialne za asymilację związków siarkowych (allosteryczna inhibicja),
- zastosowania drożdży z mutacją w genie MET16

Przemiana siarczanów



SO_4^{-2}

extracellular sufate

SUL1 (↓)
SUL2 (↓)

intracellular sufate

MET3 (↓)

5'-adenylylsulfate

MET14 (↓)

3'-phospho-5'-adenylylsulfa

aspartate

~~***MET16*** (↓)~~

sufite

SO_2

THR1 (↓)

O-P-homoserine ← homoserine

MET10 (↓)
ECM17 (↓)

THR4

MET2

sufide

O-acetyl homoserine

L-threonine

MET17

Acetate

homocysteine ⇄ cystathionine

CYS4

STR3 (↓)

STR2 (↑) ⇅ ***CYS3***

MET6 (↓)

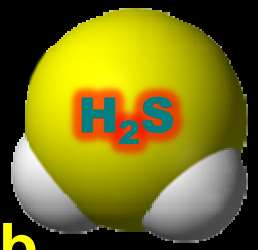
L-cysteine

S-adenosyl methionine ← **Methionine**

SAM1 (↓)
SAM2 (↓)

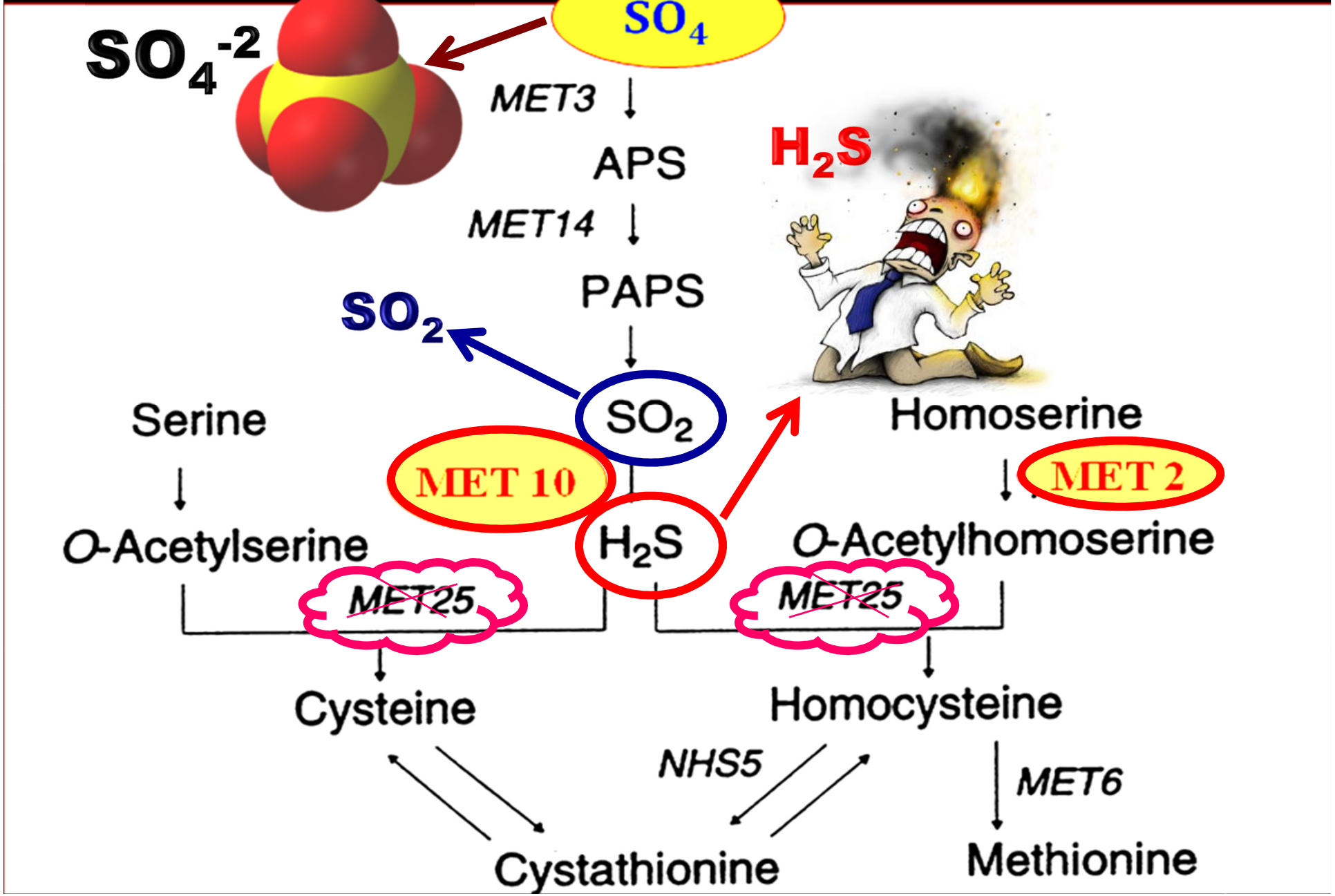
Czynniki regulujące poziom H_2S

- **Wzrost H_2S następuje w wyniku:**



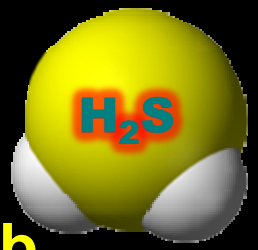
- **niedostatecznego natlenienie brzeczki,**
- **suplementacji brzeczki wolną cysteiną, lub aminokwasami niesiarkowymi, jak treoniną i glicyną,**
- **użycia drożdży z amplifikacją (nadprodukcją) genu MET10 i mutacją w genie MET25 zw. MET17,**
- **niedostatecznej ilości azotu asymilacyjnego w brzeczkach HG,**
- **obecności podwyższonej ilości metali ciężkich, np. Cu^{2+},**
- **infekcji brzeczki bakteriami, np. *Zymomonas, Pectinatus***

Metabolizm siarczanów w drożdżach



Czynniki regulujące poziom H_2S

- **Wzrost H_2S następuje w wyniku:**



- **niedostatecznego natlenienie brzeczki,**
- **suplementacji brzeczki wolną cysteiną, lub aminokwasami niesiarkowymi, jak treoniną i glicyną,**
- **użycia drożdży z amplifikacją (nadprodukcją) genu MET10 i mutacją w genie MET25 zw. MET17,**
- **niedostatecznej ilości azotu asymilacyjnego w brzeczkach HG,**
- **obecności podwyższonej ilości metali ciężkich, np. Cu^{2+},**
- **infekcji brzeczki bakteriami, np. *Zymomonas, Pectinatus***

Czynniki regulujące poziom H_2S

Obniżenie H_2S zachodzi w wyniku zastosowania:

- elektrody miedziowej do eliminacji H_2S, ale nie dwu-siarczki (Cu^{2+} poniżej 1,6 mg/l),
- burzliwej fermentacji (usuwanie H_2S razem z CO_2),
- odpowiednich aminokwasowych suplementów do pożywek, np. metioniny,
- ograniczenia dodatku SO_2 po fermentacji (max. 8 ppm), jeszcze przed filtracją piwa (z obecnością drożdży),
- drożdży z <u>mutacją w genie MET 10</u>

Drogi powstawania DMS

- Sulfotlenek dimetylu, DMSO → DMS (enzymatyczna redukcja; rodzaj drożdży)
  (w słodzie z jęczmienia ozimego)
- DMS jest wydzielany podczas fermentacji, szczgólnie w końcowej fazie wzrostu drożdży,
- Użycie zbyt rozluźnionego słodu i złej metody suszenia,
- Reakcje Maillarda, w tym połączenie glukozy z amino-kwasami siarkowymi

Drogi powstawania DMS

- Zbyt duży stopień namoczenia jęczmienia i jego kiełkowanie powoduje powstawanie DMSO jako prekursora DMS,
- Zbyt długi czas roszenia słodu (szczególnie z jęczmienia ozimego) w podwyższonej temperaturze,
- Zakażenia bakteryjne, np. bakteriami *Enterococcus*, które wytwarzają oprócz siarczku dwumetylu (DMS) siarczek dwuetylu (DES)

Czynniki regulujące poziom DMS

↓ Spadek DMS powoduje wyższa temp. końcowa suszenia słodu (dosuszanie) oraz intensywne gotowanie brzeczki,

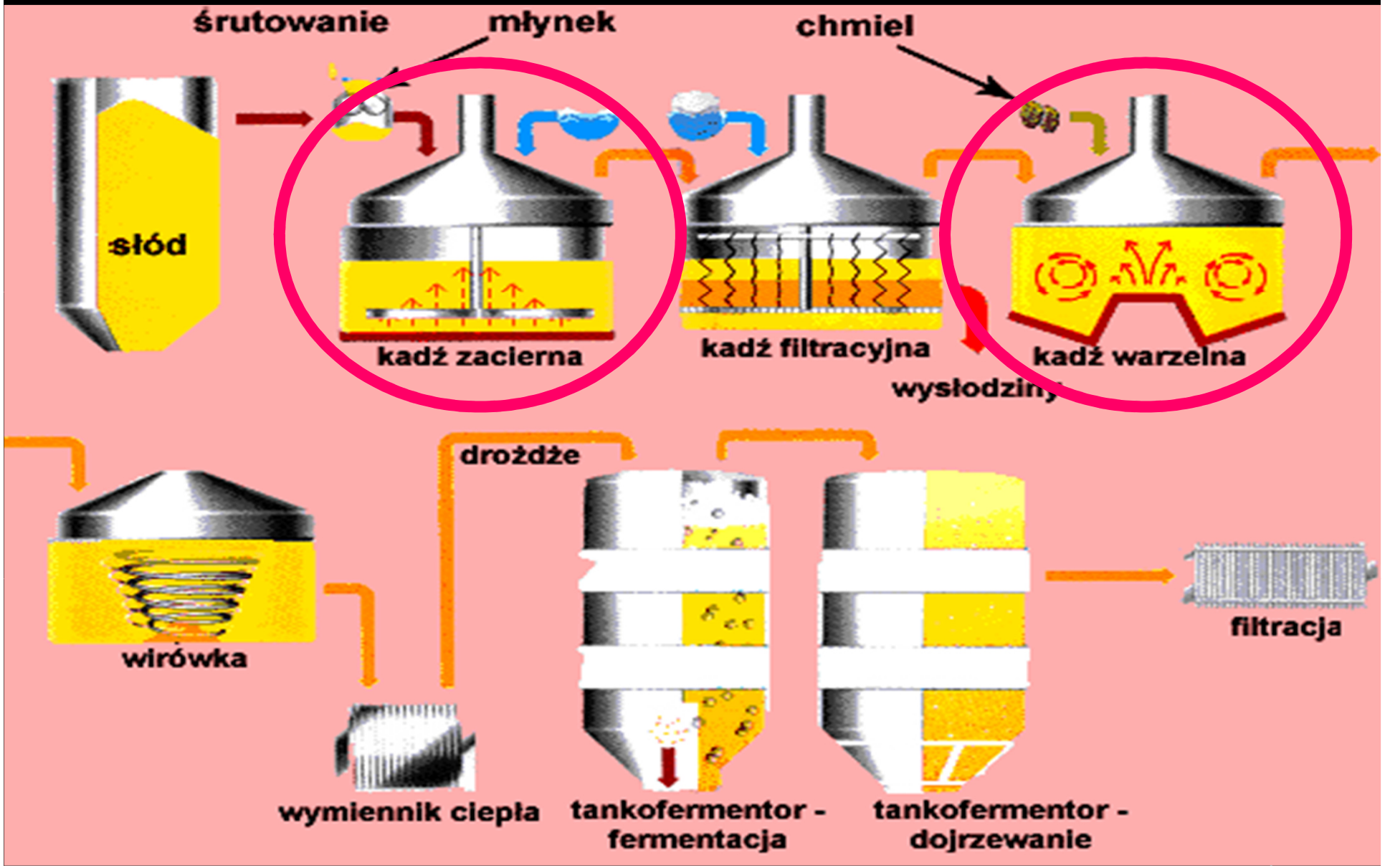
↓ Wzrost temperatury na początku fermentacji zmniejsza znacznie poziom DMS w piwie,

↓ Spadek pH obniża poziom DMS,

↑ Zwiększenie stężenia ekstraktu w brzeczce, szczególnie poprzez dodatek maltozy, powoduje nieproporcjonalny wzrost DMS w piwie,

Związki siarkowe formowane podczas procesu zacierania i warzenia

Klasyczny proces produkcyjny piwa



Lotne związki siarkowe

Związki siarkowe, w tym *Volatile Sulfur Compounds, VSC,* produkowane przez drożdże (na poziomie ppm-ppb):

- **SO_2, dwutlenek siarki,**
- **H_2S produkowany z aminkwasów siarkowych,**
- **Merkaptany o niskim progu wyczuwalności,**
- **Inne tiole, tioestry, tioaldehydy, tioketony,**
- **Siarczki (DMS), wielosiarczki,**
- **Tiotiazole, tiofeny**

Powstawanie DMS

S-metylo-metionina → Metional (heat)

SMM w słodzie

Metional → MTL, CH_3-SH, Metanetiol (heat)

Zapach gotowanej kapusty

leżakowanie

DMS-O → CH_3-S-CH_3 (zacieranie słodu, fermentacja)

DSM, siarczek dwumetylu

Smak i zapach warzywny,

kukurydziany

Powstawania lotnych tioli (VSC)

heat — Reakcje Maillarda — heat

Metionina → **Metional** → **CH_3-SH**

Metanetiol (MTL)

zapach gotowanej kapusty

↓

DSM

acylacja MTL

CH_3-S-S-CH_3

dwusiarczek dwumetylu

lub dwumetylo-trójsiarczek

o zapachu świeżej cebuli, posmak gotowanych jarzyn

CH_3-S-CO-R

metylotiooctan

(tioester)

Powstawania lotnych tioli (VSC) Metanetiol

Metionina $\xrightarrow{\text{dezaminacja}}$ CH_3-SH Metanetiol (MTL)

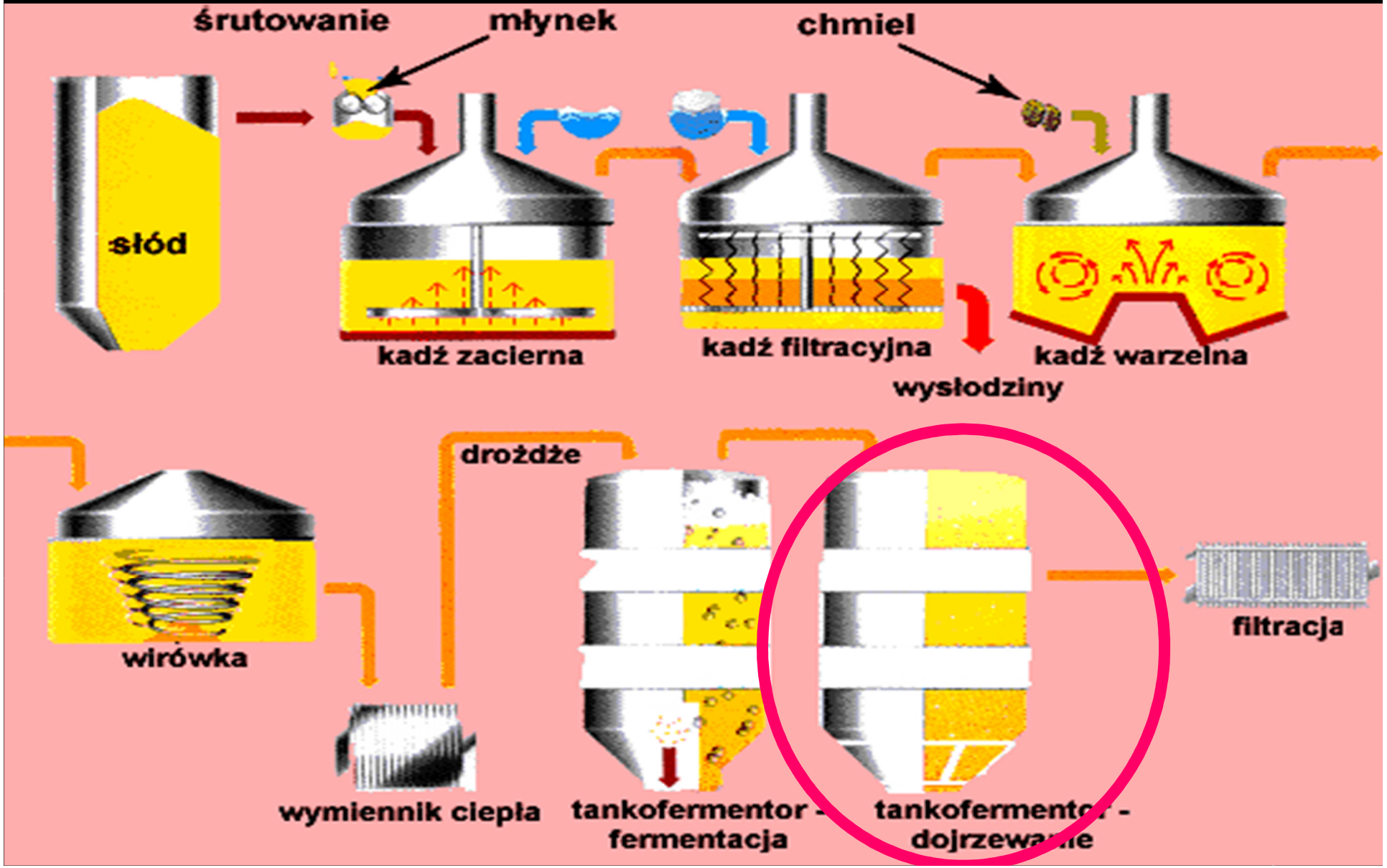
zapach gotowanej kapusty

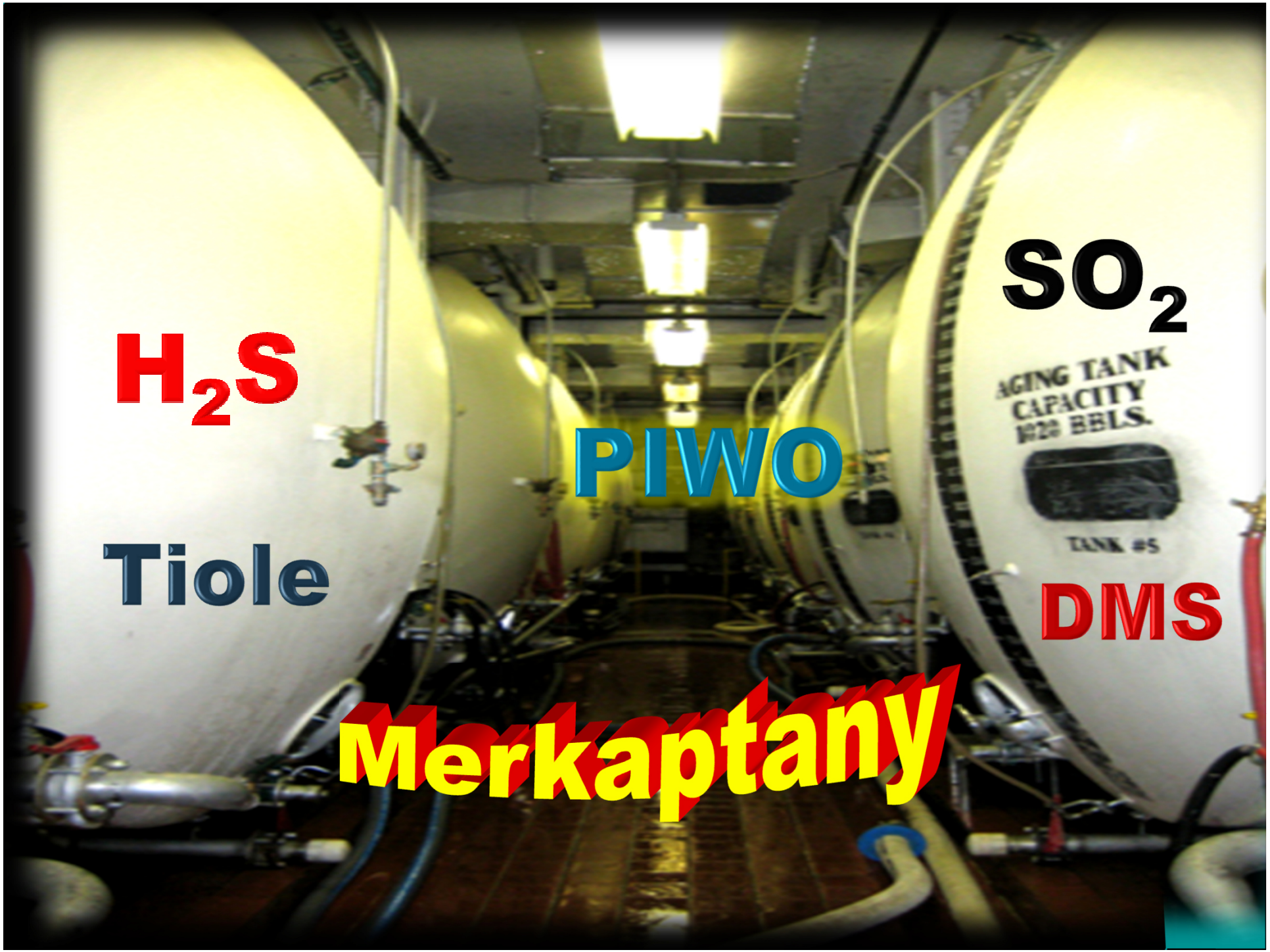
Siarkowodór, H_2S $\xrightarrow{\text{metylacja}}$ CH_3-SH Metanetiol (MTL)

zapach gotowanej kapusty

Związki siarkowe formowane podczas leżakowania piwa

Klasyczny proces produkcyjny piwa




H_2S
PIWO
SO_2
AGING TANK
CAPACITY
BBLS.
TANK #5
Tiole
DMS
Merkaptany

Związki siarkowe formowane podczas leżakowania piwa

- 3-metyl-2-butene-1-tiol: $(CH_3)_2$-C=CH-CH_2-SH

powstaje na skutek ekspozycji piwa na światło z jednoczesną fitolizą izohumulonów z chmielu (zapach „sun-struck”),

- VSC: DMS i wiele innych lotnych związków siarkowch, m.in. SO_2

Wielofunkcyjne tiole w piwie

W piwie „lager“ znaleziono 6 wielofunkcyjnych tioli:

- 3-metylo-2-butano-1-tiol o zapachu cebulowym, słonecznym lub skunksowym, który jest produktem degradacji izohumulonów z chmielu w obecności cysteiny, światła i B_2 ,

- 2-merkaptoetanol (zapach pieczeni)
- 3-merkaptopropanol (zapach pieczeni),
- 2-metylo-3-furantiol (mięsny),
- 3-merkaptoheksanol (owocowy),

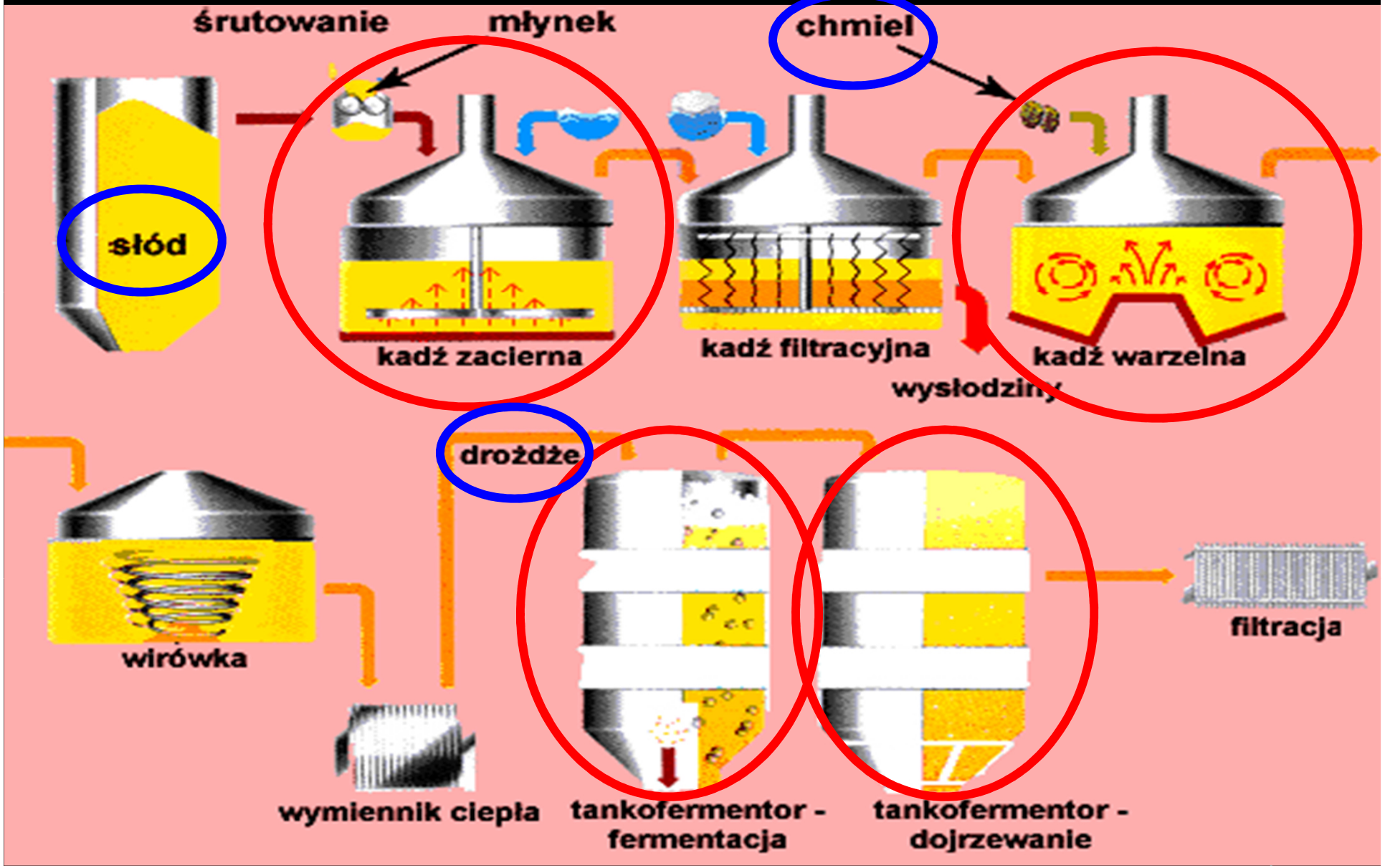
- 4-merkapto-4-metylo-2-pentanon o zapachu „kocim”
- 2-merkapto-3-metylobutanol (zapach cebulowy)

Podsumowanie

Kontrola produkcji związków zapachowych

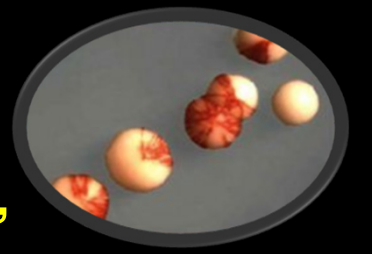
- **Drożdże:**
  - rodzaj szczepu i ich stan fizjologiczny,
  - gęstość i konsystencja drożdży zarodowych,
  - żywotność drożdży (zapach autolizy drożdży),
  - zanieczyszczenia brzeczki obcą mikroflorą
  - źródła aminokwasów siarkowych i tioli
- **Przygotowanie brzeczki:**
  - gęstość, pH, tlen rozpuszczony, zanieczyszenia chemiczne, rodzaj substancji odżywczych dla drożdży
- **Proces fermentacji:**
  - kształt i geometria tanku fermentacyjnego,
  - temperatura i ciśnienie fermentacji
- **Słód i chmiel:**
  - słód modyfikowany, ekstrakt chmielu

Klasyczny proces produkcyjny piwa



Podsumowanie

Kontrola produkcji związków zapachowych



- **Drożdże:**

- rodzaj szczepu i ich stan fizjologiczny,

- gęstość i konsystencja drożdży zarodowych,

- żywotność drożdży (zapach autolizy drożdży),

- zanieczyszczenia brzeczki obcą mikroflorą,

- drożdże jako źródła aminokwasów siarkowych

- **Przygotowanie brzeczki:**

zacieranie, warzenie, gęstość, pH, tlen rozpuszczony, związki chemiczne, rodzaj substancji odżywczych dla drożdży

- **Proces fermentacji:**

- kształt i geometria tanku fermentacyjnego,

- temperatura i ciśnienie fermentacji

- **Słód i chmiel:**

słód modyfikowany, ekstrakt chmielu

Podsumowanie

Kontrola produkcji związków zapachowych

Drożdże:
produkcja związków siarkowych zależy od:

- rodzaju szczepu i jego stanu fizjologicznego
- gęstości i konsystencji drożdży zarodowych
- żywotności drożdży (bez efektów autolizy drożdży)
- zanieczyszczenia brzeczki obcą mikroflorą
- drożdży bogatych w aminokwasy siarkowe

Podsumowanie

Dobry stan fizjologiczny drożdży browarniczych:

- obniża poziom siarczynów, a następnie H_2S, tj. substancji niekorzystnych dla smaku piwa,
- podwyższona gęstość drożdży zarodowych obniża zawartość siarczynów w brzeczce podczas procesu fermentacji,
- drożdże cechujące się podwyższonym poziomem trehalozy, glikogenu i glutationu wpływają na spadek związków siarkowych w brzeczce oraz w piwie,

Produkcja lotnych tioli przez drożdże

Szczep drożdży	H_2S, µg/l	Metanetiol, µg/l	Metylotiooctan µg/l	DMS, µg/l
S. cerevisiae BBYC 118	32,80	0,34	3,70	10,00
S. cerevisiae BBYC 121	1,70	0,05	25,20	13,00
S. cerevisiae BBYC 131	10,30	0,22	35,10	7,00
S. cerevisiae BBYC 114	≤ 0,20	≤ 0,05	≤ 0,10	11,00
S. cerevisiae BBYC 138	≤ 0,20	≤ 0,05	≤ 0,10	9,00

Podsumowanie

Kontrola produkcji związków zapachowych

- **Drożdże:**

- rodzaj szczepu i ich stan fizjologiczny,

- gęstość i konsystencja drożdży zarodowych,

- żywotność drożdży (zapach autolizy drożdży),

- zanieczyszczenia brzeczki obcą mikroflorą

- źródła aminokwasów siarkowych i tioli

- **Przygotowanie brzeczki:**

zacieranie, warzenie, gęstość, pH, tlen rozpuszczony,

związki chemiczne, rodzaj substancji odżywczych dla drożdży

- **Proces fermentacji:**

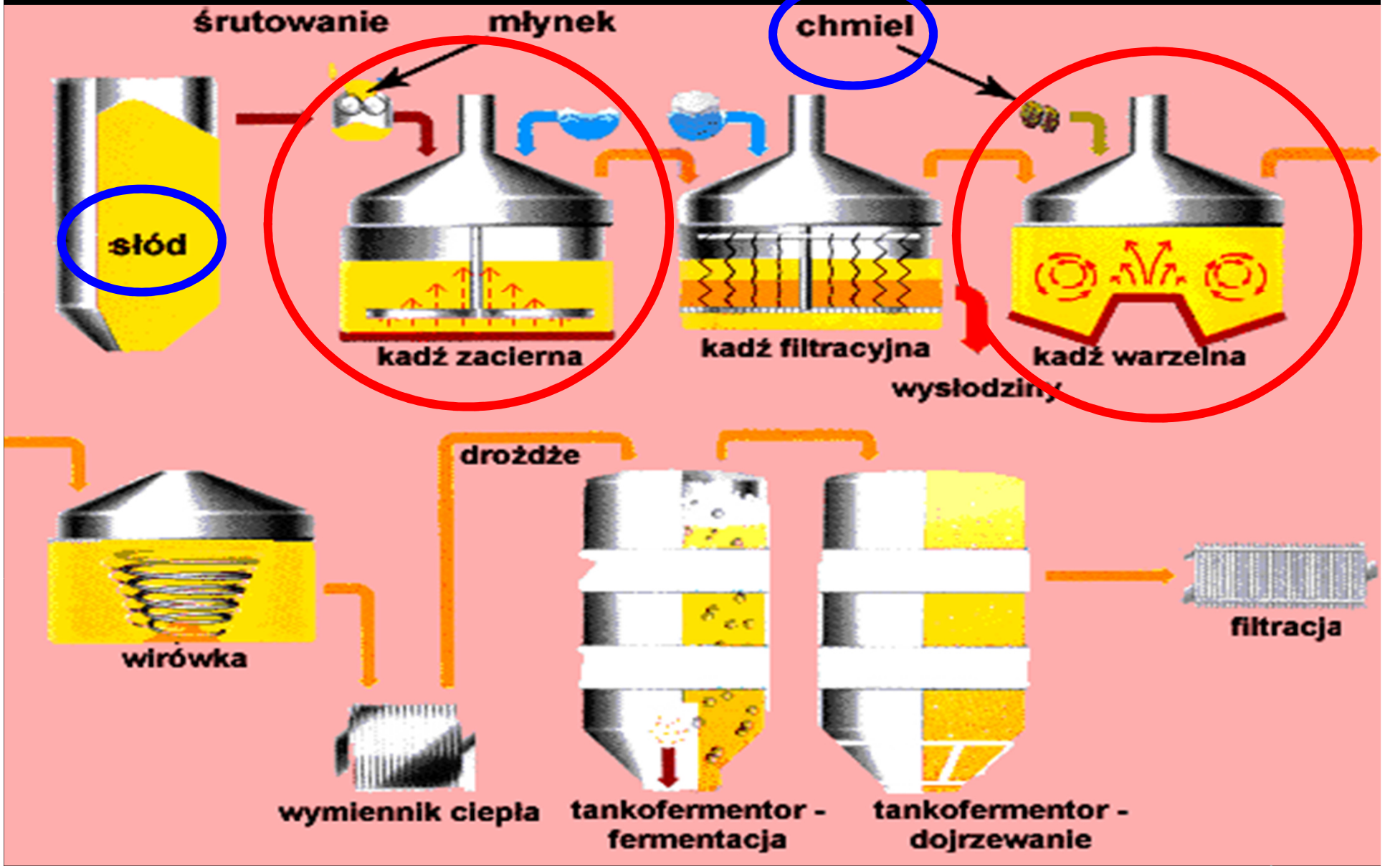
- kształt i geometria tanku fermentacyjnego,

- temperatura i ciśnienie fermentacji

- **Słód i chmiel:**

słód modyfikowany, ekstrakt chmielu

Klasyczny proces produkcyjny piwa



Podsumowanie

Operacje cieplne - powstawania lotnych tioli, VSC

heat Reakcje Maillarda heat

Metionina → **Metional** → **CH_3-SH**

Metanetiol (MTL)

→

zapach gotowanej kapusty

DSM

acylacja MTL

CH_3-S-S-CH_3

dwusiarczek dwumetylu

lub dwumetylo-trójsiarczek

o zapachu świeżej cebuli, posmak gotowanych jarzyn

CH_3-S-CO-R

metylotiooctan

(tioester)

Podsumowanie

Kontrola produkcji związków zapachowych

- **Drożdże:**

- rodzaj szczepu i ich stan fizjologiczny,

- gęstość i konsystencja drożdży zarodowych,

- żywotność drożdży (zapach autolizy drożdży),

- zanieczyszczenia brzeczki obcą mikroflorą

- źródła aminokwasów siarkowych i tioli

- **Przygotowanie brzeczki:**

zacieranie, warzenie, gęstość, pH, tlen rozpuszczony,

związki chemiczne, rodzaj substancji odżywczych dla drożdży

- **Proces fermentacji:**

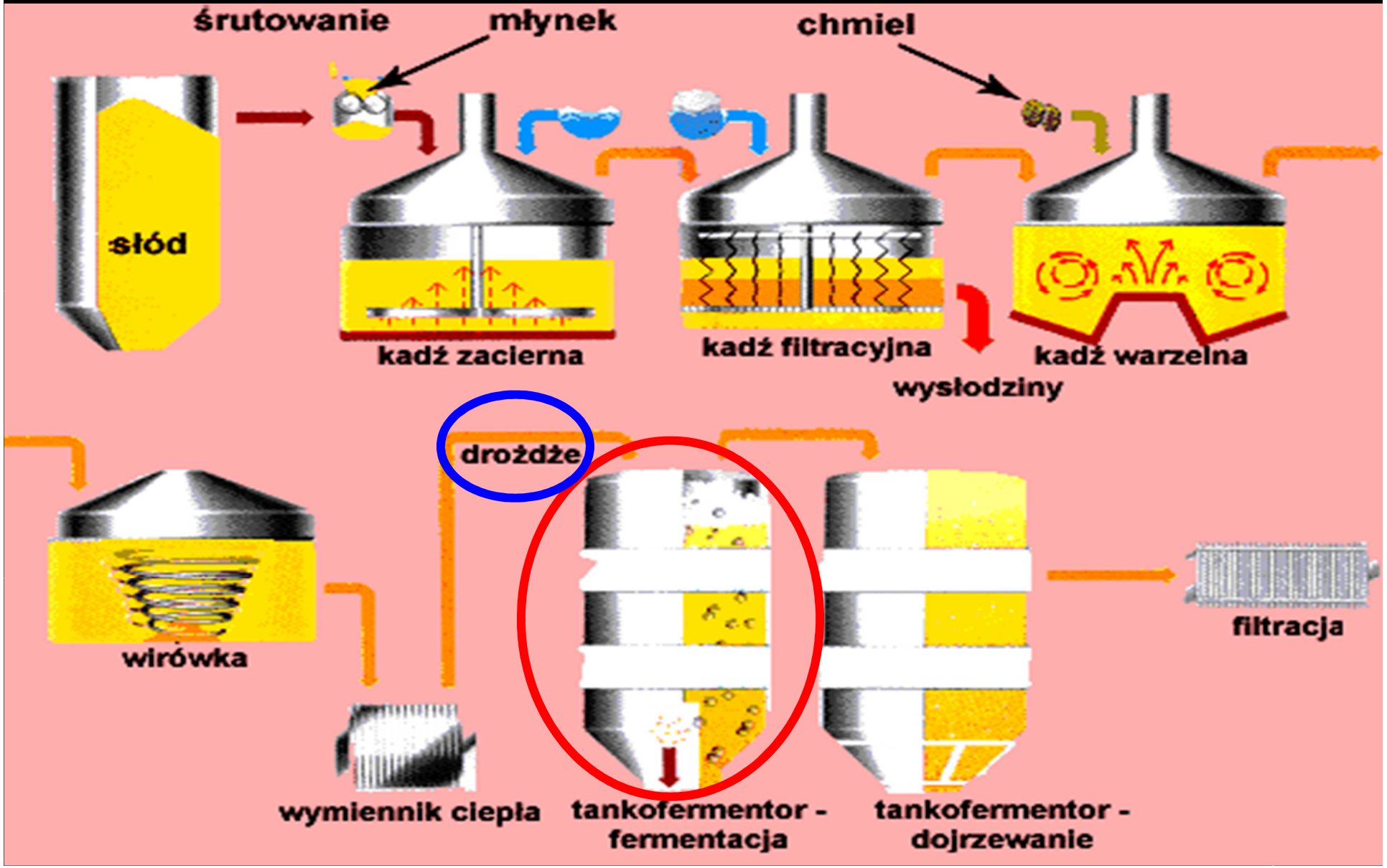
- kształt i geometria tanku fermentacyjnego,

- temperatura i ciśnienie fermentacji

- **Słód i chmiel:**

słód modyfikowany, ekstrakt chmielu

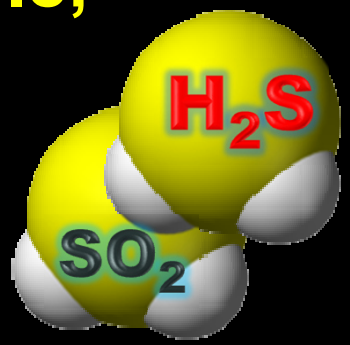
Klasyczny proces produkcyjny piwa



Podsumowanie

Podwyższenie natleniania brzeczki

- Wyższe alkohole,
- Estry
- SO_2, H_2S
- Aldehyd octowy
- Dwuacetyl



Podsumowanie

Podwyższenie temperatury fermentacji powoduje

- ↑ SO_2

- ↑ Aldehyd octowy
- ↑ Wyższe alkohole
- ↑ Estry
- ↑ Dwuacetyl (zależnie od flokulacji)

Podsumowanie

Podwyższenie ciśnienia w kadzi fermentacyjnej powoduje spadek wzrostu drożdży

- ↑ Rozpuszczony CO_2
- ↑ Aldehyd octowy i dwuacetyl
- ↑ Siarkowodór i inne tiole
- ↓ Estry
- ↓ Wyższe alkohole

Podsumowanie

Stres oksydacyjny powoduje ujemne zmiany w:

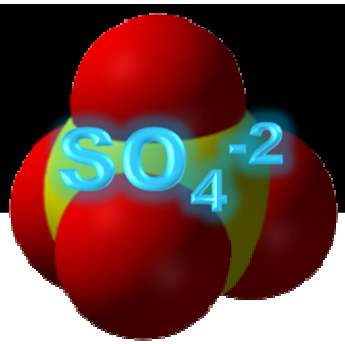
- genotypie komórki drożdży, np. zakłócenia w syntezie DNA oraz mutacje w genach kodujących enzymy dla glutationu, jak GPx,
- w strukturze przestrzennej, w budowie oraz w funkcjonowaniu białek i lipidów komórek drożdży (peroksydacje) ,
- w metabolizmie związków siarkowych

Podsumowanie

Prewencja stresu oksydacyjnego

Jednym ze sposobów ograniczania ujemnych efektów stresu oksydacyjnego jest wybór odpowiednich szczepów drożdży opracowanych w wyniku specyficznej strategii w zakresie genomiki i proteomiki, np. otrzymanie mutantów w genach MET16 i MET10 lub z amplifikacją genów MET17 zw. MET25

Metabolizm siarczanów



SO_4^{-2} extracellular sufate

SUL1 (↓)
SUL2 (↓)

intracellular sufate

MET3 (↓)

5'-adenylylsulfate

MET14 (↓)

3'-phospho-5'-adenylylsulfa

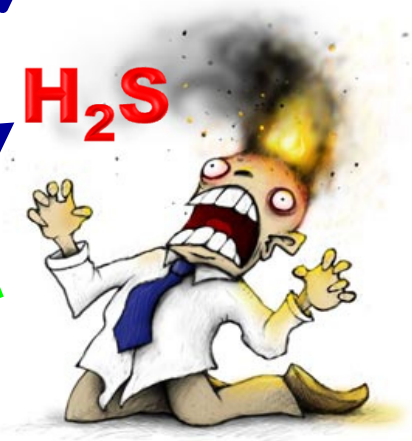
SO_2

aspartate

MET16 (↓)

sufite

H_2S



THR1 (↓)

O-P-homoserine ← homoserine

MET10 (↓)
ECM17 (↓)

THR4

MET2

sufide

O-acetyl homoserine

L-threonine

MET17

Acetate

homocysteine ⇄ cystathionine

CYS4 →
STR3 (↓) ←

MET6 (↓)

STR2 (↑) ↑ ↓ *CYS3*

S-adenosyl methionine ← **Methionine**

SAM1 (↓)
SAM2 (↓)

L-cysteine

Glutation

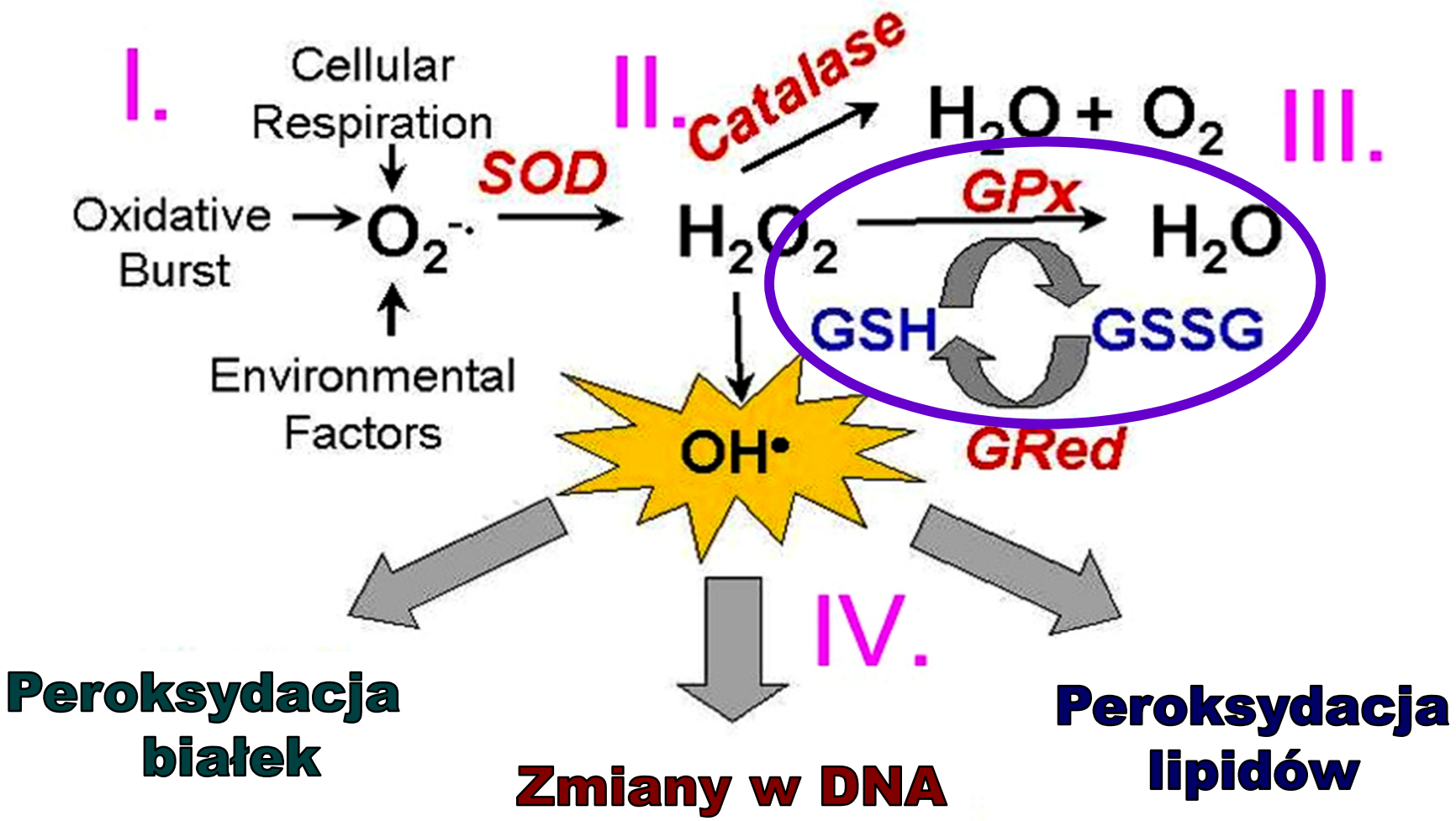
Podsumowanie

Prewencja stresu oksydacyjnego

Kolejnym sposobem ograniczania ujemnych efektów stresu oksydacyjnego jest wybór odpowiednich szczepów drożdży opracowanych w wyniku specyficznej strategii w zakresie genomiki i proteomiki, np. otrzymanie mutantów z amplifikacją genów peroksydazy glutationu

Podsumowanie

Prewencja stresu oksydacyjnego



by G.P.Eckert
www.biozentrum.uni-frankfurt.de/Pharmakologie/index.html

Podsumowanie

Kontrola produkcji związków zapachowych

- **Drożdże:**

- rodzaj szczepu i ich stan fizjologiczny,

- gęstość i konsystencja drożdży zarodowych,

- żywotność drożdży (zapach autolizy drożdży),

- zanieczyszczenia brzeczki obcą mikroflorą

- źródła aminokwasów siarkowych i tioli

- **Przygotowanie brzeczki:**

zacieranie, warzenie, gęstość, pH, tlen rozpuszczony,

związki chemiczne, rodzaj substancji odżywczych dla drożdży

- **Proces fermentacji:**

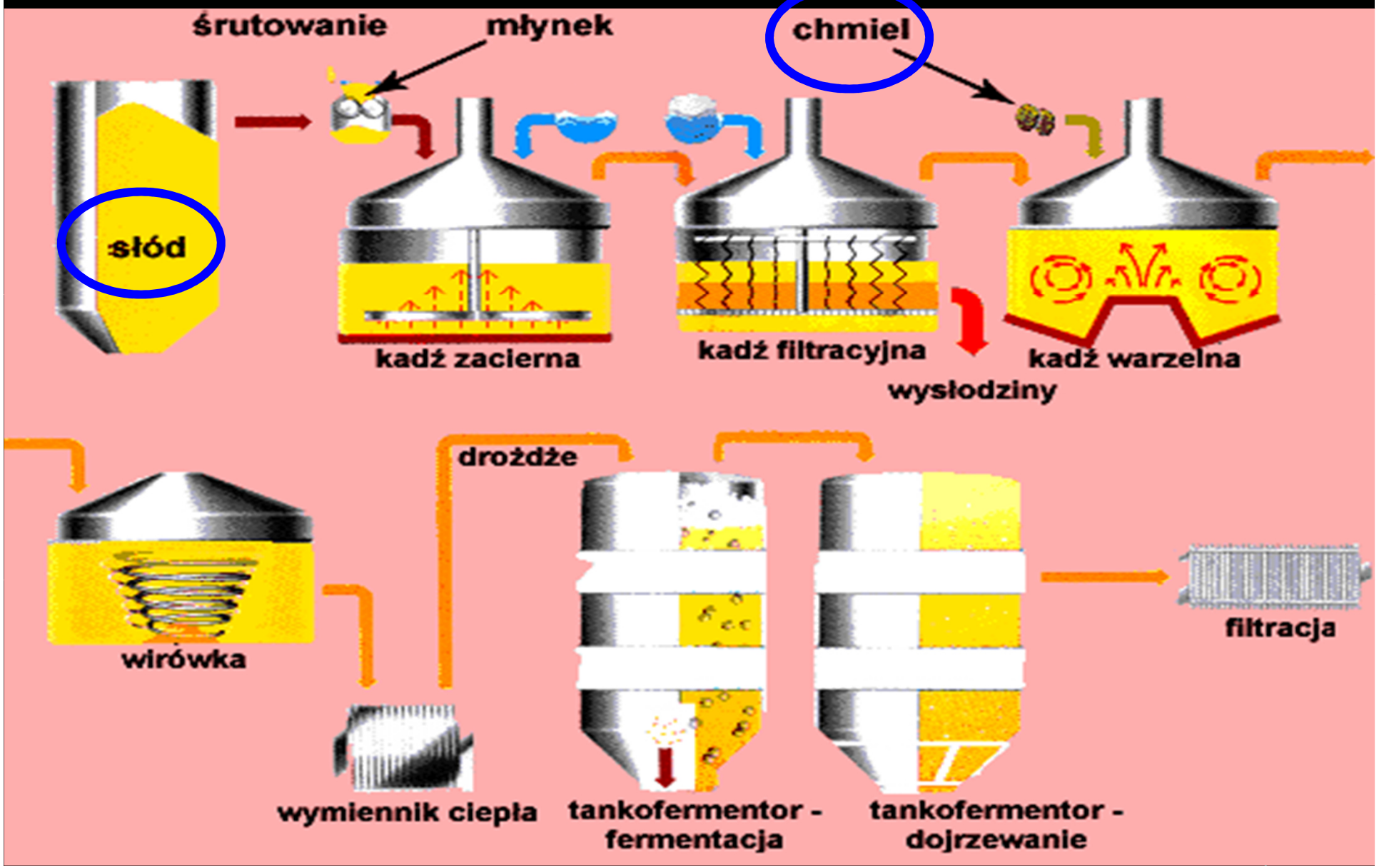
- kształt i geometria tanku fermentacyjnego,

- temperatura i ciśnienie fermentacji

- **Słód i chmiel:**

słód modyfikowany, ekstrakt chmielu

Klasyczny proces produkcyjny piwa



Źródła związków siarkowych

- **Słód:** źródło aminokwasów siarkowych, witamin, jak biotyna i tiamina oraz VSC: DMS, SMM, DMSO

- **Chmiel:** zdegradowane izohumulony reagują z tiolami, produkując, wielofunkcyjne tiole lub metylotiooctan (CH_3-S-CO-R, tioester)

Związki siarkowe formowane podczas całego procesu produkcji piwa

Składnik	Zapach	Próg wyczuwalności	Prekursor	Końcowe stężenie
SO_2	palących się zapałek	25 ppm	SO_4^{-2}, SO_3^{-2}	200 ppb
Tiole: - H_2S - MLT	- zepsutych jaj, - gotowanej kapusty	5 – 10 ppb 2 ppb	SO_4^{-2}, cysteina metionina	0,5–20 ppb nie znane
Wielofunkcyjne tiole/merkaptany: - 3-Metylo-2-butano-1-tiol	- cebulowy, skunksa	1 – 100 ppt	chmiel+B_2+ cysteina+ UV	nie badano
Siarczki: - DMS - DMDS	- kapuściany, - gotowanej kapusty	30 ppb 3 – 50 ppb	SMM MLT	5 – 90 ppb 0,3–1,5 ppb
Tioestry: - metylotiooctan - etylotiooctan	- got. warzyw - kapuściany	pow. 100 ppb 0,8 – 3,5 ppb	MLT i Ac-CoA nie znany	3 – 8 ppb 40 ppb

PROFESOR UPIJA SIĘ DLA NAUKI...
Upija się? Zasiarkowanym piwem ??
Zapach „koci“ ????

Pachnie jak dobre piwo!?
Tak, prawie jak dobre piwo!?

Dziękuję za uwagę !

KONIEC PREZENTACJI!