

## **PORÓWNANIE CIĄGLYCH FERMENTACJI WINIARSKICH PROWADZONYCH Z UŻYCIEM DWÓCH SZCZEPÓW DROŻDŻY IMMOBILIZOWANYCH NA SZKLE PIANKOWYM**

Sylwia Bonin, Wiesław Wzorek

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

**Streszczenie.** Celem pracy było porównanie dwóch immobilizowanych szczepów drożdży zastosowanych w ciągłej fermentacji winiarskiej. W doświadczeniu wykorzystywano polecany w literaturze do fermentacji ciągłej szczep *S. bayanus* S.o./1 (dawna nazwa *S. oviformis* rasy Bratislava) oraz uzyskany w Zakładzie Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności SGGW szczep *Saccharomyces bayanus* S.o./1AD. Drożdże unieruchamiano na kostkach szkła piankowego. Fermentację prowadzono przez 3,5 miesiąca w 4-kolumnowym fermentorze, w temp. 22°C. Stosowano, dosładzane sacharozą, wysokocukrowe nastawy (ok. 320 g·dm<sup>-3</sup> cukrów ogółem) z 70-procentowym udziałem soku jabłkowego. Stwierdzono, że celowe jest stosowanie drożdży *S. bayanus* S.o./1AD w długotrwałej, ciągłej fermentacji winiarskiej, ponieważ szczep ten umożliwia otrzymanie wyższego o ok. 1% obj. stężenia alkoholu i wyższej wydajności fermentacji w porównaniu ze szczepem S.o./1. Od drugiego tygodnia pracy fermentora wydajność fermentacji w przypadku zastosowania pierwszego szczepu wynosiła 93-96%, a drugiego 91-94%. W czasie pracy fermentora stwierdzano także zmiany zawartości innych składników wina.

**Słowa kluczowe:** drożdże immobilizowane, fermentacja ciągła, wino, szkło piankowe

### **WSTĘP**

Linia ciągłej (potokowej) fermentacji moszczu składa się zwykle z kilku szeregowo połączonych tanków lub z jednego fermentora podzielonego na kilka sekcji. Moszcz podawany do pierwszego tanku ze zbiornika zasilającego, przepływając przez kolejne tanki ulega fermentacji i jako młode wino gromadzi się w zbiorniku [Wzorek i Pogorzelski 1998].

W latach 80. zainteresowano się wykorzystaniem w procesach fermentacji ciągłej unieruchomionych (immobilizowanych) komórek drożdży. Jednak niewiele jest publikacji donoszących o użyciu komórek immobilizowanych w fermentacji winiarskiej.

---

Adres do korespondencji – Corresponding author: dr Sylwia Bonin, Zakład Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności Szkoły Główny Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, ul. Nowoursynowska 169C, 02-776 Warszawa, e-mail: bonin@delta.sggw.waw.pl

Bardi i Koutinas [1994] podają, że taka fermentacja ma specyficzne wymagania: końcowa zawartość alkoholu powinna wynosić co najmniej 11,5% obj., a nośnik powinien być odporny na alkohol i nie powodować zmian jakości produktu. Jako nośnik w badaniach dotyczących fermentacji alkoholowych stosowane są najczęściej żele alginianowe. Jednak w kwaśnym środowisku (moszcz, wino) tracą one swe właściwości mechaniczne, a po dłuższym czasie mogą ulegać destrukcji, co uniemożliwia ich powtórne wykorzystanie [Malik i in. 1993]. Alginyan może również wpływać niekorzystnie na cechy sensoryczne otrzymywanego wina [Bakoyianis i in. 1998]. Ponadto w wypadku zastosowania kuleczek żelu w celu zapewnienia właściwego przepływu i usuwania powstającego CO<sub>2</sub> najczęściej są stosowane (w skali laboratoryjnej) reaktory fluidyzacyjne, w których dzięki ciągłemu mieszaniu złoża kuleczki się nie zbijają [Núñez i Lema 1987]. Zastosowanie drożdży immobilizowanych w żelach do ciągłej fermentacji winiarskiej w przemyśle budzi zatem wątpliwości. Lepszym rozwiązaniem wydają się nośniki stałe, np. kissiris, będący rodzajem pumeksu [Argiriou i in. 1996, Bakoyianis i in. 1992, 1997] czy szkło piankowe [Wzorek i in. 2000 a, b]. Tego typu nośniki wykorzystywane były także w krajowych badaniach nad unieruchamianiem enzymów [Łoborzewski i Paszczyński 1983, Wojtaś-Wasilewska i in. 1988] oraz do immobilizacji grzybni *Aspergillus niger* wykorzystywanej do biosyntezy enzymów [Łoborzewski i Fiedurek 1990, Fiedurek i Ilczuk 1991, Fiedurek i in. 1992].

W procesach ciągłych, obok zastosowanego rozwiązania technologicznego, duże znaczenie ma dobór właściwego szczepu drożdży. Drożdże te powinny silnie fermentować moszcz przy wysokiej zawartości alkoholu w środowisku oraz rozmnażać się przy stosunkowo wysokich stężeniach zarówno alkoholu, jak i cukru. Ponadto szybkość fermentacji nie może być hamowana obecnością metabolitów, a inokulum drożdży powinno wykazywać stałe wartości w celu zachowania stałości i jednorodności procesu [Lipiec 1969]. Lipiec [1996] do ciągłej fermentacji winiarskiej z komórkami „wolnymi” poleca drożdże *Saccharomyces oviformis* rasy Bratislava 1. Przydatność tych drożdży została potwierdzona w skali technicznej [Lipiec i Krawczyk 1971].

Z wyżej wymienionego szczepu (w publikacji dalej nazywanym *S. bayanus* S.o./1) w Zakładzie Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności SGGW, poprzez sterowaną selekcję, otrzymano szczep S.o./1AD. Wykazano, że w wypadku fermentacji periodycznej jest on bardziej odporny na stosunkowo wysokie stężenie cukrów i alkoholu niż szczep S.o./1 [Bugajewska i Wzorek 2000].

Celem pracy było porównanie dwóch immobilizowanych szczepów drożdży zastosowanych w ciągłej fermentacji winiarskiej. W doświadczeniu wykorzystywano polecany w literaturze do fermentacji ciągłej szczep *S. bayanus* S.o./1 oraz uzyskany w badaniach własnych szczep *Saccharomyces bayanus* S.o./1AD.

W pracy założono prowadzenie procesu przez możliwie długi czas, z użyciem drożdży unieruchomionych na szkle piankowym i stosowanie nastawów wysokocukrowych.

## MATERIAŁY I METODY

W doświadczeniu stosowano drożdże *Saccharomyces bayanus* S.o./1AD (4 serie) oraz *S. bayanus* S.o./1 (2 serie), pochodzące z Kolekcji Czystych Kultur Zakładu Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności SGGW.

Drożdże unieruchamiano na szkle piankowym (kostki o wymiarach ok.  $1 \times 1 \times 1$  cm). Stosowano nastawy wysokocukrowe (ok.  $320 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$  cukrów ogółem). Nastaw zawierał 70% soku jabłkowego, odtworzonego z koncentratu, a końcowe stężenie cukrów uzyskiwano dosładzając cukrem konsumpcyjnym. Nastawy wzbogacano w pożywkę azotową w postaci wodorooortofosforanu(V)diamonu  $[(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4]$  w ilości  $0,5 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$ . W celu przeciwdziałania rozwojowi szkodliwej mikroflory w czasie fermentacji nastawy sulfitowano, stosując dodatek disiarczuanu(IV)potasu  $[\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_5]$  w takiej ilości, by końcowa zawartość  $\text{SO}_2$  w nastawie wynosiła ok.  $80 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ . Fermentację ciągłą prowadzono w 4-kolumnowym zestawie o objętości roboczej ok.  $2,5 \text{ dm}^3$ , w temp.  $22^\circ\text{C}$ . Czas nieprzerwanej pracy fermentora wynosił 3,5 miesiąca. Czas przepływu przez zestaw (fermentor) wynosił 5,5 dnia, czyli tyle trwała faktycznie fermentacja wina.

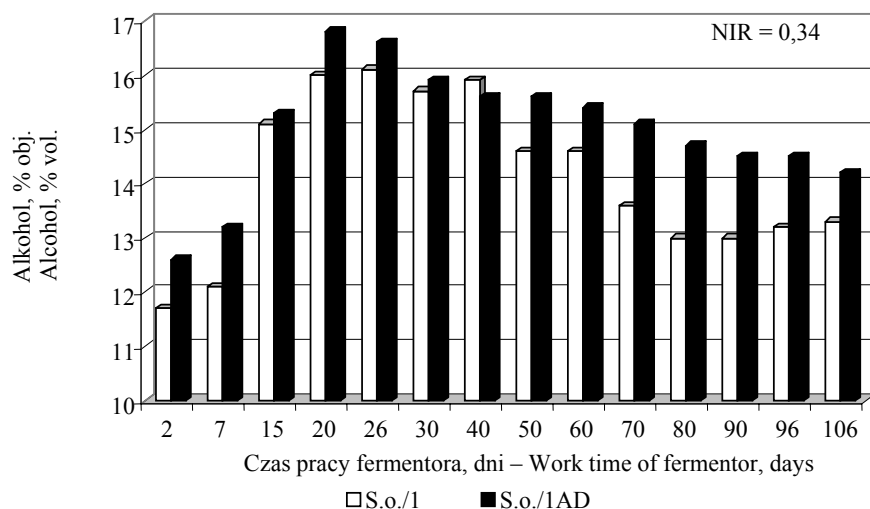
W czasie pracy fermentora prowadzono analizę otrzymanywanego wina. Oznaczano m.in. zawartość: alkoholu, kwasowość lotną i ogólną zgodnie z PN-90/A-79120, zawartość cukrów ogółem i cukrów bezpośrednio redukujących metodą Luffa-Schoorla [Krełowska-Kułas 1993], azot ogółem metodą Kjeldahla oraz azot aminokwasowy metodą formolową. Wyliczano także wydajność fermentacji w stosunku do teoretycznej, podając wynik w procentach oraz obliczano produktywność objętościową, którą wyrażano jako gramy wytworzonego etanolu w przeliczeniu na  $1 \text{ dm}^3$  wina na dobę. Większość wyników poddano analizie statystycznej wykorzystując program komputerowy Statgraphics Plus. Stosowano wieloczynnikową analizę wariancji przy  $\text{PI} = 0,05$ , a najmniejszą istotną różnicę (NIR) określano wg. Tukeya (jako HSD). W wypadku, gdy wartość poziomu istotności (sig. level) była wyższa od 0,05 podawano empiryczną wartość PI.

## WYNIKI I Dyskusja

Za początek pracy fermentora przyjęto piąty dzień od włączenia zasilania, ponieważ w ciągu tego okresu nastąpiło wypłynięcie medium („matki drożdżowej”) stosowanego do uruchomienia fermentacji.

Przez pierwsze 3 tygodnie pracy fermentora następował stopniowy wzrost zawartości alkoholu w winie (rys. 1). W doświadczeniu z drożdżami *S. bayanus* S.o./1AD w drugim dniu pracy fermentora stwierdzono średnio 12,6% obj. alkoholu, a w 20 dniu – 16,8% obj. W wypadku zastosowania szczepu S.o./1 zawartość ta wynosiła odpowiednio 11,7 i 16,1% obj. W 106 dniu pracy fermentora w wypadku pierwszego szczepu otrzymywano wino o mocy 14,1% obj., a drugiego – 13,3% obj. alkoholu (NIR 0,34).

Należy przy tym zaznaczyć, że w doświadczeniu, ze względu na utrzymanie aktywności życiowej drożdży przez możliwie długi czas, celowo pozostawiano „cukry resztkowe” (nie starano się uzyskiwać maksymalnego stężenia alkoholu w winie). W fermentacji ciągłej poprzez zmianę ilości moszczu dostarczanego do fermentora – zmianę szybkości przepływu, można w pewnym stopniu wpływać na skład wina i w ten sposób regulować zawartość cukrów pozostających w produkcie [Wzorek i Pogorzelski 1998]. Nasze wcześniejsze badania wykazały, że istnieje zależność pomiędzy szybkością przepływu a zawartością alkoholu w winie (w pewnych granicach). Zwiększenie przepływu powoduje obniżenie zawartości alkoholu w winie, a współczynnik korelacji równy  $-0,9846$  świadczy o dużym stopniu zależności między tymi wielkościami [Wzorek i in. 2000 a].



Rys. 1. Wpływ szczepu drożdży na zawartość alkoholu w winie w czasie pracy fermentora  
 Fig. 1. Influence of yeast strain on alcohol content in wine during the work time of fermentor

W wypadku obu szczepów drożdży zawartość cukrów ogółem (zużycie) odpowiadała ilości uzyskiwanego etanolu w winie (tab. 1, 2).

Na podstawie stężenia otrzymywanego alkoholu oraz ilości zużytego cukru wyliczono wydajność fermentacji. Stwierdzono, że szczep S.o./1AD okazał się bardziej efektywny w procesie fermentacji ciągłej w porównaniu z S.o./1. Siódmego dnia pracy fermentora w wypadku drożdży S.o./1AD wydajność ta wynosiła 86%, a dla S.o./1 – 81% (rys. 2). W 15 dniu pracy stwierdzono jej wzrost do odpowiednio 93 i 91%. Po tym okresie wydajność fermentacji kształtowała się w zakresie 93-96% w wypadku S.o./1AD oraz 91-94% dla S.o./1 (NIR 0,77).

Al-Hassan i in. [1991], stosując drożdże unieruchomione na magnetycie pokrytym zeolitem i podłoże zawierające 15% cukrów, stwierdzali maksymalną wydajność fermentacji w wysokości 84%. Szajani i in. [1996] uzyskiwali podczas 35 dni trwania procesu ok. 83-procentową wydajność fermentacji Stosowali drożdże unieruchomione na kuleczkach celulozy i podłoże zawierające 10% sacharozy. Shinonaga i in. [1992] stosowali drożdże unieruchomione w poprzecznie usieciowanych kuleczkach chitozanu. Przez 30 dni trwania procesu otrzymywali średnio 6,5% obj. etanolu, a wydajność fermentacji wynosiła około 77%. Roukas [1996], prowadząc fermentacje w podłożach o różnej zawartości cukrów, stwierdził obniżenie wydajności procesu przy stężeniu cukrów przekraczającym  $250 \text{ g}\cdot\text{dm}^{-3}$ . Wiązało się to prawdopodobnie ze stopniowym hamowaniem fermentacji wywołanym wysokim ciśnieniem osmotycznym. Należy zaznaczyć, że w naszych badaniach przez cały czas pracy fermentora stosowano nastawy, w których zawartość cukrów utrzymywano na poziomie ok.  $320 \text{ g}\cdot\text{dm}^{-3}$ .

Dla procesu fermentacji z wykorzystaniem drożdży S.o./1AD wyliczono produktywność etanolu w przeliczeniu na objętość roboczą fermentora (rys. 3). Przez pierwsze trzy tygodnie procesu obserwowano stopniowy wzrost produktywności objętościowej z  $17,94$  do  $23,80 \text{ g etanolu}\cdot\text{dm}^{-3}\cdot\text{dzień}^{-1}$ , a następnie jej spadek do  $20,14 \text{ g etanolu}\cdot\text{dm}^{-3}\cdot\text{dzień}^{-1}$  (NIR 1,74).

Tabela 1. Wpływ czasu pracy fermentora na zawartość wybranych składników wina, szczep S.o./1AD (średnia z 4 serii)

Table 1. Influence of work time of fermentor on content wine selected components, strain S.o./1AD (average from 4 series)

Dzień pracy fermentora Day of fermentors work	Cukry ogółem Total sugar g·dm <sup>-3</sup>	Sacharoza Saccharose g·dm <sup>-3</sup>	Kwasowość lotna Volatile acidity g·dm <sup>-3</sup>	Kwasowość ogólna Total acidity g·dm <sup>-3</sup>	Azot ogółem Total nitrogen mg·dm <sup>-3</sup>	Azot aminokwasowy Amino acid nitrogen mg·dm <sup>-3</sup>
7	103,5	92,0	0,23	5,9	30,3	3,3
15	79,9	58,6	0,30	6,1	–	–
20	54,3	8,3	0,32	5,8	36,7	9,7
30	67,0	3,2	0,33	5,8	58,0	15,7
40	82,0	2,5	0,35	5,7	70,3*	19,3*
50	81,8	1,9	0,37	5,7	–	–
60	84,6	2,6	0,39	5,7	86,3	21,7
70	89,9	1,4	0,47	5,8	103,3**	23,3**
80	103,4	1,5	0,43	5,8	–	–
90	102,4	2,0	0,37	5,5	106,7	23,0
100	101,3	2,1	0,36	5,6	–	–
106	105,2	2,4	0,39	5,8	113,0	24,7
PI	–	–	–	0,11	–	–
NIR	29,57	19,65	0,12	–	17,55	8,43

\*Oznaczenie po 45 dniach. \*\*Oznaczenie po 75 dniach.

\*45 days after. \*\* 75 days after.

Bakoyianis i in. [1992] stosując podczas fermentacji ciągłej drożdże unieruchomione na kissiris, przepływ 550-500 cm<sup>3</sup>·dzień<sup>-1</sup>, moszcz o 12°Błg i jednocześnie obniżanie temperatury z 16 do 5°C uzyskali odpowiednio do temperatury procesu produktywność 17,0-8,0 g etanolu·dm<sup>-3</sup>·dzień<sup>-1</sup>. Bakoyianis i in. [1997] stosując w fermentacji ciągłej obniżanie temperatury z 20 do 7°C i przepływ 600 cm<sup>3</sup>·dzień<sup>-1</sup> stwierdzili produktywność odpowiednio 18,3-11,2 g·dm<sup>-3</sup>·dzień<sup>-1</sup>.

W początkowym okresie pracy naszego fermentora stwierdzano w otrzymywanym winie tylko nieznaczną zawartość cukrów bezpośrednio redukujących (rys. 4), przy znacznej ilości sacharozy (tab. 1, 2). Należy przypomnieć, że zawartość cukrów ogółem obniżała się proporcjonalnie do ilości otrzymywanego alkoholu. W wypadku drożdży S.o./1AD siódmego dnia trwania procesu ilość cukrów bezpośrednio redukujących wynosiła 6,7 g·dm<sup>-3</sup>, natomiast cukrów ogółem – 103,5 g·dm<sup>-3</sup> (tab. 1). Następnie, do 30 dnia procesu, obserwowano wzrost zawartości cukrów bezpośrednio redukujących (63,7 g·dm<sup>-3</sup>) i obniżenie ilości sacharozy, po czym różnice mieściły się w granicach błędu. W wypadku drożdży S.o./1 istotny wzrost zawartości cukrów bezpośrednio redukujących obserwowano do 40 dnia pracy fermentora.

Tabela 2. Wpływ czasu pracy fermentora na zawartość wybranych składników wina, szczep S.o./1 (średnia z 2 serii)

Table 2. Influence of work time of fermentor on content wine selected components, strain S.o./1 (average from 2 series)

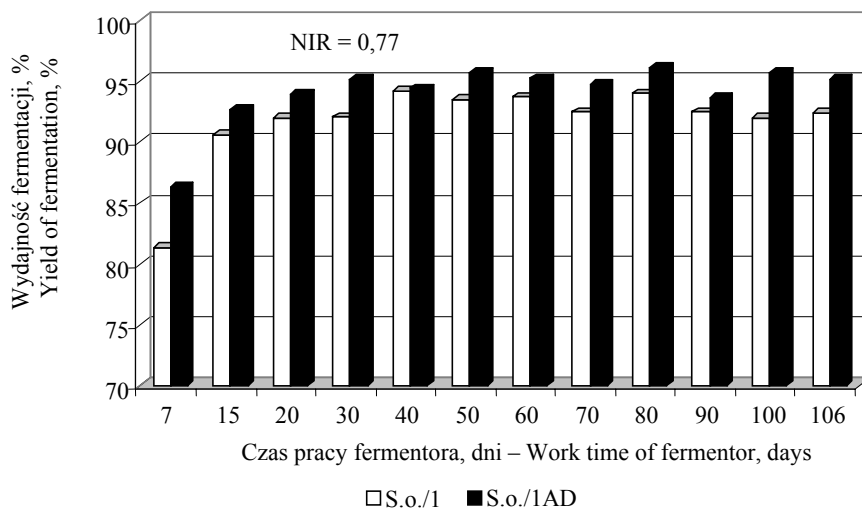
Dzień pracy fermentora Day of fermentors work	Cukry ogółem Total sugar g·dm <sup>-3</sup>	Sacharoza Saccharose g·dm <sup>-3</sup>	Kwasowość lotna Volatile acidity g·dm <sup>-3</sup>	Kwasowość ogólna Total acidity g·dm <sup>-3</sup>	Azot ogółem Total nitrogen mg·dm <sup>-3</sup>	Azot aminokwasowy Amino acid nitrogen mg·dm <sup>-3</sup>
7	100,4	85,1	0,13	4,2	37,5	7,0
15	72,7	55,0	0,17	4,7	–	–
20	61,3	19,6	0,18	4,5	43,5	13,0
30	66,7	1,7	0,20	4,4	–	–
40	71,9	1,5	0,20	4,7	57,5	14,0
50	90,9	2,3	0,22	4,9	–	–
60	92,5	4,8	0,24	5,1	69,0	23,0
70	103,5	3,1	0,27	5,1	–	–
80	113,7	2,8	0,34	5,1	77,0	24,0
90	117,4	5,2	0,35	5,3	–	–
100	111,4	0,6	0,33	5,1	96,0	27,0
106	106,8	1,2	0,31	5,0	–	–
PI	–	–	–	0,73	–	–
NIR	30,87	16,66	0,15	–	26,12	16,43

Niewielki udział cukrów bezpośrednio redukujących po uruchomieniu baterii fermentorów może być związany z okresem adaptacji drożdży do środowiska, ich namnażaniem się i wykorzystywaniem w pierwszym rzędzie związków prostych. Od drugiego miesiąca pracy fermentora zawartość cukrów bezpośrednio redukujących i cukrów ogółem była na zbliżonym poziomie. Oznacza to prawie całkowitą hydrolizę sacharozy w winie. Należy zwrócić uwagę, że zawartość sacharozy w nastawie wynosiła ok. 250 g·dm<sup>-3</sup>.

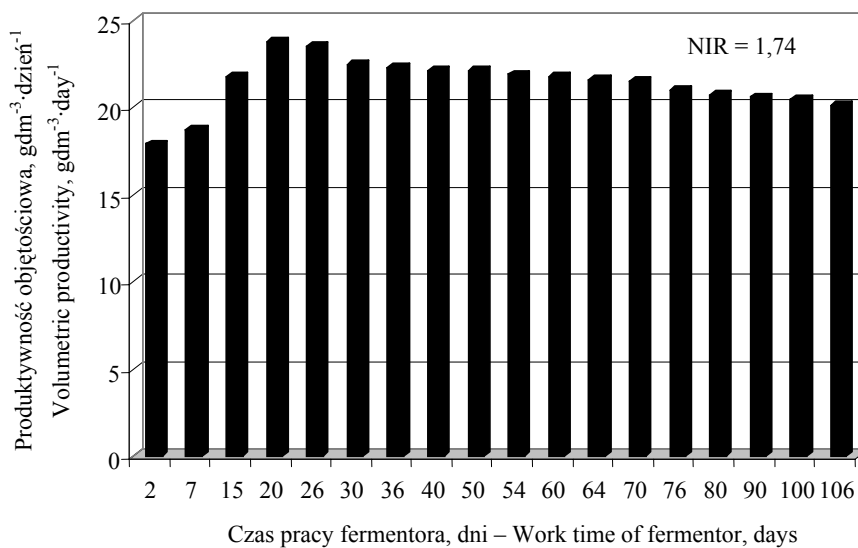
Kwasowość lotna wina była najniższa w początkowym okresie fermentacji. W doświadczeniu z drożdżami S.o./1AD siódmego dnia wynosiła ona 0,23 g·dm<sup>-3</sup>, następnie wzrastała do 70. dnia pracy fermentora (0,47 g·dm<sup>-3</sup>), po czym następował jej spadek (tab. 1). W fermentacji z drożdżami S.o./1 kwasowość lotna była na nieco niższym poziomie. Siódmego dnia wynosiła 0,13 g·dm<sup>-3</sup>, po czym wzrastała do 90 dnia pracy fermentora, osiągając maksymalną wartość 0,35 g·dm<sup>-3</sup> (tab. 2).

Czas fermentacji nie wpływał natomiast na kwasowość ogólną. W fermentacji z drożdżami S.o./1AD kształtowała się w granicach 5,5-6,1 g·dm<sup>-3</sup> (tab. 1), a w wypadku szczepu S.o./1 wynosiła 4,2-5,3 g·dm<sup>-3</sup> (tab. 2). Stwierdzone różnice mieściły się w granicach błędu. Dla pierwszego szczepu PI wynosiło 0,11, a dla drugiego – 0,73.

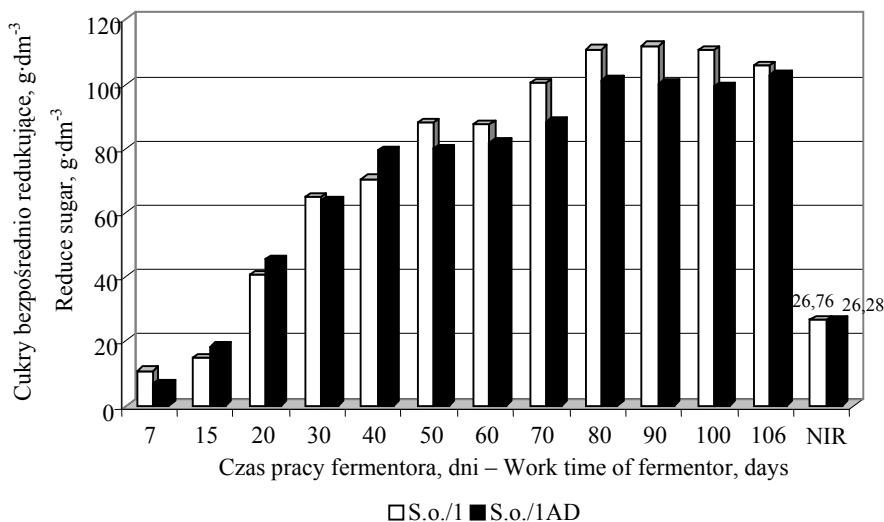
Bakoyianis i in. [1992] oraz Bakoyianis i in. [1997], prowadząc ciągłą fermentację winiarską z drożdżami immobilizowanymi na kissiris i jednoczesnym obniżaniem temperatury, stwierdzili, że wraz z upływem czasu pracy fermentora następował spadek kwasowości lotnej i ogólnej wina.



Rys. 2. Wpływ szczepu drożdży na wydajność fermentacji w czasie pracy fermentora  
 Fig. 2. Influence of yeast strain on yield of fermentation during the work time of fermentor



Rys. 3. Wpływ czasu pracy fermentora na produktywność objętościową, szczep S.o./1AD  
 Fig. 3. Influence of work time of fermentor on volumetric productivity, strain S.o./1AD



Rys. 4. Wpływ szczepu drożdży na zawartość cukrów bezpośrednio redukujących w winie  
 Fig. 4. Influence of yeast strain on content of reduce sugars

W naszym doświadczeniu temperatura była utrzymywana przez cały czas trwania procesu na stałym poziomie. Wzrost kwasowości lotnej w początkowym okresie fermentacji wiązał się ze stopniowym wzrostem zawartości alkoholu w winie, ponieważ kwas octowy jest jednym z ubocznych produktów fermentacji alkoholowej. Było to jedną z przyczyn wyższej kwasowości lotnej w wypadku stosowania drożdży S.o./1AD. Ponadto, jak wykazali Antonelli i in. [1999] ilość produktów ubocznych fermentacji zależy zarówno od gatunku drożdży, jak i rasy.

Zgodnie z Rozporządzeniem... [2003] kwasowość lotna wina, wyrażona jako kwas octowy, nie powinna przekraczać  $1,3 \text{ g}\cdot\text{dm}^{-3}$ , zatem otrzymywane wyniki świadczą o prawidłowym przebiegu fermentacji przez cały czas pracy fermentora. Kwasowość ogólna napojów winiarskich wyrażona jako kwas jabłkowy powinna mieścić się w przedziale  $3,5\text{-}9 \text{ g}\cdot\text{dm}^{-3}$  i głównie zależy od kwasowości nastawu.

Zawartość azotu ogólnego i aminokwasowego była najniższa w początkowym okresie fermentacji, po czym obserwowano jej stopniowy wzrost. W wypadku drożdży S.o./1AD (tab. 1) w siódmym dniu zawartość azotu ogólnego wynosiła  $30,3 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ , a aminokwasowego –  $3,3 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ . Pod koniec fermentacji osiągnęła odpowiednio  $113,0 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$  (NIR 17,55) i  $24,7 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$  (NIR 8,43). Natomiast w wypadku drożdży S.o./1 (tab. 2) obserwowano wzrost zawartości azotu ogólnego z  $37,5$  do  $96,0 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$  (NIR 26,12), a aminokwasowego z  $7,0$  do  $27,0 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$  (NIR 16,43). Zawartość azotu ogólnego wynosiła w nastawie, w zależności od serii, 224 do  $240 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ .

Związki azotowe są wykorzystywane przez drożdże do syntezy substancji strukturalnych i funkcjonalnych, są aktywatorami enzymów komórkowych, wchodzi w skład enzymów i białek [Walker 2000]. Manginot i in. [1997] zaobserwowali, że w fazie wzrostu drożdży podczas fermentacji zawartość azotu w moszczu ulegała gwałtownemu obniżeniu. Autorzy ci stwierdzili ponadto, że ilość zużytego azotu zależy od liczby komórek drożdży i ich aktywności życiowej.



## PODSUMOWANIE

W ciągłej fermentacji winiarskiej z wykorzystaniem unieruchomionych komórek na szkle piankowym celowe jest stosowanie drożdży *Saccharomyces bayanus* S.o./1AD. Zastosowanie tego szczepu umożliwia otrzymanie wyższego stężenia alkoholu w winie oraz wyższej wydajności fermentacji w porównaniu z zastosowaniem polecanego w literaturze szczepu S.o./1 (*Saccharomyces oviformis* rasy Bratislava).

Cechą fermentacji ciągłej z drożdżami immobilizowanymi jest skrócenie czasu fermentacji partii wina w porównaniu z fermentacją okresową. W wypadku drożdży S.o./1AD po pięciu dniach fermentacji periodycznej z komórkami wolnymi otrzymano 7,9% obj. alkoholu, a z drożdżami S.o./1 – 7,8% obj. Należy nadmienić, że po 26 dniach procesu periodycznego w wypadku szczepu S.o./1AD otrzymano 18,8% obj. alkoholu, a S.o./1 – 16,7% obj., a wydajność fermentacji wynosiła odpowiednio 99% i 87%.

W początkowym okresie pracy fermentora stwierdzano w wypadku obu szczepów drożdży wzrost zawartości alkoholu, kwasowości lotnej, azotu ogólnego i aminokwasowego. Czas pracy fermentora nie wpływał na kwasowość ogólną wina.

W wypadku obu szczepów drożdży, bezpośrednio po uruchomieniu pracy fermentora obserwowano nieznaczną zawartość cukrów bezpośrednio redukujących i obecność znacznych ilości sacharozy. Do drugiego miesiąca fermentacji ilość cukrów bezpośrednio redukujących wzrastała, a obniżała się ilość sacharozy. Natomiast zawartość cukrów ogółem przez cały czas trwania procesu była proporcjonalna do zawartości alkoholu w winie.

## PIŚMIENNICTWO

- Al-Hassan Z., Ivanova V., Dobрева E., Pencher I., Hristor J., Racher R., Petrov R., 1991. Non-porous magnetic supports for cell immobilization. *J. Ferment. Bioeng.* 71, 2, 114-117.
- Antonelli A., Castellari L., Zambonelli C., Carnacini A., 1999. Yeast influence on volatile composition of wines. *J. Agric. Food Chem.* 47, 1139-1144.
- Argiriou T., Kanellaki M., Voliotis S., Koutinas A.A., 1996. Kissiris-suported yeast cells: high biocatalitic stability and productivity im provement by successive preservations at 0°C. *J. Agric. Food Chem.* 44, 4028-4031.
- Bakoyianis V., Kanellaki M., Kaliafas A., Koutinas A.A., 1992. Low-temperature wine making by immobilized cells on mineral kissiris. *J. Agric. Food Chem.* 40, 7, 1293-1296.
- Bakoyianis V., Kanellaki M., Psarianos C., Koutinas A.A., 1998. Low temperature, countinuous wine-making by immobilized cells: a comparative study of the effect of temperature on volatile by-products. *Food Biotechnol.* 12, 3, 187-207.
- Bakoyianis V., Koutinas A.A., Agelopoulos K., Kanellaki M., 1997. Comparative study of kissiris,  $\gamma$ -alumina and calcium alginate as supports of cells for batch and continuous wine-making at low temperatures. *J. Agric. Food Chem.* 45, 4884-4888.
- Bardi E.P., Koutinas A.A., 1994. Immobilization of yeast on delignified cellulosic material for room temperature and low-temperature wine making. *J. Agric. Food Chem.* 42, 221-226.
- Bugajewska A., Wzorek W., 2000. Improvement of technological properties of wine yeast. Workshop: Biotechnology for high quality products. 26/27 June, Bonn, 4-11.
- Fiedurek J., Ilczuk Z., 1991. Glucose-oxidase biosynthesis using immobilized mycelium of *Aspergillus niger*. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 7, 3, 379-384.

- Fiedurek J., Ilczuk Z., Łobarzewski J., Pleszczyńska M., 1992. Optimization of pectinolytic enzymes biosynthesis by immobilized mycelium of *Aspergillus niger*. *Zeitblatt Microbiol.* 147, 1-2, 15-21.
- Krełowska-Kułas M., 1993. Badania jakości produktów spożywczych. PWE Warszawa.
- Lipiec M., 1969. Dobór ras drożdży winiarskich do fermentacji ciągłej. *Przem. Spoż.* 19, 3, 445-466.
- Lipiec M., Krawczyk W., 1971. Dobór ras drożdży winiarskich do fermentacji ciągłej. Próby techniczne. *Przem. Spoż.* 21, 1, 53-60.
- Łobarzewski J., Paszczyński A., 1983. Catalytic properties of immobilized and pure glucoamylase from *Aspergillus niger* C. *Biotechnol. Bioeng.* 25, 12, 3207-3212.
- Łobarzewski J., Fiedurek J., 1990. Glucoamylase biosynthesis by cells of *Aspergillus niger* C58-III immobilized in sintered glass and pumice stones. *Staerke* 42, 9, 358-362.
- Malik F., Krasny S., Nahajka J., Minarik E., 1993. Immobilisierte Hefen im Prozeß der sekundären Wiengärung. *Mitt. Klosterneuburg.* 43, 8-11.
- Manginot C., Sablayrolles J.M., Roustan J.L., Barre P., 1997. Use of constant rate alcoholic fermentations to compare the effectiveness of different nitrogen sources added during the stationary phase. *Enzyme Microb. Technol.* 20, 373-380.
- Núñez M.I., Lema I.M., 1987. Cell immobilization: application to alcohol production. *Enzyme Microbiol. Technol.* 9, 642-650.
- PN-90/A-79120/01÷12, Wina i miody pitne. Przygotowanie próbek i metody badań.
- Roukas T., 1996. Ethanol production from non-sterilized beet molasses by free and immobilized *Saccharomyces cerevisiae* cells using fed-batch culture. *J. Food Eng.* 27, 87-96.
- Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 04.02.2003 w sprawie szczególnych rodzajów fermentowanych napojów winiarskich oraz szczegółowych wymagań organoleptycznych, fizycznych i chemicznych dla tych napojów (Dz. U. Nr 25, poz. 223).
- Shinonaga M.A., Kawamura Y., Yamane T., 1992. Immobilization of yeast cells with cross-linked chitosan beads. *J. Ferment. Bioeng.* 74, 2, 90-94.
- Szajani B., Buzas Z., Dallmann K., Gimesi I., Krisch I., Toth M., 1996. Continuous production of ethanol using yeast cells immobilized in preformed cellulose beads. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 46, 122-125.
- Walker G.M., 2000. *Yeast Physiology and Biotechnology*. John Wiley Chichester, England.
- Wojtaś-Wasilewska M., Luterek J., Leonowicz A., Dawidowicz A., 1988. Dearomatization of lignin derivatives by fungal protocatechnate 3,4-dioxygenase immobilized on porosity glass. *Biotechnol. Bioeng.* 32, 4, 507-511.
- Wzorek W., Bugajewska A., Bonin S., Mateusiak S., 2000 a. Badania nad ciągłą fermentacją winiarską z wykorzystaniem drożdży immobilizowanych na szkle piankowym. *Przem. Ferment. Owoc. Warz.* 43, 5, 13-15.
- Wzorek W., Bugajewska A., Mateusiak S., Bonin S., 2000 b. Fermentacja ciągła winiarska z wykorzystaniem drożdży immobilizowanych na szkle piankowym. *Żywn. Nauka Technol. Jakość* 1, 22, 7, 102-108.
- Wzorek W., Pogorzelski E., 1998. *Technologia winiarstwa gronowego i owocowego*. SIGMA – NOT Warszawa.

## COMPARISON OF CONTINUOUS WINE FERMENTATION WITH TWO YEAST STRAINS IMMOBILIZED ON FOAM GLASS

**Abstract.** The aim of this work was to compare the two yeast strains (*Saccharomyces bayanus* S.o./1 and *S.bayanus* S.o./1AD) in continuous wine fermentation. The strain S.o./1 is recommend in literature for continuous wine fermentation. The strain S.o./1AD was ob-

tained in our department from S.o./1. Yeast cells was immobilized on cubes of foam glass. Fermentation was carried out for 3.5 months in 4-columns fermentor, at 22°C. High sugar must (about 320 g·dm<sup>-3</sup>), containing 70% apple juice, was used. It was state, that the strain S.o./1AD is more advantageous in continuous fermentation in comparison with S.o./1. The higher alcohol content (about 1% vol.) and yield of fermentation was obtained. Since the second week until the end of work time of fermentor the yield was 93-96% (S.o./1AD), and 91-94% (S.o./1). During the time of fermentor work for both strains the changes of another contents was stated.

**Key words:** immobilized yeast, continuous fermentation, wine, foam glass

*Zaakceptowano do druku – Accepted: 27.07.2004 r.*

**Do cytowania - For citation:** Bonin S., Wzorek W., 2004. Porównanie ciągłych fermentacji winiarskich prowadzonych z użyciem dwóch szczepów drożdży immobilizowanych na szkle piankowym. *Acta Sci. Pol., Technol. Aliment.* 3(2), 83-93.