

# Udržování provozních kmenů pekařských kvasinek

664.642.2

Ing. Jiřina PÁSKOVÁ, CSc., Ing. Josef FABIÁN, CSc., Výzkumný ústav koncernu Konzervárny a lihovary Praha,  
RNDr. Anna KOCKOVÁ-KRATOCHVÍLOVÁ, DrSc., Chemický ústav SAV Bratislava

**Klíčová slova:** *pekařské kvasinky, uchovávání čistých kultur, lyofilizace, kapalný dusík, nízké teploty, fermentor, inokulum*

Použití šlechtěných, vysoce produktivních mikroorganismů v podmínkách provozních fermentací je spojeno s vážným problémem — jak tyto kultury uchovávat, aby zůstaly jejich technologické vlastnosti nezměněny.

Je prokázáno, že dříve běžný způsob uchovávání čistých kultur periodickým přeočkováváním z pevné půdy na další pevnou půdu zpravidla není vhodný pro udržení původních vlastností kmenů. Zejména u šlechtěných kultur kvasinek — hybridů nebo polyploidů, dochází za určitých kultivačních podmínek, např. při dlouhodobém

uchovávání na agarových půdách, k odštěpování klonů s odlišnými morfologickými a biochemickými vlastnostmi a k jejich přerůstání v populaci. Tím pak šlechtěné kmeny postupně ztrácejí své průmyslově významné vlastnosti.

## 1. PROVOZNÍ KMEN A JEHO STABILITA

V současné době se ve většině droždáren českých zemí používá k výrobě pekařského droždí kmen



BMA VII, zakoupený od firmy Starcosa v NSR v souvislosti s postupným vybavováním droždí aeračním zařízením typu Frings, a izoláty připravené z této kultury selekcí. Ve srovnání s ostatními, u nás až dosud používanými kmeny pekařských kvasinek, má dovezená kultura velmi dobré technologické vlastnosti, tzn. vysokou růstovou rychlost, výťažnost biomasy, maltázovou aktivitu a schopnost kypřit těsto. Bohužel však kmen má jen omezenou trvanlivost a při běžném způsobu uchovávání se u něho projevují po určité době degenerativní změny — přerůstání morfologicky netypických buněk ve fázi provozní propagace. To pak vede k poklesům výťažku biomasy a ke zhoršení fermentační aktivity vyrobeného droždí. Ve snaze objasnit příčinu nestability provozního kmene byla u čistě klonální kultury vyvolána tvorba asků kultivací na sporulačním médiu, které obsahovalo 1 % octanu draselného jako jediný zdroj uhlíku. Ve spolupráci s katedrou biochemie a mikrobiologie na VŠCHT v Praze jsme izolovali askospory a sledovali biochemické a morfologické vlastnosti klonů, derivovaných z jednotlivých askospor kultivačním testem na rotačním třepacím stroji v melasovém médiu. Klon vykultivovaný z izolovaných tetrad spor dvou asků vykazovaly značné rozdíly v rychlosti růstu, který je vyjádřen tzv. rozmnožovacím faktorem H (hodinový koeficient zmnožení hmotnosti biomasy v logaritmické fázi růstu kultury), v celkové hmotnosti sušiny biomasy na konci kultivace a hlavně v maltázové aktivitě, vyjádřené v  $Q_{CO_2}$  (tabulka 1), takže nemůže být pochyb o tom, že dovezená provozní kultura je hybrid, k jehož konstrukci byly použity kmeny odlišného genotypu. Při obvyklém způsobu uchovávání kultury pak po určité době nastává rozpad hybridní buňky na výchozí typy, což vysvětluje morfologickou a biochemickou nestabilitu kmene při provozních kultivacích.

Tabulka 1. Porovnání klonů izolovaných ze dvou tetrad spor *S. cerevisiae* BMA VII

Klon	Sušina biomasy ve 24 hod. kultury mg/ml	Hodinový rozmnožovací faktor H	Maltázová aktivita $Q_{CO_2}$
A 1	2,8	1,33	214,0
A 2	3,2	1,15	47,3
A 3	3,5	1,12	78,8
A 4	4,6	1,35	13,5
B 1	3,4	1,29	137,0
B 2	1,4	1,11	6,8
B 3	1,3	1,12	60,8
B 4	2,3	1,12	13,5
Kontrola	4,2	1,38	128,4

Nízká stabilita kmene byla až dosud řešena opakovaným nákupem čerstvé kultury ze zahraničí. V souladu s antiimportními snahami v našem devizovém hospodářství byl hledán takový způsob konzervace, který by zaručil, že si provozní kmen zachová původní technologické vlastnosti beze změny po neomezenou dobu.

## 2. KONZERVACE PROVOZNÍHO KMENE PEKAŘSKÉ KVASINKY LYOFILIZAČNÍ METODOU

Metoda lyofilizace neboli kryodesikace je založena na rychlém vysušení kultury mrazem s použitím vysokého vakua, při kterém je buňka velmi rychle zbavena vody mrazovou sublimací, aniž se příliš poškodí vnitřní membránové struktury krystalky ledu. Postupuje se tak, že buňky mikroorganismu jsou suspendovány v ochranném médiu, vysušeny na lyofilizační aparatuře a dále uchovávány v evakuovaných zatavených skleněných ampulích v chladu a za nepřístupu světla.

Vyzkoušeli jsme vhodnost složení 7 lyofilizačních médií. K pokusné konzervaci byla použita suspenze buněk, připravená čtyřicetihodinovou stacionární kultivací v tekuté sladidlové půdě při 30 °C. Lyofilizační ampulky jsme plnili 0,15 ml suspenze buněk kmene č. 09 (izolát připravený selekcí kultury BMA VII).

Složení ochranných lyofilizačních médií:

A — roztok 15 % sacharosu a 1,328 % KJ ve vodě

B — 10% vodný roztok sušeného mléka (Skim Milk Difco), pH 7,3

C — roztok 6 % peptonu, 0,1 % škrobu a 0,1 % glutamátu sodného ve vodě, pH 7,3–7,4

D — roztok 5 % laktosu v telecím séru, zředěném vodou v poměru 1 : 1

E — roztok 10 % laktosu a 1 % želatiny ve vodě

F — roztok 20 % sacharosu a 2 % želatiny ve vodě, pH 7,3

G — roztok 5 % maltosu ve vodě

Za 6 a 12 měsíců po lyofilizaci byl stanoven počet živých buněk v ampulích plotnovou kultivační metodou a % přežití. U sledovaného kmene č. 09 přežil konzervační zásah nesterilně vysoký podíl buněk [0,15–11,3 %] v závislosti na použitém ochranném médiu. V rozmezí 6–12 měsíců uchovávání kmene po lyofilizaci došlo jen k nevýznamnému poklesu životnosti buněk, ze kterého lze usuzovat, že je možné uchovávat kulturu v lyofilizované formě po delší dobu. V literatuře se uvádí, že ještě po 20 letech byly vyočkovány z lyofilizovaných konzerv živé kvasinky (Kirsop B. 1974). Vzhledem k praktické neproveditelnosti tak dlouhodobých pozorování jsme k určení údržnosti lyofilizovaných konzerv použili tzv. „tepelný test“ (Šourek, J., Mannych, J. 1969), který záleží v tom, že se zatavená ampule s lyofilizovanou kulturou kvasinek ponoří na 30 minut do vodní lázně, ohřáté na 80 °C, pak se ampule otevře, buňky se rehydratují, po vhodném naředění přenesou na misky s agarovou půdou a za 3 dny kultivace při 30 °C spočítají vyrostlé kolonie. Jestliže konzervované buňky toto zahřátí ampulí přežijí, znamená to garanci údržnosti konzerv po dobu minimálně 20 let.

Tabulka 2. Vliv složení ochranného lyofilizačního média na přežití buněk pekařské kvasinky — izolátu 09

Lyofilizační médium	Počet živých buněk před lyofilizací	Za 6 měsíců po lyofilizaci poč. kolonií	%	Po „tepelném testu“ poč. kolonií	%
A	2,48 · 10 <sup>7</sup>	4,8 · 10 <sup>5</sup>	1,9	2,4 · 10 <sup>2</sup>	0,001
B	1,55 · 10 <sup>7</sup>	3,0 · 10 <sup>5</sup>	1,9	2,1 · 10 <sup>2</sup>	1,33
C	1,44 · 10 <sup>7</sup>	1,8 · 10 <sup>3</sup>	0,15	2,4 · 10 <sup>3</sup>	0,017
D	2,12 · 10 <sup>7</sup>	2,4 · 10 <sup>6</sup>	11,3	3,48 · 10 <sup>5</sup>	1,6
E	2,88 · 10 <sup>7</sup>	2,4 · 10 <sup>6</sup>	8,3	1,34 · 10 <sup>5</sup>	0,5
F	4,88 · 10 <sup>7</sup>	2,0 · 10 <sup>6</sup>	4,2	0	0
G	1,92 · 10 <sup>7</sup>	8,0 · 10 <sup>5</sup>	4,2	7,68 · 10 <sup>4</sup>	0,4

Výsledky těchto pozorování jsou shrnuty do tabulky 2. Z hlediska % přežití buněk bylo vyhodnoceno jako nejvhodnější ochranné médium D-zředěné telecí sérum s přídavkem 5 % laktosu. Po „tepelném testu“ pokleslo % přežití buněk až na méně než 0,001 % v závislosti na složení ochranného média; zajímavé však bylo, že ani při poklesu přežití buněk o 6 řádů jsme po rekultivaci a pomnožení buněk, které „tepelný test“ přežily, nezjistily žádné výraznější zhoršení technologických vlastností (tabulka 3). U některých druhů lyofilizačního média jsme v prvním laboratorním propagačním stupni pozorovali zvýšenou morfologickou variabilitu, ale po několika pasážích kultivace v melasovém médiu na třepačce se jednotlivé kultury zcela vyrovnaly a neprojevily žádné odchylky v morfologii. V případě lyofilizace se má za to, že by se mohl při vysokém procentu úmrtnos-

Tabulka 3. Životnost a technologická hodnota klonů lyofilizovaného kmene, vyočkových po „tepelném testu“

Lyofilizační médium	Hodinový rozmnožovací faktor H	Sušina biomasy ve 24 hod. kultury mg/ml	Mohutnost kynutí min	Maltázová aktivita $Q_{CO_2}$
A	1,80	4,8	80	191
B	1,84	4,6	83	182
C	1,87	5,1	81	178
D	1,92	4,9	88	173
E	1,90	4,62	82	142
F	1,90	4,66	88	218
G	1,86	3,68	89	191



ti buněk projevít efekt selekce, takže by přeživil část populace mohla mít netypické vlastnosti (Kirsop B. 1974). Někteří autoři např. nalezli po lyofilizaci zvýšený podíl RD-mutantů (Russel I. et al., 1980), jiní naopak nepozorovali žádné biochemické ani morfologické odchylky od výchozího nelyofilizovaného kmene (Barney, M. C., Helbert, J. R., 1976).

K posouzení stupně poškození kultury následkem lyofilizace jsme z lyofilizované kultury č. 09 a z kontrolního nelyofilizovaného kmene provedli rozsev na misky s agarovou půdou a vyočkovali v 10 dobře oddělených koloniích. Každý izolát jsme pak hodnotili kultivačním testem na rotační třepače a naměřené hodnoty jsme podrobili statistickému rozboru. Hodnotili jsme nárůst sušiny biomasy ve 24. hodině kultivace a u promytých buněk rychlost zkvašování maltosy —  $Q_{CO_2}$ . Pro hodnocení jsme vybrali variantu C s velmi nízkým procentem přežití (0,15 % buněk) a variantu D, kde lyofilizační zásah přežilo 11,3 % buněk. U každé sledované skupiny izolátů jsme počítali směrodatnou odchylku  $s$  (standardní deviaci) a variační koeficient  $v$  % (směrodatnou odchylku vztaženou na aritmetický průměr), (tabulka 4).

$$\text{Aritmetický průměr } \bar{x} = \frac{\sum x}{n}$$

$$\text{Směrodatná odchylka } s = \sqrt{\frac{\sum (x - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

$$\text{Variační koeficient } v \% = \frac{100 \cdot s}{\bar{x}}$$

Tabulka 4. Variabilita populace po lyofilizaci

Lyofilizační médium	Sušina biomasy mg/ml			$Q_{CO_2}$		
	$\bar{x}$	$s$	$v$ %	$\bar{x}$	$s$	$v$ %
0 (kontr.)	5,3	0,22	4,22	133	9,1	6,8
C	4,6	0,42	9,24	148	27,0	18,3
D	4,3	0,37	7,51	148	28,5	19,2

Vypočtené hodnoty naznačují, že se lyofilizačním zásahem zvýšila variabilita populace u obou lyofilizačních médií asi třikrát, a to nezávisle na procentu přežití buněk, i když při konečném hodnocení technologických vlastností konzervovaného kmene jsme v podmínkách kultivačního testu na rotační třepače nepozorovali u žádné ze sledovaných variant trvalé zhoršení.

Z hlediska procenta přežití buněk se nejlépe osvědčilo ochranné médium, složené ze zředěného telecího séra s přidávkou 5 % laktosy. Takto konzervovanou kulturou jsme prověřili fermentační zkouškou v droždárně SELKO v Hodolanech s příznivým výsledkem. Provozní fermentace s použitím lyofilizovaného kmene proběhly celkem v 25 šaržích IV. stupně propagace, ve 20 předkvasových fermentacích a ve 41 šaržích expedičního droždí. Ve srovnání s kontrolním nelyofilizovaným kmenem č. 09 nebylo v podmínkách provozních fermentací nalezeno u lyofilizovaného kmene žádné zhoršení technologických parametrů. Přesto však vzhledem ke zvýšené variabilitě populace po lyofilizaci doporučujeme každé vyočkování kmene z lyofilizované konzervy doplnit selekcí kmene, tzn. rozsevem na agarové misky a výběrem nejvhodnějšího selektátu po zhodnocení alespoň 10 izolovaných kolonií kultivačním testem na třepače.

Ve spolupráci s pracovníky droždáren v Nýřanech a Hodolanech bylo vytypováno 5 selektátů provozního kmene, které se dobře osvědčily při provozních fermentacích v jednotlivých droždárnách. Od těchto selektátů byly připraveny větší série konzerv, které by měly být dostatečnou zásobou očkovačského materiálu alespoň pro nejbližších 10 let.

### 3. UCHOVÁVÁNÍ PROVOZNÍ KULTURY PEKAŘSKÉ KVASINKY V KAPALNÉM DUSÍKU

V poslední době se ve světové literatuře objevila řada údajů o možnostech uchovávání mikrobiálních kultur

při velmi nízkých teplotách v kontejneru s kapalným dusíkem. Tento způsob konzervace má ve srovnání s lyofilizací výhodu v tom, že konzervační zásah přežívá vyšší procento buněk kvasinek. Nevýhodou však je nutnost průběžného opatřování a doplňování kapalného dusíku do kontejneru. K uchování mikroorganismů při ultranízkých teplotách se užívají tzv. kryopreservans, což jsou látky působící ochranně proti účinkům velmi nízkých teplot. Působí na buňky buď z vnějšku, jako některé cukry, polysacharidy, pepton, agar, mléčné nebo sérové proteiny, nebo pronikají do buněk, jako glycerol, toluen, dimethylsulfoxid, benzen apod. Z nich nejčastěji se využívá účinku dimethylsulfoxidu, zvyšujícího permeabilitu buněčné membrány extrakcí sterolů, které pravděpodobně mají v membránách podpůrnou funkci.

Zkušenosti prokázaly, že konzervační zásah lépe přežívají buňky fyziologicky mladé, v exponenční fázi svého růstu, které mají pružnější buněčné membrány a jsou schopnější opravovat poškození, která nastala při změnách teplot během zmrazení a rozmrazení.

Pro porovnání s konzervací provozní hybridní kultury pekařské kvasinky lyofilizační metodou jsme pokusně konzervovali tentýž kmen s použitím kapalného dusíku jako zdroje ultranízké teploty. Vyzkoušeli jsme vhodnost dvou složení ochranných médií, jejichž základem byla pivovarská sladina, obohacená přidávkou 0,26 % kvasničného extraktu a 0,5 % peptonu. Prvá polovina média byla ještě doplněna telecím sérem (Ústav sér a očkovačských látek — ÚSOL — Praha) v množství 7,5 ml séra na 50 ml média a do druhé poloviny bylo přidáno 0,27 % mannanu, připraveného z buněk *S. cerevisiae*. Po sterilaci bylo ještě do obou ochranných médií přidáno 10 % (obj.) dimethylsulfoxidu. Konzervovali jsme buňky z 24hodinové kultury na šikmém agaru. Ke konzervaci jsme použili polyetylenové inseminační ampule, které jsme plnili 0,5 ml ochranného média a 0,08 ml suspenze kvasinek tak, že každá ampule před zmrazením obsahovala asi  $5,4 \cdot 10^5$  živých buněk. Ampule jsme zavařili nad plamenem a uložili do kontejneru s kapalným dusíkem. Po 6 a 12 měsících jsme ampule vyjmuli z kontejneru, ihned vhodili do připravené nádoby s vodou, ohřátou na 37 °C, po 1 hodině prodlevy obsah ampulí převedli do 10 ml sterilní vody a dále ředili tak, aby konečná suspenze obsahovala asi 20–50 buněk ke stanovení procenta přežití buněk kultivační plotnovou metodou. Živná půda, použitá k přípravě agarových misek, byla téhož složení jako půda šikmých agarů, na kterých byl kmen kultivován před konzervací. Obsah paralelních ampulí jsme převedli do tekuté živné půdy téhož složení jako agarová půda pro kultivaci kmene a po pomnožení standardním postupem podrobili kultivačnímu testu na třepače. Sledovali jsme rychlost růstu biomasy, množství sušiny biomasy ve 24. hodině kultivace v melasovém médiu na třepače a schopnost zkvašovat maltosu u odseparovaných a promytých buněk. Výsledky tohoto pokusu jsou znázorněny v tabulce 5.

Tabulka 5. Životnost buněk *S. cerevisiae* za 6 měsíců po konzervaci kapalným N

Ochranné médium	Počet živých buněk		Sušina biomasy za 24 h mg/ml	Maltázová aktivita $Q_{CO_2}$
	v ampulích	%		
0 (kontr.)	$5,4 \cdot 10^5$	100	4,6	170
telecí sérum*	$2,4 \cdot 10^5$	44	4,7	170
mannan*	$2,0 \cdot 10^5$	37	4,55	162
telecí sérum**	$2,5 \cdot 10^5$	46	4,7	170
mannan**	$6,1 \cdot 10^5$	112	4,6	191

\* — vyočkováno za 1 h po vyjmutí z kontejneru

\*\* — vyočkováno za 48 h po vyjmutí z kontejneru

Jestliže obsah ampulí nebyl rozočkován bezprostředně po vyjmutí z kontejneru s kapalným dusíkem a hodinové prodlevy, potřebné pro rozpuštění krystalů vody v buňkách a reparaci buněčných membrán, avšak ampule byly ještě 48 hodin uchovávány v chladu, nepokleslo % životnosti buněk, ani nebyly nalezeny rozdíly v morfologii buněk a zhoršení technologických vlastností kmene. Naopak v případě konzervace v mannasovém ochran-



ném médiu jsme za 48 hodin po vyjmutí ampulí z kontejneru s kapalným dusíkem našli více než dvojnásobný počet živých buněk ve srovnání s variantou, kde bylo do ochranného média použito místo mannanu telecí sérum, pravděpodobně v důsledku dalšího dělení buněk na účet živin, přítomných v ochranném médiu. Ještě za týden po vyjmutí ampulí z kontejneru jsme našli 9 % z původního počtu živých buněk a po dvou týdnech 3 %, kdežto z ampulí s telecím sérem po 1 týdnu již nevyrostla žádná kolonie.

K ověření, zda nenastaly nepříznivé změny ve vlastnostech kmene po konzervaci ultranízkou teplotou, jsme vyhodnotili 8 izolátů z konzervy kultivačním testem na třepače a naměřené hodnoty porovnávali s výchozí nekonzervovanou kulturou kmene 09 ze šikmého agaru. U žádného z testovaných izolátů nepřesáhly odchylky v nárůstu biomasy a v maltázové aktivitě rámec běžné biologické chyby, takže lze konstatovat, že u konzervovaného kmene nenastala nepříznivá změna technologických vlastností. Rovněž fyziologický stav kultury, která byla vyočkována z ampule s mannánovým médiem za 2 týdny po vyjmutí z kontejneru s kapalným dusíkem a uchovávána až do vyočkování v chladničce, neprojevil v podmínkách kultivace na rotační třepače žádné morfologické ani biochemické odchylky od kontrolního nekonzervovaného kmene. Toto zjištění naznačuje praktickou použitelnost konzervačních metod např. pro možnost uchovávání provozních kmenů v centrálních kontejnerech s kapalným dusíkem a distribuce ampulí poštou na základě momentální potřeby jednotlivých droždářských provozů.

Ve srovnání se způsobem konzervace provozního kmene lyofilizační metodou byla úmrtnost buněk konzervovaných kapalným dusíkem velmi nízká u obou variant ochranného média. Zejména přidavek mannanu do ochranného média působil příznivě na fyziologický stav konzervované kultury. K obdobným závěrům jsme došli i při rozbořech konzervovaných kultur po 12 měsících uchovávání v kontejneru s kapalným dusíkem. Nenalezli jsme ani průkazný pokles procenta přeživajících buněk, ani jakékoli jiné zhoršení technologických vlastností konzervovaného kmene.

Na podkladě těchto zjištění byla připravena větší série konzerv tří selektátů provozních kultur, které jsou uloženy v kontejneru Státní sbírky kvasinek Chemického ústavu SAV v Bratislavě pro potřebu droždářských provozů.

#### 4. ZÁVĚR

Oba způsoby konzervace lze pokládat za použitelné pro dlouhodobé uchovávání hybridních provozních kultur pekařské kvasinky. Lyofilizaci přežívá nižší podíl buněk než konzervaci ultranízkou teplotou s použitím kapalného dusíku. I když u lyofilizovaných kultur nebylo pozorováno žádné zhoršení technologických vlastností ani laboratorně ani v podmínkách provozních fermentací, bude patrně užitečné prověřit vzhledem ke zvýšené variabilitě populace v prvních pasážích po vyočkování rozsev lyofilizované kultury na misky s agarovou půdou a selekci vhodného klonu po vyhodnocení alespoň 10 izolátů kultivačním testem na rotační třepače.

Po rozočkování a statistickým vyhodnocení izolátů kultury konzervované kapalným dusíkem jsme zejména po konzervaci v ochranném médiu s přídatkem mannanu nenalezli žádné průkazné odchylky od kontrolního nekonzervovaného kmene. Proto se domníváme, že takto konzervované provozní kultury lze používat jako přímý očkovací materiál pro komerční výrobu pekařského droždí bez obav ze změny technologických vlastností konzervované kultury.

#### Literatura

- [1] BARNEY M. C., HELBERT J. R.: J. Am. Soc. Brew. Chem. **34**, 1976, s. 61
- [2] DRACHOVSKÁ-SÍMANOVÁ, M., ŠANDERA K., ŽÁK V.: Repařsko-cukrovarnické pokusnictví, SNTL 1958, Praha
- [3] HUBÁLEK Z., KOCKOVÁ-KRATOCHVÍLOVÁ A.: Folia Microbiologia, **27**, 1982, s. 242
- [4] KIRSOP B.: J. Ind. Brew., **80**, 1974, s. 565

- [5] KOCKOVÁ-KRATOCHVÍLOVÁ A.: Kvasinky a kvasinkovité mikroorganismy, ALFA Bratislava a SNTL, Praha, 1982
- [6] RUSSELL I., STEWART G. G.: Proc. Vth International Symp. on Yeast, Canada, 1980
- [7] Sborník metodik po genetice droždí — Saccharomycetov. Izd. „Nauka“ Leningradskoe otdelenie, AN SSSR, 1976
- [8] ŠOUŘEK J., MANNÝCH J.: Mykosen, **12**, 1969, s. 363

**Pásková, J. - Fabián, J. - Kocková-Kratochvílová, A.: Udržování provozních kmenů pekařských kvasinek. Kvas. prům., 31, 1985, č. 10, s. 232—236.**

Byla ověřena možnost konzervace provozního hybridního kmene pekařské kvasinky lyofilizací nebo ultranízkou teplotou v kapalném dusíku. Po lyofilizaci v ředěném séru s 5 % laktosy přežilo 11,3 % buněk, zahříváním evakuovaných zatavených ampulí na 80 °C po dobu 30 min (tepelný test) přežilo 1,6 % buněk. U lyofilizovaných kultur nebylo ani laboratorně, ani v podmínkách provozních fermentací nalezeno zhoršení technologických vlastností, ale statistickým hodnocením izolátů byla zjištěna zvýšená variabilita v nárůstu biomasy a její schopnosti zkvašovat maltosu. Konzervaci ultranízkou teplotou s použitím kapalného dusíku přežilo v ochranném médiu s telecím sérem 44 % buněk, v médiu s mannánem 37 % buněk. Kultury konzervované kapalným dusíkem je možné používat přímo jako inokulum pro provozní fermentace bez obavy ze zhoršení jejich technologické hodnoty, kdežto u kultur konzervovaných lyofilizací se doporučuje vzhledem ke zvýšené variabilitě populace provést napřed selekci vhodného klonu po vyhodnocení izolátů kultivačním testem na rotačním třepacím stroji.

**Паскова, И., Фабиан, Я., Кощкова-Кратохвилова, А.: Процесс хранения производственных штаммов пекарных дрожжей. Квас. прум. 31, 1985, № 10, стр. 232—236.**

Была проверена возможность консервирования производственного гибридного штамма пекарных дрожжей путем лиофилизации или ультранизкой температуры в жидком азоте. После лиофилизации в разбавленной сыворотке с 5 % лактозы оставалось 11,3 % клеток, при нагревании эвакуированных запаянных ампул в 80 °C в течение 30 мин. (термическое испытание) сохранялось 1,6 % клеток.

В случае подвергшихся лиофилизации штаммов ни в лабораторном масштабе, ни в условиях производственной ферментации не было установлено ухудшение технологических свойств, однако при статистической обработке изолятов была найдена повышенная изменчивость прироста биомассы и ее способности сбраживать мальтозу.

При консервировании ультранизкой температурой с применением жидкого азота в защитной среде, содержащей телячью сыворотку, оставалось 44 % клеток, в среде с маннаном 37 % клеток. Штаммы консервированные жидким азотом можно применять прямо в качестве инокула для производственных ферментаций без опасности ухудшения их свойств технологической ценности, а в случае штаммов, консервированных лиофилизацией, ввиду повышенной изменчивости популяции рекомендуется провести предварительно выбор подходящего клона после оценки изолятов культивационным испытанием на вращающейся машине для взбалтывания.

**Pásková, J. - Fabián, J. - Kocková-Kratochvílová, A.: Maintenance of Production Strains of Baker's Yeasts. Kvas. prům. 31, 1985, No. 10, pp. 232—236.**

A conservation of the production strain of baker's yeast by lyophilisation and by ultralow temperature in liquid nitrogen was tested. After lyophilisation in a diluted serum with 5 % lactose 11.3 % of the cells survived. The thermal test performed by a heating of evacuated sealed ampoules to 80 °C for 30 min showed the survival of 1.6 % of the cells.

The lyophilised cultures showed no worse technological properties (on laboratory and plant scale) during fermentations. Only an increased variability of the biomass growth and the ability to ferment maltose was determined on a base of the statistical evaluation. The preservation by the ultralow temperature using liquid



nitrogen survived 44 % of the cells in a medium with the calf serum, in a medium with mannane 37 % of the cells. The cultures preserved by liquid nitrogen can be used direct as the inoculum for plant fermentation. However, the cultures preserved by lyophilisation cannot be used directly. Here, a selection of the suitable variety has to be performed and thereafter the isolates could be tested on a rotary shaking machine.

**Pásková, J. - Fabián, J. - Kocková-Kratochvílová, A.: Erhaltung der Betriebsstämme der Backhefen.** Kvas. prům. 31, 1985, Nr. 10, S. 232—236.

Es wurde die Möglichkeit der Konservierung eines hybriden Betriebsstammes von Backhefe durch Lyophilisierung oder ultraniedrige Temperatur in flüssigem Stickstoff überprüft. Nach der Lyophilisierung in verdünntem Serum mit 5 % Lactose überlebte 11,3 % der Zellen, bei der Erwärmung evakuierter eingeschmolzener Ampullen auf 80 °C während 30 Minuten (Wärmetest) überlebte 1,6 % der Zellen.

Bei den lyophilisierten Kulturen wurde in den Laborversuchen sowie in den Bedingungen der Betriebsfermentationen keine Verschlechterung der technologischen Eigenschaften festgestellt, aber bei der statistischen Auswertung der Isolate wurde eine erhöhte Variabilität in dem Anwachsen der Biomasse und in ihrer Fähigkeit der Vergärung von Maltose ermittelt. Die Konservierung durch ultraniedrige Temperatur bei Anwendung von flüssigem Stickstoff überlebte im Schutzmedium mit Kalbsserum 44 % der Zellen, im Medium mit Mannan 37 % der Zellen. Die durch flüssigen Stickstoff konservierte Kulturen können direkt als Inoculum für Betriebsfermentationen angewendet werden, und zwar ohne Besorgnis um Verschlechterung ihres technologischen Werts, wogegen bei den durch Lyophilisierung konservierten Kulturen mit Hinsicht zu der erhöhten Variabilität der Population die vorherige Selektion des geeigneten Stammes nach Auswertung der Isolate mittels des Kultivationstests auf dem Rotations-Schüttelapparat empfohlen wird.