

Ing. JANA VERNEROVÁ, CSc., VĚRA KURZOVÁ, prom. biol., Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, Praha

Klíčová slova: pivo, kvašení, kvasinky, produkční kmen, mikroorganismus, sbírka

ÚVOD

Průmyslové využití mikroorganismů vyžaduje aplikaci čistých kultur s požadovanými vlastnostmi, které zaručí kvalitní, ekonomicky nejvýhodnější produkci. V historii pivovarské výroby byly čisté kultury použity k výrobě poprvé téměř před 100 lety zásluhou E. Ch. Hansena, který je vyizoloval z provozní kultury v roce 1888.

Zdrojem čistých kultur pivovarských kvasinek v ČSSR je v současné době celostátní sbírka pivovarských kvasinek vedená ve Výzkumném ústavu pivovarském a sladařském v Praze a podnikové sbírky, udržované v pivovarech s propagačními stanicemi. Historie sbírky VÚPS se začíná psát v roce 1946, kdy byla RNDr. A. Kockovou-Kratochvílovou založena největší sbírka kvasinek a kvasinkovitých mikroorganismů u nás. Mezi nimi zaujímala čelné místo kolekce pivovarských kvasinek, v níž byla soustředěna řada domácích i zahraničních kmenů. Po převedení této sbírky v roce 1953 do Bratislavy [1], uchovávaly se ve VÚPS nadále pouze některé vybrané kmeny pivovarských kvasinek, které se staly základem samostatné specializované sbírky. Pod vedením Prof. O. Bendové byly do ní postupně soustředěny veškeré stávající produkční kmeny našich pivovarů a řada produkčně významných kmenů ze zahraničí. Od roku 1964 je sbírka pivovarských kvasinek VÚPS členem Federace čs. sbírek mikroorganismů. První společný katalog uchovávaných kvasinek této společnosti, jehož vydání se pravidelně obnovuje, uvádí i seznam pivovarských kvasinek [1, 2, 3].

Sbírka čistých kultur pivovarských kvasinek je ústavní, specializovaná sbírka, která slouží především potřebám pivovarů a pivovarského výzkumu.

UCHOVÁVANÉ KMENY

Uchovávané kmeny zahrnují oba známé druhy pivovarských kvasinek, *Saccharomyces carlsbergensis* Hansen a *Saccharomyces cerevisiae* Hansen, podle klasifikace Stelling-Dekkerové [4], které se vedle rozdílného zkvašování rafinosy liší po stránce technologické především typem kvašení. V pozdější taxonomické studii Lodderové [5] se *Saccharomyces carlsbergensis* již jako samostatný druh neuvádí a je považován za synonymum druhu *Saccharomyces uvarum*. Podle poslední klasifikace

z roku 1985 [6] dochází k dalším změnám a uvádí se již pouze druh *Saccharomyces cerevisiae*. Tato hlediska se však v pivovarském oboru důsledně neprosadila a všeobecně se setrvává u původní diferenciace.

Převážná část kmenů sbírky náleží k druhu *Saccharomyces carlsbergensis*, charakterizovanému úplným zkvašováním rafinosy, pro nějž je typické spodní kvašení a je zaveden ve všech našich pivovarech. Pouze malou část sbírkových kmenů představuje druh *Saccharomyces cerevisiae*, zkvašující rafinosu pouze z jedné třetiny, používaný pro svrchní kvašení, především v zahraničí, k výrobě speciálních piv.

V současné době je ve sbírce soustředěno 115 kmenů pivovarských kvasinek. Tato kolekce se průběžně rozšiřuje o nově vyšlechtěné, průmyslově perspektivní kmeny se specifickými vlastnostmi, pro nové výrobní technologie. O uchovávaných kmenech se vedou podrobné záznamy, kde se vedle příslušných názvů kmenů, označení jejich původu a uložení do sbírky, shromažďují i veškeré dostupné údaje o jejich vlastnostech. Záznamy se vedou i o přeočkování kmenů, stejně jako dokumentace o předávání kultur.

PRODUKČNÍ KMENY

Aby sbírka plnila své poslání a mohla být účelně využívána, je nutno, aby o udržovaných kmenech poskytovala dostatečné informace jak pro jejich výběr, tak i správné vedení kvasného procesu. Na základě toho byla pro hlubší teoretické poznání kmenových vlastností provedena u uchovávaných kvasinek rozsáhlá studie, při níž byly sledovány morfologické, fyziologické a biochemické znaky, používané částečně i v klasické taxonomii. Z hlediska průmyslového využití kmenů bylo však nutno věnovat pozornost technologickým vlastnostem. V první fázi byly v laboratorních podmínkách, na standardní 10 % mladince, za dodržení konstantní dávky kvasnic, doby kvašení a teploty, prověřeny dva hlavní ukazatele — kvasná a sedimentační schopnost kvasinek. Výsledky těchto prací byly již dříve publikovány [7, 8, 9, 10, 20, 21] a jsou prakticky využívány. Poněvadž kmenové rozdíly byly prokázány i v produkci vedlejších metabolitů kvašení, tvorbě karbonylových sloučenin, vyšších alifatických a aromatických alkoholů a některých

dalších látek [11], byly za uvedených standardních podmínek sledovány další kmenové charakteristiky. Byla hodnocena tendence k autolýze [12], produkce vyšších alkoholů, ovlivňující ve vyšších koncentracích organoleptické vlastnosti piva [13], tvorba oxidu siřičitého [14] a sledována citlivost kmenů ke změnám složení mladiny.

Výsledky těchto zkoušek určují difference mezi vlastnostmi jednotlivých kmenů. I když se v provozu ve změněných technologických podmínkách, či vlivem změn ve složení mladiny, absolutní hodnoty jednotlivých parametrů od laboratorních výsledků liší, bylo prokázáno, že tyto difference zůstávají zachovány.

Přes řadu zavedených laboratorních testů není charakteristika kmenů pivovarských kvasinek vyčerpávající, poněvadž nelze do detailu modelovat odlišnosti podmínek jednotlivých provozů. Proto se další šetření vlastností nových kmenů převádí do většího měřítka, tj. do čtvrtprovozu [25] a polo-provozu (6 hl), kde je možno získat hotová piva a provést hlubší analytické a senzorické vyhodnocení. Konečný závěr o vhodnosti kmene je však možno učinit až na základě výsledků provozních zkoušek v závodě, ve kterém má být kmen zaveden.

Tabulka 1 uvádí charakteristiky nejrozšířenějších produkčních kmenů kvasinek, stanovené v laboratorních podmínkách a umožňuje porovnání s charakteristikou jejich základních technologických vlastností ověřených v provozech. Podle průměrných hodnot dosaženého zdánlivého prokvašení standardní 10 % mladiny v laboratorních zkouškách v kvasných válcích v objemu 0,5 l mladiny, se kmeny 10, 12 a 96 řadí do III. kvasné skupiny, s nejvyšší kvasnou schopností, tj. více než 67 % prokvašení. Kmen 7 se řadí do skupiny II., s rozmezím hodnot prokvašení 55 až 67 %, zatímco zbývající kmeny leží prakticky na hranici těchto skupin. Podle objemu sedimentu kvasinek v kvasném válci lze všechny zařadit do skupiny s nejvyšší mírou sázení buněk.

Produkční kmen 2 je veden v několika pivovarech. Podle provedeného průzkumu je v některých provozech hodnocen jako hlubokoprokvašující kmen, v jiných jako kmen středněprokvašující, někde s

velmi dobrou, jinde s dobrou sedimentací. Toto hodnocení odpovídá laboratorním testům, z nichž dále vyplývá tendence kmene ke zvýšené tvorbě vyšších alkoholů i oxidu siřičitého, zvláště v podmínkách stimulujících jeho tvorbu. Stanovený bod flokulace, který uvádí stupeň prokvašení mladiny v bodě nejvyššího počtu buněk ve vzhledu, dokumentuje charakter sedimentace kvasinek. Obdobnou charakteristiku vykazují laboratorní testy u hodnoceného provozního kmene 3, který představuje jeden z nejstarších českých kmenů pivovarských kvasinek. Je to středně až hlubokoprokvašující kmen s dobrou sedimentační schopností.

Typické vlastnosti mají spodní pivovarské kvasinky kmenů 6 a 7, které jsou vedeny v řadě pivovarů. Podle posouzení jejich chování v provozu to jsou středněprokvašující, dobře sedimentující kvasnice, i když kmen 6 prokvašuje hlouběji. Významná je u těchto kmenů nízká produkce vedlejších metabolitů, především vyšších alkoholů, což má příznivý dopad na organoleptický charakter piva.

Na velkém objemu výroby piva se podílejí produkční kmeny 9 a 10. Jde o středně a hlubokoprokvašující kmeny s dobrou sedimentací. Všechny sledované parametry ukazují na jejich dobré vlastnosti. Tato skutečnost a v provozu ověřená stabilita nabízejí možnost využití těchto kmenů i jinde.

Méně rozšířeným, tradičním kmenem je hlubokoprokvašující kmen 12, charakterizovaný v provozu jako dobře prokvašující a sedimentující kmen. Ve výrobě je úspěšný i pro dobré organoleptické vlastnosti vyráběného piva.

Nejrozšířenějším kmenem je v současné době kmen 96. Podle laboratorních testů i provozní charakteristiky je to hlubokoprokvašující kmen, dobře sedimentující. Ve standardních podmínkách laboratorních zkoušek se vyznačil flokulací při vysokém prokvašení mladiny (70 %) a rychlou sedimentací v závěru hlavního kvašení. Produkce vyšších alkoholů je na úrovni běžných hodnot, uváděných pro spodně kvašená piva. V provozních podmínkách byla u kmene zaznamenána tendence ke zvýšené tvorbě vyšších alifatických alkoholů a některých organických kyselin, které však neovlivnily negativně chuť piva.

Tabulka 1. Charakteristiky produkčních kmenů kvasinek

Kmen — č. VÚPS	2	3	6	7	9	10	12	96
Laboratorní testy								
Zdánlivé prokvašení (%)	66,5	66,7	67,7	60,2	66,9	68,5	68,8	70,6
Objem sedimentu (ml)	5,5	5,0	5,5	5,0	5,5	6,0	6,0	6,0
Bod flokulace	33	38	49	34	42	38	—	71
Vyšší alkoholy (mg . l ⁻¹)	80	70	58	54	71	67	68	65
Oxid siřičitý (mg . l ⁻¹)	26,4	—	17,7	—	17,4	13,2	—	10,9
Provozní charakteristika								
Prokvašení mladiny	hluboko	středně	středně	středně	středně	hluboko	hluboko	hluboko
Sedimentace kvasinek	středně velmi dobrá -dobrá	dobrá	velmi dobrá	dobrá	dobrá	velmi dobrá	středně dobrá	velmi dobrá

Složitost a náročnost zkoušek při ověřování vlastností kvasničných kmenů a pečlivý výběr v pivovarech potvrzuje skutečný význam kvasničného kmeny na kvalitu vyráběného piva.

METODY UCHOVÁVÁNÍ ČISTÝCH KULTUR

Náplní práce sbírky je dlouhodobé uchovávání čistých kultur kvasinek v geneticky nezměněném stavu tak, aby zůstala zachována jejich identita se všemi původními vlastnostmi a znaky. Nejznámější metoda uchovávání pivovarských kvasinek je kultivace a vedení na šikmém sladidlovém agaru ve zkumavkách a jejich deponace v chladicím boxu. Tento postup vyhovuje pro krátkodobé uchovávání kultur. Vývoj této metody pro dlouhodobé uchovávání vedl k vzduchotěsnému uzavření zkumavek a převrstvení kultur parafinovým olejem [15, 16]. Za těchto podmínek byla životaschopnost *Saccharomyces* prokázána ještě po několika letech úchovy. I v tomto případě se však doporučuje převádět kultury pravidelně po jednom roce na čerstvou živnou půdu.

Pro dlouhodobé uchovávání kultur pivovarských kvasinek byly ověřeny i nové, progresivní postupy, založené na sušení a hlubokém zmrazení. Vedle metody sušení s použitím silikagelu, kterou je možno realizovat nejjednoduššími prostředky [17], byly odzkoušeny a doporučeny metody lyofilizace a úchova v kapalném dusíku [18, 19]. Výhodou těchto metod je několikaleté uchování kultur bez nebezpečí změny genotypu, ale i snížení pracnosti s udržováním kultur na minimum.

Volba metody uchovávání kmenů v ústavní sbírce byla dána vybavením pracoviště a požadavkem žadatelů na rychlé poskytování kmenů v aktivním stavu. Byly odzkoušeny a porovnány metody vedení kultur na různých médiích ve vzduchotěsně uzavřených zkumavkách a pod parafinovým olejem [22]. Výsledky hodnocení zkoušených postupů jednoznačně prokázaly, že nejvhodnější živnou půdou pro uchování pivovarských kvasinek je sladidlový agar, který pro ně představuje nejpřirozenější substrát, což přispívá k jejich úspěšnému převádění do výrobního procesu. Uchovávané kmeny si po letech vedení ve sbírce zachovaly své specifické vlastnosti, takže jsou schopny v podmínkách jednotlivých provozů produkovat standardní výrobek.

ZÁVĚR

Sbírka pivovarských kvasinek, která uchovává čisté kultury v geneticky nezměněném stavu, je nedílnou součástí mikrobiologické práce a má významný podíl na rozvoji pivovarské mikrobiologie. Zabezpečuje čisté kultury jak pro výrobu, tak pro základní výzkum v oblasti genetiky, zaměřený na přípravu nových produkčních kmenů pivovarských kvasinek se specifickými vlastnostmi. Její existence je z hlediska průmyslového významu nezbytná.

Literatura

- [1] KOCKOVÁ-KRATOCHVÍLOVÁ, A.: Katalóg kultur kvasinek, VEDA Bratislava, 1977.
 - [2] KOCKOVÁ-KRATOCHVÍLOVÁ, A.: Katalóg kultur kvasinek, VEDA Bratislava, 1969.
 - [3] KOCKOVÁ-KRATOCHVÍLOVÁ, A.: Katalóg kultur kvasinek, VEDA Bratislava, 1986.
 - [4] STELLING-DEKKER, N. M.: Verhandel. d. Kgl. Acad. Amsterdam, sv. 28, 1931.
 - [5] LODDER, J.: The Yeasts. A taxonomic Study, North Holland Publishing Company, Amsterdam-London, 1970.
 - [6] KREGER-VAN RIJ, N. J. W.: The Yeasts. A taxonomic Study, Elsevier, Amsterdam, 1984.
 - [7] BENDOŤ, O., KURZOVÁ, V., PARDONOVÁ, B.: Brauwissenschaft, **23**, 1970, s. 423.
 - [8] BENDOŤ, O., KURZOVÁ, V., PARDONOVÁ, B.: Kvas. prům., **16**, 1970, s. 185.
 - [9] BENDOŤ, O., PARDONOVÁ, B.: Typizace kmenů pivovarských kvasinek (Výzkumná zpráva OÚ-5/15), VÚPS, Praha, 1972.
 - [10] BENDOŤ, O., PARDONOVÁ, B.: Typizace kmenů pivovarských kvasinek (Výzkumná zpráva OÚ-5/15), VÚPS, Praha, 1973.
 - [11] NARZISS, L., MIEDANER, H., GRESSER, A.: Brauwelt, **123**, 1983, s. 478, 1139.
 - [12] BENDOŤ, O., KURZOVÁ, V.: Kvas. prům., **27**, 1981, s. 225.
 - [13] VERNEROVÁ, J.: Provéření kmenů pivovarských kvasinek (Výzkumná zpráva Ú-103), VÚPS, Praha, 1983.
 - [14] VERNEROVÁ, J., MIKYŠKA, A., BASAŘOVÁ, G.: Kvas. prům., **29**, 1983, s. 121.
 - [15] SCHULZE, K. L.: Brauwissenschaft, **5**, 1951, s. 75.
 - [16] HARTSELL, S. E.: Appl. Microbiol., **4**, 1956, s. 350.
 - [17] PERKINS, D. D.: Can. J. Microbiol., **8**, 1962, s. 591.
 - [18] REHBERG, R.: Mschr. f. Brau., **30**, 1977, s. 222.
 - [19] HUBÁLEK, Z., KOCKOVÁ-KRATOCHVÍLOVÁ, A.: Folia Microbiol., **27**, 1982, s. 242.
 - [20] BENDOŤ, O., PARDONOVÁ, B.: Výběr kmenů pivovarských kvasinek (Výzkumná zpráva OÚ-5a/15), VÚPS, Praha, 1974.
 - [21] BENDOŤ, O., PARDONOVÁ, B.: Výběr kmenů pivovarských kvasinek (Výzkumná zpráva OÚ-5/2), VÚPS, Praha, 1977, 1978, 1979, 1980.
 - [22] KURZOVÁ, V.: Porovnání metod úschovy sbírkových kultur (Výzkumná zpráva MÚ-3), VÚPS, Praha, 1971.
- Vernerová, J. - Kurzová, V.: Sbírka pivovarských kvasinek.** Kvas. prům. **33**, 1987, č. 8—9 s. 259—262.
- Sbírka pivovarských kvasinek (RIBM), vedená ve Výzkumném ústavu pivovarském a sladařském, uchovává čisté kultury produkčních kmenů všech československých pivovarů, řadu produkčně významných kmenů, včetně kmenů zahraničních, typové kultury kvasinek významných pro základní i aplikovaný výzkum. Sbírka je členem Federace československých sbírek mikroorganismů při ČSAV. Slouží především potřebám pivovarského průmyslu a výzkumu. Poskytuje čisté kultury pivovarských kvasinek podle požadavků výrobním závodům a cizím organizacím pro účely výzkumné a pedagogické.
- Внерова, Я. - Курзова, В.: Коллекция пивоваренных дрожжей.** Квас. прум. **33**, 1987, № 8—9, стр. 259—262.
- Коллекция пивоваренных дрожжей (РИБМ), хранящаяся в Исследовательском институте пивоварения и производства солода, сохраняет чистые культуры продуктивных штаммов всех чехословацких пивоваренных заводов, много значительных штаммов включая зарубежные, типовые культуры дрожжей, имеющих значение для основного и прикладного исследования. Коллекция является членом федерации чехословацких коллекций микроорганизмов при ЧСАВ. Она служит прежде всего потребностям пивоваренной промышленности и исследования, предоставляет чистые культуры пивоваренных дрожжей по запросам производственных заводов и других организаций для исследовательских и учебных целей.
- Vernerová, J. - Kurzová, V.: Collection of Brewer's Yeasts.** Kvas. prům. **33**, 1987, No. 8—9, pp. 259—262.
- The collection of brewer's yeasts RIBM, situated in Research Institute of Brewing and Malting in Prague, preserves pure cultures of production strains from all the

Czechoslovak breweries, other production strains including some foreign ones and yeast cultures significant for basic and applied research. The collection belongs to the Federation of Czechoslovak Collections of Microorganisms by Academy of Sciences. It serves to the needs of brewing industry and research. It provides pure cultures of brewer's yeast for the breweries and other customers for the research and pedagogic needs.

Vernerová, J. - Kurzová V.: Sammlung von Brauereihefen.
Kvas. prům. **33**, 1987, Nr. 8—9, S. 259—262.

Die Brauereihefen-Sammlung (RIBM) der Forschungs-

instituts für Brauerei und Mälzerei in Prag enthält Reinkulturen der Produktionsstämme aller tschechoslowakischer Brauereien, eine Reihe weiterer bedeutender inkl. ausländischer Hefestämme, Typenkulturen von Hefen für die Grundlagen- und applizierte Forschung. Die Sammlung ist Mitglied der Föderation tschechoslowakischer Sammlungen von Mikroorganismen bei der Akademie der Wissenschaften der ČSSR. Sie dient vor allem der Brauindustrie und Forschung. Reinkulturen der Brauereihefen werden nach Bedarf den Produktionsbetrieben sowie auch externen Organisationen für Forschungs- und pädagogische Zwecke geliefert.