

SZAKDOLGOZAT

SOLTI DOROTTYA

SOLTI DOROTTYA

2024



Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem

Budai Campus

Élelmiszertudományi és Technológiai Intézet

Élelmiszermérnöki alapképzési szak

**Alternatív (*nem-Saccharomyces*) élesztők vizsgálata söripari
termékfejlesztés céljából**

Belső konzulens: Dr. Kun-Farkas Gabriella
Egyetemi docens

Belső konzulens: Dr. Kun Szilárd
Egyetemi docens

**Belső konzulens
intézete/tanszéke:** Élelmiszertudományi és
Technológiai Intézet/Biomérnök
és Erjedéssipari Technológia
Tanszék

Készítette: Solti Dorottya

Budapest

2024

Tartalomjegyzék

| | | |
|--------|---|----|
| 1. | Bevezetés és célkitűzés..... | 3 |
| 2. | Szakirodalmi áttekintés..... | 4 |
| 2.1 | <i>Torulaspóra delbrueckii</i> | 5 |
| 2.2 | <i>Brettanomyces/Dekkera bruxellensis</i> | 9 |
| 2.3 | <i>Wickerhamomyces anomalus</i> | 13 |
| 2.4 | <i>Lachancea thermotolerans</i> | 17 |
| 2.5 | Söripari kísérletek | 19 |
| 3 | Anyagok és módszerek..... | 26 |
| 3.1 | Felhasznált élesztőtörzsek | 26 |
| 3.1.1. | <i>Torulaspóra delbrueckii</i> | 26 |
| 3.1.2. | <i>Dekkera bruxellensis</i> | 26 |
| 3.1.3. | <i>Wickerhamomyces anomalus</i> | 26 |
| 3.1.4. | <i>Lachancea thermotolerans</i> | 26 |
| 3.1.5. | <i>Saccharomyces cerevisiae</i> | 26 |
| 3.2. | További felhasznált anyagok..... | 26 |
| 3.2.1. | Tápleves és tápagar..... | 26 |
| 3.2.2. | Komlózatlan sörlé..... | 26 |
| 3.3. | Alkalmazott módszerek | 27 |
| 3.3.1. | Inokulum készítése | 27 |
| 3.3.2. | Szénhidrát hasznosítás:..... | 27 |
| 3.3.3. | Szaporodáskinetika..... | 27 |
| 3.3.4. | Alfasav tolerancia..... | 28 |
| 3.3.5. | Alkohol tolerancia | 29 |
| 3.3.6. | Flokkuláció | 30 |
| 3.3.7. | Szedimentációs vizsgálat..... | 31 |
| 4 | Eredmények és értékelésük | 32 |
| 4.1. | Szénhidrát hasznosítás..... | 32 |
| 4.2 | Szaporodási jellemzők vizsgálata | 33 |
| 4.3. | Alfasav tolerancia..... | 35 |
| 4.4. | Alkohol tolerancia | 36 |
| 4.5 | Flokkuláció | 38 |
| 4.6. | Szedimentációs vizsgálat..... | 39 |
| 5 | Összefoglalás | 43 |

| | | |
|---|------------------------------------|----|
| 6 | Irodalmi hivatkozás | 45 |
| 7 | Ábrák és táblázatok jegyzéke | 48 |
| | 7.1 Ábrák jegyzéke | 48 |
| | 7.2 Táblázatok jegyzéke | 48 |
| 8 | Köszönetnyilvánítás | 49 |
| 9 | Nyilatkozatok | 50 |

SOLTI DOROTTYA

1. Bevezetés és célkitűzés

Amikor az egyetemi tanulmányaim során a sör- és szeszipari szakirányt választottam, már tudtam, hogy a söriparhoz kapcsolódó kutatással szeretnék foglalkozni. E területnek a mélyebb megismerése adta a lehetőséget, hogy a szakdolgozatom keretein belül néhány nem-*Saccharomyces* élesztőtörzs fiziológiai és funkcionális tulajdonságait vizsgálhassam.

A sör az egyik legnépszerűbb ital világszerte. Hagyományosan árpamalátából, komlóból és vízből állítják elő, és élesztővel erjesztik. Kellemes érzékszervi tulajdonságok jellemzik, szakemberek által ajánlott mennyiségben fogyasztva kedvező táplálkozási tulajdonságokkal rendelkezik, például B-vitaminokat, ásványi anyagokat és antioxidánsokat tartalmaz. Az alkoholmentes és alacsony alkoholtartalmú sörök iránti érdeklődés növekszik, míg a nem prémium kategóriába tartozó alkoholos társaik iránti kereslet egyre csökken. A nem hagyományos élesztők több különböző forrásból is megtalálhatók és izolálhatók, többek között: szőlőmust, hideg élőhelyek, (például az Antarktisz), méz, erjesztett méz melléktermékek, kombucha, masau gyümölcs, savanyúság, kovászkultúrák, bor- és szakéerjesztés, különböző egzotikus növények, valamint egyéb ipari alkalmazásokból, például bioüzemanyag-előállításból. (Simões és mtsai. 2023)

Bár a különböző sörstílusok jellemző aromavegyületei leginkább az árpa és a belőle készült maláta, illetve a komló alapanyagokból származnak, mégis az élesztőnek is központi szerepe van. Sörgyártásban az erjedés hatékonyságának növelése érdekében, új sörök kifejlesztésénél, illetve az érzékszervi komplexitás fokozásának reményében használják a sörmesterek.

Ezen érvek alapján a szakdolgozatom célja, hogy négy nem-*Saccharomyces* fajba tartozó élesztőgombát vizsgáljak. Fő cél, hogy végeredményben meggyőződjek arról, milyen mértékben hasonlít ez a négy törzs a referenciaként használt *Saccharomyces pastorianus*-ra. Szaporodás kinetikájukat és szénhidrát hasznosításukat tekintve mennyiben különböznek a hagyományos sörélesztőtől. Vizsgálom továbbá a toleranciájukat alkohollal és alfasavval szemben, illetve a flokkuláló és szedimentációs, azaz ülepedési képességüket is.

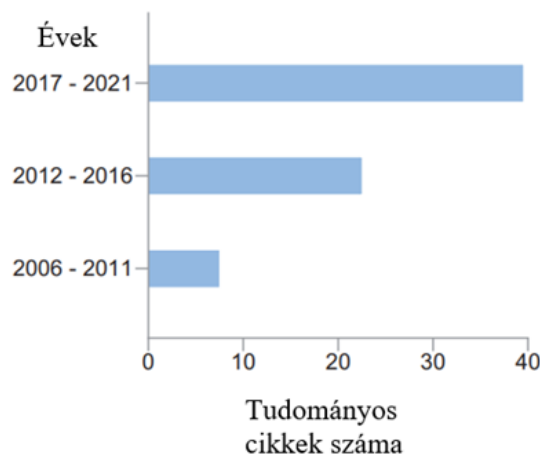
2. Szakirodalmi áttekintés

A téma iránti egyre nagyobb figyelmet jól mutatja, hogy ebben a témában megtalálható tanulmányok jelentős részét az elmúlt 15 évben publikálták (1. ábra). Az internetes Google Scholar, valamint az Elsevier és a Royal Danish Library adatbázisokat használták a következő keresőkifejezésekkel: "sör", "erjesztés", "élesztő", "nem hagyományos élesztők", "*nem-Saccharomyces* élesztők", "sörfözde", "sörfőzés", "sörlé" (Miguel és mtsai. 2022).

Egyes iparágakban, mint például a borkészítésben újraértékelődött a *nem-Saccharomyces* élesztők szerepe és kevert kultúráként történő használatuk (Canónico és mtsai. 2016).

A sörkészítésben betöltött szerepük is egyes spontán erjesztéssel készült sörtípusok esetében régre nyúlik vissza. A *Kluyveromyces* és *Brettanomyces* fajok gyakran megtalálhatók a lambic és gueuze sörökben, különösen a *Brettanomyces bruxellensis*, amely a sör érlelése során a jellegzetes aromát produkálja. Az utóbbi években viszont sokféle *nem-Saccharomyces* tiszta kultúra megjelent a piacon, amelyek használatát alkoholos vagy nem-alkoholos, különleges sörök előállítására javasolnak.

1. ábra Publikált tanulmányok aránya az elmúlt évek alatt (Miguel és mtsai. 2022)



2.1 *Torulaspóra delbrueckii*

Előfordulása:

A *Torulaspóra* nemzetséghez tartozó élesztőket a legkülönbözőbb élőhelyeken figyelték meg, például gyümölcsökben, rovarokban, talajban élő gerinctelen állatokban, növényekben, tengervízben, romlott élelmiszerekben és maláta környezetben, ahol más nemzetségekhez tartozó élesztők, például *Saccharomyces* és *Zygosaccharomyces* is jelen lehetnek (Fernandes és mtsai. 2021). Vadon élő és antropogén élőhelyeken egyaránt megtalálható az említett két másik fajjal együtt (Ramírez és Velázquez 2018). Bár nem tekinthető humán patogénnek, a *T. delbrueckii* faj klinikai izolátumként is megtalálható. A 2. ábra alapján elmondhatjuk, hogy öt kontinensen, 37 országból származnak izolátumok (Fernandes és mtsai. 2021).

2. ábra *Torulaspóra* előfordulása (Fernandes és mtsai. 2021)



Rendszertani besorolása és fiziológiai tulajdonságai:

A *T. delbrueckii* az *Ascomycota* törzsbe, a *Saccharomycotina* altörzsbe, a *Saccharomycetes* osztályba, a *Saccharomycetales* rendbe és a *Saccharomycetaceae* családba tartozik. (Internet 1.)

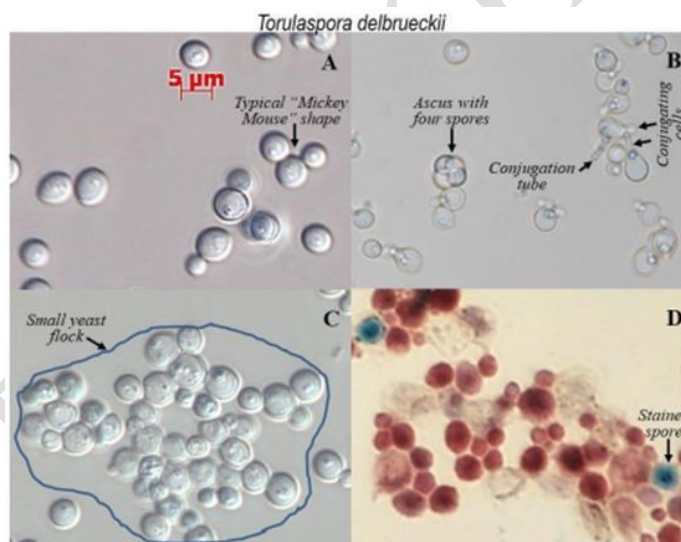
A *Torulaspóra* nemzetségbe tartozó fajok szaporodhatnak aszexuálisan sejtosztódással vagy szexuálisan aszkuszok útján, amelyek 1-4 db gömb alakú aszkospórárt tartalmaznak. Alakját tekintve a *Torulaspóra* élesztők elsősorban gömb alakú sejtek (innen a torulu terminológia), de vannak tojásdad és ellipszoid alakú, körülbelül 2-6×3-7 µm-es, a *S. cerevisiae*-nél kisebb méretűek is. Jelenleg a csoport legalább hat fajt foglal magában: *T. delbrueckii* (anamorf *Candida colliculosa*), *T. franciscae*, *T. pretoriensis*, *T. microellipsoides*, *T. globosa* és *T.*

maleae. Két másik fajt - *T. indica* és *T. quercuum* - is javasoltak ebbe a nemzetségbe sorolni, miután molekuláris szinten is sikerült megkülönböztetni őket. A *T. delbrueckii* mind a 15 rendelkezésre álló genomja egyetlen izolált kládba tömörült, elkülönülve a *T. pretoriensis*, *T. franciscae*, *T. maleae*, *T. globosa* és *T. microellipsoides* genomjaitól. (Fernandes és mtsai. 2021)

Anyagcsere-tulajdonságai:

A *T. delbrueckii* szaporodásához nem szükséges az éhezés, azaz a spórák gazdag táptalajon, például élesztőkivonat-pepton-dextróz (YEPD) agaron is képződhetnek, ahogyan ez a *S. cerevisiae* egyes borászati törzsei esetében is előfordulhat (Ramírez és Velázquez 2018). A 3. ábrán látható a faj szaporodása.

3. ábra *T. delbrueckii* szaporodása (Ramírez és Velázquez 2018)



Alves-Araújo és mtsai (2007) által kapott adatok azt mutatják, hogy minden vizsgált szénhidrátot (glükóz, szacharóz, maltóz) képesek hasznosítani a vizsgált *Torulaspora* fajok. Továbbá azt is megfigyelték, hogy a szacharózt és a glükózt jobban preferálták a vizsgált fajok, mint a maltózt. A *T. delbrueckii* gyenge fruktóz hasznosítást mutatott magas etanol- és mérsékelt ecetsav-koncentrációjú körülmények között. (Fernandes és mtsai. 2021)

Az ecetsavat, mint másodlagos anyagcsere-terméket a *S. cerevisiae*-nél kisebb mennyiségben szintetizálnak. Emellett az acetaldehidet is kisebb mértékben termelik. Ami az almasav lebontását illeti, néhány egymással ellentétes állítást is találunk, amely szerint a *T. delbrueckii*

20-25%-ban képes átalakítani át ezt a savat, más vélemények szerint viszont egyáltalán nem használja fel. Az 1. táblázatban néhány jellemző adatot szemléltetnek a *Saccharomyces*-szel összehasonlítva. (Fernandes és mtsai. 2021)

1. táblázat *T. delbrueckii* és *S. cerevisiae* savtermelése (Fernandes és mtsai. 2021)

| Termék | <i>Torulospora Delbrueckii</i> | <i>Saccharomyces Cerevisiae</i> |
|-----------------|--|---------------------------------|
| Ecetsav | 0,27–0,56 g/L | 1,0–1,17 g/L |
| Almasav | Felhasználás 10,5-25% között | - |
| Citromsav | 2,18–2,36 g/L | 2,23 g/L |
| Borostyánkősav | 0,84–1,11 g/L | Max. 0,65 g/L |
| Mannoproteinek | T. delbrueckii 25%-kal többet termel a S. cerevisiae-nél | |
| Poliszacharidok | T. delbrueckii 50%-kal többet szabadít fel a S. cerevisiae-nél | |
| Glicerín | 1–10,5 g/L | Max. 9,1 g/L |
| Etanol | 40,6–72,68 g/L | 103–121 g/L |

A *T. delbrueckii* fermentatív viselkedését illetően még nem alakult ki egységes vélemény. Egyesek úgy gondolták, hogy 9-10%-kal magasabb teljesítményt nyújt a *S. cerevisiae* fajnál, mások szerint alacsonyabbat, és vannak, akik hasonló erjesztési képességűnek írják le. (Fernandes és mtsai. 2021)

Összehasonlításképpen, mind a *T. delbrueckii*, mind a *S. cerevisiae* fajok meglehetősen különleges viselkedést mutatnak a rendelkezésre álló oxigén függvényében. Az oxigénellátás csökkenésével a *S. cerevisiae* átáll a respiro-fermentatív anyagcserére, így csökkent oxigénmennyiség mellett alacsonyabb biomassza-hozamot mutat, szemben a *T. delbrueckii*-vel, amely képes fenntartani a teljes légzést ilyen körülmények között is, ami kisebb erjedési aktivitást és lassabb növekedési sebességet jelent. (Fernandes és mtsai. 2021)

A *T. delbrueckii* fermentációban való felhasználásának további előnye a *S. cerevisiae*-vel szemben az, hogy nagyobb mértékben képes 5 és 6 szénatomos polioloikat termelni, különösen D-arabitol, D-szorbitot és D-mannitot, amelyek lehetővé teszik az élesztősejtek fiziológiai alkalmazkodását a stresszes fermentációs körülményekhez, ami pozitívan befolyásolja az ozmotikus körülményekhez való alkalmazkodást és a redox egyensúlyt. (Santiago és mtsai. 2021)

Törzstől függően a *T. delbrueckii* akár 10 V/V%-os etanol-koncentrációig képes erjeszteni, miközben kellemes aromaanyagokat szintetizál (gyümölcsös észterek, laktonok, tiolok és terpének), valamint csökkenti a nemkívánatos vegyületek (magasabb rendű alkoholok) mennyiségét. A sör esetében a *T. delbrueckii* növeli az izoamil-alkohol és az etil-butanoát szintet, valamint olyan terpéneket szabadít fel, mint a béta-kariofillén és a geranilaceton. (Ogawa és mtsai. 2022)

Különösen a borkészítés tekintetében a *T. delbrueckii*-t az aromás komplexitás és a szájéret javításáért ismerik el. Az aromaprofil javulása specifikus gyümölcsös észterek, tiolok és terpének megjelenésével, valamint az alacsony acetaldehid szinttel magyarázható. Míg a kellemesebb szájéret a teltebb, selymesebb hatást fokozó mannoproteinek vagy poliszacharidok felszabadulásával hozhatók összefüggésbe. (Santiago és mtsai. 2021)

Hasznosítása az iparban:

A *T. delbrueckii* törzsek sörfőzésben való felhasználását illetően is végeztek tanulmányokat. Kutatók arról számoltak be, hogy a *T. delbrueckii* képes átalakítani a komló aroma-terpenoidjait, befolyásolva a végső sör aromaprofilját. (Canónico és mtsai. 2016)

Egy másik példa azt mutatja, hogy egyes nem-*Saccharomyces* törzsek nagy mennyiségben tartalmaznak olyan enzimeket, amelyek képesek a monoterpének átalakítására. A monoterpének a komló ízének fő alkotói, például a nerol, a linalool és a limonén. A *T. delbrueckii* élesztő képes volt a nerolt metabolizálni, hogy növelje a linalool mennyiségét. A magasabb linalool-tartalom észrevehetően megváltoztatta a komlóízt a sörben. (Michel és mtsai. 2016)

A *T. delbrueckii* olyan, a sörerjesztés szempontjából fontos tulajdonságokat mutatott, mint az ozmotolerancia, a gyenge savakkal szembeni ellenállás, például a komló izo- α -savtermelés, a nemkívánatos vegyületek, például az illékony fenolok, az ecetsav és az acetaldehid alacsony aránya. (Santiago és mtsai. 2021)

A sütőiparban a *T. delbrueckii* a fagyasztott tésztatermékek előállításában betöltött szerepe miatt elismert választás, mivel nagymértékben ellenáll az ozmotikus és fagyasztási-olvadási stressznek. A kakaóipari ágazatban a *T. delbrueckii* lenyűgöző teljesítményt mutatott, és a kakaóbab fermentációjában felhasználva javította a végtermék minőségét. Különösen az olyan paraméterek változtak meg, mint a csokoládé analitikai profilja és érzékszervi megítélése, ami eltérő aromaprofil eredményezett. (Santiago és mtsai. 2021)

A *T. delbrueckii* egyik különleges, csak felületesen vizsgált felhasználási területe a mezcál erjesztési folyamatában való részvétel. Az élesztő használata β -fruktofuranozidáz enzim aktivitásának növekedését és magas fenil-acetát szintet hozott. A *S. cerevisiae* és a *T. delbrueckii* kevert kultúraként történő alkalmazása előnyös a kiegyensúlyozott aromás és fermentatív profil elérése érdekében. Továbbá az almabor előállításánál a *T. delbrueckii* törzseket használó monokultúras erjesztések változatosabb illékony vegyületeket termelnek, mint a *S. cerevisiae* törzsek. (Fernandes és mtsai. 2021)

Egy különleges ital, a mézbor előállításához is javasolták ezt az élesztő fajt, amely méz és víz keverékének a fermentációjával jön létre. Alacsony alkohol tartalmat és magas maradék cukortartalmat eredményezett az alkalmazott *Torulospora* élesztő. (Ogawa és mtsai. 2022)

2.2 *Brettanomyces/Dekkera bruxellensis*

Előfordulása:

A *Brettanomyces* kifejezést először 1904-ben Claussen vezette be az angol sörgyártásban használt élesztőgomba leírására. A *Brettanomyces* 1920-ban vált elismert nemzetséggé, amikor Belgiumban lambic sörökből izolálták. Borban 1930-ban mutatták ki először. *Brettanomyces/Dekkera* élesztők előfordulását számos helyen megfigyelték: szőlőbogyókban, borban, borászati berendezésekben, sörben, sherrykben, tejtermékekben, kovászbán, almaborban, kombuchában, olajbogyóban, tequilában és tamarindban. (Agnolucci és mtsai. 2017)

Rendszertani besorolása és fiziológiai tulajdonságai:

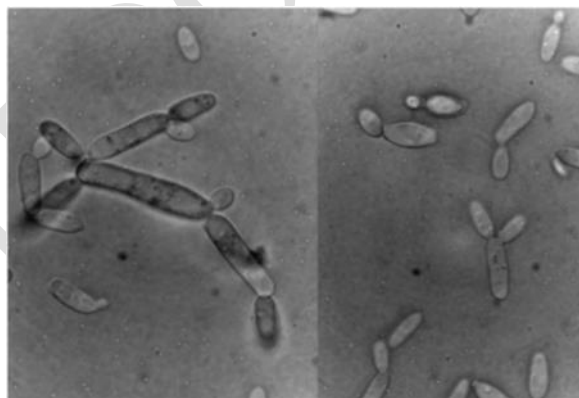
Rendszertanilag egy átminősítésben volt része. Mai nevén a *Brettanomyces bruxellensis* az *Ascomycota* törzsbe (Crauwels és mtsai. 2015), a *Saccharomycetes* osztályba, a *Saccharomycetales* rendbe és a *Saccharomycetaceae* családba tartozó gombafaj (Bavcon Kralj és mtsai. 2010).

A jelenlegi szakirodalomban még mindig gyakori a *Dekkera* és a *Brettanomyces* nemzetségnév használata (Schifferdecker és mtsai. 2014). A *Brettanomyces* az anamorf (aszexuális) formára utal, míg a *Dekkera* nemzetségnevet a teleomorf (szexuális) formára javasolták. Jelenleg a *Brettanomyces/Dekkera* nemzetség öt fajt foglal magában: *B.*

custersianus, *B. naardenesis*, *B. nanus*, *B. anomalus* és *B. bruxellensis*. A *B. intermedius* és a *B. lambicus* fajokat a *B. bruxellensis* szinonimáinak tekintik. Teleomorf formákat csak a *B. anomalus* és a *B. bruxellensis* esetében találtak, amelyeket *Dekkera anomala* és *Dekkera bruxellensis* néven nevezték el. A *Dekkera* aszkuszok közvetlenül diploid vegetatív sejtekből képződnek, és egytől négyig terjedő kalap vagy gömb alakú aszkospórákat tartalmaznak, amelyek a felszabadulásakor hajlamosak agglutinálódni. A *Brettanomyces/Dekkera* fajok többoldalú sarjadzással, vagy ritkábban kétpólusú sarjadzással szaporodnak. Ahogyan a 4. ábrán is látható a sejtek alakja polimorfnek tűnik - ellipszoid, tojásdad vagy hengeres - 2 és 7 µm közötti méretekkel, amelyek gyakran pszeudomicéliumokat alkotnak. A sejtek stressz hatására kisebbek lehetnek, így a 0,45-ös membránon keresztül történő szűrés néha hatástalan. (Agnolucci és mtsai. 2017).

Úgy tűnik, hogy a hagyományos élesztőkhöz hasonlóan a *Brettanomyces/Dekkera* is jól alkalmazkodik az erjesztési körülményekhez a genomjának kifejeződésében bekövetkező változások vagy bizonyos morfo-fiziológiai jellemzők révén. (Schifferdecker és mtsai. 2014)

4. ábra *B./D. bruxellensis* (Schifferdecker és mtsai. 2014)



Anyagcsere-tevékenysége:

A *B/D. bruxellensis* alkalmazkodott az olyan zord és korlátozó környezeti feltételekhez, mint az alacsony pH-érték, a "szegény" nitrogénforrás és a nagyon magas etanolkoncentráció (Schifferdecker és mtsai. 2014). Conterno és mtsai (2006) kimutatták, hogy ez az élesztő 2,5 és 2,0 pH értéken is képes volt növekedni. A *B/D. bruxellensis* élesztő 19°C és 35°C között megfelelő, 37°C és 42°C között változó növekedést mutat, 45°C-on pedig nem képes növekedni (Schifferdecker és mtsai. 2014). A minimum hőmérsékletet tekintve néhány törzs még 10°C-on

is képes volt szaporodni Conterno és mtsai. (2006) szerint. Egyes tanulmányok a kolóniák színét is jellemezték, amely a krémszíntől a világosbarnáig terjed, felületük általában fényes és sima (Schifferdecker és mtsai. 2014).

Több *B/D. bruxellensis* izolátum növekedési paramétereinek és szénhidrát anyagcseréjének elemzése kimutatták, hogy ez az élesztő aerob körülmények között is képes cukrokat fermentálva etanolt termelni, és képes oxigén nélkül is növekedni, ezzel a Crabtree-pozitív fenotípust mutatja, hasonlóan a *S. cerevisiae*-hez és legközelebbi rokonaihoz. Kimutatták, hogy a *Brettanomyces/Dekkera* sokkal lassabban hasznosítja a cukrokat és lassabban növekszik, mint a *S. cerevisiae*. (Schifferdecker és mtsai. 2014)

A legtöbb izolátum képes volt növekedni glükózon, fruktózon, galaktózon, valamint szacharózon, maltózon, cellobiózon és trehalózon. Más cukrok, mint az arabinóz, a laktóz és a raffinóz nem támogatták a legtöbb izolátum növekedését. A növekedési sebesség és az etanolhozam maltózon alacsonyabb, mint glükózon. (Conterno és mtsai. 2006)

A *B/D. bruxellensis* és az ipari *S. cerevisiae* törzsek összehasonlításakor a hagyományos sörélesztő ötször gyorsabban nőtt, de alacsonyabb etanolhozam mellett. A termelt glicerin mennyiségét tekintve szintén a *S. cerevisiae* teljesített jobban, mivel hatszor nagyobb mennyiséget volt képes termelni. (Schifferdecker és mtsai. 2014)

Az adonitol (ribitol), a glicerin és a mannitol cukoralkoholok szintén nem támogatták a legtöbb *Brettanomyces/Dekkera* izolátum növekedését. Az izolátumok közül csak néhány növekedett a tejsav, almasav, borostyánkősav és citromsav szerves savakon. Az izolátumok körülbelül 25%-a tudott növekedni etanolon, mint egyedüli szénforráson, míg kevesebb mint 10%-a oldható keményítőn. Egyik izolátum sem volt képes cellulózon vagy hangyasavon egyedüli szénforrásként növekedni ilyen körülmények között. A növekedéshez valamennyi izolátumnak szüksége volt biotinra és tiaminra (Conterno és mtsai. 2006). A *B/D. bruxellensis* előnyben részesíti az ammóniumionokat, de képes nitrátot is hasznosítani (Schifferdecker és mtsai. 2014).

Conterno és mtsai. (2006) azt is kimutatták, hogy ennek a fajnak valamennyi törzse legalább 10%-os etanol koncentrációt képes tolerálni.

Aerob körülmények között a *Brettanomyces/Dekkera* fajok nagy mennyiségű ecetsavat és etanolt termelnek. Az oxigén jelenléte serkenti a növekedést, ami később az ecetsav gátló hatására leáll.

Két kutató arról számolt be, hogy 7-8 óra oxigénmentes idő után a kultúra alkalmazkodott az anaerob körülményekhez, és a növekedés újraindult, bár lassan és alacsonyabb etanoltermeléssel. (Agnolucci és mtsai. 2017)

A *Brettanomyces*ről kimutatták, hogy anaerob erjedési körülmények között nagy mennyiségű illékony zsírsavat, például izovaleriánsavat termel. E savak közül soknak kellemetlen fanyar szaga és/vagy íze lehet, ami romlott borokban vagy *Brettanomyces*-szel erjesztett sörökben észrevehető, mielőtt ezek a savak észterizálódnak. Valójában az izovaleriánsav a fent említett mohás mellékízzel és fenolos vegyületekkel együtt a borban a nemkívánatos *Brettanomyces* karakterhez járul hozzá leginkább. Ezenkívül úgy vélik, hogy befolyásolja az erjesztett termékekben lévő illékony fenolos vegyületek általános érzékelését vagy intenzitását. A lambic sörökben az izovaleriánsav adja az izzadságos és sajtos ízt és szagot. (Crauwels és mtsai. 2015)

Az illóészterek az aromás vegyületek fontos csoportját alkotják, mivel ezek felelősek az erjesztett italok gyümölcsös vagy virágos jellegéért. A *Brettanomyces* számos etil-észter (például etil-acetát, etil-laktát, etil-kaprát és etil-kaprilát) nagy koncentrációban történő képzésére képes, míg egyes acetát-észtereket (például izoamil-acetátot) képes lebontani észteráz-aktivitása révén. A lambic sörök erjedésének későbbi szakaszaiban, amelyeket a *Brettanomyces* élesztők és különböző baktériumfajok összetett mikrobiális keveréke jellemez, az észterfrakció jellemzően nagyon kis mennyiségű izoamil-acetátból és jelentős mennyiségű etil-acetátból, etil-kaprátból, etil-kaprilátból és etil-laktátból áll. (Crauwels és mtsai. 2015)

Hasznosítása az iparban:

Ez az élesztőfaj a borászatban és a söriparban betöltött jelentőségéről ismert (Schifferdecker és mtsai. 2014). A fent említett tipikus *Brettanomyces*-aromák mellett a *B./D. bruxellensis* további aromákat is bevihet az erjesztett termékekbe. Az aromaaktív illékony vegyületek szabad formában való jelenléte mellett a gyümölcsök, virágok és más növényi részek, amelyeket gyakran használnak az élelmiszer- és italfermentációban, olyan illékony anyagokat tartalmaznak, amelyek glikozidosan kötött cukrokba vannak "bezárva", és vízben oldódó, szagtalan vegyületeket eredményeznek. Ezeket a "zárt" illóanyagokat β -glükozidáz enzimek szabadíthatják fel, amelyek például a *Brettanomyces/Dekkera* törzsekben megtalálhatók, de az *S. cerevisiae*-ben nem. Ez teszi a *Brettanomyces/Dekkera*-t alkalmassá olyan újszerű alkoholos italok előállítására, amelyek a komlóból, gyümölcsökből és más növényi részekből származó

természetes aromaanyagokkal és aromákkal gazdagodnak. Ráadásul a *B./D. anomalus* β -glükózidáz enzim közelmúltbeli jellemzése kimutatta, hogy magasabb pH-n (5,75) és alacsonyabb hőmérsékleten (37 °C) képes működni, mint a jelenleg elérhető kereskedelmi β -glükózidázok, ami új lehetőségeket kínál ennek az enzimnek bizonyos italok „bioflavorizálására”. Érdekes módon a közelmúltban végzett vizsgálatok kimutatták, hogy egyes *B./D. bruxellensis* törzsek két különböző β -glükózidáz gént tartalmaznak, míg más törzsek a két gén közül csak az egyiket. (Crauwels és mtsai. 2015)

A *B./D. bruxellensis* faj világszerte a borromlás egyik fő okozójának tekinthető. A fertőzött borokban a faj által termelt illékony fenolok miatt jellegzetes, kellemetlen aromák alakulnak ki, amelyeket Brett-foltoknak is neveznek és általában az égett műanyag aromájához társítják (Schifferdecker és mtsai. 2014). A *Brettanomyces/Dekkerával* szennyezett borok szagát mások "gyógyszeresnek", "füstösnek" vagy "vizes lónak" jellemezték, ezt elsősorban két kémiai vegyületcsoport okozza. A "dohosság" a karbonilvegyületek következménye lehet. E nitrogéntartalmú vegyületek közé tartozik a 2-acetil-3,4,5,6-tetrahidropiridin, a 2-acetil-1,2,5,6-tetrahidropiridin és a 2-etil-3,4,5,6-tetrahidropiridin. A második csoportot az illékony fenolok, mint a 4-vinil-fenol, 4-vinilguaiacol, 4-etil-fenol és 4-etilguaiacol alkotják. A *Brettanomyces/Dekker*a szinte egyedülálló a többi élesztő között, mivel képes a hidroxifahéjsavakat - a szőlőmustban jelen lévő antimikrobiális, nem illékony vegyületeket - etilszármazékká alakítani. (Schifferdecker és mtsai. 2014)

A *Brettanomyces/Dekker*a fajok a bor- és sörgyártáson túl a savanyú tészta gyártásban is fontosak. Nagy mennyiségben való jelenlétük esetén élelmiszerromlás következik be. Azonban a *Brettanomyces/Dekker*a fajok kis mennyiségben hozzájárulnak a kenyérben, a lambic és felsőerjesztésű sörben, és a kombucha teában kívánatos anyagcseretermékekhez. A relatív koncentrációk tehát eltérő hatásokat határoznak meg a különböző élelmiszerekben. (Schifferdecker és mtsai. 2014)

2.3 *Wickerhamomyces anomalus*

Előfordulása:

A *Wickerhamomyces anomalus* széles körben elterjedt a természetben, előfordul a talajban, növényi anyagokban, valamint az emberek és állatok opportunistá kórokozójaként. A faj

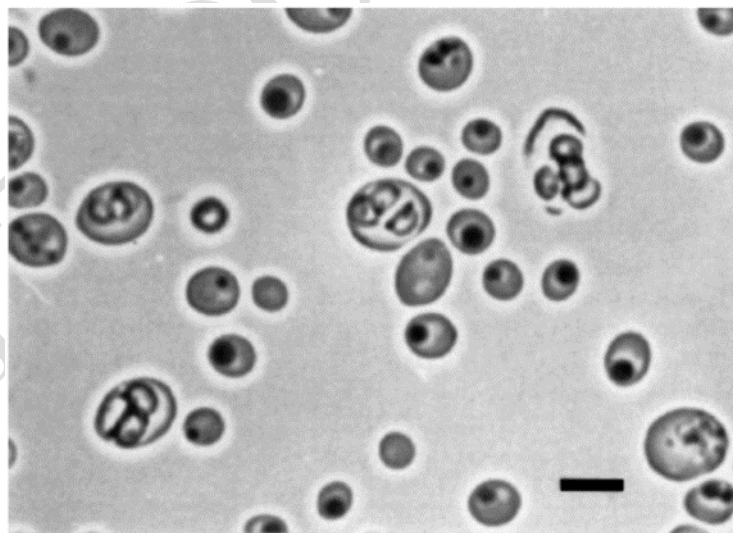
elsődleges élőhelyének feltehetően a növényeket tekinthetjük. A *W. anomalus* a szlovákiai Kiskárpátokban termő 10 különböző fafaj leveléből és tűleveléből izolált élesztőgombák között az egyik leggyakoribb. (Kurtzman 2011)

Rendszertani besorolása és fiziológiai tulajdonságai:

A *W. anomalus* élesztőgomba faj szintén az *Ascomycota* törzsbe, a *Saccharomycetes* osztályba, a *Saccharomycetales* rendbe, a *Wickerhamomycetaceae* családba és a *Wickerhamomyces* nemzetségbe tartozó faj (Kurtzman 2011). A *Wickerhamomyces anomalus*-t, korábbi nevén *Pichia anomala*, *Hansenula anomala*, *Candida pelliculosa*, nemrégiben a génszekvenciák filogenetikai elemzése alapján a *Wickerhamomyces* nemzetségbe sorolták, ami jelentős változásokat okozott az élesztők osztályozásában (Padilla, Gil, és Manzanares 2018).

Sarjadzással szaporodik, amely többoldalú, keskeny alapon történik. A sejtek az 5. ábrán jól látható módon gömb alakúak, tojásdadok vagy hosszúkasak. Egyes fajok pseudohifákat és valódi hifákat termelnek (Kurtzman 2011).

5. ábra Aszkospóraszerű tenyészet 5%-os malátakivonat-agaron (Kurtzman 2011)



Az aszkuszok lehetnek konjugáltak, vagy konjugációt mutatnak egy sejt és annak bimbója között, illetve független sejtek között. Az aszkospórák egy-négy aszkospórát képeznek, amelyek lehetnek kalap alakúak vagy gömb alakúak.

25 °C-on 3 nap után a sejtek gömbölydedek vagy hosszúkásak, 1,9-4,1 x 2,1-6,1 µm-esek, és egyenként, párban vagy kis csoportokban fordulnak elő. Vajszerű és halványan barnás színűek, szagukat tekintve egészen kellemesek. A *Wickerhamomyces anomalus* heterotallikus, de a természetből általában a sporogén diploid formát izolálják. (Kurtzman 2011)

A növekedését az oxigénhiány erősen akadályozza, anaerob körülmények között általában alacsony növekedési sebességet és biomassza-hozamot mutat. (Padilla, Gil, és Manzanares 2018)

Anyagcsere-tevékenységek:

Ben Atitallah és mtsai (2020) kimutatták, hogy a törzs képes volt szinte valamennyi vizsgált cukrot, azaz D-glükózt, D-fruktózt, D-mannózt, szacharózt, D-xilózt és L-arabinozt asszimilálni, de cellobiózt nem. Ahogyan a 6. ábra mutatja Kurtzman (2011) vizsgálata hasonló, de mégis eltérő például a cellobióz esetében.

6. ábra *W. anomalus* hasznosítási képessége különböző összetevők tekintetében (Kurtzman 2011)

| | | | |
|----------------------|---|------------------------|---|
| Glucose | + | D-Ribose | v |
| Inulin | - | Methanol | - |
| Sucrose | + | Ethanol | + |
| Raffinose | + | Glycerol | + |
| Melibiose | - | Erythritol | + |
| Galactose | v | Ribitol | v |
| Lactose | - | Galactitol | - |
| Trehalose | + | D-Mannitol | + |
| Maltose | + | D-Glucitol | + |
| Melezitose | + | myo-Inositol | - |
| Methyl-α-D-glucoside | + | D-Lactate | + |
| Soluble starch | + | Succinate | + |
| Cellobiose | + | Citrate | + |
| Salicin | + | D-Gluconate | v |
| L-Sorbose | - | D-Glucosamine | - |
| L-Rhamnose | - | N-Acetyl-D-glucosamine | - |
| D-Xylose | v | Hexadecane | - |
| L-Arabinose | v | Nitrate | + |
| D-Arabinose | - | Vitamin-free | + |

Jelmagyarázat: - : nem tudta hasznosítani, + : hasznosította az adott komponenst,

v: törzsfüggő eredmény

Bár a *W. anomalus* jelenléte általában túlzott etil-acetát-termeléssel jár, ami komoly hátrányt jelent a borkészítésben való felhasználás szempontjából, ez a faj jelentős szerepet kapott a borászatban, mivel érdekes és potenciálisan hasznosítható fiziológiai és metabolikus

jellemzőket mutat. A *W. anomalus* olyan glükózidázokat termel, mint a β -D-glükózidáz, α -L-arabinofuranozidáz, α -L-ramnozidáz és β -D-xilozidáz, amelyek részt vesznek az aromavegyületek felszabadításában a prekursorokból. (Padilla, Gil, és Manzanares 2018)

A *W. anomalus* élesztők hatékonyabban tudták az aminosavakat aromavegyületekké alakítani, valószínűleg az elágazó láncú aminosav-transzaminázoknak köszönhetően. Emellett korábban beszámoltak arról is, hogy a *W. anomalus* magas izoamil-acetát-termelést produkált.

A zavarosodást okozó fehérjék enzimek általi lebontása vonzó alternatívája a bentonit használatának, mivel minimálisra csökkentené a bor térfogat- és aromavesztését. A fehérjebontó enzimeket kiválasztó borélesztők biotechnológiai szempontból nagy jelentőséggel bírnak a fehérjezavarosodás megelőzése szempontjából, mivel közvetlenül a szőlőmusthoz adhatók indító kultúraként. (Lombard 2016)

Hasznosítása az iparban:

A *W. anomalus* egy biotechnológiailag releváns élesztőfaj, amelynek élelmiszeripari, környezetvédelmi, ipari és orvosi alkalmazásai vannak. Sokoldalúnak tekinthető faj, mert képes elviselni az olyan szélsőséges környezeti feltételeket, mint az oxidatív, sós és ozmotikus stressz, valamint a pH- és hőmérsékleti sokkok. Ezek miatt ez az élesztő romlást okozó mikroorganizmus lehet például magas cukortartalmú élelmiszerekben (Padilla, Gil, és Manzanares 2018).

A *W. anomalus* számos különböző szerepet tölt be a mezőgazdaságban és az élelmiszeriparban. A *W. anomalus* gyakran a sörromlással, valamint a pékáruk romlásával összefüggésbe hozott "filmképző" élesztők közé sorolják. Ezzel szemben a *W. anomalus* azon élesztők és más mikroorganizmusok csoportjába tartozik, amelyek a kakaó- és kávébab erjedéséhez szükségesek, amely magában foglalja a környező növényi szövetek pektinjének lebontását. A *W. anomalus*-t széles körben tesztelték az alma betakarítás utáni tárolása és a gabona légmentesen történő tárolása során kialakuló penészgombásodás biokontrolljára. (Kurtzman 2011). Az élesztő javította a takarmányhigiénit a nedves zúzott árpaszem tárolása során a penészgombák és az *Enterobacteriaceae* csökkentésével. Továbbá javította a takarmány táplálkozási minőségét hasznosítható fehérjetartalom növelésével. (Padilla, Gil, és Manzanares 2018)

A *W. anomalus* szélsőséges környezeti stressz körülmények között is képes növekedni, beleértve az anaerobiózist is, ami a tárolási körülmények között erősen versenyképessé teszi a romlást okozó penészgombákkal szemben (Kurtzman 2011).

2.4 *Lachancea thermotolerans*

Előfordulása:

A *L. thermotolerans* élesztőfaj általában szőlőben, de más élőhelyeken, például talajban, rovarokban és növényekben is megtalálható, és világszerte széles körben elterjedt. (Morata és mtsai. 2018)

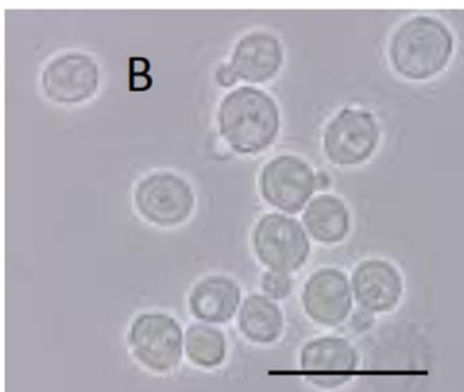
Rendszertani besorolása és fiziológiai tulajdonságai:

A korábban *Kluyveromyces thermotolerans* néven ismert *L. thermotolerans*-t (Hranilovic és mtsai. 2017) a multigén-szekvenciaelemzés alapján nemrégiben a *Lachancea* nemzetségbe sorolták vissza (Morata és mtsai. 2018).

Az *Ascomycota* törzsbe, a *Saccharomycetes* osztályba, a *Saccharomycetales* rendbe tartozik, a *Saccharomycetaceae* családon belül az egyik legalapvetőbb nemezttség (Lachance és Kurtzman 2011). A *L. thermotolerans*-t elkülönítették a többi *Kluyveromyces*-fajtól, és a *Lachancea* nemzetségbe sorolták, genetikai és anyagcserebeli eltérések, valamint a (*Lachancea* nemzetség többi tagjával való genetikai hasonlóság miatt (Domizio és mtsai. 2016). A nemzetséghez tartozó fajok a következők: *Kluyveromyces aestuarii*, *Kluyveromyces africanus*, *Kluyveromyces bacillisporus*, *Kluyveromyces blattae*, *Kluyveromyces delphensis* és *Kluyveromyces dobzhanskii*.

Az aszexuális szaporodás ebben a nemzetségben keskeny alapon történő többoldalú sarjadzással történik. A 7. ábrán látható, hogy a sejtek tojásdadok, ellipszoidok, hengeresek vagy hosszúkásak. Pseudomicélium is képződhet, bár valódi hifák nem keletkeznek. (Lachance 1998) A szexuális szaporodást tekintve a konjugáció megelőzheti az aszkuszképződést. Az aszkospórák aszkuszonként 1-4 spórát tartalmaznak, amelyek sima, gömb alakúak.

7. ábra *L. thermotolerans* mikroszkópos képe (Morata és mtsai. 2018)



Ezen túlmenően úgy tűnik, hogy a *L. thermotolerans* tartós vitalitásához az oxigén rendelkezésre állásának szükségessége jelentősebb, mint a *S. cerevisiae* esetében. Jó növekedést mutatnak 25-30°C-on és 20°C alatt lassabban szaporodnak. (Porter, Divol, és Setati 2019)

Anyagcsere-tevékenységei:

Kurtzman többek között vizsgálta a szénhidrát hasznosítást is, amelyből kiderült, hogy glükóz, szacharóz, raffinóz és maltóz jelentésében szaporodik, ezzel szemben melibiózt és laktózt tartalmazó táptalajon viszont nem volt képes a növekedésre. Egy másik kísérlet alapján az derült ki, amelyet Domizio és mtsai végeztek, hogy a maltotriózt nem képes erjeszteni ez az élesztőfaj. (Porter, Divol, és Setati 2019)

Lachancea egyedülálló az élesztőnemdzedékek között, mivel képes tejsavtermelésre, ami hatással lehet az ízhatásra. A *Saccharomyces* mellett a sörerjesztésekben is használható a pH gyors csökkenésének előidézésére. Ennek köszönhetően ezek a nagy mennyiségű tejsavat termelő törzsek tejsavbaktériumok hozzáadása nélkül is felhasználhatók lennének a savanyú sörök előállításához, ezáltal egyszerűsítve a folyamatot. (Domizio és mtsai. 2016)

A vizsgált éleszterek közül egyértelmű tendenciákat az etil-laktát (vajás, krémes aroma) és az etil-hexanoát (zöldalma és ánizs aroma) esetében figyeltek meg, amelyek mennyisége nagyobb lett, valamint a feniletal-acetát (gyümölcsös aroma) tekintetében, ahol pedig csökkenés volt tapasztalható. (Porter, Divol, és Setati 2019)

Az *L. thermotolerans* mérsékelt fermentatív képességgel rendelkezik, és 5-9 V/V% körüli etanol koncentrációt képes tolerálni. Ami az időbeli ellenállóképességet illeti, megfigyelték, hogy 9 V/V% etanol jelenlétében több napig is képes túlélni, és jó a toleranciája akkor is, ha az

erjedésben a *S. cerevisiae* dominál (Porter, Divol, és Setati 2019). A borban való felhasználását alacsony illósavtartalom-termeléssel (0,3-0,5 g/l) jellemezték. Az illósavtartalom csökkentésének hasznos biotechnológiai eszközeként is tekintenek rá. A *L. thermotolerans* mérsékelten termel magasabb rendű alkoholokat és az etil-acetát termelése is meglehetősen alacsony (40-60 mg/). (Porter, Divol, és Setati 2019)

Hasznosítása az iparban:

Borászati vonatkozásban van ipari jelentősége elsősorban. Az egyik legkiemeltebb szerepe a glicerintermelés a bor erjedése során. Ez a glicerinszint-növekedés spontán erjedés, valamint a *L. thermotolerans* és a *S. cerevisiae* egymás utáni beoltása során volt megfigyelhető. A szekvenciális beoltások esetében azonban a fő előny az, hogy a glicerintermelődése csökkent illósavtartalom és ecetsavkoncentráció mellett történik (Morata és mtsai. 2018). Más kutatásokban, ahol kevert kultúrák erjesztésben más három *Lachancea* törzssel használták a *L. thermotolerans*-t, azt az eredményt kapták, hogy a növekedett glicerintermelés édes ízt kölcsönzött és ezáltal pozitívan befolyásolta a szájérzet teltségét (Porter, Divol, és Setati 2019). A különböző illékony vegyületek termelődése jelentősen befolyásolhatja a bor általános megítélését. Elemzések szerint a 2-feniletanol a különböző erjesztési körülményektől függetlenül növekedett a *S. cerevisiae* monokultúrák erjesztésekhez képest 1,22-1,91-szeres növekedést mutatva (Porter, Divol, és Setati 2019).

2.5 Söripari kísérletek

Ebben a fejezetben a fentebb bemutatott nemzetségekkel, illetve fajokkal kapcsolatos söripari kutatásokból kívánok bemutatni részleteket.

Postigo és mtsai (2022) harmincnégy nem-*Saccharomyces* élesztőtörzset vizsgáltak, amelyeket madridi szőlőből, mustból, szőlőültetvényekről és pincékből izoláltak, illetve azonosítottak. Ezek az élesztőtörzsek 15 fajból származnak és hét különböző nemzetséghez tartoznak. Ezek közül én 3 élesztőfaj törzseit emelem ki, amelyeket 2. táblázatban tüntettem fel. A kísérletek során kontrollként SafAle S-04 (*S. cerevisiae*) kereskedelmi törzset (Fermentis, Lesaffre, Franciaország) használták.

2. táblázat Kísérletben szereplő általam is használt törzsek

| Élesztőtörzs | Faj |
|--------------|---------------------------------|
| CLI 1 | <i>Wickerhamomyces anomalus</i> |
| CLI 64 | <i>Torulaspota delbrueckii</i> |
| CLI 120 | <i>Torulaspota delbrueckii</i> |
| CLI 186 | <i>Torulaspota delbrueckii</i> |
| CLI 330 | <i>Torulaspota delbrueckii</i> |
| CLI 894 | <i>Lachancea thermotolerans</i> |
| CLI 900 | <i>Torulaspota delbrueckii</i> |
| CLI 902 | <i>Torulaspota delbrueckii</i> |
| CLI 918 | <i>Torulaspota delbrueckii</i> |
| CLI 996 | <i>Lachancea thermotolerans</i> |
| CLI 1028 | <i>Wickerhamomyces anomalus</i> |
| 6-5A | <i>Wickerhamomyces anomalus</i> |
| CLI 1232 | <i>Lachancea thermotolerans</i> |
| 9-6C | <i>Lachancea thermotolerans</i> |
| 7A-3A | <i>Torulaspota delbrueckii</i> |
| 19A-10B | <i>Torulaspota delbrueckii</i> |

Az erjesztési vizsgálatok előtt értékelték a 34 törzs maltóz erjesztésére való képességet és a H₂S-termelés szintjét. A Durham-tesztel végzett CO₂-termelés alapján mindössze néhány élesztőtörzs bizonyult maltózpozitívnak (CLI 1, CLI 920, CLI 996, CLI 1232, 9-6C), míg a többi élesztőtörzs maltóznegatív volt. Mind a 34 törzsre vonatkozóan a H₂S-termelés tekintetében a törzsek 38,2%-a magas, 47%-a közepes kén-hidrogén termelést mutatott, míg a törzsek 14,7%-nál figyeltek meg alacsony szintet vagy egyáltalán nem termelt H₂S-t. A maltózt asszimiláló élesztőtörzsek közepes és magas kén-hidrogén termelést mutattak.

A laboratóriumi léptékű erjesztési vizsgálatok során 11,1 °P, pH 5,54, szabad aminonitrogén 232,89 mg/L, keményítő 0,61 g/L, 33 IBU és összes maltóz tartalom 76,33 g/L paraméterekkel rendelkező sörlevet használtak. Az erjesztéseket három párhuzamosban 20 °C-on és 120 fordulat/perc fordulatszámom történő rázatással végezték. Az élesztőtörzseket 10⁶ sejt/ml koncentrációban oltották be.

Az erjesztést követően a maradék cukortartalom tekintetében egyértelmű különbség volt megfigyelhető a maltózt jól hasznosító élesztőtörzsek (kb. 15 g/L maradék maltóz) és azon élesztőtörzsek között, amelyek nem voltak képesek a sörben lévő cukrok jelentős részét metabolizálni (60-79 g/L maradék maltóz).

Három *L. thermotolerans* törzs (CLI 996, és 9-6C, CLI 1232) mutatott kielégítő erjesztőképességet, amelyek a Durham-tesztben is maltózpozitívak voltak, míg a másik *L. thermotolerans* törzs (CLI 894) nem adott jó eredményt. A *T. delbrueckii* és a *W. anomalus* egyéb törzsei is változó mértékben képesek a maltóz fermentálására és asszimilálására. Ez érzékszervi szempontból lényeges, mivel a maradék maltóz édes, viszkózusabb söröket eredményezhet, amelyek hozzájárulnak a testességhez és a szájízhez.

Az etanoltermelés tekintetében az S-04 kereskedelmi törzs mutatta a legjobb teljesítményt 6,3 V/V% értékkel. Az 5,7 V/V% és 3,9 V/V% közötti etanol-tartalommal jellemezhető csoportba a CLI 996, 9-6C és CLI 1232 (*L. thermotolerans* fajhoz tartozó) törzsek, míg a többi törzs abba a csoportba, amelynek etanol-tartalma 1V/V% körül volt. A *L. thermotolerans* fajok a vizsgált törzstől függően változékonyságot mutattak. Emiatt a három törzsből csak kettő volt képes a kontroll törzshöz hasonló alkoholszintet előállítani, míg a törzs (CLI 894, 1,1% v/v) alacsony etanol tartalmú sör előállítására volt alkalmas. A *T. delbrueckii* és a *W. anomalus* is 1% (v/v) körüli etanoltermelést mutatott.

A szerves savak közül a tejsavtermelést emelték ki, ugyanis egyes törzsek fokozott tejsavtermeléssel rendelkeznek. E vegyület koncentrációja a CLI 1232 és 9-6C a *L. thermotolerans* törzseknél volt nagyobb 3283,5 ppm és 2720,5 ppm koncentrációval, míg a CLI 894 és a CLI 996 hasonló értékeket mutatott, mint a többi faj (230,5 ppm és 277 ppm). A *Lachancea* egyedülálló az élesztőnemzedékek között a tejsavtermelő képességében, amely hatással lehet a szájízre. Azonban nem minden *L. thermotolerans* törzs képes magasabb tejsavkoncentrációt termelni, mint ahogy ez kiderül a cikkből is. A többi vizsgált törzs esetében az értékek 150 és 274 ppm között voltak, a kereskedelmi S-04 törzs esetében pedig 263,3 ppm. A keserű értékek tekintetében azt tapasztalták, hogy a legkisebb keserűérték (13,5 IBU) a *L. thermotolerans* CLI 1232 törzsszel erjesztett sörben alakult ki, amelynek valószínűleg az az oka, hogy ez az élesztő volt képes legjobban megkötni a keserűsavakat és egyéb komlóalkotókat, amelyek így a tartály alján az élesztővel együtt kiülepedtek.

A vizsgálatok során még a színt elemezték, amely a sör egyik lényeges minőségi jellemzője. A szín értékek 9,5-22 EBC között volt. Az erjedés során az élesztő anyagcseréje negatívan befolyásolhatja a zavarosságot, a habstabilitást, valamint a sörök színét. A sörök zavarosságát elsősorban szerves komponensek, például fehérjék, polifenolok és szénhidrátok (pl. α -glükánok, β -glükánok) okozzák. A polifenolok az erjedési folyamat során oxidálódhatnak, ami

befolyásolja a sör színét. A legalacsonyabb értékeket a CLI 996 és CLI 1232 törzseknél találták. Ezt más kutatók is megfigyelték a vizsgálataikban, akik a *L. thermotolerans*-szal erjesztett sörben alacsonyabb értékeket figyeltek meg. Ez azonban nem minden *L. thermotolerans* törzs esetében volt megfigyelhető (például a 9-6C esetében nem), ezért törzsfüggő paraméternek tekinthető.

Aromaösszetétel alakulása

A különböző törzsek által termelt összes magasabbrendű alkoholtartalom egyetlen esetben sem haladta meg a kereskedelmi törzs által termelt legmagasabb koncentrációt (119,55 mg/L). A sörök két legjellemzőbb magasabbrendű alkoholja az izo-butanol és az izoamil-alkohol. Az eredmények azt mutatták, hogy a *W. anomalus* törzsek (30,01-45,67 mg/L) a magasabbrendű alkoholok gyenge/közepes termelői voltak a *S. cerevisiae*-vel szemben (119,55 mg/L). A többi vizsgált törzs átlagos termelést mutatott (47,03 és 82,24 mg/L között) az S-04 törzshez képest, bár a *L. thermotolerans* CLI 894, *T. delbrueckii* CLI 902, CLI 918 és 7A-3A törzsek termelése kiemelkedő, annak ellenére, hogy az erjedési folyamat nem fejeződött be.

Az észterek a legmeghatározóbb aromavegyületek a sörben. Ezzel kapcsolatos eredmények azt mutatják, hogy a *L. thermotolerans* CLI 1232 és a 9-6C törzseknek volt a legmagasabb az észtertartalma, ami főként a savanyú sörökben megtalálható komponens, az etil-laktát (vaj- és gyümölcsaroma) magasabb szintjének tulajdonítható. Az etil-hexanoát szintje CLI 996, CLI 1232, 9-6C *L. thermotolerans* és CLI 902, CLI 918 *T. delbrueckii* törzsek esetében küszöbérték feletti volt. Az etil-butirát küszöbértéket a kereskedelmi törzs mellett csak a CLI 1232 haladta meg. Izoamil-acetátot a *L. thermotolerans* és a kereskedelmi törzsekkel erjesztett sörben mutatták ki.

A legtöbb minta tartalmazott zsírsavakat, amelyek magas koncentrációban hozzájárulhatnak a sör savanyú és sós ízéhez, valamint a sajtos és izzadtságos mellékízekhez. A hexánsav, az oktánsav és a dekánsav küszöbértékük (8, 15 és 100 mg/L) felett kellemetlen ízeket hoznak a sörbe. A CLI 512 és CLI 894 törzsek kiemelkedőek voltak a hexánsavtermelés tekintetében, de mindig az érzékelési küszöbérték alatti értéket adták. A kapott oktánsav- és dekánsav mennyiségek az S-04 kontrolltörzs által elért szintek alatt voltak, kivéve a CLI 996 törzset, amely hasonló mennyiségű oktánsavat termelt.

Az aldehid- és ketontermelés tekintetében a törzstől függően eltérő koncentrációkat figyeltek meg, azonban egyik sem haladta meg a küszöbértéket. Az acetoin a diacetil redukciójából

keletkezik, amely egy kevésbé ízaktív vegyület, és magas küszöbértékkel rendelkezik (50 mg/L). E vegyület tekintetében az *L. thermotolerans* CLI 894 törzs nagyobb termelést mutatott, mint a kereskedelmi törzs. Másrészt a *T. delbrueckii* (CLI 902, CLI 918, 7A-3A) és a többi *L. thermotolerans* törzs (CLI 996, 9-6C) alacsonyabb (vagy nulla) koncentrációt mutatott, mint az S-04.

Összességében megállapítható, hogy a CLI 918, 7A-3A, CLI 1232 és 9-6C törzsek markáns, gyümölcsös jegyeket mutattak. A CLI 1232 és a 6-5A törzsek gyümölcsös almaboros jegyekkel tűntek ki. Az érzékszervi elemzés során szinte valamennyi törzs fenolos aromák jelenlétét mutatta ki, a CLI 918, CLI 1028, 6-5A és 9-6C törzsek, valamint az S-04 kontrolltörzs markánsabb profillal rendelkezett. A fenolos aroma azonban integrálódott a többi aromával, nem emelkedett ki azok közül. A *Wickerhamomyces* fajokkal erjesztett sörökben kapott aromaprofilok hasonlóknak tűntek, a domináns leíró jellemző az édesség volt.

***Brettanomyces/Dekkera bruxellensis* fajjal kapcsolatos kísérlet**

Mivel az előzőekben bemutatott kutatásban nem volt *Brettanomyces/Dekkera* faj, ezért úgy gondoltam, hogy bemutatok egy ezzel kapcsolatos vizsgálatot is.

Cioch-Skoneczny és mtsai. (2023) végeztek egy szokatlan kutatást söripari vonatkozásban nem- *Saccharomyces* élesztőket tesztelve. A vizsgálatban a *Saccharomyces cerevisiae* Safale US-05, a *Brettanomyces/Dekkera bruxellensis* 3429 és a *Metschnikowia pulcherrima* MG970690 élesztőtörzseket használták, amelyek a Krakkói Mezőgazdasági Egyetem Fermentációs Technológiai és Mikrobiológiai Tanszékének saját gyűjteményéből származnak. Sörlevekhez szőlőtörkölyt, mustot és szőlőpépet adtak és így vizsgálták az erjedési folyamatokat.

A Summer Ale stílusú sörlé elkészítéséhez 12,8 l vizet 67 °C-ra melegítettek, majd hozzáadtak 3 kg-ot a Viking Pale Ale malátából, 1 kg-ot a Viking Pilsner típusból és 0,25 kg-ot a Viking búza malátából. A kívánt keserűérték (18 IBU) elérése érdekében 25 g Iunga PL 2019 (10% alfasav) és 25 g Crystal US 2017 (3% alfasav) komló pelleteket használtak. A sörlé extrakttartalma 12,1°P lett. Három fajta kísérlet volt és mindháromból 3 mintát vizsgáltak, sima sörlé, sörlé 20% szőlőtörköly/must/pép hozzáadásával és 40% szőlőtörköly/must/pép hozzáadásával. Az erjesztési folyamatot 14 napon keresztül 20 °C-os hőmérsékleten végezték. Az erjesztés előtt megvizsgált sörlé értékeit a 8. ábra tartalmazza.

8. ábra Sörlé pH, szabad aminoszén és szín értékei az erjesztés előtt. (Cioch-Skoneczny és mtsai. 2023)

| Sample | pH | FAN [mg/L] | Color [EBC] |
|--|---------------|---------------|-----------------|
| Wort | 4.64 (± 0.00) | 102 (± 0.50) | 13.8 g (± 0.50) |
| Wort with a 20% addition of grape must | 4.08 (± 0.00) | 124 (± 0.80) | 10.6 f (± 0.26) |
| Wort with a 40% addition of grape must | 3.44 (± 0.00) | 136 (± 0.95) | 10.0 e (± 0.35) |
| Wort with a 20% addition of grape marc | 4.85 (± 0.01) | 97.3 (± 0.56) | 5.79 b (± 0.20) |
| Wort with a 40% addition of grape marc | 4.46 (± 0.01) | 42.1 (± 0.19) | 8.98 d (± 0.20) |
| Wort with a 20% addition of grape pulp | 4.36 (± 0.01) | 85.6 (± 0.59) | 6.68 c (± 0.11) |
| Wort with a 40% addition of grape pulp | 4.28 (± 0.00) | 104 (± 1.20) | 5.30 a (± 0.15) |

Erjesztés utáni vizsgálatok:

Az erjedési folyamatokat tekintve a két nem hagyományos élesztő közül a *D. bruxellensis* alkalmazkodott a leggyorsabban a környezethez a szőlőpépes, -törkölyös és mustos minta esetében, hasonlóan a *S. cerevisiae*-hez. A kiegészítés nélküli sörlé esetében is a *Saccharomyces* kultúra után a *Dekkera* törzs alkalmazkodott a leggyorsabban.

A kiegészítés nélküli sörökben a legalacsonyabb etanol-tartalmat a *D. bruxellensis*-szel erjesztett sörökben figyelték meg (3,32 V/V%). A 20% szőlőpép, must és törköly hozzáadásával készült sörök 4,53 V/V% és 4,91 V/V% közötti alkoholtartalommal rendelkeztek. A szőlőpép, must és törköly nagyobb mértékű (40%) hozzáadása még nagyobb etanoltermeléshez vezetett (5,53 V/V%-tól 5,86 V/V%-ig).

A pH-érték csökkenését az élesztő által termelt metabolitok okozzák, amelyek hozzájárulnak az italok savasságának növeléséhez. A *D. bruxellensis* élesztők sok ecetsavat, valamint kapril- és kaprinsavakat termelnek, így savanyú sörök előállítására használhatók. A legmagasabb pH-értékeket a szőlő hozzáadása nélküli sörökben figyelték meg. A szőlőtörköly, szőlőpép és must hozzáadásával készült változatokban a kémhatás 3,56 és 4,87 közé csökkent. Savak tekintetében a legalacsonyabb szerves savtartalmat a kiegészítés nélküli sörökben figyelték meg, míg a legmagasabbat a szőlőtörkölyt tartalmazó mintákban (40%). Nagy mennyiségű borkősavat is észleltek a 40%-os szőlőpép hozzáadásával készült sörökben a *D. bruxellensis* és *S. cerevisiae* törzsek esetén. Vizsgálataik szintén nem mutattak jelentős különbségeket a borkősavtartalomban a nem erjesztett mintákban és a sörökben, viszont magas ecetsavtartalmat találtak a 20%-os szőlőtörköly hozzáadásával készült sörökben.

A nitrogénvegyületek asszimilációja a kiegészítés nélküli sörökben hasonló volt a *D. bruxellensis* és a *S. cerevisiae* fajokat tekintve (59,5 mg/L, illetve 52,8 mg/L). A szőlőmust és a szőlőtörköly esetében mindkét koncentrációnál jobban teljesített a *Dekkera* élesztő a *Saccharomyces*-vel szemben. Egy tanulmány szerint a *D. bruxellensis* képes az alternatív forrásokból származó nitrogén asszimilálására. Képes a nitrátok felhasználására, ha a tápközeg más forrásai kimerültek. Ez is magyarázza a faj kiemelkedő eredményeit ebben a tekintetben. Az eredmények azt mutatták, hogy a *Dekkera bruxellensis* élesztő a *Saccharomyces cerevisiae* élesztőhöz hasonlóan erjedt. Megállapították, hogy a vizsgált *nem-Saccharomyces* törzsek képesek a szükséges fizikai-kémiai paraméterekkel rendelkező sörök előállítására.

3 Anyagok és módszerek

3.1 Felhasznált élesztőtörzsek

Az általam elvégzett kísérletek során felhasznált élesztőgombákat a Mezőgazdasági és Ipari Mikroorganizmusok Nemzeti Gyűjteményéből kaptam (későbbiekben: NCAIM). Referencia törzsként egy kereskedelmi forgalomban kapható porélesztőt használtam.

3.1.1. *Tolulaspóra delbrueckii*

Az Y.01593-as számú *T. delbrueckii* törzset cirok brandy-ből izolálták.

3.1.2. *Dekkera bruxellensis*

Az általam használt *D. bruxellensis* törzs az Y.01007-es számot kapta, amelyet lambic sör üledékéből szelektáltak.

3.1.3. *Wickerhamomyces anomalus*

Az Y.00545-ös számmal rendelkező törzs volt a *Wickerhamomyces anomalus*, amelynek régi elnevezése *Pichia anomala*. Ezt a leírás alapján sörből izolálták.

3.1.4. *Lachancea thermotolerans*

Az Y.01728-as számú törzs volt a *Lachancea thermotolerans*, amely régebbi elnevezése *Kluyveromyces thermotolerans*. Ebben az esetben szőlőből történt az izoláció.

3.1.5. *Saccharomyces cerevisiae*

A *Saccharomyces pastorianus* törzs esetében egy kereskedelmi forgalomban kapható porélesztőt használtam, melynek száma WS-34/70 volt.

3.2. További felhasznált anyagok

3.2.1. Tápleves és tápagar

A Mezőgazdasági és Ipari Mikroorganizmusok Nemzeti Gyűjteményéből kaptam négy vizsgálandó mintát és a referencia mintát átoltottam és felszaporítottam YEPD (Yeast extract – Peptone – Dextrose) ferdeagaron.

YEPD agar összetétele: 100 ml-re készítve 0,5% élesztőkivonatot, 0,5% peptont, 1% glükózt és 1,5 % agart tartalmazott.

Egyéb vizsgálatok esetében YEPD táplevest alkalmaztam, melynek az elkészítése 100 ml-re vonatkoztatva a fent említett módon történt az 1,5 % agar hozzáadása nélkül.

3.2.2. Komlózatlan sörlé

100 %-ban Pilseni malátából készítettem, amely 11,5 °B extrakt-tartalommal rendelkezett.

3.3. Alkalmazott módszerek

3.3.1. Inokulum készítése

A ferdeagaron lévő tenyészetekből friss tenyészeteket készítettem átoltás segítségével. A vizsgálatok előtt ezekből a friss tenyészetekből egy kacsnyi mennyiséggel beoltottam a sterilizett inokulum tápközeget, amely 150 ml volt. Inokulum tápközegként minden esetben YEPD táplevest használtam. Ezeket a beoltott tápközégeket – *B./D. bruxellensis* törzs kivételével - 18-20 órán keresztül 26-28°C-on rázótermosztátban tartottam. *B./D. bruxellensis* törzs esetében ez az időtartam 38-40 óra volt. Ezt követően Bürker-kamrás sejtszámlálás (MSZ 3640/2-74) segítségével határoztam meg az inokulumban lévő sejtszámokat sejt/ml egységben. Majd ennek tudatában történt az egyes vizsgálatok során a beoltás.

3.3.2. Szénhidrát hasznosítás:

Felhasznált anyagok:

- Előre elkészített YEPD tápleves
- Tápleveshez hozzáadott 6 különböző szénhidrát – 1g/100 ml
- Brómkrezol bíbor indikátor – 10 mg/l
- NaOH a pH beállításához

Módszer leírás:

Ennél a vizsgálatnál csak a négy alternatív sörélesztővel dolgoztam, a *Saccharomyces pastorianus* nem került a minták közé.

A 6 különböző szénhidrátot tartalmazó steril, indikátorral kiegészített, pH=7-re beállított táplevesbe beoltottam a törzseket (~10⁶ sejt/ml). Ahogy a pH változik, úgy fog változni az indikátor által a tápleves színe is. A semleges közeli pH érték miatt eleinte lila színű, de ahogy savassá válik a szénhidrátok felhasználásával a közeg, úgy sárgás színt tapasztaltam.

3.3.3. Szaporodáskinetika

Felhasznált anyagok

- YEPD tápleves
- Komlózatlan sörlé
- Vizsgálendő mikroorganizmusok

Módszer leírás:

Első lépésben mintát vettem a felszaporított oltókultúrából és a sejtszámának a pontos megállapításához Bürker-kamrát használtam. Ezt követően megkaptam a sejtkoncentrációját sejt/ml mértékegységben. Az előkészített 250 ml mennyiségű steril sörlevet $2 \cdot 10^6$ sejt/ml induló sejtszámmal kívántam beoltani. Ennek kiszámításához a keverési egyenletet alkalmaztam:

$$C_1 \cdot V_1 = C_{\text{össz}} \cdot V_{\text{össz}}$$

Az egyenlet alapján kiszámolt inokulum térfogatokkal oltottam be a fermentációs tápközegeket. Ezeket rázóinkubátorban 28°C-on inkubáltam. A szaporodás mértékét az erjesztési vizsgálat alatt optikai denzitás (600 nm-en) méréssel követtem nyomon 2 óránként történő mintavételezéssel. Ahhoz, hogy ezt sejtszámban is ki tudjam fejezni kalibrációs egyenest vettem fel. Ennek a folyamata röviden: Az oltókultúra sejtszuszpenziójából 10 kémcsőbe hígítási sort készítettem, úgy, hogy a minták abszorbanciája 0,7-0,8 érték közé essen 600 nanométeren. Majd spektrofotométerrel meghatároztam a 1-10 kémcsőekben lévő szuszpenziókhoz tartozó abszorbancia értékeket 600 nm-en. Az értékeket Excel táblázatban ábrázolva kaptam meg a kalibrációs egyenest.

A kalibrációs egyenes segítségével meghatározott sejtszámokból megszerkesztettem a szaporodási görbét, valamint kiszámoltam a kinetikai jellemzőket (a szaporodási sebességet (μ) és az osztódások közt eltelt időt, generációs időt (t_{gen})).

3.3.4. Alfasav tolerancia

Módszer elve

A tápközeghez ize-alfasav koncentrációját hozzáadásával vizsgáltuk, hogy általam kialakított keserűértékek mellett milyen mértékben képesek szaporodni az élesztősejtek. Spektrofotométerrel mért adatok alapján a sejtszám változása kalibrációs egyenes segítségével állapítható meg.

Felhasznált anyagok

- Izo-alfasav koncentrátum
- 96%-os Etil alkohol
- YEPD tápleves
- 20 db csavaros lombik

Módszer leírás

1,5 g izo-alfasav koncentrátumot bemértem egy 50 ml-es mérőlombikba, majd jelre töltöttem 96%-os etanollal. 10x-es hígítást végeztem, majd megmértem az optikai denzitását 275 nm-en és ebből számoltam keserűértéket. Majd a kapott IBU érték és a keverési egyenlet segítségével kiszámoltam, hogy mekkora térfogatú oldatra lesz szükség 100, 50, 25, 10 és 0 IBU értékek esetében.

$$C_1 \cdot V_1 = C_{\text{össz}} \cdot V_{\text{össz}}$$

A kapott térfogatokat hozzáadtam a tápközegekhez és lemértem a törzsek nélkül az abszorbanciáját. Ezután beoltottam a mikroorganizmusokkal ($2 \cdot 10^6$ sejtszám) és 24, 48 és 96 óra elteltével is megmértem az OD értéket 600 nm-en.

3.3.5. Alkohol tolerancia

Módszer elve

Az élesztőtörzsek adott alkoholtartalmú tápközegekben való szaporodásának mérésére szolgáló vizsgálat. Spektrofotométerrel mért adatok alapján, kalibrációs egyenes segítségével állapítható meg a tolerancia mértéke.

Felhasznált anyagok

- 96%-os Etil alkohol
- YEPD tápleves
- 12 db lombik

Módszer leírás

Az előre elkészített tápközegből kimértem minden lombikba 30 ml-t. Ezután kiszámoltam, hogy a 96 v/v %-os etilalkoholból mekkora mennyiségre lesz szükség 0%, 5% és 10% esetén.

$$C_1 \cdot V_1 = C_{\text{össz}} \cdot V_{\text{össz}}$$

Az adott mennyiségeket hozzáadtam a tápközegekhez és lemértem az optikai denzitásukat 600 nm-en. Ezután beoltottam $2 \cdot 10^6$ sejtszámmal és szintén mértem az abszorbanciát 600 nm-en 24, 48 és 96 óra elteltével.

3.3.6. Flokkuláció

Módszer elve

A flokkuláció az élesztősejtek összekapcsolódó képessége. Az élesztőszuspenziókhöz a lentebb részletezett oldatok hozzáadásával és spektrofotométer segítségével mérhető a szuspenziók optikai denzitása, amelyből százalékos formában kiszámítható a flokkulációs képesség mértéke.

Felhasznált anyagok

Nátrium-acetát oldat: 500 ml 50 mM-os CH_3COONa -os oldat elkészítéséhez, 43 ml 1 n-os NaOH oldathoz 100 ml 1 n-os ecetsavat adtam, majd kiegészítettem 500 ml-re desztillált vízzel.

EDTA oldat: 500 ml 5 mM-os EDTA oldat készítéséhez 0,94 g EDTA-t oldottam fel desztillált vízben.

Kalcium-kloridos oldat: 500 ml 5 mM-os kalcium-klorid oldathoz 0,74 g CaCl_2 -t oldottam fel desztillált vízben.

Mosó oldat: 1 l mosó oldathoz 500 ml 50 mM-os nátrium acetát és 500 ml 5 mM-os EDTA oldatot kevertem össze, pH-t 4,5-re állítottam be.

Flokkulációs puffer: 1 l pufferhez 500 ml 50 mM-os nátrium-acetát és 500 ml 5 mM CaCl_2 oldatot kevertem össze. A pH-t szintén 4,5-re állítottam.

Módszer leírás

Élesztőtörzsenként 2 db centrifugacsőre volt szükségem, amelyekbe 10-10 ml élesztő szuspenziót tettem és A, B jelzéssel elláttam a csöveket. 900 g-n 10 percig centrifugáltam a mintákat, majd leöntöttem a felülúszót.

Az A jelű csövekbe 8 ml mosó oldatot öntöttem majd újra ugyan olyan körülmények között centrifugáltam. Leöntöttem a felülúszót, majd megismételtem a lépést. Ennek célja a flokkuláció megakadályozása volt. Majd 10 ml desztillált vizet adtam hozzá, vortexeltem és 600 nm-en vizsgáltam az optikai denzitását.

A B jelölésű centrifugacsövekben lévő élesztőhöz az fentihez hasonlóan 8 ml mosó oldatot öntöttem és centrifugáltam, a felülúszó leöntése után kétszer megismételtem ezt a lépést, majd 10 ml desztillált vizet adtam hozzá, szintén centrifugáltam és leöntöttem, majd ezt is megismételtem még egyszer. Ezután 10 ml flokkulációs puffer oldatot adtam hozzá, ezzel elősegítve a sejtek flokkulációját, vortexeltem és ülepedni hagytam 10 peren keresztül. A szuszpenzió felső rétegéből 0,5 ml mintát 4,5 ml desztillált vízbe pipettáztam, majd vizsgáltam spektrofotométerrel szintén 600 nm-en.

Az A és B csövek abszorbanciája alapján lehet következtetni a flokkulációra %-os értékben.

$$\frac{(A - B) \cdot 100}{A} = \text{Flokkuláció \%}$$

3.3.7. Szedimentációs vizsgálat

Módszer elve

A szedimentációs vizsgálat során az élesztősejtek ülepedését vizsgáltam.

Felhasznált anyagok

- Sörlé
- Mérőhengerek (1000 ml űrtartalom)
- YEPD tápleves
- lombik

Módszer leírás

Az élesztősejtek szedimentációját, ülepedését 1 literes mérőhengerekben vizsgáltam. A különböző törzseket YEPD táplevesben folyamatos rázatással felszaporítottam. Az inokulumokból beoltottam az mérőhengerbe kimért 900 ml sörleveket. A sejtszámot a szaporodás kinetika vizsgálatához használt mennyiségek alapján számoltam ki, így nagyjából $2 \cdot 10^6$ sejtszámmal történt a beoltás. Napról napra követtem a sejtek ülepedését. Majd a sörléből és a sörökből különböző időpontokban mintát vettem. Ezeket leszűrtem és Anton Paar segítségével analizáltam a sör paramétereit, amelyből nekem az erjedésfok, az alkoholtartalom és a látszólagos extrakttartalom volt fontos.

4 Eredmények és értékelésük

4.1. Szénhidrát hasznosítás

A mérésem elve, hogy a törzsekkel beoltott táplevesekhez brómkrezol-bíbor indikátort adtam, ami egy sav-bázis indikátor. Savas közegben elszíneződik és az alapvetően lilás színe sárgába fordul.

Az általam kiválasztott 6 db szénhidrát a következő volt: glükóz, melibióz, fruktóz, maltotrióz, maltóz és végül a szacharóz. Ezeket a tápleves összeállításánál vettem figyelembe, az alap recept 100 ml-hez 1% glükózt ír, ezáltal én ezt kémcsőenként az adott cukorral helyettesítettem.

3. táblázat Szénhidráthatyosnítás

| Cukor/törzs | 1007 | | 1593 | | 1728 | | 545 | |
|-------------|------|----|------|-----|------|----|-----|-----|
| Glükóz | ++ | ++ | +++ | +++ | ++ | ++ | +++ | +++ |
| Melibióz | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Fruktóz | - | ++ | +++ | +++ | ++ | ++ | +++ | +++ |
| Maltotrióz | - | + | +++ | +++ | - | - | + | + |
| Maltóz | - | - | +++ | +++ | - | - | ++ | ++ |
| Szacharóz | - | - | +++ | +++ | ++ | ++ | +++ | +++ |

Jelmagyarázat: -:nem hasznosította, +:kis mértékben hasznosította, ++: közepes mértékben hasznosította, +++: kiemelkedően hasznosította az adott szénhidrátot

A 3. táblázat, illetve a 9. ábra alapján kijelenthető, hogy a négy mikroorganizmus közül a 1593-as számú törzs volt az, amelyik az általam kiválasztott cukrok közül egy kivételével mindet kiemelkedően felhasználta anyagcsere tevékenységéhez. Jól látható ugyanakkor az is, hogy a glükózt mindegyik élesztő tudta hasznosítani. Az *B./D. bruxellensis* 1007-es törzs esetében a fruktóz és a maltotrióz hasznosítás tekintetében nem kaptam egyértelmű eredményt, így csak azt jelenthetjük ki, hogy valószínűleg képes az említett cukrokat valamilyen mértékben felhasználni. A *L. thermotolerans* 1728-as törzs esetében azt az eredményt mutatta a kísérlet, hogy képes volt erjeszteni a szacharózt. Ez a cukor egy diszacharid, amely egy glükóz és egy fruktóz molekulából áll össze, így nem meglepő módon a glükózt és a fruktózt is képes volt hasznosítani a vizsgált élesztő. A *W. anomalus* 545-ös számú törzs egyedül a melibiózt nem erjesztette, míg a többi szénhidrátot igen, bár a maltotriózt csak kis mértékben.

9. ábra 1593-as törzs szénhidrát hasznosítása



A szakirodalmi adatok alapján a *B./D. bruxellensis* faj az általam választott szénhidrátok közül a glükózt, fruktózt, szacharózt és maltózt is jól hasznosította. Ennek ellenére az általam vizsgált 1007-es törzs nem használta fel a tápközegből a maltózt és a szacharózt. A glükóz esetében megkaptuk a várt eredményt, a fruktózt tekintve pedig nem kaptunk egyértelmű képet, hiszen a táblázat alapján egyszer egyáltalán nem hasznosította, máskor pedig közepes szinten használta fel a rendelkezésre álló fruktózt.

A *T. delbrueckii* 1593-as törzstől a glükóz, maltóz és a szacharóz hasznosítását vártuk, ahogy az a szakirodalmi részből is kiderül. Azt összehasonlítva az általam végzett kísérlettel maximálisan hozta a kívánt pozitív eredményeket. Mindhárom felsorolt cukrot kiemelkedő mértékben hasznosította. Ezentúl a maltotriózt és a fruktózt is kiválóan felhasználta az anyagcseréje során. Egyedül a melibiózt nem volt képes hasznosítani.

Az általam használt *L. thermotolerans* 1728-as törzs a glükózt, a fruktózt és a szacharózt hasznosította közepes mértékben, amelyet a szakirodalom alapján is vártunk. A melibiózzal kapcsolatos várakozás is beigazolódt, hiszen nem mutatott sárgás elszíneződést a tápközeg. Ugyanakkor a maltózt sem volt képes felhasználni anyagcsere tevékenységéhez az elvárásokkal ellentétben.

A *W. anolamus* 545-ös törzs eltérő mértékben, de felhasználta a glükózt, fruktózt, szacharózt és maltózt, amelyet az irodalmi adatok alátámasztanak. A melibióz hasznosítás is a várt eredményt hozta, hiszen nem használta fel az élesztő a tápközegből.

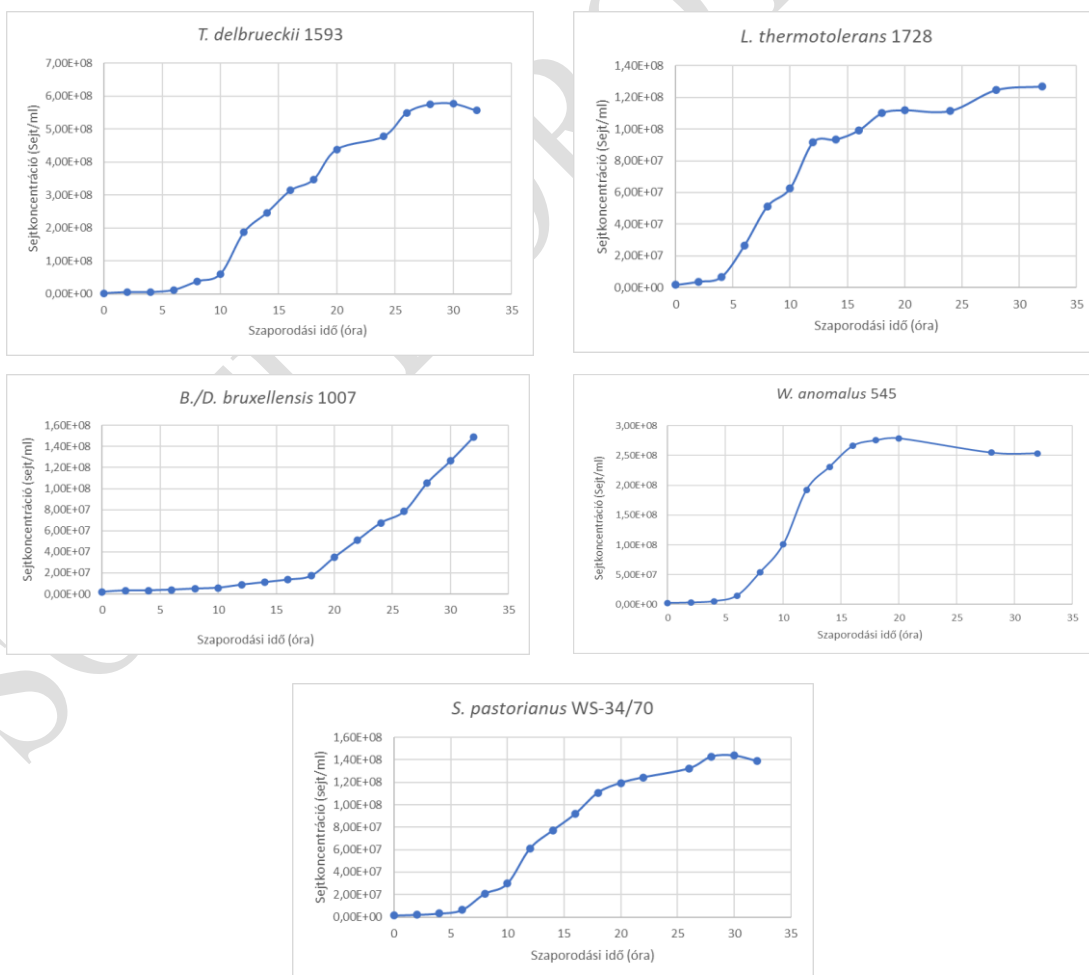
4.2 Szaporodási jellemzők vizsgálata

A kísérletet az általam vizsgált törzsek szaporodási képességének megállapítása miatt kívántam elvégezni. A vizsgálat során egy standard sörlében felvettem az élesztők szaporodási görbéit és ez alapján szaporodás-kinetikai jellemzőket számoltam. A sörlé egy kifejezetten

ideális közeg, vagyis tartalmazza mindazon tápanyagokat, amelyek szükségesek az élesztők szaporodásához.

A sörléhez, mint tápközeghez, illetve az adott körülményekhez leggyorsabban az *L. thermotolerans* 1728-as törzs alkalmazkodott, ugyanis ahogy a 10. ábrán is látható a vizsgálat 6. órájában már exponenciális szakaszban volt az élesztő. Ekkor $2,66 \cdot 10^7$ sejt/ml sejtkoncentráció volt tapasztalható ennél a törzsnél, míg a hagyományos *Saccharomyces* esetében a 6. órában még jóval kisebb, $6,30 \cdot 10^6$ sejt/ml volt a koncentráció. A *L. thermotolerans* törzsnél viszonylag szakaszosnak látszik a szaporodás vége, (több lassú szaporodási szakasz tapasztalható), tehát kis mértékben növekszik a sejtszám, majd stagnál, utána megint növekszik és megint stagnál. Ez akár annak is lehet köszönhető, hogy valamely tápanyagforrás kimerült, így saját magának kellett előállítania a szaporodáshoz szükséges vegyületeket.

10. ábra Szaporodási görbék az egyes törzsekhez



A *Torulaspora* (1593) törzsnél a 10. óránál kezdődött a gyorsuló exponenciális fázis $6,08 \cdot 10^7$ sejt/ml sejtkoncentrációval. A *Brettanomyces/Dekkera bruxellensis* (1007 kultúra) volt a leglassabb mind közül, amely 18 órás lappangási szakaszt jelentett. Az inokulum készítése folyamán már lehetett látni, hogy ez a törzs szaporodik a leglassabban, így nem meglepő ez az eredmény. Ezen a törzsen kívül látszólag mindegyik elérte a stacioner fázist 30-32 óra körül. A legmagasabb sejtkoncentrációt a *T. delbrueckii* érte el $5,56 \cdot 10^8$ sejt/ml. Ebben a fázisban az élő és holt sejtek egyensúlyban vannak. Az 1007-es törzset, ha tovább vizsgáltuk volna, lehet, hogy még egy rövid szakaszon folytatódott volna az exponenciális fázis.

4. táblázat Vizsgált törzsek szaporodási sebessége és generációs ideje

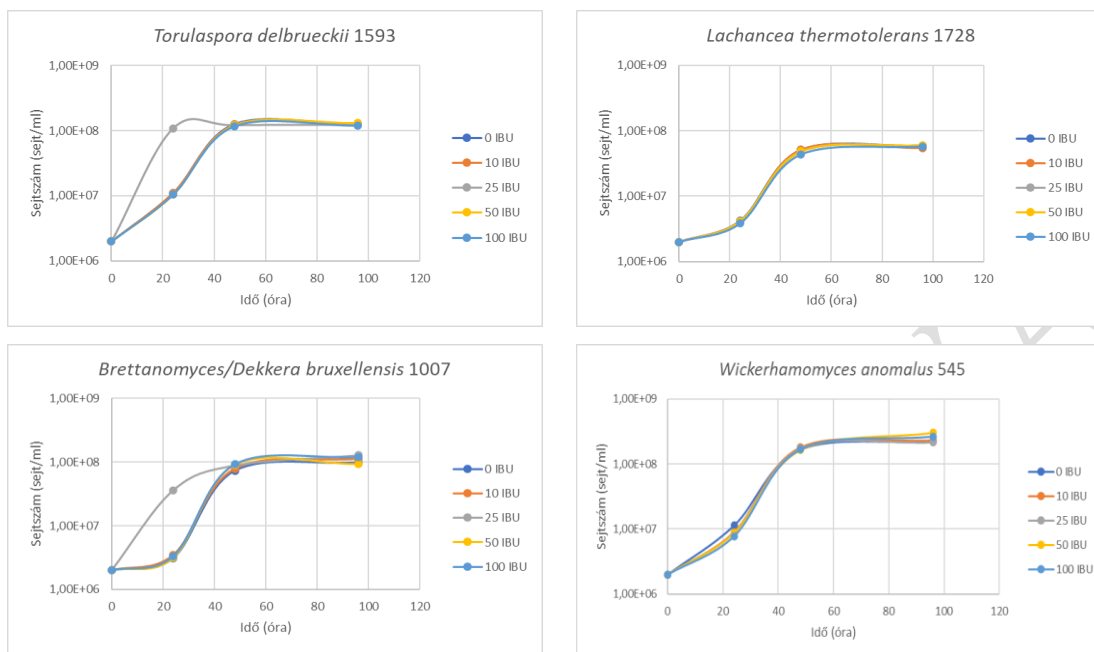
| Élesztőtörzs | Szaporodási sebesség (1/h) | Generációs idő (h) |
|--------------|----------------------------|--------------------|
| 1593 | 0,07 | 9,9 |
| 1728 | 0,20 | 3,5 |
| 1007 | 0,11 | 6,3 |
| 545 | 0,20 | 3,5 |
| WS-34/70 | 0,15 | 4,62 |

Az exponenciális szakaszban szaporodási sebességeket tekintve a *Torulaspora delbrueckii* (1593) volt a leglassabb a nem-*Saccharomyces* fajok közül. Ahogy 4. táblázatban lévő adatokból látszik az is, hogy a *W. anomalus*, illetve a *L. thermotolerans* szaporodása volt a leggyorsabb. A *Saccharomyces pastorianus* törzsnél is gyorsabban szaporodott ez a két alternatív törzs.

4.3. Alfasav tolerancia

A módszer leírásban említettek alapján vizsgáltam az alfasav toleranciát a négy élesztőtörzs esetében. Négy féle keserűértéket vizsgáltam: 0, 10, 25, 50, 100 IBU.

11. ábra Sejtkoncentráció változása az idő függvényében különböző keserűértékek esetében



Elmondhatjuk a 11. ábra alapján, hogy nem volt számottevő különbség a különböző alfasav koncentrációk között, hasonló tendenciákat figyeltem meg, tehát a vizsgált élesztők ugyan olyan mértékben szaporodtak 0 IBU értéken, mint 100 IBU-n. A *T. delbrueckii* 1593 és a *B/D bruxellensis* 1007-es törzsek esetében viszont egy nem megmagyarázható tendenciát tapasztaltam, ugyanis 25 IBU-s mintánál ezek a törzsek meredekebb exponenciális szakaszt adtak a 0. és a 48. időintervallum között. A 1007-es törzs sejtkoncentrációja a 24. órában $3,62 \cdot 10^7$ sejt/ml volt, a 1593-as törzs esetében pedig $1,08 \cdot 10^8$ sejt/ml. Ezek körülbelül egy nagyságrenddel magasabb értékek, mint a többi keserűértéknél tapasztalt koncentrációk. Úgy tűnik, hogy ezek a törzsek gyorsabban alkalmazkodtak ezen körülményekhez.

Összességében megállapítható, hogy az általam választott alfasav koncentrációk nem befolyásolták a törzsek szaporodását, ebből kifolyólag az iparban bármekkora IBU értéket alkalmazhatnak.

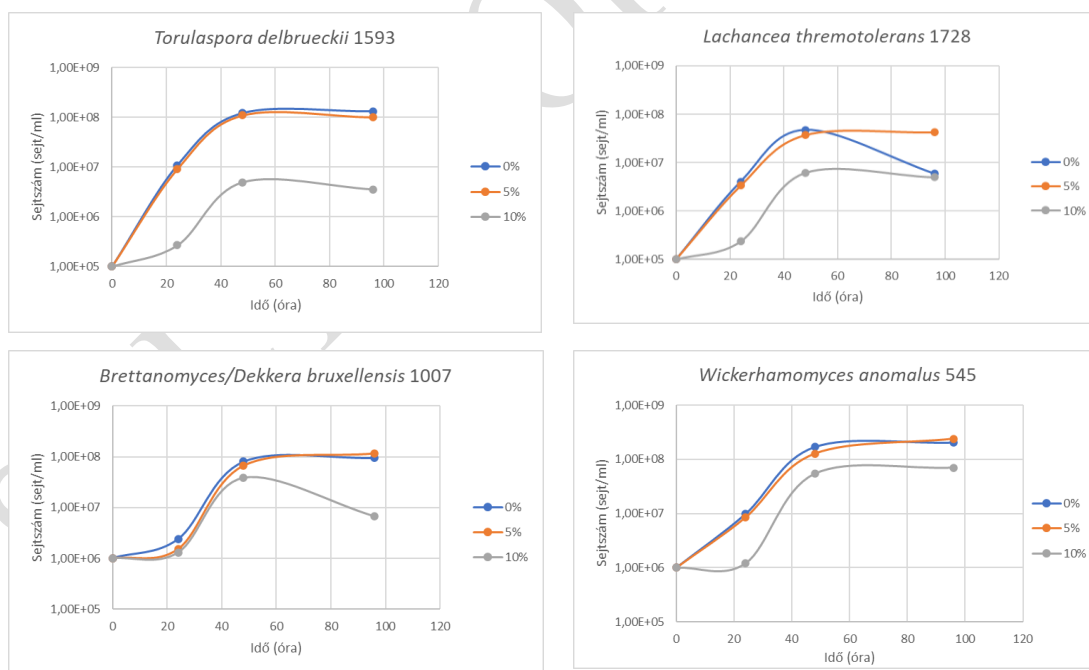
4.4. Alkohol tolerancia

Ahogy a többi kísérletnél, itt is a módszer leírás alapján elkészített mintáknak 600 nm-en mértem az optikai denzitását, majd a kalibrációs egyenesek segítségével felvettem szaporodási görbéket, amely a 12. ábrán látható. Az alkoholmentes és az 5 V/V % alkoholtartalmú minták között nem volt jelentős a különbség. A 10 V/V%-os alkoholkoncentráció már különböző

mértékben befolyásolta az élesztőtörzsek szaporodását. A *B./D. bruxellensis* (1007) alkalmazkodott a legnehezebben az alkoholos körülményekhez. A kezdeti $1 \cdot 10^6$ sejt/ml sejtkoncentráció a 24. órára az 5 V/V%-os közegben csak $1,52 \cdot 10^6$ sejt/ml-re volt képes felszaporodni. Ezzel szemben a többi törzsnél több, mint egy nagyságrendnyi sejtkoncentráció növekedés volt tapasztalható. Példaként említve a *T. delbrueckii* törzset, amelynél a kezdeti $1 \cdot 10^5$ sejt/ml koncentráció $9,07 \cdot 10^6$ sejt/ml-re emelkedett.

A szakirodalomban említett (Porter, Divol, és Setati 2019) munkája alapján a *L. thermotolerans* faj képes 5-9 V/V% alkoholtartalmat tolerálni és 9 V/V%-os közegben több napig túlélni. Az én kísérletem eredménye azt mutatja, hogy 5 V/V%-os közegben normál módon szaporodik és képes túlélni több, mint egy napig, azonban a 10 V/V%-os alkoholtartalmat már nehezen tudta megszokni és nem is tolerálta sokáig. A 12. ábra alapján ellentmondást láthatunk az alkoholmentes közeget illetően a *L. thermotolerans* törzsnél. A látszólagos hanyatlás következhet mérési hibából is, ha nem lett vortex segítségével kellően homogenizálva a szuszpenzió.

12. ábra Alkohol tolerancia vizsgálati szaporodási görbék



4.5 Flokkuláció

A megadott EBC módszer alapján vizsgáltam a flokkulációt. Az előkészített minták optikai denzitását 600 nm-en spektrofotométer segítségével mértem meg. Az egyes mérési fázisokban kapott adatokat tüntettem fel az 5. táblázatban.

5. táblázat 600 nm-en mért OD értékek flokkuláció vizsgálatához

| A oldat | Abs | B oldat | Abs |
|----------|-------|----------|-------|
| 1007 | 1.991 | 1007 | 0.301 |
| 1593 | 2.174 | 1593 | 0.769 |
| 1728 | 1.900 | 1728 | 0.468 |
| 545 | 2.185 | 545 | 0.799 |
| WS-34/70 | 2.157 | WS-34/70 | 0.071 |

Az alábbi képlet és az 5. táblázatban szereplő adatok alapján kiszámoltam a flokkuláció százalékos értékét, amelynek eredményei a 6. táblázatban találhatóak.

$$\frac{(A - B) \cdot 100}{A} = \text{Flokkuláció \%}$$

6. táblázat Flokkuláció %

| Törzsek | Flokkuláció % |
|----------|---------------|
| 1007 | 84,9 |
| 1593 | 64,6 |
| 1728 | 75,4 |
| 545 | 63,4 |
| WS-34/70 | 96,7 |

A flokkuláció számszerűsítésére szolgáló jelenlegi protokollok többsége a flokkuláló kultúrában lévő szabad sejtek számán alapul, amelyet összehasonlítanak az összes sejt számával. Az legtöbb ipari sörélesztő az erjedés vége felé 40-90 %-os flokkulációt mutat (Verstrepen és mtsai. 2003).

A WS-34/70 eredménye lett a legkiemelkedőbb, nem véletlenül, ez volt a referencia törzs, azaz a *Saccharomyces pastorianus*. Az *W. anomalus* (545) és a *T. delbrueckii* (1593) törzsek hasonló mértékben flokkuláltak, de összességében jelentősen eltértek a *S. pastorianus* élesztőgombától.

A *B./D. bruxellensis* (1007) szintén viszonylag eltér a hagyományos sörélesztőtől, de nem akkora mértékben, mint az előbb említett minták.

4.6. Szedimentációs vizsgálat

Szedimentáció alatt mért adatok

Beoltottam a sörleveket az élesztőtörzsekkel, majd a harmadik, a tizedik és tizennegyedik napokon mintát vettem, majd ezeket Anton Paar söranalizátor segítségével vizsgáltam. A 7. táblázatban láthatóak a kapott adatok a termelt alkohol mennyiséget, a látszólagos extraktot és az erjedésfokot tekintve.

7. táblázat Sörök analitikai paraméterei az egyes törzsek esetében

| Beoltástól számított időpont | Törzs | Alkohol [%V/V] | Ea Látszólagos extrakt [m/m%] | Látszólagos Erjedésfok [%] |
|------------------------------|-------|----------------|-------------------------------|----------------------------|
| 0. nap | Sörlé | 0,00 | 11,29 | 0,00 |
| 3. nap | 1007 | - | - | - |
| 3. nap | 545 | 0,36 | 10,84 | 5,68 |
| 3. nap | 1593 | 1,21 | 9,18 | 19,52 |
| 3. nap | 1728 | 1,27 | 8,63 | 21,48 |
| 3. nap | 34/70 | 5,02 | 2,32 | 80,34 |
| 10. nap | 1007 | 1,74 | 8,14 | 28,37 |
| 10. nap | 545 | 0,72 | 10,14 | 11,53 |
| 10. nap | 1593 | 3,87 | 4,33 | 62,58 |
| 10. nap | 1728 | 2,97 | 5,52 | 50,21 |
| 10. nap | 34/70 | 5,18 | 2,28 | 80,63 |
| 14 nap | 1007 | 2,98 | 5,83 | 48,84 |
| 14 nap | 545 | 0,82 | 9,95 | 13,22 |
| 14 nap | 1593 | 4,34 | 3,48 | 70,08 |
| 14 nap | 1728 | 3,3 | 4,96 | 55,51 |
| 14 nap | 34/70 | 5,1 | 2,26 | 80,92 |

Söripari tekintetben megfelelő végerjedésfok 70-80% között mozog, az én vizsgálatom esetében csak a *S. pastorianus* (WS-34/70) törzs érte el a 80%-os erjedésfokot. A *T. delbrueckii* (1593) törzs volt a nem-hagyományos élesztőtörzsek közül a legkiemelkedőbb, ugyanis 70,08%-os értéket ért el, ami már beleesik az ideális tartományba. A többi törzs közül a *W.*

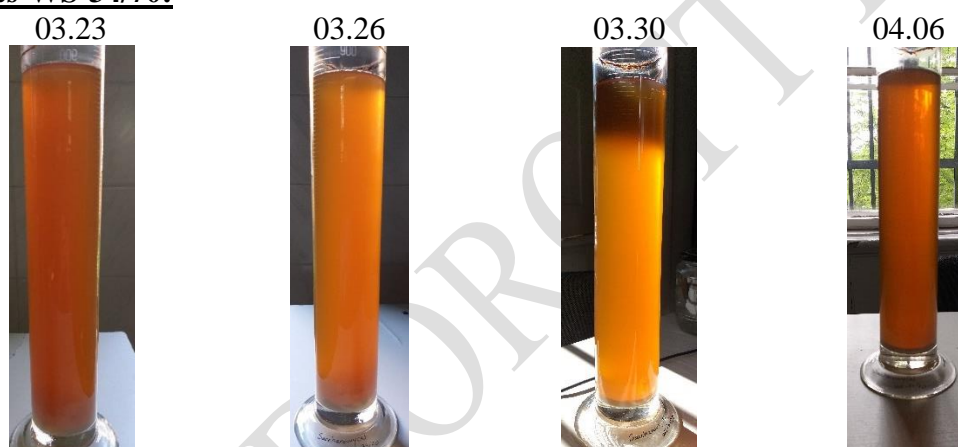
anomalus (545) erjesztett a legrosszabbul, és a látszólagos extraktértéke is nagyobb volt a többinél.

Szedimentáció mértéke a vizsgált időpontokban:

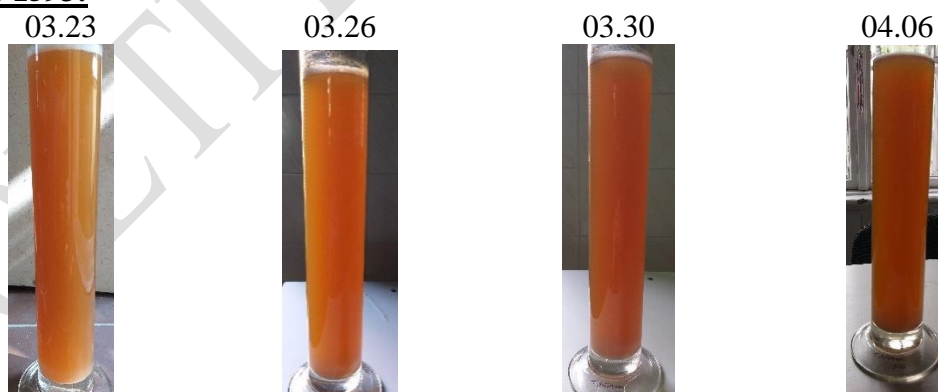
Az előbb említett beoltott a sörleveket használtam. Ezesetben a harmadik, a tizedik és tizenhatodik napokon néztem meg a szedimentáció mértékét. Az utolsó három napon 0-4°C között voltak tárolva a minták.

13. ábra Szedimentáció az egyes törzsek esetében

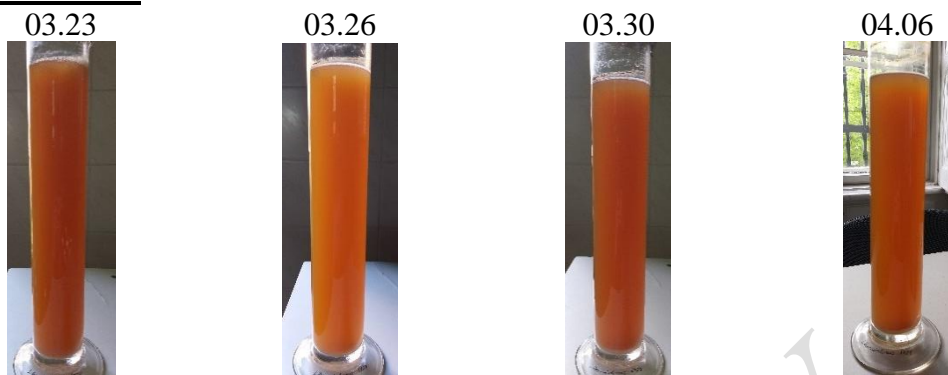
S. pastorianus WS-34/70:



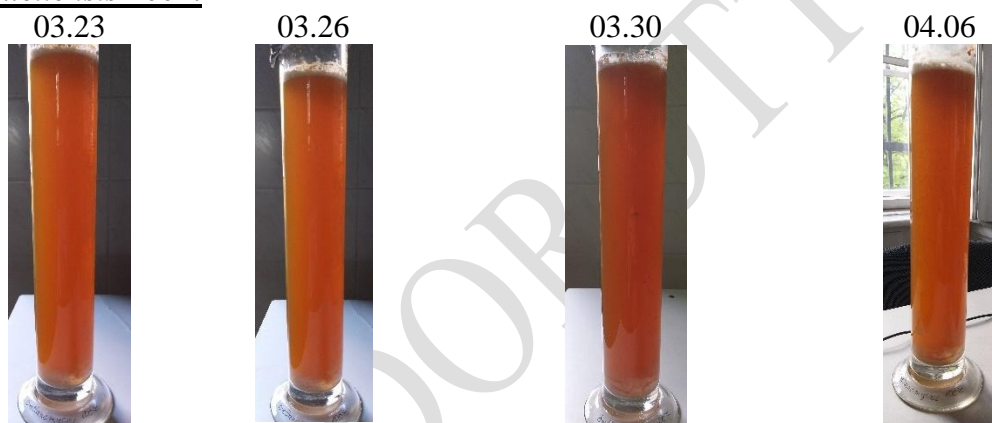
T. delbrueckii 1593:



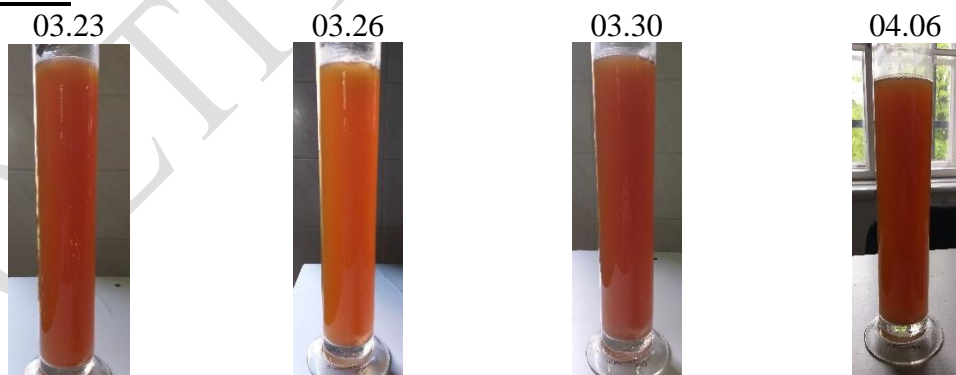
L. thermotolerans 1728:



B./D. bruxellensis 1007:



W. anomalus 545:



Szedimentáció lezajlása a 13. ábrán is látható, hogy egyedül a *Saccharomyces* (WS-34/70) törzsnél történt meg. A tizedik napon készült kép alapján látható, hogy elkezdődött a kiüledési folyamat, majd a szedimentáció teljesen végbement a következő mintavételi időpontra, amelyhez az alacsony hőfokon tartás is hozzásegített.

A többi törzs esetében ez nem mondható el. Az élesztő sejtek nem kezdtek el kiüledni, annak ellenére, hogy a *B./D. bruxellensis* 1007-es törzs kiemelkedő flokkulációs képességet mutatott. A flokkuláció és a szedimentáció akkor kezdődik meg, amikor a sörből kimerültek a tápanyagok, amelyről a *nem-Saccharomyces* törzsek esetében nem beszélhetünk.

SOLTI DOROTTYA

5 Összefoglalás

A vizsgálataim célja az volt, hogy feltárjam milyen fiziológiai tulajdonságokkal, toleranciával rendelkeznek az általam vizsgált *nem-Saccharomyces* élesztőtörzsek. Egyszerűen fogalmazva alkalmasak-e söripari alkalmazásra.

A szénhidrát hasznosítás tekintetében összességében elmondható, hogy a *T. delbrueckii* 1593-as élesztőtörzs tudta a legnagyobb mértékben hasznosítani az anyagcsere tevékenységéhez az általam vizsgált szénhidrátokat. A maltóz található meg legnagyobb arányban a sörlében, így kifejezetten előny, ha ezt kiemelkedő mértékben képes hasznosítani az élesztő. A szedimentáció során mért analitikai adatok azt is mutatják, hogy a látszólagos extrakt értéke a nem-hagyományos élesztőtörzsek közül a legalacsonyabb volt, és a legközelebb esett a *Saccharomyces* törzsnél mutatkozó értékhez. Annak ellenére, hogy a *W. anomalus* szinte minden cukrot felhasznált valamilyen mértékben, mégis ennek a törzsnek lett a legalacsonyabb az erjedésfoka, ezáltal alkoholt is ez a törzs termelt a legkisebb mértékben.

A szaporodási jellemzőket tekintve az összes törzs 6-10 óra alatt alkalmazkodott a tápközeghez és elkezdett exponenciálisan szaporodni. Kivételt képez a *B./D. bruxellensis*, hiszen ennek a törzsnek több időre, 18-20 órára volt szüksége az alkalmazkodáshoz. Ez a lassabb tendencia a további vizsgálataim során is mutatkozott. Azonban kicsivel nagyobb sejtkoncentrációt ért el néhány társánál az exponenciális szakasz végére, a *Saccharomyces*-nél is nagyobbat.

Az alfasav toleranciát tekintve nagyjából azonos mértékben tudtak alkalmazkodni a tápközegekhez a különböző törzsek, nem tapasztaltam számottevő különbségeket. Elmondható, hogy nem befolyásolta a szaporodásukat még az általam vizsgált legmagasabb 100 IBU keserűérték sem.

Az alkohol toleranciát említve az 5 V/V%-ot hasonlóan jól tolerálta az összes vizsgált törzs, míg a 10 V/V% esetében már különböző mértékben voltak képesek alkalmazkodni.

Flokkuláció mértékét tekintve az ipari törzsek irodalmi hivatkozások alapján 40-90%-ban flokkulálnak. Az általam kapott eredmények mindegyike beleesett ebbe a tartományba, így kijelenthető, hogy a vizsgált törzsek jó flokkulációs képességgel rendelkeznek. A legkiemelkedőbb a hagyományos sörélesztő volt, azonban a *B./D. bruxellensis* a *Saccharomyces*-éhez közeli, magas érteket mutatott.

Szedimentációt tekintve gyakorlatilag egyik törzsnél sem volt tapasztalható ülepedés az alternatív törzsek közül még hűtés hatására sem. Egyedül a *Saccharomyces* törzsről mondható

el, hogy végbement a teljes szedimentáció és kitisztult a sör. A vizsgálat során kapott analitikai adatok alapján az is elmondható, hogy kis mennyiségű alkoholt termelnek ezek a törzsek.

Leginkább a *Torulaspóra delbrueckii* esetében kaptam közeli értékeket a hagyományos, söriparban leggyakrabban használt láger élesztőhöz, a *Saccharomyces pastorianus*-hoz. Mivel alkoholt kis mértékben termelnek, így alkalmasak lehetnek alacsony alkoholtartalmú sörök előállítására. Illetve a keserűérték tekintetében is nagyobb teret kapnak a sörfőzők, hiszen nem befolyásolta a törzsek szaporodását az alfasav koncentráció. Összességében a vizsgálataim alapján kijelenthető, hogy söripari alkalmazásra alkalmas lehet mindegyik törzs.

SOLTI DOROTTYA

6 Irodalmi hivatkozás

- Agnolucci, Monica, Antonio Tirelli, Luca Cocolin, és Annita Toffanin. 2017. „Brettanomyces Bruxellensis Yeasts: Impact on Wine and Winemaking”. *World Journal of Microbiology & Biotechnology* 33(10): 180. doi:10.1007/s11274-017-2345-z.
- Bavcon Kralj, M., T. Jug, M. Sternad Lemut, és L. Butinar. 2010. „Brettanomyces - deleterious wine yeasts.” *SAD, Revija za Sadjarstvo, Vinogradništvo in Vinarstvo* 21(5): 20–22.
- Canonico, Laura, Alice Agarbati, Francesca Comitini, és Maurizio Ciani. 2016. „Torulaspora Delbrueckii in the Brewing Process: A New Approach to Enhance Bioflavour and to Reduce Ethanol Content”. *Food Microbiology* 56: 45–51. doi:10.1016/j.fm.2015.12.005.
- Cioch-Skoneczny, Monika, Katarzyna Królak, Zuzanna Tworzydło, Paweł Satora, és Szymon Skoneczny. 2023. „Characteristics of Beer Brewed with Unconventional Yeasts and Addition of Grape Must, Pulp and Marc”. *European Food Research and Technology* 249(3): 699–711. doi:10.1007/s00217-022-04166-w.
- Conterno, Lorenza, C. M. Lucy Joseph, Torey J. Arvik, Thomas Henick-Kling, és Linda F. Bisson. 2006. „Genetic and Physiological Characterization of Brettanomyces Bruxellensis Strains Isolated from Wines”. *American Journal of Enology and Viticulture* 57(2): 139–47. doi:10.5344/ajev.2006.57.2.139.
- Domizio, P., J. F. House, C. M. L. Joseph, L. F. Bisson, és C. W. Bamforth. 2016. „Lachancea Thermotolerans as an Alternative Yeast for the Production of Beer†”. *Journal of the Institute of Brewing* 122(4): 599–604. doi:10.1002/jib.362.
- Fernandes, Ticianá, Flávia Silva-Sousa, Fábio Pereira, Teresa Rito, Pedro Soares, Ricardo Franco-Duarte, és Maria João Sousa. 2021. „Biotechnological Importance of Torulaspora Delbrueckii: From the Obscurity to the Spotlight”. *Journal of Fungi* 7(9): 712. doi:10.3390/jof7090712.
- Hranilovic, Ana, Marina Bely, Isabelle Masneuf-Pomarede, Vladimir Jiranek, és Warren Albertin. 2017. „The Evolution of Lachancea Thermotolerans Is Driven by Geographical Determination, Anthropisation and Flux between Different Ecosystems”. *PLOS ONE* 12(9): e0184652. doi:10.1371/journal.pone.0184652.
- Internet1: Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) Brite:
([KEGG GENOME: Torulaspora delbrueckii](#) 2024.04.18.)
- Kurtzman, Cletus P. 2011. „Chapter 80 - Wickerhamomyces Kurtzman, Robnett & Basehoar-Powers (2008)”. In *The Yeasts (Fifth Edition)*, szerk. Cletus P. Kurtzman, Jack W. Fell, és Teun Boekhout. London: Elsevier, 899–917. doi:10.1016/B978-0-444-52149-1.00080-X.

- Lachance, M. A. 1998. „36 - *Kluyveromyces van der Walt* emend. van der Walt”. In *The Yeasts (Fourth Edition)*, szerk. Cletus P. Kurtzman és Jack W. Fell. Amsterdam: Elsevier, 227–47. doi:10.1016/B978-044481312-1/50040-X.
- Lachance, Marc-André, és Cletus P. Kurtzman. 2011. „Chapter 41 - *Lachancea Kurtzman* (2003)”. In *The Yeasts (Fifth Edition)*, szerk. Cletus P. Kurtzman, Jack W. Fell, és Teun Boekhout. London: Elsevier, 511–19. doi:10.1016/B978-0-444-52149-1.00041-0.
- Michel, Maximilian, Jana Kopecká, Tim Meier-Dörnberg, Martin Zarnkow, Fritz Jacob, és Mathias Hutzler. 2016. „Screening for New Brewing Yeasts in the Non-Saccharomyces Sector with *Torulaspora Delbrueckii* as Model”. *Yeast (Chichester, England)* 33(4): 129–44. doi:10.1002/yea.3146.
- Miguel, Gabriela A., Simon Carlsen, Nils Arneborg, Sofie M. G. Saerens, Svend Laulund, és Gitte M. Knudsen. 2022. „Non-Saccharomyces yeasts for beer production: Insights into safety aspects and considerations”. *International Journal of Food Microbiology* 383: 109951. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2022.109951.
- Morata, Antonio, Iris Loira, Wendu Tesfaye, María Antonia Bañuelos, Carmen González, és José Antonio Suárez Lepe. 2018. „*Lachancea Thermotolerans* Applications in Wine Technology”. *Fermentation* 4(3): 53. doi:10.3390/fermentation4030053.
- Ogawa, Minami, Florin Vararu, Jaime Moreno-García, Juan Carlos Mauricio, Juan Moreno, és Teresa García-Martínez. 2022. „Analyzing the Minor Volatilome of *Torulaspora Delbrueckii* in an Alcoholic Fermentation”. *European Food Research and Technology* 248(2): 613–24. doi:10.1007/s00217-021-03910-y.
- Padilla, Beatriz, Jose V. Gil, és Paloma Manzanares. 2018. „Challenges of the Non-Conventional Yeast *Wickerhamomyces Anomalus* in Winemaking”. *Fermentation* 4(3): 68. doi:10.3390/fermentation4030068.
- Porter, Tristan Jade, Benoit Divol, és Mathabatha Evodia Setati. 2019. „*Lachancea* yeast species: Origin, biochemical characteristics and oenological significance”. *Food Research International* 119: 378–89. doi:10.1016/j.foodres.2019.02.003.
- Ramírez, Manuel, és Rocío Velázquez. 2018. „The Yeast *Torulaspora Delbrueckii*: An Interesting But Difficult-To-Use Tool for Winemaking”. *Fermentation* 4(4): 94. doi:10.3390/fermentation4040094.
- Santiago, Carolina, Teresa Rito, Daniel Vieira, Ticiane Fernandes, Célia Pais, Maria João Sousa, Pedro Soares, és Ricardo Franco-Duarte. 2021. „Improvement of *Torulaspora Delbrueckii* Genome Annotation: Towards the Exploitation of Genomic Features of a Biotechnologically Relevant Yeast”. *Journal of Fungi* 7(4): 287. doi:10.3390/jof7040287.
- Schifferdecker, Anna Judith, Sofia Dashko, Olena P. Ishchuk, és Jure Piškur. 2014. „The Wine and Beer Yeast *Dekkera Bruxellensis*”. *Yeast* 31(9): 323–32. doi:10.1002/yea.3023.

Simões, João, Eduardo Coelho, Paulo Magalhães, Tiago Brandão, Pedro Rodrigues, José António Teixeira, és Lucília Domingues. 2023. „Exploiting Non-Conventional Yeasts for Low-Alcohol Beer Production”. *Microorganisms* 11(2): 316. doi:10.3390/microorganisms11020316.

Verstrepen, K. J., G. Derdelinckx, H. Verachtert, és F. R. Delvaux. 2003. „Yeast Flocculation: What Brewers Should Know”. *Applied Microbiology and Biotechnology* 61(3): 197–205. doi:10.1007/s00253-002-1200-8.

SOLTIDOROTTYA

7 Ábrák és táblázatok jegyzéke

7.1 Ábrák jegyzéke

| | | |
|----------|---|----|
| 1. ábra | Publikált tanulmányok aránya az elmúlt évek alatt (Miguel és mtsai. 2022)..... | 4 |
| 2. ábra | <i>Torulaspora</i> előfordulása (Fernandes és mtsai. 2021) | 5 |
| 3. ábra | <i>T. delbrueckii</i> szaporodása (Ramírez és Velázquez 2018) | 6 |
| 4. ábra | <i>B./D. bruxellensis</i> (Schifferdecker és mtsai. 2014) | 10 |
| 5. ábra | Aszkospóraszerű tenyészet 5%-os malátakivonat-agaron (Kurtzman 2011) | 14 |
| 6. ábra | <i>W. anomalus</i> hasznosítási képessége különböző összetevők tekintetében (Kurtzman 2011)..... | 15 |
| 7. ábra | <i>L. thermotolerans</i> mikroszkópos képe (Morata és mtsai. 2018) | 18 |
| 8. ábra | Sörlé pH, szabad aminonitrogén és szín értékei az erjesztés előtt. (Cioch-Skoneczny és mtsai. 2023) | 24 |
| 9. ábra | 1593-as törzs szénhidrát hasznosítása | 33 |
| 10. ábra | Szaporodási görbék az egyes törzsekhez..... | 34 |
| 11. ábra | Sejtkoncentráció változása az idő függvényében különböző keserűértékek esetében..... | 36 |
| 12. ábra | Alkohol tolerancia vizsgálati szaporodási görbék..... | 37 |
| 13. ábra | Szedimentáció az egyes törzsek esetében..... | 40 |

7.2 Táblázatok jegyzéke

| | | |
|-------------|--|----|
| 1. táblázat | <i>T. delbrueckii</i> és <i>S. cerevisiae</i> savtermelése (Fernandes és mtsai. 2021)..... | 7 |
| 2. táblázat | Kísérletben szereplő általam is használt törzsek..... | 20 |
| 3. táblázat | Szénhidráthasznosítás | 32 |
| 4. táblázat | Vizsgált törzsek szaporodási sebessége és generációs ideje..... | 35 |
| 5. táblázat | 600 nm-en mért OD értékek flokkuláció vizsgálatához | 38 |
| 6. táblázat | Flokkuláció % | 38 |
| 7. táblázat | Sörök analitikai paraméterei az egyes törzsek esetében | 39 |

8 Köszönetnyilvánítás

Köszönetet szeretnék mondani konzulenseimnek Dr. Kun-Farkas Gabriella, egyetemi docensnek és Dr. Kun Szilárd egyetemi docensnek, akiknek segítségével elkészülhetett a szakdolgozatom.

Továbbá szeretném megköszönni a Biomérnök és Erjedéssipari Technológia Tanszéknek, hogy rendelkezésemre bocsátotta az összes eszközt és berendezést, amelyeket felhasználtam vizsgálataim során.

SOLTI DOROTTYA

9 Nyilatkozatok

NYILATKOZAT

szakdolgozat nyilvános hozzáféréséről és eredetiségéről

| | |
|---------------------------------|---|
| A hallgató neve: | Solti Dorottya |
| A Hallgató Neptun kódja: | AUUL2X |
| A dolgozat címe: | Alternatív (nem- <i>Saccharomyces</i>) élesztők vizsgálata söripari termékfejlesztés céljából |
| A megjelenés éve: | 2024 |
| A konzulens intézetének neve: | Élelmiszertudományi és Technológiai Intézet |
| A konzulens tanszékének a neve: | Biomérvnök és Erjedésipari Technológia Tanszék |

Kijelentem, hogy az általam benyújtott szakdolgozat egyéni, eredeti jellegű, saját szellemi alkotásom. Azon részeket, melyeket más szerzők munkájából vettem át, egyértelműen megjelöltem, és az irodalomjegyzékben szerepeltettem.

Ha a fenti nyilatkozattal valótlan állítottam, tudomásul veszem, hogy a záróvizsga-bizottság a záróvizsgából kizár és a záróvizsgát csak új dolgozat készítése után tehetek.

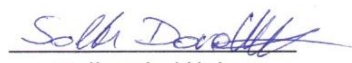
A leadott dolgozat, mely PDF dokumentum, szerkesztését nem, megtekintését és nyomtatását engedélyezem.

Tudomásul veszem, hogy az általam készített dolgozatra, mint szellemi alkotás felhasználására, hasznosítására a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem mindenkori szellemitulajdon-kezelési szabályzatában megfogalmazottak érvényesek.

Tudomásul veszem, hogy dolgozatom elektronikus változata feltöltésre kerül a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem könyvtári repozitori rendszerébe. Tudomásul veszem, hogy a megvédett és

- nem titkosított dolgozat a védést követően
- titkosításra engedélyezett dolgozat a benyújtásától számított 5 év eltelté után nyilvánosan elérhető és kereshető lesz az Egyetem könyvtári repozitori rendszerében.

Kelt: Budapest, 2024 év április hó 17. nap


Hallgató aláírása


NYILATKOZAT

Solti Dorottya (hallgató Neptun azonosítója: AUUL2X) konzulenseként nyilatkozom arról, hogy szakdolgozatot áttekintettem, a hallgatót az irodalmi források korrekt kezelésének követelményeiről, jogi és etikai szabályairól tájékoztattam.

A szakdolgozatot a záróvizsgán történő védelemre javaslom/ nem javaslom !

A dolgozat állam- vagy szolgálati titkot tartalmaz: igen nem* 2

Kelt: Budapest, 2024 év április hó 17. nap



Dr. Kun-Farkas Gabriella és Dr. Kun Szilárd
konzulensek