

Typizace kmenů pivovarských kvasinek

RNDr. O. BENDOŤÁ, CSc., V. KURZOVÁ, prom. biolog, Ing. B. PARDONOVÁ, Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, Praha

663.12
582.282.232

Do redakce došlo 20. 3. 1970

Úvod

Hlavní kvašení a dokvašování je důležitou etapou výroby piva, protože během tohoto procesu získává mladina požadovaný charakter chuti a aromatu a mění se v pivo. Použité kvasnice ovlivňují nejen průběh kvašení a dokvašování, nýbrž i chemické složení piva, jeho trvanlivost a organoleptické vlastnosti, a proto je třeba věnovat výběru jejich kmenů mimořádnou pozornost, zejména pak, pokud jde o jejich aplikaci pro určité typy piva.

Jak známo, zahrnují pivovarské kvasinky dva druhy, a to *Saccharomyces carlsbergensis* a *Saccharomyces cerevisiae*, lišící se vzájemně typem zkvašování rafinózy. *Saccharomyces carlsbergensis* zkvašuje rafinózu úplně, zatímco *Saccharomyces cerevisiae* pouze do jedné třetiny. Rozdíl je v tom, že druhy vyznačující se neúplným zkvašováním rafinózy obsahují invertázu, s jejíž pomocí odštěpují z rafinózy fruktózu, kterou zkvašují. Naproti tomu se při úplném zkvašování rafinózy štěpí též α -(1,6)-vazba melibiózy mezi glukózou a galaktózou, a tedy všechny tři složky rafinózy mohou být zkvašovány. Po stránce technologické se oba druhy liší typem kvašení. Pro *Saccharomyces carlsbergensis* je typické kvašení spodní, pro *Saccharomyces cerevisiae* převážně kvašení svrchní. U obou druhů existuje hlavní skupina kmenů, které odpovídají vlastnostem základního typu, označovanému jako modoform. Kolem každého základního typu se tvoří okrajové skupiny, jejichž kmeny se v jednotlivostech liší a tvoří přechody k příbuzným druhům. Například k *Saccharomyces carlsbergensis* se systematicky blízko řadí

Saccharomyces logos a *Saccharomyces uvarum*. Kvasinky se pochopitelně nejsnáze typizují na základě kvalitativních znaků, které specifikují přítomnost či nepřítomnost určité vlastnosti. Znaky kvantitativní označují pouze míru dané vlastnosti a mají v určitém rozmezí tendenci k variabilitě. Jsou analogické se znaky morfologickými tím, že poskytují méně spolehlivý základ pro typizaci kmenů než znaky kvalitativní. Proti tomu je zavedení kvantitativních znaků zcela nezbytné při třídění kmenů z hlediska jejich praktického použití. Při typizaci kmenů se tedy vychází ze znaků morfologických, biochemických, popř. i sérologických, a to kvalitativních i kvantitativních.

Po stránce morfologické lze jednotlivé kmeny tříditi podle rozměrů buněk, tedy podle délek a šířek a jejich vzájemného poměru, korelačního koeficientu a poměru povrchu k objemu. Tvar i velikost buněk závisí na složení a vlastnostech prostředí. V médiu vyhovujícího složení jsou jednotlivé kmeny morfologicky stálé. Nepříznivé složení živné půdy a mnohonásobné vedení se projevuje ztrátou tvarové vyrovnanosti kultury. Technologický vliv těchto změn vyplývá z toho, že tvar a rozměry buněk určují celkovou plochu povrchu, kterou se děje výměna látková.

Podle vzájemného poměru délek a šířek dělí Kocková-Kratochvílová [12] testované kmeny do 4 skupin, a to pro kulaté buňky do 1,1, středně oválné do 1,2 a protáhlé buňky do 1,3 a nad 1,3. Korelační koeficienty délek a šířek určují jejich tva-

rovou vyrovnanost, která je tím větší, čím více se hodnota koeficientu blíží k 1. Biologický význam kvocientu povrch/objem je zřejmý a lze jej s úspěchem aplikovat při typizačních testech. Rozdíly ve zjištěných hodnotách zpravidla korelují se stupněm ploidity buněk [20]. Jsou-li tyto hodnoty menší než 1, jde o kvasinky triploidní až polyploidní, jako je tomu u *Saccharomyces carlsbergensis*, hodnoty 1 až 1,5 se vztahují k diploidním a větší než 1,5 k haploidním buňkám.

K dalším morfologickým znakům patří tvorba pseudomycelia. Ta může být ovlivněna nejen vnějšími faktory, jako je kyslík a povrchové napětí, nýbrž i vnitřními, tj. geneticky. Při zachování stálých, metodikou určených podmínek rozeznáváme kmeny, které pseudomycelium netvoří, typy s rudimentárním pseudomyceliem a konečně typy tvořící pseudomycelium větvené. Tvorba diferencovaného pseudomycelia nepřípadá u pivovarských kvasinek v úvahu.

Vzhled obřích kolonií se zprvu posuzoval především při zjišťování biologického složení várečných kvasnic. Později se toto morfologické kritérium začalo uplatňovat i při ověřování diferencí mezi jednotlivými kvasničními druhy, rovněž i kmeny [3, 12, 13, 14, 19]. Richards [19] propracoval tuto metodu a podle vzhledu obřích kolonií roztrídil 80 testovaných kmenů *Saccharomyces cerevisiae* do 6 skupin. Zařazování jednotlivých kmenů do skupin závisí podle něho na rozsahu a charakteru růstu buněk ve středu kolonie, na tom, do jaké míry je povrch a okraj kolonie hladký či drsný a zda je povrch lesklý či matný. Podobně, avšak jednodušeji třídí obří kolonie Kocková-Kratochvílová [12, 13] na hladké (S), drsné (R) a přechodný typ (SR).

Kromě znaků morfologických se při typizaci kvasničních kmenů sledují rovněž znaky fyziologické a biochemické. Patří sem sporulační schopnost, při níž se zpravidla hodnotí počet spor vytvořených ve vřetku. U *Saccharomyces carlsbergensis* je však sporulace zpravidla do značné míry potlačena, takže je pro typizaci kmenů tohoto druhu méně významná. Dále se hodnotí růstová schopnost a sedimentace kvasinek. Ta úzce souvisí s flokulací buněk, která je ovládána geneticky, avšak projevuje se úměrně vnějším vlivům. I když celkově nejsou příčiny flokulace zcela objasněny, uvádí se, že pochody k ní vedoucí jsou lokalizovány v buněčné stěně. V současné době je již dostatečně známo, že se u flokulujících kvasinek koncem kvašení značně snižuje obsah mannanu v buněčné stěně, a že se zvyšuje jejich adsorpční síla. Má se za to, že mannan je regulátorem této schopnosti a že flokulující kvasinky jsou spojeny můstky z Ca-iontů mezi karboxylovými skupinami na povrchu buněk [24]. Z hlediska technologické upotřebitelnosti kmenů je důležité, zda a kdy flokulace nastává, jaká je sedimentační rychlost a konzistence sedimentu. S různými flokulačními typy, počínaje výrazně flokulujícími až po typy neflokulující, tzv. prachové, se setkáváme u různých kvasničních kmenů, jak spodních, tak svrchních. Jak známo, souvisí s touto vlastností do značné míry i kvasná schopnost kmenů, neboť celý povrch kvasničné buňky se podílí na

výměně látkové, a proto tedy zpravidla, čím více buňky flokulují, tím menší je povrch kvasnic a tím i stupeň prokvašení.

Typizace kvasničních kmenů se doplňuje ještě dalšími znaky, jako je osmofilie, tolerance k etanolu a fosfomolybdenanový test [13].

Z biochemických znaků se u kvasinek sleduje především asimilace a zkvašování různých druhů cukrů. U pivovarských kvasinek nepřípadají v úvahu rozdíly u základních cukrů, jako je pozitivní asimilace a zkvašování glukózy, galaktózy, maltózy, sacharózy a negativní u laktózy. Diference lze zaznamenat při zkvašování rafinózy a maltotriózy. Význam prvního znaku pro diferenciaci je nesporný a není třeba jej dále rozvádět. Podobně je tomu se zkvašováním maltotriózy, které slouží jako vhodný znak pro rozlišování různých druhů rodu *Saccharomyces* [2]. Pro typizaci kmenů, a to právě *Saccharomyces carlsbergensis*, je tento znak z kvalitativního hlediska málo významný, protože je zpravidla pozitivní. Procentuální zastoupení maltotriózy mezi zkvasitelnými cukry mladiny není bez významu (uvádí se 15 až 20 %), a proto se pozornost obrací spíše ke kvantitativním rozdílům při zkvašování tohoto trisacharidu různými kmeny pivovarských kvasinek a při výběru se dává přednost kmenům se zvýšenou schopností jej zkvašovat. Sem patří práce Hupeho [8], Harrise a Thompsona [4], Harrise a Watsona [5] u Millina a Springhama [17]. Přestože se tady přisuzuje důležitost především kvantitativnímu hodnocení, uvedli již v roce 1952 Green a Stone, že zjistili kmeny *Saccharomyces cerevisiae* i *Saccharomyces carlsbergensis*, které tuto vlastnost postrádaly a jejichž přítomnost ve várečných kvasnicích měla nepříznivý vliv na průběh kvašení [18]. Touto otázkou se zabývali i japonští autoři Yamamoto a Inoue [26], kteří sledovali maltotriózonegativní kmeny *Saccharomyces carlsbergensis* a *Saccharomyces cerevisiae* ve směsné kultuře s maltotriózopozitivním *Saccharomyces carlsbergensis* během zkvašování mladiny. Pozorovali, že negativní kmeny mají rychlejší začátek růstu, flokulace i sedimentace, méně hluboko prokvašují a v sebraných kvasnicích zvyšují své procentuální zastoupení.

Sérologické metody se již velmi dlouho uplatňují v bakteriologii při různých identifikačních testech. V nedávné době se však začaly uplatňovat i při určování kvasinek, a to zejména při diferenciaci kvasinek kulturních a divokých. Kromě toho se doporučuje pracovat sérologickými metodami i při typizaci produkčních kmenů. U nás se touto problematikou zabývali Kocková-Kratochvílová a Šandula [15], kteří porovnali při sérotypizaci řady druhů a jejich kmenů včetně produkčních metodu aglutinační a Ouchterlonyho precipitační metodu, již dávají přednost. Zjistili, že domácí kmeny jsou většínou ve své antigenní skladbě poměrně vyrovnané, avšak kmeny zahraničního původu jeví podstatnější rozdíly.

Kvasničné kmeny pochopitelně mohou vykazovat rozdíly i v produkci řady metabolitů, především těkavých látek, které mají významný podíl na jejich vlivu na chuťové vlastnosti piva. Z tohoto hlediska by bylo velmi užitečné provést typizaci kmenů i po-

dle těchto znaků. Tvorba těkavých látek představuje však velmi širokou problematiku, jejíž řešení je časově náročné, a to zejména u velkého počtu sledovaných kmenů. Proto se předložená práce dotýká této problematiky pouze zčásti.

Metodika a materiál

Morfologické hodnocení kvasničných kmenů

Délky a šířky kvasničných buněk se měřily vždy u 100 jedinců kultury pěstované za stejných podmínek [9]. Ze změřených hodnot se vypočetly aritmetické průměry, příslušné střední chyby, délkošířkové poměry a korelační koeficienty délek a šířek.

Kvocient povrch/objem se počítal z průměrných hodnot rozměrů buněk jako rotačních elipsoidů. Jeho hodnoty se odčítaly z nomogramu [18].

Tvorba pseudomycelia se sledovala u sklíčkových kultur na cibulovém agaru [9].

Vzhled obřích kolonií se hodnotil po jednoměsíční kultivaci na sladidlovém agaru při 17 až 20 ° [12].

Sporulační schopnost se sledovala na acetátovém agaru podle Fowella [12].

Asimilace a zkvašování cukrů se hodnotilo podle výsledků kultivace testovaných kmenů v kvasničné vodě s přísadou jednotlivých cukrů. Pro sledování schopnosti utilizovat maltotriózu se kmeny pěstovaly na speciální půdě, z níž byly cukry jednodušší než maltotrióza odstraněny zkvašením kmenem *Saccharomyces cartilaginosus* [13]. Způsob zkvašování rafinózy a maltotriózy se vyhodnocoval chromatograficky.

Kvasná schopnost zkoušených kmenů se posuzovala podle prokvašení 10 % mladiny ve skleněných válcích s kónickým dnem (zhotovených v modifikované formě podle Weinfurtnera [21] s přihlédnutím ke zkušenostem jiných autorů [16, 27]. Kvašení probíhalo při 8 °C po dobu 7 dní v mladině stejného složení. Počáteční počet buněk byl vždy přibližně 6 miliónů v 1 ml. Inokulum se připravovalo postupným pomnožením zkoušeného kmene, uchovávaného na sladidlovém agaru, v 10 % mladině při 25°, 20°, 12° a 8 °C.

Sedimentační schopnost kmenů se měřila podle množství sedimentu kvasnic v prodloužené kalibrované části kónického dna kvasných válců po skončeném kvašení.

Test s kyselinou fosfomolybdenovou se prováděl kultivací kmenů na půdě vhodného složení a posouzením intenzity zbarvení kultury [6, 13].

Osmofilie se hodnotila podle růstu a kvašení kmenů v médiu obsahujícím 5 % kvasničnou vodu, 10 % glukózy a 5 % NaCl [12].

Tolerance k etanolu se sledovala v 8 % sladidlové, obsahující stoupající koncentrace etanolu [12].

Aglutinační sérologická reakce, založená na vzájemném působení antigenní struktury kvasinek s vhodným antiserem (v daném případě bylo vyrobeno imunizací králíka kmenem 48—63, Chem. úst. SAV, projevujícím nejtypičtější vlastnosti *Sacch. carlsb.*), se kvantitativně vyhodnocovala největším zředěním, při němž je reakce ještě zřetelná [15].

Seznam kmenů pivovarských kvasinek

číslo	označení kmene	původ	získán v r.
1		Pivovar 1	1964
2		Pivovar 2	1964
3	kmen C	Pivovar 3	1964
4	kmen B	Pivovar 4	1964
7	kmen H	Pivovar 5	1964
9	kmen A	Pivovar 6	1964
10	kmen H	Pivovar 7	1964
12	kmen F	G. Sedlmayer-Franziskaner-Spaten-Bräu München	1966
31		Brewing Industry Research Foundation The Institute of Brewing, Nutfield, Surrey, G. Britain S. Windisch (Bottom fermentation brewing strains)	1966
32		—	—
33		—	—
34		—	—
41		Brewing Industry Research Foundation The Institute of Brewing, Nutfield, Surrey, G. Britain F. Weinfurtnern (Bottom fermentation brewing strains)	1966
42		—	—
43		—	—
44		Brewing Industry Research Foundation The Institute of Brewing, Nutfield, Surrey, G. Britain R. S. W. Thorne (Bottom yeast)	1966
45		—	—
46	kmen B	Forschungsinstitut für die Gärungsindustrie, Enzymologie und technische Mikrobiologie der DDR VEB Berliner Kindl-Brauerei	1967
47	kmen A	—	—
56	kmen MAB	Mainz-Rotterdam	1967
57	kmen UD 1	Hansen-Brauerei Dortmund	1967
58	kmen UD 11	Hansen-Brauerei Dortmund	1967
59	kmen U	Dortmunder Union-Brauerei	1967
70	kmen 57-44	University of California, USA	1967
77		Pivovar Tuborg, Dánsko	1967
78		Pivovar Tuborg, Dánsko	1967
80	kmen W 1	Pivovar Schwechat, Rakousko	1968
81	kmen W 2	Pivovar Schwechat, Rakousko	1968
82	kmen W 3	Pivovar Schwechat, Rakousko	1968
83	kmen BR-1	Pivovar Schwechat, Rakousko	1968
84	kmen BR-2	Pivovar Schwechat, Rakousko	1968
85	kmen BR-3	Pivovar Schwechat, Rakousko	1968
86	kmen H ₂	Chemický ústav SAV, Bratislava	1968
87	kmen H ₃	Chemický ústav SAV, Bratislava	1968
88	kmen H ₂₄	Chemický ústav SAV, Bratislava	1968

Pozn.: Kmeny č. 38 až 88 jsou hybridy *Saccharomyces carlsbergensis* a *Saccharomyces cerevisiae*.

Pokusná část

V naší ústavní sbírce uchováváme několik desítek kmenů pivovarských kvasinek převážně zahraničního původu. Účelem naší práce bylo bližší poznání jejich vlastností pro příští výběr kmenů k eventuálnímu praktickému použití. Z celkového počtu uchovávaných kmenů jsme 35 kmenů typizovali sledováním řady jejich morfologických, fyziologických, biochemických a rovněž i sérologických znaků.

Tabulka 1 uvádí délky a šířky testovaných kmenů, jejich příslušné střední chyby, délkošířkové poměry, korelační koeficienty a kvocienty povrch/objem. Distribuci zjištěných hodnot znázorňují grafy 1 a 2.

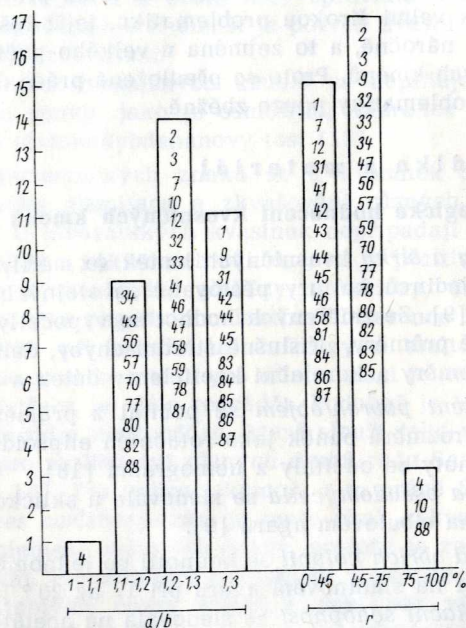
Jedním z nejdůležitějších znaků je délkošířkový poměr, který charakterizuje tvar kvasničné buňky. Z tabulky 1 a grafu 1 je vidět, že z celého souboru 35 kmenů pouze jediný má buňky kulaté, v 9 případech středně oválné a u většiny více či méně protáhlé. Korelační koeficienty délek a šířek vyjadřují tvarovou vyrovnanost, která je nejvyšší pouze ve 3 případech (č. 4, 10, 88), zatímco u většiny kmenů se pohybuje mezi 45 až 75 %. Poměrně velký počet kmenů má nízké korelační koeficienty, které bývají zpravidla u kmenů s délkošířkovým poměrem větším než 1,3. V našem případě je tomu tak asi u poloviny těchto případů.

Tabulka 1. Morfologické vlastnosti zkoušených kmenů

Kmen	\bar{a}	$s_{\bar{a}}$	\bar{b}	$s_{\bar{b}}$	a/b	r	p/o
1	8,64	0,111	6,51	0,0765	1,33	0,32	0,86
2	7,95	0,1036	6,50	0,0954	1,22	0,46	0,87
3	8,16	0,1425	6,26	0,0945	1,30	0,52	0,88
4	7,29	0,1089	6,79	0,0980	1,07	0,78	0,86
7	7,31	0,1420	5,79	0,0989	1,26	0,43	0,97
9	8,89	0,1224	6,70	0,0893	1,33	0,47	0,84
10	8,67	0,1209	7,15	0,1086	1,21	0,78	0,79
12	8,22	0,1083	6,69	0,0887	1,23	0,06	0,86
31	8,02	0,1264	5,87	0,0842	1,37	0,40	0,93
32	8,63	0,1671	6,82	0,1189	1,26	0,63	0,82
33	8,17	0,1573	6,32	0,1308	1,29	0,71	0,83
34	7,26	0,0966	6,08	0,0993	1,19	0,50	0,93
41	8,32	0,1206	6,45	0,0947	1,29	0,42	0,88
42	8,64	0,1347	6,43	0,1004	1,34	0,30	0,86
43	8,03	0,1081	6,83	0,1030	1,18	0,43	0,84
44	8,61	0,1891	5,53	0,0846	1,56	0,01	0,96
45	9,14	0,1491	6,45	0,1065	1,42	0,07	0,86
46	7,62	0,1066	6,06	0,0974	1,26	0,40	0,94
47	7,79	0,1184	6,38	0,0995	1,22	0,66	0,88
56	7,55	0,0795	6,54	0,0863	1,15	0,51	0,88
57	8,06	0,1080	7,07	0,1022	1,14	0,64	0,83
58	8,09	0,1071	6,59	0,1019	1,23	0,42	0,86
59	8,74	0,1557	6,80	0,1363	1,28	0,69	0,83
70	7,76	0,1040	6,68	0,1085	1,16	0,75	0,87
77	9,74	0,1480	8,52	0,1316	1,14	0,59	0,68
78	9,06	0,1270	7,08	0,1469	1,28	0,51	0,79
80	7,05	0,0912	6,19	0,0815	1,14	0,63	0,93
81	7,86	0,1056	6,21	0,0988	1,27	0,42	0,90
82	6,60	0,1107	5,60	0,0951	1,18	0,75	1,03
83	8,12	0,1306	6,20	0,0985	1,31	0,56	0,90
84	8,81	0,1215	6,45	0,1013	1,37	0,01	0,86
85	8,74	0,1010	6,64	0,0970	1,32	0,51	0,85
86	8,58	0,1759	6,10	0,1098	1,41	0,30	0,90
87	8,32	0,1661	6,29	0,1209	1,32	0,22	0,88
88	7,41	0,1280	6,60	0,1150	1,12	0,84	0,88

\bar{a} = průměrná délka buněk v μm
 $s_{\bar{a}}$ = střední chyba průměrné délky
 \bar{b} = průměrná šířka buněk v μm
 $s_{\bar{b}}$ = střední chyba průměrné délky
 a/b = délkošířkový poměr
 r = korelační koeficient délek a šířky
 p/o = kvocient povrch/objem buněk

Velikost buněk se posuzuje podle jejich délek. Z průměrných hodnot délek všech testovaných kmenů byla vypočtena průměrná hodnota (8,17 μm) a příslušná střední chyba průměru. Těmito hodnotami byly testovány rozdíly průkaznosti při 5 % pravděpodobnosti. Středně velké jsou ty kmeny, jejichž průměrná délka se prokazatelně neliší od hodnoty



Obr. 1. Graf četnosti a/b a r

8,17 μm . Do této skupiny patří 11 kmenů. Další skupina 11 kmenů má malé buňky, protože jejich průměrné délky jsou prokazatelně nižší než 8,17 μm . U 13 kmenů jsou podle tohoto kritéria buňky velké. Z grafu 2 je rovněž vidět, že tyto buňky mají délkošířkový poměr větší než 1,2 (s výjimkou kmene č. 77 — viz tab. 1), a že tedy mají více či méně protáhlý tvar. Naproti tomu malé buňky jsou převážně středně oválné, přirozeně se k nim řadí i kmen č. 4 se svými kulatými buňkami, avšak jsou zde zastoupeny i 4 kmeny s délkošířkovým poměrem 1,2 až 1,3. Kmeny s buňkami střední velikosti jsou více či méně protáhlé s výjimkou středně oválných kmenů č. 43 a 57. Kvocient povrch/objem uvedené v posledním sloupci tabulky 1 jsou prakticky ve všech případech menší než 1, což je pro *Saccharomyces carlsbergensis* charakteristické. Výjimku představuje kmen č. 82.

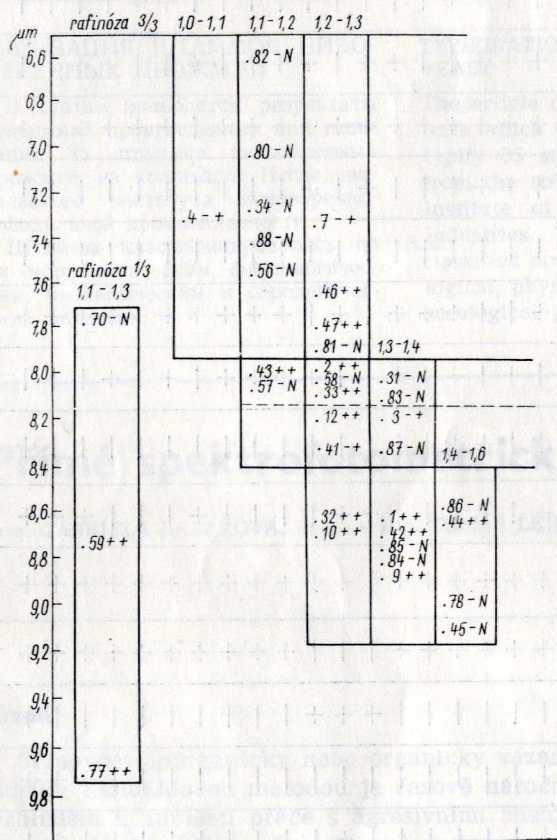
Mikroskopováním skličkových kultur na cibulovém agaru jsme zjistili, že proti očekávání několik kmenů tvoří na okraji kolonií větvené pseudomycelium, zhruba u 30 % testovaných kmenů vzniklo v rudimentární formě, zatímco poněkud více než 50 % kmenů pseudomycelium nemá.

Z dalších morfologických znaků byl hodnocen vzhled obřích kolonií. Téměř ve všech případech byly tyto kolonie hladké (S), pouze u 3 kmenů, a to u č. 44, 70 a 87 byly přechodného typu mezi S- a R-formou. Tento typ se výrazně projevil u hybridního kmene č. 87.

Sporulační schopnost postrádají prakticky všechny kmeny s výjimkou hybridních kmenů č. 86, 87 a 88. U *Saccharomyces carlsbergensis* je ztráta sporulace celkem obvyklý jev.

Všechny zkoušené kmeny asimilují a zkvašují glukózu, maltózu, sacharózu, galaktózu a neasimilují a nezakvašují laktózu. Při zkvašování byly zaznamenány kvantitativní rozdíly pouze ve 3 přípa-

dech. Jsou to kmeny č. 59, 70 a 77, které zkvašují uvedený trisacharid pouze do jedné třetiny, zatímco všechny ostatní kmeny včetně hybridů jej zkvašují úplně. Protože zkvašování rafinózy slouží jako důležitý znak pro diferenciaci *Saccharomyces carlsbergensis* a *Saccharomyces cerevisiae*, vyčlenili jsme uvedené kmeny ze skupiny kmenů prvního druhu (graf 2). Pro *Saccharomyces carlsbergensis* je typická utilizace maltotriózy, což ve většině případů kmenů testovaných v této práci souhlasí až na dvě výjimky. Jsou to kmeny č. 70 a 77, které zkvašují rafinózu do $\frac{1}{3}$, avšak využívají maltotriózu, zatímco u kmene č. 59 tomu tak není (tab. 2). Toto zjištění nepřekvapuje, protože jsou známy kmeny *Saccharomyces cerevisiae*, jak maltotriózopozitivní, tak i negativní. Naproti tomu kvocient povrch/objem je u těchto 3 kmenů pod hodnotou 1, zatímco se pro kmeny *Saccharomyces cerevisiae* uvádějí hodnoty vyšší než 1 [12]. Typ tvorby pseudomycelia je u všech 3 kmenů odlišný.

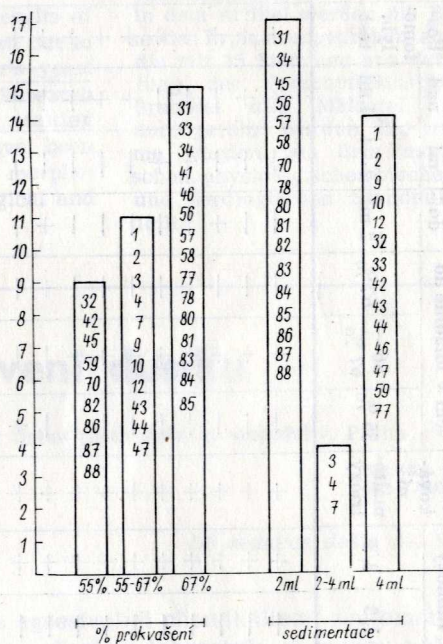


Obr. 2. Graf četnosti prokvašení a sedimentace

Test s kyselinou fosfomolybdenovou byl u všech kmenů pozitivní s výjimkou kmene č. 82. S tím se shoduje i jeho velmi nízká růstová konstanta a kvasná schopnost. I podle vzhledu nátěru na agaru jevil tento kmen známky degenerace.

Podle stupně zdánlivého prokvašení 10% mladiny, probíhajícího za daných laboratorních podmínek,

rozdělili jsme zkoušené kmeny do 3 skupin (graf 3). V první skupině jsou zastoupeny kmeny hybridní a ze 3 kmenů s neúplným zkvašováním rafinózy kmen č. 70 a 59. U kmene č. 59 lze nízké prokvašení uvádět do souvislosti s jeho neschopností využívat maltotriózu. Třetí skupina obsahuje kmeny, které nesedimentují nebo sedimentují velmi málo. Výjimkou je kmen č. 33. Rozdělení této vlastnosti mezi jednotlivé kmeny znázorňuje opět graf 2. Je zde vidět určitou souvislost sedimentační schopnosti a velikosti buněk. Kmeny s malými buňkami převážně nesedimentovaly, zatímco u kmenů představujících velký morfotyp převládala výrazná sedimentační schopnost. Dostatečný stupeň prokvašení a sedimentační schopnost je důležitým znakem pro posouzení praktické upotřebitelnosti kmenů v provozních podmínkách. Pomineme-li však prvních 8 kmenů, používaných v našich pivovarech, jeví se z tohoto hlediska upotřebitelnými kmeny č. 33, 41, 43, 44, 46, 47 a 77. K tomu však, aby bylo možno doporučit kmeny k praktické aplikaci, je třeba převést zkoušky do většího měřítka a posoudit vlastnosti hotového piva jak po stránce analytické, tak i organoleptické.



Obr. 3. Morfologické vlastnosti kmenů a jejich vztah k sedimentaci

Jak je patrné z tabulky 2, byly u všech kmenů provedeny rovněž testy na osmofilii s tolerancí vůči alkoholu. Ve většině případů nejsou kmeny osmofilní a snáší koncentraci etanolu do 8 %.

Ve spolupráci s mikrobiologickým oddělením Chemického ústavu SAV byla provedena sérotypizace testovaných kmenů. Použilo se aglutinační metody, která je časově méně náročná než metoda precipitační. Zjištěné výsledky je třeba vzhledem k použité metodě považovat za první stupeň informace o sérologických vlastnostech našich kmenů.

Při jejich hodnocení překvapuje zcela negativní reakce u kmene č. 46, zatímco kmeny č. 2 a 4 mají oproti ostatním kmenům reakci silně pozitivní. Kmeny s $1/3$ -zkvašováním rafinózy dávají výsledky značně odlišné. U č. 77 byla reakce zcela negativní, u č. 70 slabá, avšak kmen č. 59 vykazoval reakci pozitivní. Tento výsledek nepřekvapuje, protože uvedené sérum pozitivně reaguje i s některými kmeny *Saccharomyces cerevisiae* [15]. Reakce hybridních kmenů byla pozitivní a z kvantitativního hlediska stejná.

Souhrn

V uvedeném článku jsou obsaženy výsledky typizačních zkoušek, provedených u 35 kmenů pivo-
varských kvasinek ze sbírky VÚPS. Kmeny byly hodnoceny po stránce morfologické, fyziologické, biochemické a sérologické.

Literatura

- [1] Dellweg, N.: Tageszeitung f. Brauerei; 149/150, 1968: 916.
[2] Gilliland, R. B.: Compt. rend. trav. Lab. Garlab. Sér. phys.; 26, 1956: 139.
[3] Hall, J.: J. Inst. Brew.; 60, 1954: 482.
[4] Harris, G. - Thompson, C. C.: J. Inst. Brew.; 66, 1960: 293.
[5] Harris, J. O. - Watson, W.: J. Inst. Brew.; 73, 1967: 274.
[6] Holland, M. L. - Kunz, L. J.: J. Bact.; 81, 1961: 869.
[7] Hough, J. S.: Brew. Guard.; 94, 1965: 17.
[8] Hupe, J.: Bull. de l'Association des Anciens Etudiants en Brasserie, Louvain; 57, 1961: 173.
[9] Kocková-Kratochvílová, A.: Praktikum technické mikrobiologie. SNTL, 1954, Praha.
[10] Kocková-Kratochvílová, A.: Kvasinky. SVTL, 1957, Bratislava.
[11] Kocková-Kratochvílová, A. - Vojtková-Lepšíková, A.: Die Naturwissenschaften; 45, 1958: 473.
[12] Kocková-Kratochvílová, A.: Fol. microbiol.; 11, 1966: 188, 200; 12, 1967: 42.
[13] Kocková-Kratochvílová, A.: Brauwiss.; 15, 1962: 390.
[14] Kocková-Kratochvílová, A. - Stuchlík, V. - Tomásek, K.: Brauwiss.; 18, 1965: 338.
[15] Kocková-Kratochvílová, A. - Šandula, J.: Kvasný průmysl; 9, 1963: 181.
[16] Lietz, P.: Monatschr. f. Br.; 14, 1961: 189.
[17] Millin, D. J. - Springham, D. G.: J. Inst. Brew.; 72, 1966: 388.
[18] Pokorná, M. - Kocková-Kratochvílová, A.: Biologie; 20, 1965: 552.
[19] Richards, M.: J. Inst. Brew.; 73, 1967: 182.
[20] Schedá, R. - Yarrow, D.: Arch. Microbiol.; 55, 1966: 209.
[21] Weinfurtnern, F. - Wullinger, F. - Piendl, A.: Brauwiss.; 14, 1961: 109.
[22] Weinfurtnern, F. - Wullinger, F. - Piendl, A.: Brauwiss.; 15, 1962: 53; 18, 1965: 187.
[23] Weinfurtnern, F. - Wullinger, F. - Piendl, A.: Brauwiss.; 14, 1961: 281.
[24] Windisch, S.: Monatschr. f. Br.; 22, 1969: 69.
[25] Thorne, R. S. W.: J. Inst. Brew.; 64, 1958: 411.
[26] Yamamoto Y. - Inoue, T.: Rep. Kirin Brew. Co. Ltd.; 5, 1962: 11, 17.
[27] Yatsushiro, T.: Wiss. Beilage, Brauerei; 1953: 41.
[28] Green, S. R. - Stone, I.: Wall. Lab. Comm.; 15, 1952: 347.