

Význam kvasničného kmene pro kvalitu piva

663.13 663.12
663.45

Prof. RNDr. OLGA BENDOŤÁ, DrSc. Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy, Praha
Ing. JANA VERNEROVÁ, CSc. Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, Praha

Klíčová slova: pivo, kvasinky, kvašení, charakter, kmen, vlastnost, metabolismus, metabolit, ethanol, senzorka, genetika

Základním předpokladem pro správné vedení kvasného procesu a požadovanou kvalitu piva je znalost vlastního kvasničného kmene, poněvadž kvasinky ovlivňují svou činností průběh kvašení a dokvašování, chemické složení piva, jeho trvanlivost i senzorké vlastnosti. Požadavky praxe kladené na kvasinky jsou dosti diferencované. Týkají se rychlosti rozmnožování kvasinek, rychlosti úbytku zkvasitelného extraktu, využití cukerných a dusíkatých složek mladiny, flokulace, čiření piva, a tvorby vedlejších metabolitů. Tímto výčtem je v podstatě dán směr výzkumu v oblasti vývoje a hodnocení kvasničných kmenů.

Průmyslové kmeny pivovarských kvasinek jsou u nás udržovány v pivovarech s propagačními stanicemi a v celostátní sbírce pivovarských kvasinek, vedené ve Výzkumném ústavu pivovarském a sladařském. Zde jsou soustředěny všechny produkční kmeny našich pivovarů i nové kmeny získané z jiných sbírek či kmeny nově vyšlechtěné. Pro účelné využití sbírky je však nutno znát vlastnosti uchovávaných kmenů. Z tohoto důvodu byla v minulých letech v rozsáhlé studii na základě sledování řady znaků provedena jejich typizace, a to jak z hlediska teoretického, tak i z hlediska jejich průmyslového využití. Ze souboru získaných dat jsou pro praxi významnější charakteristiky technologicky důležitých vlastností, a věnuje se jim proto náležitá pozornost.

Charakteristikou kvasničného kmene prvořadého významu je rychlost úbytku zkvasitelného extraktu mladiny, která je závislá na enzymovém vybavení buňky a schopnosti adaptace kmene na dané podmínky prostředí. Tato vlastnost se posuzuje jako individuální znak kvasničného kmene, na rozdíl od druhého technologicky významného znaku, stupně prokvašení mladiny, který je určen především složením mladiny a je podmíněn kvalitou sladu a technologii varného procesu. Specifickou vlastností pivovarských kvasinek, v níž se kmeny odlišují, je i schopnost flokulace a sázení buněk na dně kvasné nádoby.

Při ověřování vlastností nových kvasničných kmenů provedeném za standardních podmínek laboratorními kvasnými zkouškami se prokázalo, že doba kvašení potřebná k dosažení standardní hodnoty, tj. 85 % dosa-

žitelného prokvašení, byla vesměs kratší než u srovnávacích provozních kmenů. Jak ukazují dosažené výsledky v tabulce 1, lze hodnocené kmeny charakterizovat jako hlubokoprokvašující, s vysokou rychlostí kvašení, jejichž flokulační bod, vyjádřený stupněm zdánlivého prokvašení v době flokulace, ukazuje na rychlou sedimentaci buněk v závěru kvašení. Je to však právě sedimentace kvasinek, která v provozních podmínkách, při klasické technologii kvašení není vždy uspokojivá a omezuje rozšíření kvasinek do provozu.

Stanovené charakteristiky základních technologických vlastností představují však pouze jednu část vlastností kvasničného kmene. Tyto hodnoty je nutno doplnit senzorkým posouzením hotového výrobku, protože jednotlivé kmeny produkují různá množství vedlejších metabolitů, které svým společným účinkem udělují pivu typickou chuť a vůni.

Významnou složkou, měnící senzorké vlastnosti piva, jsou vyšší alkoholy. Závislost jejich tvorby a obsahu v mladém pivu na kvasničném kmenu byla studována ve vztahu k jejich celkovému množství. Tento způsob hodnocení má jistý nedostatek, současně má však určitou přednost v tom, že ukazuje poměrně přehledně tendenci kvasničných kmenů produkovat vyšší alkoholy. Při tes-

Tabulka 1. Základní technologické vlastnosti pivovarských kvasinek

Kmen č.	Rychlost kvašení [h]	Zdánlivé prokvašení [%]	Flokulační bod [zdánl. prokv.]	Sediment [ml]
Srovnávací	6	140	71,3	49,0
	7	>180	58,6	34,4
	9	118	71,9	42,0
	96	94	75,8	71,7
				10
Nové	105	111	74,2	65,8
	103	104	81,3	67,3
	112	101	75,4	63,1
	113	94	76,2	46,6
				6

tování tvorby vyšších alkoholů u prověřovaných kmenů v malých objemech laboratorních kvasných zkoušek byly zaznamenány rozdíly. Jak ukazuje přehled výsledků v tabulce 2, obsah vyšších alkoholů po ukončení hlavního kvašení se pohyboval v rozmezí 50 až 80 mg.l⁻¹. Nižší produkci, do 60 mg.l⁻¹, jsme zaznamenali u středně prokvašujících až hlubokoprokvašujících kmenů a u hlubokoprokvašujícího práškového kmene. U druhé skupiny, kterou tvoří hlubokoprokvašující flokulující kmeny, dosáhla produkce nejvyšší hodnoty 80 mg.l⁻¹, která leží v oblasti normálních hodnot, uváděných pro spodně kvašená piva, tj. 60 až 90 mg.l⁻¹. Výsledky těchto zkoušek prokázaly vliv kvasničného kmene na obsah vyšších alkoholů v pivu a přivedly nás k závěru, že za dodržení standardních podmínek a stejného složení mladiny je možno využít tohoto testu pro zjištění tendence kvasničného kmene k jejich produkci. Tvorba vyšších alkoholů je ovlivňována i technologickými podmínkami kvašení a sice složením mladiny, především obsahem asimilovatelného dusíku, dávkou kvasnic a teplotou kvašení. Citlivost kmenů k změnám těchto faktorů je rozdílná a je ovlivňována složitostí vzájemných vztahů. Současně se tím však prokazuje význam kvasničných kmenů, které právě rozdílnou tvorbou vyšších alkoholů přispívají k tomu, že aroma pív je různé.

Tabulka 2. Produkce vyšších alkoholů pivovarskými kvasinkami

Kmen č.	Vyšší alkoholy [mg.l ⁻¹]
113	49,0
7	54,0
6	58,0
96	65,0
112	67,0
10	67,0
3	69,0
9	71,0
2	80,0

Význam specifických vlastností pivovarských kvasinek a kmenové rozdíly se v praxi projeví i v produkci dalšího metabolitu, oxidu siřičitého. Problematikou jeho tvorby a obsahu v pivu jsme se zabývali na základě určení jeho limitní koncentrace v pivu. V laboratorních i provozních zkouškách jsme ověřili vliv kvasničného kmene a změny některých technologických podmínek v průběhu hlavního kvašení. Jak vyplývá z přehledu v tabulce 3, obsah oxidu siřičitého v mladém pivu kvašeném různými kmeny se pohyboval v rozmezí 7,1 až 28,8 mg.l⁻¹ piva. Z technologických faktorů měl na jeho tvorbu nejvýraznější vliv obsah rozpuštěného kyslíku v mladině. Při jeho nedostatku se produkce oxidu siřičitého zvýšila o 3 až 5 mg.l⁻¹ piva. Prokázalo se však, že dominantní vliv na obsah oxidu siřičitého v pivu má použitý kvasničný kmen.

V literatuře se diskutuje význam kvasničného kmene v souvislosti s tvorbou dalších metabolitů, např. mast-

ných kyselin, esterů, ketonů a dalších. Doplnění charakteristiky našich produkčních kmenů bude podle možnosti a potřeby předmětem dalšího šetření. V celém komplexu znaků mají samozřejmě význam technologické podmínky, které ovlivňují činnost kvasinek, zásadně však jejich vlastnosti nemění. Abychom získali zcela novou, specifickou vlastnost kvasničného kmene, je nutno zásáhnout genetický základ buňky, což představuje v současné době nejnovější směr výzkumu pivovarských kvasinek.

Přejdeme nyní k otázce, které úkoly se snaží výzkum použítím genetiky řešit.

Především je to rychlost a hloubka prokvašení mladiny jednotlivými kmeny, protože ovlivňují dobu a tím i ekonomii kvasného procesu. Kromě zkvašování monosacharidů, disacharidů (především maltosy) a dále maltotriosy, věnuje se v současné době také pozornost kmenům, produkujícím amylo- α -1,4glukosidasu, která odštěpuje glukosu nejen z maltotriosy a maltosy, nýbrž také z dextrinů, čímž přispívá k hlubšímu prokvašování média. Tyto kmeny lze používat při výrobě nízkokalorických piv nebo tzv. dia-pív, aniž by bylo třeba aplikovat při výrobním procesu komerční enzymové preparáty. Na konstrukci kmenů s těmito vlastnostmi, metodami genových manipulací, se soustřeďuje úsilí řady výzkumných pracovišť v zahraničí.

Touto problematikou se zabýváme také u nás. Na katedře genetiky, mikrobiologie a biofyziky přírodovědecké fakulty University Karlovy byly vypěstovány hybridní kmeny pivovarských kvasinek se schopností degradovat dextriny. K získání uvedených hybridů se použila metoda indukované fúze protoplastů. Je založena na odstranění buněčné stěny kvasinek obou rodičovských kmenů, v tomto případě pivovarského kmene a kmene *Saccharomyces diastaticus*, donora schopnosti produkovat amyloglukosidasu, vhodným enzymovým komplexem (nejlépe z gastrointestinálního traktu hlemýžďů) a na indukcii fúze takto vzniklých protoplastů potřebnou koncentrací polyetylen glykolu v osmoticky stabilizovaném prostředí, za přítomnosti vápenatých iontů. Po regeneraci buněčné stěny, a tím reverzi hybridního protoplastu v normální množici se buňku v agarovém médiu, selektují se hybridy vhodným způsobem za podmínek, kdy oba rodičovské kmeny jsou eliminovány. K tomu lze využít dependence na různé aminokyseliny nebo respirační deficiencie, popř. rezistence k biologicky účinným látkám, např. antibiotikům nebo zymocinům.

U takto získaných hybridů byly ve Výzkumném ústavu pivovarském a sladařském ověřovány jejich technologicky významné vlastnosti. Důležitým aspektem této části práce je výběr takových hybridních klonů, u nichž není zaznamenán nepříjemný vliv na organoleptické vlastnosti piva v důsledku produktů, jejichž vznik je determinován genomem donorového rodičovského kmene, v tomto případě *Saccharomyces diastaticus*. Jde o klony, u nichž je eliminován gen, odpovědný za tvorbu látek, které jsou příčinou nepříjemné fenolové chuti a pachu piva, vznikající dekarboxylací kyseliny skořicové, ferulové nebo kumarové na styren, 4-vinylguajakol nebo 4-vinylfenol. Výsledky dosud provedených kvasných zkoušek uvádíme v tabulce 4, z níž je zřejmé, že některé ověřené hybridy prokvašují mladinu prokazatelně hlouběji.

Tabulka 3. Obsah oxidu siřičitého v mladém pivu

Kmen č.	O ₂ v mladině [mg.l ⁻¹]	Zdánlivé prokvašení [%]	SO ₂ [mg.l ⁻¹]
2	1,1	71,96	34,5
	4,9	72,14	29,5
	8,6	72,06	28,8
9	1,2	70,50	16,3
	4,6	71,49	16,1
	8,2	75,40	14,2
96	1,7	73,36	10,2
	3,9	65,33	8,2
	9,0	79,02	7,1

Tabulka 4. Základní technologické vlastnosti selektovaných hybridních Dex-kmenů

Kmen	Zdánlivý extrakt [% hm.]	Zdánlivé prokvašení [%]	Sediment [ml]
Rodičovské			
LK-12-1	3,19	67,7	8,5
Sacch. diastaticus	5,43	45,0	2,0
Hybridní			
TD-11-1	3,09	68,7	4,5
TD-17-1	4,97	49,6	1,0
TD-50	2,81	71,5	4,5

Tabulka 5. Základní technologické vlastnosti selektovaných hybridních killer-kmenů

Kmen č.	Zdánlivý extrakt [% hm.]	Zdánlivé prokvašení [%]	Sediment [ml]
Rodičovské P 9	1,74	82,65	8,7
LK-12-1	2,65	73,58	6,5
Hybridní LK-12-89	1,83	81,75	8,5
LK-12-89/1	1,44	85,64	9,2
LK-12-91	2,18	78,26	7,0

Kromě soustředěného zájmu o kvasinky s amylolytickými vlastnostmi byla zaznamenána také orientace výzkumných prací na jiné typy enzymů u kvasinek a na schopnost je produkovat. Jde např. o enzym endo- β -1,3; β -1,4glukanasu, degradující ječné β -glukany, nepříznivě ovlivňující jakost piva, anebo o α -acetolaktátdekarboxylasu, která katalyzuje přímo tvorbu acetoinu.

Výčet oblastí, které jsou v současnosti středem pozornosti při výzkumu pivovarských kvasinek, zahrnuje i jejich vztah ke kontaminujícím kvasinkám. Znamená to, že provozně mohou být užitečné i takové kmeny, které tuto kontaminaci dovedou potlačit. Lze je získat opět jako kmeny hybridní, indukovanou fúzí protoplastů, kdy do průmyslově používaného pivovarského kmene je z donorového kmene přenesena schopnost produkovat tzv. zymocin neboli killer faktor, tj. látku proteinového charakteru, usmrcující kontaminující kvasinky, především rodu *Saccharomyces*. K produkovatému zymocinu jsou hybridní kmeny imunní.

Také u nás, tj. v pracovním týmu katedry genetiky a mikrobiologie PFFUK a VÚPS, byly získány uvedené hybridy a jejich vlastnosti podrobně prověřeny jak z hlediska technologických požadavků, tak i znaků jakosti produktů i hygienické nezávadnosti. V tabulce 5 jsou uvedeny charakteristiky technologických vlastností výchozího pivovarského kmene a získaných hybridních klonů po selekci, jejímž cílem byly klony odpovídající požadavkům výrobní technologie.

Uvedené poznatky o vlivu vlastností kvasničných kmenů na kvalitu piva dokumentují, že prohloubení znalostí o jejich vlastnostech, jakož i prověření faktorů, které vyvolávají jejich změny, mohou přispět k cílenému výběru vhodného kmene pro určité podmínky a odhale ní příčin některých nedostatků v kvalitě piva. Diskutované výsledky hybridizace a přípravy nových kmenů ukazují na možnost získávání kvasinek se specifickými vlastnostmi, potřebnými pro zvýšení kvality a vývoj nových druhů piva.

Bendová, O. — Vernerová, J.: Význam kvasničního kmene pro kvalitu piva. Kvas. prům. 32, 1986, č. 9, s. 201—203.

Článek je věnován významu vlastností pivovarských kvasinek a kmenovým rozdílům. Diskutují se charakteristiky technologických vlastností významné pro praxi a výsledky hodnocení produkce vedlejších metabolitů — vyšších alkoholů, které svým účinkem ovlivňují senzorický charakter piva. Závěrečná část uvádí nejnovější směr výzkumu pivovarských kvasinek zaměřený na přípravu kmenů se specifickými vlastnostmi pomocí genetických manipulací.

Бендова, О., Вернерова, Я.: Значение дрожжевого штамма для качества пива. Квас. прум. 32, 1986, № 9, стр. 201—203.

Статья посвящена значению свойств пивных дрожжей и отличиям штаммов. Обсуждаются для практики представляющие большой интерес характеристики технологических свойств и результаты оценки продукции побочных метаболитов — высших спиртов, которые своим действием оказывают влияние на органолептический характер пива. Заключение часть приводит новейшее направление исследования пивных дрожжей, уделяющее внимание получению штаммов с специфическими свойствами при помощи генных манипуляций.

Bendová, O. — Vernerová, J.: Significance of Yeast Strain for Beer Quality. Kvas. prům. 32, 1986, No. 9, pp 201—203.

A significance of brewing yeast properties and differences among strains are discussed in the article. The characteristics of the technologic properties that are significant for the beer production as well as the results of the evaluation of a production of metabolic by-products (higher alcohols) that affect the sensoric characteristics of beer are discussed. At the end the most progressive way in the research of brewing yeasts focused on strain preparations with specific properties using genetic manipulations are described.

Bendová, O. — Vernerová, J.: Bedeutung des Hefestammes für die Bierqualität. Kvas. prům. 32, 1986, Nr. 9, S. 201—203.

Der Artikel ist der Bedeutung der Eigenschaften der Brauereihefen und den stammbedingten Unterschieden gewidmet. Diskutiert werden die vom Standpunkt der Praxis wichtigen Charakteristiken der technologischen Eigenschaften sowie auch die Ergebnisse der Auswertung der Produktion von Nebenmetaboliten — höheren Alkoholen, durch deren Einwirkung der sensorische Charakter des Bieres beeinflusst wird. Zum Schluss wird die neueste Richtung der Brauereihefenforschung vorgestellt, die auf die Gewinnung von Stämmen mit spezifischen Eigenschaften mittels genetischer Manipulationen orientiert ist.