

Drożdże do produkcji piw bez- i niskoalkoholowych

Yeast for the production of non- and low- alcoholic beer

dr hab. Barbara Stachowiak

Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Katedra Technologii Żywności Pochodzenia Roślinnego
barbara.stachowiak@up.poznan.pl

Słowa kluczowe: drożdże nie-*Saccharomyces*, drożdże niekonwencjonalne, drożdże maltozo-ujemne, produkcja NABLAB, piwa bezalkoholowe, piwa niskoalkoholowe

Keywords: non-*Saccharomyces* yeast, unconventional yeast, maltose-negative yeast, NABLAB production, non-alcoholic beers, low-alcohol beers

*The growing popularity of non- and low-alcohol beer (NABLAB – Non-Alcoholic and Low-Alcohol Beer) is driving scientific research focused on the use of unconventional yeast strains, known as non-*Saccharomyces*, in the production of these beverages. These yeasts show significant potential to enhance the flavor and aroma profile of NABLAB, while being characterized by a limited fermentative metabolism – they usually do not able to ferment maltose. Their application in the brewing process enables a natural reduction in alcohol content, and often accompanied by the production of higher amounts of desirable aroma compounds, compared to traditional *Saccharomyces* strains. Furthermore, non-*Saccharomyces* yeasts enable the production of beers with unique and innovative sensory properties, thus meeting the expectations of increasingly diverse and demanding consumer groups.*

This paper presents examples of unconventional yeasts and their potential for industrial NABLAB production.

Rosnąca popularność piw bezalkoholowych i niskoalkoholowych (NABLAB – Non-Alcoholic and Low-Alcohol Beer) stymuluje rozwój badań naukowych nad zastosowaniem niekonwencjonalnych szczepów drożdży, określanych jako drożdże nie-*Saccharomyces*, w produkcji tego typu napojów. Drożdże te wykazują znaczący potencjał w zakresie poprawy profilu smakowo-aromatycznego piwa, a jednocześnie cechują się ograniczonym metabolizmem fermentacyjnym – zwykle nie fermentują maltozy. W porównaniu do tradycyjnie stosowanych drożdży *Saccharomyces*, ich zastosowanie umożliwia naturalne ograniczenie zawartości alkoholu w gotowym produkcie, często przy jednoczesnym zwiększeniu ilości pożądanych związków aromatycznych. Ponadto drożdże niekonwencjonalne otwierają nowe możliwości tworzenia piw o innowacyjnym i przyjemnym profilu sensorycznym, odpowiadającym na rosnące wymagania współczesnych, świadomych konsumentów.

W niniejszej pracy przedstawiono przykłady drożdży niekonwencjonalnych i ich potencjał dla przemysłowej produkcji NABLAB.

Strategie produkcji NABLAB i ich wpływ na jakość piwa

Piwa bezalkoholowe i niskoalkoholowe wpisują się w kategorię produktów Better for You, czyli korzystnych dla zdrowia, wspierających dobre samopoczucie. Mają dobrą wartość odżywczą – to napoje bezcukrowe, beztłuszczowe, bezcholesterolowe, bogate w witaminy z grupy B (w tym wit. B₁₂) oraz witaminę C, a także magnez, substancje przeciwutleniające (np. polifenole, flawonoidy) i rozpuszczalny błonnik. Są również mniej kaloryczne od swoich alkoholowych odpowiedników [7]. Od dłuższego czasu zainteresowanie nimi wzrasta, szczególnie wśród konsumentów dbających o zdrowie. Są one alternatywą dla kierowców, sportowców, czy przy niektórych kuracjach farmakologicznych.

Strategie produkcji NABLAB opierają się na procesach fizycznych i biologicznych. Jednak bez względu na zastosowaną prak-

tykę produkcyjną, właściwości sensoryczne gotowego produktu zostają zmienione, a jego akceptowalność konsumencka jest mała. Procesy fizyczne polegają na usuwaniu etanolu ze standardowego piwa alkoholowego (dealkoholizacja) z wykorzystaniem metod termicznych lub membranowych. Wymaga to inwestycji w zakup specjalistycznej aparatury. Proces dealkoholizacji umożliwia usuwanie etanolu z piwa do bardzo niskich poziomów, lecz jednocześnie zostaje ono praktycznie pozbawione związków aromatycznych kształtujących jego profil smakowo-zapachowy (są one usuwane wraz z frakcją etanolową). Ponadto przy zastosowaniu metod termicznych mogą pojawić się aromaty pieczonego chleba, tostowe. Dlatego procesy separacji alkoholu z piwa wymagają szczególnej optymalizacji [7].

Metody biologiczne opierają się natomiast na ograniczeniu wytwarzania etanolu podczas fermentacji. Mogą być przeprowadzane na tradycyjnym sprzęcie browarniczym. Do najpopularniejszych należą fermentacja zatrzymana/przerwana i proces zimnego kontaktu. W obu jednak przypadkach pożądane substancje lotne (estry i alkohole wyższe) są tworzone w niewystarczającej ilości z uwagi na niepełną fermentację lub spowolnioną, przez niską temperaturę (1-3°C), metabolizm drożdży. Otrzymane w ten sposób piwa często charakteryzują się pewnymi niepożądanymi posmakami, za które odpowiedzialne są niezredukowane aldehydy, tj. metional (słodowe, zbożowe i ziemniaczane), 3-metylobutanal (słodowe, zbożowe i kakaowe), 2-metylobutanal (kakao) i 3-metylopropionaldehyd (mokre zbożowe) [2].

W ostatnich czasach coraz większym zainteresowaniem cieszą się metody biologiczne, polegające na wykorzystaniu w procesie fermentacji niekonwencjonalnych drożdży tzw. nie-*Saccharomyces*. Wykazują one duży potencjał w zakresie redukcji wad sensorycznych NABLAB. Ponadto są to zwykle drożdże maltozo-ujemne, tzn. nie są zdolne do metabolizowania maltozy, która stanowi 60-70% wśród fermentowalnych cukrów brzojki, a także maltotriozy (17-25%) i dekstryn (tab. 1). Pozwala to w sposób naturalny ograniczyć ilość powstającego alkoholu, zaoferować nowe, nietypowe aromaty i smaki, a także zmniejszyć ślad węglowy produkcji piwa [11].

Cechą charakterystyczną dla NABLAB otrzymywanych z udziałem drożdży maltozo-ujemnych jest często słodczy, gdyż nieprzefermentowane cukry pozostają w wyprodukowanym piwie. Pewnym rozwiązaniem w tym przypadku jest wykorzystanie brzojki o małej zawartości cukrów fermentujących, co osiąga się np. poprzez odpowiedni program zacierania [7].

Preparaty drożdży nie-*Saccharomyces* do produkcji NABLAB obecne na rynku

Drożdże *Saccharomycodes ludwigii*, wywodzące się ze środowiska enologicznego, są najpowszechniej wykorzystywane do przemysłowej produkcji NABLAB. Stanowią one poważne zagrożenie w procesie produkcji wina. Jednak z uwagi na znikomą zdolność asymilacji maltozy i pozostałych cukrów wyższych oraz dość neu-

Tab. 1. Porównanie wykorzystania cukrów fermentujących, tworzenia posmaku fenolowego i zdolności do flokulacji wybranych szczepów drożdży nie-*Saccharomyces* o potencjale do produkcji NABLAB

Gatunek	Maltoza	Glukoza	Fruktoza	Sacharoza	POF	Flokulacja (%)	Źródło
<i>Saccharomycodes ludwigii</i>	-	+	+	+	-	27-60	*
<i>Mrakia gelida</i>	-	+	+	+	U	U	[4]
<i>Trigonopsis cantarellii</i> P-69	-	U	+	U	U	U	[8]
<i>Candida sojae</i> T-39	-	U	+	U	U	U	[8]
<i>Candida shehatae</i>	V	+	U	+	U	U	[9]
<i>Wickerhamomyces anomalus</i> P-2.4	W	U	+	U	U	U	[8]
<i>Kazachstania servazzii</i> VTT C-191027	-	U	U	U	U	4	[6]
<i>Pichia fermentans</i> VTT C-191032	-	U	U	U	U	0	[6]
<i>Pichia kluyveri</i> CBS 188	-	+	U	-	U	U	[11]
<i>Cyberlindnera misumaiensis</i> 837 A	-	+	U	-	-	78±3	[1]
<i>Hanseniaspora valbyensis</i> KBI 22.1	-	+	+	+	1	11 ±8	[2]
<i>Hanseniaspora vineae</i> KBI 7.1	-	+	+	-	-	41±4	[2]
<i>Torulaspora delbrueckii</i> EGT1 KBI 22.2	-	+	+	+	-	96,2 17±0	[2]
<i>Zygosaccharomyces bailii</i> KBI 25.2	-	+	+	+	-	45±0	[2]
<i>Zygosaccharomyces kombuchaensis</i> KBI 5.4	-	+	+	-	-	43±3	[2]
<i>Zygosaccharomyces rouxii</i> DVBPG 4084, 6187, 6424, 6463, 6921	+/W	+	V	-	U	U	[5]

* wszystkie wyniki dot. *S. ludwigii* (szczep referencyjny) zostały ujęte łącznie – na podstawie źródeł podanych w tabeli; U – niezadeklarowano; +/W – pozytywny/słaby; V – zmienny; POF (Phenolic Off-Flavour) – posmak fenolowy

tralny profil smakowo-aromatyczny okazały się wysoce przydatne do produkcji wszystkich stylów piw niskoalkoholowych [5]. Warto podkreślić, że gatunek ten jest najczęściej stosowany jako referencyjny w badaniach naukowych/porównawczych. Na rynku dostępne są startery drożdży *S. ludwigii* w formie płynnej, np. szczep WLP618 (White Labs) czy szczep FM56 (Fermentum Mobile).

Stosowane do przemysłowej produkcji NABLAB są również drożdże *Pichia kluyveri*. Występują one powszechnie w środowisku fermentacyjnym, a także izolowane są z psujących się owoców. Charakteryzują się zdolnością do poprawy składu związków aromatycznych, takich jak tiole, terpeny i estry owocowe. Są zdolne do metabolizowania tylko monosacharydów brzożki [13]. Na rynku dostępne są mrożone preparaty NEER (Novonesis) zawierające szczepy *P. kluyveri* o zróżnicowanym profilu smakowo-zapachowym.

Wśród obecnych na rynku, jednak mniej popularnych, drożdży niekonwencjonalnych do produkcji NABLAB wymienić należy szczepy WLP603 *Torulaspora delbrueckii* (White Labs) produkujący duże ilości estrów i polecany do piw NABLAB o aromatach owocowych typu IPA lub Saison oraz WPL686 *Zygosaccharomyces lentus* (White Labs), bardzo neutralny, produkujący niewielkie ilości estrów.

Niekonwencjonalne drożdże nie-*Saccharomyces* i ich potencjał do produkcji NABLAB – przegląd literatury

Drożdże niekonwencjonalne o przydatności do produkcji piw bez- i niskoalkoholowych powinny charakteryzować się brakiem zdolności do fermentacji maltozy i wytwarzania posmaków fenolowych i słodowych, zdolnością do wzrostu w obecności izo- α -kwasów chmielowych i łatwej flokulacji oraz bezpieczeństwem zdrowotnym [2]. Są one izolowane z różnych nisz ekologicznych (tab. 2)

Tab. 2. Drożdże maltozo-ujemne do produkcji piw niskoalkoholowych i źródła ich pochodzenia przykłady

Drożdże	Pochodzenie	Źródło
<i>Trigonopsis cantarellii</i> i <i>Candida sojae</i>	mikrobiom browaru	[8]
<i>Mrakia gelida</i>	zimne siedliska (Antarktyda)	[4,12]
<i>Zygosaccharomyces rouxii</i>	miód, moszcz gronowy, marynata	[5]
<i>Hanseniaspora vineae</i> , <i>Hanseniaspora valbyensis</i> , <i>Torulaspora delbrueckii</i> , <i>Zygosaccharomyces kombuchaensis</i> i <i>Zygosaccharomyces bailii</i>	kombucha	[2]
<i>Kazachstania servazzii</i> i <i>Pichia fermentans</i>	kultury zakwasu na bazie mąk zbożowych	[6]
<i>Williopsis saturnus</i>	fermentacje wina i sake	[10]
<i>Candida shehatae</i>	produkcja biopaliw	[9]

Szczególnie interesującym źródłem tych drożdży są fermentowane systemy żywnościowe. Warto podkreślić, że wiele wyizolowanych z tego środowiska szczepów posiada status kwalifikowanego domniemania bezpieczeństwa – QPS (*Qualified Presumption of Safety*) lub status GRAS (*Generally Recognized as Safe*) lub po prostu, ze względu na swoje pochodzenie, jest bardziej akceptowalnych dla zastosowań spożywczych niż gatunki wyizolowane ze źródeł nieżywnościowych [3].

Bellut i in. [2] wyizolowali na przykład z kombuchy (fermentowany napój herbaciany) pięć szczepów drożdży nie-*Saccharomyces* o wysokiej przydatności do produkcji NABLAB: *Hanseniaspora valbyensis* KBI 22.1, *Hanseniaspora vineae* KBI 7.1, *T. delbrueckii* KBI 22.2, *Zygosaccharomyces bailii* KBI 25.2 i *Zygosaccharomyces kombuchaensis* KBI 5.4. Wszystkie badane szczepy były maltozo-ujemne, a obecność izo- α -kwasów w zakresie 0-100 IBU, nie miała żadnego wpływu na ich wzrost. Również wynik testu na posmak fe-

nolowy był dla wszystkich szczepów ujemny. Wydajność fermentacji i końcowa jakość piw otrzymanych z ich udziałem zostały porównane z dwoma komercyjnie stosowanymi szczepami drożdży: *S. cerevisiae* WLP001 (California Ale Yeast) i *S. ludwigii* TUM SL 17. Brzeczke fermentacyjną przygotowano na bazie siodu pilzneńskiego (6,6 °P). W piwach fermentowanych z udziałem izolatów drożdżowych z kombuchy zawartość alkoholu nie przekraczała 0,5% obj., tj. była na poziomie porównywalnym ze szczepem kontrolnym *S. ludwigii*. Ponadto doświadczony panel sensoryczny nie był w stanie odróżnić tych piw od piwa wyprodukowanego z udziałem *S. ludwigii* TUM SL 17.

Dobrym źródłem szczepów do produkcji NABLAB okazały się również zakwaszy przygotowane na bazie mąk zbożowych: pszennej, żytniej, ze siodu żytniego, owsianej i ryżowej [6]. Wyizolowano z nich dziesięć maltozo-ujemnych szczepów drożdży z gatunków: *Cyberlindnera fabianii*, *Hanseniaspora uvarum*, *Kazachstania servazzii*, *Kluyveromyces marxianus*, *Pichia fermentans*, *Pichia kudriavzevii*, *T. delbrueckii*, które podczas fermentacji chmielonej brzeczki przygotowanej na bazie siodu pilzneńskiego (9 °P) wytwarzały mniej niż 1% obj. etanolu (skala procesu – 2 L). Szczepy te przebadano pod kątem ich potencjału bioaromatyzacyjnego (produkcja lotnych aromatów i nut fenolowych, redukcja aldehydów brzeczki), tolerancji na stres (ekstremalne temperatury, stres osmotyczny i tolerancja na etanol) oraz zdolności do flokulacji. Na podstawie tych kryteriów wybrano dwa gatunki *K. servazzii* i *P. fermentans*, które przetestowano w skali 10 L. Otrzymane wyniki wyraźnie wskazały, że *P. fermentans* jest szczególnie odpowiedni do produkcji piw pszenicznych o niskiej zawartości alkoholu ze względu na tworzenie aromatu przyprawowo-goździkowego – 4-winylgwajakolu, natomiast *K. servazzii* wykazywał potencjał do produkcji piw typu lager ze względu na swój czysty profil smakowy i tolerancję na niskie temperatury.

Rodzaj *Williopsis*, a zwłaszcza gatunek *Williopsis saturnus* to drożdże niekonwencjonalne, które wzbudzą również duże zainteresowanie badawcze ze względu na wysoką aktywność w syntezie owocowych estrów octanowych, przy jednoczesnej produkcji niewielkich ilości etanolu. Nie są zazwyczaj kojarzone z fermentacją piwa, raczej znalazły potencjalne zastosowanie w produkcji niskoalkoholowego wina i sake i te środowiska są ich źródłem. Jednak wspomniane właściwości fermentacyjne wskazują na możliwość ich wykorzystania również do produkcji piw owocowych o niskiej zawartości alkoholu, bez konieczności dodatku surowców, takich jak soki, pulpy, aromaty owocowe itp. Wyniki badań Liu i Quek [10] potwierdziły tę możliwość. Użyty przez nich szczep *W. saturnus* var. *mrakii* NCYC 500 podczas fermentacji słodkiej brzeczki produkował etanol na poziomie 1,7% obj. Jednocześnie w otrzymanym piwie odnotowano wyższe stężenia estrów octanowych, a pierwotna zawartość terpenoidów została lepiej zachowana w porównaniu z piwami produkowanymi przy użyciu tradycyjnych drożdży piwowskich *S. cerevisiae* (szczep Safale US-05).

Autorzy badań sugerują, że fermentacja z użyciem szczepu *W. saturnus* var. *mrakii* NCYC 500 może być nowatorskim biotechnologicznym sposobem na zwiększenie pożądanego owocowego i kwiatowego smaku piwa przy jednoczesnym zachowaniu charakterystycznego aromatu chmielowego brzeczki. Biorąc pod uwagę małą zdolność fermentacji cukrów, może to być sposób na warzenie piwa o obniżonej zawartości alkoholu i mocno owocowego.

Drożdże *Zygosaccharomyces rouxii* są często badanym gatunkiem pod kątem ich przydatności do produkcji NABLAB z uwagi na dużą ilość produkowanych związków lotnych. Na przykład de

Francesco i in. [5] badali możliwość produkcji piwa niskoalkoholowego o ulepszonym profilu zapachowym przy użyciu pięciu szczepów *Z. rouxii* wyizolowanych z miodów, fermentujących moszczy gronowych i powierzchni pikli oraz sześciu szczepów *S. ludwigii* wyizolowanych z tych samych środowisk. Fermentacje prowadzili z użyciem brzeczki (12,25 °B_g) ze siodu pilzneńskiego o obniżonej fermentowalności (65%). Otrzymane wyniki wskazały na lepszą zdolność fermentacyjną i większą produkcję alkoholu (0,93–3,72% obj.) w przypadku wszystkich szczepów *Z. rouxii* w porównaniu z *S. ludwigii* (0,51–1,36% obj.), co wynikało z możliwości fermentacji maltozy przez *Z. rouxii*. Ponadto wszystkie szczepy *Z. rouxii* wykazywały bardziej zróżnicowany profil lotnych substancji, a także produkowały zdecydowanie większe ilości alkoholi wyższych i estrów (odpowiednio 61,80–196,77 mg/l i 4,42–71,15 mg/l) niż *S. ludwigii* (odp. 42,99–76,62 mg/l i 1,21–14,91 mg/l).

Szczepy *Z. rouxii* produkowały również większe ilości aldehydu octowego w porównaniu z *S. ludwigii*, jednak jego stężenie nie przekraczało progów percepcji sensorycznej. Głównym problemem związanym z wykorzystaniem badanych szczepów *Z. rouxii* do produkcji NABLAB okazała się natomiast nadprodukcja diacetylu (234,00–851,40 µg/l). Dla porównania, w piwach otrzymanych z udziałem szczepów *S. ludwigii* stężenie diacetylu było istotnie niższe i mieściło się w przedziale 5,41–15,77 µg/l.

Autorzy badań uznali większość badanych szczepów *Z. rouxii* za mało przydatne do produkcji NABLAB, ze względu na ilość wytwarzanego alkoholu (max. 3,72% obj.). Wydaje się jednak, że ze względu na złożony profil i ilość tworzonych związków lotnych warto podjąć badania nad opracowaniem składu brzeczki fermentacyjnej (obniżeniem zawartości maltozy w brzeczce), który ograniczy metabolizm fermentacyjny tych drożdży i umożliwi tworzenie piw niskoalkoholowych o innowacyjnych właściwościach sensorycznych.

Środowisko browaru może być również atrakcyjnym źródłem drożdży do produkcji piw NABLAB. Wśród szczepów drożdży rutynowo wykrywanych w systemach browarniczych (powietrze, powierzchnia, surowce, zakażone produkty – piwo), są też takie, które nie stanowią poważnego zagrożenia dla jakości produktu, a ich obecność może się przyczynić do rozwoju ciekawych cech sensorycznych piwa. Należą do nich np. gatunki *Kluyveromyces* i *Hanseniaspora*, które wytwarzają kwiatowe aromaty uważane za pozytywne w piwie oraz *T. delbrueckii*, które produkują alkohol amylovowy o owocowym zapachu. Wskazują na to wyniki badań niemieckich naukowców [8], którzy spośród 56 izolatów pochodzących z różnych browarów zidentyfikowali siedem obiecujących szczepów do fermentacji piwa niskoalkoholowego (tab. 3). Wszystkie okazały się maltozo-ujemne, a także skutecznie redukowały aldehydy odpowiedzialne za brzeczkowy posmak piwa – metional i 3-metylobutanal. Jednocześnie piwa wytworzone z ich udziałem charakteryzowały się zróżnicowanym profilem związków lotnych. Dwa szczepy – *Trigonopsis cantarellii* P460 69 i *Candida sojae* T-39, o porównywalnym metabolizmie fermentacyjnym z komercyjnym szczepem referencyjnym *S. ludwigii* (tab. 3), zostały poddane dalszym badaniom. Fermentacje pilotażowe oraz dalsze analizy sensoryczne i chemiczne wskazały, że szczep *T. cantarellii* jest najlepszym kandydatem do produkcji piw niskoalkoholowych. Piwo wytworzone z jego udziałem nie zawierało diacetylu i charakteryzowało się najmniejszą zawartością siarczku dimetylu. Ponadto w piwie tym odnotowano najniższe stężenia aldehydów odpowiedzialnych za posmak brzeczkowy oraz największą ilość pożądanego alkoholu monoterpenowego – transgeraniolu. Zostało ono ocenione jako najbardziej zbliżone do

komercyjnego lagera. Autorzy badań wykazali również, że wykorzystanie *Trigonopsis cantarellii* do produkcji piw niskoalkoholowych może być łatwo kontrolowane z punktu widzenia higieny produkcji. Drożdże te okazały się wysoce wrażliwe na wszystkie typowe konserwanty żywności stosowane w innych napojach niż piwo, a także wykazały niewielki potencjał do tworzenia biofilmu.

Tab. 3. Stężenie alkoholu i pH w piwach wytworzonych z udziałem drożdży nie-*Saccharomyces* wyizolowanych z systemów browarniczych [8]

Szczep	Alkohol (% obj.)	pH
<i>Wickerhamomyces anomalus</i> P-2.4	2.13 (± 0.03)	4.57 (± 0.08)
<i>Pichia manshurica</i> P-5.2	0.04 (± 0.01)	4.61 (± 0.03)
<i>Trigonopsis variabilis</i> P-5.8	0.02 (± 0.01)	4.78 (± 0.01)
<i>Trigonopsis cantarellii</i> P-69	0.58 (± 0.04)	4.40 (± 0.03)
<i>Kregervanrija delftensis</i> R-7	0.10 (± 0.01)	4.36 (± 0.01)
<i>Meyerozyma caribbica</i> T-31	0.61 (± 0.01)	4.52 (± 0.04)
<i>Candida sojae</i> T-39	0.50 (± 0.00)	4.66 (± 0.01)
<i>Saccharomycodes ludwigii</i> C181010	0.70 (± 0.00)	5.09 (± 0.02)

Ciekawym pomysłem jest również wykorzystanie szczepów psychrofilnych do produkcji NABLAB. Uważa się, że fermentacja w niskiej temperaturze stwarza nowe możliwości w kreowaniu nowych walorów sensorycznych piwa. Sugeruje się, że podobnie jak w przypadku produkcji wina, zachowanie aromatów pierwotnych i wtórnych może być większe w niskich temperaturach, tj. 10–15°C niż w 25°C, ponieważ zimno może zapobiegać utracie aromatów pierwotnych (odmianowych) poprzez odparowanie i może poprawić metabolizm wtórny, związany głównie z produkcją estrów etylowych i octanowych [4].

Psychrofilny gatunek *Mrakia gelida* z grupy podstawczaków (pierwotnie wyizolowany na Antarktydzie) został dobrze przebadany w zakresie przydatności do produkcji NABLAB. Jest on zdolny do wykorzystania glukozy, fruktozy i sacharozy jako źródła węgla i charakteryzuje się niską zdolnością metabolizowania maltozy. Zawartość alkoholu w piwach wytworzonych z jego udziałem nie przekracza 2% obj. Sugeruje się jednak, że wynika to z wysokiej wrażliwości tych drożdży na etanol [12]. Ponadto piwa wytworzone z udziałem *M. gelida* charakteryzowały się niskim poziomem diacetylu (5,04 $\mu\text{g/l}$) i lepszymi właściwościami sensorycznymi w porównaniu do piw niskoalkoholowych fermentowanych z udziałem komercyjnych starterów *S. ludwigii*. Badania Francesco i in. [4] wykazały, że piwo fermentowane szczepem *M. gelida* DBVPG 5952 miało większą pełnię smaku oraz bardziej owocowy aromat: moreli, winogrona, liczi, podczas gdy w piwie fermentowanym z udziałem *S. ludwigii* WSL17 wyzuwalny był tylko aromat moreli.

Badania nad poszukiwaniem przydatnych kandydatów do produkcji NABLAB dotyczą również drożdży *Candida shehatae*, zdolnych do konwersji ksylozy do etanolu, stąd gatunek ten jest zwykle kojarzony z branżą biopaliw i wykorzystaniem biomasy lignocelulozowej (OZE) do produkcji bioetanolu II generacji. Jednak opatentowana technologia opracowana przez chińskich naukowców wskazuje na możliwość wykorzystania drożdży *C. shehatae* (szczep CICC 1766) do produkcji piw o zawartości etanolu <0,5% obj., niskim poziomie diacetylu (<0,05 mg) i o wysokiej zawartości estrów bez typowych dla piw bezalkoholowych posmaków [10].

Konkluzja

Wyniki powyższych badań wskazują, że zastosowanie drożdży nie-*Saccharomyces* w produkcji NABLAB umożliwia opracowywanie nowych, innowacyjnych stylów piwnych, które łączą niski poziom alkoholu z atrakcyjnym smakiem i aromatem. Jednocześnie takie

postępowanie stanowi odpowiedź na wyzwania technologiczne i sensoryczne związane z utrzymaniem jakości piwa przy minimalnym udziale etanolu. W kontekście dalszego rozwoju rynku NABLAB niekonwencjonalne drożdże stanowią obiecującą alternatywę biotechnologiczną, zasługującą na intensywnych badaniach i wdrożeniach przemysłowych.

Literatura

- [1] Bellut K., Michel M., Zarnkow M., Hutzler M., Jacob F., Atzler J.J., Hoehnel A., Lynch K.M., Arendt E.K. 2019. "Screening and application of *Cyberlindnera* yeasts to produce a fruity, non-alcoholic beer". *Fermentation*, 5, 103, <https://doi.org/10.3390/fermentation5040103>.
- [2] Bellut K., Michel M., Zarnkow M., Hutzler M., Jacob F., De Schutter D.P., Daenen L., Lynch K.M., Zannini E., Arendt E.K. 2018. "Application of non-*Saccharomyces* yeasts isolated from kombucha in the production of alcohol-free beer". *Fermentation*, 4(3), 66, <https://doi.org/10.3390/fermentation4030066>.
- [3] Bourdicho F., Laulund S., Tenning P. 2019. "Inventory of microbial species with a rationale: a comparison of the IDF/EFFCA inventory of microbial food cultures with the EFSA Biohazard Panel Qualified Presumption of Safety". *FEMS Microbiology Letters*, 366, fnz048, <https://doi.org/10.1093/femsle/fnz048>.
- [4] De Francesco G., Sannino C., Sileonia V., Marconia O., Filippucci S., Tassellib G., Turchetti B. 2018. "*Mrakia gelida* in brewing process: An innovative production of low alcohol beer using a psychrophilic yeast strain". *Food Microbiology*, 76, 354-362, <https://doi.org/10.1016/j.fm.2018.06.018>.
- [5] De Francesco G., Turchetti B., Sileoni V., Marconi O., Perretti G. 2015. "Screening of new strains of *Saccharomycodes ludwigii* and *Zygosaccharomyces rouxii* to produce low-alcohol beer". *Journal of the Institute of Brewing*, 121, 113-121, <https://doi.org/10.1002/jib.185>.
- [6] Johansson L., Nikulin J., Juvonen R., Krogerus K., Magalhães F., Mikkelsen A., Nupponen-Puutti M., Sohlberg E., Giovanni de Francesco, Perretti G., Gibson B. 2021. "Sourdough cultures as reservoirs of maltose-negative yeasts for low-alcohol beer brewing". *Food Microbiology*, 94, 103629, <https://doi.org/10.1016/j.fm.2020.103629>.
- [7] Kozłowski R., Dziedziński M., Stachowiak B., Kobus-Cisowska J. 2021. "Non- and low-alcoholic beer – popularity and manufacturing techniques". *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, 20(3), 347-357, <https://doi.org/10.17306/J.AFS.2021.0961>.
- [8] Krogerus K., Eerikainen R., Aisala H., Gibson B. 2021. "Repurposing brewery contaminant yeast as production strains for low-alcohol beer fermentation". *Yeast*, 39, 156-169, <https://doi.org/10.1002/yea.3674>.
- [9] Li H., Liu Y., Zhang W. 2011. "Method for manufacturing alcohol-free beer through *Candida shehatae*", Patent chiński 102220198 B, 6 maja 2011, <https://patents.google.com/patent/CN102220198B/en>.
- [10] Liu S.Q., Quek A.Y. 2016. "Evaluation of beer fermentation with a novel yeast *Williopsis Saturnus*". *Food Technology and Biotechnology*, 54(4):403-412, <https://doi.org/10.17113/ftb.54.04.16.4440>.
- [11] Michel M., Meier-Dörnberg T., Jacob F., Methner F.J., Wagner R.S., Hutzler M. 2016. "Review: pure non-*Saccharomyces* starter cultures for beer fermentation with a focus on secondary metabolites and practical applications". *Journal of the Institute of Brewing*, 122, 569-587, <https://doi.org/10.1002/jib.381>.
- [12] Thomas-Hall S.R., Turchetti B., Buzzini P., Branda E., Boekhout T., Theelen B., Watson K. 2010. "Cold-adapted yeasts from Antarctica and the Italian Alps—description of three novel species: *Mrakia robertii* sp. nov., *Mrakia blollopis* sp. nov. and *Mrakia niccombsii* sp. nov.". *Extremophiles*, 14, 47-59, <https://doi.org/10.1007/s00792-009-0286-7>.
- [13] Vicente J., Calderón F., Santos A., Marquina D., & Benito S. 2021. "High potential of *Pichia kluyveri* and other *Pichia* species in wine technology". *International Journal of Molecular Sciences*, 22(3), 1196, <https://doi.org/10.3390/ijms22031196>.