

Perspektywy procesów fermentacyjnych*

Roman A. Grzybowski

Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego

ul. Rakowiecka 36, 02-532 Warszawa

e-mail: grzybowski@ibprs.pl

Słowa kluczowe: drożdże, bakterie fermentacji mlekowej, fermentacja alkoholowa i mlekowa, probiotyki, kultury starterowe

Wstęp

Procesy fermentacyjne wykorzystują osobliwy sposób oddychania niektórych mikroorganizmów polegający na utlenianiu substratów w warunkach beztlenowych, gdy akceptorem wodoru nie jest tlen cząsteczkowy. Procesy te oparte na działalności drożdży (fermentacja alkoholowa), wykorzystują bakterie (fermentacja mlekowa i octowa) znane były ludzkości od czasów przedhistorycznych, a informacje pisemne sięgają kilku tysięcy lat p.n.e. Są one wykorzystywane współcześnie z zastosowaniem najnowszych osiągnięć nauki i techniki. W wielu procesach fermentacyjnych biorą udział różne szczepy tego samego gatunku, różniące się cechami technologicznymi, np. drożdże *Saccharomyces cerevisiae* stosowane są w produkcji spirytusu, piwa, wina, miodów pitnych. Technologie te różnią się parametrami produkcji i cechami otrzymanych produktów. W niektórych technologiach znajdują zastosowanie mieszane kultury różnych drobnoustrojów, np. drożdży i bakterii fermentacji mlekowej (preparaty probiotyczne).

Dążenie do obniżenia kosztów produkcji z jednoczesnym zachowaniem lub podnoszeniem jakości produktów stymuluje badania nad otrzymaniem szczepów drobnoustrojów o nowych, bardziej przydatnych cechach umożliwiających wdrożenia nowych technik produkcyjnych. Tradycyjnie, na przestrzeni dziejów, stosowano w technologiach kultury spontaniczne mikroorganizmów występujących na surowcach. Później izolowano je i selekcjonowano pod względem przydatności technologicznej. Współcześnie znanych jest wiele technik umożliwiających otrzy-

* Jest to tekst wystąpienia zaprezentowanego na konferencji pt. „Biotechnologia w produkcji żywności” zorganizowanej przez Komitet Nauk o Żywności PAN 26 października 2005 r. w Warszawie.

mywanie szczepów mikroorganizmów o zmienionych właściwościach. Techniki te sięgające do zmian w materiale genetycznym, obejmują metody proste, ale również bardzo skomplikowane i kosztowne.

Do otrzymywania nowych szczepów drożdży stosuje się:

- mutagenezę,
- rare mating (specjalna hybrydyzacja płciowa),
- klasyczną hybrydyzację płciową,
- fuzję protoplastów,
- cytodukcję,
- techniki inżynierii genetycznej.

Fermentacja alkoholowa – drożdże

Metodą elektrofuzji protoplastów uzyskano w Instytucie Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego (IBPRS) osmofilne szczepy drożdży piekarskich o wysokiej wydajności substratowej i dużej szybkości wzrostu. Zostały one w latach 90. ubiegłego stulecia wprowadzone do praktyki przemysłowej w Śląskiej Fabryce Drożdży w Wołczynie oraz w Lubelskich Zakładach Przemysłu Spirytusowego i Drożdżowego w Lublinie. Otrzymano również szczepy drożdży gorzelnicznych o podwyższonej jakości: D₂ – odfermentowujący zacierę do zawartości ponad 12% etanolu i AS-4 osmofilny z tolerancją na podwyższoną temperaturę.

Metodą mutagenezy otrzymano szczep *Saccharomyces diastaticus* N-41 [65] oraz szczep I-7-43 – fuzant drożdży *S. cerevisiae* i *S. diastaticus* [62].

Stosowanie szczepów drożdży o właściwościach amylolytycznych pozwala na zmniejszenie dawek enzymów podczas sporządzania zacierów, a w konsekwencji prowadzi do obniżenia kosztów produkcji etanolu w tym głównie etanolu na cele paliwowe. Właściwości wyżej wymienionych drożdży gorzelnicznych zostały zweryfikowane w skali technicznej w gorzelniach rolniczych.

W przypadku drożdży winiarskich prowadzone są prace w kierunku otrzymywania szczepów, których zastosowanie pozwoliłoby na obniżenie kosztów produkcji i niezależnie od jakości surowca uzyskania produktu wysokiej jakości. Niewykluczone są też szczepy o statusie GMO [1, 17, 27], ale dopiero po rozwinięciu kontroli ich metabolitów. Głównym celem jest zapewnienie wysokiej żywotności i aktywności drożdży winiarskich podczas fermentacji.

Chodzi tu o odporność na szok hiperosmotyczny, na wysokie stężenie etanolu i SO₂. Odporność ta wiązana jest ze zdolnością do gromadzenia w komórkach trehalozy i glikogenu oraz z tworzeniem białek szoku termicznego [4, 58, 60]. W pracach nad podniesieniem jakości drożdży winiarskich uwzględnia się aspekt ich zdolności flokulacyjnych [50], litycznych [38], wytwarzania glicerolu [35], związków siarki [42] i regulacji kwasowości [29].

Procesy ciągłe

Przyszłościowym sposobem otrzymywania biomasy drożdży do zastosowania jako szczepionek w procesach fermentacyjnych, jest ciągła metoda hodowli.

Zaletą tego sposobu hodowli drożdży jest utrzymywanie komórek w korzystnym stanie – w logarytmicznej fazie wzrostu – przez długi czas, poprzez utrzymywanie stałych warunków eliminujących wpływ czasu na fizjologię komórek [34]. Hodowle ciągłe drożdży mogą mieć zastosowanie do produkcji drożdży piekarskich, piwowarskich, gorzelnicznych i winiarskich, gdy zamiast propagacji szczepionek na miejscu stosuje się zakupione suche kultury. Ciągły proces prowadzić można na zasadzie chemostatu lub turbidostatu. Do badań nad aktywnymi, suszonymi drożdżami winiarskimi stosowano akcelerostat (A-stat) z komputerowo sterowanymi zmianami rozcieńczenia [36].

Innym sposobem prowadzenia hodowli ciągłej jest określenie szybkości rozcieńczenia przez kontrolowanie stężenia jednego z produktów procesu np. alkoholu. Stosowany tu jest produktostat [3, 24]. Hodowle ciągłe umożliwiają obserwację mechanizmów regulacyjnych komórek w ciągle zmieniających się warunkach. Herwig i Von Stockar [25] charakteryzowali i porównywali w hodowli ciągłej; w warunkach nadmiaru glukozy drożdże z gatunku *S. cerevisiae*, *S. kluyveri* i *Kluyveromyces lactis*, a dla szczepu *S. bayanus* (*S. cerevisiae*) opracowali najkorzystniejsze warunki wzrostu.

Jakkolwiek zasada ciągłej hodowli drobnoustrojów znana jest od ponad 100 lat to zastosowanie w fermentacji alkoholowej znalazła przed kilkunastoma laty. Prowadzone są prace nad fermentacją ciągłą z zawracaniem drożdży w technologii ekstrakcyjnej [57].

Biomasa drożdży dla celów przemysłowych powinna wykazywać wysoką aktywność fermentacyjną. Nie udało się jednak stwierdzić jednoznacznie, w jakim stopniu aktywność fermentacyjna zależy od poszczególnych czynników genetycznych i środowiskowych.

Nadekspresja dekarboksylazy pirogronianowej i fosfofruktokinazy wykazuje pozytywną korelację z aktywnością fermentacyjną drożdży [55], jednak nadekspresja pierwszego z tych enzymów nie spowodowała podwyższenia zdolności glikolitycznych badanego szczepu. Można wyciągnąć wniosek, że manipulacje genetyczne dotyczące pojedynczych enzymów nie prowadzą do podwyższenia aktywności fermentacyjnej drożdży, a wręcz mogą ją obniżać [6]. Drogi metaboliczne kontrolowane są przez zbyt wiele enzymów, aby wpływając na jeden uzyskać oczekiwany efekt. Śluszniejsze jest konstruowanie szczepów o zmiennej ekspresji białek kontrolujących wszystkie enzymy poszczególnych szlaków metabolicznych [7].

Na efektywność fermentacyjną biomasy drożdży otrzymywanej podczas hodowli ciągłej można skutecznie wpływać dobierając odpowiednią szybkość wzrostu (regulowaną szybkością rozcieńczenia D) [55] lub szybkość rozcieńczenia i stężenie pożywki [56].

Zastosowanie przemysłowe drożdży innych niż *Saccharomyces cerevisiae*

W praktyce przemysłowej stosowane są głównie drożdże *Saccharomyces cerevisiae*. Okazało się, że w żywności produkowanej tradycyjnymi metodami występują gatunki drożdży zwane non-*Saccharomyces* [53]. W zakwasach piekarskich obok *S. cerevisiae* występują drożdże z rodzajów *Candida*, *Pichia*, *Yarovia*, *Torulasporea* [39]. W ziarnach kefirowych używanych do produkcji kefiru metodą naturalną stwierdzono występowanie drożdży z rodzajów *Debaryomyces*, *Candida*, *Kluyveromyces*, *Torulopsis* [45]. W serach dojrzewających występują różne non-*Saccharomyces* drożdże, zależnie od regionu geograficznego. [43, 46, 61]. W dojrzewających wędlinach (np. salami) obok bakterii fermentacji mlekowej występują drożdże z rodzajów *Candida*, *Cryptococcus*, *Debaryomyces*, *Galactomyces*, *Pichia*, *Rhodotorula*, *Torulasporea* i *Trichosporon* oddziałujące korzystnie na dojrzewanie [16, 20].

Na sensoryczne właściwości wina korzystnie wpływają drożdże nie należące do rodzaju *Saccharomyces*. Występują tu drożdże należące do rodzajów *Kloekera*, *Candida*, *Pichia*, *Kluyveromyces*, *Metschnikovia*, *Schizosaccharomyces* i *Zygosaccharomyces* [14]. Drożdże z grupy non-*Saccharomyces* z rodzajów *Candida*, *Brettanomyces* i *Saccharomycopsis* mają swój udział w kształtowaniu smaku i aromatu piwa [14]. Natomiast drożdże z gatunku *Geotrichum candidum* stosowane podczas słodowania ziarna jęczmienia wpływają korzystnie na cytolityczne rozluźnianie słodu oraz chronią ziarno przed rozwojem toksynotwórczych pleśni i redukują zawartość niebezpiecznej dla człowieka ochrotoksyny A [15, 49].

Spełniając oczekiwania przemysłu piwowarskiego w Zakładzie Technologii Piwa i Słodu IBPRS opracowano technologię wytwarzania szczepionek *Geotrichum candidum*. Produkcja prowadzona w Instytucie pokrywa zapotrzebowanie słodowni na te kultury.

W procesach przemysłowych stosowane są czyste kultury drożdży *S. cerevisiae*. Dla uzyskania właściwości smakowych i zapachowych, charakterystycznych dla produktów uzyskanych podczas tradycyjnych procesów przez kultury spontaniczne, należałoby dążyć do opracowania kultur starterowych zawierających w odpowiednich proporcjach drożdże non-*Saccharomyces*. Ponadto drożdże non-*Saccharomyces* są lepszymi obiektami niż *Saccharomyces* do klonowania obcych białek z uwagi na:

- obecność promotorów silniejszych niż w genach *S. cerevisiae*, co pozwala na uzyskanie dużo wyższej ekspresji zrekombinowanego DNA, a tym samym wyższej wydajności syntezy klonowanego białka;
- wykorzystanie nietypowych źródeł węgla, co obniża koszty;
- uzyskiwanie wysokiej wydajności biomasy w fermentorach [44].

Na uwagę zasługują dwa gatunki: *Pichia pastoris* i *Hansenula polymorpha*. *Hansenula polymorpha* jest termotolerancyjna (może być hodowana w 45°C) co ułatwia prowadzenie fermentacji.

W komórkach *Pichia pastoris* klonowano białko kapsydu wirusa HIV-1, ludzki lizozym, insulino-zależny czynnik wzrostu i α -amylazę z *Bacillus licheniformis*. Obydwa gatunki są niepatogenne i bezpieczne [10]. Oprócz zastosowania żywych komórek drożdżowych w przemyśle fermentacyjnym, piekarskim czy w farmacji, biomasę drożdży wykorzystuje się do otrzymywania spożywczych preparatów drożdżowych, którymi są ekstrakty, autolizaty i hydrolizaty białka drożdżowego, emulgatory drożdżowe i glukany. Preparaty drożdżowe mogą mieć charakter dodatków funkcjonalnych, smakowo-zapachowych lub wzbogacających wartość odżywczą [2, 13].

Fermentacja mlekowa

Do bakterii mlekowych należą ziarniaki, krótkie i długie pałeczki. Są one Gram-dodatnie, nieprzetrwalnikujące, o zbliżonej ekologii i biochemii. Należą do różnych taksonów systematycznych. Zalicza się je do beztlenowców lub mikroaerofili. Rosną również w obecności tlenu atmosferycznego. Rosną dobrze na podłożach złożonych zawierających węglowodany proste, organiczne źródła azotu, witaminy, zasady azotowe i niektóre związki mineralne dodawane w postaci m.in. ekstraktu drożdżowego, namoku kukurydzianego, serwatki.

Energię pozyskują w wyniku rozkładu cukrów prostych do:

- kwasu mlekowego – homofermentacja;
- kwasu mlekowego, etanolu i CO₂ – heterofermentacja;
- kwasu mlekowego i kwasu octowego – fermentacja prowadzona przez gatunek *Bifidobacterium bifidum* [30].

Szczepy heterofermentatywne oprócz głównych produktów podanych wyżej (kwas mlekowy, etanol, CO₂) wytwarzają pewne ilości kwasu octowego, propionowego, masłowego i walerianowego. Kwasy te, chociaż występują w niewielkich czasem śladowych stężeniach, decydują w znacznej mierze o właściwościach smakowo-zapachowych produktów fermentacji mlekowej, a więc kiszonych żywności i pasz.

Nie mniej ważna od jakości smakowo-zapachowej jest trwałość kiszzonek. Niektóre szczepy bakterii fermentacji heteromlekowej wytwarzają substancje hamujące wtórne procesy utleniania kwasu mlekowego m.in. glikol propylenowy, kwas propionowy i nadtlenek wodoru ograniczające rozwój drożdży, pleśni i bakterii gnilnych [26, 31, 40, 41]. W produkcji kiszzonek paszowych pożądane są szczepy bakterii kwasu mlekowego o zdolnościach do hydrolizy polisacharydów. Z fermentujących korzeni kasawy wyizolowano szczep *Lactobacillus plantarum* A6 [18], który hydrolizował natywną i skleikowaną skrobię do mieszaniny glukozy, maltozy i oligosacharydów [19]. W Instytucie Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego (IBPRS) wyizolowano szczep *Lactobacillus plantarum* K wykorzystujący natywną skrobię zbożową i ziemniaczaną jako jedyne źródło węgla [66]. Z połączenia tego szczepu z preparatami enzymatycznymi glukoamylazy opracowano preparat – Lactamyl umożli-

liwiający zakiszanie pasz zawierających surową skrobię (krajanek surowych ziemniaków, zboża). Przydatność preparatu potwierdzono badaniami na skalę produkcyjną w Instytucie Zootechniki [9]. Rośliny konserwowane przez kiszenie zawierają poza skrobią polisacharydy nieskrobiowe jak celuloza i hemicelulazy. W trawach i roślinach motylkowatych jest mało cukrów prostych ulegających fermentacji mlekowej.

W IBPRS wyizolowano z samorzutnie fermentujących surowców roślinnych bakterie fermentacji mlekowej wykazujące aktywność celulolityczną i ksylanolityczną. Najaktywniejszy szczep zakwalifikowano do gatunku *Lactobacillus plantarum* i oznaczono symbolem C [63]. Szczepy *Lactobacillus plantarum* K i *L. plantarum* C stały się podstawą do opracowania preparatów przeznaczonych do kiszenia traw, roślin motylkowych, wysłodków buraczanych, młóta browarnianego, wywarów gorzelnicznych i roślin zbożowych w tym kukurydzy. Skład preparatów jest chroniony patentami IBPRS [64, 66, 67].

Preparat Lactacel – L zawierający szczepy *Lactobacillus plantarum* K i *L. plantarum* C oraz enzymy o aktywnościach endo-1,4-beta-glukanazy, ksylanazy i glukoamylazy zastosowano do kiszenia traw i lucerny. Ocena żywieniowa dokonana z udziałem jagniąt w gospodarstwie należącym do Akademii Rolniczej w Poznaniu potwierdziła przydatność tego preparatu [37]. W SGGW zbadano przydatność tego preparatu w sporządzeniu kiszzonek dla rosnących tryków [28, 67].

Kultury starterowe

Jak wspomniano wcześniej czyste, jednoskładnikowe szczepionki stosowane w procesach fermentacyjnych, jakkolwiek zapewniają stałe, powtarzalne cechy produktu, nie zapewniają właściwości smakowo-zapachowych, jakie uzyskuje się w wyniku fermentacji spontanicznych. Dotyczy to otrzymywania chleba przy użyciu zakwasów zawierających bakterie fermentacji mlekowej i drożdże. Bakterie fermentacji mlekowej są w zakwasach reprezentowane zarówno przez szczepy homo- i heterofermentacyjne [12, 54, 59]. Z homofermentacyjnych najczęściej spotykany jest *Lactobacillus plantarum*, a heterofermentacyjnych *L. brevis* i *L. sanfranciscensis*.

Różnorodność drożdży w zakwasach piekarskich zależy od proporcji mąki pszennej od żytniej i od warunków fermentacji (temperatura i czas). Z naturalnie fermentujących ciast izolowano *S. cerevisiae*, *Pichia membranoefaciens*, *Yarrowia lipolytica* i *Debaryomyces hansenii*.

W starterach stosuje się *S. cerevisiae*, *S. exiguus*, oraz gatunki z rodzaju *Candida* i *Torulopsis* wpływające znacząco na cechy smakowo-zapachowe pieczywa [23]. Znajomość szczepów bakterii fermentacji mlekowej i drożdży występujących w spontanicznych zakwasach piekarskich daje podstawy do komponowania składów starterów piekarskich zależnie od rodzaju produkowanego chleba i jego oczeki-

wanych cech smakowo-zapachowych. Poza składem jakościowym mieszaniny kultur, istotne są stosunki ilościowe składników oraz oddziaływanie synergistyczne między nimi. W IBPRS opracowano startery składające się z homo- i heterofermentacyjnych bakterii kwasu mlekowego, ras drożdży *S. cerevisiae* zestawionych w odpowiednich proporcjach [48]. Opracowano technologię otrzymywania biomasy bakterii i drożdży w hodowlach łącznych lub oddzielnych. Otrzymane pieczywo różniło się zależnie od stosowanych starterów.

Probiotyki

Probiotyki to preparaty zawierające żywe mikroorganizmy stosowane samodzielnie lub jako składniki żywności i pasz. Przywracają i zachowują naturalną mikroflorę przewodu pokarmowego, chronią organizm przed infekcjami, wzmacniają system immunologiczny i wspomagają funkcje fizjologiczne organizmu [5]. Probiotyki w żywieniu zwierząt mają być rozwiązaniem alternatywnym w stosunku do chemioterapeutyków, a zwłaszcza antybiotyków. Wprowadzenie probiotyków jest tym bardziej uzasadnione, że w krajach Unii Europejskiej od 1998 r. wprowadzony jest zakaz stosowania antybiotyków paszowych Zn-bacytracyny, spiramycyny, wirginiamicyny i tycozyny.

Probiotyki w odróżnieniu od innych stymulatorów wzrostu nie wywołują żadnych skutków ubocznych. Jest to jeden ze sposobów otrzymywania bezpiecznej żywności. Drobnoustroje wchodzące w skład preparatów probiotycznych muszą przejść etap przejścia przez żołądek, być zdolne do rozmnażania w jelitach i adhezji do komórek nabłonka jelitowego i wytwarzać metabolity antagonistyczne do drobnoustrojów chorobotwórczych. To działanie antagonistyczne wynika z ich zdolności do syntetyzowania bakteriocyn (o działaniu podobnym do antybiotyków), kwasów organicznych (mlekowego i octowego), aldehydu octowego i nadtlenu wodoru [11]. Właściwości te wykazują niektóre szczepy bakterii fermentacji mlekowej i drożdży. Ze względu na aspekt ekonomiczny mikroorganizmy przewidywane jako składniki preparatów probiotycznych musi charakteryzować łatwość osiągnięcia wysokiej liczebności komórek na prostych i niedrogich podłożach, w warunkach hodowli przemysłowej oraz wysoki stopień przeżywalności podczas procesu produkcyjnego (suszenia) i przechowywania [21, 22].

Z bakterii fermentacji mlekowej, szczepy o właściwościach probiotycznych, najczęściej występują w rodzajach *Lactobacillus* i *Bifidobacterium*, z drożdży są to głównie *Saccharomyces cerevisiae*, ale spotyka się również *Torulopsis* lub z pleśni *Aspergillus oryzae* [32, 33]. Preparaty probiotyczne mogą zawierać jeden szczep bakterii fermentacji mlekowej, kilka szczepów tych bakterii, pojedynczy szczep bakterii za szczepami drożdży w różnych stosunkach ilościowych. W wyniku wieloletnich badań w IBPRS wyizolowano szczepy bakterii fermentacji mlekowej i drożd-

dży o właściwościach probiotycznych. Niektóre z preparatów są przedmiotem zgłoszeń patentowych [47, 48].

Opracowano preparaty probiotyczne:

- **Probiomix** – dodatek do pasz zawierający w swym składzie wyselekcjonowane, z przewodu pokarmowego zwierząt, szczepy *Bifidobacterium bifidum*, przeznaczony dla noworodków i młodych zwierząt.
- **Probiosacc** – zawierający drożdże z rodzaju *Saccharomyces* przeznaczony dla bydła.

Powyższe preparaty zostały przebadane w Instytucie Zootechniki w Krakowie [8, 51, 52].

Na podstawie doświadczeń *in vitro* i ich weryfikacji *in vivo* zaproponowano 5 preparatów typu Probiomix i 1 preparat Probiosacc. Preparaty te decyzją Komisji Oceny Pasz przy MRiGŻ zostały zarejestrowane i dopuszczone do obrotu na terenie kraju. Ich zastosowanie skutkowało:

- zmniejszeniem zużycia paszy na wyprodukowanie jednostki masy ciała zwierząt (przez pełniejsze wykorzystanie składników pasz),
- poprawą zdrowotności (zmniejszenie liczby upadków),
- otrzymywanie żywności bezpiecznej.

Opracowane preparaty otrzymały wyróżnienia i nagrody.

Wobec zainteresowania hodowców Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego podjął z powodzeniem produkcję preparatów probiotycznych na własnej linii półtechnicznej pokrywając w znacznym stopniu zapotrzebowanie.

Podsumowanie

Procesy fermentacyjne tradycyjnie stosowane w przetwórstwie i utrwalaniu żywności są doskonałe przez stosowanie mikroorganizmów o nowych właściwościach. W gorzelnictwie wprowadza się drożdże o właściwościach amylolitycznych, w winiarstwie o wysokiej alkoholotolerancji, w piekarstwie o cechach nadających pieczywu pożądany smak i aromat. Ponadto drożdże są stosowane jako składnik preparatów probiotycznych. Biomasa drożdży może być surowcem do otrzymywania dodatków funkcjonalnych, smakowo-zapachowych i wzbogacających wartość odżywczą produktów spożywczych.

Bakterie fermentacji mlekowej o nowych właściwościach (amylolitycznych, celulolitycznych i ksylanolitycznych) służą do otrzymywania smaczniejszych i trwalszych kiszonek. Stosowane są również w kulturach starterowych w przemyśle piekarskim i mleczarskim. Są one również podstawowym składnikiem preparatów probiotycznych.

W IBPRS opracowano skład kultur starterowych do produkcji kiszonek i preparatów probiotycznych oraz parametry produkcji przemysłowej.

Literatura

- [1] Akada J. 2002. Genetically modified industrial yeast ready for application. *J. Biosci. Bioeng.* 94: 536–544.
- [2] Amrane A., Prigent Y. 1998. Effect of culture conditions of *Kluyveromyces marxianus* on yeast autolysis, and process optimisation. *Bioprocess Eng.* 18: 383–388.
- [3] Andersen M.Y., Pedersen N.H., Nbrabrand H., Hallager L., Jorgensen S.B. 1997. Regulation of continuous yeast bioreactor near the critical dilution rate using a productostat. *J. Biotechnol.* 54(1): 1–14.
- [4] Aranda A., Querol A., Olmo M. del 2002. Correlation between acetaldehyde and ethanol resistance and expression of HSP genes in yeast strains isolated during the biological ageing of sherry wines. *Arch. Microbiol.* 177: 304–312.
- [5] Bielecka M. 2002. Żywność probiotyczna. *Pedriatria współczesna. Gastroenterologia, Hepatologia i Żywienie Dziecka* 4(1): 27–32.
- [6] Blom J., Boorsma A., Lascaris A., Bakker B., van Maris A. 2000. Balancing fermentative and oxidative metabolism in *Saccharomyces cerevisiae* by transcriptional control. Tenth International Symposium of Yeast, 2000. Symposium Book, ISY 2000.
- [7] Blom J., Boorsma A., Lascaris A., Bakker B., van Maris A. 2000. The rising power of yeast in science and industry, 87 respiro-fermentative flux distribution in *Saccharomyces cerevisiae* by overexpression of the transcription factor Hap 4p. *Appl. Environ. Microbiol.* 66(5): 1970–1973.
- [8] Brzóska F., Grzybowski R., Stecka K., Pieszka M. 1999. Nutrivite efficiency of selected probiotic microorganisms in chicken broilers. *Ann. Anim. Sci. – Rocz. Nauk. Zoot.* 26(4): 291–301.
- [9] Brzóska F., Zielińska K. 2001. Wpływ preparatu Lactamyl na skład chemiczny, zawartość energii i białka strawnego w kiszonkach z surowych ziemniaków i zbóż. *Rocz. Nauk. Zoot.* 28(1): 93–103.
- [10] Clare J.J., Romanos F.B., Rowedder J.E., Smith M.A., Payane M.M., Sreekrishna K., Henwood C.A. 1991. Production of mouse epidermal growth factor in yeast: High level secretion using *Pichia pastoris* strains containing multiple gene copies. *Gene* 105: 205–212.
- [11] De Vuyst L., Vandamme E.J. 1994. Bacteriocins of lactic acid bacteria. Blackie Academic & Professional. An Imprint of Chapman & Hall, London, Glasgow, New York.
- [12] Dwikosz A., Włodarczyk M. 2000. Jednofazowy proces fermentacji zakwasów piekarskich i możliwości jego automatyzacji przez zastosowanie fermentatora. *Przemysł Piek. Cukr.* 8: 8–11.
- [13] Dżiczak J. 1987. Yeast and yeast derivatives. *Food Technol.* 41(2): 104–125.
- [14] Fleet G.H. 2000. The biodiversity of yeast in the production of food and beverages. Tenth International Symposium on Yeasts, Symposium Book pH .
- [15] Foszczyńska B., Dziuba E., Stępniewicz R. 2000. Wpływ drożdży *Geotrichum candidum* na rozluźnienie słoju jęczmiennego. Wykorzystanie drożdży w przetwórstwie żywności -- tradycje i przyszłość. Materiały Konferencji AR we Wrocławiu, 6–7 czerwca 2000: 62.
- [16] Gardini F., Suzzi G., Lombardi A., Galgano F., Grudele M.A., Andriglietto C., Schirone M., Tofalo R. 2001. A survey of yeast in traditional sausages of southern Italy. *FEMS Yeast Research* 1: 161–167.

- [17] Gasson M.J. 2000. Gene transfer from genetically modified food. *Curr. Opin. Biotechnol.* 11: 505–508.
- [18] Girand E.L., Brauman A., Keleke S. 1991. Isolation and physiological study of an amylolytic strain of *Lactobacillus plantarum*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 36: 379–383.
- [19] Girand E., Champailier A., Raimbault M. 1994. Degradation of raw starch by a wild amylolytic strain of *Lactobacillus plantarum*. *Appl. Environ. Microbiol.* 60(12): 319–323.
- [20] Grazia L., Suzzi G., Romano P., Guidici P. 1989. The yeast of meat products. *Yeast* 5: 495–499.
- [21] Grzybowski R.A., Stecka K.M., Szkudzińska-Rzeszowiak E.A., Milewski J.A., Chałowska B., Brzóska F., Strzetelski J., Urbańczyk J. 1997. Kryteria oceny i selekcja mikroorganizmów jako składników preparatów probiotycznych. *Pr. Inst. Lab. Bad. Przem. Spoż.* 52: 5–30.
- [22] Grzybowski R.A., Stecka K.M., Szkudzińska-Rzeszowiak E.A., Milewski J.A. 1998. Bakterie fermentacji mlekowej jako składniki preparatów probiotycznych. Bakterie fermentacji mlekowej. Klasyfikacja, metabolizm, genetyka, wykorzystanie. Pr. Zbiór Wydaw. Politechniki Łódzkiej. *Monografie. Rozdział IX*: 150–158.
- [23] Hansen A., Hansen B. 1996. Flavour of sour dough wheat bread crumb. *Z. Lebensm. Unter. Forsch.* 202(3): 244–249.
- [24] Hansen S.M., Jorgensen S.B. 2001. The Productostat – an alternative cultivation method. Annual Meeting of AIChE, Reno, USA, 283b .
- [25] Herwig C, Von Stockar U. 2003. Quantitative comparison of transient growth of *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces Kluyveri*, and *Kluyveromyces lactis*. *Biotechnol. Bioeng.* 30; 81(7): 837–847.
- [26] Holzer M., Mayrhuber E., Danner H., Farthofer R., Braun R. 2000. Metabolites of lactic acid bacteria influencing the aerobic stability of silages. The World Congress on Biotechnology, 11th International Biotechnology Symposium and Exhibition. Berlin, v. 62, 243.
- [27] Jonas D.A., Elmadfa I., Heller K.J., Kozianowski G., König A., Müller D., Narbonne J.F., Wackernagel W., Kleiner J. 2001. Safety considerations of DNA in food. *Ann. Nutr. Metabol.* 45: 235–254.
- [28] Karaś J., Zielińska K. 2001. Wpływ preparatu bakteryjno-enzymatycznego na strawność składników pokarmowych kiszzonek z traw i bilans azotu u rosnących tryków. Materiały z konferencji „Upowszechnianie proekologicznych technologii produkcji bezpiecznych pasz jako formy aktywizacji obszarów wiejskich w zakresie rozwoju małych i średnich przedsiębiorstw”. Warszawa, DATA: 39–42.
- [29] Kunicka A. Szopa J.St. 1996. Metabolizm kwasu jabłkowego u drożdży rodzaju *Schizosaccharomyces* i *Saccharomyces*. *Biotechnologia* 40: 167–177.
- [30] Kunicki-Goldfinger W.J.H. 1998. Życie bakterii. PWN, Warszawa.
- [31] Maki M. 1996. The isolation and characterization of a heterofermentative inoculant and its effect on silage quality and aerobic stability. *Finnish J. Dairy Sci.* 53: 173.
- [32] Mathiu F., Jonany J.P., Senaud J., Bohater J., Berlin G., Mercier M. 1996. The effect of *Saccharomyces cerevisiae* and *Aspergillus oryzae* on fermentations in rumen of faunated and defaunated sheep; protozoal and probiotic interactions. *Reprod. Nutr. Dev.* 36(3): 271–287.

- [33] Mochan B., Kedirivel R., Natarajan M., Bhaskaran M. 1996. Effect of probiotic supplementation on growth, nitrogen utilization and serum cholesterol in broilers. *Brit. Poultry Sci.* 37: 395–401.
- [34] Moser A. 1985. Continuous cultivation. Biotechnology: A comprehensive treatise in 8 vol. edited by H.J. Rehm, G. Reed. Fundamentals of Biochemical Engineering, vol.2 editor H. Brauer, Verlag Chemie GmbH, Weinheim: 285–307.
- [35] Nevoigt E. Stahl U. 1998. Towards a yeast with reduced ethanol fermentation ability. W: Yeast as a cell factory, Osseweijer P., Dijken J.P. van, (red.), EEC, Vlaardingen: 161.
- [36] Paalme T., Vilu R. 1992. A new method of continuous cultivation with computer controlled change of dilution rate. In modeling and control biotechnical processes. Karim M., Stephanopoulos G. (red.) Oxford, Pergamon Press: 229–3001.
- [37] Poktański A., Zielińska K. 2001. Ocena efektywności działania biopreparatu bakteryjno-enzymatycznego w procesie kiszenia traw i mieszanek traw i lucerny. Materiały konferencji „Upowszechnianie proekologicznych technologii produkcji bezpiecznych pasz jako formy aktywizacji obszarów wiejskich w zakresie rozwoju małych i średnich przedsiębiorstw”. Warszawa, Wydawnictwo IBPRS: 35–38.
- [38] Pretorius I.S. 1997. Utilization of polysaccharides by *Saccharomyces cerevisiae*. W: Yeast Sugar Metabolism (Zimmerman F.K., Entian K.D. red.) Technomic Publ. Co.: 459–501.
- [39] Pulvirenti A., Solieri L., Gullo M., De Vero L., Giudici P. 2004. Occurrence and dominance of yeast species in sourdough. *Lett. App. Microbiol.* 38: 113–117.
- [40] Qude Elferink S.J.W.H., Driehuis F., Gottschal J.C., Spoersta S.F. 1997. Anaerobic degradation of lactic acid to acetic acid and propanediol, a novel fermentation pathway in *L. buchneri*. Helps to improve the aerobic stability of maize silage. 8th Inter. Symp. Forage Conservation, Brno. 29 IX–1 X 1997.
- [41] Qude Elferink S.J.W.H., Driehuis F., Kroomean J., Gottschal J.C., Spoestra S.F. 1999. *Lactobacillus buchneri* can improve the aerobic stability of silage via a novel fermentation pathway: the aerobic degradation of lactic acid to acetic acid and acid to 1,2-propanediol. Conf. Proc. The XII th International Silage Conference, 5–7 July, Uppsala, Sweden: 266–267.
- [42] Romano P., Soli M.G., Suzzi G., Grazia I., Zambonelli C. 1985. Improvement of a wine *Saccharomyces cerevisiae* strain by a breeding program. *Appl. Environ. Microbiol.* 57: 830–835.
- [43] Romano P., Rieciardi A., Sadzano G., Suzzi G. 2001. Yeast from Walter Buffolo Mozzarella, a traditional cheese of the Mediterranean area. *Int. J. Food Microbiol. Sep.* 19; 69 (1–2): 45–51.
- [44] Romanos M.A., Scorer C.A., Clare J.J. 1992. Foreign gene expression in yeast: a review. *Yeast* 8: 423–488.
- [45] Simonova E., Beshkova D., Angelov A., Hristozova Ts., Frengova G., Spasov Z. 2002. Lactic acid bacteria and yeast in kefir grains and kefir made from them. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol. Jan*; 28(1): 1–6.
- [46] Skiba-Czajgucka A., Chrzanowska J., Juszczak P., Wojtatowicz M. 2002. Ocena uzdolnień hydrolitycznych drożdży izolowanych z serów Rokpol.. Materiały z konferencji „Wykorzystanie drożdży w przetwórstwie żywności – tradycja i przyszłość”, AR we Wrocławiu, 6–7 VI 2002: 57.

- [47] Stecka K., Grzybowski R., Milewski J., Piasecka-Józwiak K. 1998. Zgłoszenie patentowe P 330 026. Drożdżowy preparat dla zwierząt i sposób wytwarzania drożdżowego preparatu dla zwierząt.
- [48] Stecka K., Grzybowski R., Chabłowska B., Piasecka-Józwiak K., Badocha E., Szkuździńska-Rzeszowiak E., Rozmierska J. 2000. Dobór składników kultur starterowych drożdży i bakterii fermentacji mlekowej przeznaczonych do pieczywa mieszanego i żytniego. XXXI Sesja Naukowa KTiChŻ PAN „Żywność w dobie ekspansji naukowej. Potencjał oczekiwania”. Poznań, 14–15 IX: 319.
- [49] Stępniewicz R., Lenart D., Wojtatowicz M., Foszczyńska B., Dziuba E., Kostecki M. 2002. Biologiczna ochrona ziarna jęczmienia przed grzybami toksynotwórczymi.. Materiały Konferencji „Wykorzystanie drożdży w przetwórstwie żywności – tradycja i przyszłość”. AR we Wrocławiu, 6–7 VI 2002: 41.
- [50] Stratford M. 1992. Yeast flocculation: reconciliation of physiological and genetic view points. *Yeast* 8: 25–38.
- [51] Strzetelski J., Maciejewicz-Ryś J., Lipowska E., Bilik K., Milewski J., Stecka K. 1996. Nowe preparaty bakteryjne i grzybowe w wychowie cieląt. Dodatki paszowe w żywieniu zwierząt. XXVI Sesja Naukowa Komisji Żywnienia Zwierząt. KNZ PAN, Olsztyn 15–16 października 1996: 97–100.
- [52] Strzetelski J., Maciejewicz Ryś J., Lipowska E., Bilik K., Milewski J., Stecka K. 1996. Zastosowanie nowych probiotyków bakteryjnych i grzybowych w wychowie cieląt i opasie buhajów. Materiały z ogólnopolskiej konferencji naukowej „Osiągnięcia i perspektywy badań nad bydłem mięsnym”. Popielno czerwiec 1996: 139–145.
- [53] Sudbery P.E. 1994. The non-*Saccharomyces* yeast. *Yeast* vol. 10: 1707–1726.
- [54] Vacheva R., Oheix N., Kabadjova P., Ivanova I., Onno B., Prevost H., Dousset X. 2003. Lactic acid bacteria population of French sourdoughs monitored by RFLP analysis of 16–23 S spacer region. Second International Symposium on Sourdough from Fundamentals to Applications, Brussels, Belgium, Editor Lue DE VUYST: 16.
- [55] Van Hoek P., Van Dijken J., Pronk J. 1998. Effect of specific growth rate on fermentative capacity of baker's yeast. *App. Environ. Microbiol.* 64(11): 4226–4233.
- [56] Van Hoek P., Van Dijken J., Pronk J. 2000. Regulation of fermentative capacity and levels of glycolytic enzymes in chemostat cultures of *Saccharomyces cerevisiae*. *Enzyme Microbiol. Technol.* 26(9–10): 724–736.
- [57] de Vasconcelos J.N., Lopes C.E., de Franca F.P. 2004. Continuous ethanol production using yeast immobilized on sugar-cane stalks. *Braz. J. Chem. Eng.* 21(3) Sao Paulo July/Sept.
- [58] Virgilio C. de, Biiekert N., Bell W., Jenö P., Boller T., Wiemken A. 1993. Disruption of TPS2 gene, the gene encoding the 100-kDa subunit of the trehalose 6-phosphate synthase/phosphatase complex in *Saccharomyces cerevisiae*, causes accumulation of trehalose 6-phosphate phosphatase activity. *Eur. J. Biochem.* 212: 315–323.
- [59] Vogel R., Knorr R., Meuller M., Stendel U., Gaentzle M., Ehrmann A. 1999. Nondairy lactic fermentations: the cereal world. Proceeding of Sixth Symposium on Lactic Acid Bacteria, The Netherlands, Antonie van Leeuwenhoek: 403–411.
- [60] Voit E. O. 2003. Biochemical and genomic regulation of the trehalose cycle in yeast: review of observations and canonical model analysis. *J. Theoretical Biol.* 223: 55–78.
- [61] Welthagen J.J., Viljoen B.C. 1998. Yeast profile in Gouda cheese during processing and ripening. *Int. J. Food Microbiol.* 41(3): 185–194.

- [62] Wolska M, Czupryński B., Kotarska K., Kłosowski G. 2003. Efektywność fermentacji alkoholowej prowadzonej przez drożdże amylolyczne 1-7-43 z zastosowaniem do hydrolizy skrobi zmniejszanych dawek preparatów glukoamylazy. *Pr. Inst. Lab. Bad. Przem. Spoż.* 58: 52–60
- [63] Zielińska K., Miecznikowski A., Suterska A. 1997. Poszukiwanie bakterii fermentacji mlekowej zdolnych do wykorzystywania celulozy lub ksylanu jako jedynego źródła węgla. *Prace Inst. Lab. Bad. Przem. Spoż.* 52: 54–65.
- [64] Zielińska K., Miecznikowski A., Suterska A. 1998. Biopreparat do zakiszania trudno kiszających się pasz, zwłaszcza wywaru gorzelniczego i roślin motylkowych. Zgłoszenie patentowe nr 330024.
- [65] Zielińska K., Miecznikowski A., Stecka K. 1999. Amylolytyczna i fermentacyjna aktywność szczepu drożdży *Saccharomyces diastaticus* N. Materiały XXX Sesji Naukowej KTiChŻ. PAN, Kraków.
- [66] Zielińska K., Sawicka-Żukowska R., Stecka K., Miecznikowski A., Suterska A. 2000. Nowy szczep *Lactobacillus plantarum*. Patent nr 179838.
- [67] Zielińska K., Miecznikowski A., Suterska A., Czarniecka H. 2000. Biopreparat do zakiszania pasz zawierających surową skrobię, zwłaszcza ziemniaczaną i zbożową. Patent nr 180272.

Developing prospects for fermentation processes

Key words: yeast, lactic acid bacteria, probiotics, starter cultures

Summary

Fermentation processes usually applicable in food processing and preservation are improved by application of the microorganisms of new properties. In alcohol distilling, the yeast of amylolytic properties are introduced, in winemaking – the yeast of alcohol-tolerant properties and in bakery – the yeast of properties ensuring required taste and flavour to bakery products. Moreover, the yeast is applicable as a component of probiotic preparations. Yeast biomass may be a raw material for functional, taste and flavour additives as well as those increasing the nutritive value of foodstuffs.

Lactic fermentation bacteria of new properties (amylolytic, cellulolytic and xylanolytic) are applicable to getting more tasty and more stable silages. They are used as the starter cultures in bakery and dairy industry, they also form the basic components of probiotic preparations.

The composition of starter cultures for production of silages and probiotic preparations, as well as the parameters for their industry-scale production, have been developed, in the Institute of Food Industry Biotechnology (IBPRS).