

Typizácia pivovarských a vínnych kvasiniek

ANNA KOCKOVÁ-KRATOCHVÍLOVÁ, ČSAV, Chemický ústav SAV, Bratislava

Upravené podľa prednášok, preslovených v Čs. mikrobiologickej spoločnosti dňa 24. novembra 1961 v Bratislave a dňa 14. decembra 1961 v Prahe. 863.12

Pri dnešnom obrovskom rozmachu mikróbovej biochémie, zameranej enzymologicky, fyziologicky a funkčne morfológicky si jasne uvedomujeme, že tieto náročné a vážne problémy nemôžeme prevádzkať na nepresne alebo dokonca nesprávne identifikovaných mikroorganizmoch, ačkoľvek aj to sa často stáva. Niekedy nestačia len obvyklé taxonomické údaje, ale vyžaduje sa ešte presnejšia biochemická, genetická alebo technologická charakteristika. Preto sa vo veľkých zbierkach udržiavajú typové kmene. Ako typové môžu byť z hľadiska botanického označené kmene pôvodne opísané ako daný druh (pokiaľ sa zachovali). Tieto kmene však nie sú vhodné pre biochemické a technologické ciele. Pre tieto požiadavky je lepšie vybrať nové svieže kmene z prírody alebo z prevádzky, zvyknuté na domáce pomery a vlastnosťami odpovedajúce pôvodnému popisu daného druhu. U nás nebola dosiaľ prevedená voľba takýchto vhodných pracovných kmeňov v uspokojivom meradle a v mnohých oblastiach vôbec chýba. A predsa máme u nás viaceré výskumné a vedecké ústavy, ktoré udržiavajú identifikované čisté kultúry mikroorganizmov s charakterom podľa hlavného zamerania ústavu. Obyčajne takých kmeňov, patriacich k jednému a tomu istému druhu má ústav väčší počet, takže pracovníci bývajú postavení pred otázku, ktorý z týchto kmeňov majú voliť pre svoju vlastnú prácu. Niekedy si vyberajú kmene náhodile. Dokonca sa stáva, že sa pre vedecký výskum vyberá kmeň priamo z prevádzky, bez zreteľa ako tam bol vedený alebo bez ohľadu na to, čo sa potom reizoluje. Takéto výsledky experimentov sa potom ťažko reproduktujú, neschodujú porovnávajú a hlavne sa nedajú zovšeobecňovať. Pre takéto vedecko-výskumné práce alebo pre práce kontrolné chceme na našom pracovisku previesť výber charakteristických kmeňov kvasiniek a kvasínkovitých mikroorganizmov, ktoré sa vyskytujú u nás alebo sa dajú snadno získať vo väčšom počte. Previedli sme

dosiaľ takúto typizáciu spodných pivovarských kvasiniek *Saccharomyces carlsbergensis* Hansen in sensu stricto a vínnych kvasiniek *Saccharomyces vini* (Muntz, Kayser) Kudrjavcev. Prevádzame v súčasnosti výber typických kmeňov *Candida albicans* (Robin) Berkhout, *Candida pulcherrima* (Lindner) Windisch a *Candida reukaufii* (Grüss) Diddens et Lodder. Toto pojednanie sa bude zaoberať výberom spodných pivovarských a vínnych kvasiniek.

Saccharomyces carlsbergensis Hansen

Standardný popis druhu *Saccharomyces carlsbergensis* podľa Lodderovej (1):

Saccharomyces carlsbergensis Hansen je druh spórotvorný s 1 až 4 guľatými spórmi v asku. Bunky sú v sladine po 3 dňoch pri 25 °C guľaté, krátko-oválne alebo oválne, jednotlivé alebo v pároch, veľkosti (5 až 10) × (5 až 13) μ, s pomerom šírky k dĺžke 1 až 2. Na sladinovom agare pri 17 °C tvoria náter krémový, lesklý a hladký. Majú schopnosť hlboko prekvasiť cukorné roztoky. Okrem monosacharidov hexózu prekvasujú tiež disacharidy, maltózu a sacharózu, a trisacharid raffinózu kompletne. Dusičnan draselný ako jediný zdroj dusíka neasimilujú, v prostredí s etanolom ako jediným zdrojom uhlíka nerastú a eskulin neštiepia.

Práve prednesenej charakteristike odpovedajú kmene druhu *Saccharomyces carlsbergensis* Hansen in sensu stricto. Ostatné, ktoré sa líšia predovšetkým variabilitou rozmerov a väčším pomerom šírky buniek k dĺžke, patria do skupiny, ktorá je v knihe „Kvasinky“ (2) označená ako skupina „carlsbergensis“, teda v širšom slova zmysle. Sú to napr. synonymné druhy *Saccharomyces monacensis*, *Saccharomyces mandshuricus* alebo *Saccharomyces carlsbergensis* var. *valdensis* (3). V roku 1952 bola uverejnená práca (4), ktorá hodnotila morfológickú variabilitu buniek tých druhov, ktoré sa biochemicky veľmi blížila, a autori sa domnievajú, že do tejto skupiny „carlsbergensis“ sa môžu

zaradiť aj *Saccharomyces uvarum* a *Saccharomyces logos*.

Výber kmeňov, o ktorom sa tu hovorí, sa vzťahuje na kmene *Saccharomyces carlsbergensis* Hansen in sensu stricto. Preto sa vyradili všetky kmene, nepatriace do druhu *Saccharomyces carlsbergensis*, napr. kmeň „Žatec“ a ešte niekoľko kmeňov odlišných, ktoré sme obdržali zo závodov alebo inštitúcií. Aj keď sme previedli ich hodnotenie a keď sme ich niekedy nechali v skupinách, nebrali sme ich v úvahu pre vyberanie typických zástupcov daného druhu. Pri triedení sme vychádzali z vlastností podľa štandardného popisu s tým, že sme hodnotenie ešte doplnili. Celkový vhodný obraz o charakteru spodných pivovarských kvasiniek ukáže tiež kompletný rozbor prekvasenej mladiny za jednotných podmienok a skúška sedimentačnej schopnosti identifikovaného kmeňa. Naproti tomu väčšina prevádzkových kmeňov takmer celkom stratila schopnosť sporúlovať za podmienok, za akých ich v prevádzke udržiavame. Aby sme však mohli naše zbierkové kmene kedykoľvek znova použiť v prevádzke, pestujeme ich tak, aby nespóruvali a pokiaľ možno zachovávali si svoje pôvodné vlastnosti. S uspokojením sme tohoto roku zistili, že kmene, ktoré udržiavame od roku 1950 v zbierke ako čisté kultúry, sa v prevádzke osvedčili po správne prevedenej reisolácii, na niekoľkých miestach v našich závodoch.

Podľa rozmerov buniek sme roztriedili kmene, odpovedajúce základnej charakteristike druhu, na štyri skupiny a pritom sme vzali za základ pomer dĺžky a šírky:

I. skupina: veľké oválne bunky s d/š 1,2 až 1,6

II.a skupina: stredne veľké guľaté bunky s d/š 1,1 až 1,2

II.b skupina: stredne veľké oválne bunky s d/š 1,2 až 1,4

III. skupina: malé bunky s d/š 1,1 až 1,2

Tretia skupina má len ojedinelých zástupcov a je málo charakteristická pre druh *Saccharomyces carlsbergensis* Hansen in sensu stricto. Pre vedecké hodnotenie štandardných typov sa preto použijú len skupiny I., II.a a II.b. Medzi týmito vybranými kmeňmi, zoradenými do skupín sú teda rozdiely postupné, ktoré vcelku označujú možnosti variability vo vnútri druhu *Saccharomyces carlsbergensis* Hansen in sensu stricto. Tam, kde sú pomery dĺžky a šírky pri hodnotení väčšie ako 1,6, kmene odpadajú pre skupinu „carlsbergensis“ v širšom slova zmysle.

Vo vnútri týchto skupín sa vybrali tie kmene, ktoré ležia približne v rovine aritmetického priemeru dĺžky buniek, nelíšia sa preukazne od tohoto priemeru a ich biochemické vlastnosti sú typické pre daný druh. Pritom sa nemusí vôbec prihliadať k veľkosti šírky, pretože roztriedením do uvedených skupín podľa pomeru dĺžky a šírky sa už šírka podraduje závislosti na dĺžke. V rozmedzí, ohraničenom preukaznosťou rozdielu aritmetických priemerov dĺžok, sme vybrali u nás tiež prevádzkovo osvedčené kmene:

I. skupina: kmeň „Smíchov“, vedený v r. 1950 ako „Fürth stredne“, č. katalog. 48 1

II.a skupina: kmeň „Budvar A1“, č. katalog. 48 16

II.b skupina: kmeň „Bratislava“*, č. katalog. 48 63

III. skupina: kmeň „Louny“, č. katalog. 48 11

Podrobnejšia charakteristika týchto kmeňov je opísaná v knihách: „Kvasinky“ (2), „Technologie sladu a piva“ (5), „Atlas kvasinek a kvasinkovitých mikroorganizmů“ (3) a v katalogu „Slovenské čisté kultúry pivovarské“ (6). Táto charakteristika bola neskoršie doplnená rôznymi zisteniami, lebo odvtedy, čo sa prvý krát previedol výber typických zástupcov spodných pivovarských kvasiniek, prevádzkali sa všetky experimentálne práce vždy na všetkých štyroch vybraných kmeňoch, označovaných predtým P-1, P-11, P-17 a P-37 (7, 8, 9).

Saccharomyces vini (mutz Kayser/Kudrjavcev)

Štandardný popis druhu *Saccharomyces vini*, ktorý uvádza Lodderová (1) ako *Saccharomyces cerevisiae* var. *ellipsoideus*:

Sú to spórotvorné kvasinky s 1 až 4 guľatými spórmi v asku. Bunky v sladine po troch dňoch pri 25 °C sú oválne až podlhovasté, niekedy tiež guľaté, veľkosti (2,5 až 9,5) × (5 až 14) μ, s pomerom dĺžky a šírky na agare až 2. Náter na agaru je mäkký, krémový, lesklý a hladký. Majú schopnosť hlboko prekvášať cukorné roztoky. Okrem monosacharidov hexózu prekvášajú tiež disacharidy, maltózu a sacharózu, a trisacharid raffinózu do jednej tretiny. Schopnosťou prekvášať galaktózu sa líšia od veľmi blízkeho druhu *Saccharomyces oviformis* (10). Dusičnan draselný ako jediný zdroj dusíka neasimilujú, s etanolom ako jediným zdrojom uhlíka rastú slabšie a esculín neštiepia.

Pri prieskume našich kmeňov [6] sme overovali najprv biochemické vlastnosti a tu sme zistili, že niektoré kmene neodpovedajú vôbec charakteristike druhu *Saccharomyces vini*. Tak napr. kmene Szerednye 28 44, Sauterne 28 55, Rača 1 28 76, Tokaj 7 28 62, Cimljanskije 28 121, sú podľa biochemického charakteru *Saccharomyces oviformis*. Nakoľko možno, alebo nemožno oddelovať tento druh od *S. vini* je riešeno v inej práci [10]. Minárik [11] zistil, že kmeň Herrliberg odpovedá skôr charakteristike *Saccharomyces carlsbergensis* v širšom slova zmysle. Tiež niekoľko ďalších kmeňov sme vyradili hneď na počiatku výberu.

Tak sme vytriedili veľmi zhruba biochemicky rovnocenný materiál v taxonomickom poňatí a tento sme roztriedili podľa tvarových rozdielov. Dávnejšie roztriedenie sme nielen doplnili o ďalšie kmene, ale všetky kmene sme znova prešetrili. U niektorých sme dostali výsledky trochu odchylné, u druhých boli rozdiely nepreukazné. Roztriedili sme ich podľa pomeru dĺžky a šírky tak, že uvádzaný koeficient značí koľkokrát je priemerná dĺžka buniek väčšia ako priemerná šírka.

I. skupina: bunky guľaté s d/š 1,0 až 1,1

II. a skupina: bunky oválne s d/š 1,1 až 1,2

II. b skupina: bunky oválne s d/š 1,1 až 1,3

III. skupina: bunky podlhovasté s d/š väčším ako 1,3

Vo vnútri týchto skupín boli vybrané tie kmene, ktoré ležia v rovine aritmetického priemeru dĺžky buniek tak, ako u predchádzajúceho druhu. V roz-

*) Podľa najnovšie prevedenej typizácie (pôvodne kmeň Holešovice).

medzi ohraničenom preukaznosťou rozdielu aritmetického priemeru dĺžok sme vybrali kmene domáceho pôvodu, ktoré sa od údajov minulého triedenia [2] preukazne neodchýlili. Sú to:

I. skupina: kmeň „Myslenice“, č. katalogu 28 75

II. a skupina: kmeň „Radošinná 1“, č. katal. 28 65

II. b skupina: kmeň „Malá Třňa“, č. katal. 28 70

III. skupina: kmeň „Borievky“, č. katal. 28 39

Tieto kmene teda podľa základnej taxonomickej charakteristiky sú typickými predstaviteľmi druhu *Saccharomyces vini*, vyskytujúcich sa u nás, v rozpätí možnej variability vo vnútri druhu.

Avšak charakteristika týchto kmeňov sa môže ešte doplniť o spôsob, ako odolávajú tieto kmene vyššiemu obsahu cukru a alkoholu v prostredí. Ukázalo sa totiž, čím sú kmene zagulateniejšie, tým lepšie znášajú vyššiu cukornatosť muštov a hlbšie prekvasujú, zatiaľčo kvasinky podlhovasté sú schopné lepšie dokvasovať. Tieto kvasinky tiež lepšie znášajú vysoký obsah alkoholu. [12]

Týmto ohodnotením vínnych a pivovarských kvasiniek sme previedli výber najtypickejších zástupcov, ktorí môžu slúžiť k širokému použitiu vo výskume a výsledky týchto pokusov sa môžu potom porovnávať a hodnotiť. To však neznamená, že výber kmeňov v oblasti pivovarských a vínnych kvasiniek je už skončený, no naopak musíme to pokladať za prvý krok. Je treba, aby boli vyhodnotené ďalšie kmene pre špeciálne ciele, napr. s ohľadom na prítomnosť kyslíčnika siričitého, na rôznu teplotu kvasenia, podľa potreby rôznych látok, podľa ploidity, pre vyšší obsah surogátov, pre kontinuálne procesy apod. Predpokladá sa však, že každý takýto výber bude usporiadaný s ohľadom na základné typické vlastnosti už uvedených predstaviteľov.

ТИПИЗАЦИЯ ПИВНЫХ И ВИННЫХ ДРОЖЖЕЙ

В статье приводятся результаты систематической оценки свойств некоторых выбранных штаммов пивных и винных дрожжей. Типичные представители изучаемых штаммов могут служить в качестве эталонов при дальнейших экспериментально-исследовательских работах. Автор рекомендует продолжать начатые работы и распространить изучение на более широкий сортимент дрожжей. При их изучении следует обращать особое внимание на присутствие сернистого ангидрида, температуру брожения, на поведение дрожжей при повышенном содержании разных примесей в сбраживаемой среде, на соответствие свойств штаммов с требованиями технологии непрерывного производства итд.

TYPISIERUNG DER BRAU- UND WEINHEFEN

Die Verfasserin hat in ihrem Laboratorium die Auswahl und Bewertung von Brau- und Weinhefen durchgeführt. Die typischsten Vertreter können speziellen Zwecken dienen und die Versuchsergebnisse können verglichen werden. Es wird die Auswertung weiterer Stämme vorgeschlagen, und zwar mit Hinsicht auf die Anwesenheit von Schwefeldioxyd, auf verschiedene Gärungstemperaturen, auf den höheren Rohfruchtanteil im Brauprozess und auf die kontinuierlichen Gärverfahren.

STANDARDIZATION OF BEER AND WINE YEAST

The authoress has selected, classified and evaluated several strains of beer and wine yeasts. The most typical of them, i. e. strains with distinctly defined properties, can be taken as standards for comparison tests. The authoress recommends to extend the research work, study more strains and pay a special attention to the presence of sulphur dioxide, fermentation temperature, properties important for continuous technology, behaviour of rawcereals in mixtures consisting of several components etc.

Má to však jednu dôležitú požiadavku. Vybrané kmene musia byť udržiavané tak, aby sa v základných vlastnostiach, čo najmenej odchýlili od raz stanovenej charakteristiky. Musí sa tu zdôrazniť, že úschova typických druhov nie je tak neľahká, ako by sa zdálo na prvý pohľad. Prekontrolovali sme už niekoľkokrát vlastnosti pivovarských aj vínnych kvasiniek, ktoré udržiujeme a zistili sme, že ich vieme udržiavať pomerne veľmi dobre, bez toho, že by sa vo svojich vlastnostiach preukazne menili.

Vybrané kmene udržiujeme v Chemickom ústave ČSAV v Bratislave, Szabóova 15, avšak uložíme ich aj do iných zbierok a budeme ich čas od času prekontrolovať, či sa nezmenili a vymenovať za také kultúry, ktoré sa budú vlastnosťami najviac približovať pôvodnej charakteristike.

Literatura

- [1] Lodder J., Kreger van Rij R. N. W.: The Yeasts, a taxonomic study. Amsterdam 1952.
- [2] Kocková-Kratochvílová A.: Kvasinky, SVTL Bratislava 1957.
- [3] Kocková-Kratochvílová A., Kutková M.: Atlas kvasinek a kvasinkovitých mikroorganizmů, SNTL Praha 1961.
- [4] Kocková-Kratochvílová A., Nečásek J.: Zur Frage der Bestimmung der Hefearten nach ihrer Zellgröße, Mikroskopie, Ztbl. f. Mikrobiologische Forsch. 7, 2 (1952).
- [5] Kolektiv: Technologie sladu a piva, SNTL Praha 1954.
- [6] Kocková-Kratochvílová A.: Slovenské čisté kultúry pivovarské, SVTL Bratislava 1960.
- [7] Kocková-Kratochvílová A., Vavruchová A., Nováková D.: Význam správného pěstování technických mikroorganizmů, Průmysl potravin 2, 305 (1951).
- [8] Kocková-Kratochvílová A.: Hodnocení růstu kvasinek. Průmysl potravin 2, 65 (1951).
- [9] Vavruchová A., Kocková-Kratochvílová A., Nováková D.: Mikrobiologické hodnocení sladů, Průmysl potravin 3, 491 (1952).
- [10] Kocková-Kratochvílová A., Vojtková-Lepšíková A., Fischerová M.: Die Bedeutung der Gärungstypen bei der Bestimmung der Hefen und hefeartigen Mikroorganismen. Brauwissenschaft 14, 210 (1961).
- [11] Podľa osobného zdelenia.
- [12] Kocková-Kratochvílová A., Drobnica E.: Roztřídění vinných kvasinek, Přeslia 29, 269 (1957).

Došlo do redakcie 10. 1. 1962