

SYLWIA BONIN, MARIA ŚLUSARSKA

## WPLYW DODATKU SOLI MAGNEZU I WAPNIA DO WYSOKOCUKROWYCH NASTAWÓW NA PROCES FERMENTACJI WINIARSKIEJ I PRZYROST BIOMASY DROŻDŻY

### Streszczenie

Zbadano wpływ dodatku soli magnezu i wapnia do wysokocukrowych nastawów winiarskich na proces fermentacji i przyrost biomasy drożdży. Nastawy zawierające około 310 g cukrów ogółem/dm<sup>3</sup> wzbogacano w 240 mg magnezu/dm<sup>3</sup> oraz 40 i 400 mg wapnia/dm<sup>3</sup>. Stosowano drożdże *Saccharomyces bayanus* S.o./1AD. Stwierdzono, że w zastosowanych warunkach najkorzystniejsza jest suplementacja magnezem. W przypadku dodatku MgSO<sub>4</sub> do nastawów uzyskano najmniejszą zawartość ekstraktu pozornego i największą wydajność fermentacji - 93% oraz najwyższe końcowe stężenie etanolu - 16,0% obj. Natomiast wino uzyskane z nastawu suplementowanego 400 mg wapnia/dm<sup>3</sup> charakteryzowało się zarówno najmniejszą zawartością alkoholu - 14,1% obj., jak i wydajnością - 82%. Wzbogacanie nastawu w magnez i wapń nie wpłynęło na zawartość cukrów ogółem, sacharozy, kwasowości lotnej i ogólnej, SO<sub>2</sub>. Po 72-godzinnej hodowli największy przyrost biomasy uzyskano z próby wzbogaconej w 40 mg wapnia/dm<sup>3</sup> - 9,2 g s.s.:dm<sup>-3</sup>, a najmniej z hodowli suplementowanej 400 mg-wapnia/dm<sup>3</sup> - 7,7 g s.s.:dm<sup>-3</sup>.

**Słowa kluczowe:** drożdże, magnez, wapń, fermentacja, etanol, wino

### Wprowadzenie

Uzyskiwanie win o wysokim stężeniu alkoholu wymaga zastosowania nastawów wysokocukrowych. Jednak w środowisku o zawartości cukrów około 250 g·dm<sup>-3</sup> fermentacja jest utrudniona, początkowo ze względu na niekorzystne wysokie ciśnienie osmotyczne, a w dalszym etapie procesu ze względu na duże stężenie powstałego alkoholu. Przyczyną zakłóceń procesu fermentacji mogą być także metabolity fermentacji, jakimi są kwasy tłuszczowe o krótkim odgałęzieniu bocznym i ich estry [18].

Fermentacje nastawów wysokocukrowych można poprawić, stosując dodatek aktywatorów fermentacji. Zalicza się do nich m.in. sok z jarzębiny, śrutę z nasion wieśniolki, bentonit, pantotenu wapnia, celulozę, suszoną grzybnię *Botrytis cinerea*,

*Aspergillus niger* i preparaty ścian komórek drożdży [18]. Korzystnie na proces fermentacji alkoholowej oraz przyrost biomasy mogą oddziaływać również pierwiastki, do których zalicza się m.in. magnez i wapń.

Magnez jest niezbędny do funkcjonowania wielu enzymów, związanych m.in. z glikolizą i syntezą kwasów tłuszczowych, wpływa na aktywność ATP-azy membranowej, prawidłowe funkcjonowanie rybosomów, stymuluje cykl podziału komórek [12, 13, 15, 17]. Pierwiastek ten wraz z fosfolipidami tworzy związki kompleksowe będące głównym składnikiem struktury błon komórkowych. Wiązanie magnezu w tego rodzaju związki zmniejsza płynność i przepuszczalność błon cytoplazmatycznych. W jądrze komórkowym magnez działa ochronnie na miejsca z grupami anionowymi, dzięki czemu pomaga utrzymać prawidłową konformację struktur DNA [9]. Jony magnezu działają ochronnie na komórki drożdży w warunkach stresu etanolowego, wysokiej temperatury i ciśnienia osmotycznego [1, 15, 17] oraz wykazują właściwości ochronne przed szkodliwym działaniem innych metali [10].

Minimalne zapotrzebowanie komórek drożdży na magnez wynosi 0,65-1,7 mM ( $15,6-40,8 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ ), natomiast całkowite zahamowanie wzrostu następuje przy stężeniu 1M ( $24 \text{ g}\cdot\text{dm}^{-3}$ ) magnezu [6, 12].

Wapń jest pierwiastkiem powszechnie występującym w środowisku. Jony wapnia, z uwagi na dużą zdolność łączenia się z grupami karboksylowymi, stabilizują ściany komórkowe i enzymy wewnątrzkomórkowe. Ponadto aktywują wzrost drożdży, ułatwiają syntezę i zapobiegają wyciekaniu materiału komórkowego oraz regulują oddziaływanie lipidowo-proteinowe. Wapń pełni ważną rolę w regulacji metabolizmu azotu na poziomie mitochondriów oraz aktywuje składniki białkowe odpowiedzialne za zdolność drożdży do kłaczkowania [7, 12, 15]. Zapotrzebowanie drożdży na wapń zależy od warunków hodowli. Minimalne stężenie wynosi od 0,25 mM ( $10 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ ) do 0,5 mM ( $20 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ ), natomiast przy 25 mM ( $1000 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ ) następuje zahamowanie wzrostu komórek [12].

W dostępnej literaturze brak jest doniesień o wpływie tych pierwiastków na proces fermentacji wysokocukrowych nastawów winiarskich i przyrost biomasy w tych warunkach.

Celem niniejszej pracy było określenie wpływu dodatku soli magnezu oraz wapnia do nastawów wysokocukrowych na przebieg fermentacji i przyrost biomasy drożdży.

### **Material i metody badań**

Nastawy winiarskie przygotowywano z soku jabłkowego, odtworzonego z koncentratu i wody dejonizowanej, dosładzając cukrem konsumpcyjnym do końcowego stężenia cukrów ogółem około  $310 \text{ g}\cdot\text{dm}^{-3}$ . Udział moszczu w nastawie wynosił 70%.

Nastawy wzbogacano w związki azotowe:  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  w ilości  $0,3 \text{ g}\cdot\text{dm}^{-3}$  i  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  w ilości  $0,2 \text{ g}\cdot\text{dm}^{-3}$ . W celu przeciwdziałania rozwojowi szkodliwej mikroflory nastawy sulfitowano  $[\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_5]$  do zawartości ok.  $80 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$   $\text{SO}_2$ . Nastawy suplementowano magnezem w ilości  $240 \text{ mg}$  magnezu/ $\text{dm}^3$  nastawu, dodawanym w postaci  $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$  oraz wapniem w ilości  $40$  i  $400 \text{ g}$  wapnia/ $\text{dm}^3$  nastawu, dodawanym w postaci  $\text{CaCl}_2 \times 7\text{H}_2\text{O}$ . W celu porównania fermentacji poddawano nastawy niesuplementowane.

Fermentacje prowadzono przy użyciu drożdży *Saccharomyces bayanus* S.o./1AD pochodzących z Kolekcji Czystych Kultur Zakładu Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności SGGW. Matki drożdżowe namnażano na podłożach o wzrastającym stężeniu cukru i  $\text{SO}_2$ , przez 48 godz., w temp. ok.  $28^\circ\text{C}$ , przy wytrząsaniu 200 obr./min. Podłoża przygotowywano analogicznie jak nastaw, ale nie stosowano suplementacji. Dodatek matki drożdżowej do nastawów wynosił 6%. Fermentacji poddawano nastawy o objętości  $1,5 \text{ dm}^3$ . Fermentacje prowadzono w temperaturze  $22 \pm 1^\circ\text{C}$  przez 35 dni. Przeprowadzono trzy serie fermentacji, każdą w dwóch powtórzeniach.

W trakcie trwania fermentacji oznaczano liczbę komórek drożdży metodą liczenia bezpośredniego w komorze Tohma [5] i ekstrakt pozorny. Bezpośrednio po zakończeniu fermentacji w młodym winie oznaczano: alkohol; cukry ogółem, sacharozę, ekstrakt bezcukrowy,  $\text{SO}_2$  ogółem, kwasowość ogólną i lotną [4] oraz zawartość magnezu i wapnia metodą ASA po uprzedniej mineralizacji. Na podstawie zawartości cukrów ogółem i alkoholu wyliczano wydajność procesu fermentacji alkoholowej. Po tygodniu od zakończenia fermentacji przeprowadzano ocenę sensoryczną młodych win, stosując skalę 5-punktową z notami połówkowymi, o dziewięciu poziomach jakości [4].

W ramach badań określano również wpływ wymienionych powyżej dawek magnezu oraz wapnia na przyrost biomasy drożdży *Saccharomyces bayanus* S.o./1AD. Drożdże hodowano na jałowym podłożu o objętości  $80 \text{ cm}^3$ , sporządzanym analogicznie, jak nastawy do fermentacji. Do szczepienia podłoży stosowano dodatek 10% matki drożdżowej. Hodowle prowadzono przez 72 godz., w temp.  $28^\circ\text{C}$ , na wytrząsarce o ruchu posuwisto – zwrotnym, przy 200 obr./min. Co 24 godz. oznaczano biomasę drożdży [2]. Wykonano dwie serie doświadczeń, każdą w trzech powtórzeniach.

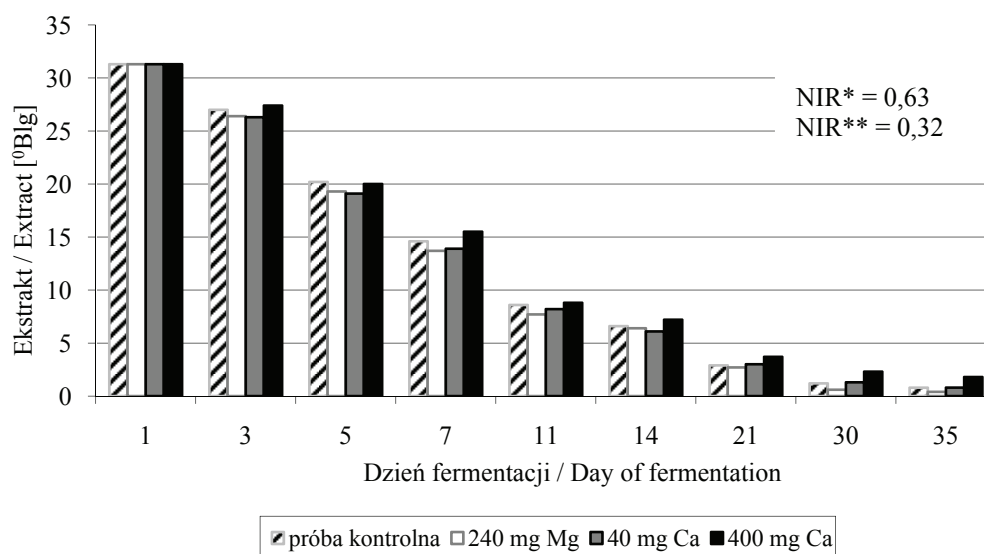
Wyniki poddano weryfikacji statystycznej. Stosowano analizę wariacji przy  $\alpha = 0,05$ , a najmniejszą istotną różnicę (NIR) obliczano testem Tukey'a (jako HSD).

## Wyniki i dyskusja

### *Fermentacja winiarska*

Nastawy poddawane fermentacji charakteryzowały się ekstraktem pozornym średnio  $31,3^\circ\text{Blg}$ . We wszystkich próbach zawartość ekstraktu zmniejszała się gwałtownie do 11. dnia procesu, co odpowiada burzliwej fazie fermentacji i jednocześnie

wskazuje na brak trudności w zafermentowaniu, mimo znacznej ilości cukrów w nastawie. Przy czym największy ubytek ekstraktu stwierdzono między drugim a czwartym dniem fermentacji i wynosił on średnio we wszystkich próbach 7,2°Błg. Ostatniego dnia procesu najlepsze odfermentowanie cukrów, wynoszące 0,4°Błg, stwierdzono w próbie wzbogaconej w 240 mg magnezu/dm<sup>3</sup> nastawu, natomiast największym ekstraktem pozornym, średnio 1,8°Błg, charakteryzowało się wino uzyskane z nastawu suplementowanego 400 mg wapnia/dm<sup>3</sup>. W próbie kontrolnej, jak i w próbie z dodatkiem 40 mg wapnia/dm<sup>3</sup> nastawu, ekstrakt kształtował się na tym samym poziomie 0,8°Błg (rys.1).



NIR\* między wartościami średnimi w czasie trwania fermentacji / HSD\* in between mean values in the time of fermentation

NIR\*\* między wartościami średnimi win / HSD\*\* in between mean values of wines

Rys. 1. Wpływ dodatku magnezu i wapnia do nastawów na zawartość ekstraktu w czasie trwania fermentacji.

Fig. 1. Influence of magnesium and calcium addition to the musts on the extract content in the time of fermentation.

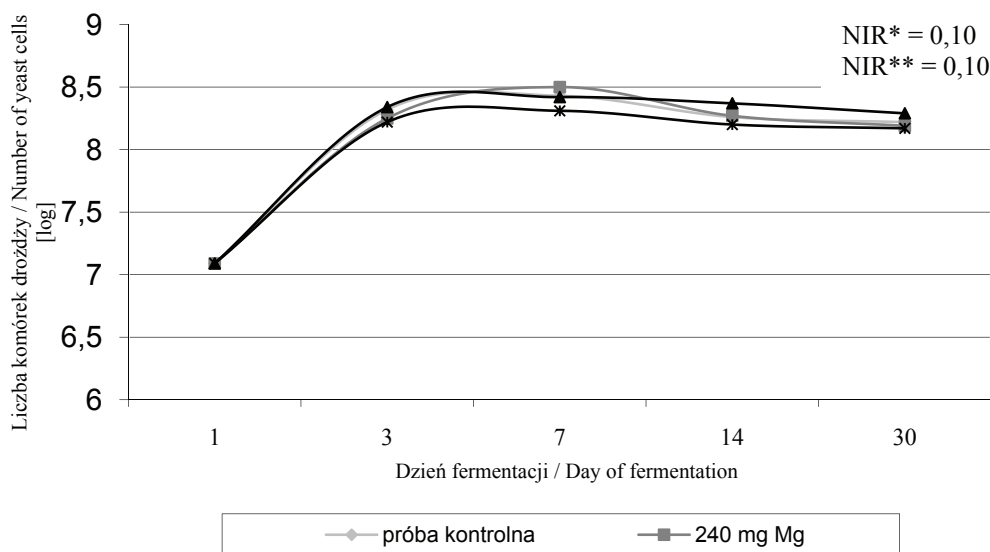
Rees i Stewart [12, 13] wykazali, że fermentacja brzeczki o ekstrakcie 12 oraz 20°Błg wzbogaconych w 500 mg magnezu przebiegała szybciej w porównaniu z próbą kontrolną, a w przypadku dodatku 800 mg wapnia ekstrakt zmniejszał się wolniej w porównaniu z brzeczki niesuplementowanymi.

Do szczepienia nastawów stosowano „matki drożdżowe”, w których liczba komórek wynosiła w zależności od serii 2,0–2,4×10<sup>8</sup> kom·cm<sup>-3</sup>. Uważa się, że liczba komó-

rek drożdży w „matce” powinna wynosić minimum  $6,0 \times 10^7$  kom·cm<sup>-3</sup> [18], zatem w prowadzonym doświadczeniu stosowano dobrze namnożone drożdże.

Po zaszczerpieniu „matką drożdżową” w 1 cm<sup>3</sup> nastawu stwierdzono średnio 7,11 ( $1,2 \times 10^7$  kom·cm<sup>-3</sup>) komórek drożdży. Po dwóch dniach fermentacji nastąpił znaczny wzrost liczby komórek. Stwierdzono wówczas średnio we wszystkich nastawach 8,28 komórek. Zatem okres pierwszych dwóch dni fermentacji odpowiada logarytmicznej fazie wzrostu. We wszystkich próbach liczba komórek drożdży przyrastała jeszcze w zwolnionym tempie do 7. dnia trwania procesu. Tego dnia największą liczbę drożdży - 8,51 kom·cm<sup>-3</sup> stwierdzono w przypadku dodatku do nastawu magnezu, zaś najmniejszą - 8,31 kom·cm<sup>-3</sup> przy suplementacji 400 mg wapnia. Od drugiego tygodnia liczba komórek utrzymywała się na w miarę zbliżonym poziomie. Przy czym, przez cały czas procesu fermentacji mniej komórek stwierdzano w próbach wzbogaconych w 400 mg wapnia (rys. 2).

Rees i Stewart [13] zaobserwowali większą liczbę komórek drożdży w fermentującej brzeczce wzbogaconej w 500 mg wapnia w stosunku do próby kontrolnej, natomiast dodatek 800 mg wapnia spowodował zmniejszenie liczby drożdży.



Objaśnienie jak na rys. 1 / Explanatory note as in Tab. 1.

Rys. 2. Wpływ dodatku magnezu i wapnia na liczbę komórek drożdży w czasie trwania fermentacji.

Fig. 2. Influence of magnesium and calcium addition to the musts on the number of yeast cell in the time of fermentation.

Tabela 1

Zawartość składników win w zależności od wielkości dodatku pierwiastków do nastawu.  
Content of wine components depending on amount addition of elements in the must.

Składnik wina Wine component	Wino kontrolne Control wine	Dodatek Mg lub Ca do nastawów Addition of Mg / Ca to the musts			PI/NIR PV/HSD
		240 mg·dm <sup>-3</sup> Mg	40 mg·dm <sup>-3</sup> Ca	400 mg·dm <sup>-3</sup> Ca	
Alkohol [% obj.] Alcohol [% v/v]	14,3	16,0	15,1	14,1	NIR=0,23
Cukry ogółem [g·dm <sup>-3</sup> ] Total sugar [g·dm <sup>-3</sup> ]	43,9	40,5	44,6	44,7	PI=0,57
Sacharoza [g·dm <sup>-3</sup> ] Saccharose [g·dm <sup>-3</sup> ]	4,5	2,5	1,9	2,5	PI=0,54
Kwasowość lotna [g·dm <sup>-3</sup> ] Volatile acidity [g·dm <sup>-3</sup> ]	0,57	0,58	0,57	0,60	PI=0,89
Kwasowość ogólna [g·dm <sup>-3</sup> ] Total acidity [g·dm <sup>-3</sup> ]	5,3	5,0	5,0	5,0	PI=0,08
SO <sub>2</sub> ogółem [mg·dm <sup>-3</sup> ] Total SO <sub>2</sub> [mg·dm <sup>-3</sup> ]	49,2	55,1	53,7	57,1	PI=0,24
Ekstrakt bezcukrowy [g·dm <sup>-3</sup> ] Non-sugar extract [g·dm <sup>-3</sup> ]	31,1	35,8	33,8	43,2	NIR=6,89

Suplementacja nastawów wpłynęła na zawartość alkoholu w winie (tab. 1). Największą zawartością alkoholu – średnio 16,0% obj., charakteryzowało się wino otrzymane z nastawu z dodatkiem 240 mg magnezu/dm<sup>3</sup> nastawu, a najmniejszą – 14,1% obj. etanolu uzyskano przy wzbogacaniu nastawu w 400 mg wapnia. Natomiast w przypadku suplementacji 40 mg wapnia odnotowano 15,1% obj. alkoholu, a w próbie kontrolnej - 14,3% obj.

Nabais i wsp. [8] podają, że drożdże *Saccharomyces bayanus* IST 154 wyprodukowały ok. 12% obj. etanolu, po 72 godz. fermentacji podłoża o zawartości 320 g·dm<sup>-3</sup> cukrów, wzbogaconego w 30 mg wapnia. W próbie kontrolnej uzyskano ok. 9% obj. alkoholu. Natomiast dla drożdży *Saccharomyces cerevisiae* IGC 3507 optymalne stężenie wapnia w podłożu wynosiło 60-80 mg·dm<sup>-3</sup>. Ress i Stewart [12], w zależności od zastosowanego szczepu drożdży piwowarskich, uzyskali 3,03-3,70% obj. alkoholu z 12°Błg brzeczki suplementowanych magnezem w ilości 500 mg·dm<sup>-3</sup>. W przypadku dodatku 800 mg·dm<sup>-3</sup> wapnia zawartość etanolu kształtowała się na poziomie 2,69-3,21% obj., a w próbach kontrolnych 2,85-3,55% obj. Sroka i wsp. [14] uzyskali maksymalną zawartość etanolu – 14,5% obj., w wyniku fermentacji brzeczki miodowych wzbogaconych w 80 mg·dm<sup>-3</sup> wapnia, przy dodatku 600-800 mg·dm<sup>-3</sup> wapnia uzyskano ok. 10% obj. alkoholu. Natomiast wzbogacenie brzeczki miodowych w 480 mg·dm<sup>-3</sup> magnezu pozwoliło uzyskać 15,9% etanolu. Walker i wsp. [17] podają, że zwiększenie stosunku Ca : Mg

wpływa niekorzystnie na przebieg fermentacji, ponieważ istnieje prawdopodobieństwo konkurencji między tymi pierwiastkami.

Zawartość cukrów ogółem mieściła się w przedziale od 40,5 do 44,6 g·dm<sup>-3</sup>, natomiast sacharozy średnio od 1,9 do 4,5 g·dm<sup>-3</sup>. W obu przypadkach różnice między wszystkimi próbami mieściły się w granicach błędu (tab. 1).

Natomiast suplementacja nastawów wpłynęła na wydajność procesu fermentacji (tab. 2). Najkorzystniejszy był dodatek do nastawów magnezu, ponieważ proces przebiegał wówczas z wydajnością 93%. Przy wzbogacaniu nastawów w 400 mg wapnia/dm<sup>3</sup>, wydajność kształtowała się na podobnym poziomie, jak w próbie kontrolnej, odpowiednio 82 i 84%. Natomiast wydajność procesu fermentacji przy dodatku do nastawu 40 mg wapnia wynosiła 87% (NIR=2,4).

We wcześniejszych badaniach twierdzono, że przy dodatku 960 mg Mg·dm<sup>-3</sup> nastawu proces przebiegał z wydajnością 97,7%. Jednak przy takiej dawce pierwiastka wyczuwalny był metaliczny posmak [3].

Wino otrzymane z nastawu suplementowanego 400 mg wapnia/dm<sup>3</sup> zawierało najwięcej ekstraktu bezcukrowego - 43,2 g·dm<sup>-3</sup>, a najmniej - 31,1 g·dm<sup>-3</sup> - próba kontrolna. Suplementacja nie wpłynęła na kwasowość lotną, która kształtowała się na poziomie 0,57-0,60 g·dm<sup>-3</sup>. Kwasowość ogólna win uzyskanych z nastawów suplementowanych wynosiła 5,0 g·dm<sup>-3</sup>, natomiast w próbie kontrolnej była nieznacznie wyższa - 5,3 g·dm<sup>-3</sup>. Zawartość SO<sub>2</sub> ogółem kształtowała się w przedziale od 49,2 do 57,1 mg·dm<sup>-3</sup> (tab. 1).

Sroka i wsp. [14] podają, że suplementacja brzeczek miodowych jonami wapnia w ilości 80-200 mg·dm<sup>-3</sup> spowodowała istotne zmniejszenie kwasowości lotnej, skorelowane ze zwiększeniem wydajności procesu. Natomiast próby suplementowane Ca<sup>2+</sup> w ilości 400-600 mg·dm<sup>-3</sup> wykazywały wzrost kwasowości lotnej do poziomu 1,2 g·dm<sup>-3</sup>. Suplementacja brzeczek miodowych magnezem w ilości 120-480 mg·dm<sup>-3</sup> spowodowała obniżenie kwasowości ogólnej o 0,4-0,92 g·dm<sup>-3</sup>, a kwasowości lotnej o 0,16 g·dm<sup>-3</sup>.

Zastosowana w niniejszej pracy suplementacja wpłynęła korzystnie na ocenę sensoryczną win. Najwyższą ocenę ogólną osiągnęło wino z nastawu suplementowanego 40 mg wapnia·dm<sup>-3</sup> - 3,75 pkt, zaś najniższą oceną ogólną charakteryzowała się próba kontrolna - 3,35 pkt., przy czym różnice w ocenie sensorycznej win suplementowanych mieściły się w granicach błędu (tab. 2). Należy zaznaczyć, że oceniano młode wina, które nie poddano procesowi leżakowania.

Zawartość magnezu po procesie fermentacji wynosiła 65 mg/dm<sup>3</sup> wina, zatem zmniejszyła się o około 185 mg·dm<sup>-3</sup> (ok. 75%) w stosunku do początkowej ilości w nastawie. W przypadku suplementacji nastawów 40 mg wapnia·dm<sup>-3</sup>, po fermentacji, stwierdzono 19,5 mg tego pierwiastka·dm<sup>-3</sup> wina. Przy dodatku 400 mg wapnia·dm<sup>-3</sup> nastawu, zawartość tego pierwiastka w winie wynosiła 138,5 mg, zatem zmniejszyła się o około 260 mg (około 65%), w stosunku do wartości początkowej (tab. 3).

Tabela 2

Wydajność procesu fermentacji oraz jakość sensoryczna win.  
Fermentation efficiency and sensoric quality of wines.

Wyróżnik Parameter	Wino kontrolne Control wine	Dodatek Mg lub Ca do nastawów Addition of Mg/Ca to the musts			NIR HSD
		240 mg Mg	40 mg Ca	400 mg Ca	
Wydajność fermentacji [%] Fermentation efficiency [%]	84	93	87	82	2,4
Ocena sensoryczna [pkt] Sensoric quality [scores]	3,35	3,60	3,75	3,65	0,25

Tabela 3

Zawartość magnezu i wapnia w winach.  
Content of magnesium and calcium in wines.

Składnik wina Wine component	Wino kontrolne Control wine	Dodatek Mg lub Ca do nastawów Addition of Mg/Ca to the musts		
		240 mg Mg	40 mg Ca	400 mg Ca
Magnez [ $\text{mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ ] Magnesium [ $\text{mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ ]	8,5	65,0	8,4	8,8
Wapń [ $\text{mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ ] Calcium [ $\text{mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ ]	7,7	6,5	19,5	138,5

Trudno jednak stwierdzić, jaka ilość pierwiastków została pobrana do wnętrza komórek, a jaką drożdże związały na swej powierzchni. Badania Błażejaka i wsp. [2] wykazały, że tylko część magnezu z podłoża była aktywnie transportowana do wnętrza komórek drożdży, natomiast pozostałe jony  $\text{Mg}^{2+}$  podlegały jedynie adsorpcji na powierzchni ściany komórkowej. Przy czym im więcej magnezu znajdowało się w podłożu, tym większa jego ilość ulegała luźnemu połączeniu ze ścianą komórkową.

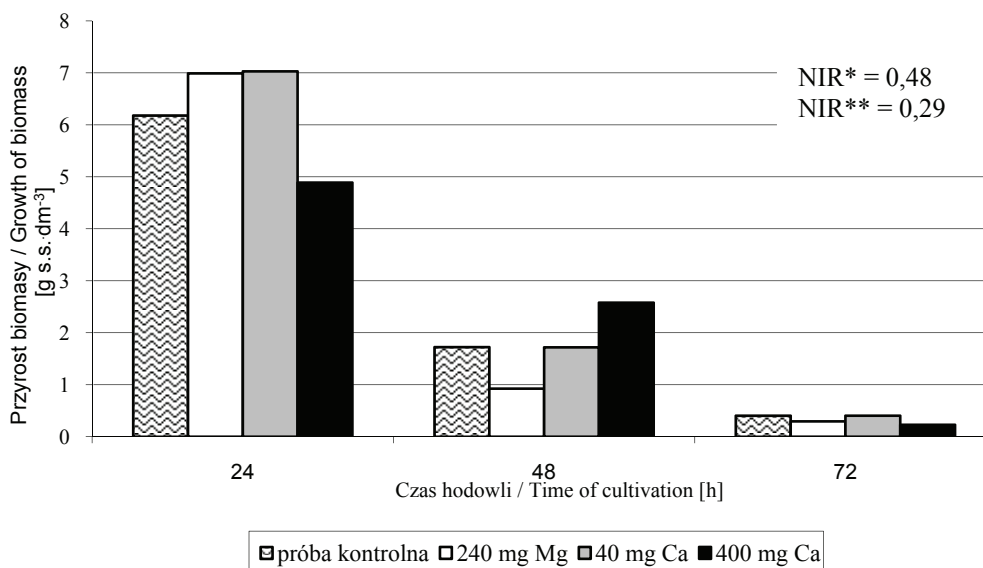
#### Hodowla biomasy drożdżowej

W drugiej części doświadczenia określono wpływ wzbogacania podłoża solami magnezu oraz wapnia na przyrost biomasy komórkowej drożdży *Saccharomyces bayanus* S.o.1/AD (rys. 3). Po zaszczepleniu w  $1 \text{ dm}^3$  podłoża hodowlanego zawartość suchej substancji drożdży wynosiła średnio dla wszystkich prób 1,52 g. Zaobserwowano, że suplementacja wpływa na ilość uzyskanej biomasy drożdży. Przyrost biomasy komórkowej był największy przez pierwsze 24 godz. hodowli i średnio dla wszystkich prób wynosił  $6,23 \text{ g s.s.}\cdot\text{dm}^{-3}$  płynu pohodowlanego, przy czym w przypadku podłoża wzbogaconego w magnez oraz podłoża z niższą dawką wapnia wynosił 7 g s.s., a suplementowanego niższą dawką magnezu jedynie 4,9 g s.s. Przez kolejne 24 godz. obserwowano



nadal niewielki przyrost biomasy komórkowej, który średnio dla wszystkich prób wynosił  $1,74 \text{ g s.s.}\cdot\text{dm}^{-3}$  podłoża. W tym okresie najmniejszy przyrost biomasy –  $0,9 \text{ g s.s.}$  zaobserwowano w próbie suplementowanej magnezem, a największy –  $2,6 \text{ g s.s.}$  w podłożu wzbogaconym w  $400 \text{ mg}$  wapnia. Natomiast pomiędzy 48. a 72. godziną hodowli wzrost ilości biomasy drożdży mieścił się w granicy błędu ( $\text{NIR} = 0,48$ ).

Stwierdzono, że najkorzystniejszy dla przyrostu biomasy jest dodatek  $40 \text{ mg}$  wapnia  $\cdot\text{dm}^{-3}$  podłoża, a najmniej korzystny dodatek  $400 \text{ mg}$  wapnia. Po 72 h hodowli w próbie wzbogaconej mniejszą dawką wapnia uzyskano  $9,2 \text{ g s.s.}\cdot\text{drożdży}\cdot\text{dm}^{-3}$  płynu pohodowlanego, a w próbie z większą ilością tego pierwiastka –  $7,7 \text{ g s.s.}\cdot\text{dm}^{-3}$ . W próbie kontrolnej oraz wzbogaconej w magnez przyrost biomasy był podobny i wynosił odpowiednio  $8,2 \text{ g s.s.}\cdot\text{dm}^{-3}$  podłoża i  $8,3 \text{ g s.s.}\cdot\text{dm}^{-3}$ .



Objaśnienie jak na rys. 1 / Explanatory note as in Tab. 1.

Rys. 3. Wpływ dodatku magnezu i wapnia na przyrost biomasy drożdży.

Fig. 3. Influence of magnesium and calcium addition on the biomass growth.

Raczyńska-Cabaj i wsp. [11], wzbogacając podłoża w 2,4; 24; 250; 500 i  $1250 \text{ mg Mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ , po 72 godz. hodowli drożdży piekarskich *Saccharomyces cerevisiae* uzyskali największy przyrost biomasy komórkowej drożdży –  $11,6 \text{ g s.s.}\cdot\text{dm}^{-3}$  przy dodatku  $500 \text{ mg}$  magnezu  $\cdot\text{dm}^{-3}$ . Z podłoża wzbogaconego w  $240 \text{ mg Mg}\cdot\text{dm}^{-3}$  uzyskali średnio  $9,8 \text{ g s.s.}$  drożdży w przeliczeniu na  $1 \text{ dm}^3$  płynu pohodowlanego. Podobnie Błażej i wsp. [2], podczas namnażania drożdży piwowskich na podłożach suplementowanych magnezem w ilości 250, 500 i  $1250 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ , uzyskali największy plon bioma-

sy w przypadku dodatku 500 mg tego pierwiastka. Przy czym większą ilość biomasy uzyskano przy dodatku magnezu w postaci  $MgCl_2$  niż  $MgSO_4$ .

Pasternakiewicz i Tuszyński [10] suplementowali brzeczki magnezem w ilości 24, 120, 240, 480, 1200  $mg \cdot dm^{-3}$  oraz wapniem w ilości 40, 200, 400, 800, 2000  $mg \cdot dm^{-3}$ . Autorzy ci stwierdzili, że do optymalnego przyrostu biomasy ilość magnezu i wapnia w podłożu zależy od szczepu drożdży. Jednak we wszystkich próbach z dodatkiem pierwiastków uzyskano więcej biomasy niż w próbie kontrolnej.

### Wnioski

1. Suplementacja wysokocukrowych nastawów winiarskich solami magnezu i wapnia ma wpływ na przebieg procesu fermentacji i skład gotowego produktu. W zastosowanych warunkach najkorzystniejszy był dodatek 240 mg magnezu/ $dm^3$  nastawu.
2. Suplementacja nastawów magnezem w ilości 240  $mg \cdot dm^{-3}$  pozwala uzyskać najwyższe odfermentowanie, a dodatek 400 mg wapnia/ $dm^3$  nastawu powoduje obniżenie tempa fermentacji i zmniejszenie liczby komórek drożdży w fermentującym medium.
3. Dodatek magnezu umożliwia uzyskanie największej zawartości alkoholu - 16,0% obj. oraz wydajności 93%, a dodatek 400 mg wapnia/ $dm^3$  nastawu powoduje uzyskanie najmniejszej ilości alkoholu - 14,1% obj. oraz wydajność 82%. Suplementacja nie wpływa natomiast na zawartość cukrów ogółem, sacharozy, kwasowości lotnej, ogólnej i  $SO_2$ .
4. Wzbogacanie podłoża hodowlanych w 40 mg wapnia/ $dm^3$  pozwala uzyskać więcej biomasy drożdży, natomiast dodatek wapnia w ilości 400  $mg \cdot dm^{-3}$  podłoża wpływa niekorzystnie na przyrost biomasy. Po 72-godzinnej hodowli w podłożu wzbogaconym w 40 mg wapnia przyrost biomasy wynosił 9,2 g s.s./ $dm^3$ , a w próbie suplementowanej wyższą dawką wapnia – 7,7 g s.s./ $dm^3$ .

### Literatura

- [1] Brich R. M., Walker G. M.: Influence of magnesium ions on heat shock and ethanol stress responses of *Saccharomyces cerevisiae*. Enzyme and Microbiol Technol., 2000, **26**, 678-687.
- [2] Błażej S., Duszkiewicz-Reinhard W., Gniewosz M., Rostkowska-Demner E., Domurad E.: Badanie zdolności wiązania magnezu przez drożdże piwowarskie *Saccharomyces cerevisiae* w warunkach hodowli stacjonarnej. Acta Sci. Pol. Technol. Alimentaria, 2002, **1 (2)**, 55-69.
- [3] Bonin S., Skwira J.: Wpływ suplementacji nastawów na fermentację winiarską. Mat. XXXVI Sesji Nauk. KTChŻ PAN, Szczecin 2005, s. 112.
- [4] Bonin S., Wzorek W.: Wybrane zagadnienia z technologii winiarstwa. Wyd. SGGW, Warszawa 2005.
- [5] Duszkiewicz-Reinhard W., Grzybowisk R., Sobczak E.: Teoria i ćwiczenia z mikrobiologii ogólnej i technicznej. Wyd. SGGW, Warszawa 2003.

- [6] Jones P., Greenfield P.: A review of yeast nutrition: growth and fermentation requirements. Proc. Biochem., 1984, **4**, 48-54.
- [7] Mochaba F., O'Connor - Cox E.S.C., Axcell B. C.: Metal ion concentration and release by a brewing yeast: characterization and implications. J. Am. Soc. Brew. Chem., 1997, **54** (3), 155-163.
- [8] Nabais R.C., Sa-Correia I., Viegas C.A., Novais J.M.: Influence of calcium ion on ethanol tolerance of *Saccharomyces bayanus* and alcoholic fermentation by yeasts. Appl. Envir. Microbiol., 1988, **54** (10), 2439-2446.
- [9] Pasternak K.: Magnez w fizjologii człowieka. Biul. Magnezol., 1999, **4** (2), 480-485.
- [10] Pasternakiewicz A., Tuszyński T.: Effect of calcium, magnesium, cobalt II, and zinc cations on the *Saccharomyces* growth. Pol. J. Food Nutr. Sci., 1997, **6** (47), 61-69.
- [11] Raczyńska-Cabaj A., Lipińska E., Sobczak E., Watras E.: Wpływ jonów magnezu na wzrost drożdży piekarskich z gatunku *Saccharomyces cerevisiae*. Przem. Ferm. Owoc. Warz., 2001, **7**, 26-28.
- [12] Rees E. Stewart G.: The effects of increased magnesium and calcium concentration on yeast fermentation performance in high gravity worts. J. Inst. Brew., 1997, **103**, 287 - 291.
- [13] Rees E. Stewart G.: Effects of magnesium, calcium and wort oxygenation on the fermentative performance of ale and lager strains fermenting normal and high gravity worts. J. Inst. Brew., 1999, **105**, 211-217.
- [14] Sroka P., Tuszyński T., Tarko T.: Wpływ jonów wapnia i magnezu na fermentację brzeczki miodowych. Mat. XXXVI Sesji Nauk. KTChŻ PAN, Szczecin 2005, s. 100.
- [15] Tuszyński T.: Wpływ jonów metali na wzrost drożdży i fermentację etanolową. Mat. XXXI Sesji Nauk. KTChŻ PAN, Poznań 2000, s. 203-211.
- [16] Tuszyński T., Pasternakiewicz A.: Wpływ jonów metali na wzrost drożdży piekarskich rasy Mautner i hybrydu XT411 x 5p. Zesz. Nauk. AR w Krakowie. Technol. Żywn., 1994, **6**, 246-250.
- [17] Walker G. M., Brich R.M., Chardrasena G., Maynard A.J.: Magnesium, calcium and fermentative metabolism in industrial yeasts. J. Am. Soc. Brew. Chem., 1996, **54**, 13-18.
- [18] Wzorek W., Pogorzelski E.: Technologia winiarstwa gronowego i owocowego. Sigma-NOT Warszawa 1998.

#### INFLUENCE OF ADDITION OF MAGNESIUM AND CALCIUM SALTS TO HIGH-SUGAR MUSTS ON THE PROCESS OF WINE FERMENTATION AND BIOMASS GROWTH

##### Summary

The aim of this paper was to study the influence of addition of magnesium and calcium salts to high sugar musts on the process of fermentation and biomass growth. Musts containing approximately 310 g-total sugar/dm<sup>3</sup> were enriched with 240 mg-magnesium/dm<sup>3</sup> as well as 40 and 400 mg-calcium ions/dm<sup>3</sup>. Yeast *Saccharomyces bayanus* S.o./1AD were used. It was found, that in applied conditions the most favourable is supplementation with magnesium. In the case of addition of MgSO<sub>4</sub> to the musts, the lowest content of extract, the highest efficiency of fermentation – 93% and the highest ethanol content – 16% v/v were stated. However, wine obtained from the must supplemented with 400 mg-calcium/dm<sup>3</sup> was characterized by both the lowest content of alcohol – 14.1% vol. and the lowest efficiency - 82%. Addition of magnesium and calcium ions to the musts did not influence on the content of total sugar, saccharose, volatile and total acidity, SO<sub>2</sub>. After 72 hours of cultivation, the highest biomass growth – 9.2 g d.m.·dm<sup>-3</sup> was obtained from the must enriched with 40 mg-calcium·dm<sup>-3</sup>, and the lowest amount of biomass -7.7 g d.m.·dm<sup>-3</sup> was stated in medium supplemented with 400 mg-calcium·dm<sup>-3</sup>.

**Key words:** wheat yeast, magnesium, calcium, fermentation, ethanol, wine ☒