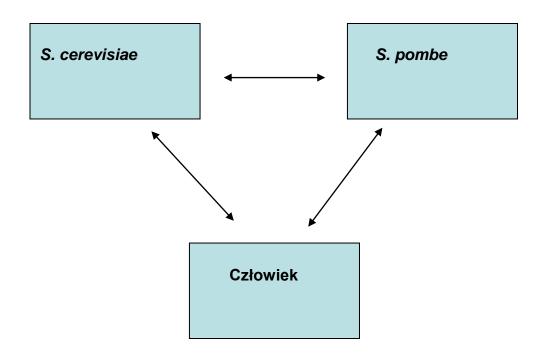


Organizmy modelowe

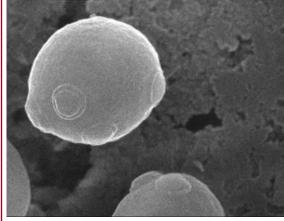
- Drożdże Saccharomyces cerevisiae i Schizosaccharomyces pombe są organizmami modelowymi
- Wiele procesów zachodzi tak samo jak u ludzi
- Brak procesów typowych dla organizmów wielokomórkowych

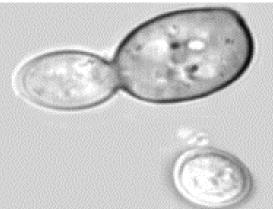




Saccharomyces cerevisiae: Drożdże piekarskie

- Istnieje conajmniej 1000 linii S. cerevisiae, stosowanych do warzenia piwa, wypieku chleba, wyrobu wina i pędzenia alkoholu
- Istotne cechy to zdolność do flokulacji, fermentatacji, tolerancji na etanol, wymagania O₂
- Drożdże przemysłowe są zwykle poliploidami.
- Drożdże używane w przemyśle są zwykle stabilne genetycznie ze względy na ograniczone zdolności do krzyżowania, sporulacji i żywotność spor (haploidów)



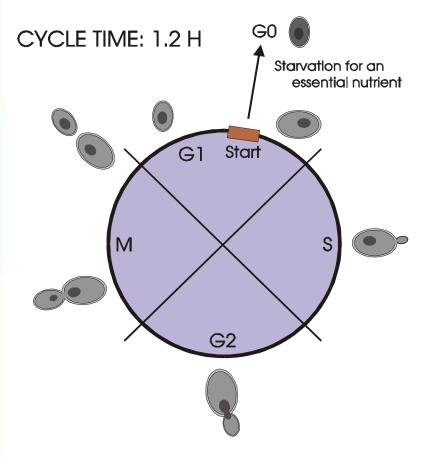




Cykl komórkowy

- Cykl komórki eukaryotycznej można podzielić na fazy G1, S, G2 and M
- Głodzenie oraz feromony mogą zatrzymać cykl w różnym stdium

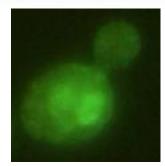
Cytoszkielet aktnowy







Zastosowanie drożdży w biotechnologii: ekspresja heterologiczna



- Produkcja białek:
 - Do badań naukowych, oczyszczania krystalizacji...
 - Dla przemysłu, produkcja enzymów dla przemysłu papierniczego i chemicznego oraz dla diagnostyki
 - Dla przemysłu farmaceutycznego np. szczepionki
- Drożdże mogą częściowo dokonywać takich samych modyfikacji posttranslacyjnych jak organizmy wyższe
- Dostępne są "humanizowane" szczepy
- Drożdże umożliwiają nadprodukcję białka do 10-20% wszystkich białek komórkowych (w *E. coli* osiąga się nawet ponad 50%)
- *S. cerevisiae* są dobrze poznanym organizmem w którym rekombinacja heterologiczna zachodzi z dużą wydajnością umożliwiając wymianę genów.

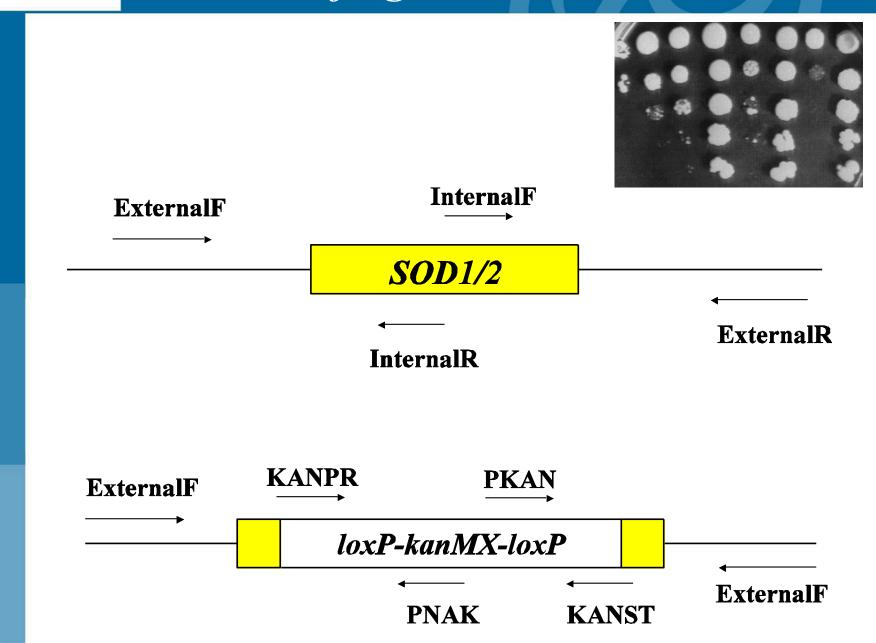


Produkcja nowych szczepów drożdży

- Ze względu na ograniczone zdolności do krzyżowani drożdży przemysłowych zastosowanie klasycznych metod genetycznych jest mocno ograniczone
- Fuzja sferoplastów umożliwiła otrzymanie szczepów:
 - O zwiększonych zdolnościach amylolitycznych (fuzja S. cerevisiae i S. diastaticus)
 - Poliploidalnych zwiększonej zdolności do produkcji etanolu
 - Z aktywnością amylazy pochodzącej z Aspergillus niger
 - Z aktywnością Beta-glukanazy pochodzącej z Bacillus subtilis,
 Trichoderma reesii i jęczmienia

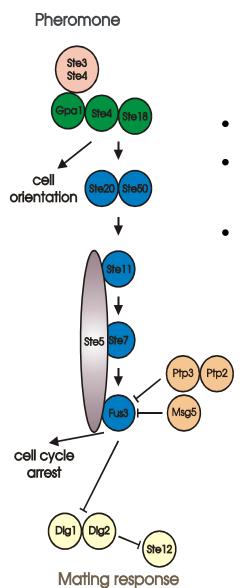


Delecja genów S. cerevisiae





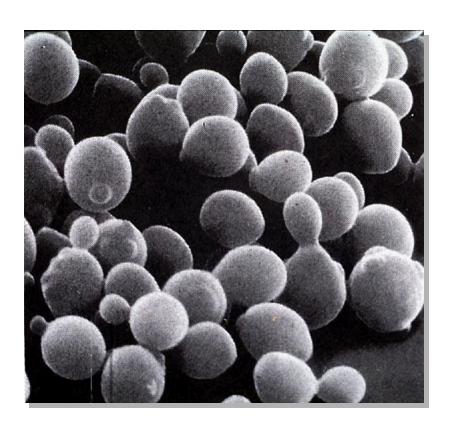
Ekspresja heterologiczna – poszukiwanie nowych leków



- Wymiana receptora drożdży na receptor ludzki
- Receptor uruchamia kaskadę reakcji indukujących gen reporterowy
 - Identyfikacja czynników wchodzących w interakcję z receptorem



Fermentacja alkoholowa







- Przemysł fermentacyjny przy użyciu drożdży pomimo rozwoju innych technologii jest wciąż największym bussinesem biotechnologicznym na świecie.
- Przemysłowe szczepy drożdży są trudnym materiałem do badań ze względu na stopień ploidalności, wiele krzyżówek, hybrydów.
- Jest potencjalnie wiele możliwych udoskonaleń szczepów:
 - Tolerancja na wyższe stężenia substratów i produktów umożliwiająca zmniejszenie objętości tankofementorów
 - Tolerancja wyższej zawartości alkoholu
 - Zwiększenie wydajności produkcji alkoholu (zmniejszenie produkcji glicerolu)
 - Zwiększenie tolerancji na niskie temperatury
 - Są spore możliwości zastosowań nowych szczepów zmodyfikowanych metodami inżynierii genetycznej, ale jest opór opinii publicznej odnośnie akceptacji GMO.



Fermentacja alkoholowa



- Piwo
 - jęczmień, skrobia (ryż, kukurydza), chmiel
 - Saccharomyces carlsbergensis i S. cerevisiae
- Wino
 - winogrona
 - Saccharomyces cerevisiae var. ellopsoideus
- Miód pitny
 - miód
 - Saccharomyces cerevisiae
- Sake
 - Saccharomyces sake i Aspergillus
 - ryż
- Chleb





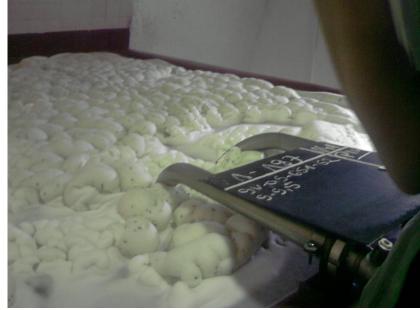




Piwo

- Napój otrzymywany w wyniku fermentacji alkoholowej przez drożdże piwowarskie brzeczki piwnej.
- Brzeczka piwna wodny roztwór składników wyekstrahowanych z odpowiednich surowców (słodu browarnego, chmielu) otrzymany w procesie zacierania i filtracji.





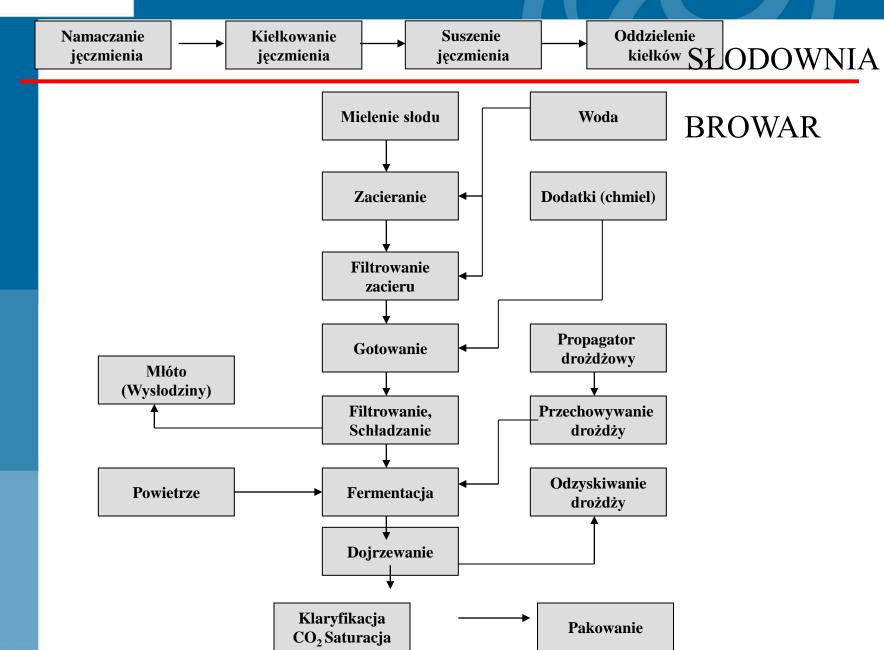


Historia piwa

- Najstarsze ślady browarnictwa pochodzą sprzed 6000 tysięcy lat. Produkowane między Tygrysem a Eufratem państwie Sumerów. Opracowanie receptury?- przypadek. Sumerowie podczas produkcji chleba
- Babilończycy dalszy rozwój (20 gatunków piwa). Opisane w eposie "Gilgamesz".
- Król Hammurabi, w kodeksie przyznawał poddanym, w zależności od statusu, od 2 do 5 litrów piwa dziennie.
- Egipcjanie, dodatkami poprawiają smak. Utworzono specjalny hieroglif.
- Tacyt pisze o zamiłowaniu Germanów do piwa które jest tam znane co najmniej od 800 roku przed naszą erą.
- Niezależnie, technologia produkcji piwa powstała na innych kontynentach. W Ameryce od około IX wieku p.n.e. produkuje się m.in. piwo kukurydziane chibche.
- Udoskonalenie produkcji w klasztorach.
- Po Reformacji produkcja piwa przestała być domeną zakonów (podatki). Mnisi pierwsi dodali do piwa chmiel.
- 1516 roku książę bawarski Wilhelm IV ogłosił pierwsze w historii przepisy dotyczące norm warzenia piwa (woda, jęczmień, chmiel)
- Pasteur –rozwój nowoczesnych technologii.



Etapy produkcji piwa



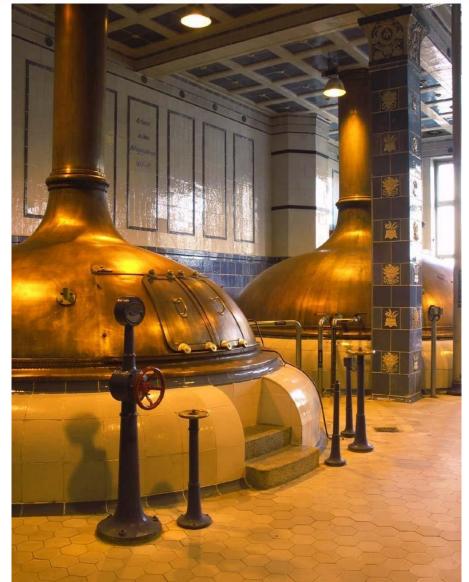


Etapy produkcji piwa

- Przygotowanie słodu
 - czyszczenie i sortowanie
 - magazynowanie
 - moczenie
 - kiełkowanie
 - suszenie
 - oddzielanie korzonków
 - magazynowanie
- Produkcja brzeczki
 - rozdrabnianie przygotowanego słodu
 - zacieranie słodu w warzelni w kadziach zaciernych
 - filtracja zacieru
 - gotowanie brzeczki w kotle warzelnianym, chmielowanie
 - oddzielanie osadu- Whirlpool
 - -schładzanie
- Produkcja piwa (fermentacja)
 - przepompowanie do wanien fermentacyjnych lub tankofermentorów
 - zaszczepianie drożdżami
 - fermentacja
 - leżakowanie w tankach leżakowych
 - filtracja (ziemia okrzemkowa)
 - normalizacja (nasycanie C0₂, antyoksydanty, pasteryzacja)
- Rozlew do kegów lub butelek.











Definicje

- Śruta rozdrobniony słód
- Wysłodziny (młóto) pozostałe po filtracji zacieru nierozpuszczone części słodu (łuski, białka, nieskleikowana skrobia)



Śruta



Młóto browarniane suszone



Jęczmień- Hordeum vulgare







- •Jęczmień jary (dwurzędowy o niskiej zawartości białka 9,5-11%):
- •Browarny: stosunek N : P : K = 1 : 2 : 3 Azotu stosujemy 30-40 kg na hektar wysiewamy w całości przed siewem. Fosfor w ilości 50-100 kg P_2O_5 /ha oraz potas w dawce ok.60-120 kg K_2O na 1 hektar najlepiej zastosować jesienią albo wczesną wiosną.
- •Odmiany browarne: Annabell, Anatol, Barke, Binal, Blask, Brenda, Granal, Johan, Madonna, Rivera, Rudzik, Stratus, Scarleta
- •Ocena jakości: energia kiełkowania (% wykiełkowanych nasion po 2 lub 5 dobach)



CHOROBY JĘCZMIENIA

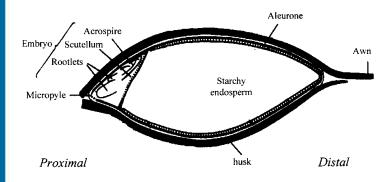
Przenoszone wyłącznie przez materiał siewny	We wczesnych fazach rozwojowych	Podstawy źdźbła	Liści lub źdźbła	Kłosów
Głownia pyląca jęczmienia	Pałecznica zbóż i traw	Zgorzel podstawy źdźbła	Plamistość siatkowa jęczmienia	Fuzarioza klosow zbóż
Plamistość liści jęczmienia	Pleśń śniegowa zbóż i traw	Łamliwość podstawy źdźbła	Rdza żółta zbóż i traw	
	Zgorzel siewek	Fuzaryjna zgorzel podstawy źdźbła	Mączniak prawdziwy zbóż i traw	
		Rizoktonioza zbóż		



Kiełkowanie nasion

Grain to Glass 39

Dorsal



Ventral

Figure 2.3. The basic structure of the barley corn.

embryo becomes hydrated

embryo produces hormones that go to aleurone and switch on enzyme synthesis

aleurone makes enzyme that go to starchy endosperm that go to starchy endosperm and break down cell walls and protein

starchy endosperm is progressively digested (softened) starting at proximal end

Figure 2.4. A schematic depiction of events during barley steeping and germination.

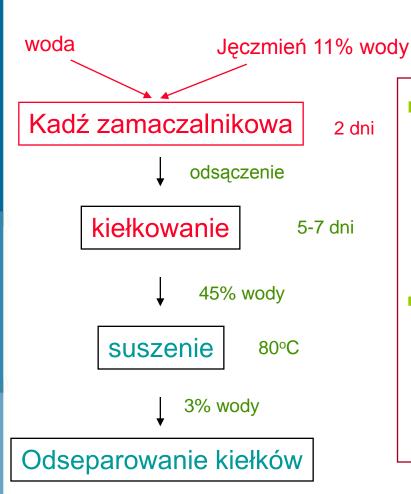
Cel:

wytworzenie enzymówrozluźnienie struktury bielma

Niska temperatura 12-14 C



Słodowanie



- α- and β-amylazy i
 proteinazy są produkowane
 podczas kiełkowania
 jęczmienia do rozkładu skrobi
 i białek
- Skiełkowane nasiona jęczmienia suszy się w w taki sposób aby zachować aktywność enzymów



Suszenie

• Faza wstępna 45-50 C:

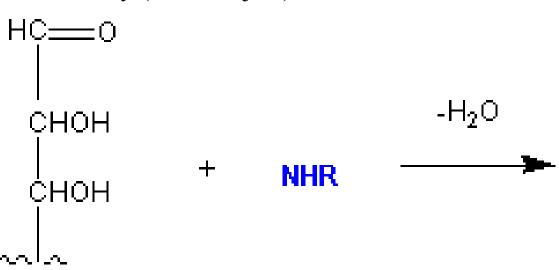
Regulacja dopływu świeżego powietrza wpływa na zawartość aminokwasów

• Faza prażenia powyżej 80 C

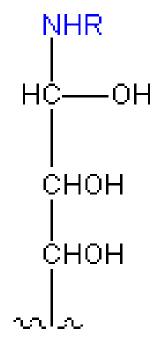
Reakcja cukrów prostych z aminokwasami – melanoidy

Słód jasny- 80-85C

Słód ciemny (Monachijski) 105 C



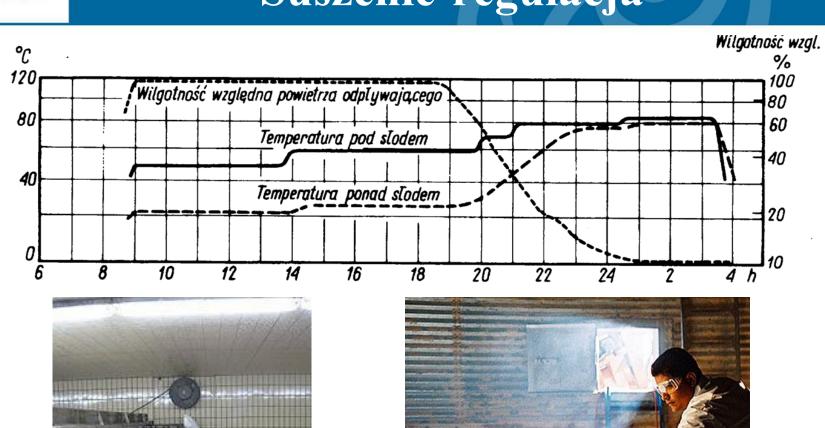
Reducing Amino Compound Sugar



N-Glycosylamine



Suszenie-regulacja









Rozdrabniane słodu

- Śruta słodowa- rozdrobniony słód
- Rozdrabnianie w śrutownikach walcowych i młotkowych







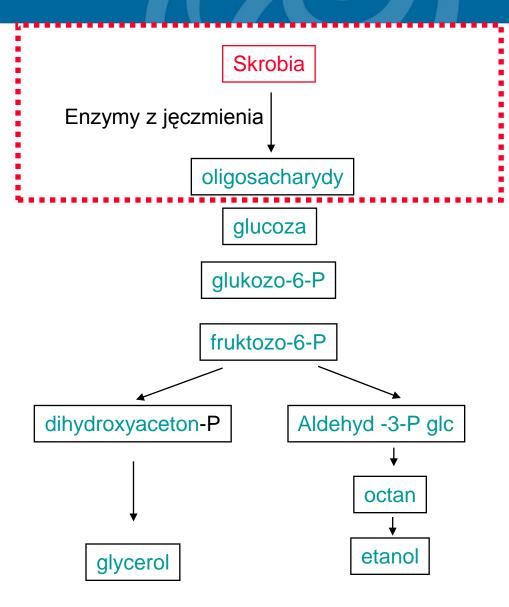
Śruta słodowa



Zacieranie -rozkład skrobi



 Dostępne są enzymy o wyższej termostabilności pochodzące z drobnoustrojów Aspergillus i Bacillus





Rozkład enzymatyczny słodu

•	Hemice	lulazy	37-45 °C	C
		_J		

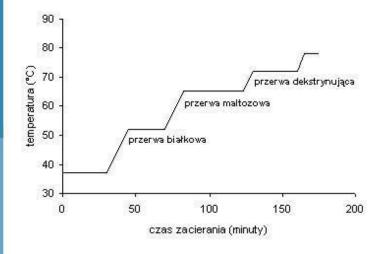
•
$$\beta$$
-amylazy 60-65 °C

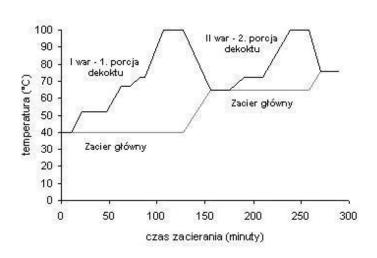
•
$$\alpha$$
-amylazy 70-75 °C



Produkcja brzeczki-Zacieranie

- Zacieranie- proces technologiczny w czasie którego złożone składniki słodu (skrobia, białka) zamienione zostają na proste rozpuszczalne w wodzie (cukry, aminiokwasy)
- Metody zacierania: infuzyjne i dekkokcyjne Dekokcyjne-jedno-, dwu- i trzywarowe





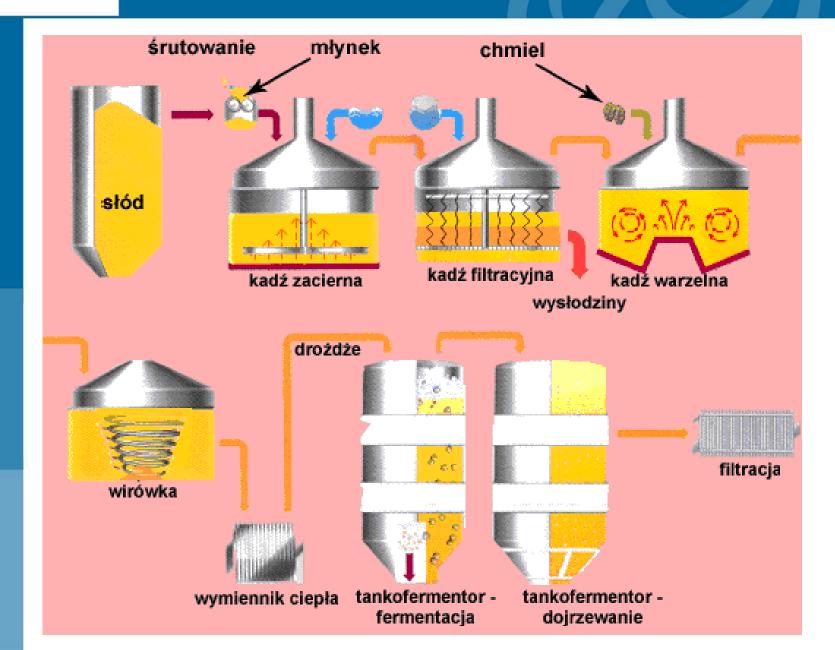


Zacieranie jednowarowe

Ześrutowany słód miesza się z wodą o temperaturze pozwalającej na uzyskanie temperatury zacieru ok.33-34 °C. Całość zacieru podgrzewa się następnie do 52 °C i pozostawia w spoczynku przez 8-10 minut (przerwa białkowa). Po zakończeniu przerwy białkowej, zacier podgrzewa się do temperatury 63 - 67 °C. W tej temperaturze przetrzymuje się zacier 30 minut (przerwa cukrowania). Po dokładnym wymieszaniu ok.40 % gęstego zacieru (I war) spuszcza się do kotła zaciernego i podgrzewa do temperatury 72 °C, w której następuje całkowite scukrzenie zacieru. Po uzyskaniu całkowitego scukrzenia potwierdzonego próbą jodową, I war podgrzewa się stopniowo do temperatury wrzenia i gotuje 10-20 minut. Zagotowaną część zacieru zawraca się do kadzi zaciernej, gdzie ustala się temperatura całości zacieru w granicach 76-78 °C. Po 10-cio minutowym spoczynku, ponownie kontroluje się scukrzenie zacieru i po potwierdzeniu uzyskania całkowitego scukrzenia, zacier przepompowuje się do kadzi filtracyjnej.

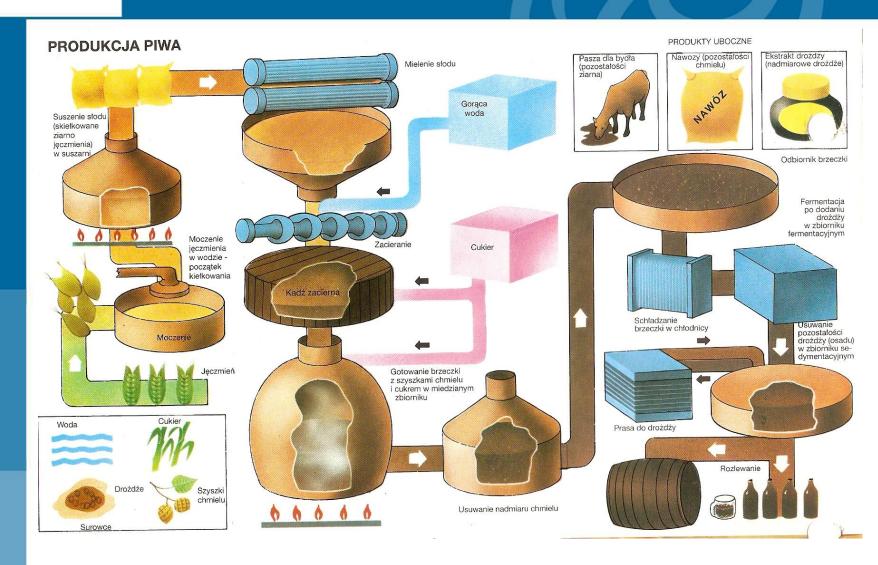


Schemat produkcji piwa





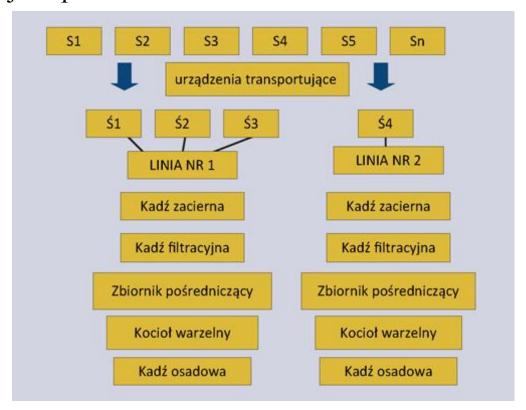
Schemat produkcji piwa cd.





Filtracja

- Filtracja zacieru w kadzi filtracyjnej
- Brzeczka-klarowny roztwór po filtracji zacieru zawierający składniki wyekstrahowane ze słodu z dodatkiem lub bez surowców niesłodowanych
- Wysłodziny (młóto) odzielone wyniku filtracji stałe części słodu używane jako pasza









Gotowanie brzeczki

- Cel:
- Zniszczenie enzymów,
- Wytrącenie związków azotowych,
- Utrwalenie i zagęszczenie
- Rozpuszczenie i izomeryzacja składników chmielu





Chmiel (Humulus lupulus)



•Eukaryota; Viridiplantae; Streptophyta; Charophyta/Embryophyta group; Embryophyta; Tracheophyta; Euphyllophyta; Spermatophyta; Magnoliophyta; eudicotyledons; core eudicots; rosids; eurosids I; Rosales; Cannabaceae;



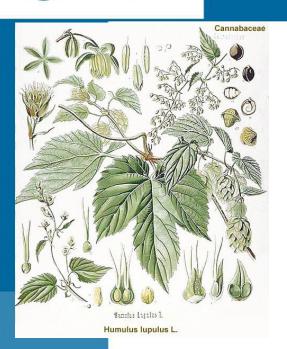


- Rozdzielnopłciowa, używane szyszki (kwiatostany żeńskie)
- 80-90% olejku to terpeny (myrcene and b-pinene) i sesquiterpeny (b caryophyllene and ahumulene).



Chmiel - olejki

viridiflorol



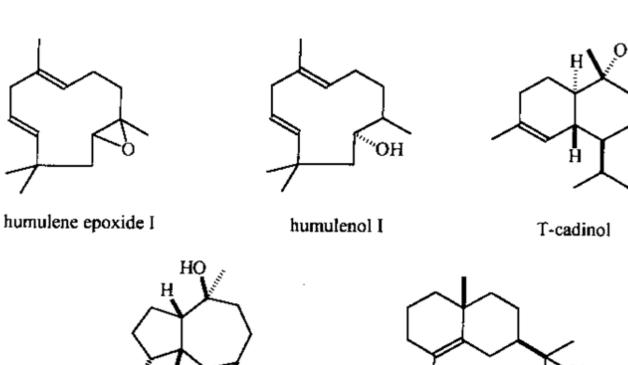


Figure 5.9. Some essential oils from hops.

γ-eudesmol



α-kwasy i ich prekursory



Izomeryzacja

 β - kwasy

Hulupony

$$\begin{array}{c|c} & & & & \\ & & & \\ & & & \\ & & & \\ & & & \\ & & & \\ & & & \\ & & & \\ & & & \\ & & & \\ & & & \\ & & & \\ & & & \\ & & & \\ & & & \\ & & & \\ & & & \\ & & & \\ & & & \\ & \\ & & \\ & & \\ & & \\ & \\ & & \\ & & \\ & \\ & & \\ & \\ & & \\ & \\ & & \\ & & \\ & \\ & & \\$$

izo- α - kwasy



Uprawa chmielu na świecie

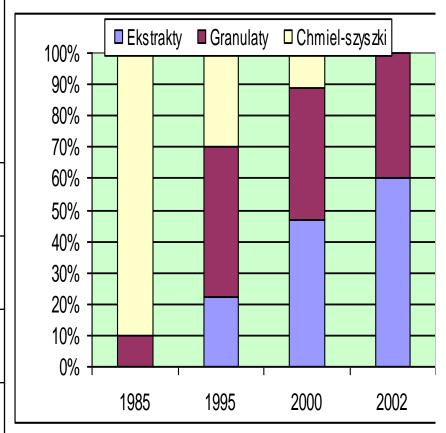
	Powierzchnia uprawy w ha		
Kraj	Odmiany	Odmiany	Ogółem
	aromatyczne	Goryczkowe	
Australia	4	809	813
Belgia	75	173	248
Chiny	96	4 290	4 386
Rep. Czeska	5 951	144	6 095
RFN	10 373	7 288	17 661
Francja	733	51	784
Nowa Zelandia	174	207	381
Polska	1 450	750	2 200
Portugalia	0	42	42
Rosja	1 086	437	1 523
Słowacja	350	0	350
Słowenia	1 676	70	1 746
Hiszpania	0	772	772
Wielka Brytania	1 133	753	1 886
Ukraina	960	300	1 260
USA	4 613	9 788	14 401
Jugosławia	130	321	451
Płd. Afryka	0	475	475
IHGC ogółem*	28 804	26 670	55 474

- •Poska piąte miejsce w świecie pod względem pow. Uprawy
- IHGC (International Hop Growers Convention)



Produkty chmielowe i ich wykorzystanie

Produkt	%	Okres prze-
chmiel	wyk	chowywa
owy	orzys	-nia
	tania	
Szyszki	do 40	do 6 □ 7
		mies.
Granulat	50 🗆 60	do 12 mies.
90		
Granulat	do 65	do 18 mies.
45		
Ekstrakt	80 □ 90	5 □ 6 lat





Wykorzystanie chmielu w produkcji piwa

- Wieloletni wzrost produkcji piwa
- Spadek powierzchni upraw chmielu
- Zmniejszenie dawki alfa kwasów (1980-7,8 g/hl; 2002-5,3 g/hl)
- Zastępowanie szyszek granulatem i ekstraktem
- Wprowadzenie nowych odmian super goryczkowych (10-12% alfa):

Hallertau Magnum, Hallertau Taurus-Niemcy Columbus, Zeus-USA Marynka-Polska

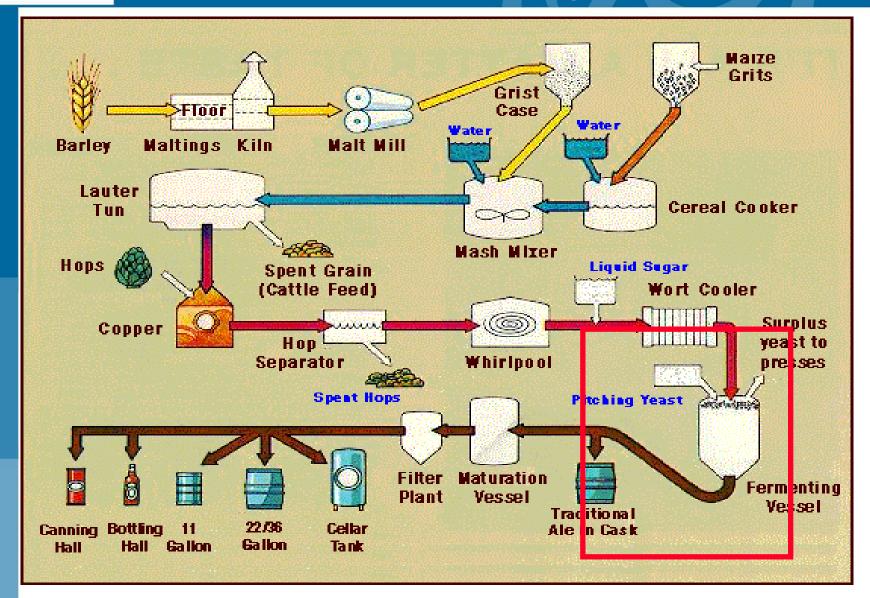


Fermentacja

- Fermentacja
- Leżakowanie
- Filtracja
- Normalizacja
- Butelkowanie
- Pasteryzacja



Fermentacja





Zaszczepianie

- Schłodzoną warkę zaszczepia się drożdżami. Ważna wielkość inokulum drożdży więc jeśli szczep pochodzi z czystej kultury musi być odpowiednio namnożony.
- Drożdże zbiera się po zakończonej fermentacji.
 Część może być użyta do zaszczepienia kolejnej warki.
- Pozostałe drożdże przetwarzane i sprzedawane jako różnego rodzaju produkty (Ekstrakt drodżdżowy, dodatki paszowe)



Dwa główne typy drożdży browarniczych

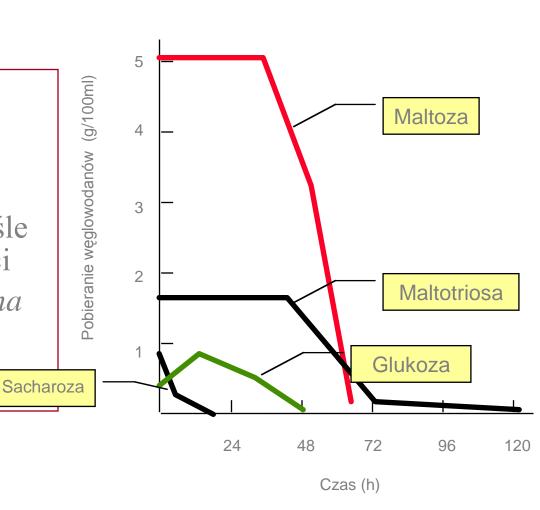
- Saccharomyces cerevisiae (lager)
 - Saccharomyces uvarum (carlsbergensis)
 - Fermentacja dolna
 - Zbierają się w osadzie
 - Optymalna temp wzrostu 20-24°C
 - Fermentacja 7-15°C.



Fermentacja węglowodanów



- Drożdże zużywają węglowodany w ściśle określonej kolejności
- Represja kataboliczna





Degustacja

Diagram kołowy smaków i zapachów w piwie wg. EBC (European Brewery Convention, tzn. Europejskiej Konwencja Piwowarskiej.

