

Kvasnice v pekárenském a pivovarnickém průmyslu

Vendula Kubíková

Bakalářská práce
2010



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav biochemie a analýzy potravin
akademický rok: 2009/2010

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Vendula KUBÍKOVÁ**
Osobní číslo: **T07888**
Studijní program: **B 2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Technologie a řízení v gastronomii**

Téma práce: **Kvasnice v pekárenském a pivovarnickém průmyslu**

Zásady pro vypracování:

I. Teoretická část

1. Charakteristika kvasinek.
2. Kvasnice a jejich využití v pekárenském průmyslu.
3. Pivovarské kvasnice a jejich využití.

Rozsah bakalářské práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná/elektronická**

Seznam odborné literatury:

- [1] CHLÁDEK, L. Pivovarnictví. 1. vyd. Praha: Grada Publishing, a.s., 2007. 218 s.
- [2] KOCKOVÁ-KRATOCHVÍLOVÁ, A. Taxonómia kvasiniek a kvasinkovitých mikroorganizmov. 1. vyd. Bratislava: Alfa, 1990. 704 s.
- [3] ŠÍPICKÝ, M., ŠUBÍK, J. Genetika kvasiniek. 1. vyd. Bratislava: VEDA, 1992. 312 s.
- [4] HALAMA, D. Technická mikrobiológia. 1. vyd. Bratislava: Slovenské vydavateľstvo technickej literatúry, 1967. 332 s.
- [5] BRIGGS, DENNIS E.; BOULTON, CHRIS A.; BROOKES, PETER A.; STEVENS, R. Brewing Science and Practice. Woodhead Publishing, 2004. 963 s.

Vedoucí bakalářské práce:

doc. RNDr. Lubomír Šimek, CSc.

Ústav biochemie a analýzy potravin

Datum zadání bakalářské práce:

4. února 2010

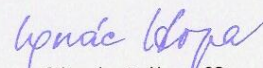
Termín odevzdání bakalářské práce:

30. května 2010

dne **8. 04. 2010**



doc. Ing. Petr Hlaváček, CSc.
děkan



prof. Ing. Ignác Hoza, CSc.
ředitel ústavu

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- beru na vědomí, že odevzdáním diplomové/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 diplomová/bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupná k nahlédnutí, že jeden výtisk diplomové/bakalářské práce bude uložen na příslušném ústavu Fakulty technologické UTB ve Zlíně a jeden výtisk bude uložen u vedoucího práce;
- byl/a jsem seznámen/a s tím, že na moji diplomovou/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 – diplomovou/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 diplomové/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 diplomové/bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem diplomové/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: 17.5. 2010

.....

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 vzdělávacímu 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.

ABSTRAKT

Cílem této bakalářské práce je popis základních vlastností kvasinek a vysvětlení jejich využití v pekárenském a pivovarnickém průmyslu. Význam kvasnic spočívá ve skutečnosti, že značnou měrou přispívají k světové produkci potravin poskytujících cenné látky pro lidskou výživu, jako jsou například vitaminy.

Klíčová slova: kvasinky, kvasnice, kvašení, pekárenský průmysl, pivovarnický průmysl

ABSTRACT

The aim of this thesis is a description of the basic characteristics of yeasts and an account of their usage in baking and brewing industry. The importance of yeast lies in the fact that they contribute to world food production providing valuable substances for human nutrition, for example vitamins.

Keywords: yeasts, fermenting, baking industry, brewing industry

Ráda bych poděkovala vedoucímu mé bakalářské práce doc. RNDr. Lubomírovi Šimkovi, CSc. za odborné vedení, cenné rady a trpělivost při kompletaci mé bakalářské práce.

Dále bych chtěla poděkovat zaměstnancům z Městské knihovny v Kojetíně za jejich ochotu při poskytování literatury k sepsání mé práce.

OBSAH

ÚVOD	10
I TEORETICKÁ ČÁST	11
1 KVASINKY	12
1.1 ŽIVÉ A PŘÍRODNÍ BUŇKY - KVASINKY	12
1.2 CYTOLOGIE KVASINEK.....	13
1.2.1 Buněčná stěna.....	14
1.2.2 Cytoplazmatická membrána.....	15
1.2.3 Endoplazmatické retikulum.....	15
1.2.4 Mitochondrie	15
1.2.5 Vakuola.....	15
1.2.6 Golgiho aparát	16
1.2.7 Cytoskelet.....	16
1.2.8 Jádro.....	16
1.3 MECHANISMUS ROZMNOŽOVÁNÍ KVASINEK	17
1.3.1 Vegetativní rozmnožování kvasinek	17
1.3.2 Pohlavní rozmnožování kvasinek.....	17
1.4 CHEMICKÉ SLOŽENÍ BUNĚČNÉ HMOTY KVASINEK.....	18
2 KVASNICE V PEKÁRENSKÉM PRŮMYSLU	20
2.1 DROŽDÍ A JEHO PROMĚNY.....	20
2.2 SUROVINA PRO VÝROBU PEKAŘSKÉHO DROŽDÍ - MELASA	21
2.3 VÝROBA PEKAŘSKÉHO DROŽDÍ	22
2.3.1 Historie a vývoj výroby pekařského droždí.....	22
2.3.2 Hodnocení a kvalitativní ukazatele droždí.....	24
2.3.2.1 Fyzikálně chemické vlastnosti droždí.....	24
2.3.2.2 Chemický rozbor droždí.....	25
2.3.2.3 Biochemické zkoušky	25
2.3.2.4 Zkoušky jakosti z hlediska pekařského	25
2.3.2.5 Mikrobiologické zkoušky.....	26
2.3.3 Jednotlivé kroky při výrobě pekařského droždí.....	26
2.3.3.1 Laboratorní propagace	27
2.3.3.2 Příprava kultivačního média	28
2.3.3.3 Požadavky na vodu, vzduch, živiny a pomocné látky při výrobě droždí	29
2.3.3.4 Provozní propagace kvasinek	30
2.3.3.5 Předkvas	31
2.3.3.6 Výroba násadního droždí.....	31
2.3.3.7 Výroba expedičního droždí	31
2.3.3.8 Oddělování kvasinek od zápary	32
2.3.3.9 Zchlazování a filtrace kvasničného mléka	32
2.3.3.10 Úprava a expedice lisovaného droždí.....	32
2.3.4 Různé formy doždí.....	33
2.3.4.1 Droždí pro domácnosti.....	33

2.3.4.2	Droždí pro pekaře.....	33
3	KVASNICE V PIVOVARNICKÉM PRŮMYSLU.....	35
3.1	HISTORIE A VÝVOJ VÝROBY PIVA.....	35
3.2	PIVOVARSKÉ KVASINKY	37
3.2.1	Propagace a uchovávání kvasinek.....	38
3.2.2	Mikrobiologická čistota kvasnic	40
3.3	TECHNOLOGIE KVAŠENÍ.....	41
3.3.1	Hlavní kvašení a dokvašování.....	41
3.3.2	Kvašení v cylindrokonických tancích (CKT).....	42
3.4	ZPRACOVÁNÍ ODPADŮ PIVOVARSKÉ VÝROBY	44
	ZÁVĚR	46
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	47
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....	50
	SEZNAM OBRÁZKŮ	51

ÚVOD

Ve výrobě potravin mají důležitou úlohu vedle bakterií mléčného kysání i kvasinky, které významně přispívají k naší výživě.

Kvasinky jsou mikroorganismy používané pro zajištění kynutí těsta a k výrobě alkoholických nápojů, např. vína, jablečných moštů a piva. Samy o sobě mají vysokou nutriční hodnotu, neboť obsahují mnoho bílkovin a vitaminů skupiny B. Proto se zbytky kvasinek po ukončení kvasných procesů používají v mnoha případech jako přísada do různých potravinářských produktů, např. masných výrobků.

Kvasinky se uplatňují již po tisíciletí při výrobě chleba a alkoholických nápojů. V průběhu mnoha století se pečení chleba stalo uměním a trvalo dlouhou dobu, než bylo postaveno na vědecký základ. V současné době jsou na vědecké úrovni šlechtěny kmeny pekařských kvasinek podle jejich schopností vykynout chlebové těsto tak, aby bochníky měly správnou velikost, texturu, chuť a vůni. Alkoholické nápoje zcela jistě přispívaly k zlepšení jídelníčku našich předků. Sumerové měli již názvy pro 15 různých druhů piva. V současné době existuje mnoho druhů alkoholických nápojů na celém světě. Jako surovina pro jejich výrobu se používají různé druhy ovoce, obilovin, med a různé kmeny kvasinek, které zkvasí přítomný cukr na alkohol. Stejně jako u pekařského droždí jsou používány různé metody šlechtění kvasinek, které zlepšují kvasné procesy. Jedním z hlavních cílů je zvýšit toleranci kvasinek k alkoholu.

Při průmyslové výrobě piva vzniká velké množství kvasnic. Část se použije při další výrobě piva, další část se uplatňuje v potravinářské výrobě, např. k výrobě pomazánek, extraktů a různých potravinářských přísad a doplňků. Zbytek se pak použije do krmných směsí. Extrakty kvasnic nacházejí široké uplatnění v potravinách, kde je vyžadována příchuť masa, např. v polévkách, omáčkách, zmrazených pokrmech, hamburgerech, párcích a bramborových hranolkách.

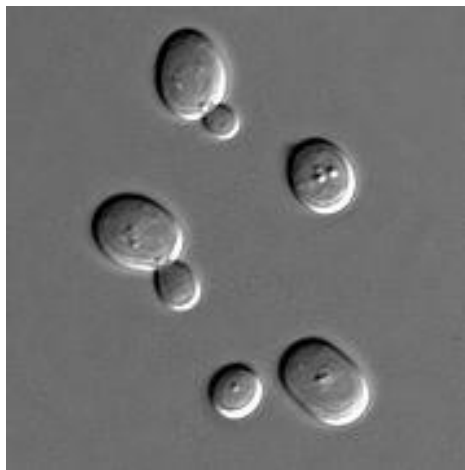
I. TEORETICKÁ ČÁST

1 KVASINKY

1.1 Živé a přírodní buňky - kvasinky

Kvasinky jsou heterotrofní eukaryotní mikroorganismy, které netvoří jednotnou taxonomickou skupinu. Patří do rostlinného systému, mezi vyšší houby (Fungi) [1,2]. Většina druhů kvasinek zkvašuje monosacharidy a některé disacharidy, případně i trisacharidy na ethanol a oxid uhličitý. Kvasinky jsou schopny růst v širokém rozmezí teplot prostředí (0-45 °C), při velmi nízkých hodnotách pH, koncentraci ethanolu až 18 % hm. a sacharosy 55-60 % hm. [3].

Tvar buněk kvasinek souvisí se způsobem vegetativního (nepohlavního) rozmnožování, jež se děje buď pučením, nebo výjimečně dělením [1,3]. Nejčastěji je tvar krátce elipsoidní, případně vejčitý až kulovitý, vyskytuje se však i tvar citronovitý (např. *Kloeckera apiculata*), trojúhelníkovitý (rod *Trigonopsis*) a válcovitý (rod *Schizosaccharomyces*) [1]. Tvar buněk i jejich velikost jsou v určité míře ovlivňovány stářím buněk a kultivačními podmínkami. Avšak i v téže kultuře jednoho kmene kvasinek se vyskytuje jistá variabilita tvaru a velikosti buněk. Velikost buněk kvasinek se pohybuje v rozmezí 3-6 μm [1,3].



Obr. 1. Snímek kvasinek *Saccharomyces cerevisiae*

Význam kvasinek spočívá v tom, že jde o mikroorganismy sloužící lidem při různých kvasných výrobcích jako je výroba piva, vína, líhu či kvasnic. Druhy *Saccharomyces cerevisiae* a *Schizosaccharomyces pombe* patří mezi nejdůležitější modelové eukaryotní organismy. Na druhou stranu, některé z kvasinek jsou potenciálními lidskými patogeny [2].

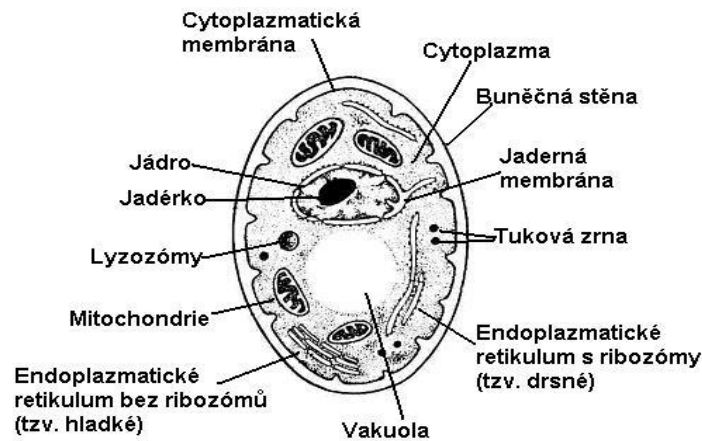
Některé rody nebo kmeny kvasinek vytvářejí protáhlé buňky pučící pouze na pólech. Tyto buňky zůstávají po pučení spojeny v dlouhá zaškrcovaná vlákna – tzv. pseudomycelium. V určitých místech pseudomycelia vnikají svazky kratších elipsoidních buněk – blastospor. U některých rodů či kmenů kvasinek se vytváří tzv. pravé mycelium, tj. vlákno vznikající příčným dělením protáhlých buněk. Při dělení se zde tvoří z cytoplazmatické membrány prstencovitá vychlípenina, která prorůstá směrem do středu buňky, až dojde k rozdělení cytoplazmy a oddělení dvou jader. Na myceliu se vytváří podobné svazky blastospor jako na pseudomyceliu. Tvorba pseudomycelia a pravého mycelia je typická hlavně pro rody se silným aerobním metabolismem, např. pro rody *Endomycopsis* a *Sporobolomyces*, ale i pro rod *Candida*. Vyskytuje se také často u tzv. R-mutantů kvasinek (z angl. rough = drsný), tj. mutantů, které tvoří drsné kolonie a mají většinou zvýšený aerobní metabolismus na úkor kvašení [1,4,5].

Přechodem mezi pučením a dělením je tzv. pučení na široké základně, kdy je mateřská buňka s pupenem spojena širokým krčkem. Při ukončení je krček uzavřen přepážkou. Při pučení na široké základně, typické např. pro rod *Saccharomyces*, dochází k pučení téměř současně na obou pólech (tzv. bipolární pučení) [1,2].

Některé rody kvasinek tvoří jednobuněčné oválné exospory vytvářené na tenkých stopkách zvaných sterigmata. Zralé spory jsou z těchto stopek odmršťovány od mateřské buňky pomocí zvláštního kapalinového mechanismu, a proto dostaly název balistospor [1,2].

1.2 Cytologie kvasinek

Vegetativní kvasinková buňka je buňka eukaryotní a skládá se ze silné a pevné buněčné stěny, jemné cytoplazmatické membrány a cytoplazmy, jež obsahuje řadu buněčných komponent. Chemické složení, struktura a funkce buněčných komponent jsou zpravidla obdobné jako u jiných eukaryotních buněk. Jádro je od cytoplazmy odděleno dvojitou jadernou membránou. Pohybové orgány vegetativní buňky kvasinek nemají. Některé rody kvasinek tvoří pohlavní spory, které však mají fyziologické vlastnosti odlišné od vlastností endospor bakterií [1,2].



Obr. 2. Buňka kvasinky

1.2.1 Buněčná stěna

Buněčná stěna kvasinek má silnou a pevnou strukturu o tloušťce 150-400 nm. Dává buňce tvar a chrání ji před mechanickými vlivy a před osmotickým šokem. Velkými póry stěny volně prochází všechny sloučeniny vyjma sloučenin vysokomolekulárních (polysacharidy a bílkoviny). Chemické složení a struktura buněčné stěny jsou nejlépe známy u *Saccharomyces cerevisiae*, nejdůležitějšího a nejrozsáhlejšího rodu kvasinek [1,2].

Hlavní složkou buněčné stěny kvasinek jsou polysacharidy a představují 80 % hm. sušiny stěny. Jejich struktura vláken tvoří hustou pevnou spleť, která je vyplněna bílkoviny, které představují 6 až 10 % hm. sušiny stěny. Ve stěně kvasinek je také přítomno většinou malé množství lipidů a fosfolipidů (3 až 10 % hm.) a dále fosforečnany, vázané esterovými vazbami na polysacharidy. Tyto fosfátové zbytky spolu se skupinami $-COOH$ bílkovin dávají buňkám kvasinek negativní náboj, který ovlivňuje adsorpci látek z živného prostředí (např. barviv z melasy a sladiny, hořkých látek chmele atd.) [1,5,6].

Na povrchu stěny kvasinek jsou patrné jizvy po pučení, což jsou kruhové útvary, dobře barvitelné fluorescenčními barvivy, např. primulinem nebo calcofluorem. Na jednom pólu každé dceřiné buňky můžeme spatřit zvláštní jizvu. Tato jizva se nazývá jizva zrodu (zárodečná jizva) [1,2].

1.2.2 Cytoplazmatická membrána

Cytoplazmatická membrána svým složením a funkcí nevykazuje specifické charakteristiky. Je docela tenká - 7,5 až 8 nm, tvořená lipidy a proteiny, volně propustná pouze pro malé molekuly bez náboje. Je sídlem transportních mechanismů a neobsahuje dýchací enzymy a systém oxidační fosforylace [1].

1.2.3 Endoplazmatické retikulum

Cytoplasma kvasinek obsahuje systém dvojitých membrán, jenž se nazývá endoplazmatické retikulum. Obě tyto membrány mají poměrně velké póry a na jejich vnějším povrchu jsou četná zrníčka polyzomů, syntetizující bílkoviny. Endoplazmatické retikulum vytváří v buňce různá oddělení, kde jsou uloženy enzymy a rezervní látky [1].

1.2.4 Mitochondrie

Dále jsou v cytoplazmě kvasinek přítomny mitochondrie, jejichž počet, tvar a struktura závisí na řadě faktorů (zejména genetických). Mají velmi rozmanitý tvar (kulovité, válcovité až vláknité, nebo laločnaté), jsou široké 0,3 až 1 μm a dlouhé až 3 μm a obklopují je dvě membrány. Vnější membrána má bradavčitý povrch, vnitřní membrána tvoří hluboké vchlípeniny, které se nazývají kristy [1,2].

Mitochondrie jsou složeny převážně z bílkovin, lipidů a fosfolipidů a jsou sídlem dýchacích enzymů a systému oxidační fosforylace. Obsahují RNA, malé množství DNA (nositel mimojaderné dědičnosti kvasinek), též tRNA, mRNA a ribozomy, jelikož v mitochondriích probíhá syntéza některých mitochondriálních bílkovin [1].

1.2.5 Vakuola

Patří k nejnápadnějším složkám cytoplazmy kvasinek a kvasinkový vakuolární systém představuje dynamickou strukturu, v níž se počet a velikost vakuol mění v závislosti na různých faktorech. Je to většinou kulovitý útvar obklopený jednoduchou membránou, označovanou

jako tonoplast. U mladých množících se buněk je většinou přítomno více menších vakuol, kdežto v kvasinkových buňkách ve stacionární fázi růstu je obvykle přítomna jedna velká vakuola. Ve starších buňkách někdy vakuola vyplňuje téměř celý prostor buňky. Uvnitř vakuol jsou uloženy hydrolytické enzymy, jako proteinasy, ribonukleasa a esterasa, kromě toho obsahují vakuoly ještě polyfosfáty a velkou zásobu draselných iontů, aminokyselin a purinů [1,2].

1.2.6 Golgiho aparát

Dalším membránovým útvarem v cytoplazmě kvasinek je Golgiho aparát a předpokládá se, že funkcí tohoto aparátu je transportovat prekurzory (tj. stavební kameny) buněčné stěny z cytoplazmy přes cytoplazmatickou membránu [1].

1.2.7 Cytoskelet

Podobně jako ostatní eukaryota obsahují kvasinky také tzv. cytoskelet, což je síť proteinových vláken a umožňuje vnitrobuněčný pohyb organel z jednoho místa na druhé. Kvasinková cytoskeletální síť zahrnuje mikrotubuly, což jsou poměrně málo ohebné trubice složené z bílkoviny zvané tubulin [1,2].

1.2.8 Jádro

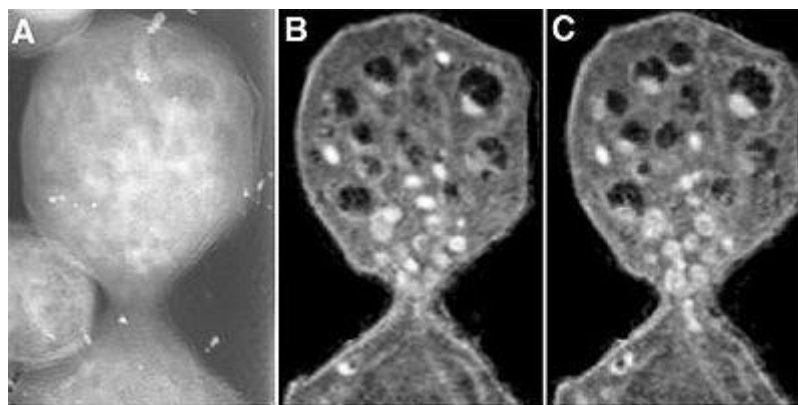
Jádro kvasinek je od cytoplazmy odděleno dvojitou jadernou membránou s velkými póry a u některých kvasinek tvoří natolik výraznou strukturu, že je lze pozorovat ve fázovém mikroskopu. U nejlépe prostudované kvasinky, tj. *Saccharomyces cerevisiae*, bylo zjištěno 16 chromozomů v haploidním jádře. Vyskytuje se v něm také nízkomolekulární DNA (délky 2 μm) a používá se v genovém inženýrství *S. cerevisiae* [1,2].

V jádru kvasinek je také jadérko srpkovitého tvaru. Dále je zde zřetelné pólové tělísko vřeténka, které má tvar disků a vycházejí z něj vlákna zvaná mikrotubuly, která spolu s tělískem hrají důležitou roli při dělení jádra během rozmnožování buněk [1].

1.3 Mechanismus rozmnožování kvasinek

1.3.1 Vegetativní rozmnožování kvasinek

Většina rodů kvasinek se vegetativně rozmnožuje pučením, či méně obvyklým dělením. Při pučení je vznikající malá dceřiná buňka (pupen) spojena kanálkem s mateřskou buňkou, po rozdělení všech organel se oddělí. Před pučením splynou membrány endoplazmatického retikula, které se pak dělí. Opakovaně se dělí vakuoly a dochází ke změně tvaru mitochondrií v dlouze protáhlé. Po počátečním utvoření pupenu do něho vstupují drobné vakuoly a mitochondrie a současně začne mitotické dělení jádra a jeho migrace k pupenu. Do nově vytvořeného pupenu přecházejí také další složky cytoplazmy. Cytoplazmatickou membránou dojde k uzavření kanálku mezi mateřskou a dceřinou buňkou a v pupenu se intenzivně syntetizuje endoplazmatické retikulum. Pučení je ukončeno vytvořením buněčné stěny mezi mateřskou a dceřinou buňkou, vzrůstu velikosti pupenu a spojení drobných vakuol ve vakuolu jedinou. Dorostlá dceřiná buňka od buňky mateřské ihned oddělí, ale v některých případech však buňky zůstanou spojeny i po několikerém dělení a vytvoří tzv. pseudomycelium. Celý cyklus buněčného dělení trvá za optimálních růstových podmínek kolem dvou hodin [1,3].

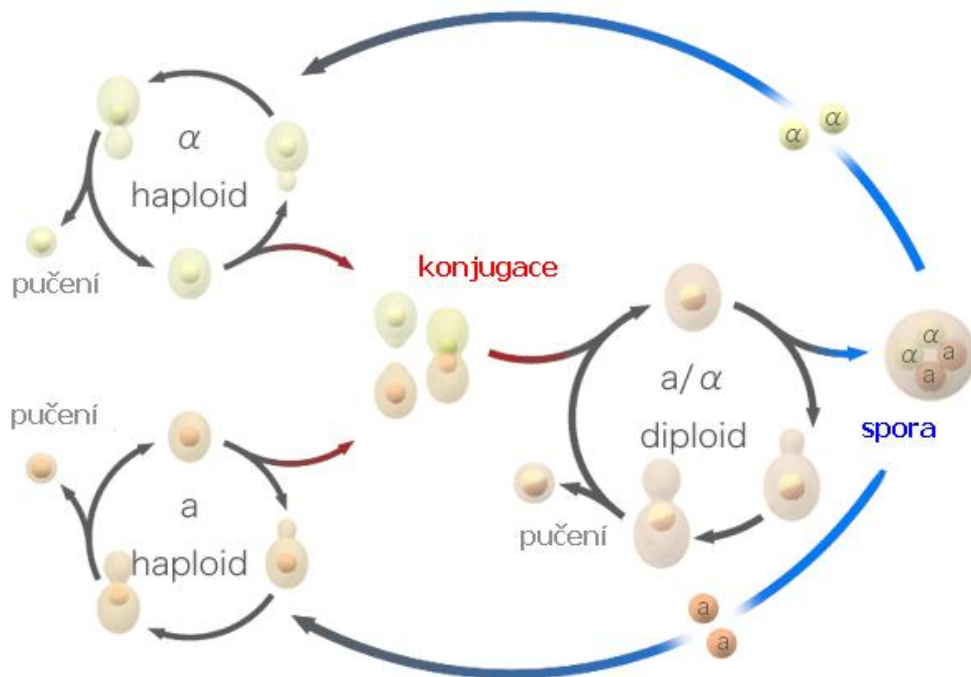


Obr. 3. Pučící kvasinka *Saccharomyces cerevisiae*

1.3.2 Pohlavní rozmnožování kvasinek

U většiny kvasinek je znám i pohlavní způsob rozmnožování. Po redukčním dělení diploidní vegetativní buňky dochází ke spájení dvou haploidních buněk (spor) za vzniku diploidního jádra, tedy zygoty. Zygota se následně dělí meiózou na čtyři haploidní jádra, která jsou buď základem pohlavních spor, nebo se dále dělí miózou a pak teprve vnikají spory. Většinou se

jedná o endospory umístěné v asku (askospory). Mohou vznikat i exospory umístěné vně sporulujících buněk [1,3].



Obr. 4. Životní cyklus kvasinky

1.4 Chemické složení buněčné hmoty kvasinek

Buněčná hmota kvasinek obsahuje 65 až 83 % obj. vody. Obsah vody závisí na druhu kvasinek, stáří buněk a kultivačních podmínkách a také složení sušiny kvasinek závisí na těchto činitelích. Nejvíce analytických údajů o složení sušiny buněk bylo získáno u druhu *Saccharomyces cerevisiae*, který se využívá při výrobě pekařského droždí a piva, a u druhu *Candida utilis*, jenž se používá nejčastěji pro výrobu krmného droždí. Hlavní podíl sušiny kvasinek tvoří bílkoviny (kolem 50 % hm.) a dále glykogen (u *S. cerevisiae* až 30 % hm.). Nukleové kyseliny představují 10 % hm. sušiny, strukturní polysacharidy kolem 5 % hm. a popel kolem 8 % hm. [1,2].

Kvůli poměrně vysokému obsahu nukleových kyselin nemůže buněčná hmota kvasinek nahradit celý požadavek živočišných bílkovin ve výživě člověka, jelikož vysoký obsah RNA a purinů v potravě vede ke vzniku vážného kloubového onemocnění (dna). Maximální denní přípustná dávka RNA v potravě člověka je zhruba 2 g. V současné době se věnuje velká

pozornost odstranění RNA a purinů z tzv. jednobuněčných bílkovin, především kvasinkových [1,7].

Z organických sloučenin mají z nutričního hlediska význam především vitaminy skupiny B (B₁, B₂, B₆) a provitamin D (ergosterol). Na vitaminy skupiny B jsou bohaté především pivovarské kvasnice, které je odčerpávají z mladiny a její hlavní suroviny - sladu. Uvedené vitaminy se v buněčné hmotě kvasinek vyskytují v nízkých koncentracích [1,2].

Z anorganických sloučenin má největší zastoupení oxid fosforečný, jehož obsah v sušině lze do určité míry regulovat složením kultivačního prostředí. Z iontů kovů je v nejvíce zastoupen K⁺, zatímco Mg²⁺, Ca²⁺ a Na⁺ je mnohem méně. Ostatní prvky se vyskytují jen ve zlomcích procenta [1].

2 KVASNICE V PEKÁRENSKÉM PRŮMYSLU

2.1 Droždí a jeho proměny

Člověk používal droždí od pradávna, dávno před vznikem písma. Egypťané ho k pečení chleba využívali již před pěti tisíci lety. Tehdy však ještě nerozuměli procesu kvašení. Tuto chemickou reakci považovali za zázrak. Lidé nejprve připravovali pokrmy na bázi obilovin, kaše nebo placky a ty tvořily základ jejich každodenní stravy [8].

Později zjistili, že pokud těsto ponechají působením kvasinek přítomných ve vzduchu přirozeně zkvasit, placky zvětší objem a získají novou strukturu a vůni. Tak položili základ pečení chleba. Říká se, že k pečení prvního galského a iberského chleba v prvním století našeho letopočtu byla používána pивní sedlina. Šlo v podstatě o kvasnice, které byly při hlavním kvašení piva vyneseny na povrch do pěny. Přidáním kvasnic do těsta lidé dosáhli nejen toho, že těsto rychleji nakynulo, ale také toho, že takto upečený chléb byl kypřejší a chutnější [9].

V roce 1857 Louis Pasteur objevil, že kvašení způsobují živé organismy, kvasinky. Dokázal, že buňky kvasinek mohou žít jak za přístupu vzduchu, tak bez něho. Díky Pasteurovi a jeho objevům bylo rovněž zjištěno, že jsou to právě kvasinky, které přispívají k utváření vůní a chutí chleba [8].

Při zkvašování, což je anaerobní reakce probíhající bez přítomnosti kyslíku, je cukr z velké části přeměněn na alkohol, aniž by docházelo k významnějšímu uvolňování energie. Je to proces, který probíhá při přípravě těsta. Kvasinkám chybí přívod kyslíku. Během metabolického procesu kvašení se cukr obsažený v mouce transformuje na alkohol, který se v průběhu pečení vypaří, a na oxid uhličitý [8,10].

Tvorba oxidu uhličitého má za následek zvětšování objemu těsta. Při kvašení dochází i k uvolňování energie. Té je však tak malé množství, že vystačí jen k přežití kvasinek, nikoli k jejich dalšímu rozmnožování [1,8].

Při aerobní reakci, která probíhá za přítomnosti kyslíku, kvasinky dýchají a hojně se rozmnožují. Nedochozí zde ke tvorbě alkoholu. Cukr, který kvasinky spotřebovávají, se přeměňuje na oxid uhličitý a na vodu. Tento proces je doprovázen uvolňováním velkého množství energie, která kvasinkám umožňuje růst a nepohlavně se rozmnožovat pučením.

Během pučení se na mateřské buňce vytvoří pupen, který se postupně zvětšuje. Jakmile dosáhne dostatečné velikosti, dojde k oddělení obou buněk a může být zahájeno nové pučení. Tento metabolický proces je procesem dýchání. Využívají ho droždě k množení kvasinek [8,10].

Nejznámější kvasinkou je *Saccharomyces cerevisiae*: Její název je odvozen od slova cukr (Saccharo) a od slova houba (Myces). Rod *cerevisiae* znamená v latině „pivní“.

Právě tato kvasinka se používá při pečení chleba. Je totiž výjimečná tím, že dokáže přeměňovat přirozené cukry (např. škrob) přítomné v mouce na alkohol, který se při pečení odpaří, a na oxid uhličitý. A právě tvorba oxidu uhličitého dodává pečivu objem [6].

2.2 Surovina pro výrobu pekařského droždí - melasa

K výrobě pekařského droždí se u nás používá výlučně řepná melasa. Kromě výroby lihu a pekařského droždí nachází melasa použití v zemědělství (přídavek do krmiv) a pro mikrobiální výrobu kyseliny citrónové. Hlavními složkami řepné melasy, která má průměrně sušinu 75-80 % hm., jsou sacharóza (zpravidla 48-50 % hm.), látky jiné než cukry a voda.

Kromě sacharózy je v melase obsaženo vždy menší množství invertního cukru (0,2-2 % hm., u "špatných" melas až 2 % hm.). Dalším cukrem v řepné melase je trisacharid rafinóza (0,5-2 % hm.). Obsah veškerého dusíku v melase se pohybuje v mezích 1,2-1,6 % hm., přičemž z tohoto množství připadá na betainový dusík 40-60 % hm. Betainový dusík není kvasinkami využíván. Obsah popelovin v řepné melase bývá 8-10 % hm. Řepná melasa má mít alkalickou reakci. Kromě řepné melasy, která je běžná ve většině evropských států, se můžeme i u nás setkat s melasou třtinovou [11].

Melasa je odpadní nebo matečný sirup, který zůstává po několikanásobném vykrystalování sacharosy z řepné nebo třtinové šťávy. Její množství na hmotnost řepy činí 2,5 až 4,5 % hm. Běžné melasy mají kvocient čistoty (Q) asi 80 % hm. Velikost kvocientu čistoty melasy závisí na kultivaru, agrotechnice, hnojení a klimatických podmínkách. Pro výrobu pekařského droždí bychom měli vybírat melasy o Q v intervalu 55 až 53 % hm. [10].



Obr. 5. Melasa

2.3 Výroba pekařského droždí

2.3.1 Historie a vývoj výroby pekařského droždí

Výroba pekařského droždí patří mezi klasické biotechnologie [10]. Již v Pliniových spisech se o výrobě chleba hovoří jako o ars pistorice, neboli o pekařském umění. Plinius již znal kvasnice, které nazýval „zhuštěnou pěnou“ při kvašení piva. Tyto kvasnice používali Gallové i Španělé při přípravě chleba. Těsto se původně zakvašovalo kváskem, který se v rodině uchovával v dřízce. Později se pivovarské kvasnice používaly ke kynutí těsta všeobecně. Za starých dob patřily pivovarské kvasnice sládkovi, ale někdy si je vymíňovala vrchnost. Roku 1492 bylo pivovarníkům zapovězeno dávat tovaryšům místo platu kvasnice, aby s nimi pak nemohli obchodovat. Dle instrukcí Petra Voka z roku 1590 byly na pivo, prodej kvasnic a mláta určeny sazby. Smlouvou pekařů a sládků (z konce 18. století) bylo ustanoveno, že „jeden dřež má obsahovat tolik kvasnic, kolik ze dvou sudů piva jich možno vyrobit“. Průměrně to bylo deset mázů, což také byla jednotná, cenu kvasnic udávající míra; ta měla být vždy o čtvrtinu nižší než cena piva. Roku 1771 si stěžovali pekaři pražskému magistrátu, že jim sládkci zdražují kvasnice, ačkoli se smlouvou zavázali, že jim po celý rok budou prodávat štandlík kvasnic po 15 krejcarech a jen v době před vánočními svátky do Nového roku za 21 krejcarů. Ještě kolem roku 1800 byly pivovarské kvasnice a kvásek jedinými kypřidly těsta, ačkoli se název „lisované kvasnice“ vyskytoval již dlouho předtím [12].

Za kolébku výroby droždí z obilí je považováno Holandsko. Důvodem pro tuto domněnku je rázovitý způsob holandské výroby, o které se dočítáme, že byla obvyklá již v roce 1781 a probíhala tak, že se zápara ze

žitného sladového šrotu se zakvasila a ponechala několik hodin v klidu. Když se mláto poněkud usadilo, přepustily se asi 3 / 5 odpočínuté zápary do dvou malých dřevěných kádí umístěných nad hlavní kádí a při kvašení se z nich sbírala pěna, která se prosívala, prala a lisovala, kdežto zbylá tekutina se pak vypustila do hlavní kádě, aby se prokvasila. Tato výroba přešla z Holandska do Německa, kde se draze prodávala, avšak brzy byla vytlačena modernějšími metodami [12]. Roku 1810 vyráběl Tebbenhof kvasnice podle holandského způsobu a prodával je nejprve tekuté, později lisované. Dalším výrobkem vznikajícím při této výrobě byl kvalitní obilný destilát [10,12].

Na lisování se v roce 1825 začal používat pákový lis. Prosévání a praní kvasnic bylo velmi primitivní, a proto byla jakost zboží velmi špatná. Přesto se však zdůrazňovala přednost obilných kvasnic pro bílé pečivo před kvasnicemi pivními. V roce 1831 byla založena pozdější největší německá továrna na droždí Chr. H. Helbinga ve Wandsbecku. Kolem roku 1840 vyšla kniha prof. Dr. Otta, v níž jsou sice uvedeny zastaralé názory o kvašení, ale která přesto z hlediska výrobní metody znamenala pokrok [12].

V první polovině 19. století se pracovalo na výrobě lisovaného droždí také v Rakousku. Pivovarníci začali při výrobě piva používat spodní kvasnice, ale ty se již nehodily pro pekaře. Ti museli kupovat droždí obilné lisované. Vídeňské pekařství potřebovalo pomoc, a tak na výrobu kvasnic byla vypsána soutěž. První cenu obdržel A. D. Mautner, narozený roku 1801 ve Smiřicích v Čechách [12]. „Vídeňský“ nebo „Mautnerův“ způsob využíval původně jako surovinu mletou kukuřici, která se vařila se slabou kyselinou a ke zcukřování se přidávaly stejné podíly mletého žitného šrotu a mletého sladu. Po zcukření se zápara zaočkovala mléčnými bakteriemi spolu s kvasinkami. V období intenzivního kvašení se vytvářelo hodně pěny obsahující kvasinky, které se sbíraly, byly zbavovány slupek a filtrovány na kalolisech. Z prokvašené zápary se vyráběl destilací aromatický destilát. Tento způsob se postupně zlepšoval: odstraňování obilných pluch jako součást přípravy zápary, chlazení droždí, lisování a konečně i jeho formování [10,12].

U nás byl vídeňský způsob brzy nahrazen progresivnějším způsobem větracím. Výsledky prací L. Pasteura byly rychle převáděny do praxe, a tak již v roce 1889 byla zavedena první výroba droždí větracím způsobem. V první fázi se používala jako surovina kukuřice. Vzhledem k intenzivnějšímu větrání a snaze zvýšit výtěžky droždí se přistoupilo k silnému zředování zápar. Melasa byla poprvé použita v roce 1895 (v drožd'árně v Teplicích) a tím se přešlo na sacharidickou surovinu, která se používá dodnes [10].

Radikální změnou při oddělování kvasinek od zápary bylo zavedení odstředivek (1904). Současně s nimi byly zavedeny kalové separátory pro přípravu melasových zápar. Studium fyziologických vlastností kvasinek při jednorázových způsobech se došlo již v roce 1912

k prvním návrhům přítokových způsobů. Melasové medium se dávkovalo tak, aby neustále vytvářené podmínky složení média byly optimální pro rozmnožování kvasinek a pro jejich vlastnosti. V 50. letech se objevují návrhy na semikontinuální a kontinuální způsoby, které se však neujaly kvůli obtížnosti udržet dlouhodobě aseptické podmínky [10].

Snahy o sušení droždí jsou známy již z konce 19. století. Po roce 1920 se postupně způsob propracovává a během druhé světové války se velké množství sušeného aktivního droždí vyrobilo v Austrálii a v USA [13].

2.3.2 Hodnocení a kvalitativní ukazatele droždí

2.3.2.1 Fyzikálně chemické vlastnosti droždí

Mezi fyzikálně chemické vlastnosti droždí řadíme vůni, barvu, vzhled, chuť, rozplývavost, elektrickou vodivost a konzistenci droždí [10].

Vůně droždí se stanovuje u čerstvě rozkrojeného hranolku lisovaného droždí. Má být typicky drožděová s případnou vůní po ethylacetátu. Vůně po esterech není na závadu, svědčí o silnějším větrání a obvykle se vyznačuje i dobrou trvanlivostí. Vůně po alkoholu bývá nepříznivým znakem (nižší trvanlivost). Nepříznivé jsou i pachy po mastných kyselinách, amoniaku, pach po odpěňovacím tuku či po sirovodíku [14].

Barva má být stálá a světlá. Tmavá barva je znakem špatného fyziologického stavu způsobeného např. poruchami ve výrobě. Zhoršení fyziologického stavu a tím i barvy a dalších jiných faktorů může způsobit např. nesprávné dávkování živin, vyšší hodnota pH nebo přítomnost kontaminujících mikroorganismů [14].

Vzhled droždí se zkoumá při rozlomení hranolku droždí na dvě části, kdy se pozoruje lom a konzistence droždí. Pružné droždí nezanechává žádnou nebo jen slabou stopu po stlačení postranní strany hranolku prstem. Lom droždí má být rovný, hladký nebo podlouhle oblý [10].

Dobré čerstvé droždí nemá zvláštní charakteristickou chuť. Špatně vyprané droždí má často nakyslou a nahořklou chuť, podobně i droždí kontaminované. Hnilobnou chuť má droždí již na počátku autolyzačního pochodu. Palčivá chuť bývá často způsobena oxidem uhličitým [10,14].

Rozplývavost droždí se testuje při chuťové zkoušce. Požadavkem je dobrá rozplývavost na jazyku, nemají se tvořit hrudky nebo krupičky [10].

Vylučováním elektrolytů do prostředí se projevuje u kvasinek narušení buněčné stěny nebo plasmatické membrány a to hlavně účinkem autolýzy. Tento jev se dá dobře hodnotit měřením elektrické vodivosti v suspenzi droždí s vodou. Měření se musí provádět za standardních podmínek [14].

Konzistence lisovaného droždí závisí na mnoha faktorech, např. na obsahu mimobuněčné vody. Tuto vlastnost lze měřit např. viskozimetrem na standardně připravené suspenzi kvasinek. Pro stanovení veličin spojených částečně s konzistencí lisovaného droždí lze použít např. některých penetračních zkoušek, kterými se hodnotí doba průniku standardizovaného předmětu (např. kužele) do materiálu [10,14].

2.3.2.2 Chemický rozbor droždí

Při chemickém rozboru lisovaného droždí zjišťujeme především obsah sušiny, popela, celkového dusíku, arsenu, těžkých kovů, dále se provádí např. stanovení fosforu, jiných kationtů, popř. aniontů, ergosterolu, nukleových kyselin, lipidů, glykogenu a vitaminů [10]

2.3.2.3 Biochemické zkoušky

Pro hodnocení aktivity pekařského droždí je důležité časté sledování některých dílčích enzymových aktivit, které mají vztah k technologické aktivitě kvasinek. Jedná se o stanovení aktivity α -glukosidasy, resp. maltasy, aktivity maltosového transportního systému (α -glukosidpermeasová aktivita), aktivity β -fruktosidasy, aktivity jednotlivých enzymů EMP cyklu, resp. celkové aktivity vyjádřené např. rychlostí tvorby CO_2 . Rychlost tvorby CO_2 je tzv. mohutnost kynutí v těstě [10,14].

2.3.2.4 Zkoušky jakosti z hlediska pekárenského

Stanovení mohutnosti kynutí v těstě

Mohutnost kynutí je vyjádřena dobou, za kterou těsto za definovaných podmínek dosáhne určitého objemu. Doba kynutí se udává v minutách a počátek měření se počítá od doby přidání kvasinek. Čas potřebný k prvnímu dosažení daného objemu je tzv. první doba kynutí. Po vypuzení CO_2 z těsta se stejným způsobem měří další doby kynutí. První doba kynutí by neměla být delší jak 90 minut [10,14].

Kvasivost droždí v těstě

Při této metodě se stanovuje buď objem vzniklého CO₂ za konstantního tlaku nebo tlak CO₂ při stejném objemu. Těsto připravované za účelem stanovení kvasivosti je méně viskózní než v případě stanovení mohutnosti kynutí, aby došlo k uvolnění CO₂ do prostoru mimo těsto. Pro pekařské účely je zkouška kvasivosti důležitější než stanovení mohutnosti kynutí, protože nepřímo zahrnuje i proteolytické vlastnosti kvasinek [6,10].

Trvanlivost droždí

Je důležitá vlastnost určující i skladovatelnost droždí. Je to doba, po kterou droždí vydrží v dobrém stavu, aniž by se zkazilo (zmazovatění, ztekutění). Lisované droždí můžeme dlouho uchovávat v dobře větraných místnostech při teplotě 0-10 °C. Droždí v liberce (balíček droždí o hmotnosti 0,5 kg) by mělo mít při teplotě skladování 20-22 °C trvanlivost 3-4 týdny. Stanovení trvanlivosti se provádí v malém hranolku droždí zabaleném do papíru a vloženém na Petriho misku. Trvanlivost se odečte při změknutí droždí. Přítomná kontaminace značně snižuje trvanlivost [10].

2.3.2.5 Mikrobiologické zkoušky

Na pekařském droždí se nesmí vyskytovat plísně ani jejich kolonie. Počet kontaminujících kvasinek se hodnotí při nevyhovující zkoušce mohutnosti kynutí v těstě. Droždí a výrobky z něj nesmí obsahovat patogenní, podmíněně patogenní mikroorganismy a mikrobiální toxiny. Při běžné laboratorní kontrole je důležité hodnocení mikrobiologického vzhledu buněk, zastoupení mrtvých buněk, kontaminace a aglutinace [10].

2.3.3 Jednotlivé kroky při výrobě pekařského droždí

Je samozřejmé, že u jednotlivých závodů najdeme odlišnosti ve výrobě droždí, ale v principu jsou všechny kroky zachovány [15].

2.3.3.1 *Laboratorní propagace*

Základem výroby kvalitního pekařského droždí je čistá kultura kvasinek, která musí být neustále v dobrém fyziologickém stavu a naprosto čistá, tj. bez jiných mikroorganismů. Laboratorní propagace připraví pro další stupně kolem 0,5-1 kg vlhkých kvasinek. Toto množství se však nevyrobí v laboratoři v jednom stupni, nýbrž se kultivace provádí postupně v propagačním poměru 1:5. Kvasinky se mezi jednotlivými stupni neseperují. Veškerá kultivace probíhá většinou v anaerobních podmínkách v poměrně koncentrovaných mediích. Obvykle se v laboratoři připravuje paralelně 2 a více kmenů, ze kterých se v konečném stupni připraví směsná kultura [8,14].

Kultury kvasinek se uchovávají běžným způsobem, především je však třeba dbát instrukcí laboratoří a ústavů, které připravily nové kmeny. Běžným zjevem je degenerace kultury, což se projeví změnou jejích vlastností, především jde o ztrátu mohutnosti kynutí, snížení výtěžnosti aj. Proto je důležité, aby kultura byla v pravidelných intervalech laboratorně testována [10]. Kultura se obvykle uchovává ve zkumavkách se sladivým agarem a převrstvena parafinovým olejem. Nebo se používá lyofilizace (odpařování vody ze zmrazeného materiálu ve vakuu) pro uchovávání kvasinkových kultur. Je to metoda poněkud nákladnější a kultury se při ní uchovávají za nízkých teplot, až $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ [8].

V laboratoři se pro propagaci kvasinek používají různé převážně tekuté půdy polosyntetické a přirozené. Čistou kulturu je nutno kultivovat v několika stupních, aby bylo možno zakvasit první propagační nádobu v provozu. Jako kultivačních nádob je možno použít klasických skleněných baněk nebo Erlenmeyerových baněk o objemu 50, 100, 500, 2500 a 5000 ml. Největší propagační nádobou je Karlsbergská baňka o objemu kolem 15 litrů [10].

V prvním stadiu se používá většího počtu baněk, ze kterých se pro použití vyberou ty nejlepší. Kultivace při laboratorní přípravě kultury je anaerobní, doba kvašení se pohybuje od 24 do 48 hodin a teplota kultivace se pohybuje od 25 do 30 $^{\circ}\text{C}$. Velkou pozornost je třeba věnovat výběru baněk. Po přezkoušení všech baněk se jich část vyloučí a vybrané baňky se použijí k zakvašení stejného počtu větších baněk. U větších baněk se nepřevádí celý kapalný objem, ale po sedimentaci kvasinek se slije vrchní kapalný podíl a sediment se převede po rozmíchání do dalšího stupně. Ve všech stadiích laboratorní propagace se udržuje dostatečně veliký počet čistých kultur z důvodu provozní jistoty. Poslední stupeň -- Karlsbergská

baňka tvoří přechod k provozní propagaci. Účinnost laboratorní propagace se vyjadřuje množstvím naprodukovaných kvasinek v jednotlivých stádiích [10,15].

2.3.3.2 Příprava kultivačního média

Jednou z hlavních technologických operací v drožd'árnách je příprava kultivačního média - zápary. K přípravě této zápary se používá nejvíce melasa, řepná i třtinová [10].

Kvalitní příprava zápary závisí na dobrém průběhu drožd'ářského kvašení. Z melasové zápary musí být odstraněny suspendované a nerozpuštěné látky, látky koloidní, části barviv a mikrobiální kontaminace. Poté se zápara doplní potřebnými živinami a upraví se na konečnou koncentraci, kyselost, případně teplotu. Základními operacemi při přípravě melasové zápary jsou číření melasy, pasterace nebo sterilace zápar, doplňování živin, okyselování a úprava koncentrace. Kvalita melasy se při drožd'ářské výrobě projeví daleko víc než při výrobě ethanolu. Příprava melasy se provádí zpravidla ve zvláštní místnosti – varně, jejíž zařízení závisí na tom, který způsob úpravy melasy se používá. Před přípravou melasové zápary je nutné melasu zvážit nebo změřit objem melasy. Čím přesněji známe množství melasy, tím lépe můžeme regulovat a řídit proces fermentace [14]. Postupy úpravy melasového media můžeme rozdělit na několik typů, které se mohou navzájem slučovat [10]:

- termická úprava (pasterace, sterilace)
- fyzikálně-chemická metoda úpravy (změna pH)
- chemické metody (přidávky látek, které zlepšují vysrážení melasy nebo se srážejí samy a pak působí jako adsorbent)
- mechanické způsoby (míchání a provětrávání zápary)

V principu je příprava zápary diskontinuální a kontinuální. Kontinuální postupy se již nepoužívají z důvodu časté kontaminace mikroorganismy [10].

Diskontinuální způsoby přípravy melasové zápary

Ve varně bývá umístěno několik varných kádí o objemu 15 až 35 m³, melasové kalové odstředivky, chladiče zápary, zřed'ovací kád', popř. též deskové sterilátory. Varné kádě jsou vyráběny z nerezavějící oceli, jsou opatřeny míchadlem, přívodem vzduchu a vnitřním vyhříváním. Pro posouzení a výběr způsobu číření je třeba provést v laboratoři tzv. čířící zkoušku [6].

Optimální pH pro srážení koloidních látek je 3,2 - 4. Tvorba koloidních látek v melasové záparaře při nižším pH začíná již při ohřevu na 50 °C a za optimální teplotu se pokládá 80 °C [10].

Kalové odstředivky se používaly při kontinuálním způsobu přípravy melasové zápary. Ale lze je použít i při diskontinuální výrobě při vaření melasové zápary ve vramých kádích. Odstředování je však kontinuální proces. Ve skupině diskontinuálních způsobů přípravy zápar jsou nejdůležitější chemické způsoby číření [10].

Mezi nejběžnější způsoby patří kyselé číření melasy za tepla. Použití zředěné kyseliny sírové a superfosfátu je důležité, jelikož vznikající sulfát napomáhá číření. Kapalina se míchá a zahřívá na 85 °C. Superfosfát se přidává jen do horké a míchané zápary. Po dosažení požadované teploty se míchání zastaví a vločky bílkovin a barviv začnou sedimentovat, což trvá přibližně 5-7 hodin. Pokud kaly špatně sedimentují, lze přidat 0,1 % hm. vápna, které podpoří koagulaci látek a rychlejší usazování kalů [10,16].

Dalším způsobem je kyselé číření za studena, které se využívá pouze u zdravé melasy. Ušetří se při něm pára, ale zvýší se spotřeba kyseliny. Usazování kalů trvá delší dobu [10,16].

Další, dnes už nepoužívaný způsob je alkalické číření za tepla. Využíval se u kyselých a těžko zkvasitelných zápar – melas. Probíhal velmi rychle [10,16].

Mezi jiné způsoby číření patří číření hydroxidem hlinitým. Částečně naředěná melasa má 70 °Bg a celý proces probíhá za tepla [10,16].

Číření vadných melas probíhá za studena a volí se způsob absorpce na materiály, které váží barviva [10,16].

2.3.3.3 Požadavky na vodu, vzduch, živiny a pomocné látky při výrobě droždí

Požadavky na vodu

V každém odvětví potravinářského průmyslu je kladen velký důraz na kvalitu používané vody. Vyžaduje se voda, zejména po mikrobiologické a chemické stránce, zdravotně nezávadná. Tedy voda pitná. Z hlediska droždářského procesu jsou nevhodnější vody karbo-nátové, jelikož pozitivně ovlivňují pufrční vlastnosti zápar. Vody s příliš vysokým obsahem síranových iontů jsou nevhodné, jelikož tyto ionty způsobují degeneraci kvasinek. Voda vhodná pro výrobu droždí by měla obsahovat dostatek hořčíku (do 125 mg/l). Pokud tomu tak není, je nutné vodu tímto prvkem doplnit. Celková spotřeba vody na výrobu 1 kg lisovaného droždí činí kolem 50-100 litrů. Toto široké rozmezí je dáno technologií, jejím dodržováním nebo technickým stavem závodu. Největší spotřeba vody je při chlazení kvasných

tanků (37 % hm.) a při přípravě melasové zápary (29 % hm.). Při výrobě páry se spotřebuje 12 % hm. vody, při praní kvasnic a chlazení v destilační části 7 % hm. vody, dalších 5 % hm. na sanitaci a 3 % hm. na chlazení kvasnic (kompresory). Tyto hodnoty jsou pouze orientační a mohou se v jednotlivých závodech lišit [10,16].

Požadavky na vzduch

Pro dobrý chod každého závodu je velmi důležitá mikrobiologická čistota vzduchu. Využití vzduchu v drožd'árnách je velmi rozmanité. Je nepostradatelný např. při větrání a homogenizaci zápar, míchání kvasničného mléka nebo ve vzduchotechnice. K čištění vzduchu slouží ultrafiltrační technika, což je systém několika výkonných filtrů. Na 1 kg lisovaných kvasnic se spotřeba vzduchu pohybuje mezi 6-18 m³ [10,16].

Požadavky na živiny a pomocné látky

Živné prostředí se v drožd'ářství doplňuje jednak látkami dusíkatými, ale také fosforečnými, případně stopovými prvky a růstovými faktory. Jako zdroje dusíku se využívají síran amonný, hydrogenfosforečnan amonný, chlorid amonný, amoniak nebo močovina. Důležitý pro růst kvasinek je biotin. Jeho optimální hodnota v melase by měla být 30 µg na 100 g substrátu. Ve skutečnosti ho však melasa obsahuje 5µg na 100 g, a proto musíme tento rozdíl dorovnat. Vhodné je přidat i thiamin, ale většinou se jiné látky běžně nepřidávají. Mezi pomocné látky řadíme kyselinu sírovou, hydroxid sodný, uhličitan sodný, dezinfekční a odpěňovací přípravky. Poslední zmíněné jsou velmi důležitou součástí fermentačního procesu, jelikož zabraňují pění nebo pěnu sráží [10,16].

2.3.3.4 Provozní propagace kvasinek

V tomto kroku je cílem dosáhnout dalšího zvětšení množství aktivních kvasinek v dobrém fyziologickém stavu bez kontaminujících mikroorganismů. V provozní propagaci se používá melasová zápara, která je vyčeřená, vysterilizovaná, připravená ve varně. Karlsbergská baňka je posledním stupněm při laboratorní přípravě kultury a zároveň prvním stupněm představujícím přechod k provozní propagaci. Další propagační stupně bývají 2-4, při propagačním poměru 1:3 – 1:5. Pomnožování kultury nyní neprobíhá pouze anaerobně, ale mírným větráním se uplatňuje vliv kyslíku. Sestava fermentorů se nazývá propagační stanice a jednotlivé nádoby jsou propojeny tak, aby se substrát z menších nádob dal přehnat nebo přečerpat do většího stupně. Musí probíhat kontrola kvašení, při které se u vzorků sleduje

sacharizace, pH, mikroskopický obraz nebo přírůstek kvasinek. Nežádoucí jsou degenerace kultury a kontaminace mikroorganismy [10].

2.3.3.5 Předkvas

Předkvas je další propagační stupeň. Může se pracovat i se dvěma předkvasy (I a II). Zakváší se zákvasem z posledního stupně propagačního válce v propagačním poměru 1:4 až 1:6. Velikost předkvasných kádí je 2,5-20 m³ a k jejich plnění se používá čistá melasová zápara o koncentraci 6-14 °Bg. Hodnota pH zápary činí 3,8-4,2, teplota se pohybuje mezi 24-30 °C a větrání představuje asi 10 % maxima. Doba kultivace je 8-14 hodin [10].

2.3.3.6 Výroba násadního droždí

Výrobou násadního droždí připravujeme potřebné množství kvasinek pro přípravu expedičního droždí. Pracuje se přítokovým způsobem, kdy se postupně zvyšuje koncentrace média. Optimalizace přítokového systému téměř eliminuje obsah ethanolu v médiu. Po získání určitého množství kvasinek je kultivace ukončena. Pro dosažení trvanlivosti droždí je nutné postupně snižovat obsah bílkovin, a to snížením živin N a P. Při výrobě lisovaného droždí se musí snížit též obsah zásobních látek, především glykogenu. Vyšší větrání v posledních stupních výroby vede ke stabilizaci produktu a k využití ethanolu. Zvyšuje se koncentrace biomasy v zápare na 50 kg sušiny kvasnic na 1 m³ zápary a to je konečná koncentrace. Zápary po kultivaci násadních droždí se odstředí a tím získáme kvasničné mléko, které se krátkodobě skladuje při teplotě 4 °C. Násadní droždí se nelisuje, jelikož jeho trvanlivost je krátká. U první generace by mělo být použito do tří dnů od vyrobení, u druhé generace do pěti dnů. Násadní droždí se používá pro výrobu droždí expedičního [8,10].

2.3.3.7 Výroba expedičního droždí

Koncentrace zápary může být různá, jelikož dochází k jejímu ředění vodou v poměru 1:40 až 1:60. Koncentrace ethanolu nesmí stoupnout nad 0,5 % obj. Na začátku výroby se k základní dávce koncentrované melasy (40 °Bg) přidá veškerý objem vody. Teplota činí 30° C, ale ke konci kvašení může poklesnout až na 25 °C. Hodnota pH se pohybuje od 3,8 do 4,8 a ke konci kvašení je možno nechat pH samovolně vystoupat na hodnotu 6 s cílem snížení barevnosti droždí. Zápary pro výrobu expedičního droždí se zakváší 15 až 30 % hm. násadního droždí počítáno na melasu použitou k přípravě zápary. Násadní droždí se skladu-

je ve formě kvasničného mléka a před vlastním použitím se preparuje 0,1-0,4 % obj. roztokem kyseliny sírové. První fáze kultivace se nazývá rozkvášení, probíhá při slabém větrání po dobu 1-4 hodin. Hlavní fáze kultivace je charakteristická přiživováním substrátu a trvá 6-12 hodin. Poslední fází je dozrávání kvasinek namnožených během hlavního kvašení. Během této fáze se zastaví přívod živin a sníží větrání a kvasinky přecházejí do klidové formy. Celý pochod trvá 1-3 hodiny, během kterých dochází k oddělení dceřiných buněk (kvasinky voní po esterech) [10].

2.3.3.8 Oddělování kvasinek od zápary

Tento proces probíhá na odstředivkách a separátorech. Odstředivky mají vysokou frekvenci otáčení a při vysokém výkonu lze droždí po skončení kvašení rychle zbavit média. Z tohoto důvodu je nutno droždí ve formě kvasničného mléka jednou až dvakrát proprat a znovu odstředit. Kvalitně vyprané droždí má světlejší barvu a bývá trvanlivější [6,10].

2.3.3.9 Zchlazování a filtrace kvasničného mléka

Kvasničné mléko se musí rychle zchladit na 2-6 °C, protože při dalších operacích jako je lisování, filtrace nebo formování dochází ke zvyšování teploty. Chlazením se také zajišťuje delší trvanlivost hotového výrobku. Kvasničné mléko se odstředí, a pak se shromažďuje ve sběrných nádobách opatřených míchadlem a chlazením. Odtud směřuje k lisování nebo filtraci. Ze zředěného kvasničného mléka se vakuovým filtrem získává kvasničná biomasa. Dostaneme vlhké droždí (min. 25 % hm.), které se lisuje [10].

2.3.3.10 Úprava a expedice lisovaného droždí

Konečnou fází výroby pekařského droždí je jeho formování, balení a expedice. Pro běžné spotřebitele se vyrábějí balení lisovaného droždí nejčastěji o hmotnosti 42 g. Je kladen důraz na obalový materiál a techniku balení, jelikož špatný obalový materiál droždí znehodnotí vlivem působení vzduchu. Při homogenizaci se přidává do droždí emulgátor (např. lecithin) k docílení lepší barvy droždí. Formování droždí do tvaru liberek se provádí automaticky na tzv. liberkočkáčích. Liberky jsou dále baleny do speciálního papíru, a tím jsou připraveny k expedici. Droždí, které během dopravy namrzne, se musí nechat rozmraz-

nout při teplotě kolem 10 °C, poté se osuší na povrchu a nakonec uloží do skladu [6,10,16].

2.3.4 Různé formy droždí

2.3.4.1 *Droždí pro domácnosti*

Pro domácnosti je vhodné droždí čerstvé a instantní. Čerstvé je formováno do kostiček o hmotnosti 42 g a má světlou barvu. Instantní droždí není nutné před přidáním mouky hydratovat. Jemné krystalky instantního droždí jsou baleny v 10 g sáčcích a jeho použití je velmi snadné. Obě formy jsou vhodné pro všechny druhy kynutých těst a nacházejí uplatnění i při pečení v domácích pekárnách. Mezi jejich přednosti patří vysoká dostupnost v maloobchodní síti, dlouhá záruční doba, přijatelná cena. Jsou vhodné pro bezlepkovou dietu [8,9].

2.3.4.2 *Droždí pro pekaře*

Na trhu je hned několik forem pekařského droždí. Používání se v jednotlivých zemích různí v závislosti na tamější tradici a prostředí. Čerstvé droždí je častěji používáno v zemích s dobře vyvinutou dopravní infrastrukturou, která umožňuje logistickou přepravu zboží v chlazených vozech. Dehydratované droždí, které lépe odolává náročnějším klimatickým podmínkám, se osvědčuje v zemích Afriky, Asie nebo Středního východu. Granulované, tekuté nebo mražené droždí se zase dobře přizpůsobuje různým výrobním postupům.[8,9,17]



Obr. 6. Čerstvé lisované droždí

3 KVASNICE V PIVOVARNICKÉM PRŮMYSLU

3.1 Historie a vývoj výroby piva

Výroba piva je tak složitý proces, že často se zdá být překvapující, jak mohl být vůbec vymyšlen. Přesto se tak stalo již velmi dávno [18].

Pivo je jedním z nejstarších produktů civilizace. Historici se domnívají, že bylo již vyráběno ve starobylém Sumeru a Mezopotámii 10 000 let před naším letopočtem. Na kamenných tabulkách nalezených v roce 1981 je uveden popis piva vyráběného v Babylonu již 6000 let před naším letopočtem. Pivo bylo rovněž vyráběno ve staré Číně a Americe, kde místo ječmene byla používána kukuřice. Rovněž staří Britové vyráběli pivo z pšeničného sladu, dříve než Římané zavedli slad z ječmene [19].

Hlavní surovinou při výrobě piva je právě ječmen, který existoval již nejméně 3000 let před naším letopočtem. V chladnějších klimatických podmínkách se ječmeni dařilo lépe než vinné révě, proto v severních oblastech Německa a Anglie se místo vína vyrábělo pivo, které tyto oblasti proslavilo. Výroba piva byla velmi důležitá a v Novém Světě pivo představovalo jednu z hlavních složek potravy Otců poutníků - prvních přistěhovalců z Evropy [19].

Až do 1400 tvořily hlavní složky lehkého piva "ale" slad z ječmene, voda a kvasinky. Pro zvýšení údržnosti a ochucení se přidával rozmarýn a tymián. Pivo bylo kalné, obsahovalo mnoho bílkovin a sacharidů a představovalo proto významnou složku výživy chudých zemědělců i šlechty [20].

Přibližně v 15. století vznikl nový druh piva. Obchodníci z Flander a Holandska počali při výrobě používat chmel, což dodalo pivu příjemnou hořkost. Chmelené druhy byly nazývány "beer" a nechmelené "ale". Chmelení se osvědčilo a stalo se tak populární, že od osmnáctého století bylo již všechno vyráběné pivo chmeleno [19].

Ve středověku se mniši v Evropě zabývali mimo jiné nejen literaturou a vědou, ale rovněž rozvíjeli umění vařit pivo. Podstatně zlepšili celý výrobní proces a zavedli široké užívání chmele pro zlepšení chuti a trvanlivosti. K nejdůležitějšímu pokroku ve vývoji však došlo až na základě poznatků Louise Pasteura. Do té doby totiž kvašení zajišťovaly divoké kvasinky s různými účinky. Zjištěním, že kvasinky jsou živé mikroorganismy, otevřel Pasteur cestu pro přesné řízení přeměny sacharidů na alkohol [20].

V současné době se používají různé postupy podle typu vyráběného piva, avšak v zásadě se využívají pouze dva typy kvasinek, *Saccharomyces cerevisiae* a obdobný kmen *Saccharomyces Carlsbergensis*. Kvasinky *S. cerevisiae* se používají pro "vrchní kvašení" a udržují se na hladině sladiny. Uplatňují se při výrobě tmavších druhů piva, jako je anglický "Bitter", zatím co kontinentální piva ležákového typu jsou vyráběna s použitím *S. carlsbergensis*, což jsou kvasinky spodního kvašení [20].

V Evropě se nyní vyrábí mnoho různých druhů piva, především v Belgii, Holandsku a Německu. K výrobě některých speciálních druhů se používají divoké kvasinky a tato piva jsou někdy ochucena třešňovou nebo malinovou šťávou. Módní "bílé pivo" je vyráběno z pšenice a ochuceno koriandrem a pomerančovými slupkami [21].

Historie výroby piva je velmi zajímavá. Od zajištění tekuté výživy pro mnichy v postním období až po utišení žízně zlatokopů v Kalifornii, po staletí se vyráběly různé druhy piva [21]:

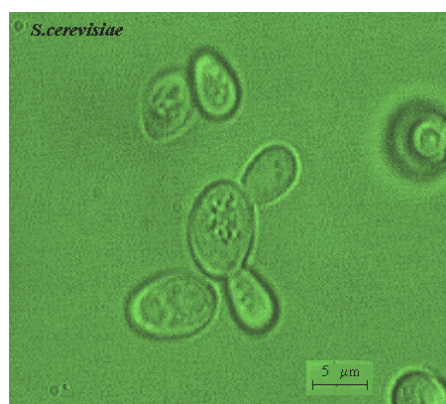
- a) Abbey Ale: Toto silné pivo tradičně vyráběli mniši v belgických opatstvích jako "tekutý chléb" v postním období.
- b) Steam Beer: Pivo bylo poprvé vyráběno v Kalifornii koncem 19. století v období zlaté horečky. Používá se hybridní kvašení - spodní kvašení při teplotách vhodných pro vrchní kvašení.
- c) Bock: Velmi silný ležák, který se tradičně vyrábí v zimě na oslavu přicházejícího jara.
- d) Double Bock nebo Dopplebock: Toto pivo původně vyráběli italští mniši řady svatého Františka v Bavorsku, v postním období.
- e) Indian Pale Ale: Pivo vyráběné v Anglii pro britská vojska umístěná v 18. století v Indii. Bylo silně prokvašeno, aby vydrželo přepravu z Anglie do Indie, která někdy trvala až šest měsíců.
- f) Porter: Poprvé bylo vyrobeno panem Harwoodem v Londýně roku 1722. Účelem bylo nahradit populární směs různých druhů piva. Bylo nazýváno "pocivé" a označováno jako "bohatší a výživnější než ale" a určeno pro nosiče a těžce pracující dělníky, aby jim dodávalo sílu k práci.



Obr. 7. Vaření piva ve středověku

3.2 Pivovarské kvasinky

Pivovarské kvasinky jsou jednobuněčné organismy, které mají schopnost přeměňovat zkvašitelné cukry na ethanol a oxid uhličitý. Kromě těchto hlavních produktů metabolismu vytvářejí i řadu vedlejších metabolitů jako jsou estery, vyšší alkoholy a kyseliny, které se významnou měrou podílejí na utváření sensorických vlastností piva [5].



Obr. 8. Pivovarské kvasinky

Podle oficiální taxonomie nejsou jednoznačně odlišovány kvasinky pivovarské od divokých. Proto existuje několik používaných taxonomických variant. Nejvhodnější označení pro druh spodních pivovarských kvasinek je *Saccharomyces cerevisiae subsp. uvarum carlsbergensis* a pro svrchní pivovarské kvasinky *Saccharomyces cerevisiae subsp. cerevisiae* [22]. Spodní pivovarské kvasinky úplně zkvašují rafinózu, sedimentují na dno nádob, mají nižší termorezistenci a malou schopnost sporulace. Kvasinky vrchního kvašení zkvašují 1/3 rafinózy, jsou vynášeny na povrch, mají vyšší termorezistenci a vyšší schopnost sporulace [3].

Historie pivovarské výroby byla až do vynálezu chlazení v polovině 19. století výhradně spojena s kvasinkami svrchního kvašení. V současnosti jsou používány oba základní druhy a poskytují odlišné typy piv. Svrchní kvasinky slouží hlavně pro výrobu piva typů „ale“, „porter“, „stout“ a spodní pro piva plzeňského typu [22].

V provozní praxi se hmota z pivovarských kvasinek nazývá kvasnice [23]. Je všeobecně známo, jak velký vliv mají na průběh kvašení a konečnou jakost piva dobré kvasnice. Zejména chuť a trvanlivost piva je ovlivněna specifickými vlastnostmi použitých kvasnic, a proto skoro každý pivovar má svůj vyzkoušený typ nebo několik typů, které jen velmi zřídka mění. Výběru kvasnic je třeba věnovat velkou péči, zvláště při výměně dosud používaného typu kvasnic za typ jiný. Při opětovném nasazení kvasnic z vlastního provozu je třeba sledovat, jak prokvašovaly při posledním nasazení a jaký je jejich fyziologický stav [24].

3.2.1 Propagace a uchovávání kvasinek

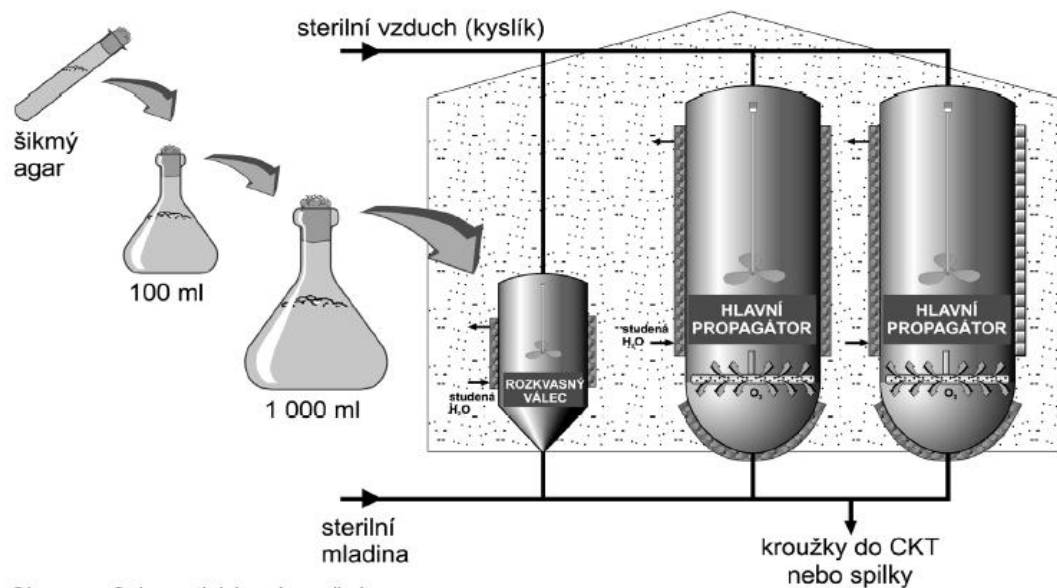
Propagace spočívá v přípravě kultury násadních kvasnic, které by měly být prakticky čisté a neinfikované divokými kvasinkami, tyčinkovitými mléčnými bakteriemi a pediokoky nebo jinými škodlivými mikroorganismy. Předpokladem je dobrý fyziologický stav kvasnic s převážnou částí zdravých a mladých buněk a jen s nepatrným podílem buněk mrtvých. Kvasnice musí mít také dobrou vitalitu, aby začaly kvasit ihned po nasazení a prokvašovaly stejnoměrně v požadované době. Stupeň prokvašení musí odpovídat požadavkům technologického postupu každého jednotlivého závodu. Kvasnice mají dokvašovat v ležáckém sklepě s dostatečnou intenzitou a dobře se sázet, aby byla usnadněna filtrace. Dobré kvasnice si udrží své charakteristické vlastnosti delší dobu, takže mohou být bez provozních potíží několikrát za sebou nasazeny. Výběr a posouzení kvasnic podle těchto hledisek není snadný, zvláště

když se uváží, že prokvašení v praxi nezávisí pouze na typu kvasnic, nýbrž i na jiných vlivech, zejména na složení mladiny, velikosti kádí, způsobu zakvašování a provzdušnění nebo teplotě během kvašení [25].

Čistá kultura se připraví izolací jediné buňky, ale nejčastěji z kvasnic, které se již osvědčily v provozu. Vzorek se odebírá z kádě v době nejbujnějšího kvašení. V tomto období jsou u povrchu zdravé a silné buňky, prakticky bez cizích mikroorganismů. Při použití kvasnic provozně ještě nevyzkoušených je výběr obtížnější. Kvasnice se nejdříve rozkvasí v sterilní mladině a při nejsilnějším kvašení se odebere vzorek k další izolaci. Izolační metody se podle použitého substrátu dělí na dvě skupiny - izolaci v tuhém prostředí a izolaci v kapalném prostředí [5].

Úchova čistých kultur je velmi důležitá, protože opětovná izolace i z téhož typu nezaručuje, že získaná kultura bude stejná jako původní. Podle potřeby a zkušenosti se volí takový způsob, při němž si udrží kvasinky své dobré vlastnosti co nejdéle. Pro kratší dobu uložení stačí přeočkovat kulturu do sterilní mladiny a zkvašené pivo chránit před světlem a vyšší teplotou (max. 15 °C). Jednou za 14 dní je nutno kulturu osvěžit přeočkováním, aby nedegenerovala. Tohoto způsobu se používá při častém zavádění kvasinek do provozu. Druhý způsob se uplatňuje hlavně v pivovarech, kde je propagační stanice. Kvasinky se uchovávají v deseti-percentním roztoku sacharosy a v tomto prostředí mohou zůstat bez přeočkování až jeden rok. Zaočkovat se musí jen malé množství kvasinek, aby nenastalo kvašení, nýbrž jen nepatrné rozmnožení. Dále je nutno zabránit odpařování roztoku, protože zvýšením koncentrace cukru se zvýší i osmotický tlak a nastane plazmolýza kvasinek. Doporučuje se uložit čisté kultury ve tmě a v chladu (8 až 12 °C) [23].

Mnohé pivovary používají k uchování kultur lyofilizaci. V podstatě se při tomto postupu kultura vysuší sublimací za vysokého vakua a současného zmrazování. Z vybrané kultury se odebere větší množství vzorků (20 až 30 zkumavek) a po lyofilizaci se uloží při teplotě 0 až 5 °C [22].



Obr. 9. Provozní propagace pivovarských kvasinek

3.2.2 Mikrobiologická čistota kvasnic

Čistotu kvasnic posuzujeme mikroskopickou prohlídkou. Kvasnice získané z provozu jsou skoro vždy znečištěny různými látkami ze sladu, chmele nebo vody. Mohou to být organické a anorganické látky, jako bílkovinná tělíska, chmelové pryskyřice, v menší míře zbytky pluch ze sladu, krystalky šťavelanu vápenatého, často částičky prachu nebo písku apod. Tyto látky nejsou zvláště nebezpečné a mohou být při praní kvasnic z velké části odstraněny. Dostanou-li se však do násadních kvasnic kvasnice ze spodní vrstvy, zvětší se množství těchto příměsí a zvýší se též počet mrtvých buněk nebo kvasinek tvarově nestejných. Ke konci kvašení, kdy prostředí je pro kvasinky méně výhodné, usazují se v horní vrstvě kvasnic buňky, které již nemohly dorůst do normálních rozměrů. Tyto buňky jsou jinak zdravé a dobře kvasí, avšak prokvašují hlouběji. Mezi nimi se mohou vyskytovat také buňky protáhlé nebo jinak deformované, které se během kvašení dostaly k povrchu a teprve ke konci hlavního kvašení klesaly ke dnu [23]. Pravidelnou kontrolou kvasnic lze v provozu brzy získat přehled o jejich normálním stavu a snadno zjistit, jde-li o jádro nebo spodek kvasnic. Uvedené příměsí se nacházejí sice i v čistých kulturách, avšak v menším množství. I když jde o látky, které neovlivňují kvašení a jsou vcelku neškodné, přece je třeba si uvědomit, že při zakvašování se dávají do mladiny látky již jednou při kvašení vyloučené nebo cizí, a proto je nutno podíl těchto látek v kvasnicích zmenšit na technologicky přípustnou míru [24].

Nebezpečnější je přítomnost škodlivých mikroorganismů, všeobecně označovaných jako infekce várečných kvasnic (divoké kvasinky, tyčinkovité mléčné bakterie a pediokoky). Kvasnice získané z provozu, jednou nebo několikrát nasazené, nejsou biologicky zcela čisté, neboť i při největší opatrnosti se vždy do mladiny nebo do piva dostanou některé z uvedených mikroorganismů. Proto se nesmí nasazovat kvasnice, u nichž byla zjištěna infekce [5].

3.3 Technologie kvašení

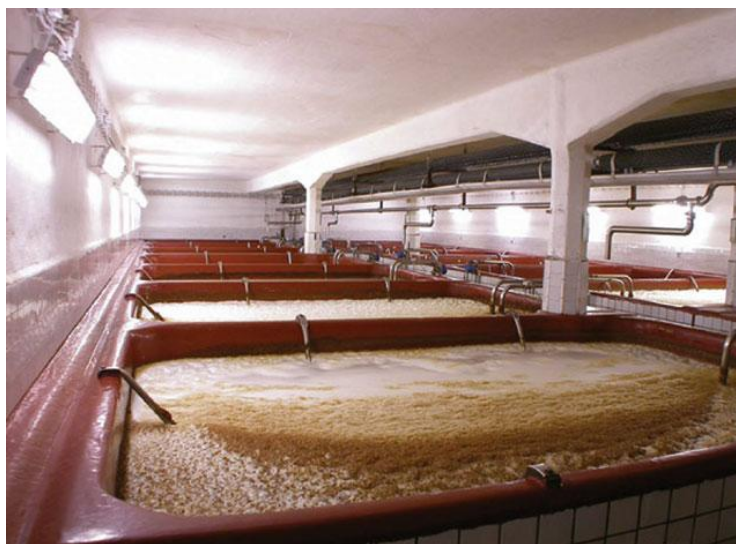
3.3.1 Hlavní kvašení a dokvašování

Pro kvašení mladiny se používá spodních pivovarských kvasinek při teplotách kvašení 6 až 12 °C. Kvašení mladiny je při klasické technologii rozděleno do dvou fází - na hlavní kvašení a dokvašování. Hlavní kvašení se u nás provádí obvykle v otevřených kvasných kádích spodními pivovarskými kvasinkami. Nejdůležitějšími reakcemi hlavního kvašení jsou přeměny zkvasitelných sacharidů glukosy, maltosy a maltotriosy na ethanol a oxid uhličitý anaerobním kvašením. Současně se v malé míře tvoří i vedlejší kvasné produkty, alifatické alkoholy, aldehydy, diketony, mastné kyseliny a estery. Všechny tyto látky a jejich vzájemný poměr spoluvytváří chuť a aroma piva [26].

V průběhu hlavního kvašení v kádích umístěných v chlazených místnostech zvaných spilka, se rozlišuje několik stadií. Brzo po zakvašení dochází k zaprašování, kdy se objevuje první bílá pěna na povrchu kvasící mladiny. 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. Vysoké hnědé kroužky jsou způsobeny poklesem pH a vyflotováním vyloučených chmelových a tříslo-bílkovinných sloučenin. Následuje propadání za tvorby husté deky z vyloučených látek na povrchu prokvašené mladiny, tj. mladého piva. Na konci hlavního kvašení sedimentují spodní kvasinky na dno kvasné kádě a po stáhnutí piva se sbírají, propírají se studenou vodou a znovu se nasazují do provozu. Deky se s hladiny mladého piva sbírají, aby do něho nepropadly a nezpůsobily zhoršení chuti piva. Hlavní kvašení trvá zpravidla 6 až 8 dní podle druhu vyráběného piva [5,24].

Kromě klasického postupu kvašení se v současnosti uplatňují i různé způsoby polokontinuálního kvašení (semispilka) i kontinuálního kvašení. V zahraničí, často v návaznosti na infúzní způsob rmutování, se vyrábějí i svrchně kvašená piva při vyšších teplotách, která se však chuťově odlišují od spodně kvašených piv [27].

Dokvašování a zrání mladého piva se provádí v ležáckém sklepě, kde pivo při teplotách 1 až 3 °C velmi pozvolna dokváší, číří se, zraje a sytí se vznikajícím oxidem uhličitým pod tlakem v uzavřených ležáckých tancích. Doba ležení je závislá na typu piva. U běžných piv do koncentrace mladiny 10 % hm. bývá 3 týdny, pro speciální exportní piva se zvyšuje až na několik měsíců [22].



Obr. 10. Spilka

3.3.2 Kvašení v cylindrokonických tancích (CKT)

Hlavní předností cylindrokonických tanků (CKT) jsou nízké pořizovací náklady, snadná a rychlá montáž, malá potřeba zastavěné plochy, možnost jímání oxidu uhličitého a jednoduchá obsluha s možností automatizace včetně sanitačního procesu. Tanky jsou vyráběny v různých velikostech podle kapacity varny [27].

Cylindrokonické tanky jsou vyrobeny z nerezů a mohou být umístěny venku nebo uvnitř chlazené budovy. Pokud jsou tanky postaveny ve volném venkovním prostoru, jsou dokonale izolovány vrstvou polyuretanové pěny a opatřeny pláštěm z pozinkovaného nebo hliníkového plechu. Chlazení je uspořádáno ve dvou až ve třech sekcích pomocí venkovních

chladicích plášťů a provádí se buď přímým odparem čpavku nebo glykolem či ethanolem. Obvyklý objem nádoby je 2000 až 2500 hektolitřů, ale může být i větší. Míchání kvasící mladiny se děje samovolně následkem rozdílu teplot v různých vrstvách [5].

Kvašení probíhá zpravidla za tlaku 0,1 až 0,15 MPa. Tlak je nutný pro fixaci oxidu uhličitého v pivu, ale zase se jím inhibuje kvašení a vzrůstá i tvorba diacetylu. Kvašení je možné v CKT tancích jednofázové (kvašení i dokvašování probíhá ve stejném tanku) i dvoufázové. Kvašení může probíhat při nižší teplotě nebo při vyšší teplotě. Vyšší teploty jsou příznivější z hlediska urychlení celého procesu, ale z hlediska sensorického profilu nejsou příliš vhodné (vznik většího množství vedlejších produktů kvašení). Proto se častěji pracuje při nižších teplotách. Při nižší teplotě dochází i k lepší fixaci oxidu uhličitého. Teplota při kvašení roste v důsledku vývinu kvasného tepla a musí být pomocí automatické regulace výkonu chladicího systému udržována na požadované technologicky vhodné hodnotě tak dlouho, dokud se nedosáhne konečného stupně prokvašení. Potom se odpustí kvasnice usazené v kónusu a pivo se ochladí a nechá zrát. Číření piva se podpoří ochlazením až na 0 °C. Po stočení piva se tank automaticky čistí a dezinfikuje vstřikovací hlavicí umístěnou pod víkem tanku [5,27].



Obr. 11. Cylindrokonický tank

3.4 Zpracování odpadů pivovarské výroby

Při výrobě piva, stejně jako při jiných průmyslových výroбах, dochází cestou od výchozích surovin ke konečným produktům ke kumulaci odpadů [22].

Podle konzistence je možno rozdělit odpadní produkty na pevné, polotekuté a tekuté. Odpad mohou být rozdělovány i podle příslušných fází výrobních procesů, ve kterých vznikají, podle jejich charakteru a dalších kritérií [5].

Pivovarské odpady představují typický příklad odpadů potravinářského průmyslu. Tento průmysl minimálně znečišťuje ovzduší, ale značně znečišťuje odpadní vody organickými látkami. Odseparováním hlavních pivovarských odpadů, které se nejvíce podílejí na biologickém zatížení odpadních vod, se znečištění výrazně sníží. Největší podíl organického znečištění připadá na mláto (40 % hm.) a na kvasnice, ať již várečné nebo stažkové - kvasnice získávané v pivovarech z kvasných kádí a ležáckých nádob (40 % hm.). Z dalších již menších položek znečištění je nutné obrátit pozornost na poslední výstřelkovou vodu (tzv. patoky), kaly, odpadní filtrační materiál, protláčky, dotáčky a odpadní pivo. Využit se rovněž dá odpadní oxid uhličitý, pokud jde o uzavřené kvašení a lze také izolovat odpadní chmelové silice z kondenzátu brýdových par. K využitelným odpadům se řadí i etikety a sklo [5,27].

K největším zdrojům znečištění odpadních vod by patřilo mláto, pokud by nebylo zachyceno. Mláto obsahuje 80 % hm. vody. Sušina mláta obsahuje přibližně 41 % hm. bezdusíkatých extraktivních látek, 28 % hm. bílkovin, 18 % hm. celulosy, 8 % hm. lipidů a 5 % hm. popelovin. Mokrý mláto je oblíbenou přísadou ke statkovým krmivům, rychle se však kazí a proto nemá-li jeho krmná hodnota klesnout, musí se spotřebovat do 24 hodin nebo vhodně konzervovat. Nejlepší konzervace mláta je lisování a sušení horkým vzduchem [5].

Hořké kaly se většinou vracejí po povaření s poslední výstřelkovou vodou do scezovací nádoby. Odpadní křemelina se může přidat k mlátu nebo vysušit na válcové sušárně a přidávat ke krmným podílům sušeného mláta do 3 % hm. Odpadní křemelinu lze rovněž regenerovat. Pivovarské kvasnice mohou při odpovídajícím zpracování přinášet vysoké zisky a jejich využití může být velmi mnohostranné [27].

Krmné kvasnice se suší a mají tak poměrně velkou trvanlivost. Dnes se již výhradně suší na sprejových sušárnách. Z krmivářského hlediska je rozhodující zastoupení tzv. čisté bílkoviny

a v ní zastoupení jednotlivých aminokyselin. V potravinářském průmyslu se odpadní pivovarské kvasnice mohou uplatnit jako aditivum. Pokud se využívají celé buňky, jsou dávky omezeny vzhledem k vysokému obsahu nukleových kyselin [5].

Část odpadních pivovarských kvasnic se ve světě zpracovává na kvasničný extrakt. V Anglii se takto zpracovává až 75 % odpadních pivovarských kvasnic. Extrakty jsou používány především v potravinářském průmyslu. Výroba je založena na principu autolýzy nebo plazmolýzy, případně na kombinaci obou těchto principů [27].

ZÁVĚR

Cílem práce bylo popsat použití a význam kvasnic v pekárenském a pivovarnickém průmyslu. Produkty obsahující kvasnice hrají v řadě zemí klíčovou úlohu a pro většinu světové populace jsou hlavními a nepostradatelnými potravinami denní spotřeby, které jsou významným zdrojem bílkovin, vitaminů a minerálních látek.

Kromě jejich nutričního významu se stále více zdůrazňuje jejich prospěšnost pro zdraví.

Důležité při tom je, že kvasnice a výrobky z nich, jsou pro většinu lidí snadno dostupné.

Sortiment produkce tradičních výrobků z kvasnic mohou vhodně doplňovat výživové preparáty obsahující pivovarské kvasnice – Pangamin, který je vysoce přírodním vyváženým zdrojem s vynikající koncentrací všech vitaminů řady B. Obsahuje například 20x více vitamínu B₁ a B₂ než játra a 45 % hm. kompletních bílkovin v nichž je zastoupeno 17 aminokyselin, včetně všech esenciálních. Nachází se v něm rovněž hojné množství minerálů a stopových prvků, tuků a sacharidů. Protože nedostatek B-komplexu zhoršuje metabolický proces v trávicím traktu a v nervovém systému, je Pangamin důležitý pro zlepšení trávení, vstřebávání a vylučování potravy a jako prevence nespavosti, depresí, nervozity a pocitu únavy.

V České republice se problematice kvasnic nevěnuje taková pozornost jako v zahraničí, o čemž také svědčí malé množství prací publikovaných u nás. Jde o téma, které není vůbec jednoduché a se stále se rozšiřujícími poznatky o výživě a zdraví vyvstává oprávněná potřeba nových informací o zdravotních pozitivěch kvasnic.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] ŠILHÁNKOVÁ, L. *Mikrobiologie pro potravináře a biotechnology*. 2.vyd. Praha: Nakladatelství Academia, 2002. 363 s. ISBN 8-85605-71-6
- [2] BENDO VÁ, O., JANDERO VÁ, B. *Úvod do biologie kvasinek*. 1.vyd. Praha: Nakladatelství Karolinum, 1999. 108 s. ISBN 80-7184-990-1
- [3] TOMÁNKOVÁ, E., RADA, V., KILLER, J. *Potravinářská mikrobiologie*. 1.vyd. Praha: ČZU, 2006. 168 s. ISBN 80-213-1583-0
- [4] KOCKOVÁ-KRATOCHVÍLOVÁ, A. *Taxonómia kvasiniek a kvasinkovitých mikroorganizmov*. 1.vyd. Bratislava: Alfa, 1990. 704 s. ISBN 80-05-00644-6
- [5] BRIGGS, DENNIS E., BOULTON, CHRIS A., BROOKES, PETER A., STEVENS, R. *Brewing Science and Practice*. 1.vyd. Boca Raton: CRC Press, 2004. 963 s. ISBN 0-8493-2547-1
- [6] REED, G., PEPLER, HENRY J. *Yeast Technology*. Westport, Connecticut: The Avi Publishing Company, INC., 1973. 378 s. ISBN 0-87055-136-1
- [7] ŠIPICKÝ, M., ŠUBÍK, J. *Genetika kvasiniek*. 1.vyd. Bratislava: VEDA, 1992. 312 s. ISBN 80-224-0396-2
- [8] Informace o droždí [online]. [cit. 2010-04-06]. Dostupný z WWW
<<http://www.vseodrozdi.cz/cs/index.php>>
- [9] Informace o droždí [online]. [cit. 2010-05-01]. Dostupný z WWW
< <http://www.drozdi.cz/>>
- [10] RYCHTERA, M., UHER, J., PÁČA, J. *Lihovarství, droždářství a vinařství, I. a II. část*. 1.vyd. Praha: SNTL, 1986. 398 s. IČ. 440-33749
- [11] Výroba pekařského droždí [online]. [cit. 2010-02-14]. Dostupný z WWW
<<http://www.sci.muni.cz/mikrob/kvasbiotech/pekarske/drozdi.html>>
- [12] KETTNEROVÁ, M. *Historie droždářství v Olomouci*. 1.vyd. Praha: MILPO MEDIA s.r.o., 2001. 71 s. ISBN 80-86098-23-0

- [13] FLYNN, G., ADAMS, M. *An industrial profile of yeast production*. London: Tropical Products Institute, 1981. 7 s. ISBN 0-85954-139-8
- [14] ROSE, ANTHONY H., HARRISON STEWART J. *The Yeasts: Yeast technology*. 2.vyd. London: Academic Press INC., 1993. 620 s. ISBN 0-12-596415-3
- [15] HALAMA, D. *Technická mikrobiológia*. 1.vyd. Bratislava: Slovenské vydavateľstvo technickej literatúry, 1967. 332 s. K38370
- [16] Technologie kvasného průmyslu [online]. [cit. 2010-01-04]. Dostupný z WWW
<<http://www.primat.cz/mendelu/predmety/technologie-kvasneho-prumysluq3979/technologie-kvasneho-prumyslu-m6203/>>
- [17] Tekuté droždí [online]. [cit. 2010-03-15]. Dostupný z WWW
< <http://kastalia.cz/home.php>>
- [18] CHLÁDEK, L. *Pivovarnictví*. 1.vyd. Praha: Grada Publishing a.s., 2007. 218 s. ISBN 978-80-247-1616-9
- [29] NOVÁK VEČERNÍČEK, J. *Dějiny piva: od zrození až po konec středověku*. 1.vyd. Brno: Computer Press, 2009. 143 s. ISBN 978-80-251-2019-4
- [20] ZÝBRT, V. *Velká kniha piva: vše o pivu*. 1.vyd. Olomouc: Rubico, 2005. 287 s. ISBN 80-7346-054-8
- [21] JACKSON, M. *Pivo: průvodce světem piva pro laiky i odborníky: více než 500 klasických piv*. 1.vyd. Praha: Fortuna Print, 2001. 544 s. ISBN 80-86144-17-8
- [22] KOSAŘ, K., PROCHÁZKA S. *Technologie výroby sladu a piva*. 1.vyd. Praha: Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, 2000. 398 s. ISBN 80-902658-6-3
- [23] BASAŘOVÁ, G., ČEPIČKA, J. *Sladařství a pivovarství*. 1.vyd. Praha: SNTL, 1985. 256 s. K48167
- [24] HLAVÁČEK, F. *Pivovarské kvasnice*. 1.vyd. Praha: SNTL, 1958. 183 s. 56/III-5-(B2)
- [25] PRIEST, F., CAMPBELL, I. *Brewing Microbiology*. 2.vyd. London: CHAPMAN & HALL, 1996. 306 s. ISBN 0-412-59150-2

- [26] HOUGH, JAMES S. *The biotechnology of malting and brewing*. 1.vyd.
Cambridge: Cambridge University Press, 1991. 168 s. ISBN 0-521-25672-0
- [27] KUNZE, W. *Technology Brewing and Malting*. 2.vyd. Berlin: VLB, 1999. 650 s.
ISBN 978-3-921690-64-2

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

DNA	Deoxyribonukleová kyselina
RNA	Ribonukleová kyselina
mRNA	mediátorová RNA
tRNA	transferová RNA
EMP cyklus	Embden-Mayerhof-Parnasův cyklus

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obr. 1. Snímek kvasinek <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	12
Obr. 2. Buňka kvasinky	14
Obr. 3. Pučící kvasinka <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	17
Obr. 4. Životní cyklus kvasinky	18
Obr. 5. Melasa	22
Obr. 6. Čerstvé lisované droždí	33
Obr. 7. Vaření piva ve středověku	36
Obr. 8. Pivovarské kvasinky	36
Obr. 9. Provozní propagace pivovarských kvasinek	39
Obr. 10. Spilka	41
Obr. 11. Cylindrokonický tank	42