



**VYSOKÁ ŠKOLA
CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ
V PRAZE**



6. seminář

PIVOVARSTVÍ A KVASNÉ TECHNOLOGIE 2009

Ústav kvasné chemie a bioinženýrství

2. a 3. dubna 2009



**VYSOKÁ ŠKOLA
CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ
V PRAZE**

Sborník souhrnů a plných textů příspěvků

6. seminář

PIVOVARSTVÍ A KVASNÉ TECHNOLOGIE 2009

Ústav kvasné chemie a bioinženýrství

2. a 3. dubna 2009

Pořádající instituce:

Ústav kvasné chemie a bioinženýrství

Fakulta potravinářské a biochemické technologie
Vysoká škola chemicko-technologická v Praze

Sponzoři:



IMMUNOTECH, a.s.
ROCHE, s.r.o.
Sladovna BERNARD, a.s.
Pivovar Nymburk, s.r.o.
Budějovický Budvar, n.p.
Plzeňský Prazdroj, a.s.
Pivovary Staropramen, a.s.

Přípravný a organizační výbor:

Předseda: Ing. Jaromír Fiala, Ph.D., e-mail: jaromir.fiala@vscht.cz
Členové: Ivana Dušková, e-mail: ivana.duskova@vscht.cz
Rudolf Jung, e-mail: rudolf.jung@vscht.cz
prof. Ing. Karel Melzoch, CSc., e-mail: karel.melzoch@vscht.cz

Editor: Fiala J.
Vydavatel: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze
Technická 5, 166 28 Praha 6
Rok vydání: 2009

ISBN 978-80-7080-728-6

Publikace neprošla jazykovou ani odbornou úpravou. Za obsah příspěvků odpovídají autoři.

Program:

Čtvrtek 2. dubna 2009 - Konferenční centrum VŠCHT Praha, kolej Sázava, areál vysokoškolských kolejí Praha 4 – Kunratice

8:00 – 9:00 Registrace účastníků

Přednášková sekce

9:00 – 9:10 Fiala J.: **Zahájení semináře**

9:10 – 9:30 Basařová G.: **Nejnovější knižní publikace z pivovarství**

9:30 – 9:40 Jelínek L., Dostálek P., Karabín M.: **Využití stanovení obsahu jednotlivých polyfenolů pro určení odrůdy chmele**

9:40 – 9:50 Šneberger M., Dostálek P., Karabín M.: **Zjišťování autenticity odrůd chmele podle obsahu chmelových silic a pryskyřic**

9:50 – 10:00 Bednář P., Šavel J., Brányik T.: **Stanovení vitality pivovarských kvasinek pomocí intracelulární změny NAD(P)H**

10:00 – 10:10 Kuřec M., Brányik T.: **Molekulární interakce při imobilizaci kvasinek adhezí**

10:10 – 10:20 Skalický J., Linhová M., Branská B.: **Oxidativní stres a apoptóza u kvasinky *Pichia pastoris***

10:20 – 10:30 Kücüküran I., Marek J., Paulová L.: **Physiology and metabolism of genetically engineered *Pichia pastoris* yeast grown on different substrates and their mixtures**

10:30 – 10:40 Piecková L., Linhová M., Patáková P.: **Genetická a fyziologická charakterizace solventogenních bakterií rodu *Clostridium***

10:40 – 11:00 *Přestávka*

11:00 – 11:10 Kaluža P., Dostálek P.: **Purifikace monoklonálních protilátek pro stanovení prolaminů ječmene a jejich aplikace**

11:10 – 11:20 Jaisamut K., Lipovský J., Rychtera M.: **Fyzikálně-chemická a biochemická úprava lignocelulosových materiálů pro fermentační účely**

11:20 – 11:30 Fořtová J., Lipovský J., Melzoch K.: **Optimalizace podmínek fermentace butanolu**

11:30 – 11:40 Lipovský J., Patáková P., Rychtera M., Melzoch K.: **Produkce biobutanolu bakteriemi rodu *Clostridium***

- 11:40 – 11:50 Fribert P., Patáková P., Rychtera M., Melzoch K.: **Separční techniky při výrobě biobutanolu kvasnou cestou**
- 11:50 – 12:00 Pohludková P., Fribert P., Melzoch K.: **Izolace butanolu z medií po ABE fermentaci, integrované systémy**
- 12:00 – 12:10 Khac Tran D., Šiříšřová L., Dostálek P.: **Application of polyamide sorbents for improvement of beer colloidal stability**
- 12:10 – 12:20 Petříček J., Cíchová M., Fiala J.: **Vliv kyslíku na analytické parametry révových vín**
- 12:20 – 14:00 **Přestávka na oběd**
- 14:00 – 14:10 Novák P., Brányik T., Růžička M.: **Fyzikální podstata pивní pěny**
- 14:10 – 14:20 Baszczyński M., Novák P., Brányik T., Růžička M.: **Pивní pěna jako vícefázový systém**
- 14:20 – 14:30 Košin P., Šavel J., Brož A.: **Praktický přístup k pивní pěně**
- 14:30 – 14:40 Širmerová M., Maršálková B., Kováčová R., Lopes F., Brányik T.: **Adheze zelených řas *Chlorella vulgaris* na sklo**
- 14:40 – 14:50 Maršálková B., Širmerová M., Doušková I., Brányik T., Melzoch K.: **Zvýšení obsahu škrobu v biomase zelených řas a jeho následná konverze na zkvasitelné cukry**
- 14:50 – 15:00 Knytl M., Fiala J.: **Plísňová kontaminace ve sladařství a pivovarství**
- 15:00 – 15:10 Bryzgal T., Knytl M., Kovačková M., Fiala J.: **Vliv podmínek kvašení na obsah mykotoxinů**
- 15:10 – 15:20 Bražina M., Knytl M., Fiala J.: **Fyziologická aktivita *Saccharomyces cerevisiae* v průběhu kvašení mladiny se zvýšeným obsahem mykotoxinů**
- 15:20 – 15:30 Poštulková M., Fiala J.: **Přepěňování piva**
- 15:30 – 16:00 **Přestávka**

Prezentace firem

- 16:00 – 17:00 Presentace firem
17:00 – 17:30 Diskuse

Pátek 3. dubna 2009 - Ústav kvasné chemie a bioinženýrství, VŠCHT Praha

Posterová sekce

Diskuse v prostorách Ústavu kvasné chemie a bioinženýrství

Možnost návštěvy vybraných laboratoří a technologické haly ÚKCHB

Sraz účastníků 9:00 hodin před knihovnou ÚKCHB, VŠCHT Praha - budova A, Technická 5, Praha 6, 1. patro

Nejnovější knižní publikace z pivovarství

Basařová Gabriela

Ústav kvasné chemie a bioinženýrství, VŠCHT Praha

V tomto příspěvku je uveden přehled současně dostupných knižních publikací ze sladařství a pivovarství. Je představena připravovaná publikace Pivovarství - Teorie, technologie a zařízení výroby piva autorského kolektivu Basařová, Šavel, Basař a Lejsek.

Využití stanovení obsahu jednotlivých polyfenolů pro určení odrůdy chmele

Jelínek Lukáš, Dostálek Pavel, Karabín Marcel

Ústav kvasné chemie a bioinženýrství, VŠCHT Praha

Hlavním cílem této práce bylo navrhnout postup identifikace chmelových odrůd na základě specifických identifikačních znaků, získaných stanovením obsahu a relativního zastoupení 19 jednoduchých polyfenolových sloučenin u 22 tuzemských a zahraničních odrůd.

Na základě těchto stanovení byla nalezena řada specifických markerů, pomocí kterých byl navržen postup, umožňující pro daný soubor vzorků jednoznačnou identifikaci 17 z 22 sledovaných odrůd, přičemž byla pomocí metod shlukové analýzy potvrzena odlišnost Žateckého poloraného červeňáku a dalších tuzemských odrůd.

V další části práce byl sledován vliv vybraných parametrů (granulační postup, místo pěstování) na tyto polyfenolové znaky. Nebyl prokázán jednoznačný trend ve změnách obsahu polyfenolů v průběhu granulačního procesu, na druhou stranu však byly zjištěny významné rozdíly v profilu polyfenolových sloučenin v závislosti na pěstitelské oblasti.

Zjišťování autenticity odrůd chmele podle obsahu chmelových silic a pryskyřic

Šneberger Michal, Dostálek Pavel, Karabín Marcel

Ústav kvasné chemie a bioinženýrství, VŠCHT Praha

Cílem práce bylo identifikovat vybrané tuzemské a zahraniční chmelové odrůdy na základě obsahu chmelových pryskyřic a silic a zjistit, zda na základě analýzy iso- α -hořkých kyselin ve vzorcích odebraných během výroby piva lze určit použitou chmelovou odrůdu.

Na základě stanovení obsahů a relativního zastoupení jednotlivých chmelových silic a pryskyřic ve vzorcích chmele 7 tuzemských a 13 zahraničních odrůd byla určena řada významných identifikačních znaků charakteristických pro jednotlivé odrůdy. Dále byl zkoumán možný vliv vybraných parametrů (granulace, místo pěstování) na obsah chmelových pryskyřic a silic. Rozdíly v obsazích a zastoupení chmelových silic a pryskyřic mezi hlávkovými a granulovanými chmely téže odrůdy byly velmi nízké. Naproti tomu byly zjištěny dílčí rozdíly vyplývající z rozdílných pěstebních lokalit. Na základě získaných dat byla navržena metoda identifikace odrůd, která umožňuje v daném spektru vzorků identifikovat 15 z 20 stanovovaných odrůd.

Stanovení vitality pivovarských kvasinek pomocí intracelulární změny NAD(P)H

Bednář Petr¹, Šavel Jan², Brányik Tomáš¹

¹Ústav kvasné chemie a bioinženýrství, VŠCHT Praha

²Budějovický Budvar, n.p., České Budějovice

Vitalita pivovarských kvasinek zásadním způsobem ovlivňuje délku kvašení, tvorbu vedlejších produktů kvašení a schopnost redukce nežádoucích sensoricky aktivních látek. Tím se vitalita významnou měrou podílí na kvalitě hotového produktu. V této práci je prezentována nová metoda pro stanovení vitality pivovarských kvasinek založená na měření intenzity fluorescence intracelulárního NAD(P)H během přechodu suspenze kvasinek z anaerobiózy do aerobiózy. Tato metoda je citlivá pro buňky o vysoké viabilitě, při počtu méně než 10 % mrtvých buněk. V této práci je testován nový fluorimetr, specializovaný pro měření intenzity fluorescence NAD(P)H, jehož konstrukce je velmi jednoduchá a tudíž relativně levná. Výsledky jsou porovnávány s víceúčelovým fluorescenčním spektrometrem, na kterém byly prováděny předchozí pokusy. I přes podstatné zjednodušení poskytuje nový fluorimetr srovnatelné výsledky s původním fluorescenčním spektrometrem. Zároveň byl testován zjednodušený postup měření, využívající H₂O₂ pro navození aerobních podmínek, pro lepší aplikaci do provozního měřítka. Aplikace této metody do provozních podmínek by měla být jednoduchá a levná.

Molekulární interakce při imobilizaci kvasinek adhezí

Kuřec Michal, Brányik Tomáš

Ústav kvasné chemie a bioinženýrství, VŠCHT Praha

Důležitou vlastností buněčné stěny kvasinek je její schopnost ulpívat, zachytávat se na pevné povrchy nebo vzájemně mezi sebou. Tato vlastnost kvasinek je zodpovědná za technologicky důležitý jev jako je flokulace na konci kvašení piva nebo za buněčnou adhezi na pevné nosiče, jako je mláto, DEAE-celulóza. V této práci byla pro 4 pivovarské kmeny *Saccharomyces cerevisiae* sledována jejich adheze na částice mláta v kontinuálním gas-lift reaktoru. Fyzikálně-chemické vlastnosti buněčného povrchu, jako hydrofobicita a povrchový náboj, mají významný vliv na buněčnou adhezi, proto byly tyto parametry během experimentu sledovány a následně byly použity pro výpočet interakčních energií mezi buňkami a nosičem. Vzhledem k poněkud rozporným výsledkům, byla také studována důležitost specifických biochemických interakcí, konkrétně role flokulačních genů na buněčnou adhezi. Relativní exprese těchto genů byla sledována pomocí metody PCR v různých fázích kontinuální fermentace a tyto výsledky pak byly srovnány s reálnou adhezí.

Oxidativní stres a apoptóza u kvasinky *Pichia pastoris*

Skalický Jan, Linhová Michaela, Branská Barbora

Ústav kvasné chemie a bioinženýrství, VŠCHT Praha

Cílem této práce bylo ověření a optimalizace metodik detekce reaktivních kyslíkových částic (ROS) a sledování apoptózy u kvasinky *Pichia pastoris* s využitím selektivního fluorescenčního značení a následné mikroskopické a cytometrické analýzy.

První část práce byla zaměřena na nalezení podmínek oxidativního stresu a zavedení metodik detekce ROS pomocí vybraných fluorescenčních sond (2',7'-dichlorodihydrofluorescein diacetátu, dihydroethidia a dihydrorhodaminu 123). Oxidativní stres byl u buněk vyvoláván přidávkem různých koncentrací peroxidu vodíku. Nejprve byly nalezeny podmínky účinně vyvolávající oxidativní stres bez usmrcení buněk (0,1 mol.l⁻¹ H₂O₂ působící na buňky v exponenciální fázi růstu po dobu 1 hodiny), které byly následně použity k proměření závislosti fluorescenční odezvy na čase inkubace a koncentraci přidaných sond. Na základě získaných dat byl stanoven interval značení na 15 minut a koncentrace přidaného barviva 10 µg.ml⁻¹ pro všechny testované fluorescenční sondy.

Ve druhé části byla sledována akumulace ROS v průběhu kultivací na různých uhlíkatých substrátech; konkrétně glukose, glycerolu a methanolu. Zatímco v exponenciální fázi růstu byly na jednotlivých substrátech naměřené rozdíly v intracelulární koncentraci reaktivních kyslíkových částic nevýznamné, ve stacionární fázi růstu bylo možné pozorovat zvýšení fluorescenční odezvy zejména u buněk rostoucích na methanolu.

Třetí část práce byla věnována detekci apoptózy, kdy byly apoptické buňky značeny annexinem V-FITC na základě externalizace fosfatidylserinu na vnější stranu cytoplazmatické membrány, zatímco nekrotické buňky s porušenými membránami byly značeny propidium jodidem. Ke zpřístupnění cytoplazmatické membrány musely být nejprve připraveny protoplasty enzymatickým odstraněním buněčné stěny pomocí lytikasy. Optimalizace množství lytikasy a doby jejího působení byla provedena na základě spektrofotometrické a mikroskopické kontroly.

V závěru byly zavedené metodiky využity ke sledování akumulace ROS a jejich vlivu na indukci apoptózy v průběhu vsádkových kultivací, přičemž byl potvrzen vliv stárnutí populace na akumulaci ROS a indukci apoptózy. Akumulaci ROS bylo možné sledovat od 2 týdne kultivace, první buňky značené annexinem V-FITC byly pozorovány u 3 týdnů staré kultury.

Physiology and metabolism of genetically engineered *Pichia pastoris* yeast grown on different substrates and their mixtures

Kücükturan Ipek, Marek Jan, Paulová Leona

Ústav kvasné chemie a bioinženýrství, VŠCHT Praha

Influence of cultivation conditions (mainly type of substrate) and overproduction of recombinant protein on a physiology of *Pichia pastoris* Mut⁺ strain cultivated in chemostat cultures at dilution rate 0.03 h⁻¹ was studied using flow cytometry together with fluorescent staining of selected cellular functions (membrane integrity – staining with propidium iodide (PI) and membrane polarization – staining with bis-(1,3,dibarbituric acid) trimethyl oxonol (BOX)). Product expression was not achieved during the growth of host strain on single glucose and glycerol due to their repressive effect on AOX promoter; on the other hand, low trypsinogen production ($43 \pm 1.6 \text{ mg.L}^{-1}$) was observed in cultures grown on sole sorbitol even when methanol was not present. In cultures cultivated on mixed substrates containing methanol plus other substrate (glycerol, glucose or sorbitol), trypsinogen formation was initiated shortly after the induction and reached the steady values exceeding 100 mgL⁻¹. Viability of cell culture was improved by using mixed feeding strategy (~3% cells with compromised membrane and ~10% of depolarized cells) compared to growth on sole methanol (~8% of cells stained with PI and ~20% cells stained with BOX).

Genetická a fyziologická charakterizace solventogenních bakterií rodu *Clostridium*

Piecková Lucie, Linhová Michaela, Patáková Petra

Ústav kvasné chemie a bioinženýrství, VŠCHT Praha

Cílem této práce bylo porovnání vlastností a příbuznosti 11 kmenů rodu *Clostridium* schopných produkce rozpouštědel, zahrnujících druhy *C. acetobutylicum*, *C. saccharoperbutylacetonium*, *C. saccharobutylicum*, *C. beijerinckii*, *C. pasteurianum* a *C. tetanomorphum*. Srovnání fenotypových vlastností probíhalo především prostřednictvím biochemických testů. Zjišťována byla schopnost fermentovat osm druhů sacharidů (laktosu, sacharosu, celobiosu, arabinosu, galaktosu, manosu, xylosu a glukosu) v bezcukerném TYA mediu s přídatkem diagnostického disku napuštěného roztokem příslušného cukru. Dále byla testována přítomnost katalasy, utilizace škrobu, hydrolýza kaseinu, ztekucení želatiny a tvorba slizových pouzder. Ke zjištění příbuznosti byla využita srovnávací sekvenční analýza části genu kódujícího 16S rRNA. Sekvence byla provedena od pozice 359 do 1521, číslováno podle *E. coli*. Po porovnání získaných sekvencí s dvěma mezinárodními databázemi byla zjištěna 100 % shoda v daných sekvencích u pěti kmenů. Kvůli značné míře příbuznosti 16S rRNA sekvencí se tak přikročilo k analýze úseků tzv. mezerníku jehož geny leží mezi úseky kódujícími 16S a 23S rRNA. Tento postup však bude třeba ještě optimalizovat.

Purifikace monoklonálních protilátek pro stanovení prolaminů ječmene a jejich aplikace

Kaluža Petr, Dostálek Pavel

Ústav kvasné chemie a bioinženýrství, VŠCHT Praha

Prolaminy jsou bílkovinná frakce obilovin (rodu Triticeae) rozpustné ve zředěných roztocích ethanolu. Tyto proteiny jsou charakteristické vysokým obsahem prolinu a glutaminu. Proto bývají prekurzory vzniku zákalů v pivu.

Je známa také alergenita prolaminů vůči osobám postiženým celiakií. Avšak role piva jako potencionálního alergenu nebyla dosud dostatečně prokázána.

Panel monoklonálních protilátek získaný imunizací myší proti prolaminům obilovin byl purifikován, rozdělen a testován. Po charakterizaci těchto protilátek byly některé vybrány a testovány ELISA systémem v nepřímém kompetitivním uspořádání. Byly určeny detekční limity monoklonálních protilátek a jedna protilátka byla vybrána pro následující analýzy, zvláště pro stanovení jejích křížových reakcí s prolaminovými frakcemi různých cereálií a vzorkem piva.

Kvůli komplexnosti a množství interferujících sloučenin byly prolaminy charakterizovány pomocí jednorozměrné i dvourozměrné elektroforesy. Tyto elektroforetické postupy byly optimalizovány pro stanovení prolaminové frakce proteinů obilovin.

Fyzikálně-chemická a biochemická úprava lignocelulosových materiálů pro fermentační účely

Jaisamut Kitipong, Lipovský Jakub, Rychtera Mojmír

Ústav kvasné chemie a bioinženýrství, VŠCHT Praha

Cílem této práce bylo testovat jeden z mnoha lignocelulosových odpadů – kukuřičnou slámu – s použitím jednoduchých chemických a biochemických metod pro další aplikaci pro produkci biopaliv. Kukuřičná sláma byla nejprve charakterizována z hlediska obsahu hlavních složek a potom podrobena jak hydrolýze slabými kyselinami tak i hydroxidy za relativně mírných podmínek. Redukující látky v obsahu 5 až 9 g/l obsahovala pouze kapalná fáze po kyselé hydrolýze. Promytý materiál z každé hydrolýzy byl podroben enzymové hydrolýze s použitím enzymů od výrobců Novozymes A/S (Novozymes Biomass Kits) a Genencore International B.V. (Accelerase™ 1000). Enzymová hydrolýza vykázala lepší výsledky na pevném materiálu z alkalické hydrolýzy. Avšak inhibice konečným produktem zpomalila proces a proto byla použita metoda SSF (paralelní zcukření a fermentace) ke zlepšení procesu a k dosažení lepších výsledků. SSF proces (aceton–butanol-etanolová fermentace s kmenem *C.pasteurianum* NRRL B-598) realizovaný na pevném fázi získané po alkalické hydrolýze s použitím enzymů Novozymes Biomass Kits při teplotě 37 °C poskytl relativně dobré výsledky; ze 100 kg kukuřičného odpadu by bylo možno získat 7 kg rozpouštědel obsahujících až 5 kg butanolu.

Optimalizace podmínek fermentace butanolu

Fořtová Jana, Lipovský Jakub, Melzoch Karel

Ústav kvasné chemie a bioinženýrství, VŠCHT Praha

Tato práce je zaměřena na optimalizaci fermentačního média pro anaerobní bakterie rodu *Clostridium*, které se využívají pro produkci butanolu. Většina kultivací byla prováděna s kmenem *Clostridium pasteurianum* NRRL B-598. K optimalizaci média sloužily vsádkové kultivace v baňkách prováděné za striktně anaerobních podmínek s glukosou o koncentraci 60 a 80 g.l⁻¹, se zdroji organického dusíku a živin v podobě kvasničného autolýzátu, tryptonu a syrovátkového proteinu, zdroji anorganického dusíku (chlorid amonný, fosforečnan amonný a octan amonný) a dalšími komponentami. Byl rovněž sledován efekt přidavku butanolu do média na začátku kultivace. Přítokované kultivace byly prováděny v bioreaktoru za použití médií o různé koncentraci glukosy. Ta byla přítokována podle aktuální koncentrace glukosy tak, aby se zamezilo jak limitaci tak inhibici substrátem.

Slibným se ukázalo využití syrovátkového proteinu, který by mohl být vhodným a cenově zajímavým zdrojem živin. Bylo dosaženo koncentrace butanolu až 8,5 g.l⁻¹. Náhrada chloridu amonného jiným zdrojem anorganického dusíku se neosvědčila. Při všech přítokovaných kultivacích v bioreaktoru bylo dosaženo koncentrace butanolu kolem 8 g.l⁻¹ a to bez ohledu na průběh kultivace.

Produkce biobutanolu bakteriemi rodu *Clostridium*

Lipovský Jakub, Patáková Petra, Rychtera Mojmír, Melzoch Karel

Ústav kvasné chemie a bioinženýrství, VŠCHT Praha

Poptávka po biopalivech druhé generace způsobila obnovení zájmu o aceton – butanol – etanolovou (ABE) fermentaci. Hlavní produkt - butanol vykazuje některé výhodné vlastnosti oproti etanolu (vyšší obsah energie, nižší těkavost, nižší korozivita). Další přednost ABE fermentace oproti „klasické“ produkci etanolu kvasinkami spočívá v možnosti využití široké škály substrátů (např. pentosových sacharidů, laktosy, škrobu a inulinu) bez předcházející úpravy. Pro ekonomicky rentabilní produkci butanolu je však potřeba nalézt vhodný a dostatečně levný substrát, který by primárně nebyl potravinářskou surovinou, a proto je snaha o využití odpadních surovin jako je například obilná sláma, dřevní štěpka, či organické odpady z domácností. Použití lignocelulosových surovin pro aceton-butanolové kvašení naráží na nutnost hydrolytické předúpravy (kyselé, alkalické nebo enzymové hydrolýzy, parní exploze nebo jejich kombinace) z důvodu nefunkčního klostridiálního enzymového aparátu pro štěpení celulosy. Dalším úskalím je poměrně nízká tolerance produkčních kmenů k butanolu. Popsané nedostatky je možné částečně eliminovat uspořádáním celého procesu, jako je například současné zcukření při fermentaci (SSF), on-line separace produktu, či nalezením produkčních kmenů s lepšími produkčními vlastnostmi, popřípadě genetickou modifikací kmenů stávajících.

Separační techniky při výrobě biobutanolu kvasnou cestou

Fribert Petr, Patáková Petra, Rychtera Mojmír, Melzoch Karel

Ústav kvasné chemie a bioinženýrství, VŠCHT Praha

Mikrobní produkce 1-butanolu z odpadních sacharidických substrátů je jednou z možností výroby tzv. biopaliv druhé generace. Avšak tolerance k 1-butanolu je kritickým faktorem ovlivňujícím schopnost mikroorganismů produkovat 1-butanol v ekonomicky přijatelných koncentracích. Nynější kmeny rodu *Clostridium* nejsou schopny růst při koncentracích 1-butanolu vyšších než 2 %, a proto jsou v současné době vyvíjeny moderní způsoby výroby, spojující produkci a separaci 1-butanolu v jednom systému, které mohou zlepšit ekonomickou bilanci produkce.

Tradiční metodou separace organických rozpouštědel produkovaných při aceton-butanol-ethanolové (ABE) fermentaci bakteriemi rodu *Clostridium* je destilace. Tato metoda je energeticky a finančně náročná, neboť 1-butanol má vyšší bod varu než voda a koncentrace všech zmíněných rozpouštědel v kultivačním médiu je nízká. Ve snaze snížit energetické nároky produkce 1-butanolu jsou vyvíjeny alternativní způsoby separace produktů ABE fermentace. Mezi preferované metody separace patří stripování plynem, extrakce, adsorpce a membránové metody, jako pervaporace, pertrakce a reverzní osmóza.

V naší práci se zabýváme optimalizací metody stripování plynem při separaci produktů ABE fermentace a možností připojení stripovacího zařízení k laboratornímu fermentoru, což by umožnilo in situ separaci ABE rozpouštědel během fermentace.

Izolace butanolu z medií po ABE fermentaci, integrované systémy

Pohludková Pavlína, Fribert Petr, Melzoch Karel

Ústav kvasné chemie a bioinženýrství, VŠCHT Praha

Aceton butanol ethanolová (ABE) fermentace rodu *Clostridium* se v současné době dostává do popředí díky možnosti využití butanolu jako alternativního paliva.

Mezi největší problémy ABE fermentace patří inhibice růstu a množení buněk vznikajícími rozpouštědly, která významně snižuje jejich finální koncentraci a celkovou produktivitu systému. Jako řešení se nabízí využití in situ separace vznikajících rozpouštědel v průběhu fermentace v integrovaných systémech.

V této práci byly k separaci rozpouštědel z modelových směsí a reálných médií po fermentaci používány metody stripování plynem a extrakce do organických rozpouštědel. Cílem práce bylo vyvinout optimální metodu těchto separačních technik, kterou by bylo možné použít v integraci s ABE fermentací.

V případě metody stripování plynem byla jako optimální zvolena metoda s recyklem plynu s rychlostí průtoku plynu 1,5 VVM a dobou stripování minimálně 24 h. V případě extrakce rozpouštědel je optimálním extrakčním činidlem oleylalkohol s výtěžností extrakce butanolu 85 %.

Application of polyamide sorbents for improvement of beer colloidal stability

Khac Tran Diep, Siříšťová Lucie, Dostálek Pavel

Ústav kvasné chemie a bioinženýrství, VŠCHT Praha

Insoluble polyamides were first used by Harriss and Ricketts in the late 1950s for beer stabilisation. These investigators showed that Nylon 66 effectively removes anthocyanidins from beer. However, practical use of nylons as a colloidal stability treatment agent has essentially been eliminated, because they cost too much. Therefore in 1960s nylon was replaced by cheaper PVPP. PVPP, which is an insoluble crosslinked form of PVP, represents the most frequently used stabiliser for removal of polyphenols nowadays. In 1980s the research of polyamides for brewing application was done at the Institute of Chemical Technology Prague, where several polyamide sorbents with excellent sorption activity were developed. Nowadays a new polyamide (PA) sorbent was developed. This sorbent is kieselguhr covered by a thin layer of poly-6-caprolactame. The sorbent is prepared by in solution polymerisation in the presence of kieselguhr. PVPP and PA were compared due to their sorption capacity for polyphenols in beer. Sorption capacity was also measured in model solutions (catechin in acetate buffer) and industrial scale. There was no principal difference in sorption capacity between PVPP and PA. However combination effect of PA and silicagel gave better colloidal stability than combination effect of PVPP and silicagel. Stabilized beers had longer real shelf-life while antioxidant power was preserved.

Vliv kyslíku na analytické parametry réвовých vín

Petříček Jan, Cíchová Marie, Fiala Jaromír

Ústav kvasné chemie a bioinženýrství, VŠCHT Praha

Víno je složeno z mnoha chemických látek. Mezi nejvýznamnější složky ve víně patří polyfenoly. Jejich množství a charakter je ovlivněn zpracováním hroznů a samotnou odrůdou. Během zrání a stárnutí vína dochází ke značným změnám s ohledem na složení polyfenolů, které ovlivňují chuť a barvu vína. Významné jsou také jejich antioxidační vlastnosti, které v průběhu výroby víno chrání před negativním vlivem kyslíku.

Měření sledovalo vliv odkalovací technologie na koncentraci polyfenolů ve víně. Dále byl sledován rozdíl koncentrace polyfenolů mezi vínem v tanku na sklepě a vínem v láhvi, které během výroby přijalo určité množství kyslíku. Stanovení obsahu celkových polyfenolů bylo provedeno spektrofotometrickou metodou s Folin-Ciocalteuovým činidlem. Pro lepší stanovení jednotlivých polyfenolů bylo použito SPE k jejich zakoncentrování. Dále byly jednotlivé polyfenoly kvantifikovány metodou HPLC s DAD detekcí. Hodnoty rozpuštěného kyslíku byly stanoveny pomocí měřiče kyslíku a teploty TYP MKT 44A.

Z naměřených výsledků vyplývá, že při změně odkalení ze sedimentace na flotaci koncentrace polyfenolů dosahuje vyšších hodnot. Získané složení polyfenolů se dále vyvíjí poklesem hodnot během výroby a zrání vína díky příjmu kyslíku.

Fyzikální podstata pивní pěny

Novák Pavel¹, Brányik Tomáš¹, Růžička Marek²

¹Ústav kvasné chemie a bioinženýrství, VŠCHT Praha

²Ústav chemických procesů AV ČR

Z fyzikálně-chemického hlediska je pивní pěna disperze plynu (CO_2 , N_2 , vzduchu) v kapalině. Jedná se o polydisperzní systém pro jehož popis se používají pojmy jako pěnivost, přilnavost, stabilita, hustota, pěnivý objem, struktura, barva, chuť atd. Pěna se tvoří z bublin, které mají průměr od 0,1 do 3 mm. Tyto bubliny vznikají nejčastěji desaturací plynu z piva procesem homogenní nebo heterogenní nukleace.

Po nalití piva do sklenice se nejprve tvoří vlhká pěna, která obsahuje bubliny kulovitěho tvaru oddělené větším množstvím kapaliny. Obsah plynné fáze se pohybuje okolo 75 % obj. Vlivem gravitace přechází vlhká pěna na stabilnější suchou pěnu, která je tvořena mnohostěny oddělené tenkým filmem disperzního prostředí. Na styku tří stěn mnohostěnu pěny, které svírají úhel 120° se tvoří tzv. Gibbsovy-Plateauovy kanálky.

Pěna je dynamický systém, proces tvorby a rozpadu probíhá současně, což komplikuje studium dílčích dějů. Mezi základní typy dějů patří vzestup bublin k hladině tvořice tak na ní vrstvu pěny, interakce bublin s hladinou, koalescence bublin, vzájemná deformace bublin (vznik mnohostěnu), odvodňování pěny (drainage) a izotermický převod plynu z drobných bublin do bublin větších (disproporcionace). Tyto děje probíhají do značné míry současně a navzájem se ovlivňují. Například difúze plynu z menší bubliny do větší a odvodňování lamel oddělujících bubliny podporují koalescenci.

V přednášce jsou uvedeny vybrané fyzikální procesy ovlivňující tvorbu a rozpad pивní pěny. Ve své disertační práci se budu věnovat mimo jiné hlubšímu studiu těchto jevů, především vzestupu bubliny k hladině, interakci bublin s hladinou a koalescenci bublin.

Pivní pěna jako vícefázový systém

Baszczyński Martin¹, Novák Pavel¹, Brányik Tomáš¹, Růžička Marek²

¹Ústav kvasné chemie a bioinženýrství, VŠCHT Praha

²Ústav chemických procesů AV ČR

Cílem tohoto projektu je výzkum a získání poznatků z oblasti chemie vícefázových reaktorů a hydrodynamiky, koloidní a povrchové chemie a jejich kombinací s poznatky z potravinářské chemie vytvořit komplexní náhled na pěnivé systémy. Pivní pěna je tvořena z bublinek CO₂, které vznikají homogenní nebo heterogenní nukleací v objemu přesycené kapaliny. Ve vytvořených bublinách dochází k jevům, které ovlivňují stabilitu pivní pěny.

Pivo, jakožto komplexní roztok solí, ethanolu a více než 800 organických sloučenin není vhodné pro studium těchto fundamentálních jevů. Základní měření jsou provedena na modelovém systému voda, vzduch + chemicky definovaná látka (jednoduché povrchové aktivní látky).

Z 'mikroskopického' hlediska jsou studovány tyto jevy na úrovni jednotlivých bublin: tvorba izolované bubliny, vzestup bubliny v kapalině, náraz na hladinu, odrazy od hladiny a koalescence s hladinou. Totéž pak pro případ dvou bublin, abychom zjistili jejich párové interakce. Pochopení těchto dílčích procesů pomůže získat lepší náhled na podstatu celého složitého problému chování pivní pěny v čase.

Z 'makroskopického' hlediska je studována pěna jako celek. S využitím měřicí cely s možností okamžitého zapnutí/vypnutí přívodu plynu, a na různých modelových systémech je přiblížen vliv surfaktantů na stabilitu pěny. Jako základní model je použit systém voda+vzduch+dodecyl sulfát sodný na dlouho trvající pěnu (řádově minuty), systém voda+vzduch+terpinol jako model pěny se stabilitou řádově v sekundách a model voda+vzduch+dekanol na pěny s trvanlivostí desetin sekundy. Dynamika pěny bude popsána časovým průběhem hodnot výšky vrstvy pěny. Rychlost jejího poklesu po vypnutí přívodu plynu pak bude odrážet míru její stability.

Za tímto účelem jsme vyvinuli vizualizační systém využívající rychloběžných kamer a software pro analýzu obrazu.

Praktický přístup k pivní pěně

Košin Petr^{1,2}, Šavel Jan², Brož Adam^{1,2},

¹Ústav kvasné chemie a bioinženýrství, VŠCHT Praha

²Budějovický Budvar, n.p., České Budějovice

Stabilita pivní pěny je vedle sensorické stability jedním z nejstudovanějších témat současného pivovarského výzkumu. Obvyklý přístup ke zlepšení pivní pěny je najít složky piva pozitivně ovlivňující stabilitu pěny, popsat je, vypracovat test na jejich kvantifikaci a porovnat pivovarské suroviny v jejich obsahu. Ačkoliv výsledky tohoto redukcionistického přístupu jsou velice zajímavé, jejich skutečné využití je limitované. Jednak jednou z hlavních priorit většiny sládků zůstává zachování tradiční skladby surovin pro danou značku piva, navíc tyto výsledky velice těžko popisují skutečnou stabilitu pivní pěny ve sklenici spotřebitele. Stabilita pivní pěny je totiž jen těžko srozumitelný a popsatelný boj mezi pozitivně a negativně působícími složkami piva. Negativně působící složky vyhrávají v cestě k pivní pěně i přesto, že je v pivu pozitivních složek přebytek. Lepší přístup než analytické stanovení jednotlivých složek piva je studium pěny metodou pěnivě schopnosti matrice a přímé pozorování stability vlastní pěny.

Adheze zelených řas *Chlorella vulgaris* na sklo

Širmerová Marcela¹, Maršálková Barbora¹, Kováčová Renata², Lopes Fabio³,
Brányik Tomáš¹

¹Ústav kvasné chemie a bioinženýrství, VŠCHT Praha

²Ústav technologie mléka a tuků, VŠCHT Praha

³Centro de Engenharia Biológica, Universidade do Minho, 4710-057 Braga, Portugal

Klíčová slova: Adheze, řasy, interakční energie, kontaktní úhel, optimalizace

Cílem tohoto výzkumu je identifikovat a kvantifikovat faktory prostředí, které ovlivňují a řídí adhezi řas, konkrétně průmyslově využívané řasy (*Chlorella* sp.), na pevné povrchy určením povrchových vlastností (povrchové napětí, povrchový náboj) interagujících ploch tj. buněčných stěn a pevných inertních substrátů. Za tímto účelem byly vypracované a optimalizované metody měření. Výsledky naznačují, že složení kultivačního média ovlivňuje povrchové napětí buněčných stěn jednobuněčných řas. Snižování obsahu železitých iontů v kultivačním médiu způsobilo mírné zvýšení celkového povrchového napětí povrchu buněk, což podle termodynamického modelu usnadňuje jejich adhezi na pevné povrchy. Obecně lze říci, že termodynamický model interakce koloidních částic aplikovaný pro mikrobiální buňky umožňuje selekci vhodných konstrukčních materiálů pro fotobioreaktory či materiálů pro imobilizaci jednobuněčných řas.

ÚVOD

Zelené řasy mají široké spektrum využití v potravinářském, farmaceutickém a chemickém průmyslu. Některé druhy řas hrají významnou roli v souvislosti s biodegradačními technologiemi. Díky tomuto širokému spektru využití v biotechnologiích jsou řasy průmyslově pěstovány ve fotobioreaktorech, kde jeden z faktorů ovlivňující růst biomasy je distribuce světla do celého objemu reaktoru. A právě adheze řas na stěnách reaktoru (zarůstání stěn reaktoru) zabraňuje průsvitu stěn fotobioreaktoru a negativně ovlivňuje růstovou rychlost řas.

Dnes je běžné využívání přirozených biologických procesů v biotechnologiích a intenzifikace produktivity pomocí biokatalyzátorů je možno dosáhnout také imobilizací buněk na nosnou matici, kde jsou buňky v přímém kontaktu s okolním prostředím. Hlavní nevýhodou imobilizace a tvorby biofilmu jsou relativně slabé interakční vazby mezi buněčným nosičem a buňkou a následkem toho citlivost biofilmu na fyzikální nebo mechanický stres. Buňky zelených řas jsou také mnohdy jedna ze složek biofilmu, který se tvoří na povrchu různých

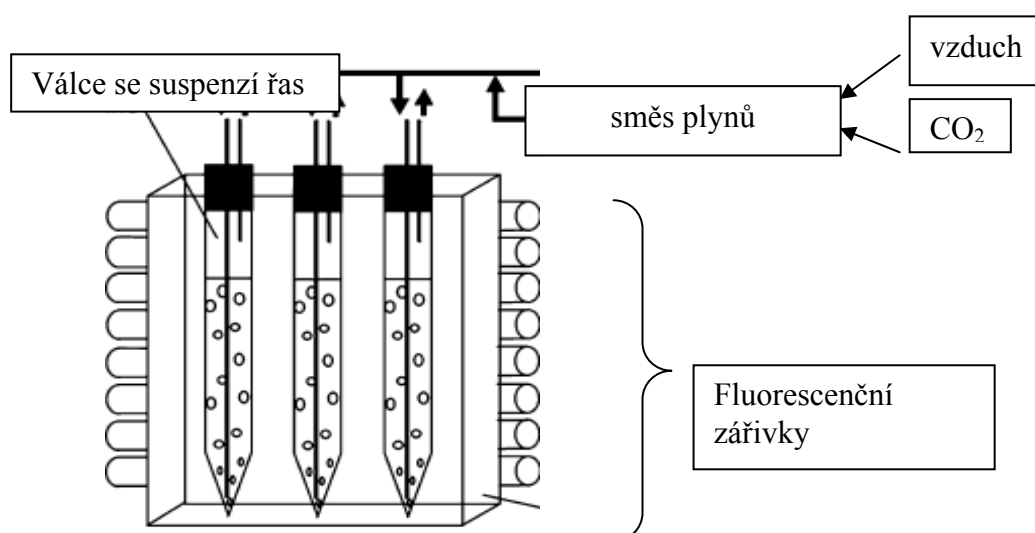
technologických zařízení (vodovodní trubky, zásobní tanky, chladicí systémy) a způsobují jejich poškození.

Povrchové vlastnosti a interakční energie mezi povrchy jsou závislé na druhu řasy a druhu povrchu (živý, inertní). Povrchové vlastnosti řas a pevných povrchů, na které řasy usedají, jak ve vodním, tak ve vzdušném prostředí, byly a jsou studovány. Přesto je stále málo známo o adhezi mikroorganismů, jejím mechanismu, jejích řídicích dějích a možnostech jejího využití jako např. zamezení nebo prevence nežádoucí adheze při technologických procesech, nebo vyvolání imobilizace při průmyslovém využití monokultury řas v biodegradaci. Studium mechanismu adheze komerčně a průmyslově důležitých řas je proto významné pro jejich využití při různých technologických aplikacích. Cílem této práce bylo sledovat vliv kultivačních podmínek, zejména obsahu železa v růstovém médiu, na povrchové vlastnosti řas a na základě těchto dat předpovědět termodynamickou stabilizaci adheze řas na sklo, jako běžný konstrukční materiál fotobioreaktorů.

EXPERIMENT

Material a metody. Kultura řasy *Chlorella vulgaris*, kmen P12 má relativně vysokou růstovou specifickou rychlost ($0,25 \text{ h}^{-1}$ při optimálních podmínkách) a jsou schopné růstu při vysoké koncentraci CO_2 . Tento buněčný kmen pod označením CCAP 211/1 je skladován v botanickém institutu Akademie věd v České republice.

Podmínky pěstování kultury řas. Řasy jsou pěstovány v objemu 300 ml media ve skleněných válcích, které jsou probublávány směsí plynů CO_2 a O_2 (2% CO_2) a tento poměr vháněných plynů je kontinuálně měřen. Válce jsou umístěny v termostatické vodní lázni, kde je teplota udržována při 30°C a v průběhu celé kultivace byly ozařovány stejnou intenzitou světla z fluorescenčních zářivek (Obr. 1). Kompozice základního růstového média (médium 1) je založena na složení biomasy řas a má následující obsah (mg.l^{-1}): 1100 $(\text{NH}_2)_2\text{CO}$; 237 KH_2PO_4 ; 204 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 88 CaCl_2 ; 4 $\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{O}_8\text{N}_2\text{NaFe}$; 0,83 H_3BO_3 0,95 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$; 3,3 $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$; 0,17 $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$; 2,7 $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 0,6 $\text{CoSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 0,014 NH_4VO_3 v destilované vodě. Při pěstování řas bylo změněno složení média a byly pozorovány změny v povrchových vlastnostech buněk. Změna složení média spočívala ve snížení obsahu složky média představující zdroj železitých iontů ($\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{O}_8\text{N}_2\text{NaFe}$) na 2 mg.l^{-1} (médium 2) a na nulu (médium 3). Hodnota pH všech médií byla během celé kultivace udržována na hodnotě 7.



Obr. 1. Laboratorní fotobioreaktor [1].

Čištění skla pro měření povrchového napětí. Podložná sklíčka o velikosti 7,6 x 2,6 x 0,1 cm byla umístěna do lázně 10% H_2SO_4 na 4 hodiny při 80°C. Dále byla zchlazena na pokojovou teplotu a opláchnuta destilovanou vodou na neutrálního pH a posléze umístěna do ultrazvukové lázně v destilované vodě na 2x3 min. Nakonec byla sklíčka opláchnuta deionizovanou vodou a usušena.

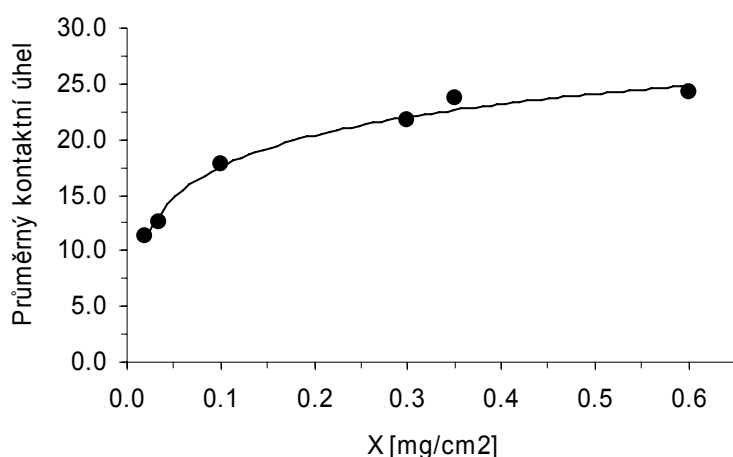
Příprava vrstev řas na sklo. Suspenze řas ve stacionární fázi růstové křivky byla odstředěna při 4000 ot/min po dobu 5 min a promyta destilovanou vodou. Tento proces byl opakován třikrát. Pak byla suspenze rozmýchána v 50% obj. ethanolu a řasy byly naředěny na požadovanou koncentraci pro tvorbu vrstev. Takto připravená suspenze (2 ml) byla napipetována na podložné sklíčko a ponechána na rovné podložce při pokojové teplotě po dobu 12 hodin sušit.

Měření kontaktních úhlů. Kontaktní úhly byly měřeny přístrojem na měření kontaktních úhlů CAM200 (KSV, Finsko). Jako testovací kapaliny byly zvoleny: voda, formamid, α -bromonafalen. Z naměřených hodnot kontaktních úhlů, kterou tvoří kapka (5 μl) testovaným povrchem (vrstva buněk, nebo sklo) bylo vypočteno celkové povrchové napětí (γ_{tot}) a jeho dílčí složky (γ_{LW} , γ_{AB} , γ_{tot}) pro buňky a sklo. Hodnoty volné interakční energie mezi buňkami ve vodě a buňkami a nosičem byly vypočítány podle van Oss a kol. [2].

Měření zeta potenciálu buněk. Povrchový náboj řas pěstovaných v médiu s různým obsahem železitých iontů byl stanoven přístrojem Zetasizer Nano-ZS (Particle Sizer, Malvern, UK) v 5mM KNO_3 (pH7) jenž svou iontovou silou odpovídá kultivačnímu médiu.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Časová křivka změny hodnoty kontaktního úhlu ukazuje počáteční rychlý pokles s následujícím konstantním klesáním hodnoty kontaktního úhlu. To může být hypoteticky způsobeno počátečním zvlhčením buněčné vrstvy (rehydratace biomakromolekul) a vodní evaporací. Po rehydrataci buněk kapkou jsou hodnoty ustáleny. Další postupný pokles objemu kapky, přibližně po 40 vt. je již způsoben pouze evaporací vody. Tento trend byl pozorován i při testování povrchu skla. Konečná hodnota kontaktního úhlu je spočítána extrapolací křivky poklesu způsobeného odpařováním do času $t=0$ [3]. V případě dalších dvou testovacích kapalin (formamid, bromnaftalen), jenž mají vyšší bod varu, je jejich evaporace zanedbatelná a dosahují ustálení hodnot kontaktního úhlu za kratší dobu.



Obr. 2. Závislost velikosti průměrného kontaktního úhlu vody (°) na mocnosti vrstvy řas (pěstované na médiu1) nanesené na podložní sklíčko (X mg biomasy na 1 cm²).

Pro měření kontaktních úhlů je potřebné disponovat dostatečně velkou a rovnou plochou, na kterou bude umístěna kapka testovací kapaliny a zároveň by tato plocha neměla okamžitě absorbovat kapku testovací kapaliny. Měření kontaktních úhlů je tedy na skle díky jeho vlastnostem povrchu bezproblémový, ale v případě povrchu tvořeného buňkami řas je měření složitější a obtížnější. Hodnoty kontaktních úhlů se liší při různých mocnostech buněčných vrstev a bylo potřeba stanovit optimální koncentraci nanesené suspenze (tloušťku vrstvy buněk) pro všechna následující měření z důvodu objektivity naměřených hodnot. Zároveň byla sledována i změna objemu vytvořené kapky testovací kapaliny na povrchu vrstvy řasových buněk. Z následujícího grafu (Obr. 2) je patrné, že tloušťka buněčné vrstvy ovlivňuje průměrnou hodnotu kontaktního úhlu zejména při nízké koncentraci buněk na jednotku povrchu. Přibližně od hodnoty 0,3 mg sušiny buněk na cm² se hodnota kontaktního úhlu vody významně nemění. Optimální koncentrace buněk nanesena na povrch podložních sklíček

by měla být od 0,3 do 0,6 mg.cm⁻². Měření povrchových vlastností buněk bylo proto prováděno na vrstvách buněk s koncentrací 0,3±0,2 mg.cm⁻².

Tabulka 1 Průměrné hodnoty kontaktních úhlů všech testovacích kapalin na povrchu čistého skla a na vrstvách řas vypěstovaných v médiích o různém složení.

Typ povrchu	Kontaktní úhel (°)		
	Voda	Formamid	α-Bromonaftalen
Sklo	36,0	30,9	32,3
Řasy (médiu1)	15,6	25,6	47,8
Řasy (médiu2)	16,6	22,3	59,5
Řasy (médiu3)	26,8	14,9	58,2

Měření provedená na řasách pestovaných v médiích s různým obsahem železitých iontů naznačují, že absence tohoto prvku v médiu způsobuje změnu jejich povrchových vlastností. Snižováním obsahu železa v médiu došlo ke změně kontaktních úhlů kapalin (Tab. 1) a v případě média3 taky ke zvýšení negativního náboje povrchu buněk limitovaných železem (Tab. 2).

Tabulka 2 Průměrné hodnoty zeta potenciálů (5 mM KNO₃, pH7) pro buňky řas vypěstované v médiích o různém složení.

	Zeta potenciál (mV)
Řasy (médiu1)	-13,1
Řasy (médiu2)	-13,0
Řasy (médiu3)	-16,3

Z naměřených hodnot kontaktních úhlů bylo pomocí Youngovy rovnice spočítáno celkové a dílčí povrchové napětí (γ_{tot} , γ_{LW} , γ_{AB}) a hodnoty interakční energie pro různé interagující soustavy (buňka- voda – buňka, buňka – voda – sklo) byly spočítány dle teorie van Osse [2]. Na základě výpočtu bilancí volné energie v interagujících systémech je možné predikovat, zda v této soustavě dojde k termodynamicky stabilní adhezi či nikoli. Kladné hodnoty

celkové volné energie (ΔG^{tot}) pro oba systémy naznačují, že buňky pěstované v médiích s různým obsahem železitých iontů, nebudou mít tendenci se vzájemně shlukovat, či adherovat na povrchu skla. Energetická nevýhodnost interakce buněk s povrchem jiné buňky, nebo skla se ovšem snižuje s úbytkem železa v médiu (Tab. 3). Energeticky nevýhodou interakční bilanci buněk se sklem lze snadno posunout do negativních hodnot ΔG^{tot} bilancováním adheze řas např. na polystyren. Kontakt těchto dvou povrchů by měl vyvolávat relativně stabilní ulpívání řas (Tab. 3). Pomocí termodynamického modelu lze proto dosáhnout vhodné volby konstrukčních či imobilizačních materiálů proto daný cíl. Dalším krokem ve výzkumu adheze řas na pevné povrchy bude experimentální ověření předpovědi termodynamického modelu pomocí adhezních testů.

Další upřesnění předpovědi adheze zřejmě poskytne rozšířená DLVO teorie, která bude aplikována pro kvantifikaci interakce. Kromě toho nelze v případě interakce živých buněk zanedbat ani specifické biochemické mechanismy adheze. Jejich charakteristickým rysem je, že při nich dochází k lokalizovaným a vysoce specifickým molekulárním interakcím, které nelze již zmíněnými fyzikálně-chemickými metodami měření (měření kontaktního úhlu a zeta potenciálu) zcela spolehlivě kvantifikovat.

Tabulka 3 Vypočtené hodnoty povrchového napětí buněk řas vypěstované v médiích o různém složení a hodnoty volné interakční energie pro interakci dvou buněk ve vodním prostředí a buňky s povrchem skla ve vodním prostředí.

Buňky (interagující system)	Povrchové napětí a volná interakční energie (mJ.m ⁻²)					
	γ_{LW}	γ_{AB}	γ_{tot}	ΔG^{LW}	ΔG^{AB}	ΔG^{tot}
Médium1						
Řasy (buňka -voda-sklo)				-2,7	31,4	28,7
Řasy (buňka-voda-buňka)	31,0	21,3	52,4	-1,6	37,1	35,5
Médium2						
Řasy (buňka -voda-sklo)				-1,1	27,4	26,3
Řasy (buňka-voda-buňka)	25,2	31,1	56,4	-0,3	27,1	26,9
Médium3						
Řasy (buňka -voda-sklo)				-1,2	19,2	18,0
Řasy (buňka-voda-buňka)	25,9	31,1	57,7	-0,3	15,0	14,7
Řasy (buňka-voda-polystyren*)				-1,7	-4,5	-6,2

*[4]

ZÁVĚR

Předmětem této práce je studium adheze zelených řas na pevné povrchy. Bylo zjištěno, že obsah železitých iontů kultivačního média ovlivňuje fyzikálně-chemické vlastnosti buněčných stěn řas. Buňky narostlé za podmínek limitace železem měly nejvyšší povrchové napětí a podle termodynamického modelu vykazovaly energeticky nejméně nejvýhodnou interakci s povrchem skla. V případě hypotetické interakce buně s hydrofobnějším polystyrenem předpověděl termodynamický model již relativně stabilní adhezi.

Poděkování

Tento výzkum je podporován vnitřním grantem VŠCHT v Praze (319089032) a grantem Ministerstvem školství, mládeže a tělovýchovy České republiky při projektu EUREKA (OE09025-ALGANOL).

REFERENCE

- [1] Doušková I, Doucha J, Livansky K, Machat J, Novák P, Umysová D, Zachleder V, Vitová M. Simultaneous flue gas bioremediation and reduction of microalgal biomass production costs, *Applied Microbiology and Biotechnology* 2009, 82(1), 179-185
- [2] van Oss CJ. Hydrophobicity of biosurfaces – origin, quantitative determination and interaction energies, *Colloids Surfaces B: Biointerfaces* 1995, 5, 91-110.
- [3] Širmerová M, Lopes F, Doušková I, Brányik T. Adhesion of microalgae to glass – optimization of cell surface tension measurement, 36th International Conference of Slovak Society of Chemical Engineering, 2009, 195:1-5, CD-ROM.
- [4] Kang S, Choi H. Effect of surface hydrophobicity on the adhesion of *S. cerevisiae* onto modified surfaces by poly(styrene-ran-sulfonic acid) random copolymers, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 2005, 46, 70–77

Zvýšení obsahu škrobu v biomase zelených řas a jeho následná konverze na zkvasitelné cukry

Maršálková Barbora¹, Širmerová Marcela¹, Doušková Irena^{1,2}, Brányik Tomáš¹, Melzoch Karel¹

¹Ústav kvasné chemie a bioinženýrství, VŠCHT Praha

²Mikrobiologický ústav AV ČR, v.v.i., Třeboň

Klíčová slova: řasy, škrob, konverze, fermentovatelné cukry, bioethanol, amylasy

Kromě tradičního využití ve výrobě alkoholických nápojů se ethanol stává nejrychleji rostoucím energetickým zdrojem současnosti. Tradičním substrátem pro výrobu ethanolu jsou zkvasitelné cukry pocházející ze zemědělských plodin obsahujících škrob. Avšak alternativním zdrojem zkvasitelných cukrů mohou být jednobuněčné řasy (*Chlorella sp.*) schopné vysoce účinné fixace CO₂ a akumulace intracelulárního škrobu (do 65 % sušiny). Navíc, kultivace těchto mikroorganismů na spalínách vznikajících ve spalovnách komunálního odpadu je potencionální způsob snížení emisí tohoto skleníkového plynu a zároveň významně snižuje náklady na produkci biomasy s vysokým obsahem škrobu. Cílem této práce bylo studovat enzymovou hydrolýzu škrobu pocházejícího z jednobuněčných řas pěstovaných na odpadních spalínách obsahujících vysoký podíl CO₂ a vliv způsobu desintegrace na výtěžnost hydrolýzy.

ÚVOD

Ztenčování celosvětových zásob fosilních paliv a zvyšující se koncentrace oxidu uhličitého v atmosféře nutí zejména vyspělé země k intenzivnímu hledání alternativ ke klasickým palivům, zejména takových, které by umožňovaly tzv. uzavřený koloběh uhlíku. Pozornost se proto zaměřila na biopaliva. [1-3]

V poslední době nabývá na významu využití jednobuněčných řas jako suroviny pro výrobu biopaliv. Tyto fotoautotrofní mikroorganismy mají totiž schopnost řádově rychlejšího růstu než vyšší rostliny, nižší nároky na spotřebu vody a hnojení, vytvořená biomasa může být spotřebována kompletně, bez vzniku významných odpadů a v neposlední řadě mohou být fotobioreaktory umístěny na územích, která nejsou vhodná k zemědělskému využití [4-7].

Často se mluví o různých druzích mikroskopických řas jako o potenciálním zdroji lipidů pro výrobu biodieselu [7, 8], nicméně tato technologie zatím naráží na principiální problémy. Řasy s vysokým obsahem lipidů v biomase se vyznačují nízkou růstovou rychlostí a vysokou sensitivitou vůči střížným silám.

Pokud se nenajde nový vhodný druh mikroorganismu či nevyšlechtí nová genetická modifikace, nebudou výsledné energetické, ekologické a sociální

efekty dostatečně pozitivní a záměr využití mikroskopických řas k produkci biodieselu tak nebude obhajitelný [7].

Vyskytují se ovšem i rostoucí odolné jednobuněčné zelené řasy, jejichž hlavní zásobní látkou je škrob.

V souvislosti s využitím řasové biomasy pro produkci bioetanolu byl pro experimenty použit rychle rostoucí produkční kmen autotrofní zelené chlorokokální řasy *Chlorella vulgaris*. Mezi její nejvýznamnější vlastnosti patří velmi vysoká růstová rychlost, rezistence vůči střízným silám a relativní nenáročnost pěstování biomasy ve velkoobjemových kultivacích. Produkce biomasy při nich může dosáhnout i více jak 100 tun suché biomasy na hektar za rok. Obsah škrobu v biomase je pak silně závislý na množství kultivačních podmínek a může se pohybovat v rozmezí 0 až 65% sušiny. Při velkoobjemových kultivacích provedených za optimálních podmínek bylo v suché biomase zjištěno 20% škrobu.

První provedené pokusy byly zaměřené na zvýšení obsahu škrobu v biomase. Kultivovány byly za podmínek limitace třemi hlavními makronutrienty (N, S, P) a potlačení proteosyntézy specifickými inhibitory. U buňek vystavených specifickým stresovým kultivačním podmínkám vzrostl obsah škrobu až na 65% suché váhy. Takto vypěstované řasy se dá využít jako surovina pro výrobu biopaliv, zejména bioetanolu. Předběžné výsledky následné enzymatické konverze škrobu z řas na fermentovatelné cukry jsou pak presentován v tomto článku.

EXPERIMENT

Materiál a metody. Biomasa řas použitá při experimentech byla vypěstována v Mikrobiologickém ústavu Akademie věd ČR v Třeboni. Kultivace byla provedena za limitace zdrojem síry [9] ve venkovních velkoobjemových solárních jednotkách s tenkou vrstvou suspence na nakloněném povrchu [5, 10]. Prvním stupněm při enzymatické hydrolýze, byla desintegrace buňek produkčního mikroorganismu a uvolnění intracelulárního škrobu pomocí balotibnového mlýnu Dyno-Mill KDL-Pilot A (Willy A. Bachofen AG Maschinenfabrik, Basel, Switzerland). Optimální velikost skleněných balotin byla 0,3-0,5 mm. Úspěšnost homogenizace rozemletím buňek byla 95 % [10].

Analýza obsahu intracelulárního škrobu byla provedena v následujících krocích. Biomasa byla sklizena odstředěním kultivované řasové suspenze po dobu 5 minut při 5000 rpm a zmrazena při teplotě $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Následně byla separovaná biomasa desintegrována. Před hydrolýzou škrobů (30% HClO_4 , 15 min, 25°C) bylo nutné vyextrahovat pigmenty (80% EtOH, 15 min., 68°C , třikrát). Vzniklá glukóza reagovala s anthronem (72% H_2SO_4 , 8 min, 100°C) za vzniku barevného produktu, který byl měřen spektrofotometricky.

Strukturní analýza škrobu pocházejícího z biomasy řas. Poměr Amylosa/Amylopectin byl zjišťován za použití komerčního kitu (K-AMYL/04/06 Kit, Megazyme, Ireland). Škrob obsažený ve vzorcích řasové biomasy byl kompletně dispergován zahříváním v dimetyl sulfoxidu (DMSO). Lipidy byly odstraněny vysrážením škrobu, který byl následně regenerován. Po rozředění vysrážených vzorků v acetáto/solném rozpouštědle byl amylopectin vysrážen přidávkem Con A (lecitin concavalin A) a odstraněn centrifugací. Amylosa obsažena beze zbytku v supernatantu byla enzymaticky hydrolyzována na D-glukózu. Ta byla analysována glukóza - oxidáza/peroxidázovým reagentem. Celkový škrob byl zjišťován obdobným způsobem z acetáto/solných vzorků a měřen kolorimetricky glukóza - oxidáza/peroxidázou. Koncentrace amylózy ve vzorcích škrobu byla vyjádřena jako poměr absorbance (měřeno při 510 nm) supernatantu Con A z vysrážených vzorků k absorbanci celkového množství škrobu ve vzorcích [11, 12].

Konverze škrobu z řas na fermentovatelné cukry. Na hydrolýzu škrobu byly použity termostabilní amylázy vyvinuté společností Genencor (www.genencor.com). Shrnutí optimálních podmínek je uvedeno v Tabulce 1. Hydrolýza škrobu probíhala v následujících krocích. Na začátku se připravila suspenze z desintegrovaného materiálu a destilované vody (0.5 L). Koncentrace suspenze byla 22 g sušiny L⁻¹ a její pH bylo upraveno na hodnotu 6.0. Dále byla suspenze v termostatické lázni za stálého míchání (průměr magnetického míchadla 4.5 cm, 250 rpm) zahřívána na teplotu 85°C. Následně bylo přidáno 8.80 µL termostabilní škrob zkapalňující vysoce účinné alfa-amylázy (Spezyme® XTRA, Genencor, Danemark). Teplota byla po dobu 30 minut udržována na 85°C. Enzymatický proces zcukřování pokračoval zchlazením suspenze na teplotu 65°C a upravením pH na hodnotu 4.0 (HCL). Poté bylo přidáno 8.80 µL zcukřující glukooamylázy (Distillase® L-400, Genencor, Danemark) a 0.55 µL beta-glukanáza/xylanázového komplexu (Optimash™ BG, Genencor, Danemark). Tento krok byl prováděn za stálého míchání suspenze po dobu 30 minut při teplotě 65°C. Odebrané vzorky byly zchlazeny na pokojovou teplotu, filtrovány přes mikrofiltry (Cellulose Nitrate Membrane Filters, Whatman GmbH, Germany) o velikosti pórů 0.2 µm, odplyněny a neutralizovány (pH=7). Druhy a množství cukrů pak byly stanovovány pomocí vysoko-účinné kapalinové chromatografie HPLC (Agilent 1100) a separovány na ionexové koloně s předkolonou Ag⁺ (Phenomenex Rezex RSO Oligosaccharides 200x10 mm) při teplotě 80°C. Použita byla mobilní fáze obsahující odplyněnou demineralizovanou vodu o objemové průtokové rychlosti 0.4 mL.min⁻¹. Cukry jsou následně analyzovány měřením indexu lomu světla refraktometrickým detektorem (Agilent 1100 RID). Data byla zpracovávána v softwaru Agilent Chemstation

Tabulka 1 Použité termostabilní amylolytické enzymy a jejich optimální podmínky

Amylázy	Enzymy	Optimální teplota (°C)	Optimální pH	Doporučené množství (kg enzymu t ⁻¹ suchého škrobu)
Spezyme® XTRA	α-amyláza	85	5,0-6,7	0,4-0,8
Distillase® L-400	amyloglukosidáz a	58-65	3,0-5,0	0,6-0,8
Optimash™ BG	glukanáza/xylaná za	60-70	4,0-5,0	0,025-0,05

VÝSLEDKY A DISKUZE

Vhodnost škrobu pro specifické konečné využití závisí na jeho vlastnostech. Faktorem určujícím vlastnosti škrobu je poměr amylosa/amylopektin. Na základě strukturní analýzy škrobu zjišťujeme stabilitu a odolnost, rozpustnost, bobtnavost, mazovatění a **želírující** vlastnosti škrobu. Ty ovlivňují dílčí kroky hydrolýzy (mazovatění, ztekucení, zcukření) s cílem optimalizovat výtěžnost procesu. Zjištění množství amylózy ve škrobu je tak velmi důležitý parametr pro výběr a aplikaci vhodných amylolytických enzymů (zejména termostabilní amylázy) [13, 14]. Obsah amylózy ve škrobu z řas modifikovaný **pomocí** Con A je presentován v tabulce 2. Z výsledků je vidět, že obsah amylózy ve škrobu z řas je srovnatelný s obsahem amylózy ve škrobu v rostlinách sloužících jako škrobářenská surovina. Tudíž můžeme předpokládat, že škrobově bohatá biomasa z řas nebude vyžadovat žádná zvláštní opatření oproti škrobářenským surovinám.

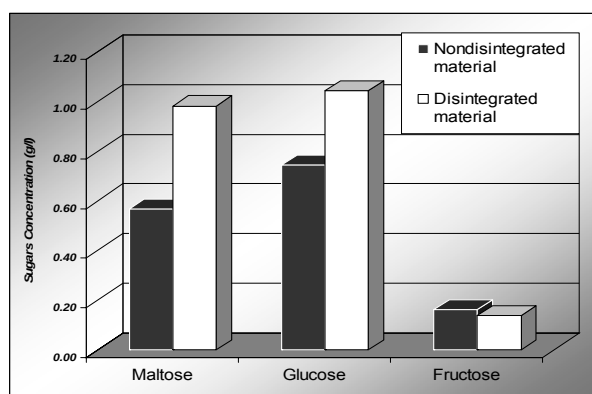
Tabulka 2 Srovnání obsahu amylózy v hlavních rostlinných zdrojích škrobu s obsahem amylózy v biomase *Chlorella vulgaris* kultivované za limitace zdrojem síry.

Zdroje škrobu	Obsah amylózy (% celkového škrobu)
Mikroskopické řasy – <i>Chlorella sp.</i>	34-38
Ječmen*	21-24
Pšenice*	25-29
Kukuřice*	25-28
Brambory*	18-21
Hrách*	33-36

* [13]

Pro optimalizaci výtěžnosti procesu enzymatické hydrolýzy reálného škrobového substrátu z řas byly studovány podmínky (teplota, doba enzymatické degradace) dílčích kroků hydrolýzy (mazovatění, ztekucení, zcukření) [13, 14]. Tento proces vyžadoval užití termostabilních α -amyláz. Pokusy byly provedeny ve vsádkovém uspořádání za regulovaných podmínek (přídavek enzymů, teplotní profil, míchání).

V prvním stupni hydrolýzy škrobu na vysocekoncentrovaný glukózový sirup se uvolňují procesem ztekucení škrobu krátké molekulové řetězce – dextriny a olygosacharidy. V druhém stupni sacharifikace se tyto dále štěpí procesem zcukřování až na monosacharidy – glukózu, vyznačující se lehkou zkvasitelností. To je dáno hydrolytickým štěpením α -1-4 glykosidových vazeb z neredukovatelného konce vazby, čímž dojde k rozštěpení na menší sacharidové složky [15].



Graf 1 Koncentrace cukrů uvolněných do vody během extrakce 22,00 g L⁻¹ biomasy řas.

Biomasa řas používaná během všech experimentů byla kultivována ve venkovních velkoobjemových nádržích za limitace zdrojem síry. Bylo tak dosaženo $34,0 \pm 1,2$ objemových % škrobu. V grafu 1 je zobrazena koncentrace do vody vyextrahovaných cukrů po 60 minutách macerace 11g biomasy v 500mL destilované vody při 45°C. Bylo tak dokázáno, že nedesintegrovaná biomasa obsahovala 0,067 g extrahovatelných cukrů na gram sušiny. Po provedení desintegrace se koncentrace extrahovatelných cukrů zvýšila na 0,098 g g⁻¹ sušiny.

Tabulka 3 Koncentrace cukrů před a po enzymatické hydrolýze 22,00 g L⁻¹ biomasy řas.

Cukr	Koncentrace cukru před hydrolýzou (g/l)	Koncentrace cukru po hydrolýze (g/l)	Celkový přírůstek cukru (g/l)
MALTÓZA	0,98	0,29	- 0,69
GLUKÓZA	1,05	7,60	6,55
FRUKTÓZA	0,14	0,00	- 0,14
SUMA	2,17	7,89	5,72

Na začátku enzymové hydrolýzy škrobu z řasové biomasy obsahovalo 22,00 g sušiny přibližně 7,50 g škrobu. Analýzou sacharidů reakční směsi po hydrolýze (Tab. 3) bylo zjištěno, že škrob byl konvertován na zkvasitelné cukry s výtěžností 68%. Během hydrolýzy vzrostlo celkové množství zkvasitelných cukrů o 5,72 g L⁻¹ na konečnou hodnotu 7,89 g L⁻¹ (Tab. 3). Výtěžnost hydrolýzy škrobu (68%) je poněkud nižší než se očekávalo. To může být způsobeno prozatimní nedokonalou optimalizací procesu nebo absencí enzymů schopných účinně degradovat amylopektin v blízkosti míst větvení. V budoucnu bude práce zaměřena na zvýšení výtěžnosti enzymové hydrolýzy škrobu z řas.

ZÁVĚR

V této práci byla studována dvoustupňová enzymatická hydrolýza škrobu z řas za použití komerčně dostupných enzymů (alfa-amyláza, glukoamyláza). K hydrolýze byly nastaveny podmínky (koncentrace substrátu a enzymů, čas potřebný k působení enzymů) doporučené výrobcem termostabilních enzymů. Během experimentu byl škrob hydrolyzován z 68% na zkvasitelné cukry. To potvrzuje možnost použití tohoto zdroje škrobu k produkci bioetanolu.

Nicméně, pro zvýšení ekonomické efektivity provozní aplikace je nutné produkční proces dále optimalizovat.

Poděkování

Tento výzkum je podporován Ministerstvem školství, mládeže a tělovýchovy ČR prostřednictvím projektu EUREKA (OE09025-ALGANOL) a MSM 6046137305.

REFERENCE

- [1] Scharlemann J. P. W. (2008) "How Green Are Biofuels?" *Science*, Vol. 319, pp. 43-44.
- [2] HILL, J., ET AL., (2006) "ENVIRONMENTAL, ECONOMIC, AND ENERGETIC COSTS AND BENEFITS OF BIODIESEL AND ETHANOL BIOFUELS", *PNAS*, VOL. 103, PP. 11206–11210.
- [3] Farrell, A.E., et al., (2006) "Ethanol can contribute to energy and environmental goals", *Science*, Vol. 311, pp. 506-508.
- [4] Patil V., T.K.-Q., Gislerod H. R., (2008) "Towards Sustainable Production of Biofuels from Microalgae", *Int J Mol Sc*, Vol. 9, pp. 1188-1195.
- [5] Doucha, J. and K. Livansky, (2006) "Productivity, CO₂/O₂ exchange and hydraulics in outdoor open high density microalgal (*Chlorella* sp.) photobioreactors operated in a Middle and Southern European climate", *J Appl Phycol*, Vol. 18, pp. 811-826.
- [6] Livansky, K., Doucha, J., (2000) "Productivity of the microalga *Chlorella kessleri* in outdoor open thin-layer batch cultures", *Arch Hydrobiol*, Vol. 132, pp. 103-122.
- [7] Huntley, M.E. and D.G. Redalje, (2007) "CO₂ Mitigation and Renewable Oil from Photosynthetic Microbes: A New Appraisal", *Mitigation and Adaptation Strategies for Global Change*, Vol. 12, pp. 573-608.
- [8] Kheshgi, H.S., R.C. Prince, and G. Marland, (2000) "The potencial of biomass fuels in the context of global climate change: Focus on Transportation Fuels", *Ann Rev Energ Environ*, Vol. 25, pp. 199-244.
- [9] Doušková, I., Doucha, J., Umysová, D., Vítová, M., Zachleder, V., *Microalgae - A Promising Source of Starch For Bioethanol Production*, Polysacharidy IV, 13.–14. November 2008, Prague, Czech Republic
- [10] Doucha, J., Lívanský, K., (2009) *Outdoor open thin-layer microalgal photobioreactor: potential productivity*, *J Appl Phycol*, 21, 111–117
- [11] Yun, S.H., Matheson, N.K., (1990) *Estimation of Amylose Content of Starches after Precipitation of Amylopectin by Concanavalin-A*, *Starch/Stärke*, 42, 302-305.
- [12] <http://secure.megazyme.com/downloads/en/data/K-AMYL.pdf>

- [13] Buléon, A., P. Colonna, V. Planchot, and S. Ball, (1998) *Starch granules: structure and biosynthesis*, International Journal of Biological Macromolecules, 23, 85-112.
- [14] Gupta, R., Gigras, P., et al., (2003) *Microbial α -amylases: a biotechnological perspective*, Process Biochemistry, 38, 1599-1616.
- [15] Marc, J.E.C., van der Maarel, et al (2002) *Properties and applications of starch-converting enzymes of the α -amylase family*, Journal of Biotechnology, 94, 137–155.

Plísňová kontaminace ve sladařství a pivovarství

Knytl Martin, Fiala Jaromír

Ústav kvasné chemie a bioinženýrství, VŠCHT Praha

Plísně mohou zásadním způsobem ovlivňovat výslednou kvalitu sladu a posléze piva. Práce ukazuje přehled napadajících plísní, jejich metabolitů a vlivu na slad a pivo.

Dále přehled metod kontroly plísňové kontaminace a vlastní stanovení celkové plísňové kontaminace a kontaminace plísněmi rodu *Fusarium* na vybraných sladech pomocí metody dle EBC. Výsledky zjištěné kontaminace jsou porovnány s obsahem mykotoxinů.

Vliv podmínek kvašení na obsah mykotoxinů

Bryzgal Tomáš, Knytl Martin, Kovačková Miloslava, Fiala Jaromír

Ústav kvasné chemie a bioinženýrství, VŠCHT Praha

Mykotoxiny jsou sekundární metabolity některých rodů plísní, především rodů *Fusarium*, *Aspergillus*, *Penicillium* a *Alternaria*. Je prokázán jejich častý výskyt v obilovinách. Z nich se přes zpracovatelské technologie mohou mykotoxiny dostat až do konečných produktů, které jsou součástí lidské diety. Jedním z mnoha těchto produktů je i pivo.

Mykotoxiny DON a DON-3-G jsou mykotoxiny nejčastěji se vyskytující v pivovarství. Tato práce je zaměřena na posuzování vlivu podmínek kvašení na jejich obsah. Byl sledován vliv teploty hlavního kvašení a použitého kmene pivovarských kvasinek. Při posuzování vlivu teploty hlavního kvašení byly porovnávány čtyři teploty (7,5 °C, 9 °C, 15 °C a 20 °C). Jen při teplotě 9 °C došlo k významnějšímu poklesu koncentrace sledovaných mykotoxinů.

Vliv použitého kmene kvasinek byl sledován u dvou pracovních kmenů *Saccharomyces pastorianus* a kvasinek *Saccharomyces ludwigii*. Ukázalo se, že vliv použitého kmene kvasinek nebyl nikterak výrazný a u všech kvasných pokusů došlo pouze k poklesu koncentrace DON-3-G. Mezi porovnávanými kmeny kvasinek však nebyly výrazné rozdíly.

Fyziologická aktivita *Saccharomyces cerevisiae* v průběhu kvašení mladiny se zvýšeným obsahem mykotoxinů

Bražina Michael, Knytl Martin, Fiala Jaromír

Ústav kvasné chemie a bioinženýrství, VŠCHT Praha

Cílem každého výrobce piva je vyrábět produkt, jehož senzorický vjem a složení se v dlouhodobém horizontu nemění. Toho může být dosaženo jen důslednou kontrolou procesu kvašení. Zásadní vliv na průběh kvašení má fyziologický stav kvasnic nasazovaných do provozního kvašení.

Hlavním cílem této práce bylo zjistit vliv mykotoxinu deoxynivalenol na fyziologický stav pivovarských kvasinek. Sledován byl především jeho vliv na viabilitu a na obsah glykogenu, trehalosy, DNA a bílkovin v kvasinkách. Nosnou metodou této práce byla průtoková cytometrie. Pro stanovení viability bylo použito barvení methylenovou modří s následným počítáním buněk v Bürkerově komůrce.

Bylo zjištěno, že zvýšený obsah deoxynivalenolu v mladině neměl vliv na viabilitu kvasnic. Dále bylo pozorováno, že jeho přítomnost v mladině ovlivňovala u některých kmenů kvasinek obsah glykogenu, trehalosy, DNA a bílkovin v buňce. Vliv na obsah glykogenu byl pozorován především v exponenciální fázi růstu. Obsah trehalosy byl ovlivněn především na konci kvašení, tudíž lze předpokládat, že deoxynivalenol působí jako stresový faktor v konečné fázi kvašení, kdy docházejí zkvasitelné zdroje energie.

Přepěňování piva

Poštulková Michaela, Fiala Jaromír

Ústav kvasné chemie a bioinženýrství, VŠCHT Praha

Gushing neboli samovolné přepěňování piva je pokládán za nežádoucí jev a často bývá dáván do souvislosti s přítomností mykotoxinů (ačkoliv tyto samotné látky nemusí s gushingem vůbec souviset). Obvykle jej dělíme na primární a sekundární gushing. Primární neboli přímé přepěňování má spojitost s napadením obilky ječmene vláknitými houbami (*Fusarium*, *Aspergillus*, *Rhizopus*, *Penicillium* a *Nigrospor*) a záleží tedy na kvalitě použitého ječmene a sladu. Vlastní látky gushing způsobující však dosud známé nejsou. Předpokládá se, že jsou vytvářeny jako odezva na předchozí stres organismu. Oproti tomu sekundární neboli nepřímé přepěňování závisí na výrobních faktorech a protože samotné napadení obilky patogeny nemusí vždy gushing vyvolávat, je nutná přítomnost tzv. iniciátorů uvolňování plynu (defekty v lahvi, usazeniny solí a jiných látek), které rovněž zahrnujeme pod sekundární gushing. K výzkumu gushingu se nejčastěji používá třídenní rychlotest vyvinutý v laboratořích Carlsberg, jež jsme si pro naši práci upravili. V další části výzkumu se nyní zabýváme možnostmi snížení potencionálního gushingu. V budoucnu hodláme poznatky o tomto jevu nadále shromažďovat a přispět tak k lepšímu pochopení této natolik složité problematiky.