

Testování produkčních kmenů ze Sbírký VÚPS pro technologii HGB

The Evaluation of Production Yeast Strains from the Collection of the RIBM for HGB Technology

PETRA KUBIZNIAKOVÁ

Výzkumný ústav pivovarský a sladařský a. s., Pivovarský ústav, Lípová 15, 120 44 Praha 2

The Research Institute of Brewing and Malting Plc., Brewing Institute, Lipova 15, 120 44 Praha 2, Czech Republic

e-mail: kubizniakova@beerresearch.cz

Kubizniaková, P.: Testování produkčních kmenů ze Sbírký VÚPS pro technologii HGB. Kvasný Prum. 57, 2011, č. 2, str. 26–30.

Sbírký pivovarských kvasinek VÚPS obsahuje více než 130 produkčních kmenů, z nichž je stabilně využíváno jejich minimum. K rozšíření nabídky vhodných kmenů přispěje další studium jejich biochemických a technologických vlastností. Jedna z nově sledovaných vlastností je vhodnost daného produkčního kmene pro fermentaci mladiny vyrobených technologií HGB. Ne každý produkční kmen pivovarských kvasinek je vhodný pro kvašení mladiny vyrobené technologií HGB, protože výšekcentrované mladiny nejsou pro kvasinky ideálním prostředím. Dosavadní postupy testování produkčních kmenů jsou časově a finančně náročné a neumožňují rychlé testování větších souborů. Proto byla navržena jednoduchá metoda umožňující v laboratorních podmínkách otestování, je-li zkoušený kmen schopný růstu ve výšekcentrované mladině a je-li odolný vůči vyšším koncentracím ethanolu. Růst testovaného kmene je sledován při jeho kultivaci v 16 a 20 % w/w mladiny s přidávkou ethanolu ve výsledné koncentraci 5, 7, 9 % v/v. Metoda dovoluje pracovat s větším souborem kmenů a umožňuje výběr kvasinek potencionálně vhodných pro technologii HGB. Dobrou toleranci k vyššímu osmotickému tlaku a vyšší koncentraci ethanolu má skupina 14 kmenů. U těchto kmenů lze předpokládat schopnost prokvašet mladiny s vysokým původním extraktem a budou dále podrobněji testovány. Cílem zkoušek je rozšíření nabídky produkčních kmenů pivovarských kvasinek pro pivovary o kmeny/kmeny optimální pro technologii HGB.

Kubizniaková, P.: The Evaluation of Production Yeast Strains from the Collection of the RIBM for HGB Technology. Kvasný Prum. 57, 2011, No. 2, p. 26–30.

The collection of brewery yeasts of the RIBM contains more than 130 different production strains but only a few strains are frequently used. A better evaluation of their biochemical and technological properties can contribute to the expansion of the choice of suitable strains. One recently studied property is the suitability of production strains for fermenting hopped worts used in HGB technology. Not every production brewery yeast strain can be used for fermentation of hopped worts used in HGB technology because high gravity worts are not ideal environments for the growth of brewery yeasts. The high osmotic pressure, the viscosity, the rising ethanol concentration during fermentation and CO₂ are limiting factors for the use of a particular strain. The current approaches for evaluating production strains are very expensive and time consuming. Therefore, a simple method enabling a fast and cheap evaluation of the yeast's ability to grow in higher density worts and their tolerance to ethanol content under laboratory conditions was proposed. The growth was followed by the cultivation in worts with concentrations of 16 and 20 % w/w extract and with the addition of ethanol with total concentrations of 0, 5, 7 and 9 % v/v. The proposed method allows working with large sets of strains and makes it possible to select strains potentially suitable for HGB technology. A satisfactory tolerance to higher osmotic pressure and to higher ethanol concentration was found in 14 strains. It can be assumed that these strains have the ability to ferment worts with very high initial extract concentrations. They will be the subject of further detailed evaluations. The aim of these further evaluations is to expand the range of production brewery yeast strains optimal for use in HGB technology in breweries.

Kubizniaková, P.: Die Erprobung der Hefeproduktionsstämme aus der Sammlung des Forschungsinstitutes der Brauereien und Mälzereien für HGB Technologie. Kvasný Prum. 57, 2011, Nr. 2, S. 26–30.

Die Sammlung der Brauereihefeproduktionsstämme aus der Sammlung des Forschungsinstitutes der Brauereien und Mälzereien (VUPS Prag) enthält mehr als 130 Produktionsstämme und nur das Minimum wird ausgenutzt. Das Studium ihrer biochemischen und technologischen Eigenschaften kann zur Angebotserweiterung der geeigneten Stämme beitragen. Eine von den verfolgten Eigenschaften wurde die Eignung des Produktionsstammes zur Vergärung der Würze, die durch HGB Technologie gebraut wurde. Nicht jeder Produktionsstamm ist zur Vergärung der durch HGB Technologie hergestellten Würze geeignet, weil für die Hefe eine hochkonzentrierte Würze kein ideales Milieu ist. Die bisherigen Testverfahren der Produktionsstämme sind zeitraubend und finanziellanspruchsvoll und keine schnelle Prüfung von mehreren Stämmen ermöglichen. Deshalb wurde eine einfache Methode vorgeschlagen, die unter Laborbedingungen einen Test ermöglicht festzustellen, ob der geprüfte Stamm in der hochkonzentrierte Würze sich vermehren kann und gegen die höhere Konzentration des Ethanolbestandes ist. Es wurde ein Wachstum eines Stammes unter Konzentration 16%, 18% W/W und mit einer Ethanolzugabe um die resultierende Konzentration 5%, 7% und 9% V/V zu erreichen. Diese Methode ermöglicht die für HGB Technologie geeignete Hefestämme auszuwählen und mit mehreren Hefestämmen arbeiten zu können. Zum erhöhten osmotischen Druck und gegen die höhere Ethanolkonzentration hat eine Gruppe von 14 Stämmen eine gute Toleranz. Bei diesen Stämmen gibt es eine Voraussetzung, die hochkonzentrierte Würze vergären zu dürfen und dadurch werden diese Stämme noch ausführlich getestet. Das Ziel der Prüfungen ist eine Erweiterung des Angebots für die Brauereien über die Hefeproduktionsstämme, die für HGB Technologie optimal sind.

Klíčová slova: kvasinky, HGB, kvašení, mladina

Keywords: yeasts, HGB, fermentation, hopped wort

1 ÚVOD

Moderní postupy výroby piva kladou zvýšené nároky nejen na vstupní suroviny a kvalitu výroby, ale i na produkční kmeny pivovarských kvasinek. Ten je jedním z hlavních faktorů ovlivňujících průběh hlavního kvašení i charakter vyráběného piva. Vedlejší produkty kvašení jako jsou vyšší alkoholy, estery, mastné kyseliny určují nejen chuť a aroma čerstvého piva, ale i jeho senzorkou stabilitu během skladování. Proto je výběr produkčního kmene důležitý.

Jedním ze zdrojů produkčních kmenů je Sbírký pivovarských kvasinek vedená mikrobiologickým oddělením VÚPS [1,2,3]. V ní je de-

1 INTRODUCTION

The latest processes for beer production place increased demands not only on the brewing materials and the quality of production but also on the brewery yeast.

The right choice of the production brewery yeast is very important. It is one of the main factors influencing the process of primary fermentation and the characteristics of the beer produced. The secondary products of the fermentation such as higher alcohols, esters or fatty acids determine along with the taste and the flavour of the fresh beer also its sensory stability during storage.

ponováno více než 130 kmenů, pivovary je však využíváno minimum. K rozšíření nabídky vhodných kmenů je potřeba další poznání vlastností deponovaných kvasinek. Jednou z nově sledovaných vlastností je schopnost kvasinek růst na výšekcentrovaných mladínách.

Mladiny s vyšším obsahem extraktu nejsou ideálním prostředím pro pomnožení pivovarských kvasinek a následné ethanolové kvašení. Vyšší obsah cukrů a dalších složek extraktu výrazně zvyšují osmotický tlak prostředí, ten je jedním z důležitých faktorů, který nepříznivě ovlivňuje vitalitu a aktivitu produkčního kmene pivovarských kvasinek. Dalším stresujícím faktorem těchto mladín je zvyšující se obsah alkoholu a CO_2 v průběhu hlavního kvašení. Schopnost vyrovnat se s těmito stresujícími faktory nemají všechny produkční kmeny pivovarských kvasinek stejnou. Jejich míra tolerance k osmotickému tlaku a ethanolu je rozdílná. Také produkce sekundárních metabolitů, které ovlivňují senzorický charakter piva, je při zkvašování výšekcentrovaných mladín odlišná. Dochází k vyšší produkci senzoricky aktivních látek, např. vicinálních diketonů. Proto je potřeba výběru produkčního kmene vhodného pro technologii HGB věnovat náležitou pozornost.

Posouzení a ověření vhodnosti produkčního kmene pro technologii HGB je velmi finančně a časově náročné. Posuzovaný kmen prochází sérií laboratorních zkoušek a posléze i poloprovaznými testovacími várkami, při kterých je sledována celá řada parametrů, např. rychlost zkvašování extraktu, tvorba ethanolu, stupeň prokvašení. Neméně důležitá je produkce a skladba senzoricky aktivních látek produkovaných během kvašení a dokvašování. Tyto testy nelze provádět s větším souborem produkčních kmenů. Pro ověření, mají-li produkční kmeny kvasinek deponované ve Sbírkce VÚPS schopnost zkvašovat výšekcentrované mladiny, je potřeba jednoduché a levné laboratorní metody, která umožní vytipování kmenů pro další testování. Výzkumné práce se takřka výlučně zabývají studiem vlivů výšekcentrovaných mladín na morfologii, buněčnou biologii, fyziologii a technologické vlastnosti ověřených produkčních kmenů pivovarských kvasinek. Byla publikována řada odborných studií zabývajících se touto problematikou. Například Patricia L. Pratt et al. se ve svém článku zabývají vlivem stresu způsobeným osmotickým tlakem a ethanolem na viabilitu kvasinek a jejich morfologii [4]. Změnám metabolismu kvasinek při kvašení HGB mladín se věnuje kolektiv J. Pátkové [5]. K. Sigler et al. popisují čistý vliv osmotického tlaku mladiny na průběh fermentace, vitalitu kvasinek a aroma a zákal piva [6]. Vlivem vysokokoncentrovaných mladín na schopnost fermentace, produkci ethanolu a výživu kvasinek se ve své práci zabývá G. P. Casey et al. [7]. Citované práce neposkytují jednoduchou a univerzální metodu pro výběr nových vhodných produkčních kmenů pivovarských kvasinek. Proto byla navržena metoda, která umožňuje rychlé a levné posouzení tolerance velkého souboru kmenů k vyššímu osmotickému tlaku a obsahu alkoholu a slouží tak k vytipování možných kmenů pro využití v technologii HGB.

K testování bylo použito malé množství standardní mladiny o obsahu extraktu 12 až 20 % hmotnostních v kombinaci s ethanolem ve výsledné koncentraci 0 až 9 % objemových. V získaných variantách testovací půdy byl sledován růst testovaného kmene. Kombinace různé koncentrace mladiny a ethanolu umožňují současné posouzení odolnosti kmene k vyššímu osmotickému tlaku a k zvýšenému obsahu ethanolu. Odolnost kmene pivovarských kvasinek k stresujícímu prostředí kultivačního média se projevuje jeho schopností za daných podmínek se pomnožit. Tu lze již po 72 hodinách kultivace ověřit pouze jednoduchým posouzením tvorby sedimentu v testovacích nádobkách.

2 METODIKA

Laboratorně připravená standardní mladina (základem je sušená mladina, UV 20497) o extraktu 12, 16 a 20 hmotnostních procent byla vysterilována frakcionovaně v proudící páře a asepticky rozplněna do Freudenreichových baněk. Poté byl k 16 a 20 % w/w mladině sterilně přidán čistý ethanol ve výsledné koncentraci 0, 5, 7 a 9 objemových %. Celkový objem kultivačního média byl 10 ml. Výsledná koncentrační řada obsahovala 9 kultivačních nádobek. Připravená koncentrační řada byla zaočkována pomnoženou kulturou pivovarských kvasinek, která byla získána 48hodinovou kultivací v 10 % w/w mladině při 25 °C. Výsledná koncentrace buněk po zaočkování byla 5×10^6 /ml mladiny. Následná kultivace kultur probíhala při 11 °C a tvorba sedimentu byla sledována po 72, 96 a 120 h kultivace. Byla posuzována tvorba sedimentu v koncentračních řadách 16 a 20 % w/w mladiny ve srovnání se sedimentem v kontrolní 12 % w/w mladině bez přídavku ethanolu.

One of the sources of production brewery yeasts is the collection of brewery yeasts managed by the Microbiological Department of the RIBM [1,2,3]. It contains more than 130 different brewery yeast strains but unfortunately, only a few breweries use this offering. In order to expand the range of suitable yeast strains a better evaluation of their properties and their possible use in modern production processes are necessary. One of the recently studied properties is the ability of the yeast to growth in high gravity hopped wort.

Hopped wort with a higher content of extract is not an ideal environment for the growth of brewery yeasts and the following ethanolic fermentation. The higher content of carbohydrates and other components of the extract raise its osmotic pressure significantly. The high osmotic pressure is one of the most important factors having a negative influence on the viability and the activity of brewery yeast strains used in production. Further stress factors for the yeasts are the increasing contents of alcohol and CO_2 during the primary fermentation.

Not all production strains have the same ability to manage these stress factors. Their tolerances to the osmotic pressure and the increasing ethanol concentration differ. Also the production of secondary metabolites which influence the sensory characteristics of the beer varies during the fermentation of high gravity hopped worts. The production of sensory active substances for example vicinal diketones is enhanced. Therefore it is very important to take care when choosing an appropriate production yeast strain for the HGB technology.

The evaluation and trialling of the production yeast strains for the HGB technology is very expensive and time consuming. The strains under review must undergo rounds of laboratory tests and later a number of pilot scale tests in which different parameters such as the speed of extract fermentation, ethanol production and attenuation degree are monitored. The production and the structure of sensory active components produced during the primary and secondary fermentations are equally important. Therefore it is not possible to carry out these tests on a large collection of production strains. For the evaluation of strains kept in the collection of the RIBM with regards to their ability to ferment a high gravity wort it was necessary to develop simple and cheap laboratory evaluation methods. Most of the research studies were concentrated on the influence of high gravity worts on the cell morphology and the cell biology, the physiology and the technological properties of the brewery yeast strains evaluated. A number of research studies describing this issue have been published. For example Patricia L. Pratt et al described the influence of stress caused by osmotic pressure and ethanol on yeast viability and morphology [1]. The scientific team of J. Pátkova dealt with the metabolic changes in yeasts during the fermentation of high gravity worts [5]. K. Sigler et al described the single influence of osmotic pressure in the wort on fermentation process, yeast viability, flavour and beer turbidity [6]. The influence of high gravity wort on fermentation ability, ethanol production and yeast nutrition was studied by G. P. Casey et al [7]. However, none of the studies mentioned above offer a simple and universal method for the selection of new suitable production brewery yeast strains. Therefore, a new method enabling a fast and cheap evaluation of the yeast tolerance to higher osmotic pressure and alcohol content for a large collection of strains is proposed. It can facilitate the selection of possible strains for use in HGB technology.

For the evaluation small amounts of standard wort with extract concentrations of 12 to 20 % w combined with ethanol with total concentrations of 0 to 9 % v were used. The growth of the yeast strains was tested in the samples with the resulting concentration variations. The combinations of the different extract concentrations in the wort and the different alcohol concentrations enabled a simultaneous evaluation of the strains' resistance to higher osmotic pressure and enhanced ethanol content. The resistance of brewery yeast strains to the stress environment of a cultivation medium manifests itself in its ability to grow under the given conditions. This could already be checked after 72 hours of cultivation by a simple evaluation of the sediment formation in the test tubes.

2 METHODS

The standard worts (based on dry wort UV 20497) with extract concentrations of 12, 16 and 20 % w were sterilized in parts under a steam flow and then aseptically filled into Freudenreicher flasks. Under these sterile conditions absolute alcohol was added to the worts with 16 and 20 % w/w extract. The total concentrations were 0, 5, 7 and 9 %

3 VÝSLEDKY A DISKUSE

Metoda umožnila otestování všech kmenů pivovarských kvasinek, které jsou deponovány ve Sbírci VÚPS. K informacím o základních technologických vlastnostech a o produkci sensoricky aktivních látek jednotlivých deponovaných kmenů tak přibyl poznatek, zda je daný kmen vhodný k dalšímu finančně a časově náročnému testování pro jeho využití technologií HGB.

V počátcích navrhování metody byl sledován a potvrzen růst kvasinek na výšekcentrovaných mladínách. Proto byl k mladínám přidán ethanol jako další limitující faktor růstu. Při vlastním testování sbírkových kmenů pivovarských kvasinek byl u všech kmenů pozorován růst na 16 i 20% w/w mladíně bez přídavku ethanolu.

V průběhu testování a vyhodnocení výsledků kultivací pivovarských kvasinek byly sledovány skupiny kmenů s obdobnou mírou tolerance k osmotickému tlaku či ethanolu. Do skupiny A byly zařazeny kmeny tolerantní k osmotickému tlaku a ethanolu, skupinu B tvoří kmeny různě citlivé k osmotickému tlaku a ethanolu. Skupina C obsahuje kmeny zcela netolerantní k ethanolu.

Skupina A je tvořena čtrnácti kmeny, jejich vybraní zástupci jsou prezentováni v *tab. 1*. Kvasinky jsou tolerantní k vyššímu osmotickému tlaku a vyššími koncentracím ethanolu - jedná se o kmeny č. 9, 10, 14, 87, 98, 101, 111, 112, 133, 95/2-5, 134, u kterých byl prokázán růst minimálně na 16 i 20% w/w mladíně v přítomnosti 7% v/v ethanolu. U kmenů č. 9, 14, 98, 101, 111, 112, 95/2-5 a 134 byl růst pozorován i na 16% w/w mladíně s 9 % v/v ethanolu a kmen č. 9 rostl v přítomnosti 9% v/v ethanolu na 20% mladíně. U této skupiny pivovarských kvasinek lze předpokládat, že kmeny jsou schopny zkvašovat mladiny s velmi silným původním extraktem za tvorby dostatečného množství ethanolu, jsou tedy potencionálně vhodné pro technologii HGB a lze je zařadit do dalšího podrobnějšího testování.

Do **skupiny B** bylo zařazeno šestnáct kmenů, u kterých byla pozorována rozdílná citlivost k ethanolu a osmotickému tlaku. Kmeny mají významnou toleranci k ethanolu při růstu na více koncentrované mladíně (16 % w/w), jejich růst byl prokázán i v přítomnosti 9% v/v ethanolu. Tolerance kvasinek k ethanolu je však nižší, zvýší-li se osmotický tlak mladiny (20 % w/w). V tomto případě bylo prokázáno pomnožení kvasinek na čisté 20% w/w mladíně a v přítomnosti 5% v/v (zde byl u některých kmenů pozorován pomalejší růst). Skupinu B tvoří kmeny č., 77, 78, 82, 84, 88, 90, 91, 94, 96, 95/1, 99, 110, 119, 126, 127 a 129 a zástupci této skupiny jsou uvedeni v *tab. 2*. Kmeny skupiny B nejsou nezajímavé, mohou být vhodné k zkvašování mladiny o původním extraktu okolo 16 % w/w za dostatečné tvorby ethanolu a výsledkem jejich dalšího podrobnějšího testování může být kmen,

v/v. Therefore this resulted in nine cultivation flasks, each with a total volume of 10 ml. Each flask was inoculated with yeast culture. The yeast culture was obtained from 48 hours cultivation in 10 % w/w wort at 25°C. The final cell concentration after the inoculation was 5×10^6 /ml wort. The subsequent cultivations in the test cultures were carried out at 11°C. The sediment formations were evaluated after 72, 96 and 120 hours of cultivation. The sediment formations in the ethanol concentration series with 16 and 20 % w/w worts were compared to the amount of sediment in the control flask with 12 % w/w wort without any addition of alcohol.

3 RESULTS AND DISCUSSION

The described method enabled the testing of all brewery yeast strains kept in the collection of the RIBM. Thereby, to the basic information about the technological properties and the production of sensory active compounds of a single strain, a piece of knowledge about the suitability of the strains for further very expensive and time consuming evaluations regarding their use in HGB technology was added.

At the beginning of the method development the growth of all tested yeasts in the worts with densities of 16 and 20 % w/w without the presence of alcohol was monitored and confirmed. After this alcohol was added to the worts as a further limitation factor. The evaluation of the cultivation results indicated groups of brewery yeasts with similar tolerances to osmotic pressure and ethanol. Group A contained strains equally tolerant to both osmotic pressure and ethanol. Group B involved strains with a different sensitivities to osmotic pressure or ethanol. Group C contained strains with no or very low tolerance to ethanol.

Group A contained the 14 strains Nos. 9, 10, 14, 87, 98, 101, 111, 112, 133, 95/2-5 and 134. The results of selected representative strains are summarized in *Tab. 1*. The yeasts are tolerant to higher osmotic pressure and to higher ethanol concentrations. Their growth was confirmed in the worts with 16 and 20 % w/w extract and at least 9 % v/v ethanol. The strains Nos. 9, 14, 98, 101, 111, 112, 95/2-5 and 134 grew in the wort with 16 % w/w extract and with the presence of 9 % v/v ethanol. The strain No. 9 grew even in wort with 20 % w/w extract and at the presence of 9 % v/v ethanol. The brewery yeasts included in this group are suitable for the fermentation of worts with very high initial extract concentrations and at the same time they produce enough ethanol. Therefore, they are potentially suitable for HGB technology and they are recommended for further detailed evaluation.

Tab. 1 Skupina A – kmeny tolerantní k osmotickému tlaku a ethanolu / Group A – Strains tolerant to osmotic pressure and ethanol

kmen č. 9 / Strain No. 9

| Mladina (%) / Wort (%) | 12 | 16 | | | | 20 | | | |
|----------------------------------|----|----|----|----|---|----|----|---|---|
| ethanol (% obj.) / ethanol (% v) | 0 | 0 | 5 | 7 | 9 | 0 | 5 | 7 | 9 |
| 72 h | ++ | ++ | + | + | – | + | + | + | – |
| 96 h | ++ | ++ | + | + | – | ++ | + | + | – |
| 120 h | ++ | ++ | ++ | ++ | + | ++ | ++ | + | + |

kmen č. 98 / Strain No. 98

| Mladina (%) / Wort (%) | 12 | 16 | | | | 20 | | | |
|----------------------------------|----|----|----|----|---|----|---|---|---|
| ethanol (% obj.) / ethanol (% v) | 0 | 0 | 5 | 7 | 9 | 0 | 5 | 7 | 9 |
| 72 h | ++ | ++ | + | + | – | ++ | + | – | – |
| 96 h | ++ | ++ | + | + | + | ++ | + | + | – |
| 120 h | ++ | ++ | ++ | ++ | + | ++ | + | + | – |

kmen č. 112 / Strain No. 112

| Mladina (%) / Wort (%) | 12 | 16 | | | | 20 | | | |
|----------------------------------|----|----|----|----|----|----|----|----|---|
| ethanol (% obj.) / ethanol (% v) | 0 | 0 | 5 | 7 | 9 | 0 | 5 | 7 | 9 |
| 72 h | ++ | ++ | + | ++ | + | ++ | + | + | – |
| 96 h | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | + | – |
| 120 h | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | – |

kmen č. 78 / Strain No. 78

| Mladina (%) / Wort (%) | 12 | 16 | | | | 20 | | | |
|----------------------------------|----|----|----|----|---|----|----|---|---|
| ethanol (% obj.) / ethanol (% v) | 0 | 0 | 5 | 7 | 9 | 0 | 5 | 7 | 9 |
| 72 h | ++ | ++ | + | + | – | + | – | – | – |
| 96 h | ++ | ++ | ++ | + | – | ++ | – | – | – |
| 120 h | ++ | ++ | ++ | ++ | + | ++ | ++ | – | – |

kmen č. 82 / Strain No. 82

| Mladina (%) / Wort (%) | 12 | 16 | | | | 20 | | | |
|----------------------------------|----|----|----|----|---|----|----|---|---|
| ethanol (% obj.) / ethanol (% v) | 0 | 0 | 5 | 7 | 9 | 0 | 5 | 7 | 9 |
| 72 h | ++ | ++ | + | – | – | + | + | – | – |
| 96 h | ++ | ++ | + | + | – | ++ | + | – | – |
| 120 h | ++ | ++ | ++ | ++ | + | ++ | ++ | – | – |

kmen č. 96 / Strain No. 96

| Mladina (%) / Wort (%) | 12 | 16 | | | | 20 | | | |
|----------------------------------|----|----|----|----|---|----|----|---|---|
| ethanol (% obj.) / ethanol (% v) | 0 | 0 | 5 | 7 | 9 | 0 | 5 | 7 | 9 |
| 72 h | ++ | ++ | + | – | – | ++ | – | – | – |
| 96 h | ++ | ++ | ++ | + | – | ++ | + | – | – |
| 120 h | ++ | ++ | ++ | ++ | + | ++ | ++ | – | – |

popřípadě kmeny ideální pro technologii HGB, která využívá mladiny o původní koncentraci do 16 % w/w.

Dvanáct kmenů, jejichž růst byl zcela inhibován přítomností ethanolu v kultivačním médiu a byl pozorován pouze v 16 a 20% w/w mladině bez přidavku ethanolu, tvoří skupinu C. Jedná se o kmeny č. 44, 52–59, 62, 65, 69. Pouze u kmenů č. 52 a 53 bylo pozorováno jejich pomalé pomnožení na 16% w/w mladině s přidavkem 5% v/v ethanolu. Vysoká citlivost těchto kmenů pivovarských kvasinek k ethanolu nedovolí prokvašení mladiny s vyšším obsahem extraktu za dostatečné tvorby ethanolu, kmeny nejsou vhodné pro technologii HGB a nebudou dále podrobněji testovány. Přehled zástupců této skupiny je uveden v tab. 3.

Ostatní kmeny pivovarských kvasinek, které jsou deponovány v naší sbírce, vykazovaly nižší stupně tolerance k ethanolu a osmotickému tlaku. Jejich růst byl více či méně inhibován, a nelze je zařadit do žádné výše popsané skupiny. Kmeny jsou vyhodnoceny jako nevhodné pro technologii HGB a nebudou zařazeny do dalšího testování. V tab. 4 jsou prezentovány výsledky nejběžněji distribuovaných kmenů, a to č. 2 a 95. Kmeny nebyly zařazeny ani do jedné skupiny. Oba kmeny jsou citlivé k ethanolu a osmotickému tlaku, kmen č. 95 má vyšší toleranci k ethanolu na 16% w/w mladině (roste při 7 % v/v ethanolu), než kmen č. 2.

4 ZÁVĚR

Výsledky prezentované v tomto článku naznačují další potenciál produkčních kmenů pivovarských kvasinek deponovaných ve Sbírci VÚPS. Kmeny zařazené do skupiny A, které mají dobrou míru tolerance k ethanolu i k vyššímu osmotickému tlaku, a kmeny skupiny B, které mohou být zajímavé pro technologie HGB využívající mladiny do 16 % w/w původního extraktu, jsou příslibem pro rozšíření nabídky produkčních kvasinek o kmeny vhodné/optimální pro HGB technologii. Jejich další podrobnější laboratorní testování případně čtvrté/polo-provozní várky prověří jsou-li ve sbírce kvasinek VÚPS, a.s. produkční kmeny vhodné k výrobě piva technologií HGB. Výsledky laboratorních kvasných zkoušek kmenů ze skupiny A budou prezentovány v dalším sdělení.

Poděkování

Práce je součástí Výzkumného záměru Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy (MSM6019369701).

Tab. 3 Skupina C – kmeny netolerantní k ethanolu / Group C – Strains with no tolerance to ethanol

kmen č. 44 / Strain No. 44

| Mladina (%) / Wort (%) | 12 | 16 | | | | 20 | | | |
|----------------------------------|----|----|---|---|---|----|---|---|---|
| ethanol (% obj.) / ethanol (% v) | 0 | 0 | 5 | 7 | 9 | 0 | 5 | 7 | 9 |
| 72 h | + | – | – | – | – | – | – | – | – |
| 96 h | + | + | – | – | – | + | – | – | – |
| 120 h | ++ | ++ | – | – | – | ++ | – | – | – |

kmen č. 54 / Strain No. 54

| Mladina (%) / Wort (%) | 12 | 16 | | | | 20 | | | |
|----------------------------------|----|----|---|---|---|----|---|---|---|
| ethanol (% obj.) / ethanol (% v) | 0 | 0 | 5 | 7 | 9 | 0 | 5 | 7 | 9 |
| 72 h | ++ | + | – | – | – | + | – | – | – |
| 96 h | ++ | ++ | – | – | – | ++ | – | – | – |
| 120 h | ++ | ++ | – | – | – | ++ | – | – | – |

kmen č. 59 / Strain No. 59

| Mladina (%) / Wort (%) | 12 | 16 | | | | 20 | | | |
|----------------------------------|----|----|---|---|---|----|---|---|---|
| ethanol (% obj.) / ethanol (% v) | 0 | 0 | 5 | 7 | 9 | 0 | 5 | 7 | 9 |
| 72 h | ++ | + | – | – | – | + | – | – | – |
| 96 h | ++ | ++ | – | – | – | ++ | – | – | – |
| 120 h | ++ | ++ | – | – | – | ++ | – | – | – |

Group B included 16 strains, which showed different sensitivities to ethanol and osmotic pressure. These strains have a significant tolerance to ethanol when cultivated in higher concentrated wort (16 % w/w). Their growth was even confirmed in the wort sample with 9 % v/v alcohol content. However, the tolerance of these yeasts to ethanol declines with the increased osmotic pressure in the 20 % w/w samples. In the wort with the concentration of 20 % w/w the yeast growth was only confirmed in samples without any addition of ethanol and in the samples with 5 % v/v ethanol. At this concentration the growth of some yeast strains was retarded. Group B includes strains Nos. 77, 78, 82, 84, 88, 90, 91, 94, 96, 95/1, 99, 110, 119, 126, 127 and 129. The typical results for some strains from this group are summarized in Tab. 2. The strains from the group B are not unattractive. They could be used for the wort fermentation with the initial concentrations of about 16 % w/w. Sufficient alcohol production is achieved. Further detailed testing could result in an ideal strain or strains for HGB technology using worts with initial concentrations up to 16 % w/w.

Group C contained 12 strains Nos. 44, 52–59, 62, 65 and 69. Their growth was completely inhibited in samples with added ethanol. Some growth was only observed in worts with concentrations of 16 and 20 % w/w without added ethanol. Only strains Nos. 52 and 53 showed a slow growth with an addition of 5 % v/v ethanol. The high sensitivity of these brewery yeast strains to ethanol does not allow full fermentation of worts with higher extract content while maintaining sufficient alcohol production. These strains are not suitable for HGB technology and they will not be tested further. Typical results for some strains from this group are summarized in Tab. 3.

The other brewery yeast strains kept in our collection showed a low tolerance to alcohol and osmotic pressure. Their growth was more or less inhibited and it was not possible to classify them in any group described above. These strains were judged as not suitable for HGB technology and also they will not be tested further.

Typical results for the most common distributed strains namely Nos. 2 and 95 are presented in Tab. 4. These strains were not classified in any group. Both of these strains are sensitive to ethanol and osmotic pressure. Strain No. 95 has a higher tolerance to alcohol in wort with the extract concentration of 16 % w/w than the strain No. 2. It still grew in the wort with an alcohol concentration of 7 % v/v.

The results presented in this study indicate the possibilities for production brewery yeast strains kept in the collection of the RIBM. Strains with a good degree of tolerance to ethanol and higher osmotic pressure classed into the group A along with strains classed into the group B which could potentially be utilized for HGB technology using worts with initial concentrations of up to max. 16 % w/w extract, are promising. They can extend the choice of the production yeast strains suitable or even optimal for HGB technology. Further detailed laboratory evaluation, eventually a quarter or pilot batch trial could check if the collection of the RIBM contains strains suitable for this technology. The results of laboratory fermentation trials for strains from group A will be presented in a subsequent study.

Tab. 4 Nejčastěji distribuované kmeny / The most commonly distributed strains

kmen č. 2 / Strain No. 2

| Mladina (%) / Wort (%) | 12 | 16 | | | | 20 | | | |
|----------------------------------|----|----|---|---|---|----|---|---|---|
| ethanol (% obj.) / ethanol (% v) | 0 | 0 | 5 | 7 | 9 | 0 | 5 | 7 | 9 |
| 72 h | ++ | ++ | – | – | – | + | – | – | – |
| 96 h | ++ | ++ | + | – | – | ++ | – | – | – |
| 120 h | ++ | ++ | + | – | – | ++ | + | – | – |

kmen č. 95 / Strain No. 95

| Mladina (%) / Wort (%) | 12 | 16 | | | | 20 | | | |
|----------------------------------|----|----|----|----|---|----|----|---|---|
| ethanol (% obj.) / ethanol (% v) | 0 | 0 | 5 | 7 | 9 | 0 | 5 | 7 | 9 |
| 72 h | ++ | ++ | + | – | – | ++ | – | – | – |
| 96 h | ++ | ++ | + | + | – | ++ | + | – | – |
| 120 h | ++ | ++ | ++ | ++ | – | ++ | ++ | – | – |

Literatura / References

1. Vernerová, J., Kurzová, V.: Sbírká pivovarských kvasinek. Kvasný Prům. **33**, 1987, 259.
2. Kohoutová, P., Hollerová, I.: Sbírká pivovarských kvasinek VÚPS. Kvasný Prům. **43**, 1997, 1–8.
3. Bendová, O., Kahler, M.: Pivovarské kvasinky. SNTL, Praha, 1981.
4. Pratt, P. L., Bryce, J. H. and Stewart, G. G.: The effects of osmotic pressure and ethanol on yeast viability and morphology. J. Inst. Brew. **109**, 2003, 218–228.
5. Pátková, J., Šmogrovičová, D., Bafrncová, P., Domény, Z.: Changes in the yeast metabolism at very high-gravity wort fermentation. Folia Microbiol. **45**, 2008, 335–338.
6. Sigler, K., Matoulková, D., Dienstbier, M., Gabriel, P.: Net effect of wort osmotic pressure on fermentation course, yeast vitality, beer flavor, and haze. Appl Microbiol Biotechnol. **82**, 2009, 1027–1035.
7. Casey, G. P., Magnus, C. A., Ingledew, W. M.: High-gravity brewing: Effects of nutrition on yeast composition, fermentative ability, and alcohol production. Applied and Environmental Microbiology, Sept. 1984, s. 639–646.

Recenzovaný článek / Reviewed paper

Do redakce došlo / Manuscript received: 19. 11. 2010

Přijato k publikování / Accepted for publication: 7. 1. 2011

4 CONCLUSION

The results presented in this paper shows potential of production strains on deposit in the Collection of yeast strains of RIBM. The strains from Group A, which are tolerant to higher osmotic pressure and to higher ethanol concentrations, and strains from Group B, which may have been interesting for HGB technologies based on fermentation in higher concentrated wort (16 % w/w), are promised for enhancing the offer of production strains suitable or optimal for HGB technologies.

They will be the subject of further detailed evaluations in laboratory and pilot trials which will prove, if there are production strains in the RIBM Collection of Yeasts suitable for beer production by HGB technology. The results of laboratory trials of Group A strains will be published in the next article.

Translated by Eva Paterson

Knihy

Daniel Froněk, Pavel Jákl, Milan Starec: Pivo a cukr

Výzkumné centrum průmyslového dědictví FA ČVUT, Černokostelecký pivovarský archiv a muzeum o.p.s., Praha 2011

ISBN 978-80-01-04717-0

Vydáno s podporou Evropského zemědělského fondu pro rozvoj venkova

Z pouhého názvu formátem „naležato“ nezvyklé brožury o rozsahu 88 stran by se dal vyvodit závěr, že pojednává o postupech surrogace během varního procesu. Již pohled do obsahu však celou věc objasňuje – jde o dvě samostatná témata – pivovary (sladovny) a cukrovary, které vzaly smutný konec po druhé světové válce. Dominantní částí publikace jsou pivovary, zabírající téměř 60 stran (autoři Jákl-Starec), zbylých dvacet stran z pera Daniela Froněka je věnováno cukrovarům.

Nejsem povolnou osobou, která by mohla vynášet soudy nad faktickou správností všech údajů uvedených v knize (takovéto publikace z podstaty bez nějakých chyb být nemohou, protože najít ke všem subjektům korektní a ověřitelná přesná data prostě nelze) a omezím se na výčet toho, co kniha obsahuje.

Obě části jsou zpracovány podle stejné metodiky, takže budu-li hovořit o pivovarech, to-
týž se týká i cukrovarů. Layout publikace je

následující: Každá stránka je věnována dvěma pivovarům. V záhlaví je dobová fotografie objektu, lokalita (řazení je abecední), specifikace pivovaru (panský, měšťanský atd.), GPS souřadnice (tyto zdánlivě zbytečné shluky čísel jsou velmi užitečné – umožňují totiž najít přesně místo, kde daná stavba, po níž často již téměř nic nezbylo, stála), údaje o založení a zrušení pivovaru.

Následuje textová část, obsahující podstatné údaje o každém subjektu, jakési curriculum vitae každého pivovaru. V zápatí je pak u řady pivovarů a sladoven – a to je rovněž velmi zajímavé – fotografie stavu téhož objektu (nebo alespoň místa, kde stál) z posledních let (2003–2009).

Každá z částí je uvedena krátkým shrnujícím textem, na závěr je uveden alespoň výčet těch, které se do publikace z různých důvodů nedostaly. Na závěr je připojen rejstřík všech uvedených staveb, přehled použité literatury a samozřejmě reference na autory všech vyobrazení.

Oba autoři části, která čtenáře Kvasného průmyslu nepochybně zajímá nejvíce, jsou v oboru dobře známí, stejně jako jejich entusiasmus a energie věnovaná sbírání dat (včetně osobní návštěvy řady popisovaných míst). Je štěstí, že pivovarnictví (a jak je z práce vidět, i cukrovarnictví) je jedním z oborů, v němž nadšenci tohoto druhu působí. Každá faktografická práce, i když její formát nedovoluje uvádět větší množství podrobnějších informací, kterými autoři disponují, je proto nesmírně cenná (skutečná cena publikací tohoto druhu roste úměrně s dobou, která uplynula od zrušení provozu).

Publikace je k dispozici na akcích cyklu Jak-jsem-potkal-fabriku, pořádaných kosteleckým pivovarem Dej bůh štěstí (viz Kvasný průmysl 1/2011, strana 24), a je součástí projektu zaměřeného na průmyslové dědictví, podporovaného Evropským zemědělským fondem pro rozvoj venkova.