

Vliv volby kmene kvasinek na senzorické vlastnosti piva

Petra Machalová

Bakalářská práce
2016



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav technologie potravin

akademický rok: 2015/2016

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Petra Machalová**
Osobní číslo: **T140067**
Studijní program: **B2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Chemie a technologie potravin**
Forma studia: **kombinovaná**

Téma práce: **Vliv volby kmene kvasinek na senzoričké vlastnosti piva**

Zásady pro vypracování:

I. Teoretická část

1. Technologie výroby piva.
2. Mikroorganismy, které se účastní hlavního kvašení mladiny a zrání mladého piva.
3. Proces etanolového kvašení, senzoričké aktivní látky a jejich vznik v rámci kvašení mladiny a zrání piva.
4. Důležitost výběru kvasinek pro technologii výroby piva a výsledný charakter hotového výrobku.
5. Faktory ovlivňující růst a aktivitu kvasinek, možnosti recyklace kvasnic v pivovarském průmyslu.

Rozsah bakalářské práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování bakalářské práce: tištěná/elektronická

Seznam odborné literatury:

- [1] BASAŘOVÁ, Gabriela. Pivovarství: teorie a praxe výroby piva. Vyd. 1. Praha: Vydavatelství VŠCHT, 2010, 863 s. ISBN 9788070807347.
- [2] ŠKACH, Josef a Martin SLABÝ. Vážíme si dostatečně kvasinek?. Kvasný průmysl. 2009, roč. 55, s. 2-8. ISSN: 0023-5830.
- [3] MATOULKOVÁ, Dagmar. Pivovarství a taxonomie pivovarských kvasinek. Kvasný průmysl. 2007, roč. 53, s. 206-214. ISSN: 0023-5830.
- [4] WHITE, Chris a Jamil ZAINASHEFF. Yeast: The practical guide to beer fermentation. Boulder, Colorado: Brewers Associations, 2010, 304 s. ISBN: 978-0-937-381-96-0.
- [5] QUEROL, Amparo a Graham H. FLEET. Yeasts in food and beverages. Berlin: Springer-Verlag, 2006, 453 s. ISBN: 978-3-540-28388-1.

Vedoucí bakalářské práce: Ing. Eva Lorencová, Ph.D.
Ústav technologie potravin

Datum zadání bakalářské práce: 2. února 2016

Termín odevzdání bakalářské práce: 4. května 2016

Ve Zlíně dne 2. února 2016



doc. Ing. František Buňka, Ph.D.
děkan



doc. Ing. František Buňka, Ph.D.
ředitel ústavu

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- beru na vědomí, že odevzdáním bakalářské práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, bez ohledu na výsledek obhajoby ¹⁾;
- beru na vědomí, že bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupná k nahlédnutí, že jeden výtisk bakalářské práce bude uložen na příslušném ústavu Fakulty technologické UTB ve Zlíně a jeden výtisk bude uložen u vedoucího práce;
- byla jsem seznámena s tím, že na moji bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3 ²⁾;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 1 autorského zákona má UTB ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 2 a 3 mohu užít své dílo – bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- beru na vědomí, že pokud bylo k vypracování bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tedy pouze k nekomerčnímu využití), nelze výsledky bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Ve Zlíně 4.5.2016.

Machalová Petra

¹⁾ zákon č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, § 47 Zveřejňování závěrečných prací:

(1) Vysoká škola nevydělečně zveřejňuje disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce, u kterých proběhla obhajoba, včetně posudků oponentů a výsledku obhajoby prostřednictvím databáze kvalifikačních prací, kterou spravuje. Způsob zveřejnění stanoví vnitřní předpis vysoké školy.

(2) Disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce odevzdané uchazečem k obhajobě musí být též nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněny k nahlížení veřejnosti v místě určeném vnitřním předpisem vysoké školy nebo není-li tak určeno, v místě pracoviště vysoké školy, kde se má konat obhajoba práce. Každý si může ze zveřejněné práce pořizovat na své náklady výpisy, opisy nebo rozmnoženiny.

(3) Platí, že odevzdáním práce autor souhlasí se zveřejněním své práce podle tohoto zákona, bez ohledu na výsledek obhajoby.

²⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 35 odst. 3:

(3) Do práva autorského také nezasahuje škola nebo školské či vzdělávací zařízení, užije-li nikoli za účelem přímého nebo nepřímého hospodářského nebo obchodního prospěchu k výuce nebo k vlastní potřebě dílo vytvořené žákem nebo studentem ke splnění školních nebo studijních povinností vyplývajících z jeho právního vztahu ke škole nebo školskému či vzdělávacího zařízení (školní dílo).

³⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 60 Školní dílo:

(1) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení mají za obvyklých podmínek právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla (§ 35 odst. 3). Odpirá-li autor takového díla udělit svolení bez vážného důvodu, mohou se tyto osoby domáhat nahrazení chybějícího projevu jeho vůle u soudu. Ustanovení § 35 odst. 3 zůstává nedotčeno.

(2) Není-li sjednáno jinak, může autor školního díla své dílo užít či poskytnout jinému licenci, není-li to v rozporu s oprávněnými zájmy školy nebo školského či vzdělávacího zařízení.

(3) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení jsou oprávněny požadovat, aby jim autor školního díla z výdělku jím dosaženého v souvislosti s užitím díla či poskytnutím licence podle odstavce 2 přiměřeně přispěl na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložily, a to podle okolností až do jejich skutečné výše; přitom se přihlédne k výši výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

ABSTRACT

Tato bakalářská práce se zabývá pivovarskými kvasinkami a jejich vlivem na sensorické vlastnosti piva. Kvasinky jsou odpovědné nejen za tvorbu etanolu a CO₂ v pivu, ale produkuje řadu dalších sensoricky aktivních látek (estery, vyšší alkoholy, aldehydy, ketony a další). Aktivitu kvasinek pak ovlivňuje mnoho externích faktorů, jako je např. dostupnost substrátu, teplota kvašení, pH, aj.

Volba kmene kvasinek pro konkrétní podmínky a cíle je vždy důležitým rozhodnutím, které může ovlivnit jednak sensorické vlastnosti, technologii a ekonomiku výroby, ale i uplatnění výrobku na trhu.

Klíčová slova: pivovarské kvasinky, sensoricky aktivní látky, výroba piva, mikroorganismy ve výrobě piva

ABSTRACT

This thesis deals with brewer's yeast and its influence on the sensory properties of beer. Yeasts are responsible not only for the formation of ethanol and CO₂ in the beer but also for the production of other flavor compounds (esters, higher alcohols, aldehydes, ketones etc.). In addition, the metabolic activity of yeast is influenced by many external factors such as e.g. availability of sub-strata fermentation temperature, pH, etc.

Selection of yeast strain for the specific conditions and goals is always an important decision that may affect not only sensory properties but also the production technology and economy of production as well as an acceptance of the product on the market.

Keywords: brewer's yeast, flavor compounds, beer production, microorganisms in beer production

Ráda bych poděkovala Ing. Evě Lorencové, Ph.D. za odborné vedení, cenné rady a připomínky při psaní této bakalářské práce. Dále bych chtěla poděkovat mé rodině a příteli za podporu během studia.

Prohlašuji, že jsem na bakalářské práci pracovala samostatně a použitou literaturu jsem citovala. Prohlašuji, že odevzdaná verze bakalářské práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou totožné.

Ve Zlíně dne 4. 5. 2016

.....

Podpis diplomanta

OBSAH

ÚVOD	9
1 PIVOVARSKÉ SUROVINY	10
1.1 SLAD	10
1.1.1 Druhy sladů	10
1.1.2 Výroba sladu.....	11
1.2 CHMEL	12
1.2.1 Dělení chmele.....	13
1.3 VODA	13
1.3.1 Acidobazické účinky solí varní vody	14
1.3.2 Význam iontů a jiných složek vody	15
2 TECHNOLOGIE VÝROBY PIVA	17
2.1 VÝROBA MLADINY	17
2.1.1 Čištění a šrotování sladu	18
2.1.2 Vystírání a rmutování sladu	18
2.1.3 Scezování a vyslazování mláta.....	20
2.1.4 Chmelovar	20
2.1.5 Filtrace a chlazení mladiny.....	21
2.2 VÝROBA PIVA.....	21
2.2.1 Kvašení mladiny.....	21
2.2.2 Závěrečné úpravy piva	23
2.2.3 Stáčení a expedice piva	24
3 PIVOVARSKÉ KVASINKY	25
3.1 KVASNIČNÁ BUŇKA.....	25
3.2 DRUHY PIVOVARSKÝCH KVASINEK.....	26
3.2.1 Sbírký pivovarských kvasinek.....	27
3.3 ROZMNOŽOVÁNÍ KVASINEK.....	28
3.3.1 Propagace kvasnic	29
3.3.2 Úschova kmenů, formy dodávek a recyklace kvasnic.....	30
3.4 FLOKULACE A SEDIMENTACE PIVOVARSKÝCH KVASINEK	31
3.5 METABOLIZMUS KVASINEK	32
3.5.1 Tvorba metabolitů při kvašení.....	32
3.5.2 Stresové faktory pivovarských kvasinek	36
3.5.3 Laboratorní posouzení vlastností kvasinek	38
3.6 VHODNOST KVASNIČNÝCH KMENŮ PRO RŮZNÉ DRUHY PIV	40
4 DALŠÍ MIKROORGANIZMY VE VÝROBĚ PIVA	43
ZÁVĚR	47
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	48

ÚVOD

Pivovarství patří v České republice k významným oborům potravinářského průmyslu a má mnohaletou úspěšnou tradici. Pivovarský průmysl vyrábí jako hlavní výrobky světlá a tmavá výčepní piva, ležáky, speciální piva a piva se sníženým obsahem alkoholu a další. V České republice je pivo nejkonzumovanějším alkoholickým nápojem [1]. Průměrná roční spotřeba piva je (r. 2015) 144 litrů na osobu [2].

Pivo je slabě alkoholický nápoj, který se již po staletí vyrábí z obilných sladů, vody, chmele a za účasti mikroorganismů, pivovarských kvasinek [3]. Význam pivovarských kvasnic spočívá v produkci látek, bez kterých by pivo nebylo pivem.

Při kvašení piva jsou používány tzv. spodní a svrchní kvasinky. Využívá se schopnosti kvasinek přeměnit zkvasitelné sacharidy na etanol, oxid uhličitý a ze sensorického hlediska neméně významné vedlejší metabolity [4]. Jako svrchní kvasinky bývají označovány *Saccharomyces cerevisiae*, jako spodní *Saccharomyces pastorianus* [5].

Během kvašení produkují kvasinky řadu charakteristických sensoricky aktivních látek, jako jsou estery, vyšší alkoholy, aldehydy, ketony a další. Jednotlivé kmeny mají rozdílné genetické předpoklady k tvorbě těchto látek, liší se např. i náchylností ke změnám metabolických cest, které jsou způsobené podmínkami výrobního procesu [6].

Volba kmene kvasinek pro konkrétní podmínky a cíle je vždy důležitým rozhodnutím, které může ovlivnit jednak sensorické vlastnosti, technologii a ekonomiku výroby, ale i uplatnění výrobku na trhu. Proto hlavním cílem této bakalářské práce je vytvořit aktuální dílo zabývající se danou problematikou, tzn. poukázat na to, jak je důležitý výběr vhodného kmene kvasinek pro technologii výroby piva a jaký vliv má na charakter vyráběného piva.

1 PIVOVARSKÉ SUROVINY

Pivo je vyrobeno ze čtyř hlavních surovin, kterými jsou slad, chmel, kvasnice a voda. Slad odpovídá za většinu chuti, barvy a charakteru piva. Při vaření pak poskytuje potravu pro kvasinky. Chmel dává pivu hořkost a tím vyvažuje sladkou chuť extraktu. Voda pak poskytuje prostředí, ve kterém spolu výše uvedené suroviny přicházejí do kontaktu [3, 1].

Další surovinou jsou kvasnice, které při procesu kvašení mění cukr ve sladku na alkohol, oxid uhličitý a další produkty mající vliv na sensorické vlastnosti piva. Průmyslová, ale i domácí výroba piva, vína i jiných alkoholických nápojů se cíleně opírá o využívání kvasinek, převážně druhu *Saccharomyces cerevisiae*. Výrobní proces je založen na použití standardních kvasnic, které mají dobře definované vlastnosti, pokud možno neměnné i při opakovaném nasazení. Kvasnice jsou surovinou, kterou je možno kontrolovat jednoduchými metodami a kvalitní kvasnice jsou zárukou bezproblémové výroby kvalitního nápoje [3]. Problematice využití kvasinek bude věnována samostatná kapitola v této bakalářské práci.

1.1 Slad

Základní surovinou pro výrobu piva je slad, který se vyrábí naklíčením a hvozdením obilovin ve sladovnách [3].

Jednotlivé druhy sladů se od sebe liší nejen svým rostlinným původem (ječmen, pšenice, žito, atd.), ale také mají rozdílný způsob technologického zpracování (světlý, polotmavý, tmavý, barevný). Barvy sladu se docílí jeho sušením při určité teplotě na konci sladovnického procesu. Čím je teplota hvozdení vyšší, tím je slad tmavší [7].

1.1.1 Druhy sladů

Jednotlivé druhy sladů s typickými vlastnostmi se získávají úpravami technologie máčení a klíčení ječmene (či jiné obiloviny) [3].

Světlý slad plzeňského typu se používá pro výrobu světlých piv typu ležáků, konzumních piv a speciálních piv s různou koncentrací původní mladiny [7]. Dalším druhem jsou tmavé slady mnichovského typu používané pro výrobu tmavých piv. Tyto slady bývají často označovány jako slady bavorské [3]. Z pšenice seté se potom vyrábějí pšeničné slady, které se používají pro výrobu pšeničných piv [8]. Dále sem patří i speciální slady, které se

používají k výrobě tmavých piv a speciálních piv, při použití náhražek sladu a k úpravě určitých kritérií sladiny z běžných sladů. Jejich přidáním k běžným sladům se docílí např. úpravy barvy, chuti či pěnivosti piva [3]. Mezi speciální slady patří: karamelové slady, barvicí slady, nakuřované slady, melanoidové slady, diastatické slady, proteolytické slady (kyselé slady) a slady zvyšující redoxní kapacitu piva [9].

1.1.2 Výroba sladu

Pro výrobu sladu a sladových výtažků se u nás pěstují vybrané odrůdy jarního ječmene, které patří ke kvalitním odrůdám na světě [3].

U sladovnického ječmene se posuzují nejen pěstitelské vlastnosti, tedy výnos, odolnost, náročnost, ale zejména sladařské vlastnosti, tj. chemické složení a vhodnost pro výrobu sladu [10].

Cílem sladování je vyrobit řízeným procesem klíčení a hvozdění z ječmene slad, obsahující potřebné enzymy a aromatické i barevné látky, které jsou nezbytné pro výrobu určeného druhu piva [11].

Principem sladování je vytvoření optimálních podmínek pro klíčení ječmene, přičemž dochází v zrně k aktivaci a tvorbě technologicky důležitých enzymů, hlavně cytolýtických, proteolytických a amylolytických. Tím vzniká zelený slad, který se následným hvozděním, při kterém se působením zvýšené teploty vyvolávají chemické reakce tvorby aromatických a barevných látek, přemění v hotový slad [12].

Výroba sladu začíná předčištěním ječmene, jeho namočením ve zvláštních nádobách, náduvnících a klíčením ječmene. Dříve se klíčení ječmene provádělo na humnech a nyní se provádí na pneumatických bubnových klíčidlech nebo skříňových klíčidlech, Saladinově nebo Lausmanově skříně, případně v kruhových klíčících skříních, vertikálně uspořádaných nad sebou (věžové sladovny) [11].

Dalším krokem při výrobě sladu je hvozdění naklíčeného sladu na hvozdu. Naklíčený (zelený) slad je nejdříve předsušen při teplotě sušícího vzduchu do 60 °C, poté je досуšen při teplotách 80 – 105 °C [11]. Při hvozdění sladu se ještě provádí dotahování teploty. U českého (plzeňského, světlého) sladu se používají dotahovací teploty 80 – 85 °C, u tmavého (bavorského) sladu se zase používají teploty 100 – 105 °C a u karamelového sladu jsou dotahovací teploty v rozmezí 120 – 180 °C [3]. Po skončení procesu hvozdění následuje

duje odkličování sladu. Slad se tak zbaví kořínků, poškozených zrn a prachu a současně se ochladí. Po té se slad uskladní do sladových sil, ojediněle na sladové půdy. Slad se nechává odležet 4 až 6 týdnů. Poté se podle požadavku odběratelů slad expeduje buď volně ložený nebo pro menší a speciální odběratele pytlovaný nebo také ve velkoobjemových vacích. Slad pytlovaný je chráněn proti navlhnutí uvnitř pytle polyethylenovou vložkou [13].

1.2 Chmel

Chmel jsou v podstatě usušené chmelové hlávky samičích rostlin chmele. Chmel a výrobky z chmele hrají při výrobě piva nezastupitelnou roli. Dodávají pivu typickou hořkost a aroma [3,11].

V České republice se velká část z celkové produkce chmele vyváží téměř do celého světa [13]. Hlavní pěstovanou odrůdou je Žatecký poloraný červeňák, který je zařazený do skupiny jemně aromatických chmelů. U nás se chmel pěstuje ve třech oblastech a to v oblasti Žatecké, Ústecká a Tršické. Mimořádné klimatické a půdní podmínky přispívají k výjimečnému aromatickému charakteru českých chmelů [14].

Chmel je důležitý při výrobě piva, protože působí jako inhibiční látka, proti rozvoji bakterií. Dále chmel obsahuje hořké látky hořčiny (humulon a lupulon), které dávají pivu hořkost [13].

Sklizený chmel obsahuje 72–82 % vody, proto se suší při teplotě nejvýše 50 °C, tak aby konečná vlhkost nepřesahovala 8 %. Pak se chmel skladuje na půdách, kde přijímá vzdušnou vlhkost a tím se obsah vody v chmelu zvýší přibližně na 11 %, poté se třídí a lisuje. Pro kvalitu chmele je rozhodující obsah pivovarnicky cenných složek, zejména pryskyřic, polyfenolů a silic [11].

Kvůli nízké chemické stabilitě a dalším nedostatkům hlávkového chmele došlo v polovině 20. století k vývoji a praktickému využití různých chmelových přípravků, které snižují nedostatky hlávkového chmele. Jedná se o koncentráty hořkých látek a manipulace s nimi je jednodušší [3].

Chmel je přidáván do piva při výrobě, při takzvaném chmelovaru, a je vařen minimálně 90 minut. Za tuto dobu intenzivního varu lze získat z chmelových šišek přibližně 27 % z celkového obsahu jejich hořkosti. Nejčastěji se chmel přidává do piva na začátku, uprostřed a na konci varu. Na začátku a uprostřed varu je používán chmel hořký, na konci

pak chmel aromatický, který vytváří charakteristickou vůni některých typů nebo druhů piva [3].

1.2.1 Dělení chmele

Podle zabarvení chmelové révy se vypěstované odrůdy chmele rozdělují na červenáky a zeleňáky. Odrůdy pěstované v Evropě, v Čechách, Německu, Polsku a Slovinsku jsou typickými představiteli červenáků naopak odrůdy pěstované v Anglii, USA a Austrálii jsou typickými představiteli zeleňáků [13]. Dále se odrůdy chmele dělí podle délky vegetační doby na rané, polorané a pozdní. Podle obsahu chmelových pryskyřic a chmelového aroma je zase dělíme na jemné aromatické chmele, vesměs s nižším obsahem chmelových pryskyřic a s příjemným aroma, a na vysokoobsažné hořké chmele vyznačující se vysokým obsahem chmelových pryskyřic a obvykle méně příznivým hrubým aroma [3].

Podle složení pryskyřic a silic se odrůdy chmele, se kterými se obchoduje na světových trzích, dělí do pěti skupin: tradiční aromatické chmele, nové aromatické chmele, šlechtěné aromatické chmele, kvalitní hořké chmele, hořké chmele [15].

1.3 Voda

Voda má podstatný vliv na charakter a jakost piva. Podle technologického postupu a dokonalosti technického řízení se udává spotřeba vody ve sladovnách na 10–15 hl vody/100 kg sladu a v pivovarech 12–15 hl vody/hl piva. Z potravinářských závodů patří pivovary a sladovny k největším spotřebitelům vody [12].

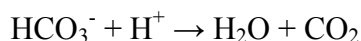
Voda v pivovarství je rozdělena do tří skupin podle účelu použití:

- a) **Varní voda** – používá se pro přípravu piva jako jedna ze základních surovin. Svými vlastnostmi musí splňovat požadavky na pitnou vodu, především z hlediska zdravotní a hygienické nezávadnosti. Fyzikálně – chemické a biologické vlastnosti této vody ovlivňují průběh přípravy, základní kvalitu a specifické vlastnosti určité značky piva.
- b) **Mycí a sterilační voda** – musí být prostá mikroorganizmů, chemických kontaminantů a nesmí zapáchat.
- c) **Provozní voda** – musí odpovídat standardům stanoveným pro jednotlivé operace a zařízení [3].

Voda je surovinou, které je v pivu nejvíce. Každý druh piva potřebuje svou typickou vodu, to znamená, že pokud voda nemá požadované složení, musíme ji upravit [13]. Měkká voda se hodí k výrobě světlých ležáků, středně tvrdá voda pak k výrobě tmavých a černých piv. Dále hodnota pH je pro vaření piva hodně důležitá. Zvýšené pH (přes 7) má vliv na štěpení škrobů při rmutování, dále má vliv na chmelení piva a stupeň prokvašení ve sklepě, což má za následek sladší charakter piva. Velká tvrdost vody se sebou přináší i zvýšené pH, a proto je důležité vodu změkčit, čímž se sníží i hodnota pH [3].

1.3.1 Acidobazické účinky solí varní vody

Procesy, které probíhají při výrobě piva, jsou zásadně ovlivňovány aktuální hodnotou kyselosti neboli pH vody [3]. Při reakcích probíhajících při vyšší teplotě hydrogenuhličitanové ionty spotřebovávají ionty H^+ a dojde ke snížení acidity a zároveň se uvolní oxid uhličitý: [13]



Kyselou reakci rmutů ve varním procesu, pak zajišťují disociované dihydrogenfosforečnany, hydrogenfosforečnany a fosforečnany sladu. Prvé z nich vykazují kyselou reakci, druhé slabě alkalickou a třetí alkalickou. Rovnováha těchto iontů je pak závislá na aktuálním pH roztoku ovlivněném reakcí s rozpustnými solemi varní vody [3].

Reakce iontů varní vody snižující aciditu

Snížení acidity je závislé na obsahu aktivních hydrogenuhličitanů nebo uhličitanů a na obsahu minerálních látek, které přicházejí do procesu se surovinou. Vody, které jsou bohaté na hydrogenuhličitaný vápenatý, nejdříve tvoří alkalicky reagující hydrogenfosforečnany a až pak nerozpustné fosforečnany. Tyto nerozpustné fosforečnany pak společně s nerozpustnými hydrogenfosforečnany vápenatými vypadávají z roztoku a acidita klesá [16].

Za varu nejsou alkalické hydrogenfosforečnany hořečnaté stabilní a rozkládají se na kyselou reagující dihydrogenfosforečnany a z roztoku se vylučují fosforečnany. Tím se pak vysvětluje nižší hodnota pH rmutů a mladiny za horka než za studena [3].

Reakce vedoucí ke snížení acidity, tj. zvýšení pH, jsou příčinou zhoršení tlumivé kapacity vlivem vysrážení fosforečnanů vápenatých a hořečnatých. Jejich nedostatečné

množství pak může negativně ovlivnit průběh enzymových reakcí při rmutování a kvašení [3].

Reakce iontů varní vody zvyšující aciditu

Sírany a chloridy vápenaté výrazněji zvyšují aciditu než hořečnaté soli, protože vzniklý terciární fosforečnan vápenatý je nerozpustný, kdežto terciární fosforečnan hořečnatý je nerozpustný jen za varu. Část vápníku a hořčíku, které jsou ve rmutu v nedisociované formě jako proteinát vápenatý a hořečnatý a uvolňují vodíkové ionty z kyselých dusíkatých látek. Význam to má ve stimulaci proteas a amylas při rmutování [3].

1.3.2 Význam iontů a jiných složek vody

Pro výrobu piva se používají vodní zdroje, které se liší zastoupením jednotlivých iontů, jejich vzájemnými poměry a obsahem dalších složek. Tyto rozdíly mají vliv na proces výroby i na charakteristické vlastnosti určité značky piva [3]. Příklady iontů:

Vápenaté ionty – přidavek chloridu či uhličitanu vápenatého tlumí přibarvování rmutů, vyluhování barevných látek, polyfenolů a kyseliny křemičité při vyslazování. Vápenaté ionty do určité míry snižují degradaci buněk kvasinek a kompenzují nadbytek hořečnatých iontů. Dále mají pozitivní význam ve flokulaci kvasnic [3, 13].

Hořečnaté ionty – v mladině a pivu z větší části pocházejí ze sladu a asi třetina pochází z varní vody. Síran hořečnatý může ve větším množství nepříznivě ovlivnit chuť piva [3]. Hořečnaté ionty jsou také potřebné pro stimulaci aktivity enzymů při kvašení [17].

Ionty draselné a sodné – způsobují drsnou chuť piva. Sodík hraje důležitou roli v regulaci transportu draslíku v metabolismu kvasinek. Draslík má zase inhibiční účinek na některé sladové enzymy při přípravě mladiny. Dále má pozitivní fyziologický význam v průběhu kvašení [3].

Železo – pokud je vysoký obsah železa ve vodě tak dochází ke zhoršení kvality sladu (má tmavší barvu), zpomaluje zcukření rmutů a způsobuje přibarvení rmutů, mladiny a pěny piva, snižuje plnost chuti a charakter hořkosti piva. V koncentraci nad 0,1 mg l⁻¹ zvyšuje degenerační změny kvasnic [3, 13].

Manganaté ionty – v malých koncentracích jsou důležité pro množení a látkovou výměnu kvasnic [3]. Při vyšších koncentracích mají nepříznivý vliv na hotové pivo, tvoří se zákal [18].

Měďnaté ionty – jsou toxické pro kvasinky [3].

Zinečnaté ionty – jsou důležité při fermentaci. Podporují růst kvasnic, ale při vysokých koncentracích jsou pro kvasinkové buňky toxické a v rámci oxidačních procesů zhoršují fyzikálně – chemickou stabilitu piva [3, 18].

2 TECHNOLOGIE VÝROBY PIVA

Pivovarská výroba se postupně oddělila od výroby sladu, který dnes větší pivovary téměř výhradně nakupují od pivovarských sladoven [19].

Postupů výroby je několik a liší se podle technologického vybavení pivovaru a samozřejmě i podle typu piva. Všechny výrobní procesy vychází ze základního postupu, který se využívá pro výrobu piva plzeňského typu – světlé spodně kvašené pivo [3].

Výroba Českého piva je pozoruhodná užitím specifického výrobního postupu, tzv. dekokční metody rmutovacího procesu. Tento proces spočívá ve vaření mladiny a následném dvojstupňovém kvašení [20].

Postup výroby piva dělíme do dvou hlavních výrobních fází, a to na:

1. výrobu mladiny,
2. výrobu piva [12].

2.1 Výroba mladiny

Pivní mladinu lze definovat jako extrakt sladu a chmele. Mladina vzniká v první fázi technologického procesu při výrobě piva. Nejdůležitějším procesem při výrobě mladiny je přeměna nerozpustných složek sladu (škrobu) na rozpustné složky. To je výsledkem enzymových reakcí katalyzovaných převážně hydrolyzujícími enzymy. Účinné látky chmele přecházejí naproti tomu do roztoku fyzikálními a chemickými pochody. K vytvoření podmínek pro hlavní pochod je třeba pracovat se surovinou předem upravenou šrotováním a dostatečným množstvím vody [21].

Mladina se připravuje ve varně pivovaru ze sladu, z vody a chmele či chmelových přípravků. Podmínky přípravy z hlediska složení a surovin se volí podle druhu vyráběného piva [3].

První soubor operací v pivovarském procesu vede k výrobě mladiny. Jednotlivé dílčí kroky tohoto procesu jsou: čištění a šrotování sladu, vystírání a rmutování, scezování a vyslazování mláta, chmelovar, filtrace a chlazení mladiny [22].

2.1.1 Čištění a šrotování sladu

Velké množství sladu určené pro pivovary může obsahovat cizorodé látky (kamínky, prach, kovové příměsi), které je nutné před šrotováním odstranit. Používá se k tomu čistička, odkaménkovač, magnet a aspirátor. Před šrotovníkem je případně zařazen kondicionovací šnek, který se používá ke zvlhčení sladu v případě mokrého šrotování [23].

Šrotování sladu je čistě mechanický a zdánlivě jednoduchý proces. Složení šrotu však zásadně ovlivňuje proces rmutování, scezování a varní výtěžek [13]. Sladové zrnko je celkově velmi kompaktní a varní vodě umožňuje jen nedostatečný přístup k uvnitř ležícím extraktivním látkám. Účel šrotování je tedy dokonalé vymletí endospermu sladových zrn na vhodné podíly jemných a hrubých částic při zachování celistvosti obalových pluch [3], neboť ty slouží v pozdější fázi výroby jako filtrační materiál při scezování [1].

2.1.2 Vystírání a rmutování sladu

Při vystírání dochází ke smíchání sladového šrotu s vodou. Objem vody použitý k vystírce se nazývá nálev a množství použitého sladu se nazývá sypání. U dobře rozluštěných sladů se vystírá při teplotách 35 až 38 °C nebo při 50 až 52 °C u špatně rozluštěných sladů. U světlých piv se volí vystírka řidší 5-6 hl vody na 100 kg sypání, u tmavých piv hustší a to 4-5 hl vody na 100 kg sypání [3].

Následuje rmutování, což je rozhodující krok při výrobě piva [24]. Při rmutování jde o to, aby se pevné složky nakonec rozpustily ve vodě. To se děje ve rmutovací pánvi a roztok sladu, eventuálně jiných obilovin a vody se v tomto okamžiku nazývá rmut [25].

Cílem rmutování je převést žádoucí složky obsažené ve sladu do roztoku [3]. Dominantní složkou sladu a pro pivovarské účely nejdůležitější je škrob. Škrob je tedy potřeba naštěpit na cukry (oligosacharidy, disacharidy, monosacharidy), které jsou během kvašení kvasinkami převážně transformovány hlavně na etanol a oxid uhličitý, který dává základní charakter piv [23]. Štěpení škrobu zajišťují enzymy obsažené ve sladu. Tyto enzymy je potřeba aktivovat požadovanou teplotou a pH. Ve sladu se také nacházejí enzymy, které štěpí i ostatní látky, které jsou klíčové k výrobě piva [22].

Příklady enzymů, které štěpí škrob (amylolytické enzymy) jsou α -amyláza, β -amyláza, hraniční dextrináza, maltáza, sacharáza. Ostatními enzymy jsou proteolytické

enzymy (štěpí bílkoviny), enzymy štěpící hemicelulózy a další gumovité látky, enzymy štěpící organické fosforečnany, lipázy (štěpí lipidy) [23].

Historicky existují dvě rmutovací strategie lišící se způsobem zvyšování teploty tj. infuzní a dekokční rmutování. Dále se můžeme setkat s celou řadou variant těchto dvou postupů. Výběrem vhodného rmutovacího postupu lze přizpůsobit složení mladiny vyráběnému typu piva a částečně korigovat rozdíly v kvalitě surovin [22].

Pro dekokční postupy je typické povařování dílčích rmutů a podle jejich počtu se dělí na jednorumtové, dvourumtové a třírumtové postupy, z nichž nejčastější jsou postupy dvourumtové. Třírumtový postup je základem technologie, od které se odvozují další varianty rmutování a byl dlouho používán i pro výrobu světlých piv [16].

Infuzní postupy rmutování zajišťují rozpouštění a štěpení extraktu sladu s dlouhodobějším účinkem sladových enzymů bez povařování rmutů. Tyto postupy jsou od dekokčních postupů podstatně kratší, trvají přibližně 180 minut, jsou méně energeticky náročné a mohou se zajistit v jedné nádobě. Jsou vhodné pro dobře rozluštěné slady [3]. Piva, která se vyrábějí tímto způsobem, jsou světlejší, méně plná v chuti, někdy mají i jakousi vinnou příchuť [13]. Postupy se používají především pro svrchně kvašená piva. Pro piva typu ležáků se obvykle upravují infuzní postupy s dekokční variantou [3].

Při rmutování je důležité udržovat přestávky při technologicky důležitých teplotách, kterými jsou:

- 35 až 38 °C (kyselinotvorná),
- 45 až 50 °C (degradace bílkovin),
- 60 až 65 °C (nižší cukrotrvorná teplota),
- 70 až 75 °C (vyšší cukrotrvorná teplota),
- na závěr se vždy směs (rmut) povaří při 76 až 78 °C [3, 20].

Průběh rmutování ovlivňuje charakter a chuť hotového piva. Rmutovacím procesem získáme všechny cenné látky ze sladu [20].

2.1.3 Scezování a vyslazování mláta

Po odmutování následuje proces přípravy mladiny, scezování [26]. Cílem scezování je získat čistou sladinu a maximum extraktu, který do procesu přinesly suroviny [27]. Scezování je proces, při němž oddělujeme sladový extrakt (sladinu) od pevného podílu zcukřeného rmutu, tj. mláta. Při scezování se v scezovací kádi sladina odděluje od mláta přirozenou filtrací přes vrstvu sedimentovaných plucha a ostatních nerozpustných zbytků sladu. Zfiltrovaný podíl extrakt sladu označujeme jako „předek“ a po jeho stečení následuje vyslazování. Vyslazování je proces, při kterém se mláto promývá horkou vodou (75–78 °C). Takto získaná zředěná sladina („výstřelky“) se shromažďuje spolu s „předkem“ ve sběrači sladinu, nebo v mladinové pánvi. Vyslazování mláta se zpravidla opakuje 2–3 krát s klesajícím obsahem extraktu ve výstřelcích [22].

2.1.4 Chmelovar

V tomto technologickém kroku se sladina získaná scezováním vaří s chmele v mladinové pánvi [22]. Při vaření sladinu s chmelem probíhá řada fyzikálních, chemických a biochemických reakcí za spolupůsobení vlivu mechanického pohybu, jejichž výsledek se promítá ve složení mladiny [28].

Cílem chmelovaru je:

- odpařit přebytečnou vodu a docílit obsahu extraktu mladiny odpovídající typu vyráběného piva, odpařit těkavé látky (chmelové silice, oxidační produkty aj.),
- inaktivovat enzymy, které přetrvaly předchozí proces výroby sladinu a určit tak složení sacharidů
- sterilovat mladinu a inhibovat reziduální mikroflóru z vody, sladu, chmele a zařízení
- zajistit koagulaci bílkovin s polyfenolovými látkami chmele a sladu
- převedení hořkých látek chmele do mladiny
- Maillardovy reakce (reakce aminokyselin s redukujícími sacharidy)
- denaturace sladových bílkovin [3].

Produktem chmelovaru, který trvá 90 až 120 minut a provádí se za varu v mladinovém kotli, je mladina. Chmel se během tohoto procesu přidává třikrát – $\frac{1}{4}$ na začátku varu; $\frac{1}{2}$ po hodině varu a poslední čtvrtina 30 minut před ukončením varu [10].

Výrobní procesy jako vystírání, rmutování, scezování a chmelovar řadíme do horkého úseku výroby piva probíhající na tzv. varně [22].

Po chmelovaru následuje oddělení zbytků chmele (chmelové mláto). Chmelové mláto se odděluje po dovaření mladiny zpracování hlávkového chmele pomocí cízu, mon-žiku nebo náplavkového filtru. Mladina s chmelem protéká zařízením, kde se chmelové mláto oddělí a vylouží vodou [3].

2.1.5 Filtrace a chlazení mladiny

Mladina po chmelovaru obsahuje hrubé kaly, tj. vysrážené bílkovinné vločky a další částičky ze sladu a chmele. K odstranění kalů se používají vířivé nebo méně často usazovací kádě, odstředivky nebo dekantéry. Do vířivé kádě se vysokou rychlostí načerpá mladina, která se v kádi roztočí, síly, vyvolané pohybem rotující mladiny, vynesou těžší kaly ke středu vířivé kádě, kde se uloží. Po zastavení pohybu se pak vyčeřená mladina otvory umístěných v různých výškách stěny vířivé kádě, odčerpává pomalu do chladiče mladiny [11].

Vyrobená mladina se musí před zakvašením ochladit na zákvasnou teplotu. Při ochlazení se mladina současně provzdušní. Tyto procesy probíhají od teploty blízké 100 °C na teplotu 5 až 6 °C pro tradiční „studené“ hlavní kvašení, na teplotu 10 až 15 °C pro zrychlené kvasné procesy a na 12 až 18 °C pro výrobu svrchně kvašených piv [3].

2.2 Výroba piva

Výroba piva se dělí na kvašení mladiny, dokvašování a zrání piva, závěrečné úpravy piva [12].

2.2.1 Kvašení mladiny

Fermentace mladiny, která dává vzniknout pivu, probíhá ve dvou stupních. První stupeň se označuje jako hlavní kvašení, kde se pomnoží kultura – pivovarské kvasinky. Ty v řízeném procesu zkvasí podstatnou část využitelných látek z mladiny. Druhá fáze se nazývá dokvašování a ležení piva [3].

V první fázi vznikají jako základní produkty kvašení etanol, oxid uhličitý a biomasa a dále řada vedlejších metabolitů, které mají zásadní význam pro chuť piva. Jsou to pozitivně působící sloučeniny, estery, alkoholy a mastné kyseliny, ale i přirozený antioxidant, kterým je oxid siřičitý. K negativním vedlejším metabolitům patří například vyšší hladiny diacetylu, aldehydů a různých sirných sloučenin [29].

Hlavní kvašení

Při výrobě piva typu ležáků se používají spodní pivovarské kvasinky *Saccharomyces pastorianus* v teplotním rozmezí 7 až 15 °C se sedimentací kvasnic na dně kvasné nádoby. Svrchní pivovarské kvasinky *Saccharomyces cerevisiae* jsou použity při výrobě piv typu Ale i dalších druhů piv a jejich teplotní rozmezí je 18 až 22 °C, často s vynášením kvasnic do kvasničné deky [3, 5].

Hlavní kvašení může probíhat v otevřených kvasných kádích v chlazené místnosti zvané spilka a u nás se provádí spodními pivovarskými kvasinkami [7]. V současnosti, ale cylindrokónické tanky (CKT) představují nejrozšířenější zařízení na úseku kvašení a dokvašování piva [3].

Při kvašení dojde k přeměně zkvasitelných sacharidů (glukózy, maltózy a maltotriózy) na etanol a oxid uhličitý anaerobním kvašením [30]. Současně vznikají v malé míře i vedlejší kvasné produkty (alkoholy, aldehyd, estery, atd.) [7].

U hlavního kvašení se rozlišuje několik stádií [22]. Brzo po zkvašení dochází k zaprašování, kdy se poprvé objeví bílá pěna na povrchu kvasící mladiny. Dále pak následuje odrážení, při němž pěna houstne a je vytlačována do středu kvasné kádě. Nízké bílé kroužky představují hustou smetanovou pěnu s kučeravým povrchem a jsou stádiem nejintenzivnějšího kvašení [13].

Vysoké hnědé kroužky vznikají poklesem hodnoty pH. Následuje stádium propadání za tvorby husté deky. Tato kvasná deka obsahuje vyloučené látky, kvasnice a kontaminanty. Kvasná deka se sbírá a tím jsou odstraněny nežádoucí látky, protože by jinak mohlo dojít k jejímu propadnutí a to by mohlo způsobit nepříjemnou hořkost piva [3].

Na konci hlavního kvašení sedimentují spodní kvasinky na dno kádě a po stáhnutí piva se sbírají, propírají se studenou vodou a znovu se nasazují do provozu. U svrchního kvašení dochází k vyplavení kvasinek na hladinu kvasícího média. Hlavní kvašení trvá zpravidla 6 až 8 dní podle druhu vyráběného piva [13].

Dokvašování a zrání

V této druhé fázi fermentace, která probíhá vždy pod mírným tlakem, pomalu dokvašuje zbylý extrakt kvasnicemi, které zůstaly ve vznosu [3].

Dokvašování a zrání piva probíhá v ležáckých nádobách v podzemních sklepech nebo v izolovaných chlazených budovách, v moderních postupech pak ve velkoobjemových izolovaných nádobách [31]. Při klasickém dokvašování teplota postupně klesá z 5 °C na 2 až 0 °C. Doba dokvašování při tradiční technologii je u 10 % výčepních piv 21 dnů, u 12% ležáků až 70 dnů [3].

2.2.2 Závěrečné úpravy piva

Dokonale vyzrálé pivo je nutné ještě před expedicí upravit, a to zfiltrovat, případně pastovat, případně stabilizovat a stočit do transportních obalů [1]. Tyto závěrečné úpravy se provádí s cílem vyhovět spotřebitelským a komerčním požadavkům na vzhled, trvanlivost a obchodovatelnost (např. export) výrobku [22].

Filtrace

Filtrace zaujímá ve výrobě piva významné místo [3]. Filtrace piva se nejčastěji provádí na křemelinových a deskových filtrech. Používají se i tzv. EK-filtry, aby se dosáhlo vysoké biologické stability. Výjimečně se používají i odstředivky. Nejmodernější způsobem, ale zároveň velmi nákladným, je membránová filtrace [1]. Pomocí membránové filtrace lze nahradit pasteraci, a tím i negativní působení tepla na chuť piva [22].

Cílem filtrace je odstranit zbytky neusazených kvasnic a koloidních částic tak, aby pivo získalo jiskrnou čirost [22].

Pasterace

Tento druh úpravy piva se používá pro zvýšení biologické stability piva [1]. Pasterace je tepelná inaktivace mikroorganismů, které mohou kazit pivo. Biologická stabilita piva se může zvýšit dalšími postupy, které se však v praxi nerozšířily tak jako pasterace [31]. Nejvíce rozšířená pasterace piva je v lahvích či plechovkách v ponorných pastérech při teplotě 62 °C po dobu 20 – 30 minut, méně častá je mžiková pasterace v průtokových pastérech při vyšší teplotě (80 °C), kvůli vzniku varné chuti [3].

Stabilizace

Stabilizace piva je prováděna u exportních piv, kdy je nezbytné zaručit mnohaměsíční trvanlivost. Princip stabilizace je založený odstranění prekurzorů zákalů piva. Jde především o vysokomolekulární dusíkaté složky, polyfenoly, kovové ionty a rozpuštěný kyslík. Při stabilizaci se používají stabilizátory srážecí (tanin), adsorpční (silikagel), enzymové (papain) a antioxidační (kyselina askorbová). Stabilizátory jsou do piva přidávány nejčastěji před koncem dokvašování, aby se případně vyloučené látky odstranily při filtraci [1].

2.2.3 Stáčení a expedice piva

Stáčení nápojů do přepravních obalů je stále komplikovanější proces, náročný na inženýrské, energetické, stavební, hygienické i společenské podmínky realizace. U každého nápoje musí být zajištěny optimální podmínky podle jeho fyzikálně-chemických vlastností a především s cílem zachovat jeho vlastnosti [32, 33, 34].

Stáčení piva je náročné, protože nesmí docházet ke ztrátám oxidu uhličitého a dalších těkavých látek a současně se musí zamezit přístupu kyslíku, protože ten nepříznivě ovlivňuje jeho stabilitu [35].

Stáčení piva je konečnou fází výroby. U nás se pivo stáčí do cisteren pro dislokované stáčírny a pro export; do sudů, lahví a plechovek pro vnitřní obchodní síť i pro export [1].

V České republice jsou vyráběny převážně piva světlá s technologií dekokčního rmutování a spodního kvašení a podle koncentrace mladiny se dělí na piva výčepní čili konzumní (7 až 10 %), ležáky (11 až 12 %) a piva speciální (nad 13 %) [1].

Zvláštním typem piva jsou piva, které mají snížený nebo nulový obsah alkoholu a jsou vyráběna buď potlačeným kvašením z nízkoprocentních mladin, nebo odstraněním alkoholu z běžně vyrobeného piva [13].

V posledních letech se zejména v zahraničí rozšířila výroba piv se sníženým energetickým obsahem. Dalším typem piva jsou kvasnicová, která jsou produkována v minipivovarech s vyloučením filtrace nebo přidavkem rozkvašené mladiny do již hotového piva [1].

3 PIVOVARSKÉ KVASINKY

Výroba piva je jednou z nejstarších lidských činností, která od doby vzniku, prodělala sice nějaké změny, ale zachovala si svou podstatu. Pivovarská výroba se zakládá na využití kvasinek [36].

První verze zákona o čistotě piva (Reinheitsgebot) z roku 1492 nezahrnovala vůbec kvasnice, jako surovinu povolenou pro výrobu piva. Bylo to z toho důvodu, že v té době nebyla podstata kvasnic známa [19]. Teprve až Louis Pasteur okolo roku 1876 definitivně odhalil příčinu kvašení, kdy uveřejnil svou slavnou Studii o pivu [37].

Během krátké doby našel Pasteurův objev praktické využití v podobě používání čistých kvasničných kultur a konstrukce první propagační stanice v roce 1883 (E. C. Hansen). V té době došlo k rozdělení pivovarských kvasnic na spodní a svrchní, které umožňovaly výrobu piva za rozdílných podmínek. Využití čistých kmenů souviselo již od samého začátku s jejich rozlišením a specifikací. Tyto kmeny se spojovaly s výrobou určité značky piv, a staly se pro ně typické [38, 39].

3.1 Kvasničná buňka

Kvasinky jsou představitelem typické eukaryotické buňky, proto se používají i jako modelové buňky pro studium mnohých procesů probíhajících u vyšších organismů [3].

Chemické složení pivovarských kvasinek

V chemickém složení kvasinek převažuje jako v každém organismu s vlastním metabolismem voda. Její obsah se pohybuje v rozmezí od 65 do 85 %. Složení sušiny kvasničné buňky je však proměnlivé a závisí na fyziologickém stavu a staří kultury a také se mění se změnami složení substrátu [40].

V sušině pivovarských kvasinek se nacházejí sacharidy, a to monosacharidy, oligosacharidy, polysacharidy, deriváty i substituované sacharidy. Většinu polysacharidů, především mannanu a glukanu, obsahuje buněčná stěna. Ostatní sacharidy jsou přítomné v cytoplasmě, kde jsou dva důležité polysacharidy, glykogen a mannan. Svrchní pivovarské kvasinky obsahují zpravidla více glykogenu než spodní kvasinky. Mannan je zase fyziologicky spjat se schopností kvasinek aglutinovat (shlukovat se) [40].

Kvasinky také obsahují téměř všechny formy dusíkatých látek. Přítomné aminokyseliny se účastní proteosyntézy a metabolismu dalších látek. Z peptidů je významný glutathion, který hraje důležitou roli v redoxním systému kvasinkové buňky. Dále jsou v kvasinkové buňce přítomny enzymy všech šesti hlavních tříd [3].

Lipidy najdeme v mitochondriích i v buněčných membránách. Některé z nich přímo regulují propustnost buněčné stěny a tím ovlivňují transport substrátu do buňky. Skládají se z fosfolipidů, neutrálních lipidů a mastných kyselin [41]. Analýza lipidů také slouží k rozlišení kvasničných kmenů [3].

Steroly jsou důležitou složkou membrán kvasinek i všech eukaryotických organismů. Jsou důležité při růstu a rozmnožování kvasinek [42].

3.2 Druhy pivovarských kvasinek

Taxonomie

Kvasinky jsou jednobuněčné mikroorganizmy. Taxonomické zařazení pivovarských druhů kvasinek je: nadříše *Eukaryota*, říše *Fungi* (houby), kmen *Ascomycotina*, podkmen *Saccharomycotina*, třída *Saccharomycetes*, řád *Saccharomycetales*, čeleď *Saccharomycetaceae*, rod *Saccharomyces*, druh ***Saccharomyces cerevisiae*** [3, 13].

Původně se rozlišovaly kvasinky na *Saccharomyces cerevisiae* a *Saccharomyces carlsbergensis*. Toto rozlišení bylo narušeno jejich přerazováním k různým druhům. Došlo k tomu, že kulturní kvasinky splývaly pojmenováním s kvasinkami dříve označovanými jako cizí, nebo divoké, např. *S. pastorianus*, *S. uvarum* a *S. logos*, popř. *S. bayanus*. Tento vývoj vyústil v reklasifikaci a došlo k tomu, že dříve uváděný druh *S. carlsbergensis* je již neplatné synonymum pivovarské kvasinky *S. pastorianus* [5]. Dnes je používáno označení pro druh spodních pivovarských kvasinek *Saccharomyces pastorianus* a pro svrchní pivovarské kvasinky *Saccharomyces cerevisiae* [13].

Mezi základní rozdíly mezi spodními a svrchními kvasinkami patří:

- složení genetického materiálu
- rozdílné složení buněčných stěn
- stupeň zkvašování
- růst na specifických půdách

- obtížná sporulace spodních kvasinek
- rozdílné technologicky významné vlastnosti
- vyšší maximální teplota růstu u svrchních kvasinek
- vyšší tepelná odolnost svrchních kvasinek.
- spodní kvasinky při kvašení sedají ke dnu
- svrchní kvasinky jsou vyplavovány při kvašení do deky na hladinu kvasícího média [3, 43].

3.2.1 Sbírký pivovarských kvasinek

Stoupající produkce piva, zavádění nových a moderních technologií, výroba speciálních a netypických piv kladou vysoké nároky na jednotlivé výrobní operace a kvalitu vstupních surovin, včetně produkčního kmene kvasinek. Bez čisté kultury, která má požadované vlastnosti, nelze v současné době zaručit kvalitu výrobku a ekonomičnost produkce [44].

Pivovarské kvasnice se získávají od známých dodavatelů v podobě sušených nebo tekutých kvasnic [3]. Zdrojem čistých produkčních kultur pivovarských kvasinek se stala pro české i zahraniční pivovary Sbírký pivovarských kvasinek Výzkumného ústavu pivovarského a sladařského. Podstatnou část této sbírky tvoří kvasinky spodního kvašení *Saccharomyces pastorianus*, pocházející z existujících nebo již zaniklých pivovarských provozů. Ve sbírce se také nacházejí svrchní pivovarské kvasinky *S. cerevisiae* a divoké kvasinky izolované jako kontaminanty pivovarské výroby [5]. Čisté kultury pivovarských kvasinek lze nalézt i v dalších mezinárodních sbírkách např. ve sbírce NCYC (National Collection of Yeast Cultures), Sieblově institutu (USA), institutu Kara (Velká Británie) apod. [3].

Sbírký pivovarských kvasinek v ČR

Jedním ze zdrojů čistých produkčních kultur se stala sbírký pivovarských kvasinek Výzkumného ústavu pivovarského a sladařského v Praze. Svým zaměřením na produkční kmény pivovarských kvasinek je ojedinělá v České republice a je mezinárodně registrována [45].

Ve sbírce jsou zastoupeny oba typy produkčních kmenů pivovarských kvasinek. Většina kultur, *Saccharomyces pastorianus*, je mimo jiné charakteristická úplným zkvašováním rafinózy a spodním kvašením. Tyto kultury jsou vhodné pro výrobu běžných piv plzeňského typu. V menší míře je zastoupen i druhý typ pivovarských kvasinek, *Saccharomyces cerevisiae* subsp. *cerevisiae*, vyznačující se částečným zkvašováním rafinózy a svrchním vedením hlavního kvašení. Tento typ je vhodný pro výrobu svrchně kvašených a speciálních piv. Sbírká je průběžně doplňována a v současné době obsahuje 115 kmenů (13. 3. 2016). Jednotlivé kvasničné kmeny pocházejí z existujících i již zaniklých pivovarských provozů, především evropských [45, 46].

3.3 Rozmnožování kvasinek

Rozmnožování kvasinek

Kvasinky se rozmnožují vegetativně – pučením, a za nepříznivých podmínek pohlavně – sporulací. Počet pučení jedné mateřské buňky průměrně dosahuje asi 20 cyklů a můžeme to kontrolovat mikroskopicky, protože po každém pučení zůstává na povrchu buňky jizva, přes kterou již neprobíhá transport živin a metabolitů [13].

Buňky spodních pivovarských kvasinek se rozmnožují téměř výhradně vegetativně, pohlavní rozmnožování je spíše u svrchních pivovarských kvasinek. Po oddělení dceřině buňky zůstává v místě jejího vzniku mateřská jizva, na oddělené buňce jizva dceřiná. Podle počtu jizev můžeme určit stáří buňky, a proto se kvasničné buňky používají při studiu mechanismu stárnutí [3].

Stárnutí kvasnic

Jednotlivé kvasničné buňky podléhají individuálnímu stárnutí, určenému omezeným počtem dělení buňky (tzv. Hayflickův limit). Bylo objeveno, že živé buňky prodávající kontrolovaný vývoj se mohou množit jen po omezený počet generací. V průběhu stárnutí můžeme u kvasnic pozorovat morfologické i fyziologické změny, např. zvětšování buněk, vrásnění buněčné stěny, rostoucí počet jizev po nově zrozených buňkách, zvýšení generační doby apod. [3]. Stárnutím, také kvasničné buňky ztrácejí kvasivou schopnost, což se makroskopicky projeví ve složení kvasničného sedimentu. Nejdříve se usazují velké staré buňky s nízkou aktivitou a nejpozději malé mladé buňky opět s nižší aktivitou [47].

3.3.1 Propagace kvasnic

Propagace je kultivace kvasnic, kterou lze označit jako cílené rozmnožování čisté kultury v aseptickém prostředí v množství potřebném pro laboratorní nebo provozní fermentaci. Tyto postupy se dělí na vsádkové neaerované, vsádkové aerované a kontinuální. Změny fyziologického stavu a struktury kvasinek, ke kterým dochází během propagace, jsou závislé na podmínkách propagace a na vlastnostech kmene kvasinek [48].

Vsádková propagace neaerovaná

Při této propagaci nejprve provedeme jednorázové provzdušnění média a tím dosáhneme rovnovážné koncentrace rozpuštěného kyslíku. Množení kvasinek potom probíhá za podobných podmínek jako při hlavním kvašení a probíhá relativně pomalu s nízkým výtěžkem biomasy. Ve fázi exponenciálního růstu jsou kvasinky doplněny zchlazenou 11 až 12 % mladinou a propagace probíhá 48 až 72 hodin. Namnoženou kulturou je zakvašována provozní várka v poměru 1:5. V hlavním propagačním válci se ponechá část kultury a doplní se novou sterilní mladinou a cykly se opakují po dobu až několika měsíců [49].

Vsádková propagace aerované

Při aerované propagaci je kvasící mladina provzdušňována sterilním vzduchem nebo kyslíkem periodicky nebo kontinuálně v celém průběhu propagace. Přínosem tohoto postupu je rychlejší nárůst biomasy a vyšší aktivita kvasnic [3]. Celková doba propagace je 38 až 48 hodin. Namnožená kultura se převáží do provozu v poměru 1:15 až 1:20. Kvasnice z aerobní propagace vytvářejí více zásobních látek, rychleji prokvašují a jsou odolnější ke stresům, poskytují také pivo s nižším obsahem těkavých látek [50].

Kontinuální propagace

Kontinuální proces propagace kvasnic není v praxi příliš rozšířen, vsádkové procesy kvašení jsou rozšířenější. Výhodou jsou menší provozní náklady a vyšší výtěžnost. Nevýhodou je pak vyšší riziko mutace, kontaminace a ztráta technologických vlastností daného kvasničního kmene. V kontinuální propagaci je používáno pro omezení pění vzdušnění čistým kyslíkem. Tyto kontinuální propagační stanice mohou pracovat po dobu až jednoho roku, i déle [3].

3.3.2 Úschova kmenů, formy dodávek a recyklace kvasnic

Úschova kvasničných kmenů

Při zavádění nových kvasničných kultur jsou používány sbírkové kmeny, nebo se kvasinky izolují přímo z kvasící mladiny klasickými mikrobiologickými metodami (čárkování na plotnu, zředování v tekuté nebo ztužené živné půdě) [51].

Při klasickém postupu se kvasinky uchovávaly v roztoku sacharosy a na šikmých agarech na vzduchu nebo pod parafinovým olejem. Moderní metody využívají lyofilizaci kultur nebo skladování čistých kultur v polypropylenových trubičkách [52]. Pivovarské kvasinky mohou být také dodávány v sušeném stavu [3].

Sbírkky pivovarských kvasinek jsou udržovány na sladidinových agarech pod zaparafinovanou vatovou zátkou a také na sladidinových agarech převrstvených sterilním parafinovým olejem odděleně v chladicím boxu. Tyto způsoby uložení kultur jsou osvědčené a umožňují dodání kmene žadateli rychle a v aktivním stavu na šikmém agaru, případně jsou rozkvašené do 1,5 l mladiny, což usnadňuje převedení produkčního kmene přímo do výroby. Od roku 2006 se kmeny pivovarských kvasinek začaly uchovávat v kryozkumavkách s ochranným médiem v tekutém dusíku při teplotě -196°C . Uložení v tekutém dusíku (kryo-prezervace) je optimální způsob dlouhodobého uchovávání kvasinek v životaschopném stavu [46].

Forma dodávek kvasničných kultur

- a) Dodávka čisté kvasničné kultury ve formě šikmého agaru – pro aplikaci do provozních podmínek musí být zavedená mikrobiologická laboratoř a propagační stanice.
- b) Dodávka čisté kvasničné kultury ve formě rozkvašené mladiny – pro aplikaci do provozu musí být zavedena propagační stanice.
- c) Dodávka čisté kvasničné kultury nulté generace – dodáváno ve formě hustých násadních kvasnic technicky čisté kultury v množství 10 – 40 l (i více).
- d) Dodávka speciálně lisovaných kvasnic – lisované kvasnice se dodávají v balení po 100g a 1 kg. Jsou vhodné pro přepravu letecky do zahraničí [53].

Recyklace kvasnic

V dnešní době stále více převládá na úseku hlavního kvašení opakované nasazování kvasnic sebraných z předchozí várky. Jedná se o ekonomicky výhodný postup. Počet nasazení je závislý na vybavení kvasného procesu. Pro kvašení v CKT platí, že kvasnice po třetím nasazení jsou již nevhodné. Naopak v provozech s menšími nádobami pro hlavní kvašení lze kvasnice opakovaně nasadit šestkrát až sedmkrát [54].

Původní vlastnosti kvasinek se, ale vlivem opakovaného nasazování a hladovění při skladování mezi jednotlivými cykly mohou měnit. Následně může docházet k rozdílům nejen v průběhu kvašení, ale i v sensorické kvalitě piva. Někteří technologové proto doporučují nasazovat kvasnice pouze jednou, a to po přesně definované provozní propagaci [55].

3.4 Flokulace a sedimentace pivovarských kvasinek

Flokulace je reverzibilní schopnost kvasinek se shlukovat, vytvářet větší celky (vločky) a následně usazeninu [30]. U spodních kvasinek se to pak projevuje tvorbou pevného sedimentu na dně. Naopak u svrchních kvasinek to souvisí se shlukováním na povrchu (pevnost kvasničné deky) mladého piva. Flokulace a sedimentace probíhá až po skončení kvašení, kdy je vyčerpáno dostatečné množství zkvasitelných cukrů [56].

Významné vlastnosti kvasinek jsou kódované přes syntézu kvasničných bílkovin a enzymů. Jde nejen o základní metabolické procesy, ale také o technologicky významné znaky kmenů, jako je flokulace, schopnost prokvašovat mladinu, odolnost proti etanolu a v neposlední řadě jde také o tvorbu těžkých sloučenin, které určují sensorické vlastnosti piva [3].

Na konci spodního kvašení sedimentují kvasinky izolovaně, nebo ve shlucích (sedimentace po flokulaci). Během kvašení dochází k poklesu hustoty mladiny, a proto izolované buňky i jejich shluky sedimentují rychleji. Tvar kvasné nádoby je taktéž důležitý, protože unikající oxid uhličitý udržuje buňky ve vznosu [57]. Flokulace zahrnuje různé vlivy a mechanismy. Uplatňují se zde genetické faktory i vliv prostředí, ve kterém se kvasnice nacházejí [58].

Mechanismus flokulace je závislý na vlivu prostředí, na jeho fyzikálních vlastnostech (hustotě, teplotě), chemickém složení (obsahu etanolu, pH) a obsahu iontů, kdy jejich

účinek klesá v řadě $\text{Ca}^{2+} > \text{Sr}^{2+} > \text{Ba}^{2+} > \text{Mn}^{2+} > \text{Fe}^{2+}$. Flokulaci také výrazně ovlivňují i cukry (např. mannam ji podporuje), záleží i na fázi kvašení. Flokulované kvasinky mohou přecházet zpátky do vznosu po přidavku zkvasitelných sacharidů. Rozhodujícím je tady vliv složení buněčné stěny. Zejména je důležitý obsah glukánů, mannanů a jejich bílkovinných komplexů, elektrický náboj buněčné stěny a stupeň hydrofobnosti. Obecně kvasinky dělíme na flokující a neflokující [3].

3.5 Metabolismus kvasinek

Metabolismus kvasinek (látková výměna) je z pivovarského hlediska hlavně přeměnou zkvasitelných cukrů na alkohol a oxid uhličitý za účasti řady enzymů a koenzymů [13]. Zahrnuje procesy **katabolické**, při nichž buňky biochemickým odbouráváním látek získávají energii, a **anabolické**, při nichž buňky energii spotřebovávají na tvorbu nových, pro životní projevy nezbytných látek [3]. Metabolismus kvasinek také souvisí s dalšími složkami mladiny a vzniká tak široké spektrum vedlejších produktů, které ovlivňují charakter hotového piva. Metabolismus je ovlivňován složením mladiny, vlastnostmi kvasnic a podmínkami procesu [13].

Pro metabolismus kvasinek je kromě sacharidů významná celá řada dalších zdrojů živin. Jedná se o aminokyseliny, lipidy, peptidy, vitaminy, růstové faktory, ionty Zn^{2+} , Ca^{2+} , Mg^{2+} , K^+ , Na^+ , PO_4^{3-} , SO_4^{2-} aj. [47].

Metabolismus kvasinek může být inhibován a to přítomností iontů NO_2^- , které vznikly z NO_3^- působením kontaminujících bakterií s nitrátreduktasovou aktivitou nebo se inhibiční účinky alkoholu projeví při koncentraci nad 6 %. Dále to může být negativní vliv vysokého osmotického tlaku (nad 20 % hm.) nebo se mohou projevit inhibiční účinky některých chemikálií používaných při mytí a dezinfekci při jejich nedostatečném odstranění [13].

Za nepříznivých podmínek, hlavně při dokvašování piva nebo skladování kvasnic, může docházet k autolýze kvasnic. Důsledkem to vzniká kvasničná vůně a chuť piva [3].

3.5.1 Tvorba metabolitů při kvašení

Získávání energie oxidací sacharidů

Kvašení je příkladem anaerobního procesu, kterým získávají kvasničné buňky energii bez přístupu kyslíku. Kvasničné buňky získávají energii oxidací sacharidů [30]. Energie, která se uvolněním degradací sacharidů se skladuje ve formě speciálních sloučenin s makroergickými vazbami s vysokým obsahem volné energie. Tato energie je využitelná k práci, např. ke konstrukci základních částí buňky. Patří sem například ATP (adenosintri-fosfát) a nebo NAD^+ . Biochemické reakce, které probíhají během kvašení, jsou zajišťovány enzymy, bílkovinnými katalyzátory. Tyto bílkovinné katalyzátory snižují energetickou bariéru, která brání převedení substrátu na produkt [3].

Tvorba etylalkoholu a oxidu uhličitého

Hlavními kvasnými metabolity jsou **etanol** a **oxid uhličitý**, které vznikají podle zjednodušené Guy-Lussacovy rovnice:



kde $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ reprezentuje zkvasitelnou hexózu [40].

Embden-Meyerhof-Parnasova dráha (dále pak EMP dráha) je anaerobní rozklad sacharidů. EMP dráha tvoří základní způsob získávání energie. Část této energie se musí odvést ve formě tepla a z toho vyplývá, že z poměrně velkého množství sacharidů se jen malá část využije k výstavbě kvasničné buňky [40]. Dále dochází k redukci acetaldehydu na etanol, čímž se znovu získá NAD^+ , který je potřebný pro oxidaci glukózy [3].

Důležité kroky reakčního mechanismu EMP dráhy:

1. Fosforylace hexózy
 - Glukóza \rightarrow glukóza-6-fosfát \rightarrow fruktóza-6-fosfát \rightarrow fruktóza-1,6-di-fosfát
2. Rozštěpení fruktóza-1,6-di-fosfátu na dvě triózy
 - Fruktóza-1,6-di-fosfát \rightarrow glyceraldehyd-3-fosfát + dihydroxyaceton-fosfát
3. Dehydrogenace glyceraldehydu-3-fosfátu na kyselinu 3-fosfo-glycerovou
 - Glyceraldehyd-3-fosfát \rightarrow kyselina 1,3-di-fosfo-glycerová \rightarrow kyselina 3-fosfo-glycerová
4. Přeměna kyseliny 3-fosfo-glycerové na pyruvát

- Kyselina 3-fosfo-glycerová → kyselina 2-fosfo-glycerová → kyselina 2-fosfo-enol-pyrohroznová → pyruvát

5. Tvorba etanolu

- Pyruvát → acetaldehyd + CO₂
- Acetaldehyd → etanol [3, 40]

Při anaerobní glykolýze, která probíhá na EMP dráze, dochází k tvorbě těkavých metabolitů, které výrazně ovlivňují chuť a vůni piva. Další sensoricky významné sloučeniny pocházejí ze surovin nebo vznikají při výrobě sladiny či mladiny. Mezi vedlejší produkty kvašení patří alkoholy, některé organické kyseliny, dále pak nasycené a nenasycené mastné kyseliny a jejich estery [3].

Tvorba vyšších alkoholů

Vyšší alkoholy vznikají jako vedlejší produkty metabolismu aminokyselin. Primárně vznikají aldehydy, které se redukuje kvasničnými reduktázami [59]. Z alifatických alkoholů převládají propan-1-ol, 2-metylpropan-1-ol, 3-metylbutan-1-ol, 2-metylbutan-1-ol aj. Z aromatických neboli heterocyklických alkoholů převládají 2-fenyletanol, tyrosol a tryptofol. S metabolismem sacharidů je také spojována tvorba glycerolu, kterého pivo může obsahovat až 1000 mg l⁻¹. Dekarboxylací fenolových kyselin sladu dochází ke vzniku těkavých fenolů [3]. Tvorba alifatických vyšších alkoholů i ostatních těkavých látek souvisí s celkovým kvasničným metabolismem a je ovlivněná kmenem kvasnic [60].

Tvorba esterů

Estery jsou skupinou sensoricky významných látek [3]. Estery významně přispívají k vůni (často ovocná) piva (20–60 mg/l spodně kvašená piva, až 80 mg/l svrchně kvašená piva) [61]. Nejčastěji se v pivu nachází etylacetát, izoamylacetát, izobutylacetát, etylkapronát a 2-fenylacetát. Estery mohou pocházet z meziproductů přeměny sacharidů. Množství esterů je závislé na koncentraci původního extraktu, zákalu mladiny a množství zkvasitelných sacharidů. Největší podíl esterů tvoří etylacetát, který vzniká v metabolických drahách mastných kyselin a ketokyselin za účasti acyl-CoA [3].

Tvorba a redukce aldehydů a ketonů

Aldehydy a ketony jsou označovány jako karbonylové látky. Nejvíce je zde zastoupen acetaldehyd a menší míře pak glyoxal, methylglyoxal, furan-2-karbaldehyd, z aromatických látek jsou to fenylacetaldehyd, benzaldehyd a další [3].

Při biosyntéze valinu a izoleucinu vznikají vicinální diketony. Mezi vicinální diketony patří biacetyl a pentan-2,3-dion. Biacetyl je pro kvasinky extrémně toxický a musí být odstraňován reduktázami. Pokud mají kvasinky slabou redukční schopnost, tak diacetyl zůstává v pivu a tím mu udílí nepříjemnou vůni a chuť po čerstvém másle nebo medu [62].

Kvasinky obsahují několik enzymů, které mohou redukovat diacetyl a pentadion. Nejdůležitějším enzymem je alkoholdehydrogenáza a pivovarských kvasinek diacetylreduktáza [63]. Kvasinky mají schopnost v průběhu kvašení redukovat senzorycky nepříznivé karbonylové sloučeniny, které většinou pocházejí z mladiny (sladu) a jsou příčinou staré chuti piva [3].

Tvorba sirných metabolitů

Ze sirných sloučenin se nejvíce vyskytují sulfan a oxid siřičitý. Dále se zde mohou vyskytovat dimetylsulfid, thioalkoholy, sulfidy, disulfidy, thioetery, thioaldehydy aj. Důležitou část kvasničného metabolismu tvoří přeměny sirných sloučenin. Hlavním zdrojem jsou sírany a metionin. Metionin se do buňky dostává aktivním transportem a dále se mění na důležité látky, např. cystein. Konečným produktem je pak oxid siřičitý nebo sulfan, který uniká do okolního prostředí [3].

Sulfan vzniká ze síranu využitelného při tvorbě sirných aminokyselin. Tato reakce je závislá na fázi buněčného cyklu [3]. Sulfan dává mladému pivu nepříjemnou vůni a chuť, proto je odstraňován v procesu dokvašování [64]. Sulfan avšak může reagovat například s alkoholy nebo aldehydy za tvorby nežádoucích thiolů [3].

Oxid siřičitý v pivu pochází z redukce síranů mladiny pivovarskými kvasinkami. K této reakci dochází během hlavního kvašení [65]. K tvorbě oxidu siřičitého dochází v rámci produkce sirných aminokyselin. Produkce oxidu siřičitého je závislá na obsahu threoninu a methioninu [3]. Čím vyšší bude hladina threoninu, tím se produkce bude zvyšovat, naopak přídavek methioninu tvorbu oxidu siřičitého inhibuje [66]. Předpokladem tvorby oxidu siřičitého je aktivně kvasící kvasinka. Tvorba ustává na konci fermentace, kdy dojde k vyčerpání energetických zdrojů pro přeměnu síranu. Význam oxidu siřičitého je velký, protože jeho vyšší obsah způsobuje nežádoucí příchut', ale současně působí také

jako antioxidant. Dále také může vázat senzory nezářadocí karbonylové látky. Na druhou stranu se mohou tyto sloučeniny později rozkládat na produkty, které jsou charakteristické pro cizí chuť piva [3].

Dimetylsulfid vzniká termální degradací S-metyl- L- methioninu při vaření mladiny nebo může vznikat redukcí dimetylsulfoxidu při kvašení. Dimetylsulfid je charakteristický ovocnou chutí a vůní mladého piva [3].

Vznik organických kyselin

V pivě se nachází velké množství různorodých organických kyselin. Jedná se o těkavé a netěkavé kyseliny, aromatické kyseliny, ale i o krátké mastné kyseliny. Tyto kyseliny vznikly jako vedlejší produkty metabolismu pivovarských kvasnic, konkrétně při metabolismu maltózy a glukózy [67]. Kvašením vznikají organické kyseliny, které mají vliv na chuť a vůni piva. Mezi ně patří kyselina mléčná, pyrohroznová, jablečná, citronová. Dále sem patří kyselina octová, propionová, máselná, izomáselná, kaprylová, kaprinová a izovalerová [3].

3.5.2 Stresové faktory pivovarských kvasinek

V podmínkách přirozeného prostředí jsou buňky kvasinek vystaveny různým stresem a jejich různým kombinacím. Při použití v průmyslové výrobě, jako je pivovarství, je spektrum stresových faktorů rozšířeno o technologické stresy nebo dochází k zesílení přirozených stresových faktorů [68]. Proto je nutné pro úspěšný průběh kvasného procesu mladiny vybírat kmeny kvasinek, které jsou odolné a budou mladinu prokvašovat žádaným způsobem.

Příkladem stresového faktoru je vysoký hydrostatický tlak, kterému jsou kvasinky vystaveny během kvašení v cylindrokónických tancích. Během propagace zase musí kvasinky čelit oxidativnímu stresu, před opakovaným zakvašením mohou být vystaveny kyselému stresu (odstraňování bakteriální kontaminace kyselým promýváním). Chemický stres je způsoben některými látkami obsaženými v chmelu a sladu nebo hromaděním toxických vedlejších produktů kvašení [69]. Chladový šok prodělávají kvasinky až na konci kvašení [3].

Všechny tyto stresy ovlivňují metabolickou a reprodukční schopnost kvasinek a dále se odrážejí i v morfologických změnách. Používáním vysoce koncentrovaných mladin

vystavujeme kvasinky vysokému osmotickému tlaku, změnám v míře aerace (oxidativní šok), etanolovému stresu a dalším faktorů, které mají na buňky nepříznivý vliv [69].

Teplotní stres

Do teplotního stresu zahrnujeme jednak teploty vyšší, ale i teploty nižší. Důležitým faktorem je rychlost teplotní změny. Na vyšší teploty reagují kvasinky aktivací genů označovaných jako „heat – shock genes“. Dochází pak syntéze specifických proteinů, které zvyšují tepelnou odolnost kvasinek [70].

V praxi je významný chladový šok. Pro správnou funkci kvasinek je důležitá propustnost buněčných membrán. Při rychlém ochlazení dochází k tomu, že membrána získá vlastnost gelu, což může buňku poškodit. Příkladem teplotní šoku je nesprávný režim chlazení kvasnic v CKT [3]. Bylo prokázáno, že kvasinky, které prodělaly např. teplotní stres, jsou k dalším stresovým podmínkám tolerantní [71].

Etanolový stres

Etanol je výsledným produktem kvasného procesu a negativně působí na kvasničné buňky (inhibuje jejich růst a kvašení) [3]. Etanol totiž narušuje hydrofobní vrstvy cytoplasmatické membrány, její propustnost a tím inhibuje transport sacharidů a aminokyselin [72]. Odolnost proti etanolu je určena geneticky, ale závisí i na jiných faktorech: na obsahu živin nebo na vlastnostech prostředí a například i na koncentraci Mg^{2+} , které zvyšují odolnost buňky proti etanolu [3].

Osmotický stres

Osmotický stres závisí na koncentračních rozdílech uvnitř a vně buňky, uplatňuje se zejména při kvašení mladiny s vysokou koncentrací extraktu. Účinným faktorem chránící buňky proti osmotickému stresu je přítomnost trehalózy (disacharid) uvnitř buňky a přítomnost glycerolu a aminokyselin v okolním prostředí. Pro snížení negativních vlivů vysokého osmotického tlaku se doporučuje například zvýšení obsahu kovů v zakvašované mladině a obohacení o růstové faktory [3, 68].

Hodnota pH jako stresový faktor

V průběhu kvašení se mění pH mladiny. Je to způsobeno nejen vlivem vzrůstajícího obsahu oxidu uhličitého, ale především vlivem organických kyselin produkovaných kvasnicemi. Na vitalitu kvasnic má vliv i vnitrobuněčné pH, čehož se využívá k měření kvas-

ničné aktivity. Příkladem tohoto stresového faktoru je necitlivé praní kvasnic, které ovlivňuje jejich technologickou aktivitu [68].

Oxidační stres

Oxidační stres je spojen s reakcemi reaktivních druhů kyslíku, k nimž patří volné kyslíkové radikály i např. peroxid vodíku. Tyto vysoce reaktivní látky vznikají při oxidačním metabolismu kvasinek a mohou vážně poškodit důležité části buňky. Příkladem tohoto vlivu je nadměrné okysličování kvasnic čistým kyslíkem při jejich propagaci nebo zakvašování mladiny [73].

Iontový stres

Některé kovy mohou vyvolat stresové reakce u kvasnic a mohou tak poškozovat jejich strukturu. Ionty kovů totiž mohou blokovat funkční skupiny enzymů, vytěšňovat tak potřebné ionty jiných kovů a inaktivovat enzymy. Příkladem je třeba antagonistické působení Zn^{2+}/Cu^{2+} nebo Mg^{2+}/Ca^{2+} [3].

Dusitanový stres

Základním zdrojem dusičnanů v pívu je voda. Dusitany vznikají v mladině nejčastěji působením gramnegativních bakterií, které mají schopnost redukovat dusičnany, přičemž k reakci postačují i velmi malé koncentrace dusičnanu. Dusitany pak mohou způsobit zastavení kvašení a kromě toho také reakcí dusitanu s mladinou vznikají zdraví nebezpečné netěkavé nitrosaminy [3].

3.5.3 Laboratorní posouzení vlastností kvasinek

Rozsah laboratorního posuzování vlastností pivovarských kvasinek se volí podle toho, jestli jde o charakteristiku kmene nebo o běžnou kontrolu násadních kvasnic před jejich použitím v provozu [40].

Při posuzování kvasinkových kmenů se vychází z jejich vlastností morfologických, fyziologických a biochemických. Určuje se velikost buněk, jejich tvar a vyrovnanost. Z hlediska technologie výroby piva se jako rozhodující sleduje především schopnost kmenů zkvašovat mladinu, schopnost flokulace a sedimentace, rozmnožování buněk a vliv na organoleptické vlastnosti piva [74].

Pokud provádíme podrobnější charakteristiku, tak se u kmenů ověřuje míra zkvašování rafinóz, tolerance k etanolu, osmofilie a tendence k tvorbě pseudomycelia [74]. Dále lze charakteristiku kmenů ještě doplnit o makroskopické posouzení vzhledu kolonií, využití maltotriózy, požadavků na růstové faktory a sporulační schopnosti [3].

Požadavky pro použití násadních (várečných) kvasnic v provozu jsou, aby byly prakticky čisté a v dobrém fyziologickém stavu [40]. Čistota kvasnic se posuzuje podle množství cizích mikroorganismů a mechanických příměsí [31]. Prakticky čisté kvasnice jsou takové, které mají bezvýznamný počet kontaminujících zárodků, které se během kvašení nepomnožují [40].

Mechanické nečistoty jako bílkoviny, chmelové pryskyřice a jiné organické a anorganické látky mohou být přítomny v kvasnicích jen v malém množství [31]. Zdravé kvasnice mají mít typickou příjemnou vůni, slabě nahořklou chuť a po vyprání žlutavě bílou barvu. Šedožluté zbarvení svědčí o velkém počtu vedení kvasnic a také o jejich špatném ošetřování. Hnilobný zápach a u lisovaných kvasnic a také mazlavá konzistence je známkou začínajícího rozkladu [40].

Mikroskopickou prohlídkou suspenze kvasnic se zjišťuje tvar a velikost buněk, jejich vyrovnanost, vzhled a struktura plazmy. Tvar a velikost buněk jsou do značné míry stálými, charakteristickými znaky určitých typů, pokud nedojde ke změně jejich životního prostředí, teploty a fyziologického stavu buněk [40]. U dobrých kvasinek vždy převažuje podíl rovnoměrně velkých buněk a část malých buněk. Běžný tvar pivovarských kvasinek bývá oválný [3].

Nad velkým podílem malých buněk je třeba se vždy pozastavit a zkoumat, zda nejde o infekci [75]. Při větším výskytu protáhlých buněk může jít o kontaminaci cizími kvasinkami anebo o změněné tvary kulturních buněk, které mohou být známkou začínající degradace, zejména pokud se současně projevují odchylky od normálního průběhu kvašení [40].

Zdravé kvasnice mají mít také jemnozrnnou plazmu. Plazma oslabených kvasnic je zpravidla hrubozrnná. Dále ve starých buňkách jsou vakuoly ostře ohraničené a často se v nich vyskytuje pouze jediná velká vakuola. Mrtvé buňky mívají zase plazmu koagulovanou a zčásti odtrženou od buněčné stěny [3].

Fyziologický stav buněk také posuzujeme podle procentuálního vyjádření množství mrtvých buněk. Maximálně se připouští 5 %. Toto stanovení je důležité po delší úschově kvasnic. Použijeme-li kvasnice brzy po jejich sběru, tak obsahují zpravidla menší počet mrtvých buněk [40].

Výsledky laboratorních kvasných zkoušek včetně mikroskopické prohlídky poskytují pouze základní informace o vlastnostech kvasnic. Pro podrobnější posouzení se volí čtvrtprovozní a poloprovozní zkoušky. Tyto zkoušky nám umožňují předběžně posoudit vliv kvasnic na organoleptické vlastnosti piva. Nevhodné či méně vhodné kmeny je možné na základě těchto zkoušek určit a vyloučit [76].

Provozní zkoušky jsou nutné, pokud je zaváděn nový kmen do výroby, protože při zkouškách v menším měřítku nelze vyloučit odchylky od běžných provozních podmínek. V provozních podmínkách je kvašení nejen ovlivňováno typem kvasinek, ale i dalšími činiteli, jako je složení varní vody, způsob výroby mladiny a jejím složením [40].

Při provozní zkoušce, kdy je poprvé nasazen nový typ kvasinek, tak dojde k tomu, že zpravidla neprojeví své vlastnosti v optimální míře [13]. Platí to hlavně pro kvasnice přímo z propagační stanice. Avšak již při první zkoušce lze obvykle zhruba posoudit kvasnou schopnost kvasnic a jejich vliv na chuť a vůni piva. Průběh dalších zkoušek pak přesněji a úplněji informuje o vlastnostech zkoušených kvasnic [40]. Dále je třeba denně sledovat změny zdánlivého extraktu mladiny v %, také změny její teploty a teploty ve spilce a změny pH [3]. Také se posuzuje průběh kvašení podle změn vzhledu kvasné pokrývky (zapařování, bílé kroužky, hnědé kroužky, souvislá pokrývka) [40].

Na konci kvašení se pak hodnotí kvasnice podle vyčeření mladého piva a jeho chuti a vůně. Vyčeření mladého piva je posuzováno podle vzhledu hladiny po odstranění části pokrývky, kdy je hodnocena průsvitnost piva ve zkušební sklenici podle lomu. Dobře flokulující a sedimentující kvasnice se při prosvícení vzorku jeví jako lom [40].

3.6 Vhodnost kvasničných kmenů pro různé druhy piv

V rámci druhu *Saccharomyces cerevisiae* existuje mnoho technologicky významných kmenů, které mají různé vlastnosti. U jednotlivých kmenů v mezinárodně uznávaných sbírkách se většinou uvádějí i technologické vlastnosti [3].

Kromě kmenů, které jsou používány pro výrobu u nás tradičních druhů piv je nabízena i celá řada dalších kmenů (pro piva např. různých typů Ale, Bock, Doppelbock, Saison, aj.). Ty jsou zajímavé zejména pro malé pivovary a minipivovary, které chtějí rozšířit jejich výrobní sortiment [53].

Na poli konkurenčního prostředí jsou kladeny vysoké nároky na kvalitu a vyrovnanost piva. Úspěšnost značky piva není zaručena jen marketingovou politikou, ale také výbornými sensorickými vlastnostmi produktu. Bez čisté kvasničné kultury, která zaručuje stabilní požadované vlastnosti, není možné v současné době zaručit dokonalou a vyrovnanou kvalitu produktu [77].

Jedním ze zdrojů čistých produkčních kmenů je Sběrka pivovarských kvasinek Výzkumného ústavu pivovarského sladařského, která je vedena pracovníky mikrobiologického oddělení. Sběrka je od roku 1964 členem Federace Českých a slovenských sbírek mikroorganismů a je mezinárodně registrovaná s názvem RIBM pod číslem 655 [46].

Svrchně kvašená piva

Pro výrobu svrchně kvašených piv se používají svrchní pivovarské kvasinky *Saccharomyces cerevisiae*. Jedná se o výrobu piv typu Ale, ale i dalších druhů piv s teplotním rozmezím hlavního kvašení 18 až 22°C [3].

Příklady kmenů ze sbírky RIBM (Research Institute of Brewing and Malting):

➤ *S. cerevisiae* **RIBM 139 – California Ale Yeast**

Kmen je vhodný pro výrobu piva typu **Ale**. Produkuje piva, která mají výraznou chmelovou příchutí a snáší vyšší koncentrace alkoholu [78].

➤ *S. cerevisiae* **RIBM 148 – British Ale Yeast**

Typický anglický kmen, který v pivech zachovává silnou sladovou chuť. Typ piva: **Bitter Ale, Pale Ale, Porter, Brown** [78].

➤ *S. cerevisiae* **RIBM 152 – Burton Ale Yeast**

Anglický kmen produkující jablečné, hruškovité a medové příchutě. Typ piva: **IPA, Bitter, Pale Ale, Porter, Stout** [78].

➤ *S. cerevisiae* **RIBM 156 – Belgian Ale Yeast**

Univerzální kmen, který se používá pro výrobu široké škály belgických piv. Chuťovému profilu dominuje fenolická a kořeněná příchut'. Ovocné příchutě jsou slabší. Typ piva: **belgický Ale, Red, Brown, Whitebeer** [78].

Spodně kvašená piva

Pro výrobu spodně kvašených piv jsou použity spodní pivovarské kvasinky *Saccharomyces pastorianus*. Tyto kvasinky se používají při výrobě piv typu ležáků s teplotním rozmezím hlavního kvašení 7 až 15°C [3].

Příklady kmenů ze sbírky RIBM (Research Institute of Brewing and Malting):

➤ *S. pastorianus* **RIBM 2 - Old Czech Lager Yeast**

Tradiční český kmen, který je typický vyšší tvorbou esterů a vyšších alkoholů a nižší produkcí vicinálních diketonů. Typ piva: **český ležák** [78].

➤ *S. pastorianus* **RIBM 95 – Lager Yeast**

Tradiční kmen německého původu. Hluboko prokvašující a dobře sedimentující. Rychle zkvašuje extrakt a je vhodný pro kvašení v širokém rozmezí teplot. Produkovaná piva mají vyrovnaným a čistým sensorickým profilem. Typ piva: **český ležák** [78].

➤ *S. pastorianus* **RIBM 6 - Old Czech Lager Yeast**

Tradiční český kmen, hluboko prokvašující, dobře sedimentující. Kvasí při nízkých teplotách. Je pro něj typická nižší tvorba esterů, vyšších alkoholů a vicinálních diketonů. Typ piva: **český ležák** [78].

4 DALŠÍ MIKROORGANIZMY VE VÝROBĚ PIVA

Pivovarská výroba využívá řízenou činnost pivovarských kvasinek při kvašení a dokvašování piva. V různém rozsahu se zde uplatňují i další mikroorganismy, které se většinou považují za nežádoucí, protože jednak způsobují vady piva, ale také potlačují činnost čistých kultur pivovarských kvasinek [3].

Pivo vytváří prostředí, které je nepříznivé pro mnoho mikroorganismů, má nízké pH a také extrémně snížený obsah kyslíku. Koncentrace živin, jako jsou sacharidy a aminokyseliny je také nízká, protože většina byla spotřebována kvasinkami během kvašení. Přesto existuje několik mikroorganismů, kterým se v pivu daří rozrůstat. Mezi takové mikroorganismy patří grampozitivní a gramnegativní bakterie a tzv. divoké kvasinky [79].

Tyto mikroorganismy způsobují kažení piva. Kažení piva je charakterizováno zejména zvýšenou kalností piva a tvorbou páchnoucích sloučenin [80]. Dochází také k nepříjemným smyslovým změnám piva, které mohou mít záporný vliv na kvalitu výsledného produktu [79].

Grampozitivní bakterie

Grampozitivní bakterie jsou považovány za kultury, které nejvíce ohrožují kvalitu piva [81].

Rod *Lactobacillus* je největším rodem mléčných bakterií a zahrnuje druhy, které mají široké využití v různých fermentačních procesech, včetně potravinářských výrobků jako pivo, víno, jogurt a nakládaná zelenina [79]. Lactobacily se mohou dobře pomnožovat ve sladince, mladince i v pivu v rozmezí pH 4 až 7 [3]. Lactobacily jsou citlivé na hořké látky, které se nacházejí v chmelovém extraktu [82]. Piva, která jsou zbavená hořkých látek nebo prokvašené sladiny se používají k jejich rychlému průkazu [83]. Hlavním kontaminantem piva bývá *Lactobacillus brevis*, který je rezistentní k hořkým látkám a způsobuje více než polovinu vad piva [3].

V pivovarském provozu se mohou nacházet dva druhy rodu ***Pediococcus***: *Pediococcus damnosus*, který je sedimentující a vyskytuje se proto v sedimentech piva a *Pediococcus pernicius*, který má formu kalící a vyskytuje se v zákalech piva. Oba druhy pivu škodí a způsobují tzv. sarcinovou nemoc piva. Při silnější infekci pediokoky pivo dostává

nasládlou chuť a vůni, která je způsobena diacetylem, který vzniká při jejich metabolismu. Dále vytvářejí kyselinu mléčnou, která způsobuje větší kyselost piva [84].

Gramnegativní bakterie

Mezi gramnegativní bakterie, které způsobují kažení piva, patří například *Pectinatus*, *Megasphaera*, *Zymomonas* a octové bakterie [3]. K růstu *Pectinatus* a *Megasphaera* může docházet během zrání piva, ale nejčastěji k tomu dochází během stáčení piva [85].

Zástupci z rodu *Pectinatus* v pivu produkují kyseliny octovou, propionovou a jantarovou, dále také produkuje acetoin a sulfan za tvorby silného zákalu [3].

Zástupci rodu *Megasphaera* jsou poměrně citliví k etanolu a lehce kalí pivo [3]. Produkují nepříjemně páchnoucí produkty jako kyselinu máselnou, kapronovou, valerovou, propionovou či octovou, ale i sulfan [3], který způsobuje hnilobnou vůni piva [79].

Rod *Zymomonas* způsobuje méně častou kontaminaci svrchně kvašených piv. *Zymomonas anaerobia* zkvašuje rychle glukózu a fruktózu na etanol a oxid uhličitý. Dalšími metabolity jsou pak acetaldehyd a sulfan, které pivu udílí nepříjemnou chuť a vůni po shnilých jablkách [83]. *Zymomonas mobilis* je odolný proti hořkým látkám chmele. Kažení piva je obvykle způsobeno vyšší produkcí acetaldehydu a sulfanu [81].

Octové bakterie (rod *Acetobacter*, *Gluconobacter*) mají v současnosti při výrobě piva malý význam. Za určitých podmínek mohou kazit stočené pivo, ale případů octového kažení je velmi málo [83]. Octové bakterie se nacházejí hlavně tam, kde jsou zbytky piva a meziproductů za přístupu vzduchu. V pivu nasyceném oxidem uhličitým nerostou, ale mohou zde přežívat [3]. Jejich charakteristickou vlastností je schopnost oxidovat etanol na kyselinu octovou nebo ještě na oxid uhličitý a vodu [83].

Divoké kvasinky

Za cizí, neboli **divoké kvasinky** se obecně považují kvasinky jiných rodů nebo druhů, než ke kterým se řadí kulturní kvasinky [86].

Kvasničnou kontaminací se označují veškeré kvasničné buňky, které se negativně projevují v určitém místě výroby. Kromě toho mohou várečné kvasnice obsahovat kmeny kvasinek, které mají nežádoucí technologické vlastnosti. Některé z těchto nežádoucích kmenů mohou také produkovat toxiny (killer-faktory, zymociny) a usmrčovovat tak senzitivní kmeny kvasinek [3].

Některé kvasinky (*Saccharomyces logos*, *S. uvarum*, *S. bayanus*) byly původně pokládány za cizí kvasinky, ale až později byly přeřazeny k jedinému druhu *S. cerevisiae*. Přesto se však tyto kvasinky ve shodě s původním popisem mohou při výrobě piva projevit negativně. Takovým příkladem je třeba *S. diastaticus*, který sice náleží k *S. cerevisiae*, ale má schopnost kazit i dobře prokvašené pivo [3]. Dalším příkladem je třeba kvasinka *S. cerevisiae* Hansen subsp. *cerevisiae*, která způsobuje potíže při čerění svrchně kvašených piv. Další je *S. bayanus*, která při pomnožená v pivu způsobuje tvorbu zákalu, sedimentu a také způsobuje změnu chuti a aroma piva. Rod *Brettanomyces* zase nadměrně prokvašuje pivo a dochází ke vzniku nepříjemné příchutě [87].

Divoké kvasinky se od pivovarských kvasinek liší jednak tvarem a rozměry, ale i fyziologickou činností. Vytvářejí snadněji spóry a jsou tvarově proměnlivé [84].

Pivovarské kvasnice by měly být zbaveny nežádoucích cizích kvasinek. Někdy však kvasinkové kontaminanty nemívají na pivo přímo škodlivý vliv, protože pivovarské kvasinky prošly během let přirozenou selekcí, která vedla k vzniku kmenů odolných vůči kontaminaci [40].

Přesto však některé tzv. divoké kvasinky při poruše biologické rovnováhy v pivě nepříznivě ovlivňují jeho jakost [40]. Růst divokých kvasinek v pivu může vést jednak k tvorbě zákalu, ale také k tvorbě mastných kyselin [88], nepříjemných příchutí a aromatu piva v některých případech může dojít i k dalším závadám [40].

Plísně

Plísně mají při výrobě piva v porovnání s kvasinkami či bakteriemi malý význam. Jsou častými kontaminanty sladařské výroby [83]. Mohou se vyskytovat na klíčícím ječmenu a zeleném sladu [3]. Do této skupiny kontaminantů patří plísně rodu *Penicillium*, *Fusarium*, *Aspergillus* aj. [83].

Při výrobě piva mají plísně menší význam, protože se v mladině a v pivě oproti jiným mikroorganismům pomnožují pomaleji nebo vůbec. Příčinou brzdící jejich rozvoj je nedostatek kyslíku [83]. Přesto mohou produkovat nežádoucí látky způsobovat například bouřlivé přepěňování piva a také mohou tvořit nebezpečné metabolity jako třeba mykotoxiny a nitrosaminy. Vzniklé mykotoxiny jsou toxické pro člověka a mohou mít různé biologické účinky například mutagenní, karcinogenní, teratogenní. Pivovarský proces jen částečně snižuje jejich obsah. Jediný spolehlivý způsob snížení obsahu mykotoxinů spočívá

v pečlivé kontrole nakupovaného ječmene [3]. Dále se mohou ve stočeném pivu objevovat plísňe například rodu *Penicillium*, *Fusarium*, *Aspergillus* aj. [83].

ZÁVĚR

Základní suroviny, které se používají v pivovarství, jsou slad, chmel a varní voda. To, bez čeho by však pivo nemohlo vzniknout, jsou kvasinky. Role pivovarských kvasnic ve výrobě piva je velmi důležitá, protože mohou ovlivnit chemické složení a sensorické vlastnosti, které určují kvalitu piva.

Na základě provedené literární rešerše v rámci této bakalářské práce lze tvrdit, že:

- Různé kmeny kvasinek produkují odlišná množství klíčových chuťových látek v závislosti na svém genetickém profilu, proto pokud se výrobce rozhodne vyrábět pivo, musí vědět, jaký druh piva chce vyrábět.
- Produkty kvasinek, které mají velký význam pro aroma a chuť piva, jsou produkovány v rámci hlavního kvašení. Z tohoto důvodu je důležité hlídat i podmínky, při kterých hlavní kvašení probíhá.
- Různé kmeny pivovarských kvasnic mohou disponovat specifickými vlastnostmi, např. ovlivňovat oxidativní degradaci hořkých látek a podporovat stárnutí piva, nebo např. metabolizovat sloučeniny obsahující síru atd. Nejen látky vznikající v procesu hlavního kvašení tak mohou ovlivnit výsledné chuťové vlastnosti piva.
- Vedle tvorby aromatických látek jsou také vlastnosti kvasničného kmene důležité i pro technologii výroby piva. Z výrobní praxe jsou známy souvislosti s flokulací, stupněm a rychlostí prokvašení, nebo citlivostí na změny teploty. Tyto vlastnosti se mohou u jednotlivých kmenů také lišit.

Z výše uvedených bodů jasně vyplývá, že k nejdůležitějším faktorům pro ovlivnění charakteru a chuti piva patří nejen již zmíněný výběr vhodného kmene kvasnic, ale také péče o jeho fyziologický stav, který souvisí i s řízením podmínek při kvašení a zrání piva.

Volba kmene kvasinek pro konkrétní podmínky a cíle je vždy důležitým rozhodnutím, které může ovlivnit jednak sensorické vlastnosti a technologii výroby, ale i uplatnění výrobku na trhu a ekonomiku výroby.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] Technologie výroby piva In: *Přírodovědná fakulta Masarykovy univerzity* [online]. [cit. 2015-9-14]. Dostupné z: <http://sci.muny.cz/data/C6210/C6210>.
- [2] KÜTNER, Dušan. Češi si v konzumaci piva udrželi světový primát, spotřeba ale stagnuje. In: *E15.cz/Zprávy* [online]. Mladá fronta a. s., 15.4.2015 [cit. 10.4.2016]. Dostupné z: <http://zpravy.e15.cz/byznys/obchod-a-sluzby/cesi-si-v-konzumaci-piva-udrzeli-svetovy-primat-spotreba-ale-stagnuje-1180706>.
- [3] BASAŘOVÁ, Gabriela. *Pivovarství: teorie a praxe výroby piva*. Vyd. 1. Praha: Vydavatelství VŠCHT, 2010, 863 s. ISBN 978-80-7080-734-7.
- [4] KOPECKÁ, J., D. MATOULKOVÁ a M. NĚMEC. Kvasinky a jejich využití. *Kvasný průmysl*. 2012, roč. 58, s. 326–335. ISSN: 0023-5830.
- [5] MATOULKOVÁ, Dagmar a Jan ŠAVEL. Pivovarství a taxonomie pivovarských kvasinek. *Kvasný průmysl*. 2007, roč. 53, s. 206–2014. ISSN: 0023-5830.
- [6] BASAŘOVÁ, G., M. BLÁHA a P. VESELÝ. Vliv kmene kvasnic na senzoryckou stabilitu piva. *Kvasný průmysl*. 2003, roč. 49, s. 3–9. ISSN: 0023-5830.
- [7] BASAŘOVÁ, Gabriela, a kol. *Pivovarsko sladařská analytika*. Praha: Merkanta, s. r. o., 1. díl, 1992, 388 s., 2. díl 1993, 248 s., 3. díl 1993, 322 s.
- [8] HEISEL, Scott. E. *Providing cereals for brewing*, s. 42. In: *Brewing New Technologies*, Ed C. W. Bamforth. Cambridge: Woodhead publishing limited, 2006, 487 s. ISBN 978-1-84569-003-8.
- [9] HERENT, M. F., C. VANTHOURNHOUT, L. GIJS a S. COLLIN. *Influence de la composition en hétérocycles azotés de malts spéciaux sur le profil aromatique de la biere*. *European Brewery Convection: Proc 26th Congress*, Maastricht 1997, 167-174 s., příspěvek 20. Oxford: IRL Press, 1997, 771 s. ISBN 0-19-963690-7.
- [10] FRANČÁKOVÁ, Helena a Žigmund TÓTH. *Sladovnictvo a pivovarnictvo*. Nitra, SPU, 2005, 147 s. ISBN 978-80-5521-301-9.
- [11] CHLÁDEK, Ladislav. *Pivovarnictví*. 1. vyd. Praha: Grada, 2007, 207 s. ISBN 978-80-247-1616-9.

- [12] PELIKÁN, M., F. DUDÁŠ a D. MÍŠA. *Technologie kvasného průmyslu*. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 1996, 135 s. ISBN 80-7157-240-3.
- [13] KOŠAŘ, Karel a Stanislav PROCHÁZKA. *Technologie výroby sladu a piva*. 2. vyd. (1. na CD). Praha: Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, 2003, 1 CD-ROM.
- [14] Pěstování chmele In: *Svaz pěstitelů chmele České republiky* [online]. Lukáš Hájek [cit. 2015-8-25]. Dostupné z: <http://www.czhops.cz/>.
- [15] ČEPIČKA, Jan. *Chmel a chmelové výrobky*. In: KOŠAŘ, Karel, PROCHÁZKA, Stanislav a kol. *Technologie sladu a piva*. Praha: VÚPS, a.s., 2000, 398 s. ISBN 80-902658-6-3.
- [16] NARZIß, Ludwig. *Die Bierbrauerer*, 6. Aufl., *Volumen 2: Die Technologie der Würzebereitung*. Stuttgart: F. Enke Verlag, 1985, 385 s. ISBN 3-432-85006-9.
- [17] BRIGGS, D. E., CH. A. BOULTON, P. A. BROOKES a R. STEVENS. *Brewing: science and practice*. 1. vydání Cambridge: Woodhead Publishing, 2004, 881 s. ISBN 1-85573-490-7.
- [18] SCHUSTER, K., F. WEINFURTNER a L. NARZIß. *Die Bierbrauerei; Zweiter Band; Die technologie der Würzebereitung*. 7.vyd. Stuttgart, 1992, 402 s. ISBN 3-527-32533-6.
- [19] ŠAVEL, Jan. *Technologie výroby piva* In: *Mendelova univerzita v Brně* [online]. 3.12.2010 [cit. 2015-09-10]. Dostupné z: web2.mendelu.cz.
- [20] *Výroba piva* In: *Pivovar Vyškov* [online]. Zdeněk Krupka [cit. 2015-9-10]. Dostupné z: <http://www.pivovyskov.cz>.
- [21] HLAVÁČEK, František a Alois LHOTSKÝ. *Pivovarství*. 2. vyd. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 1972, 538 s.
- [22] KADLEC, P., K. MELZUCH, M. VOLDŘICH a kol. *Technologie potravin: Přehled tradičních potravinářských výrob*. 1. vyd. KEY Publishing s.r.o., 2012, 569 s. ISBN 978-80-7418-145-0.
- [23] KOŠAŘ, Karel, PROCHÁZKA, Stanislav a kolektiv. *Technologický postup výroby piva* In: *Za pivem.cz* [online]. Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, 2000 [cit. 2015-9-14]. Dostupné z: <http://www.zapivem.cz>.

- [24] LEHRL, Richard. *Děláme si sami pivo: příručka pro domácí výrobu piva*. Líbeznice: Víkend, 2014, 163 s. ISBN 978-80-7433-079-7.
- [25] VERHOEF, Berry. *Encyklopedie piva*. Rebo Productions, 1998, 304 s. ISBN 80-7234-012-3.
- [26] SARX, Hans Georg. Der Einfluss der Malzqualität auf den Läuterprozess. *Brauerei Forum*. 2003, roč. 18., s. 4–6. ISSN: 0179–2466.
- [27] DUFOUR, J. P., P. ALWAREX, A. DEWREUX a W. GERARD. Influence of the filtration procedure on the relationship between wort turbidity and its lipid content. *Brewing Science – Monatschrift für Brauwissenschaft*. 1986, roč. 39, s. 115-121. ISSN: 0723–1520.
- [28] HOUGH, J. S., D. E. BRIGGS, R. STEVENS a T. W. YOUNG. *Malting and Brewing Science*, 2. vydání, Vol. 2 *Hopped Wort and Beer*. London: Chapman and Hall, 1982, 885 s. ISBN 0-412-16590-2.
- [29] BASAŘOVÁ, Gabriela. Vývoj teorie a praxe kvašení a dokvašování piva. *Kvasný průmysl*. 2002, roč. 48, s. 61–66. ISSN: 0023-5830.
- [30] WHITE, Chris a Jamil ZAINASHEFF. *Yeast: The practical guide to beer fermentation*. Boulder, Colorado: Brewers Associations, 2010, 304 s. ISBN 978-0-937-381-96-0.
- [31] BASAŘOVÁ, Gabriela a Jan ČEPIČKA. *Sladařství a pivovarství*, 2. vydání. Praha: SNTL. 1985, 256 s.
- [32] BLÜML, Susanne a Sven FISCHER. *Manual of Filling Technology. The theory and Practice of Filling Liquid Products* (Kronseder, Volker, eds). Hamburg: Behr's Verlag, 2004, 576 s. ISBN 3-89947-197-0.
- [33] BÜCKLE, Jörg a Wolfgang HUBER. *Manual of Packing and Palletising Technology. State-of-the-art Dry Ends in Theory and Practice* (Kronseder, Volker, eds). Hamburg: Behr's Verlag, 2005, 325 s. ISBN 3-89947-222-5.
- [34] BÜCKLE, Jörg a Daniel LEYKAMM. *The Manual of Labeling Technology. Basics and Practice in Successful Products Dressing*. 6. vydání. Regensburg: Aumüller KG, 2001, 333 s.

- [35] MORGAN, A. Ryder. *Designing packaging for brand growth. Proceedings European Brewery Convection*: 28. Congress, Budapešť 2001, příspěvek 94, 867-885 s. Nürnberg: Fachverlag Hans Carl, 2001. ISBN 90-70-70143-21-22-4.
- [36] BAMFORTH, W. Charles. Rising to the challenge. *Brewers' Guard*. 2003, roč. 132, s. 24–27.
- [37] ANDERSON, R. Gary. *Louis Pasteur (1882–1895): An assesment of his impal on the brewing industry. Proceedings. European Brewery Convection*. Brussels, 1995, s. 13–23.
- [38] BASAŘOVÁ, Gabriela a Ivo HLAVÁČEK. *České pivo*. 2. vydání, Nuga, Pacov, 1999. ISBN 978-80-87109-25-0.
- [39] JACKSON, Michael. *Great beer guide*. 1. vydání, Dorling Kindersley, London, 2000. ISBN 0-7894-5156-5.
- [40] BENDO VÁ, Olga a Miroslav KAHLER. *Pivovarské kvasinky*. Vyd. 1. Praha: SNTL, 1981, 272 s.
- [41] BLASOVIČ, B., M. RUPČIČ, M. MESARIČ a V. MARIČ. Lipid analysis of the plasma membrane and mitochondria of brewer's yeast. *Folia Microbiologica*. 2005, roč. 50, vyd. 1, s. 24–30. ISSN: 0015-5632.
- [42] VOLKMAN, K. John. Sterols in microorganisms. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2003, roč. 60, s. 495–506. ISSN: 0175–7598.
- [43] TURAKAINEN, H., A. SIRPA a M. KORHOLLA. MEL gene polymorphism in the genus *Saccharomyces*. *Applied and Environmental Microbiology*. 1993, roč. 59, s. 2622–2629. ISSN: 0099-2240.
- [44] KOHOUTOVÁ, Petra a Ida HOLLEROVÁ, I. Sbíрка pivovarských kvasinek VÚPS. *Kvasný průmysl*. 1997, roč. 43, 8–9 s. ISSN: 0023-5830.
- [45] KOCKOVÁ – KRATOCHVÍLOVÁ, Anna. *Katalóg kultúr kvasiniek*. VEDA, Bratislava, 1986, 320 s.
- [46] Sbíрка pivovarských kvasinek. In: *Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, a.s.* [online]. [cit. 2015-10-19]. Dostupné z: <http://www.beerresearch.cz>.

- [47] CAHILL, G., P. K. WALSH a D. DONNELLY. *A study of the variation in temperature, solids concentration and yeast viability in agitated stored yeast. Proc. European Brewery Convection.*: Proc. 29. Congress, Dublin 200, příspěvek 42, 454–469 s. Nürnberg: Fachverlag Hans Carl, 2003. ISBN 90-70143-22-4.
- [48] STEWART, Graham. *Fermentation intensification – the challenge. EBC Monograph 28. EBC Symposium yeast physiology – a new area of opportunity.* Nutfield 1999, 97–114 s. ISBN 3-418-00774-0.
- [49] NOVÁK, Jan. *Studium změn kvasinky Saccharomyces cerevisiae v pivovarském procesu průtokovou cytometrií.* Doktorská disertační práce, VŠCHT Praha, 2006, 138 s.
- [50] GHUL, C., K. WACKERBAUER a S. A. KANG. Influence of aeration during propagation of pitching yeast on fermentation and beer flavor. *Journal of Microbiology and Biotechnology.* 2007, roč. 17, s. 297–304. ISSN: 1017-7825.
- [51] EDGERTON, Jeffrey. A primer on yeast propagation technique and procedures. *Technical Quarterly Master Brewers Association of Americas.* 2001, roč. 38, s. 167–175. ISSN: 0542-9811.
- [52] QUAIN, D., E. *Yeast supply – the challenge of zero defects. European Brewery Convection:* Proc. 25. Congress, Brussels 1995, příspěvek 36, 309–317. Oxford: IRL Press, 1995, 763 s. ISBN 0-19-963614-1.
- [53] Prodej kvasnic. In: *Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, a.s.* [online]. [cit. 2015-12-28]. Dostupné z: <http://www.beerresearch.cz>.
- [54] SMART, K. A., L. J. CHERIL, I. K. ALAN. a J. A. HODGSON. Impact of serial re-pitching on lager brewing yeast quality. *The Journal of the American Society of Brewing Chemists.* 2003, roč. 61, s. 1–9. ISSN: 0361-0470.
- [55] NOVÁK, J., G. BASAŘOVÁ a J. FIALA. Vliv praní a skladování pivovarských kvasnic na jejich kvalitu. *Kvasný průmysl.* 2003, roč. 49, s. 260–263. ISSN: 0023-5830.
- [56] STRATFORD, Malcolm. Yeast flocculation: Reconciliation of physiological and genetic viewpoints. *Yeast.* 1992, roč. 8, s. 25–38. ISSN: 1097-0061.

- [57] TAKAMOTO, Yuji. a Yoshio SAITO. Thermal convection in cylindro – conical tanks during the early cooling process. *Journal of the Institute of Brewing*. 2003, roč. 109, s. 80–83. ISSN: 2050-0416.
- [58] DOMINGUES, L., A. VICENTE, N. LIMA a J. A. TEIXEIRA. Application of yeast flocculation in biotechnological processes. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*. 2000, roč. 5, s. 288–305. ISSN: 1226-8372.
- [59] VESELÝ, P., D. DUNCOMBE, L. LUSK, G. BASAŘOVÁ, J. SEABROOKS a D. RYDER. The impact of fermentation temperature on yeast reductase activity. *Technical Quarterly Master Brewers Association of Americas*. 2004, roč. 41, s. 282–292. ISSN: 0542-9811.
- [60] DEBOURGH, Alain. Yeast in action: from wort to beer. *Cerevisia*. 2002, roč. 27, s. 144–154. ISSN: 1373-7163.
- [61] KADLEC, P., K. MELZUCH, M. VOLDŘICH a kolektiv. *Technologie potravin: Co byste měli vědět o výrobě potravin?*. Vyd. 1. Ostrava: KEY Publishing s.r.o., 2009, 536 s. ISBN 978-80-7418-051-4.
- [62] PETER, E. E., A. MARGARITIS, R. J. STEWART, P. H. PILKINGTON a N. A. MENSOUR. The effects of wort valine concentration on the total diacetyl profile and levels late in batch fermentation with brewing yeast *Saccharomyces carlsbergensis*. *The Journal of the American Society of Brewing Chemists*. 2004, roč. 62, s. 131–139. ISSN: 0361-0470.
- [63] BAMFORTH, W. Charles a Makoto KANAUCHI. Enzymology of vicinal diketone reduction in brewer's yeast. *Journal of the Institute of Brewing*. 2004, roč. 110, s. 83–93. ISSN: 2050-0416.
- [64] DUAN, W., F. A. RODDICK a P. J. ROGERS. A parallel analysis of H₂S and SO₂ formation by brewing yeast in response to sulfur-containing amino acids and ammonium ions. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*. 2004, roč. 62, s. 35–41. ISSN: 0361-0470.
- [65] JOHANNESSEN, P. F., M. NYBORG a J. HANSEN. *Construction of Saccharomyces carlsbergensis brewer's yeast without production of sulfide*. *European Brewery*

- Convection Proceedings. 27. Congress, Cannes 1999*, příspěvek 75, 655–664. Zoeterwoude: *European Brewery Convection*. 1999, 882 s. ISBN 90-70143-20-8.
- [66] DOYELE, Alison a J. Colin SLAUGHTER. Methionine and sulphate as competing and complementary sources of sulphur for yeast during fermentation. *Journal of the Institute of Brewing*. 1998, roč. 104, s. 147–155. ISSN: 2050-0416.
- [67] GOMIS, Domingo Blanco. *HPLC analysis of organic acids*. Food Science and technology. New York – Marcel Dekker. 2000, 477-492 s. ISBN 0-8247-8460-X.
- [68] SIGLER, Karel a Dagmar MATOULKOVÁ. Pivovarské kvasinky a reakce na stres. *Kvasný průmysl*. 2011, roč. 57, 277–284 s. ISSN: 0023-5830.
- [69] SIGLER, K., D. MATOULKOVÁ, P. GABRIEL, M. DIENSTBIER a D. GÁŠKOVÁ. Kvasinky a stres: z laboratorních podmínek do pivovaru. *Kvasný průmysl*. 2010, roč. 56, s. 100–104. ISSN: 0023-5830.
- [70] KARREMAN, J. Robert a G. George LINDSEY. A rapid method to determine the stress status of *Saccharomyces cerevisiae* by monitoring the expression of Hsp 12: Green fluorescent protein (GFP) construction under the control of the Hsp 12 promoter. *Journal Biomolecular Screening*. 2005, s. 253–259. ISSN: 1087-0571.
- [71] NOVÁK, J., G. BASAŘOVÁ, J. FIALA a P. DOSTÁLEK. Změny vlastností kvasinek v pivovarském procesu a rychlé metody jejich sledování. *Kvasný průmysl*. 2006, roč. 52, s. 3–6. ISSN: 0023-5830.
- [72] CIESAROVÁ, Zuzana a Daniela ŠMOGROVIČOVÁ. Vplyv etanolu a teploty na rast kvasiniek. *Kvasný průmysl*. 1996, roč. 42, s. 129–132. ISSN: 0023-5830.
- [73] GIBSON, B. R., S. J. LAWRENCE, J. M. SMITH, N. SHELTON, J. N. SMITH a A. SMART. Oxygen as toxin: oxidative stress a brewing yeast fysiology. *Cerevisia*. 2006, roč. 31, s. 25–36. ISSN: 1373-7163.
- [74] BENDO VÁ, O., V. KURZOVÁ a B. PARDONOVÁ. Typizace kmenů pivovarských kvasinek. *Kvasný Průmysl*. 1970, roč. 16, s. 185-191. ISSN: 0023-5830.
- [75] BRIGGS, D. E., CH. A. BOULTON, P. A. BROOKES a R. STEVENS. *Brewing Science and Practice*. Boca Raton: CRC Press. 1.vyd., 2004, 963 s. ISBN 0-8493-2547-1.

- [76] Pivovarská technologie. In: *Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, a.s.* [online]. [cit. 2015-11-01]. Dostupné z: <http://www.beerresearch.cz>.
- [77] ŠKACH, Josef a Martin SLABÝ. Vážíme si dostatečně kvasinek? *Kvasný průmysl*. 2009, roč. 55, s. 2–8. ISSN: 0023-5830.
- [78] Nabídka kmenů pivovarských kvasinek. In: *Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, a.s.* [online]. [cit. 2015-12-28]. Dostupné z: <http://www.beerresearch.cz>.
- [79] SAKAMOTO, Kanta a Will KONINGS. Beer spoilage bacteria and hop resistance. *International Journal of Food Microbiology*. 2003, roč. 89, s. 105–124. ISSN: 0168-1605.
- [80] BLACBURN, Clive. *Food spoilage microorganisms*. Cambridge: Woodhead Publishing Limited. 2006, 712 s. ISBN 1-85573-966-6.
- [81] JESPERSEN, Lene a Mogens JAKOBSEN. Specific spoilage organisms in breweries and laboratory media for their detection. *International Journal of Food Microbiology*. 1996, roč. 33, s. 139–155. ISSN: 0168-1605.
- [82] HAAKENSEN, M., A. SCHUBERT a B. ZIOLA. Broth and agar hop-gradient plates used to evaluate the beer-spoilage potential of *Lactobacillus* and *Pediococcus* isolates. *International Journal of Food Mikrobiology*. 2009, roč. 130, s. 55–60. ISSN: 0168-1605.
- [83] ŠAVEL, Jan. *Mikrobiologická kontrola v pivovarech*. Praha: SNTL – Nakladatelství technické literatury. 1980, 184 s. ISBN 04-822-80.
- [84] TVRDOŇ, Milan. *Atlas užitečných a škodlivých mikroorganismů v potravinářském průmyslu*. Praha: Státní pedagogické nakladatelství. 1963. ISBN 16-164-63.
- [85] International Commission on Microbiological Specification for foods. *Microorganisms in foods 6*. New York: KA/PP. 2. vydání, 2005, 766 s. ISBN 0-306-48675-X.
- [86] QUEROL, Amparo a Graham H. FLEET. *Yeasts in food and beverages*. Berlin: Springer-Verlag, 2006, 453 s. ISBN 978-3-540-28388-1.
- [87] BENDOVIÁ O., V. KURZOVÁ a B. PARDONOVÁ. Kvasinky jako kontaminanty pivovarské výroby. *Kvasný průmysl*. 1975, roč. 21, s. 100-102. ISSN: 0023-5830.

- [88] KÜHLE, A. a Lene JESPERSEN. Detection and identification of wild yeasts in lager breweries. *International Journal of Food Mikrobiology*. 1998, roč. 43., s. 205–213. ISSN: 0168-1605.