



Matjaž DEŽELAK^{1,2}, Iztok Jože KOŠIR², Peter RASPOR³

¹ Medicinska fakulteta, Univerza v Mariboru; Maribor, Slovenija

² Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije; Žalec, Slovenija

³ Fakulteta za vede o zdravju, Univerza na Primorskem; Izola, Slovenija

NEKONVENCIONALNA ŽITA V PIVOVARSTVU: PRIMER AJDE

*Hrana in prehrana za zdravje:
Ajda med tradicijo in inovacijo*

Maribor, 04. Junij, 2015

OSNOVNI KAZALNIKI PROJEKTA

Idejna zasnova in izvedba projekta

**Doktorski projekt študija Bioznanosti, znanstveno področje Biotehnologija
(Biotehniška fakulteta, Univerza v Ljubljani)**

→ mentor: doc. dr. Iztok Jože Košir

→ somentor: prof. dr. Peter Raspor

Osrednje raziskovalno delo in kemijska analitika

→ Oddelek za agrokemijo in pivovarstvo IHPS; Žalec, Slovenija

Sodelovanje s partnersko institucijo z ustrežno infrastrukturo in potrebnim znanjem

→ Lehrstuhl für Brau- und Getränketechnologie (TUM); Freising, Nemčija

Sodelovanje s partnersko institucijo pri biokemijski analizi kvasovke

→ Oddelek za živilstvo, Biotehniška fakulteta (UL); Ljubljana, Slovenija

Trafoon Workshop: „Ajda med tradicijo in inovacijo / Buckwheat between tradition and innovation“

3. – 4. June, 2015

Maribor, Slovenia

Not for free distribution

ZNANSTVENA DISEMINACIJA REZULTATOV

Doktorska disertacija:

→ DEŽELAK M. (2014). Beer-like gluten-free beverages fermented from buckwheat and quinoa = Brezglutenske pivo podobne pijače fermentirane iz ajde in kvinoje. *Biotehniška fakulteta, UL*.

Izvirni znanstveni članek:

→ DEŽELAK M., ZARNKOW M., BECKER T., KOŠIR I. J. (2014). Processing of bottom-fermented gluten-free beer-like beverages based on buckwheat and quinoa malt with chemical and sensory characterization. *Journal of the Institute of Brewing*.

→ DEŽELAK M., GEBREMARIAM M. M., ČADEŽ N., ZUPAN J., RASPOR P., ZARNKOW M., BECKER T., KOŠIR I. J. (2014). The influence of serial repitching of *Saccharomyces pastorianus* on its karyotype and protein profile during the fermentation of gluten-free buckwheat and quinoa wort. *International Journal of Food Microbiology*.

→ DEŽELAK M., GEBREMARIAM M. M., ZARNKOW M., BECKER T., KOŠIR I. J. (2015). PART I: The Influence of Serial Repitching of *Saccharomyces pastorianus* on the Uptake Dynamics of Metals and Fermentable Carbohydrates during the Fermentation of Gluten-free Buckwheat and Quinoa Wort. *Journal of the Institute of Brewing*.

→ DEŽELAK M., GEBREMARIAM M. M., ZARNKOW M., BECKER T., KOŠIR I. J. (2015). PART II: The Influence of the Serial Repitching of *Saccharomyces pastorianus* on the Uptake Dynamics of Amino Acids during the Fermentation of Gluten-free Buckwheat and Quinoa Wort. *Journal of the Institute of Brewing*.

→ DEŽELAK M., GEBREMARIAM M. M., ZARNKOW M., BECKER T., KOŠIR I. J. (2015). PART III: The Influence of Serial Repitching of *Saccharomyces pastorianus* on the Production Dynamics of Important Aroma Compounds during the Fermentation of Gluten-free Buckwheat and Quinoa Wort. *Journal of the Institute of Brewing*.

Kratko predavanje:

- Slovenian Chemical Days 2012; Portorož, Slovenia
- Vera Johanides 2 – Biotechnology in Croatia by 2020; Zagreb, Croatia
- Young Investigators' Seminar on Analytical Chemistry 2013; Maribor, Slovenia
- 12. International Symposium on Buckwheat; Laško, Slovenia
- Slovenian Chemical Days 2013; Maribor, Slovenia

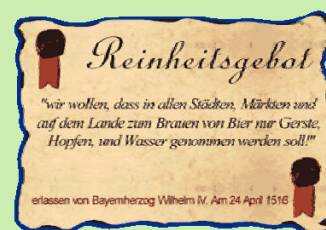
UVOD

„Beer is one of the most fascinating products of mankind.

It is produced and consumed all over the world with a passion.“

Tradicionalna pijača – vse od antičnih urbanih civilizacij Mezopotamije

**PIVO =
= voda + ječmen + hmelj + pivska kvasovka
(nem. „Reinheitsgebot“, 1516)**



- potrebno živilo za bolnike s celiakijo
- razširitev ponudbe inovativnih živil na trgu
- preprečevanje/zdravljenje drugih bolezni
 - revmatoidni artritis
 - sladkorna bolezen tipa 1
 - debelost
 - inzulinska rezistenca

Trafoon Workshop: „Ajda med tradicijo in inovacijo / Buckwheat between tradition and innovation“

3. – 4. June, 2015

Maribor, Slovenia

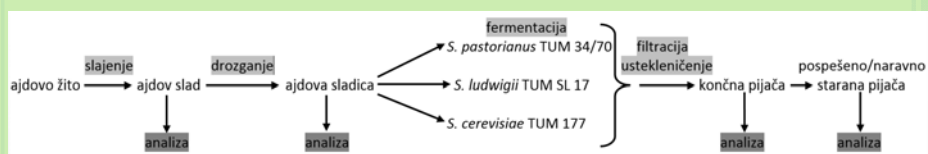
Not for free distribution

RAZISKOVALNE IDEJE IN CILJI PROJEKTA

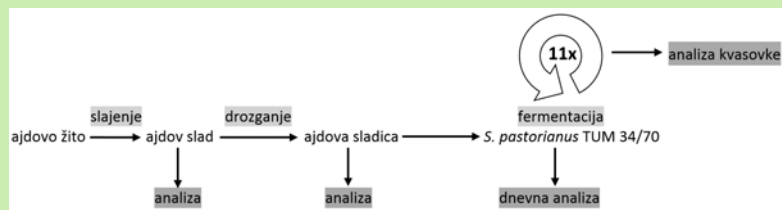
- **IDEJA št. 1:** Priprava pivu podobnih pijač iz slajene ajde, fermentiranih s tremi različnimi kvasovkami, s sledečo fizikalno, kemijsko in senzorično analizo
→ neposredna primerjava z ječmenom
- **IDEJA št. 2:** Proučiti primernost ajde kot pivovarskega substrata za zaporedno fermentacijo z običajno kvasovko spodnjega vrenja, preko analize proteinskega profila in kariotipa kvasovke ter preko analize kemijskih sestavin fermentacijskega medija
→ neposredna primerjava z ječmenom
- **CILJ PROJEKTA:** ovrednotiti komercialni potencial ajde kot pivovarske surovine
 - → ali je smiselno pripraviti za potrošnika zanimive brezglutenske pivu podobne pijače?
 - → ali bi te brezglutenske pivu podobne pijače lahko predstavljale nadomestek običajnega ječmenovega piva?

ZASNOVA RAZISKAVE

1. DEL Priprava ustekleničenih pijač, fermentiranih z različnimi kvasovkami



2. DEL Zaporedna fermentacija s kvasovko *S. pastorianus* TUM 34/70



REZULTATI (PIJAČE)

1. DEL

➤ Pivovarski atributi slada, pивine in pijač

- ↓ ekstrakt v sladu TUM SL17: nizkoalkoholna pijača le pri ječmenu
- ↑ viskoznost
- ↑ čas saharifikacije, ↑ jodna vrednost TUM 34/70 in 177: primerljive lastnosti
- ↓ pH
- ↑ vsebnost proteinov oz. dušika

pivovarski atribut	ječmen		ajda		pivovarski atribut	ječmen			ajda		
	slad	pivina	slad	pivina		TUM 34/70	TUM 177	TUM SL17	TUM 34/70	TUM 177	TUM SL17
vлага [%ww]	4.25	n.d.	4.5	n.d.							
pravi ekstrakt	80.90% (dw)	10.04% (w/w)	62.80% (dw)	10.36% (w/w)							
viskoznost [mPa×s]	1.56	1.13	3.01	2.07	pravi ekstrakt [% (w/w)]	3.59	3.39	8.75	3.42	3.25	3.36
saharifikacija	normal	n.d.	> 20 min	n.d.	etanol [% (v/v)]	4.30	4.26	0.29	3.79	3.67	3.19
pH	5.65	5.92	4.57	5.77	prava fermentabilnost [%]	64.20	65.72	17.99	63.12	63.59	59.77
skupni proteini (TP) [%dw]	10.8	n.d.	13.0	n.d.	pH	4.72	4.44	5.12	4.81	4.62	4.80
topni proteini [%TP]	4.4	n.d.	4.2	n.d.	TSN [mg/L]	128.1	128.7	168.2	97.0	91.2	84.4
FAN	0.104% (dw)	133 mg/L	0.096% (dw)	152 mg/L	FAN [mg/L]	21.6	18.8	49.9	30.2	25.7	29.3
Kolbachov indeks [%]	40.7	n.d.	32.3	n.d.	barva[EBC]	10.3	9.6	12.2	16.7	12.0	5.6
jodna vrednost	n.d.	0.39	n.d.	0.67							

REZULTATI (PIJAČE)

1. DEL

➤ Vsebnost kovinskih kationov v pivini in pijačah

- ↑ ↑ vseh štirih kovinskih kationov
- ! toksične koncentracije cinka v ajdovi pivini → inhibicija ADHI?
- ↳ manjši donos etanola na enoto porabljenega ekstrakta (0,55%) kot pri ječmenu (0,67%) ??

kovinski kation	pivina	TUM 34/70	TUM 34/70	TUM 177	TUM 177	TUM SL17	TUM SL17
		sveže	pospešeno starane	sveže	pospešeno starane	sveže	pospešeno starane
ječmen [mg/L]							
železo	< LLQ	< LLQ	< LLQ	< LLQ	< LLQ	< LLQ	< LLQ
baker	0.094	< LLQ	< LLQ	< LLQ	< LLQ	0.045	0.046
cink	0.354	< LLQ	< LLQ	< LLQ	< LLQ	< LLQ	< LLQ
mangan	0.128	0.070	0.076	0.095	0.105	0.127	0.125
ajda [mg/L]							
železo	0.043	< LLQ	< LLQ	< LLQ	< LLQ	< LLQ	< LLQ
baker	0.267	0.171	0.179	0.137	0.152	0.106	0.088
cink	1.248	0.041	0.059	< LLQ	< LLQ	0.057	0.063
mangan	0.215	0.160	0.166	0.176	0.213	0.188	0.187

REZULTATI (PIJAČE)

1. DEL

Vsebnost fermentabilnih ogljikovih hidratov v pivini in pijačah

pivina: ↓ disaharidi, ↑↑ glukoza

pijače: ↑ di- in trisaharidi

fermentable carbohydrate	wort	ječmen [mg/L]					
		TUM 34/70 fresh	TUM 34/70 force-aged	TUM 177 fresh	TUM 177 force-aged	TUM SL17 fresh	TUM SL17 force-aged
trisaharidi	0.92	0.19	0.21	0.14	0.18	0.97	1.11
disaharidi	5.13	0.11	0.11	0.09	0.11	5.21	5.37
glukoza	0.71	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD

	wort	ajda [mg/L]					
		TUM 34/70 fresh	TUM 34/70 force-aged	TUM 177 fresh	TUM 177 force-aged	TUM SL17 fresh	TUM SL17 force-aged
trisaharidi	0.75	0.44	0.42	0.41	0.39	0.46	0.50
disaharid	2.24	0.79	0.76	0.77	0.70	0.93	0.96
glukoza	4.29	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD

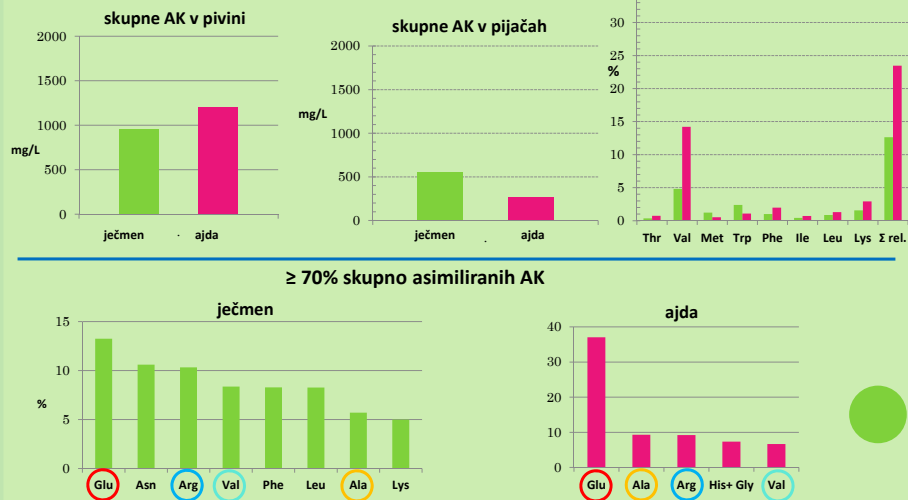
REZULTATI (PIJAČE)

1. DEL

Vsebnost aminokislin v pivini in pijačah

Večja asimilacija AK pri ajdi

↳ manjši donos etanola na enoto porabljenega ekstrakta



REZULTATI (PIJAČE)

1. DEL

➤ Vsebnost hlapnih aromatičnih spojin v pivini in pijačah

↑↑ metanol

= ostale hlapne aromatične spojine

fermentabilni ogljikovi hidrati	pivina	TUM 34/70 sveže	TUM 34/70 pospešeno starane	TUM 177 svežeh	TUM 177 pospešeno starane	TUM SL17 sveže	TUM SL17 pospešeno starane
acetaldehid	0.00	21.98	24.54	24.32	24.55	19.84	14.82
etil acetat	0.00	23.10	26.38	16.24	16.22	0.61	0.74
metanol	1.21	1.12	1.21	1.37	1.21	1.24	1.35
izoamil acetat	0.00	1.39	1.66	1.05	1.01	0.00	0.00
ajda [mg/L]							
acetaldehid	0.00	23.80	23.85	28.56	25.75	21.78	21.86
etil acetat	0.00	20.14	21.36	18.99	19.51	12.93	13.27
metanol	8.14	11.66	10.98	18.36	16.64	15.14	14.81
izoamil acetat	0.00	1.38	1.60	1.22	1.39	0.50	0.53

REZULTATI (PIJAČE)

1. DEL

➤ Vsebnost maščobnih kislin v pivini in pijačah

pivina: = ni razlik

pijače: (34/70) ↑ nasičene, ↓ nenasičene; (177, SL17) ↓ nasičene, ↓ nenasičene

pospešeno starane pijače: = nasičene, ↓ nenasičene

maščobne kisline	pivina	TUM 34/70 sveže	TUM 34/70 pospešeno starane	TUM 177 sveže	TUM 177 pospešeno starane	TUM SL17 sveže	TUM SL17 sveže starane
vsota nasič.	2450.26	2429.46	2072.64	1093.85	1157.63	1781.38	1642.44
vsota nenasič.	550.88	215.02	256.09	451.44	353.8	309.05	128.11
vsota	3001.14	2644.48	2328.73	1545.29	1490.78	2090.43	1770.55
ajda [mg/L]							
vsota nasič.	2288.14	2498.87	2414.22	1308.59	1378.04	1114.08	1205.15
vsota nenasič.	649.01	298.37	241.84	481.62	403.81	553.85	548.89
vsota	2937.15	2797.24	2656.06	1790.21	1781.85	1667.93	1754.04

REZULTATI (PIJAČE)

1. DEL

Vsebnost aldehydov in ketonov v pivini in pijačah

aldehidi

ketoni

ječmen: ↑ pospešeno starano, ↑↑ naravno starano
ajda: = pospešeno starano, = naravno starano

ječmen: ↓ pospešeno starano, ↓ naravno starano
ajda: ↑ pospešeno starano, ↑ naravno starano

aldehidi in ketoni	TUM 34/70	TUM 34/70	TUM 34/70	TUM 177	TUM 177	TUM 177	TUM SL17	TUM SL17	TUM SL17
	34/70	pospešeno starano	naravno starano	177	pospešeno starano	naravno starano	SL17	pospešeno starano	naravno starano
ječmen [mg/L]									
vsota aldehydov	4252.55	8929.28	12218.16	4176.54	4711.97	8670.66	6697.1	11173.53	13943.28
vsota ketonov	303.63	143.88	139.14	237.11	219.57	150.67	266.85	103.09	56.61
ajda [mg/L]									
vsota aldehydov	4009.77	5168.11	4886.2	4223.47	4218.2	4125.15	7583.65	3912.93	7817.34
vsota ketonov	173.49	238.85	324.13	155.08	223.92	289.74	120.6	232.5	270.9

REZULTATI (PIJAČE)

1. DEL

Senzorična analiza

ne glede na kvasovko, enaka ocena za: za vonj in penjenje

TUM 34/70

skupna ocena: 3,83

TUM 177

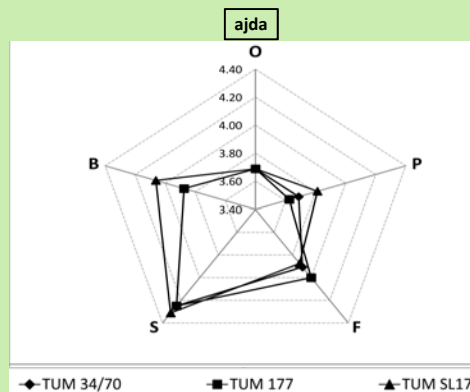
skupna ocena: 3,82

TUM SL17

skupna ocena: 3,89

↑ kvaliteta grenčice, čistost okusa

- O – vonj
- P – čistost okusa
- F – polnost okusa
- S – penjenje
- B – kvaliteta grenčice



REZULTATI (KVASOVKA)

2. DEL

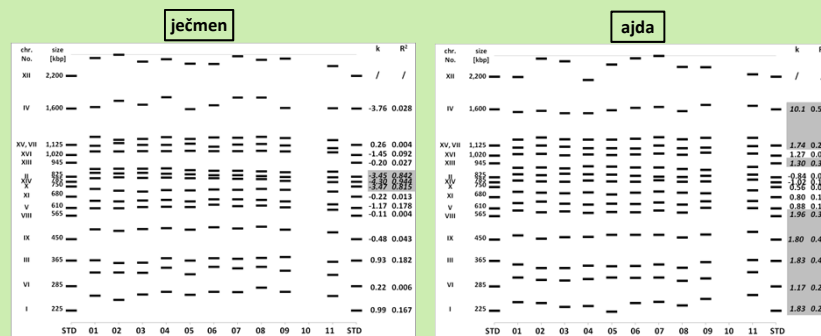
Polimorfizmi dolžine kromosomov

ječmen: ↓ srednjemolekularni kromosomi

ajda: ↑ nizko- in visokomolekularni kromosomi

postopno zmanjšanje/povečanje velikosti kromosomov: telomerna hipoteza

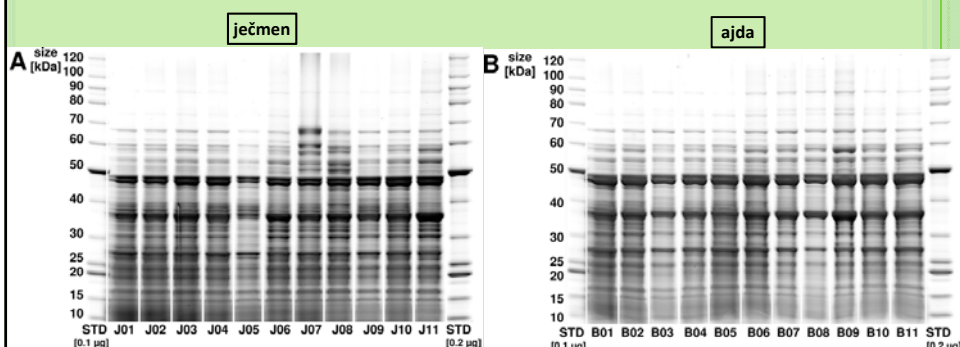
subtelomerni geni: fermentacija maltoze, lektinu podobni proteini udeleženi pri flokulaciji, sintezna pot tvorbe sulfita, polimerna melibiaza, idr.



REZULTATI (KVASOVKA)

2. DEL

Profil celokupnih proteinov (1/2)



REZULTATI (KVASOVKA)

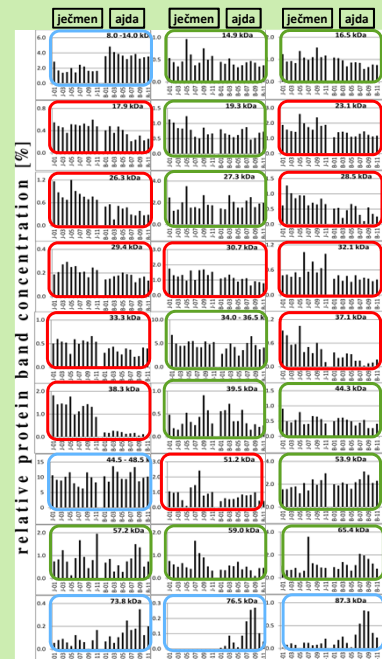
2. DEL

➤ Profil celokupnih proteinov (1/2)

- kandidadni proteini
"Saccharomyces Genome Database"

učinkovitost fermentacije
odziv kvasovke na stres
viabilnost kvasovke
stabilnost genoma

velikost proteinske lise [kDa]	kandidatni proteini
14.9	Mtc3p
16.5	Mtc7p
17.9	Rtt102p
26.3	Nrg1p
28.5	Iml3p
30.7	Met16p, Thp2p, Cin2p, Oxr1p
37.1	Adh1p, Adh2p, Uth1p, Cdc10p
38.3	Gre2p, Arv1p, Spt2p, Spt3p, Reg2p
51.2	Pub1p, Bna1p, Gcn5p
73.8	Mal11p, Kar9pCdc45p
76.5	Pso2p, Ufo1p, Bdf1
87.3	Gef1p



REZULTATI (FERMENTACIJSKI MEDIJ)

2. DEL

➤ Učinkovitost fermentacije

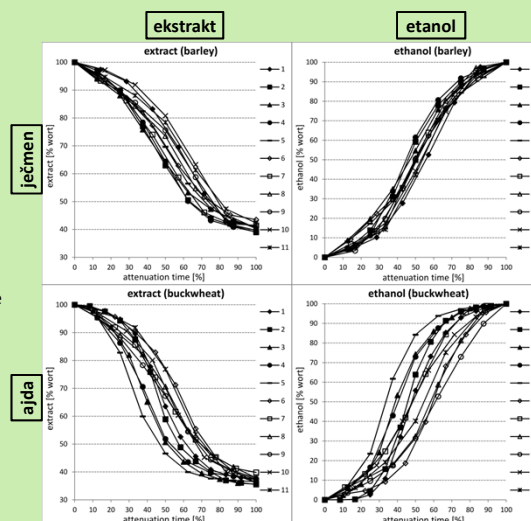
profil fermentacije:

različen med posameznimi fermentacijami
↓ pri ječmenu, ↑ pri ajdi

ajda

v primerjavi z zgodnejšimi fermentacijami se poznejše pričnejo bolj intenzivno – krivulja porabe ekstrakta in nastanka etanola je bližje ravni črti

↳ adaptacija na novo okolje,
še posebej na visok delež glukoze ??



REZULTATI (FERMENTACIJSKI MEDIJ)

2. DEL

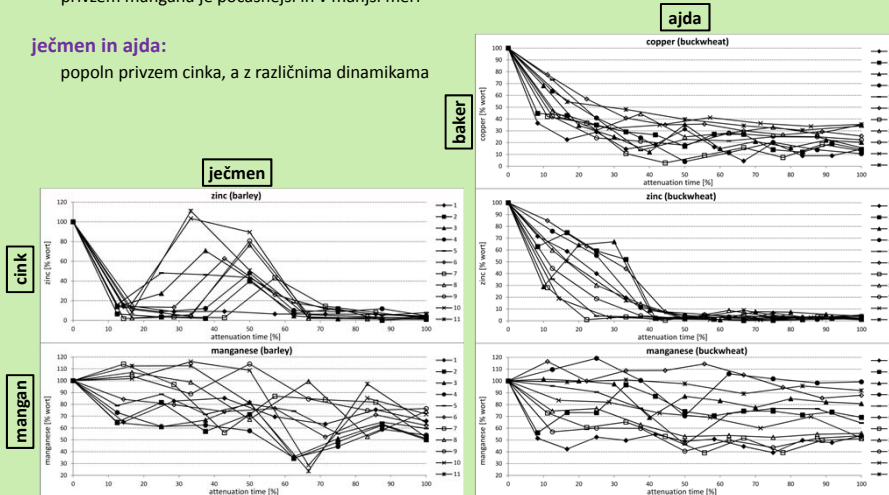
➤Dinamika privzema kovinskih kationov

skupne značilnosti:

izrazit privzem železa, bakra in cinka prvih 24 ur
privzem mangana je počasnejši in v manjši meri

ječmen in ajda:

popoln privzem cinka, a z različnima dinamikama



REZULTATI (FERMENTACIJSKI MEDIJ)

2. DEL

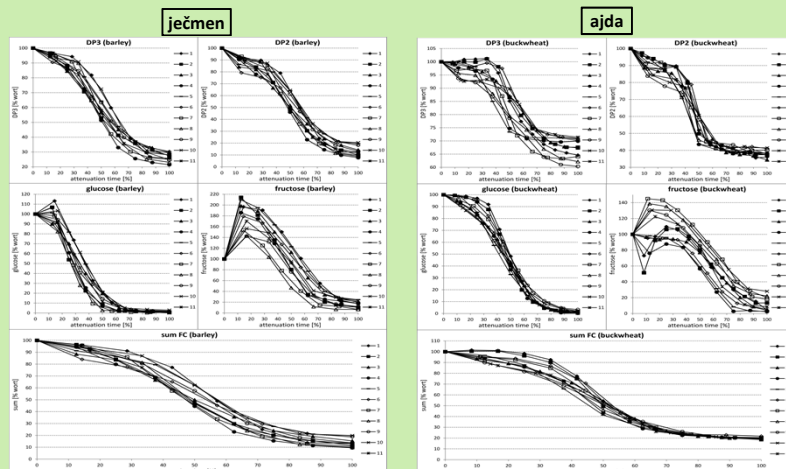
➤Dinamika privzema fermentabilnih ogljikovih hidratov

skupne značilnosti:

po šesti zaporedni fermentaciji: ↑ relativen privzem glukoze, ↓ relativen privzem disaharidov

tri- in disaharidi: nekonsistenten privzem pri ajdi

vsota vseh: izjemno konsistenten privzem v drugi polovici fermentacij



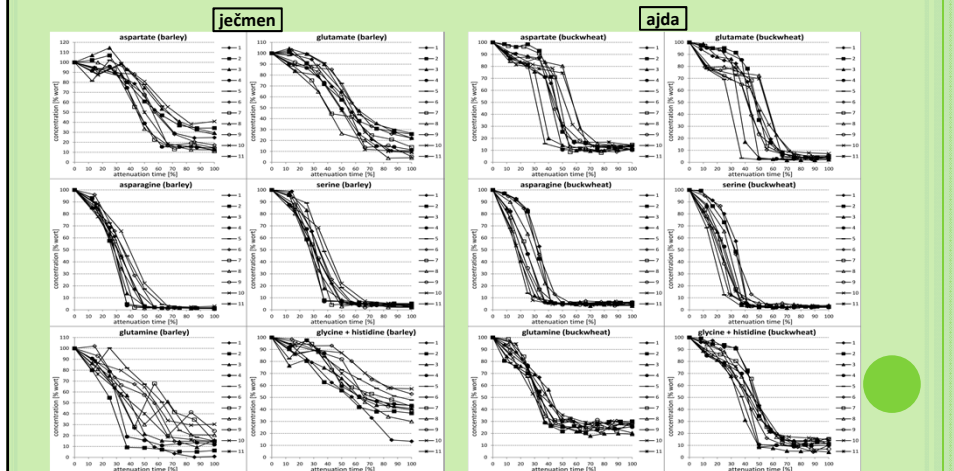
REZULTATI (FERMENTACIJSKI MEDIJ)

2. DEL

Dinamika privzema aminokislin (Asp, Glu, Asn, Ser, Gln, Gly+His)

ječmen: nekonsistenten privzem glutamina in glicina+histidina

ajda: konsistenten privzem vseh aminokislin



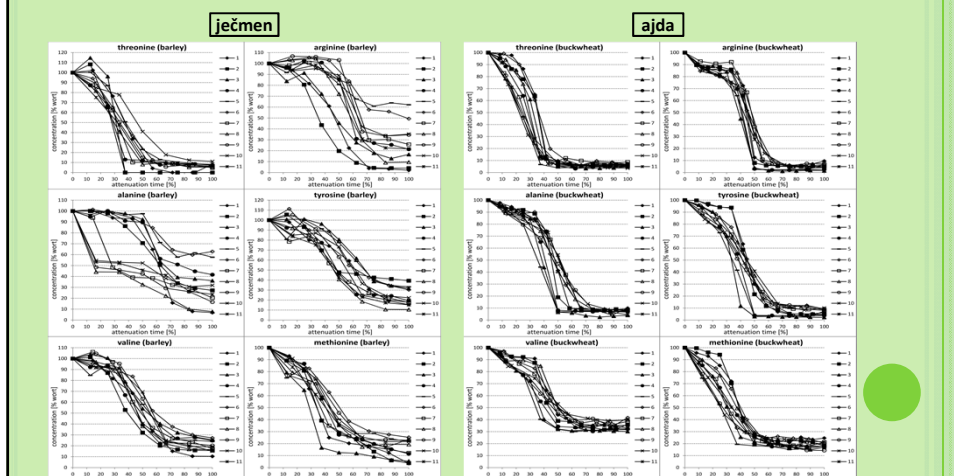
REZULTATI (FERMENTACIJSKI MEDIJ)

2. DEL

Dinamika privzema aminokislin (Thr, Arg, Ala, Tyr, Val, Met)

ječmen: nekonsistenten privzem arginina in alanina

ajda: konsistenten privzem vseh aminokislin



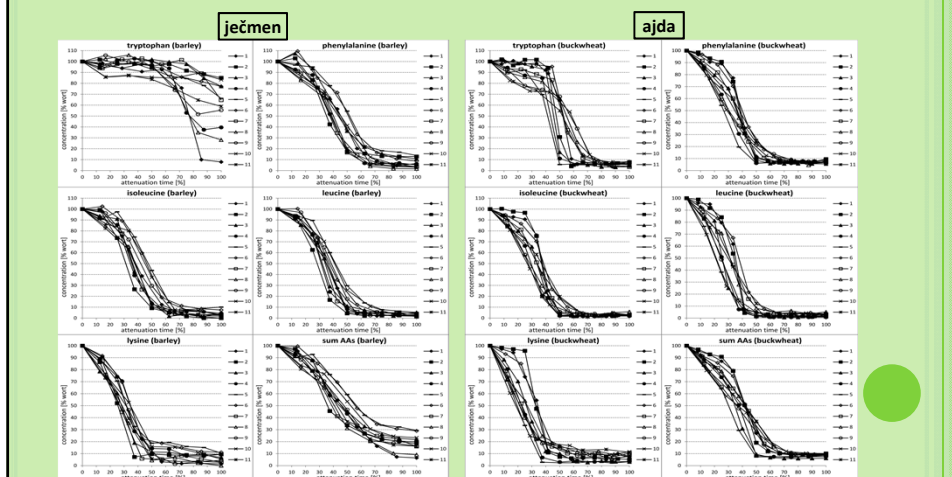
REZULTATI (FERMENTACIJSKI MEDIJ)

2. DEL

Dinamika privzema aminokislin (Trp, Phe, Ile, Leu, Lys, vsota)

ječmen: nekonsistenten privzem triptofana

ajda: konsistenten privzem vseh aminokislin / konsistenten in učinkovit skupni privzem aminokislin



REZULTATI (FERMENTACIJSKI MEDIJ)

2. DEL

Dinamika nastanka hlapnih aromatičnih spojin (vsota, acetaldehid, metanol)

ajda: podoben profil in končne absolutne koncentracije vseh hlapnih aromatičnih spojin

acetaldehid:

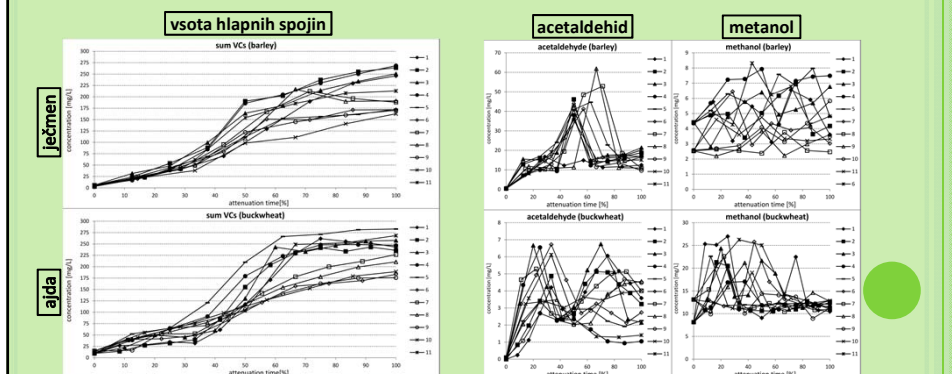
metanol:

ječmen: konsistentni profili in končne koncentracije

ječmen: ne-konsistentni profili in končne koncentracije

ajda: konsistentni profili, ne-konsistentne končne koncentracije

ajda: ne-konsistentni profili, konsistentne končne koncentracije



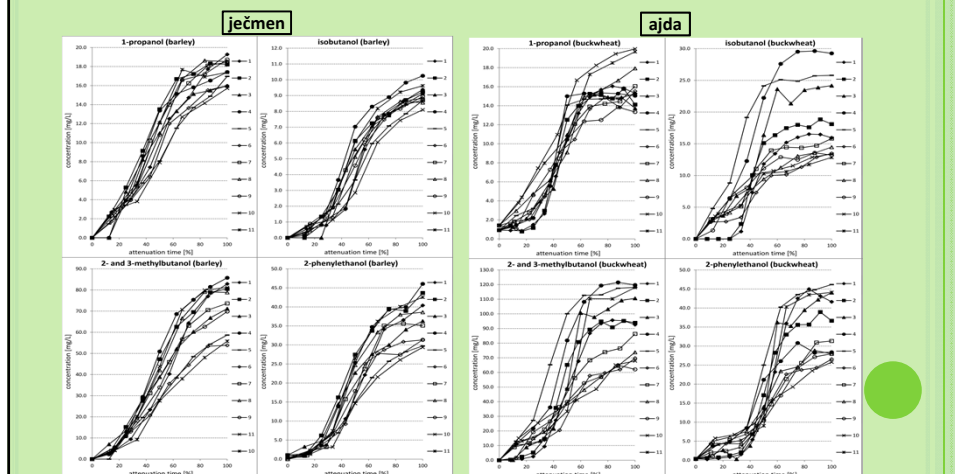
REZULTATI (FERMENTACIJSKI MEDIJ)

2. DEL

➤ Dinamika nastanka hlapnih aromatičnih spojin (višji alkoholi)

ječmen: konsistentni profili, precej ne-konsistentne končne koncentracije

ajda: ne-konsistentni profili, zelo ne-konsistentne končne koncentracije



ZAKLJUČKI (VKLJUČITEV V PRAKSO)

- **Odsotnost glutena a priori**
 - ☞ komercialni interes ni vprašljiv
- **Dobra organoleptična ocena ajdovih pijač** → še posebej tistih, fermentiranih s *Sacharomyces ludwigii* TUM SL17
 - ☞ interes potrošnikov ni vprašljiv
- **Znatne koncentracije kovinskih kationov**
 - ☞ vpliv na rok trajanja → kontrola verige med proizvodnjo in potrošnikom
- **Visoka vsebnost glukoze v pivni**
 - ☞ kontrola preko doziranja eksternih encimov tekom drozganja
- **Uporaba neoluščenih zrn in grobo mletje**
 - ☞ ni potrebe po uporabi filtrov in zunanjega tlaka pri precejanju sladice
- **Uporaba ene starter kulture vsaj enajstkrat**
 - ☞ zmanjšanje stroškov

Trafoon Workshop: „Ajda med tradicijo in inovacijo / Buckwheat between tradition and innovation“

3. – 4. June, 2015

Maribor, Slovenia

Not for free distribution

ZAKLJUČKI (IZZIVI ZA PRIHODNOST)

➤ Komercialna dostopnost slada !

↻ že obstoječi sladjarji oz. nova mala podjetja

➤ Znižati ceno zrnja

↻ modernimi tehnologijami, neposredna povezava proizvajalec – pivovar

➤ Vzgoja za pivovarstvo primernejših sort

↻ več škroba, večja encimska aktivnost, manj proteinov in maščob, manj cinka in bakra

➤ Promocija ajde !!!

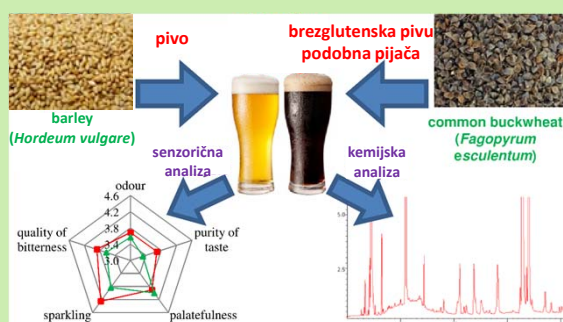
↻ povečan interes potrošnikov za vse živilske izdelke, med drugim tudi za

BREZGLUTENSKO PIVU PODOBNE PIJAČE IZ AJDE



trafoon

Traditional Food Network to improve the transfer of knowledge for innovation



Hvala za pozornost!

Maribor, 04. junij, 2015

Trafoon Workshop: „Ajda med tradicijo in inovacijo / Buckwheat between tradition and innovation“

3. – 4. June, 2015

Maribor, Slovenia

Not for free distribution