

Факторы, влияющие на поверхностный электрический заряд дрожжевых клеток *Saccharomyces cerevisiae*

Меледина Татьяна Викторовна

ФГАОУ ВО «НИУ ИТМО»

Адрес: 191002, г. Санкт-Петербург, ул. Ломоносова, д. 9

E-mail: tatiana.meledina@yandex.ru

Маньшин Дмитрий Викторович

ФГАОУ ВО «НИУ ИТМО»

Адрес: 191002, г. Санкт-Петербург, ул. Ломоносова, д. 9

E-mail: dmanshin1@gmail.com

Головинская Оксана Владимировна

ФГАОУ ВО «НИУ ИТМО»

Адрес: 191002, г. Санкт-Петербург, ул. Ломоносова, д. 9

E-mail: oksana2187@mail.ru

Харба Разан Абедалкарим

ФГАОУ ВО «НИУ ИТМО»

Адрес: 191002, г. Санкт-Петербург, ул. Ломоносова, д. 9

E-mail: razan.harbah@mail.ru

Иванова Вера Анатольевна

ФГАОУ ВО «НИУ ИТМО»

Адрес: 191002, г. Санкт-Петербург, ул. Ломоносова, д. 9

E-mail: vera_ershova@mail.ru

Морозов Артем Александрович

ФГАОУ ВО «НИУ ИТМО»

Адрес: 191002, г. Санкт-Петербург, ул. Ломоносова, д. 9

E-mail: artemamor@mail.ru

Проблема низкой коллоидной стойкости пива отчасти может быть решена за счет адсорбционной способности дрожжевых клеток. Предполагается, что увеличение количества извлекаемых в результате сорбции на клеточной поверхности дрожжей мутеобразующих коллоидов может быть достигнуто путем увеличения отрицательного заряда клеточной поверхности. Электрический заряд клеточной поверхности дрожжей обусловлен молекулярным составом клеточной стенки, в основном функциональными группами внешнего слоя маннопротеинов – фосфатными, карбоксильными и аминогруппами. В рассматриваемых работах с использованием метода рентгеновской фотоэлектронной спектроскопии было показано, что заряд клеточной поверхности, охарактеризованный дзета-потенциалом или электрофоретической подвижностью, определяется концентрациями поверхностного фосфора и азота, а также их отношением. Как правило, для штаммов низового брожения свойственны более высокие концентрации поверхностного фосфора и более низкие значения отношения N/P, обратное справедливо для верховых штаммов. С другой стороны, физико-химические факторы внешней среды также влияют на электрический заряд клеток. В ходе аналитического обзора было выявлено влияние таких факторов, как pH, продолжительности процесса ферментации, аэрации суслу и внесения свободного фосфора в культуральную среду. Так, с уменьшением pH электрический заряд или характеризующий его дзета-потенциал становится более положительным. Поскольку в

ходе ферментации наблюдается снижение pH, электрический заряд также становится более положительным с протеканием процесса брожения. Аэрация, внесение свободного фосфора и увеличение первоначальной плотности сусла, наоборот, увеличивают отрицательный заряд клеток. Наконец, увеличение числа циклов брожения приводит к изменению электрического заряда в направлении положительных значений. Согласно представленным данным, может быть сделан вывод о том, что путем варьирования и подбора упомянутых факторов возможно достичь увеличения отрицательного заряда клеточной поверхности дрожжей. Однако для подтверждения предположения об увеличении извлекаемых путем адсорбции коллоидов за счет увеличения отрицательного заряда клеток требуются дальнейшие экспериментальные исследования данного вопроса.

Ключевые слова: *Saccharmyces cerevisiae*, коллоидная стабильность пива, адсорбция, дзета-потенциал, поверхностный электрический заряд клеток, брожение

Введение

Коллоидная нестабильность пива по-прежнему остается важной проблемой в пивоварении ввиду того, что коллоидная стабильность является критерием качества конечного продукта (Steiner, Becker, Gastl, 2010; Mastanjevic, Krstanovic, Lukinac, Jukic, Vulin, Mastanjevic, 2018).

К основным компонентам коллоидных помутнений относятся белки, полифенолы и в меньшей степени углеводы (Steiner, Becker, Gastl, 2010).

Считается, что взаимодействия между белками и полифенолами, в результате которых образуются белково-полифенольные комплексы, являются главной причиной коллоидного помутнения (Leiper, Stewart, McKeown, 2003; Дедегкаев, 2005; Leiper, Stewart, McKeown, Nock, Thompson., 2005). При этом различают два типа коллоидного помутнения: обратимое (холодное) и необратимое (постоянное). Первое является результатом взаимодействия низкомолекулярных полифенолов с белками посредством водородных связей с образованием частиц размером от 0,1 до 1,0 мкм. Данный тип коллоидного помутнения называется обратимым (холодным), поскольку он образуется при охлаждении пива до 0°C, но исчезает при нагревании до 20°C. Необратимое же (постоянное) коллоидное помутнение не исчезает при 20°C и обусловлено окислительной полимеризацией полифенолов и взаимодействием уже полимеризованных форм полифенолов с белками, в этом случае размер частиц лежит в диапазоне от 1 и 10 мкм (Chapon, 1994; Siebert, Troukhanova, Lynn, 1996).

Несмотря на то, что как обратимые, так и необратимые помутнения заслуживают внимания исследователей, основная проблема все-таки заключается в образовании «холодной мути»,

поскольку она возникает первой и переходит в постоянную (необратимую) форму (Bamforth, 1999). Другими словами, внимание исследователей при оценке коллоидной стабильности пива должно быть обращено, в первую очередь, на частицы, размер которых меньше 1 мкм (Asano, Shinagawa, Hashimoto, 1982).

В современном пивоварении для повышения стабильности пива используют химические, физико-химические и механические способы воздействия на коллоидную систему напитка. Выбор того или иного метода определяется конкретными задачами, стоящими перед пивоваром. Химические способы предназначены для уменьшения скорости окислительных процессов в пиве. Для этого в некоторых случаях в напиток добавляют антиоксиданты, которые взаимодействуют с кислородом воздуха и предотвращают окисление фенольных соединений. Физико-химические способы направлены на удаление коллоидов различной природы с помощью адсорбентов. В частности, для удаления мутообразующих белков применяют силикагели, а для снижения концентрации фенольных соединений — поливинилполипирролидон (ПВП). Кроме того, повышению стойкости пива способствуют такие технологические операции, как сепарирование и фильтрация (Афонин, Дедегкаев, Давыденко, Меледина, 2012).

В то же время, в процессе ферментации дрожжевые клетки адсорбируют на своей поверхности коллоидные частицы субмикронного размера, диаметр которых преимущественно лежит в диапазоне 0,31-0,39 мкм (Дедегкаев, 2005). При этом количество адсорбированных на поверхности дрожжевых клеток коллоидных частиц зависит от значения дзета-потенциала последних, который характеризует поверхностный электрический заряд (Афонин, Дедегкаев, Давыденко, Меледина, 2012). Так, чем отрицательнее дзета-потенциал дрожжевых клеток, тем большее количество поло-

жительно заряженных коллоидных частиц может быть извлечено.

Как известно, поверхностный электрический заряд дрожжевых клеток, как и большинства других микроорганизмов, отрицателен, в то время как коллоиды пива при значениях рН, соответствующих концу ферментации, приобретают положительный заряд (Bowen, Ventham, 1994). Из этого следует возможность увеличения электростатического притяжения между коллоидами пива и дрожжевыми клетками, а следовательно, и адсорбции коллоидов на клеточной поверхности, за счет увеличения отрицательного заряда последних. В то же время увеличение числа адсорбированных частиц может привести к снижению затрат на адсорбенты: силикагель и ПВПП.

По этой причине, на наш взгляд, актуально проведение аналитического обзора экспериментальных данных, освещающих вопрос о влиянии физико-химических факторов внешней среды на поверхностный электрический заряд дрожжевых клеток.

Электрический заряд клетки, как и другие поверхностные свойства, определяется молекулярным составом и структурой клеточной стенки, именно поэтому в представленном обзоре сначала будут рассмотрены характерные особенности этой клеточной органеллы и связь между молекулярным составом внешнего слоя клеточной поверхности и электрическим зарядом. Однако помимо этой обусловленности, факторы внешней среды, такие как рН, состав культуральной жидкости, плотность сула, также влияют на величину и знак электрического заряда клеток, этому влиянию будет посвящен последний раздел обзора.

Молекулярный состав и структура клеточной стенки *S. cerevisiae*

Клеточная стенка – это неотъемлемая клеточная структура *S. cerevisiae* и может быть описана как динамическая жизненно необходимая органелла. К основным функциям клеточной стенки относятся: осморегуляция, защита от механических воздействий и поддержание формы (Klis, 2006).

На клеточную стенку может приходиться 10–25% сухой массы клетки (Lipke, Ovalle, 1998; Klis, Boorsma, De Groot, 2006). Причем ее молекулярный состав и структура не являются постоянными и варьируются в зависимости от клеточного цикла, стадии роста, состава питательной среды и

наличия стрессов (Aguilar-Uscanga, Francois, 2003; Orlean, 2012).

К основным компонентам клеточной стенки относятся глюканы, маннопротеины и хитин. Глюканы, представленные β -1,3- и β -1,6-глюканами, образуют комплекс с хитином и формируют внутренний слой клеточной стенки, обуславливающий механическую прочность. В свою очередь, маннопротеины, на которые приходится 30–50% сухой массы клеточной стенки, представляют собой гликопротеины с высокой степенью гликозилирования и образуют внешний слой (Klis, Mol, Hellingwerf, Brul, 2002). Данная фракция придает клеточной стенке дрожжей активные свойства и играет важную роль в контроле пористости стенки, регулируя тем самым молекулярный транспорт (Caridi, 2006).

Стоит отметить, что гликановая часть маннопротеинов состоит не только из нейтральных олигосахаридов, содержащих маннозу и N-ацетилглюкозамин, но также из кислых маннанов, представленных маннозилфосфатом, в количествах, которые варьируются от штамма к штамму (Friis, Ottolenghi, 1970; Jigami, Odani, 1999). Маннозилфосфатный трансфер, то есть появление фосфатных групп в составе маннопротеинов, может быть вызван осмотическим стрессом, а увеличение числа фосфатных групп во внешнем слое клеточной стенки, в свою очередь, приводит к увеличению отрицательного заряда клеточной поверхности и, как следствие, появлению защитной гидратной оболочки (Odani, Shimma, Wang, Jigami, 1997).

Поверхностный электрический заряд

Электрический заряд клеточной поверхности обусловлен диссоциацией фосфатных и карбоксильных групп маннопротеинов, а также в меньшей степени протонированием аминокислотных групп белков (Bowen, Sabuni, Ventham, 1992). В целом, поверхностный заряд дрожжевых клеток, как и большинства других микроорганизмов, отрицателен (Vu, Sys, Cervenka, 2011).

Поверхностный заряд микроорганизмов может быть охарактеризован дзета-потенциалом, определение которого возможно экспериментально из электрокинетических явлений, связанных с относительным перемещением фаз (Михеева, Пикула, 2009). Дзета-потенциал или же электрокинетический потенциал представляет собой электрический потенциал в двойном слое на границе между частицей, способной к движению

в электрическом поле и окружающей жидкостью (Евстратова, Купина, Малахова, 1990).

С помощью электрокинетических методов, таких как электрофорез и электроосмос, могут быть определены значения линейной скорости движения частицы (клетки) к электроду противоположного знака. После чего с использованием уравнения Смолуховского (1) рассчитывается значение дзета-потенциала:

$$\zeta = \frac{\eta \cdot U}{\varepsilon \cdot \varepsilon_0 \cdot H} \quad (1)$$

где ζ – величина электрокинетического потенциала, В;

η – вязкость среды, Н·с/м²;

ε – диэлектрическая проницаемость среды;

ε_0 – электрическая константа;

U – линейная скорость движения частицы, м/с;

H – напряженность электрического поля, В/м.

Стоит отметить, что помимо дзета-потенциала отрицательный поверхностный заряд клеток может быть охарактеризован коэффициентом удержания альцианового синего красителя, который представляет собой тип фталоцианинового комплекса, имеет четыре положительно заряженных участка в молекуле и, следовательно, способен адсорбироваться на отрицательно заряженных клеточных поверхностях дрожжей (Vu, Sys, Cervenska, 2011).

Зависимость поверхностного электрического заряда клеток *S. cerevisiae* от молекулярного состава компонентов клеточной стенки

Как упоминалось ранее, поверхностные свойства дрожжевых клеток, в том числе электрический заряд, обуславливаются молекулярным составом и строением клеточной стенки. Исходя из этого, разумно предположить, что экспериментальное определение данных свойств, а точнее характеризующих их величин (в случае электрического заряда – дзета-потенциал), не является достаточным для исчерпывающего анализа. Одним из возможных сопутствующих электрокинетическому исследованию методов анализа может быть химический (элементный) анализ клеточной поверхности методом рентгеновской фотоэлектронной спектроскопии (XPS).

Рентгеновская фотоэлектронная спектроскопия (XPS) обеспечивает химический анализ внешнего слоя (2–10 нм) анализируемого объекта (Dengis, Rouxhet, 1997). Проведение экспери-

мента в указанном сочетании может позволить достичь более глубокого понимания первопричин поверхностных свойств. Так конкретные значения поверхностного заряда могут быть объяснены вкладами некоторых функциональных групп, таких, например, как фосфатные, карбоксильные и аминокислотные группы.

Авторами работы (Amory, Rouxhet, Dufour, 1988) было проведено исследование молекулярного состава, электрического заряда и гидрофобности клеточной поверхности штаммов верхнего и низового брожения: *Saccharomyces cerevisiae* MUCL 28733 и MUCL 28285 соответственно. Определение дзета-потенциала проводилось методом микроэлектрофореза (при pH = 4), а анализ молекулярного состава клеточной поверхности методом рентгеновской фотоэлектронной спектроскопии (XPS). Было показано, что верхние дрожжи имеют менее отрицательный дзета-потенциал, меньшую концентрацию поверхностного фосфора (P) и большее отношение поверхностных концентраций N/P по сравнению со штаммами низового брожения. Также было показано, что существует положительная корреляция между значением дзета-потенциала и концентрацией поверхностного фосфора, то есть дзета-потенциал становится более отрицательным с увеличением концентрации поверхностного фосфора.

В работе (Dengis, Nelissen, Rouxhet, 1995) также было проведено сравнение молекулярного состава клеточной стенки и поверхностного электрического заряда клеток дрожжей штаммов низового и верхнего брожения: *Saccharomyces cerevisiae* MUCL 28285 и MUCL 38475 соответственно. Молекулярный состав клеточной поверхности исследовался методом рентгеновской фотоэлектронной спектроскопии (XPS), электрофоретическая подвижность клеток определялась с использованием микроэлектрофореза без последующего расчета дзета-потенциала. В противоположность данным, представленным в работе (Amory, Rouxhet, Dufour, 1988), различия в концентрации поверхностного фосфора между штаммами низового и верхнего брожения отсутствовали, однако, более отрицательные значения электрокинетической подвижности при pH = 4 проявляли клетки штамма низового брожения (MUCL 28285). В связи с этим, авторами вышеуказанной работы было выдвинуто предположение, что электрический заряд клеточной поверхности обусловлен не только фосфатными группами фосфоманнана, но также карбоксильными и аминокислотными группами белков маннопротеинов. Однако концентрации карбоксильных и прото-

нированных аминокрупп клеточной поверхности дрожжей не могут быть определены методом XPS.

В работе (Dengis, Rouxhet, 1997) исследовалась связь между поверхностными свойствами (электрические свойства и гидрофобность) дрожжевых клеток и химическим составом поверхности, определенным методом XPS, а также различия в указанных свойствах между верховыми и низовыми штаммами. В рамках работы были исследованы 12 верховых и 8 низовых штаммов. Аналогично данным, полученным в работе (Amory, Rouxhet, Dufour, 1988), у штаммов низового брожения наблюдались более высокие концентрации фосфора во внешнем слое клеточной стенки, а также более отрицательные значения электрофоретической подвижности при pH = 4. Однако при значениях pH больше 4, особенно при pH = 7, некоторые верховые штаммы, например, MUCL 28832, MUCL 28354, MUCL 28374, проявляли более отрицательные значения электрофоретической подвижности по сравнению с клетками низовых штаммов. На основании этих данных в работе (Dengis, Rouxhet, 1997) был сделан вывод о том, что для низовых штаммов, которые содержат относительно немного белков и больше фосфоманнанов, по сравнению с верховыми, электрические свойства клеток в основном определяются фосфатными группами фосфоманнана. Для верховых же штаммов, которые обладают относительно небольшим количеством фосфоманнанов и большим количеством белков, электрические свойства в основном определяются карбоксильными и протонированными аминокгруппами белков.

Факторы среды, влияющие на поверхностный электрический заряд клеток *S. cerevisiae*

В предыдущем разделе была рассмотрена обусловленность поверхностного электрического заряда дрожжевых клеток молекулярным составом клеточной стенки, который непосредственно связан со штаммовой принадлежностью, а, следовательно, является генетически детерминированным. С другой стороны, физико-химические факторы внешней среды также влияют на электрический заряд и обуславливают его. По этой причине в данном разделе будет рассмотрено влияние факторов внешней среды на электрический заряд клеточной поверхности, среди которых: pH, время ферментации, аэрация и первоначальная плотность суслу, а также число циклов ферментации.

Зависимость электрического заряда (дзета-потенциала и электрофоретической подвижности)

от pH среды связана с зависимостью степени диссоциации функциональных групп клеточной поверхности от pH. В свою очередь, степень диссоциации этих функциональных групп при конкретных значениях pH однозначно связана со значениями показателей кислотности этих групп (pKa), значения которых соответствуют значениям pH, при которых рассматриваемые функциональные группы диссоциируют на 50%.

Во многих научных трудах, среди которых (Beavan, Belk, Stewart, Rose, 1979; Bowen, Cooke, 1989; Bowen, Sabuni, Ventham, 1992; Bowen, Ventham, 1994; Dengis, Nelissen, Rouxhet, 1995; Dengis, Rouxhet, 1997; Robinson, Harrison, 2001), была исследована зависимость электрического заряда клеточной поверхности дрожжевых клеток *S. cerevisiae* от величины pH. Несмотря на различия в используемых методах исследования, штаммах дрожжей и целях научных изысканий, наблюдается общий характер рассматриваемой зависимости – электрический заряд или характеризующий его дзета-потенциал становится более положительным при уменьшении значений pH среды. Также в работах (Dengis, Nelissen, Rouxhet, 1995; Dengis, Rouxhet, 1997) были определены значения изоэлектрических точек штаммов как низового, так и верхового брожения. Согласно этим данным, изоэлектрическая точка низовых штаммов составляет 2 и меньше, в то время как для верховых около 4.

Как известно, в ходе ферментации наблюдается снижение pH сброживаемого суслу, что является следствием образования органических кислот – метаболитов дрожжей. Из этого следует, что отрицательный поверхностный электрический заряд дрожжевых клеток будет снижаться, то есть будет становится более положительным, с увеличением продолжительности ферментации. Данные по зависимости электрического заряда от времени процесса ферментации, отражающие этот характер, могут быть найдены в работах (Bowen, Cooke, 1989; Bowen, Ventham, 1994).

В работе (Дедегкаев, 2005; Афонин, Дедегкаев, Давыденко, Меледина, 2012) было исследовано влияние аэрации суслу на поверхностный электрический заряд дрожжевых клеток штамма 34 / 70 из коллекции *Hefebank Weinstephen*. Согласно представленным данным, аэрация суслу приводит к увеличению отрицательного значения дзета-потенциала, причем его значение может быть увеличено в два раза (при аэрации суслу в течение 5 минут и дальнейшем культивировании под давлением кислорода 0,5 бар).

Как было показано ранее, существует положительная корреляция между отрицательным поверхностным зарядом (дзета-потенциалом) дрожжевых клеток и концентрацией фосфора во внешнем слое клеточной стенки. Ожидается, что внесение свободного фосфора, например, в форме минеральных солей, приводит к увеличению концентрации фосфора в клеточных стенках. Данное предположение было подтверждено авторами работы (Mozes, Schinckus, Ghommidh, Navarro, Rouxhet, 1994) в отношении штамма *Saccharomyces cerevisiae* 38A. В рамках эксперимента фосфор вносился в культуральную среду в виде суперфосфата калия (KH_2PO_4) в концентрациях от 0 до 1 г/дм³. Концентрация фосфора во внешнем слое клеточной стенки определялась методом XPS, электрофоретическая подвижность – методом микроэлектрофореза. Было показано, что с увеличением концентрации свободного фосфора в культуральной среде электрофоретическая подвижность клеток становится более отрицательной, а изоэлектрическая точка смещается в область меньших значений pH.

В завершении целесообразно отметить влияние первоначальной плотности суслу (в отношении штамма верхового брожения) и числа циклов повторного брожения (в отношении низового штамма), которое было исследовано в работе (Bowen, Cooke, 1989). Согласно результатам работы, увеличение плотности суслу в диапазоне 1.03–1.105 г/см³ приводит к увеличению отрицательного поверхностного заряда клеток (дзета-потенциала). Данное наблюдение согласуется с предположением об иницирующей роли осмотического стресса в маннозилфосфатном транспорте, то есть в увеличении числа фосфатных групп в составе маннопротеинов. Зависимость же клеточного заряда от числа 72-часовых циклов брожения имела обратный характер: дзета-потенциал становился более положительным при увеличении числа циклов брожения, для объяснения чего требуются дальнейшие исследования.

Адсорбционные процессы с участием клеточной поверхности дрожжевых клеток

Вопрос адсорбционных процессов с участием клеточной поверхности дрожжевых клеток в ходе процесса ферментации широко освещен в сфере виноделия. Так сообщается, что дрожжевые клетки способны адсорбировать на своей поверхности антоцианы (Morata, Loira, Suárez Lepe, 2016; Echeverrigaray, Scariot, Menegotto, Delamare, 2020), фенольные (Razmkhab, Lopez-Toledano, Ortega, Mayen, Merida, Medina, 2002) и аромати-

ческие соединения (Lubbers, Charpentier, Feuillat, Voilley, 1994), а также токсины (Piotrowska, Nowak, Czyzowska, 2013; Cecchini, Morassut, Saiz, Garcia-Moruno, 2018).

К сожалению, сообщения касательно адсорбции компонентов пива, в том числе интересующих нас коллоидов мути, на клеточной поверхности дрожжей не так многочисленны. Тем не менее, электростатический характер взаимодействия между поверхностью дрожжевых клеток и субмикронных частиц сброживаемого суслу был продемонстрирован в работах (Bowen, Ventham, 1994; Patel, Speers, Lake, 2011). Согласно этим экспериментальным данным к концу ферментации дрожжевые клетки по-прежнему сохраняют отрицательный электрический заряд, то есть не достигают своей изоэлектрической точки, в то время как субмикронные частицы переходят через изоэлектрическую область значительно раньше и к концу процесса брожения несут положительный заряд, что в свою очередь способствует их адсорбции на клеточной поверхности.

Адсорбция субмикронных частиц на поверхности дрожжевых клеток во время ферментации суслу была подтверждена в работе (Афонин, Дедегкаев, Давыденко, Меледина, 2012). Помимо этого, был проанализирован химический состав адсорбированных на поверхности дрожжевых клеток частиц. Так, адсорбированные частицы на 71% состояли из полипептидной фракции, а на полифенолы и полисахариды приходилось 12% и 17% соответственно.

Заключение

Проблема коллоидной нестабильности пива может быть отчасти решена за счет адсорбционной способности дрожжевых клеток. В свою очередь, процесс сорбции положительно заряженных коллоидов пива на клеточной поверхности дрожжей, несущей отрицательный заряд, имеет электростатический характер. С учетом электростатического характера адсорбционного взаимодействия, можно предположить, что увеличение количества извлекаемых в результате сорбции коллоидов может быть достигнуто путем увеличения отрицательного заряда клеточной поверхности дрожжей.

Электрический поверхностный заряд дрожжевой клетки обусловлен молекулярным составом и структурой клеточной стенки, главным образом ее

внешним маннопротеиновым слоем. В результате диссоциации функциональных групп, входящих в состав маннопротеинов (фосфатных и карбоксильных групп), клеточная стенка приобретает отрицательный электрический заряд, который может быть охарактеризован дзета-потенциалом или электрофоретической подвижностью, определяемых с использованием электрокинетических методов.

Исходя из представленных во втором разделе экспериментальных данных, могут быть сделаны некоторые выводы относительно связи поверхностного электрического заряда клеточной поверхности дрожжей и молекулярного состава внешнего слоя клеточной стенки. Во-первых, электрический заряд клеточной поверхности, охарактеризованный дзета-потенциалом или электрофоретической подвижностью, определяется концентрациями поверхностного фосфора и азота, а также их отношением. Во-вторых, молекулярный состав, а, следовательно, и концентрации указанных элементов во внешнем слое клеточной стенки, однозначно зависят от штаммовой принадлежности. Как правило, для штаммов низового брожения свойственны более высокие концентрации поверхностного фосфора и более низкие значения отношения N/P, обратное справедливо для верховых штаммов. В-третьих, отрицательный электрический заряд клеток низовых штаммов преимущественно обусловлен диссоциацией фосфатных групп фосфоманнана, а в случае верховых – диссоциацией карбоксильных групп и протонированием аминогрупп белковой фракции. Последнее справедливо главным образом для сред со значениями pH больше 4.

С другой стороны, физико-химические факторы внешней среды также влияют на поверхностный электрический заряд и обуславливают его. В ходе аналитического обзора было выявлено влияние на электрический заряд дрожжевых клеток таких факторов как pH, продолжительности процесса ферментации, аэрации суслу, внесения свободного фосфора в культуральную среду, начальной плотности суслу и числа циклов брожения. Согласно представленным данным, может быть сделан вывод о том, что путем варьирования и подбора упомянутых факторов возможно достичь увеличения отрицательного заряда клеточной поверхности дрожжей. Однако для подтверждения предположения об увеличении количества извлекаемых путем сорбции коллоидов за счет увеличения отрицательного заряда клеток требуются дальнейшие экспериментальные исследования данного вопроса.

Литература

- Афонин Д.В., Дедегкаев А.Т., Давыденко С.Г., Меледина Т.В. Влияние процессов, протекающих при сбраживании суслу, на инициальную мутность пива // Пиво и напитки. 2012. № 1. С. 26-29.
- Дедегкаев А.Т. Повышение коллоидной стабильности пива с применением силикагеля и поливинилпирролидона: автореф. на соиск. ученой степ. канд. техн. наук: 05.18.07 - биотехнология пищевых продуктов и биологически активных веществ. СПб., 2005. 12 с.
- Евстратова К.И., Купина Н.А., Малахова Е.Е. Физическая и коллоидная химия. М.: Изд-во Высшая школа, 1990. 486 с.
- Михеева Е.В., Пикула Н.П. Определение электрокинетического потенциала методом электрофореза. Томск: Изд-во Томского политехнического университета, 2009. 16 с.
- Aguilar-Uscanga B., Francois J.M. A study of the yeast cell wall composition and structure in response to growth conditions and mode of cultivation // Letters in applied microbiology. 2003. Vol. 37. No. 3. P. 268-274. <https://doi.org/10.1046/j.1472-765X.2003.01394.x>
- Amory D.E., Rouxhet P.G., Dufour J.P. Flocculence of brewery yeasts and their surface properties: chemical composition, electrostatic charge and hydrophobicity // Journal of the Institute of Brewing. 1988. Vol. 94. No. 2. P. 79-84. <https://doi.org/10.1002/j.2050-0416.1988.tb04561.x>
- Asano K., Shinagawa K., Hashimoto N. Characterization of haze-forming proteins of beer and their roles in chill haze formation // Journal of the American Society of Brewing Chemists. 1982. Vol. 40. No. 4. P. 147-154. <https://doi.org/10.1094/ASBCJ-40-0147>
- Bamforth C.W. Beer haze // Journal of the American Society of Brewing Chemists. 1999. Vol. 57. No. 3. P. 81-90. <https://doi.org/10.1094/ASBCJ-57-0081>
- Beavan M.J., Belk D.M., Stewart G.G., Rose A.H. Changes in electrophoretic mobility and lytic enzyme activity associated with development of flocculating ability in *Saccharomyces cerevisiae* // Canadian Journal of Microbiology. 1979. Vol. 25. No. 8. P. 888-895. <https://doi.org/10.1139/m79-132>
- Bowen W.R., Cooke R.J. Studies of *Saccharomyces cerevisiae* during Fermentation – an in vivo electrokinetic investigation // Biotechnology and Bioengineering. 1989. Vol. 33. P. 706-715. <https://doi.org/10.1002/bit.260330608>
- Bowen W.R., Sabuni H.A., Ventham T.J. Studies of the Cell-Wall Properties of *Saccharomyces cerevisiae* during Fermentation // Biotechnology

- and Bioengineering. 1992. Vol. 40. P. 1309-1318. <https://doi.org/10.1002/bit.260401104>
- Bowen W.R., Ventham T.J. Aspects of yeast flocculation. Size distribution and zeta-potential // *Journal of the Institute of Brewing*. 1994. Vol. 100. No. 3. P. 167-172. <https://doi.org/10.1002/j.2050-0416.1994.tb00817.x>
- Caridi A. Enological functions of parietal yeast mannoproteins // *Antonie van Leeuwenhoek*. 2006. Vol. 89. P. 417-422. <https://doi.org/10.1007/s10482-005-9050-x>
- Chapon L. The mechanics of beer stabilization // *Brew. Guard*. 1994. Vol. 123. No. 12. P. 46-50.
- Dengis P.B., Nelissen L.R., Rouxhet P.G. Mechanisms of Yeast Flocculation: Comparison of Top and Bottom-Fermenting Strains // *Applied and environmental microbiology*. 1995. Vol. 61. No. 2. P. 718-728. <https://aem.asm.org/content/61/2/718>
- Dengis P.B., Rouxhet P.G. Surface Properties of Top – and Bottom-Fermenting Yeast // *Yeast*. 1997. Vol. 13. P. 931-943. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0061\(199708\)13:10%3C931::AID-YEA149%3E3.0.CO;2-T](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0061(199708)13:10%3C931::AID-YEA149%3E3.0.CO;2-T)
- Echeverrigaray S., Scariot F.J., Menegotto M., Delamare A.P.L. Anthocyanin adsorption by *Saccharomyces cerevisiae* during wine fermentation is associated to the loss of yeast cell wall/membrane integrity // *International journal of food microbiology*. 2020. Vol. 314. P. 108383. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2019.108383>
- Cecchini F., Morassut M., Saiz J.C., Garcia-Moruno E. Anthocyanins enhance yeast's adsorption of Ochratoxin A during the alcoholic fermentation // *European Food Research and Technology*. 2019. Vol. 245. No. 2. P. 309-314. <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs00217-018-3162-9>
- Friis J., Ottolenghi P. The genetically determined binding of alcian blue by a minor fraction of yeast cell walls // *Comptes-rendus des travaux du Laboratoire Carlsberg*. 1970. Vol. 37. No. 15. P. 327. <https://www.yeastgenome.org/reference/S000057170>
- Jigami Y., Odani T. Mannosylphosphate transfer to yeast mannan // *Biochimica et Biophysica Acta*. 1999. Vol. 1426. P. 335-345. [https://doi.org/10.1016/S0304-4165\(98\)00134-2](https://doi.org/10.1016/S0304-4165(98)00134-2)
- Klis F.M., Mol P., Hellingwerf K., Brul S. Dynamics of cell wall structure in *Saccharomyces cerevisiae* // *FEMS microbiology reviews*. 2002. Vol. 26. No. 3. P. 239-256. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2002.tb00613.x>
- Klis F.M., Boorsma A., De Groot P.W.J. Cell wall construction in *Saccharomyces cerevisiae* // *Yeast*. 2006. Vol. 23. P. 185-202. <https://doi.org/10.1002/yea.1349>
- Leiper K.A., Stewart G.G., McKeown I.P. Beer polypeptides and silica gel Part I. Polypeptides involved in haze formation // *Journal of the Institute of Brewing*. 2003. Vol. 109. No. 1. P. 57-72. <https://doi.org/10.1002/j.2050-0416.2003.tb00594.x>
- Leiper K.A., Stewart G.G., McKeown I.P., Nock T., Thompson M.J. Optimising beer stabilisation by the selective removal of tannoids and sensitive proteins // *Journal of the Institute of Brewing*. 2005. Vol. 111. No. 2. P. 118-127. <https://doi.org/10.1002/j.2050-0416.2005.tb00657.x>
- Lipke P.N., Ovalle R. Cell wall architecture in yeast: new structure and new challenges // *Journal of bacteriology*. 1998. Vol. 180. No. 15. P. 3735-3740. <https://jbs.asm.org/content/180/15/3735>
- Lubbers S., Charpentier C., Feuillat M., Voilley A. Influence of yeast walls on the behavior of aroma compounds in a model wine // *American Journal of Enology and Viticulture*. 1994. Vol. 45. No. 1. P. 29-33. <https://www.ajevonline.org/content/45/1/29>
- Mastanjevic K., Krstanovic V., Lukinac J., Jukic M., Vulin Z., Mastanjevic K. Beer – The Importance of Colloidal Stability (Non-Biological Haze) // *Fermentation*. 2018. Vol. 4. No. 4. P. 91. <https://doi.org/10.3390/fermentation4040091>
- Morata A., Loira I., Suarez Lepe J.A. Influence of yeasts in wine colour // A. Morata, I. Loira, Eds. *Grape and Wine Biotechnology*. Croatia: InTech, 2016. P. 285-305. <https://doi.org/10.5772/65055>
- Mozes N., Schinckus L.L., Ghommidh C., Navarro J.M., Rouxhet P.G. Influence of medium composition on surface properties and aggregation of a *Saccharomyces cerevisiae* strain // *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 1994. Vol. 3. No. 1-2. P. 63-74. [https://doi.org/10.1016/0927-7765\(93\)01113-6](https://doi.org/10.1016/0927-7765(93)01113-6)
- Odani T., Shimma Y.I., Wang X.H., Jigami Y. Mannosylphosphate transfer to cell wall mannan is regulated by the transcriptional level of the MNN4 gene in *Saccharomyces cerevisiae* // *FEBS letters*. 1997. Vol. 420. No. 2-3. P. 186-190. [https://doi.org/10.1016/S0014-5793\(97\)01513-5](https://doi.org/10.1016/S0014-5793(97)01513-5)
- Orlean P. Architecture and Biosynthesis of the *Saccharomyces cerevisiae* Cell Wall // *Genetics*. 2012. Vol. 192. No. 3. P. 775-818. <https://doi.org/10.1534/genetics.112.144485>
- Patel J.K., Speers R.A., Lake J.C. Colloidal examination of worts associated with premature yeast flocculation // *Journal of the American Society of Brewing Chemists*. 2011. Vol. 69. No. 2. P. 81-90. <https://doi.org/10.1094/ASBCJ-2011-0225-01>
- Piotrowska M., Nowak A., Czyzowska A. Removal of ochratoxin A by wine *Saccharomyces cerevisiae* strains // *European food research and technology*. 2013. Vol. 236. No. 3. P. 441-447. <https://doi.org/10.1007/s00217-012-1908-3>

- Robinson A., Harrison S.T. Effect of aeration in propagation on surface properties of brewers' yeast // A. Durieux, J.P. Simon, Eds. Applied Microbiology. Dordrecht: Springer, 2001. Vol. 2. P. 89-99. https://doi.org/10.1007/0-306-46888-3_6
- Razmkhab S., Lopez-Toledano A., Ortega J.M., Mayen M., Merida J., Medina M. Adsorption of phenolic compounds and browning products in white wines by yeasts and their cell walls // Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2002. Vol. 50. No. 25. P. 7432-7437. <https://doi.org/10.1021/jf025733c>
- Siebert K.J., Troukhanova N.V., Lynn P.Y. Nature of polyphenol-protein interactions // Journal of Agricultural and Food Chemistry. 1996. Vol. 44. No. 1. P. 80-85. <https://doi.org/10.1021/jf9502459>
- Steiner E., Becker T., Gastl M. Turbidity and haze formation in beer – Insights and overview // Journal of the Institute of Brewing. 2010. Vol. 116. No. 4. P. 360-368. <https://doi.org/10.1002/j.2050-0416.2010.tb00787.x>
- Vu D.L., Sys M., Cervenka L. The Effect of Various Potentials on the Attachment of *Saccharomyces Cerevisiae* and *Staphylococcus Epidermidis* to Carbon Paste Electrodes // Int. J. Electrochem. Sci. 2011. Vol. 6. P. 5265-5274.

Factors Affecting the Electric Charge of Yeast Cells *Saccharomyces Cerevisiae*

Tatiana V. Meledina

ITMO University

9 Lomonosova str., Sankt-Petersburg, 191002, Russian Federation

E-mail: tatiana.meledina@yandex.ru

Dmitry V. Manshin

ITMO University

9 Lomonosova str., Sankt-Petersburg, 191002, Russian Federation

E-mail: dmanshin1@gmail.com

Oksana V. Golovinskaia

ITMO University

9 Lomonosova str., Sankt-Petersburg, 191002, Russian Federation

E-mail: oksana2187@mail.ru

Razan Harbah

ITMO University

9 Lomonosova str., Sankt-Petersburg, 191002, Russian Federation

E-mail: razan.harbah@mail.ru

Vera A. Ivanova

ITMO University

9 Lomonosova str., Sankt-Petersburg, 191002, Russian Federation

E-mail: vera_ershova@mail.ru

Artem A. Morozov

ITMO University

9 Lomonosova str., Sankt-Petersburg, 191002, Russian Federation

E-mail: artemamor@mail.ru

The adsorption capacity of yeast cells can partially solve the problem of colloidal instability of beer. It is believed that an increase in the amount of adsorbed colloidal particles can be achieved by increasing the negative charge of the cells. The electric charge on the cell surface is due to the molecular composition of the cell wall, mainly the functional groups of the outer layer of mannoprotein - phosphate, carboxyl, and amino groups. Based on the data obtained by X-ray photoelectron spectroscopy, it was shown that the charge on the cell surface is determined by the concentrations of surface phosphorus and nitrogen, as well as their ratio. Generally, bottom-fermentation strains are characterized by higher surface phosphorus concentrations and lower N/P ratios; the opposite is exact for top-fermentation strains. On the other hand, physicochemical environmental factors also affect the electric charge of cells. The influence of factors such as pH, the time of the fermentation process, aeration of the wort, and the addition of free phosphorus into the culture medium was revealed. So, with a decrease in pH, the electric charge, or the zeta-potential characterizing, it becomes more positive. Since a decrease in pH is observed during fermentation, the electric charge also becomes more positive with the course of the fermentation process. Aeration, the addition of free phosphorus, and an increase in the initial density of the wort, on the contrary, increase the negative charge of cell. Finally, an increase in the number of fermentation cycles leads to a change in the electric charge in the direction of positive values. According to the data presented, it can be concluded that by varying the mentioned factors, it is

possible to achieve an increase in the negative charge on the cell surface of the yeast. However, to confirm the assumption of an increase in colloids extracted by adsorption due to an increase in the negative charge of cells, further experimental studies of this issue are required.

Keywords: *Saccharomyces cerevisiae*, colloidal stability of beer, adsorption, zeta potential, electric charge of cells, fermentation, spectroscopy

References

- Afonin D.V., Dedegkaev A.T., Davydenko S.G., Meledina T.V. Vliyaniye protsessov, protekayushchikh pri sbrazhivanii susla, na initsial'nyuyu mutnost piva [The influence of the processes occurring during the fermentation of wort on the initial turbidity of beer]. *Pivo i napitki [Beer and drinks]*, 2012, no. 1, pp. 26-29.
- Dedegkaev A.T. Povysheniye kolloidnoy stabilnosti piva s primeneniyyem silikagelya i polivinilpolipirrolidona. Avtopef. diss. kand. tekhn. nauk [Increasing colloidal stability of beer using silica gel and polyvinyl polypyrrolidone. Abstract of Ph.D. (Technology) thesis]. St. Petersburg, 2005. 12 p.
- Evstratova K.I., Kupina N.A., Malakhova E.E. Fizicheskaya i kolloidnaya khimiya [Physical and colloidal chemistry]. Moscow: Vysshaya shkola, 1990. 486 p.
- Mikheeva E.V., Pikula N.P. Opredeleniye elektrokineticheskogo potentsiala metodom elektroforeza [Determination of electrokinetic potential by electrophoresis]. Tomsk: Izdatelstvo Tomskogo politekhnicheskogo universiteta, 2009. 16 p.
- Aguilar-Uscanga B., Francois J.M. A study of the yeast cell wall composition and structure in response to growth conditions and mode of cultivation. *Letters in applied microbiology*, 2003, vol. 37, no. 3, pp. 268-274. <https://doi.org/10.1046/j.1472-765X.2003.01394.x>
- Amory D.E., Rouxhet P.G., Dufour J.P. Flocculence of brewery yeasts and their surface properties: chemical composition, electrostatic charge and hydrophobicity. *Journal of the Institute of Brewing*, 1988, vol. 94, no. 2, pp. 79-84. <https://doi.org/10.1002/j.2050-0416.1988.tb04561.x>
- Asano K., Shinagawa K., Hashimoto N. Characterization of haze-forming proteins of beer and their roles in chill haze formation. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 1982, vol. 40, no. 4, pp. 147-154. <https://doi.org/10.1094/ASBCJ-40-0147>
- Bamforth C.W. Beer haze. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*. 1999, vol. 57, no. 3, pp. 81-90. <https://doi.org/10.1094/ASBCJ-57-0081>
- Beavan M.J., Belk D.M., Stewart G.G., Rose A.H. Changes in electrophoretic mobility and lytic enzyme activity associated with development of flocculating ability in *Saccharomyces cerevisiae* *Canadian Journal of Microbiology*, 1979, vol. 25, no. 8, pp. 888-895. <https://doi.org/10.1139/m79-132>
- Bowen W.R., Cooke R.J. Studies of *Saccharomyces cerevisiae* during Fermentation – an in vivo electrokinetic investigation. *Biotechnology and Bioengineering*, 1989, vol. 33, pp. 706-715. <https://doi.org/10.1002/bit.260330608>
- Bowen W.R., Sabuni H.A., Ventham T.J. Studies of the Cell-Wall Properties of *Saccharomyces cerevisiae* during Fermentation. *Biotechnology and Bioengineering*, 1992, vol. 40, pp. 1309-1318. <https://doi.org/10.1002/bit.260401104>
- Bowen W.R., Ventham T.J. Aspects of yeast flocculation. Size distribution and zeta-potential. *Journal of the Institute of Brewing*, 1994, vol. 100, no. 3, pp. 167-172. <https://doi.org/10.1002/j.2050-0416.1994.tb00817.x>
- Caridi A. Enological functions of parietal yeast mannoproteins. *Antonie van Leeuwenhoek*, 2006, vol. 89, pp. 417-422. <https://doi.org/10.1007/s10482-005-9050-x>
- Chapon L. The mechanics of beer stabilization. *Brew. Guard*, 1994, vol. 123, no. 12, pp. 46-50.
- Dengis P.B., Nelissen L.R., Rouxhet P.G. Mechanisms of Yeast Flocculation: Comparison of Top and Bottom-Fermenting Strains. *Applied and environmental microbiology*, 1995, vol. 61, no. 2, pp. 718-728. <https://aem.asm.org/content/61/2/718>
- Dengis P.B., Rouxhet P.G. Surface Properties of Top – and Bottom-Fermenting Yeast. *Yeast*, 1997, vol. 13, pp. 931-943. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0061\(199708\)13:10%3C931::AID-YEA149%3E3.0.CO;2-T](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0061(199708)13:10%3C931::AID-YEA149%3E3.0.CO;2-T)
- Echeverrigaray S., Scariot F.J., Menegotto M., Delamare A.P.L. Anthocyanin adsorption by *Saccharomyces cerevisiae* during wine fermentation is associated to the loss of yeast cell wall/membrane integrity. *International journal of food microbiology*, 2020, vol. 314, pp. 108383. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2019.108383>
- Cecchini F., Morassut M., Saiz J.C., Garcia-Moruno E. Anthocyanins enhance yeast's adsorption of Ochratoxin A during the alcoholic fermentation. *European Food Research and Technology*, 2019, vol. 245, no. 2, pp. 309-314. <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs00217-018-3162-9>

- Friis J., Ottolenghi P. The genetically determined binding of alcian blue by a minor fraction of yeast cell walls. *Comptes-rendus des travaux du Laboratoire Carlsberg*, 1970, vol. 37, no. 15, pp. 327. <https://www.yeastgenome.org/reference/S000057170>
- Jigami Y., Odani T. Mannosylphosphate transfer to yeast mannan. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1999, vol. 1426, pp. 335-345. [https://doi.org/10.1016/S0304-4165\(98\)00134-2](https://doi.org/10.1016/S0304-4165(98)00134-2)
- Klis F.M., Mol P., Hellingwerf K., Brul S. Dynamics of cell wall structure in *Saccharomyces cerevisiae*. *FEMS microbiology reviews*, 2002, vol. 26, no. 3, pp. 239-256. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2002.tb00613.x>
- Klis F.M., Boorsma A., De Groot P.W.J. Cell wall construction in *Saccharomyces cerevisiae*. *Yeast*, 2006, vol. 23, pp. 185-202. <https://doi.org/10.1002/yea.1349>
- Leiper K.A., Stewart G.G., McKeown I.P. Beer polypeptides and silica gel Part I. Polypeptides involved in haze formation. *Journal of the Institute of Brewing*, 2003, vol. 109, no. 1, pp. 57-72. <https://doi.org/10.1002/j.2050-0416.2003.tb00594.x>
- Leiper K.A., Stewart G.G., McKeown I.P., Nock T., Thompson M.J. Optimising beer stabilisation by the selective removal of tannoids and sensitive proteins. *Journal of the Institute of Brewing*, 2005, vol. 111, no. 2, pp. 118-127. <https://doi.org/10.1002/j.2050-0416.2005.tb00657.x>
- Lipke P.N., Ovalle R. Cell wall architecture in yeast: new structure and new challenges. *Journal of bacteriology*, 1998, vol. 180, no. 15, pp. 3735-3740. <https://jb.asm.org/content/180/15/3735>
- Lubbers S., Charpentier C., Feuillat M., Voilley A. Influence of yeast walls on the behavior of aroma compounds in a model wine. *American Journal of Enology and Viticulture*, 1994, vol. 45, no. 1, pp. 29-33. <https://www.ajevonline.org/content/45/1/29>
- Mastanjevic K., Krstanovic V., Lukinac J., Jukic M., Vulin Z., Mastanjevic K. Beer – The Importance of Colloidal Stability (Non-Biological Haze). *Fermentation*, 2018, vol. 4, no. 4, pp. 91. <https://doi.org/10.3390/fermentation4040091>
- Morata A., Loira I., Suarez Lepe J.A. Influence of yeasts in wine colour. In A. Morata, I. Loira, Eds. *Grape and Wine Biotechnology*. Croatia: InTech, 2016, pp. 285-305. <https://doi.org/10.5772/65055>
- Mozes N., Schinckus L.L., Ghommidh C., Navarro J.M., Rouxhet P.G. Influence of medium composition on surface properties and aggregation of a *Saccharomyces cerevisiae* strain. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 1994, vol. 3, no. 1-2, pp. 63-74. [https://doi.org/10.1016/0927-7765\(93\)01113-6](https://doi.org/10.1016/0927-7765(93)01113-6)
- Odani T., Shimma Y.I., Wang X.H., Jigami Y. Mannosylphosphate transfer to cell wall mannan is regulated by the transcriptional level of the MNN4 gene in *Saccharomyces cerevisiae*. *FEBS letters*, 1997, vol. 420, no. 2-3, pp. 186-190. [https://doi.org/10.1016/S0014-5793\(97\)01513-5](https://doi.org/10.1016/S0014-5793(97)01513-5)
- Orlean P. Architecture and Biosynthesis of the *Saccharomyces cerevisiae* Cell Wall. *Genetics*, 2012, vol. 192, no. 3, pp. 775-818. <https://doi.org/10.1534/genetics.112.144485>
- Patel J.K., Speers R.A., Lake J.C. Colloidal examination of worts associated with premature yeast flocculation. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 2011, vol. 69, no. 2, pp. 81-90. <https://doi.org/10.1094/ASBCJ-2011-0225-01>
- Piotrowska M., Nowak A., Czyzowska A. Removal of ochratoxin A by wine *Saccharomyces cerevisiae* strains. *European food research and technology*, 2013, vol. 236, no. 3, pp. 441-447. <https://doi.org/10.1007/s00217-012-1908-3>
- Robinson A., Harrison S.T. Effect of aeration in propagation on surface properties of brewers' yeast. In A. Durieux, J.P. Simon, Eds. *Applied Microbiology*. Dordrecht: Springer, 2001, vol. 2, pp. 89-99. https://doi.org/10.1007/0-306-46888-3_6
- Razmkhab S., Lopez-Toledano A., Ortega J.M., Mayen M., Merida J., Medina M. Adsorption of phenolic compounds and browning products in white wines by yeasts and their cell walls. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2002, vol. 50, no. 25, pp. 7432-7437. <https://doi.org/10.1021/jf025733c>
- Siebert K.J., Troukhanova N.V., Lynn P.Y. Nature of polyphenol – protein interactions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1996, vol. 44, no. 1, pp. 80-85. <https://doi.org/10.1021/jf9502459>
- Steiner E., Becker T., Gastl M. Turbidity and haze formation in beer – Insights and overview. *Journal of the Institute of Brewing*, 2010, vol. 116, no. 4, pp. 360-368. <https://doi.org/10.1002/j.2050-0416.2010.tb00787.x>
- Vu D.L., Sys M., Cervenka L. The Effect of Various Potentials on the Attachment of *Saccharomyces Cerevisiae* and *Staphylococcus Epidermidis* to Carbon Paste Electrodes. *Int. J. Electrochem. Sci*, 2011, vol. 6, pp. 5265-5274.