

# Pivovazství a sladažství

## Kvasinky jako kontaminanty pivovarské výroby

633.41.004.64:582.282.232

Doc. Dr. OLGA BENDOVIÁ, CSc. - VĚRA KURZOVÁ, prom. biol. - Ing. B. PARDONOVÁ, Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, Praha

Pivovarské kvasinky mají být zcela prostě nežádoucími cizími kvasničnými kmeny a druhy. Toto kritérium jejich čistoty lze však prakticky stěží zachovat. Je to proto, že i v čisté kultuře, vyvíjející se v sterilním prostředí, mohou nastat změny mutací. Mutanty se však zpravidla negativně neuplatňují. Nad původním kvasničným kmenem mohou převládnout jen výjimečně. Velmi často se zde jedná o změněnou flokulaci nebo o změnu kvasné charakteristiky (např. zkvašování maltotriózy). Závažnějším důvodem pro obtížné zachovávání požadavku na biologickou čistotu pivovarských kvasnic je možnost jejich kontaminace nežádoucími druhy v kvasném procesu výroby piva. V kvasnicích obsažené cizí kvasinky, také často označované jako divoké, se pak šíří dále, popřípadě do jiných provozů. Vyráběné pivo se může kontaminovat nežádoucími kvasinkami i v dalších úsecích výroby. Mnohdy však zjištěné kvasinkovité kontaminanty nemívají na pivo přímo škodlivý vliv. Pivovarské kvasinky prošly během dlouhé doby přirozenou selekcí, což vedlo k vypěstování kmenů zpravidla odolných vůči kontaminaci.

Přesto však mohou některé tzv. divoké kvasinky při poruše biologické rovnováhy v pivě nepříznivě ovlivnit jeho jakost tvorbou sedimentu, zákalu, nepříjemných příchutí a arómatu piva a v některých speciálních případech způsobit i další závady.

Jako kontaminanty se v pivovarské výrobě uplatňují kvasinky z čeledi *Saccharomycetaceae* a *Cryptococcaceae*. Z první čeledi byly zaznamenány především zástupci rodů *Saccharomyces*, *Pichia*, *Hansenula* a dále rodu *Debaryomyces*. Z druhé čeledi jsou to zejména rody *Candida*, *Trulopsis*, dále *Rhodotorula*, *Brettanomyces*, *Kloeckera* a rovněž byly zjištěny i příslušníci rodů *Cryptococcus* a *Trichosporon*.

Z rodu *Saccharomyces* jde jak o zástupce druhů *Sacch. cerevisiae* a jejich variet, tak i *Sacch. carlsbergensis* v závislosti na typu kvašení (spodního či svrchního) a používaného druhu kvasinek.

V tomto směru lze tedy do značné míry přiznat platnost Wilesovu výkladu pojmu divokých kvasinek [1]. Wiles uvedl, že při používání čisté kultury kvasinek s definovanou charakteristikou zahrnuje pojem divoké kvasinky všechny kvasinky, lišící se určitou jednou nebo více vlastnostmi od čisté kultury, počítaje v to i kmeny stejného druhu. Přitom je však třeba rozlišovat divoké kvasinky, které jsou prakticky neškodné, a druhy, variety či kmeny s potenciální škodlivostí pro jakost výrobku.

Z variet druhu *Sacch. cerevisiae* se mezi tzv. divokými kvasinkami uvádějí např. variety *S. cerevisiae* var. *ellipsoideus* a *S. cerevisiae* var. *turbidans* [6]. Tato druhá varieta se uvádí v souvislosti s potížemi při čechení anglických svrchně kvašených pív.

Z dalších zástupců této skupiny kvasinek sem patří *Sacch. uvarum*, s nímž je taxonomicky nově vedle *Sacch. logos* spojován i *Sacch. carlsbergensis* [7]. Podrobným šetřením Kockové-Kratochvílové a spolupracovníků byly však zjištěny významné vlastnosti, které odlišují *S. uvarum* od *S. carlsbergensis* [8]. *S. uvarum* nezksvašuje maltotriózu, má vyšší délko-šířkový poměr než *S. carlsbergensis* a produkuje více těkavých kyselin. V tomto směru je tedy známo, že nové taxonomické zařazení *S. carlsbergensis* přijímá řada odborníků s velkými výhradami.

Ve spojení s kontaminacemi, které mohou mít nepříznivý dopad na jakost piva, uváděl se dříve často jako samostatný druh *Sacch. pastorianus*. Dnes se spolu se *Sacch. oviformis* řadí do druhu *Sacch. bayanus* [7]. Negativní důsledek jeho pomnožení v pivě spočívá v tvorbě zákalu, sedimentu a změněné chuti a arómatu piva.

Dalším zástupcem kontaminantů piva z rodu *Saccharomyces* je *Sacch. diastaticus*, který se svými vlastnostmi do značné míry neliší od *Sacch. cerevisiae* s výjimkou schopnosti štěpit dextriny a škrob [11]. Proto ani hluboké prokvašení nechrání pivo před škodlivým účinkem této kontaminace, protože tyto kvasinky mají k dispozici v pivu přítomné dextriny, které štěpí na nižší cukry. Zkvašují je a působí v pivě tzv. superatenuací čili další prokvašení s nepříznivým vlivem na jakost. Tento druh přichází však zpravidla jako obávaná kontaminace anglických pív.

Mezi kvasinkami kontaminujícími pivovarskou výrobu bývá také zjišťován další zástupce uvedeného rodu *Sacch. exiguus*.

Do skupiny pivovarských kontaminantů patří z čeledi *Saccharomycetaceae* ještě další dva významné rody *Pichia* a *Hansenula*, zejména pak jejich druhy *Pichia membranaefaciens* a *Hansenula anomala*. Oba druhy rostou na povrchu tekutého živného prostředí ve formě křísovitého povlaku (tzv. křísu) a uplatňují se ve výrobě všude tam, kde mají k dispozici mladinu nebo pivo při dostatečném přístupu vzduchu.

V tomto směru se k nim úzce řadí *Candida mycoderma* (dnes nově zařazovaná jako *C. vini*), z druhé uváděné čeledi (*Cryptococcaceae*). Kromě tohoto druhu byly však



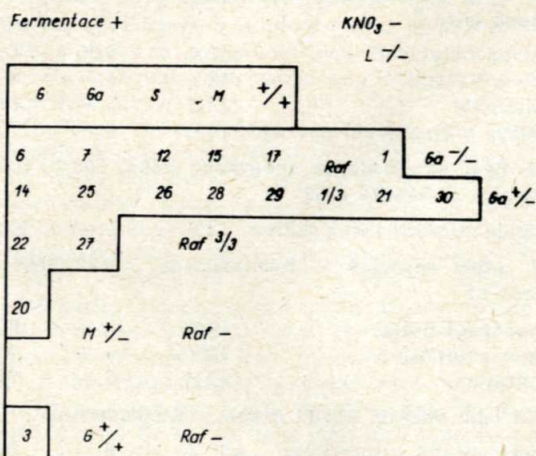
v pivech zjištěny i jiné kandidy např. *C. krusei*, *C. guillemontii*, nebo *C. albomarginata* [1, 2, 5].

Jako zástupci této čeledi byly v pivech identifikovány příslušníci rodů *Torulopsis*, *Rhodotorula*, *Cryptococcus*, *Trichosporon*, *Kloeckera* a *Brettanomyces*. U posledních dvou rodů se jedná o druh *Kloeckera apiculata*, který Wiles [1] uvádí do souvislosti např. se zákaly svrchně kvašených piv, kde tento druh provází kontaminující kmeny druhů *Sacch. cerevisiae* nebo *Sacch. carlsbergensis*. Z piva izolovaní příslušníci rodu *Brettanomyces* se vyznačují poměrně pomalým růstem, avšak značnou tvorbou kyselin. Škodlivé působení zástupců tohoto rodu v pivech je obdobné účinku *Sacch. diastaticus*. Jde tedy opět o uplatňování schopnosti zkvašovat polysacharidy vyššího polymeračního stupně, než je maltotrióza, což vede k nadměrnému prokvašení piva (k tzv. superatenuaci) a nepříjemným příchutím. Tato kontaminace je zpravidla uváděna u anglických piv ve spojitosti s druhem *Brettanomyces bruxellensis*.

Zdroje těchto hlavních rodů a druhů kvasinek, kontaminujících pivovarskou výrobu, mohou být různé. Nejpravděpodobněji mohou být cizí kvasinky do pivovaru zaneseny základními pivovarskými surovinami, jako je slad a chmel a za vhodných podmínek se mohou postupně pomnožit. Kontaminované kvasnice, dodávané z pivovaru do dalších závodů, mohou být pak zdrojem jejich dalšího šíření.

V našem ústavu jsme se zabývali otázkou, které rody, popř. druhy kvasinek jsou v našich pivech zastoupeny. Uvádíme zde poznatky ze šetření prozatím pouze 30 izolátů 10° a 12° piv různého původu.

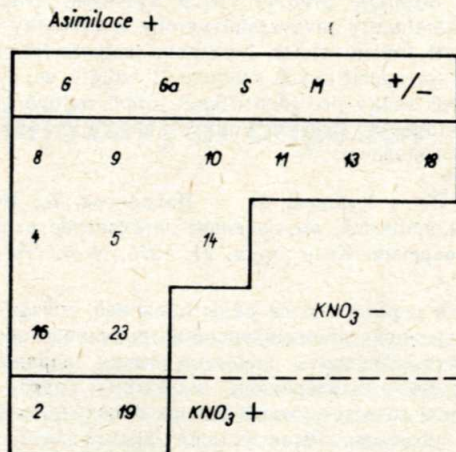
U všech izolátů byl sledován jejich růst na pevném a tekutém médiu, způsob jejich pomnožování, sporulace a tvorba pseudomycelia. Dále byla sledována asimilace a zkvašování základních cukrů (glukózy, galaktózy, sacharózy, maltózy, laktózy a rafinózy), využívání nitrátu, schopnost štěpit arbutin a některé další vlastnosti jako růst na bezvitaminovém médiu, růst při 37 °C, tvorba kyselin a rezistence k aktidionu.



Obr. 1. Izoláty cizích kvasinek

Na obr. 1 je uvedeno 17 izolátů, které nevyužívaly nitrát ( $KNO_3$ ) a neasimulovaly a nezkvašovaly laktózu. Izoláty č. 6, 7, 12, 15, 14, 17, 25, 26, 28, 29 a 22 a 27 asimulovaly a zkvašovaly glukózu, galaktózu, sacharózu a maltózu. Izolát č. 1 neasimuloval a nezkvašoval galaktózu, izolát č. 21 a 30 galaktózu pouze asimuloval. Úplné zkvašování rafinózy bylo zaznamenáno u izolátů č. 22 a 27. Izolát č. 20 nezkvašoval rafinózu a ani maltózu. Izolát č. 3 zkvašoval pouze glukózu. Všechny izoláty sporulovaly s výjimkou č. 3, který jako jediný tvořil na povrchu tekutého média křísovitý povlak. I když nebyly

provedeny všechny biochemické testy, které pro identifikaci druhů vyžaduje Lodderová [7], lze podle údajů klíče, který vypracoval Beech [12] považovat izoláty č. 6, 7, 12, 15, 17, 24, 25, 26, 28, 29 a rovněž i 21 a 30 za *Sacch. cerevisiae*, č. 22 a 27 za *Sacch. uvarum*, č. 1 za *Sacc. bayanus* (podle morfologických vlastností spíše za jeho synonymum *Sacch. oviformis*) a č. 20 za *Sacch. exiguus*. Izolát č. 3 lze zařadit do rodu *Candida*.



Obr. 2. Izoláty cizích kvasinek

sporulace	4 5 8 9 10 11 13 14 16 18 23
povrchový růst	4 5 8 9 10 11 13 16 23
pseudomycelium	2 8 9 10 11 13 16 23
pigment	2 19

Obrázek 2 uvádí 13 izolátů, které asimulovaly glukózu, galaktózu, sacharózu a maltózu a nezkvašovaly cukry. Izoláty č. 2 a 19 využívaly  $KNO_3$ . Izoláty č. 4 až 23 rostly na povrchu tekutého média v podobě křísu nebo blanky a sporulovaly, izoláty č. 2 až 23 tvořily pseudomycelium. Izolát č. 2 tvořil černý pigment, izolát č. 19 se po delší době růstu barvil slabě růžově.

S přihlédnutím k morfologickým i biochemickým vlastnostem lze izoláty č. 4, 5 a 14 zařadit do rodu *Debaryomyces*, č. 16 a 23 do rodu *Trichosporon*, č. 8, 9, 10, 11, 13 a 18 do rodu *Pichia* a č. 19 do rodu *Cryptococcus* (tvorba amyloidních sloučenin). U č. 2 lze uvažovat zřejmě o příslušnosti k *Pullularia pullulans*, kterou například zjistili mezi různými izoláty Windisch [2] a Wiles [1].

I když počet sledovaných izolátů je zatím poměrně nízký, z toho souboru vidíme, že prakticky polovina patří k rodu *Saccharomyces* a 6 izolátů k rodu *Pichia*, zatímco ostatní rody jsou zastoupeny v malém počtu nebo ojediněle. Bude naší snahou v této práci pokračovat a získat širší poznatky o zastoupení jednotlivých rodů, popřípadě druhů a zejména pak o jejich škodlivosti při výrobě piva.

## Literatura

- [1] WILES, A. E.: Brew. Digest, **36**, 1961, s. 40–46
- [2] WINDISCH, S.: Monatsschr. f. Brauerei, **15**, 1932, č. 12, s. 203–210
- [3] GILLILAND, R. B.: J. Inst. Brew. **77**, 1971, s. 276–284
- [4] GOURGEOIS, C.: Brasserie Malterie Europe, 1969, s. 31–37
- [5] WINDISCH, S.: Proc. EBC, Rome, 1959, s. 286–277
- [6] GILLILAND, R. B.: Brew. Guard. Dec. II. 1967, s. 37–45
- [7] LODDER, J.: ed. The Yeasts North Holland Publ. Comp., Amsterdam, 1970
- [8] KOCKOVÁ-KRATOCHVÍLOVÁ, A. - VOJTKOVÁ-LEPŠÍKOVÁ, A. - ŠANDULA, J. - POKORNÁ, M.: Folia Microbiologica, **11**, 1966, č. 3, s. 200–209
- [9] KOCKOVÁ-KRATOCHVÍLOVÁ, A. - POKORNÁ, M. - ŠANDULA, J.: Folia Microbiologica, **11**, 1936, č. 3, s. 188–199
- [10] KOCKOVÁ-KRATOCHVÍLOVÁ, A. - ŠANDULA, J. - VOJTKOVÁ-LEPŠÍKOVÁ, A. - KASMONOVÁ, M.: Taxometric Study of the Genus *Saccharomyces* (Meyen) Rees, Part. I., Vydav. SAV, Bratislava, 1969



- [11] GILLILAND, R. B.: J. Inst. Brew. **72**, 1966, s. 271—275  
[12] BEECH, F. W. - DAVENPORT, R. R.: Two Simplified Schemes for Identifying „Yeast Cultures v „Identification Methods for Microbiologists“, Part B. ed. B. M. Gibbs, D. A. Shapton, Acad. Press London and New York, 1968, s. 151—175

**Bendová, O. - Kurzová, V. - Pardonová, B.: Kvasinky jako kontaminanty pivovarské výroby.** Kvas. prům. **21**, 1975, č. 5, s. 100—102.

Článek obsahuje přehled cizích kvasinek, uváděných jako kontaminanty pivovarské výroby a výsledky sledování třiceti kmenů cizích kvasinek, izolovaných z různých piv na specifických půdách. U izolátů se vyšetřovaly hlavní znaky pro identifikaci jejich rodové příslušnosti a stanovily některé znaky, umožňující posouzení druhové příslušnosti.

**Бендова, О. — Курцова, В. — Пардонова, Б.: Некоторые виды дрожжей, вызывающие загрязнение в процессах пивоварения.** Квас. прум. **21**, 1975, № 5, стр. 100—102.

В статье перечисляются виды дрожжей, считающихся в пивоваренной промышленности причиной вредного загрязнения. Тридцать штаммов таких заражающих дрожжей были изолированы из разных сортов пива, разведены в соответствующих средах и подвержены подробному изучению. Были установлены признаки, даю-

щие возможность определить род данных дрожжей, а с помощью дальнейших признаков и их вид.

**Bendová, O. - Kurzová, V. - Pardonová, B.: Some Kinds of Yeast Known to Cause Contamination in Brewing Processes.** Kvas. prům. **21**, 1975, No. 5, pp. 100—102.

The article deals with a number of yeast kinds known to cause contamination in various processes of brewing industry. Thirty strains of yeast were isolated from beer of different marks, cultivated in appropriate media and studied to find out specific features reliable enough to classify strains, i. e. to identify them by their kinds and species.

**Bendová, O. - Kurzová, V.: - Pardonová, B.: Hefen als Kontaminanten in der Biererzeugung.** Kvas. prům. **21**, 1975, No. 5, S. 100—102.

Der Artikel enthält eine Übersicht der fremden Hefen, die als Kontaminanten in der Biererzeugung auftreten, sowie auch die Ergebnisse des Studiums von 30 Fremdhefenstämmen, die aus verschiedenen Bieren auf spezifischen Nährboden isoliert wurden. Bei den Isolaten wurden die Hauptmerkmale für die Identifikation der Gattung, sowie auch einige Merkmale, welche die Beurteilung der Artangehörigkeit ermöglichen, bestimmt.