

# Využití kvasinek v potravinářském průmyslu

Karla Neupauerová

---

Bakalářská práce  
2012



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně  
Fakulta technologická

---

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav analýzy a chemie potravin

akademický rok: 2011/2012

# ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Karla NEUPAUEROVÁ**

Osobní číslo: **T090608**

Studijní program: **B 2901 Chemie a technologie potravin**

Studijní obor: **Technologie a řízení v gastronomii**

Téma práce: **Využití kvasinek v potravinářském průmyslu**

Zásady pro vypracování:

1. Úvod do problematiky.
2. Význam, využití a členění kvasinek.
3. Struktura buňky.
4. Buněčný cyklus a rozmnožování.
5. Průmyslově významné kvasinky – pivovarství, vinařství, drožďařství.
6. Patogenní kvasinky.
7. Závěr – shrnutí problematiky

Rozsah bakalářské práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam odborné literatury:

1. KYZLINK, V. Teoretické základy konzervace potravin, SNTL/Alfa, Praha 1988
2. ARPAI, J., BARTL, V. Potravinářská mikrobiologie, Alfa/SNTL, Bratislava 1977
3. ČECHOVÁ, L., JANALÍKOVÁ, M. Obecná mikrobiologie, UTB 2007
4. RYCHTERA, M., UHER, J., PÁČA, J. Lihovarství, drožďařství a vinařství I a II, VŠCHT Praha, Praha 1991
5. <http://cs.wikipedia.org/wiki/Kvasinky>

Vedoucí bakalářské práce:

**doc. Ing. Jan Hrabě, Ph.D.**

Ústav technologie a mikrobiologie potravin

Datum zadání bakalářské práce:

**6. ledna 2012**

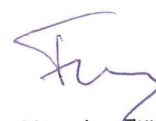
Termín odevzdání bakalářské práce:

**21. května 2012**

Ve Zlíně dne 15. února 2012



doc. Ing. Roman Čermák, Ph.D.  
*děkan*



doc. Ing. Miroslav Fišera, 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 <sup>1)</sup>;
- 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 <sup>2)</sup>;
- beru na vědomí, že podle § 60 <sup>3)</sup> 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 <sup>3)</sup> 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 dne 18. května 2012

  
.....

<sup>1)</sup> 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 nevdělečně 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.

<sup>2)</sup> 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).

<sup>3)</sup> 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). Odpírá-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**

V bakalářské práci je cílem popsat život kvasinek v přirozeném prostředí včetně jejich prvního mikroskopického pozorování, životních nároků, buněčného života nebo jejich členění. Mimo to je práce orientována na využití kvasinek, především nejznámějšího modelového eukaryotního organismu, a to kvasinky *Saccharomyces cerevisiae*, která je hojně využívána v potravinářském průmyslu zejména v oblasti pivovarství, vinařství a droždářství. Vedle pozitivního přínosu v této oblasti je také okrajově zmíněna patogenní činnost kvasinek, se kterou se potýkají v bakalářské práci dotčená odvětví potravinářství.

**Klíčová slova:** mikroorganismus, eukaryotická buňka, kvasinka, životní prostředí, výskyt kvasinek, životní nároky kvasinky, historie, buněčná stavba, metabolismus, rozmnožování, buněčný cyklus, členění kvasinek, pivovarství, vinařství, droždářství, *Saccharomyces cerevisiae*.

## **ABSTRACT**

The aim of the dissertation is to describe the life of yeast bacteria which includes, among others, a description of the first observation of the bacteria under a microscope and a description of the conditions of their survival and proliferation. Some space is devoted to their classification. The work also focuses on the application of yeast bacteria with special interest in *Saccharomyces cerevisiae* which is a model eukaryotic organism. This organism is widely used in the food industry, especially in the brewery and yeast industries and in wine making. Apart from the above mentioned positive applications of the bacteria some attention is given also to their potentially pathogenic effects which the food industry needs to cope with.

**Keywords:** microorganism, eukaryotic cell, yeast, environment, occurrence of yeast, environmental requirements of yeast growing, history, cell structure, metabolism, proliferation, life cycle of a cell, yeast classification, brewery industry, yeast industry, wine making, *Saccharomyces cerevisiae*.

## Poděkování

Tímto chci poděkovat za trpělivost, vstřícnost, odborné vedení a cenné připomínky při zpracování bakalářské práce panu doc. Ing. Janu Hraběti, Ph.D., vedoucímu mé bakalářské práce.

Rovněž patří nemalé poděkování mé rodině, která mě po celou dobu studia velmi podporovala.

Prohlašuji, že odevzdaná verze bakalářské práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou totožné.

# OBSAH

<b>ÚVOD</b> .....	<b>9</b>
<b>1 BIOLOGIE KVASINEK</b> .....	<b>11</b>
1.1 ŽIVOTNÍ NÁROKY KVASINEK.....	11
1.1.1 Typ organismu kvasinky .....	11
1.1.2 Přijímání živin.....	12
1.1.3 Teplota.....	12
1.1.4 pH prostředí.....	13
1.1.5 Vodní aktivita.....	13
1.1.6 Další faktory .....	14
1.1.7 Biologické vlivy .....	14
1.2 CHEMICKÉ SLOŽENÍ KVASINKY .....	15
<b>2 HISTORIE, VÝSKYT A VYUŽITÍ KVASINEK</b> .....	<b>16</b>
2.1 HISTORIE KVASINEK .....	16
2.2 VÝSKYT A VYUŽITÍ KVASINEK .....	17
<b>3 STRUKTURÁLNÍ SLOŽENÍ KVASINKY</b> .....	<b>20</b>
3.1 BUNĚČNÁ STĚNA .....	20
3.2 CYTOPLAZMATICKÁ MEMBRÁNA (PLAZMALEMA).....	21
3.3 CYTOPLAZMA .....	21
3.3.1 Endoplazmatické retikulum .....	21
3.3.2 Mitochondrie .....	22
3.3.3 Vakuola .....	22
3.3.4 Golgiho aparát .....	23
3.4 JÁDRO .....	23
<b>4 METABOLISMUS, ROZMNOŽOVÁNÍ KVASINEK A BUNĚČNÝ CYKLUS</b> .....	<b>24</b>
4.1 METABOLISMUS KVASINEK.....	24
4.2 ROZMNOŽOVÁNÍ KVASINEK.....	25
4.2.1 Pučení jako nepohlavní forma rozmnožování.....	25
4.2.2 Pohlavní rozmnožování.....	26
4.2.3 Buněčný cyklus .....	27
<b>5 TŘÍDĚNÍ KVASINEK</b> .....	<b>29</b>
5.1.1 Ascomycetes.....	29
5.1.2 Basidiomycetes.....	30
5.1.3 Deuteromycetes .....	30
<b>6 PRŮMYSLOVĚ VÝZNAMNÉ KVASINKY – PIVOVARSTVÍ, VINAŘSTVÍ, PEKAŘSKÉ DROŽDÍ</b> .....	<b>31</b>
6.1 PIVOVARSTVÍ .....	31
6.1.1 Suroviny k výrobě piva .....	31
6.1.2 Procesy předcházející kvašení piva.....	33



6.1.3	Hlavní kvašení piva resp. mladiny .....	37
6.1.4	Dokvašování, ležení piva a filtrace .....	41
6.1.5	Pasterace a stáčení piva .....	42
6.2	VINAŘSTVÍ .....	42
6.2.1	Vinná réva – surovina ovlivňující budoucí víno .....	43
6.2.2	Technologické postupy předcházející kvašení moštu .....	44
6.2.3	Úpravy moštu před kvašením.....	45
6.2.4	Kvašení moštu .....	45
6.2.5	Faktory ovlivňující kvašení .....	48
6.2.6	Dokvašování, dolévání, čištění a stáčení vína.....	48
6.2.7	Stabilizace vína a láhvování.....	49
6.3	PEKAŘSKÉ DROŽDÍ .....	49
6.3.1	Suroviny vstupující do výroby droždí .....	50
6.3.2	Propagace čisté kultury kvasinek .....	51
6.3.3	Předkvas, násadní a expediční droždí .....	51
6.3.4	Odstředování, chlazení, zahušťování a balení droždí.....	53
6.3.5	Kvalita droždí.....	54
<b>7</b>	<b>PATOGENNÍ KVASINKY .....</b>	<b>55</b>
7.1.1	Pivo .....	55
7.1.2	Víno.....	56
7.1.3	Droždí.....	56
<b>8</b>	<b>ZÁVĚR.....</b>	<b>58</b>
	<b>SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....</b>	<b>59</b>
	<b>SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK .....</b>	<b>63</b>
	<b>SEZNAM OBRÁZKŮ .....</b>	<b>65</b>

## ÚVOD

Kvasinky spadající do široké skupiny mikroorganismů tvoří nedílnou součást koloběhu života na naší planetě a společně s dalšími faktory jsou spoluodpovědné za tvorbu a udržení zdravé rovnováhy životního prostředí. Bez účasti mikroorganismů např. na rozkladných procesech, a to ať už těl živočichů nebo rostlin, by došlo velmi záhy ke kolizi tohoto fungujícího harmonického systému. [1]

V prostředí pro kvasinky přirozeném se kvasinky vyskytují jako saprofyti nebo paraziti ve formě tzv. divokých kvasinek, někdy též označovaných jako kvasinky nepravé nebo cizí. Kvasinky šířící se vzduchem (zejména *Rhodotorula*) lze nalézt především na povrchu rostlinných částí, na cukernatém ovoci, zejména bobulovitém nebo peckovitém (např. *Saccharomyces*, *Saccharomycodes*, *Kloeckera*) jako součást mikroflóry vyskytující se na povrchu plodu (třešně, švestky, hrušky, vinná réva atd.), některé kořenové zelenině jako je např. mrkev, dále v sekretech živočichů jako jsou mšice nebo červci, v květním nektaru (*Cryptococcus*, *Rhodotorula*, *Sporobolomyces*), ve slizových výronech stromů, střevním traktu zvířat, lidí ale i některého hmyzu nebo například v půdě vinic (*Kloeckera*). Dále se podílejí na rozkladné činnosti organických látek těl ať už rostlinných nebo živočišných, jak v půdě, tak ve vodních tocích a navracejí chemické prvky zpět do přírody. [1, 2, 3]

Přirozeného výskytu kvasinek se využívá ve vinařství, kdy je žádoucí přítomnost kvasinek obsažených v mikroflóře bobulí vinné révy, neboť bobule vstupují do výrobního procesu a technologickými postupy dochází k zakvašení díky složení mikroflóry.

Vedle divokých kvasinek spjatých s výskytem v přírodě existují ještě kmeny kulturní, kterých se hojně využívá právě ve zmiňovaných odvětvích. Pivo je zakvašováno kulturními kvasinkami *Saccharomyces cerevisiae* a *Saccharomyces cerevisiae* var. *uvarum*, droždí je v podstatě lisovanou formou kvasinek *Saccharomyces cerevisiae*.

Široké uplatnění nacházejí kvasinky zejména v potravinářském průmyslu, kdy je využíváno jejich kvasných schopností v odvětvích jako jsou pivovarství, vinařství, droždářství či mlékářství, což je souhrnně označováno jako potravinářská mikrobiologie. Navíc například samotné pivovarství nebo mlékářství soustřeďuje poznatky o kvasinkách včetně ostatních mikroorganismů, jejich působení a vlivy, patogenní činnost nevyjímaje, pod pojem pivovarská nebo mlékářská mikrobiologie. [2, 3]

Smyslem bakalářské práce je tedy představit obecné životní nároky a projevy kvasinek a posléze využití těchto poznatků popsat ve zmiňovaných odvětvích, které tyto aplikují v technologických procesech výroby. Jednotlivé kroky výroby však nejsou konány stejně, nýbrž k požadovanému výsledku, ať už je finálním výrobkem pivo, víno nebo droždí, vede vždy jiná cesta.

## 1 BIOLOGIE KVASINEK

Kvasinky jsou jako jednobuněčné houbové mikroorganismy součástí vědního oboru označovaného pojmem obecná mikrobiologie, která zkoumá specifika života a projevů mikroorganismů jako jsou např. jejich morfologie nebo cytologie. Kvasinky náleží do řádu hub, lat. *Fungi*, na stejné úrovni jako kvasinky stojí v této hierarchii i plísně. V systematice organismů se řadí kvasinky do skupiny tzv. mikrobiálních eukaryotických organismů, které mimo kvasinek dále zahrnují řasy a protozoa. Eukaryotický organismus je složitější co do stavby buňky než jednodušší prokaryotický organismus bez přesně diferenciovaného jádra. Nejpodstatnější rozdíl tedy představuje především samotné jádro, které je v případě eukaryoty jasně vymezeno a odděleno od cytoplazmy jaderným obalem. [1, 4]

### 1.1 Životní nároky kvasinek

Vývoj a životní funkce kvasinek závisí na řadě vnějších faktorů, především však na fyzikálních, chemických a biologických podmínkách. Při zachování podmínek vyhovujících životu kvasinek, jako je například adekvátní teplota, vyvážené osmotické prostředí nebo optimální pH atd., probíhají v buňce veškeré procesy v ideální rovině. Narušení těchto podmínek však vytváří pro kvasinky stresové prostředí, na které ale dokáží jako většina mikroorganismů reagovat vysokou adaptabilitou, která se projevuje změnou tvaru nebo chemického složení buňky. Těmito obrannými mechanismy zvyšují kvasinky krátkodobě svoji životaschopnost při působení nepříznivých tzv. stresových faktorů. Účinky takovýchto podmínek, jakými může být vysoká teplota, změna pH v prostředí nebo působení určitého typu chemické látky se používají jako cesta v boji proti nežádoucím patogenním kvasinkám v průmyslové výrobě, neboť i tyto mikroorganismy mají své limity, kdy za působení dlouhodobě nepříznivých vlivů dochází ke smrti buňky. Nicméně i tak kvasinky vykazují vysokou odolnost vůči  $\text{SO}_2$  nebo některým typům konzervačních a dezinfekčních prostředků jako je allylisothiokyanatan, benzoová kyselina, koloidní stříbro či měďnaté látky, která při delším působení stoupá vlivem návyku na takovýto typ prostředí resp. látek v něm obsažených. [1, 3, 33]

#### 1.1.1 Typ organismu kvasinky

Kvasinka je aerobním heterotrofním organismem, což znamená, že potřebuje ke svému životu a růstu kyslík (aerobní organismus) a pro přijímání živin, které slouží jako zdroj

uhlíku, vodíku nebo energie vyžaduje přítomnost organických sloučenin jako jsou např. halogenderiváty, alkaloidy nebo sacharidy v prostředí (heterotrofní organismus). Kvasinka je zároveň chemoorganotrofním organismem, jejíž činnost je využívána v přírodě nebo průmyslu a ke svému životu využívá jako zdroj energie a živin organické látky. V přírodě takovýto typ mikroorganismu představuje rozkladnou činnost organických sloučenin živočišného i mikrobiálního původu, čímž se uvolňují látky do přirozeného koloběhu života. V průmyslu je tohoto jevu využíváno při procesu samočistění vod nebo zvyšování úrodnosti půdy atd. [1, 4]

### 1.1.2 Přijímání živin

Pro život kvasinky jsou důležité minerální prvky jako C, H, O, N, P a S, které jsou zároveň součástí buněčné hmoty. Stejně tak jsou životně důležité i některé kationty jako  $K^+$ ,  $Na^+$  nebo  $Mg^{2+}$ , jako i vitaminy, zejména inositol, pantothenát či biotin. Veškeré živiny přijímá kvasinková buňka z okolí celým svým povrchem skrze cytoplazmatickou membránu, která tvoří polopropustnou bariéru mezi buňkou a okolním prostředím. Skrze cytoplazmatickou membránu mohou do buňky pronikat pouze molekuly vody, slabé kyseliny nebo zásady či monosacharidy atd. Toto pronikání se děje při rozdílném tlaku rozpouštědel ve vnějším a vnitřním prostředí buňky a je označováno jako osmotický tlak. Mezi nejzásadnější principy transportu živin patří tzv. pasivní a aktivní transport, kdy při pasivním transportu dochází k „usnadněné difúzi“ např. hexos a pentos resp. sloučenin prostřednictvím specifického přenašeče, u aktivního transportu se jedná o přenos anorganických iontů, organických sloučenin a kyselin. [1, 3, 5, 33]

### 1.1.3 Teplota

Teplota je další nezbytně nutnou podmínkou k životu kvasinky a ovlivňuje především její rozmnožovací proces jako i životní pochody. Při studiu mikroorganismů, včetně kvasinek, jsou určovány minimální, optimální a maximální teploty, při jejichž působení je mikroorganismus schopen existovat a rozmnožovat se. Kvasinky se řadí mezi mezofilní organismy, jejichž životní funkce a rozmnožování jsou zachovány při minimální teplotě vyšší než 5°C. Optimální teplotou pro kvasinky je teplota kolem 30°C. Smrtící neboli tzv. letální teplota je nejnižší možnou teplotou, kdy za užití takovéto teploty ve vlhkém prostředí a určité doby zahřívání na tuto teplotu, nejčastěji 10 minut, dochází k usmrcení mikroorganismů. Kva-

sinky jsou usmrceny při teplotě kolem 60°C až 65°C ve vlhkém prostředí. Termorezistenci mikroorganismů určuje mimo jiné i podíl vody v buňce a v okolí, neboť v suchém prostředí vykazuje kvasinka mnohem vyšší odolnost vůči vysokým teplotám. Vysoké teploty jsou užívány zejména v průmyslu a nejčastějšími technologickými postupy pro likvidaci mikroorganismů jsou sterilizace a pasterizace. Sterilizace využívá teplot vyšších kolem 160 až 180°C při sterilizaci suchých předmětů po dobu 2 hodin a zhruba 120 až 130°C při sterilizaci vlhkých předmětů po dobu 45 minut. Sterilizací dojde k usmrcení vegetativních buněk a spor těch organismů, jež způsobují nežádoucí kažení sterilovaných předmětů a potravin. Pasterizace je do jisté míry šetrnějším způsobem ochrany potravin před kažením a je prováděna jednorázovým zahříváním na teplotu nejvýše 100°C. Při pasterizaci nedochází ke změnám chuti nebo nutriční hodnoty potravin jako při sterilizaci. [1, 6]

#### 1.1.4 pH prostředí

pH (z anglického *potential of hydrogen* tj. „potenciál vodíku“, též vodíkový exponent) určuje podíl vodíkových iontů v prostředí a je ukazatelem kyselé nebo zásadité reakce. Tento ukazatel je rovněž důležitý při rozmnožování kvasinek a jeho rozmezí vzhledem k toleranci pH v prostředí kvasinkou je poměrně úzké. Živnou půdou pro růst kvasinek je kyselé prostředí, ve kterém optimálně rostou a rozmnožují se. Jedná se o hodnoty pH v rozmezí 4,2 až 5,5. Omezení životaschopnosti buňky se projevuje při vyšším pH zhruba kolem 7,5. [1, 7]

#### 1.1.5 Vodní aktivita

Buněčná hmota buňky je tvořena ze 75 až 90% vodou, která je nezbytným faktorem řady chemických reakcí v buňce. Nárok na vodu jednotlivých mikroorganismů vyjadřuje vodní aktivita prostředí ( $a_{H_2O}$ ), jež znázorňuje vztah vodní aktivity ve velmi zředěném roztoku vůči koncentraci rozpouštěné látky. Kvasinky prosperují a rozmnožují se při vodní aktivitě v rozmezí 0,91 až 0,88. Stejně jako se využívá na základě pozorování procesů, jež zabraňují růstu kvasinek, lze omezit rovněž i vodní aktivitu prostředí zejména sušením a odpařováním nebo užitím chemické látky, čehož se využívá opět zejména v potravinářském průmyslu – jedná se například o sušení ovoce, zeleniny, hub apod. Z chemických prostředků se v potravinářství pro omezení vodní aktivity prostředí užívá především sacharózy a chloridu sodného. [1]

### 1.1.6 Další faktory

Mimo výše uvedené ovlivňuje život kvasinek i ostatních mikroorganismů řada dalších fyzikálních nebo chemických faktorů. Při vyšších koncentracích v prostředí mají tyto vlivy mutagenní až smrtící účinky, a to zejména ultrafialové záření, jehož přirozeným zdrojem je slunce, rentgenové záření a  $\gamma$  – záření (neboli gama záření), kdy se jedná o elektromagnetické záření, které je užíváno jako účinný prostředek při likvidaci mikroorganismů, zejména bakterií. Stejně nepříznivé účinky se projevují při působení hydrostatického tlaku, elektrického proudu nebo ultrazvuku. [1]

### 1.1.7 Biologické vlivy

Vzhledem k faktu, že se kvasinky v přirozeném prostředí v přírodě vyskytují v čisté kultuře jen velmi zřídka, je mnohem obvyklejší jejich koexistence s jinými mikroorganismy. Jednou z forem spolužití mikroorganismů je:

- a) **komenzalismus** – jedná se o jednostranný nijak neškodící typ soužití, kdy komenzál využívá zbytků potravy hostitele, čímž nijak výrazně nenarušuje jeho životní prostor. [1, 8]
- b) jinou formou interakce je **syntrofismus** neboli **synergismus**, kdy mikroorganismy vyhledávají ke svému životu určitý typ jiných mikroorganismů jako např. keřfrové kultury, které využívají vzájemné spolupráce kvasinek a bakterií. [1]
- c) opakem syntrofismu je tzv. **antagonismus**, kdy naopak vzájemný vztah některých mikroorganismů není žádoucí a tohoto jevu je využíváno např. při výrobě antimikrobiálních antibiotik ve farmaceutickém průmyslu. Jako příklad lze uvést výrobu penicilinu z plísně *Penicillium*, který ničí některé původce bakteriálních onemocnění. [1]
- d) **symbióza** – je vzájemně vyhovující soužití pro oba typy účastníků takového vztahu, symbióza se však v přirozeném prostředí vyskytuje velmi sporadicky. [1, 8]
- e) **parazitizmus** je vztahem dvou mikroorganismů, kdy jeden parazituje na druhém nejen příjmem jeho potravy, ale i parazitováním na těle hostitele, čímž jej oslabuje a může způsobit i smrt mikroorganismu. [1, 8]

- f) nejběžnější formou biologického vztahu dvou mikroorganismů v přirozeném prostředí je **metabióza**, při níž jsou metabolity jednoho mikroorganismu využívány pro život jiného mikroorganismu. Bez této činnosti by nedocházelo k rychlé mineralizaci látek v přírodě, čímž by byl narušen přirozený koloběh v přírodě. Příkladem je zoctovatění cukerných substrátů kvasinek při výrobě alkoholických nápojů za přístupu vzduchu. Vytvořená octová kyselina může být živnou půdou pro kontaminaci plísněmi. [1]

## 1.2 Chemické složení kvasinky

Chemické složení buňky je velmi obtížné stanovit a to z důvodu již výše zmiňovaných, kdy kvasinka reaguje na vlivy okolního prostředí změnou tvaru buňky, ale i chemickým složením. Analýzou *Saccharomyces cerevisiae* jako modelového organismu je obecně udávána takováto skladba buněčné hmoty, která je odvislá od stáří buňky a kultivačních podmínek [1, 3, 4]:

- a) 65 – 83% vody
- b) cca 50% bílkovin v sušině
- c) až 30% glykogenu v sušině
- d) zhruba 10% nukleové kyseliny
- e) 5% polysacharidů
- f) 8% popela
- g) z organických sloučenin se vyskytují v buněčné hmotě např. vitaminy skupiny B (B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>6</sub>), provitamin D nebo A. [1]



## 2 HISTORIE, VÝSKYT A VYUŽITÍ KVASINEK

### 2.1 Historie kvasinek

První zmínky o výrobě kvašených nápojů a tím i prvopočátky výskytu kvasinek a jejich působení nelze přesně časově zařadit. Mezopotámie je považována do jisté míry za kolébku nejrannějšího výskytu fermentačních projevů kvašení v historii. Tyto první kvasné projevy jsou datovány někdy kolem 7. tisíciletí před našim letopočtem a jsou založeny na domněnce, že obilí, které bylo skladováno v hliněných nádobách v důsledku styku s vodou začalo kvasit. Kvašení se začalo využívat při výrobě chleba, piva nebo nápojů z ovoce. Postupná modernizace výroby tyto poznatky zdokonalovala do současné podoby, jaká je známa člověku dnes. [2, 3, 4, 9]

Kvasinky lze pozorovat výhradně mikroskopicky vzhledem k jejich velikosti, která se pohybuje mezi desetinami a desítkami mikrometrů v závislosti na velikosti mnohobuněčného organismu. Úplné počátky mikroskopického pozorování kvasinek spadají do roku 1676, kdy byly poprvé kvasinky zachyceny nizozemským přírodovědcem Antoniem van Leeuwenhoekem. Označení kvasinka neboli *Saccharomyces* (v překladu z latiny „cukerná houba“) bylo poprvé užito německým biologem Juliusem Meyenem v roce 1838. Tehdy byly kvasinky členěny do tří základních skupin dle svého místa působení, a to na: *Saccharomyces cerevisiae* (kvašení piva), *Saccharomyces pomorum* (kvašení v ovocných šťávách) a *Saccharomyces vini* (kvašení vína). [2, 3, 4, 10]

Nemalou měrou zasáhl svými poznatky do studia života mikroorganismů francouzský chemik, biolog a lékař Louis Pasteur. Zkoumáním mikroorganismů v letech 1857 – 1861 dospěl Pasteur k závěru, že kvasinky způsobují různé formy kvašení jako např. kvašení etanolové, mléčné nebo octové. Na základě těchto poznatků a experimentů pak vznikla metoda sterilizace potravin za užití vysokých teplot, která zabraňuje nežádoucímu kvašení a kažení potravin a je označována jako pasterizace. V současné době jsou využívány tři metody pasterizace, kdy je využito vysokých teplot zahřátí po krátký čas, nízkých teplot po delší dobu nebo je použita ultravysoká teplota – tzv. UHT (z anglického Ultra High Temperature). Poslední zmíněná metoda je používána zejména pro pasterizaci mléka, kdy je navíc za použití antiseptických balení dosaženo delší trvanlivosti produktu i za cenu částečně pozměněných chemických vlastností. Pasterizace je odvislá od daného technologického postupu pro určitý typ produktu. [2, 3, 4, 10, 11, 12]

V souvislosti s rodem *Saccharomyces* je potřeba zmínit izolování čistých kvasinkových kultur, o které se zasloužil dánský mikrobiolog Emil Christian Hansen v 80. letech 19. století. První systém klasifikace kvasinek, který sestával z morfologie a schopnosti zkvašovat některé monosacharidy, vznikl v roce 1912 a od té doby dochází pravidelně k jeho reklasifikaci. [10]

Seskupení a utřídění rodů a druhů kvasinek včetně určovacích identifikačních znaků a testů, které vedou k rozlišení jednotlivých rodů a druhů kvasinek, je zaznamenáno v mezinárodní publikaci z roku 1984 „The Yeasts. A Taxonomic Study“, která je v současnosti dále rozvíjena a rozšiřována. Identifikace kvasinek dle morfologických, fyziologických a biochemických vlastností sleduje především tvar a velikost buněk, sporulaci, tvorbu pseudomycelia, kolonií nebo mázdry, zkvašování cukrů, asimilaci cukrů, dusičnanů či ethanolu apod. [1, 13, 27]

## 2.2 Výskyt a využití kvasinek

Kvasinky jsou v povědomí člověka spojovány především s výrobou piva, vína, droždí nebo pekařských produktů. Přirozeným prostředím kvasinek a kvasinkovitých organismů je vzduch, půda, voda nebo těla rostlin i živočichů. Jak již bylo v úvodu zmíněno, kvasinky jsou charakteristické svými sacharolytickými vlastnostmi, což znamená, že jejich živnou půdou je především dostatečné množství cukrů a proto se vyskytují nejčastěji na ovoci, zejména kvasinky rodu *Saccharomyces* nebo *Kloeckera* (rybíz, angrešt, hroznové víno, meruňky, broskve, švestky apod., případně cukernaté potraviny jako je med, mošty, ovocné šťávy atd.). [1]

Mimo výše uvedené se kvasinky nacházejí v tělech živočichů i člověka, kde za normálních okolností žijí v symbióze s ostatními mikroorganismy. Jako jednoho ze zástupců lze jmenovat kvasinku *Candida albicans*, která žije v ústech, v krku, ve střevech a v urogenitálním traktu zdravého člověka nebo dále kvasinka *Trichosporon cutaneum*, jenž žije ve vlasech a vousech. V případě oslabené imunity může dojít k pomnožení kvasinek, které způsobují řadu onemocnění jako např. atopický ekzém nebo kandidózy atd. [1, 14]

Kvasinky se šíří v přirozeném prostředí za pomoci hmyzu nebo vzduchu. Na stromech, zejména jehličnatých, způsobují kvasinky rodu *Pichia* nebo *Debaryomyces* charakteristický voskový povlak. Místem výskytu kvasinek jsou rovněž květní nektary a za rizikové bý-

vá označováno právě období kvetení stromů nebo dozrávání ovoce, kdy je vzduch přesycen kvasinkami. Toto období představuje jistou míru ohrožení výroby droždí, neboť vzduch kontaminovaný cizími kvasinkami narušuje kvasné procesy droždí a snižuje tak jeho trvanlivost. [1]

Kvašení se využívá zejména v potravinářství, ovšem své uplatnění našly kvasinky i při výrobě tzv. mikrobiální biomasy. Biomasa je vyráběna z mikrobiálních bílkovin, což jsou sušené buňky několika různých skupin mikroorganismů – jedná se zejména o *Candidu utilis*, *Candidu tropicalis*, *Candidu valida* nebo např. *Rhodotorulu glutinis*. [15]

Výroba mikrobiální biomasy má své opodstatnění zejména v zemích, které nemají dostatek krmných rostlinných nebo živočišných bílkovin nebo zde nejsou optimální podmínky pro pěstování rostlin či chov zvířat. Nedostatkem mikrobiální biomasy je především vysoká cena a proto bývá biomasa nahrazována levnější sojovou nebo rybí moučkou. Náklady na výrobu biomasy ovlivňuje hodnota vstupního materiálu, a to až už melasy a odpadů jejího zpracování nebo škrobnatých surovin a zbytků z výroby škrobu, odpadů z papírenství a celulosy, bavlníkových odpadů, slámy či petrochemických surovin. S ohledem na užití různých vstupních surovin jsou odlišné i technologické postupy výroby biomasy. [15]

Postup výroby mikrobiální biomasy musí projít velmi jednoduše řečeno fázemi, jako je odstranění SO<sub>2</sub> vzduchem z výluhů, následuje neutralizace vápenným mlékem, kdy je pak nutné odstranění sedimentu, po chlazení je dalším krokem přidání živin do fermentačního média a následná homogenizace. Nejdůležitějším krokem je kultivace mikroorganismů na růstovém médiu, kdy smyslem je získat co nejvíce biomasy s vysokým podílem bílkovin. Po ukončení kultivace následuje separace kvasinek od kultivačního média a jejich praní. Termolýza, čímž se rozumí zahřívání parou na teplotu 70°C po dobu 45 minut, usmrtí většinu kvasinek v kvasničné suspenzi, následné odpařování a sušení jsou pak finálními kroky při výrobě sušeného droždí. Při zpracování 1 tuny sušené kvasničné biomasy je výsledným produktem asi 500 kg bílkovin, 220 kg esenciálních aminokyselin, jako je např. lysin, cystein nebo tryptofan a rovněž 9 kg vitaminů skupiny B, ale i provitamin D. [15]

Biomasa se ve většině případů užívá pro hospodářské účely, zejména jako krmivo hospodářských zvířat. Od 1. listopadu roku 2003 (vyhláška č. 284/2003 Sb., kterou se mění vyhláška č. 451/2000 Sb., kterou se provádí zákon o krmivech) platí v České republice zákaz zkrmování masokostních mouček a většiny dalších krmných surovin živočišného původu.

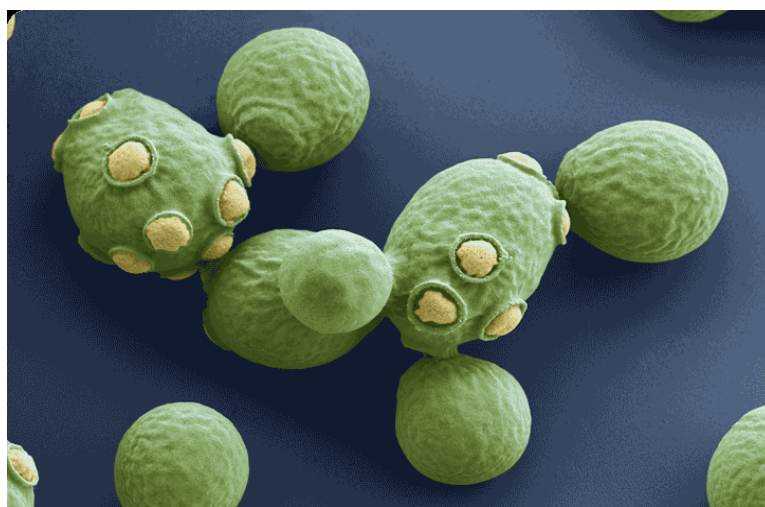
Masokostní moučka je bílkovinné krmivo, které vzniká likvidací živočišného jatečního odpadu v kafilériích. Mikrobiální biomasa se proto jeví jako adekvátní náhražka, neboť odpovídá veterinárním i zdravotním požadavkům. V České republice se užívá z potravinářského hlediska mikrobiální biomasa jen pro výrobu pekařského droždí a pivovarských kvasnic. [15, 16]



Obrázek 1 Bioreaktor v Salzburku, zdroj: <http://biom.cz/cz11t-bioplyn/odborne-clanky>

### 3 STRUKTURÁLNÍ SLOŽENÍ KVASINKY

Jak již bylo zmíněno, kvasinky patří mezi eukaryotní organismy, tzv. houby neboli *Fungi*. Mají většinou elipsovitý, vejčitý nebo kulovitý tvar a nevytváří žádný pohybový orgán. Velikost buňky se pohybuje mezi 2 až 20  $\mu\text{m}$ . Stavba buňky kvasinky se skládá z buněčné stěny, cytoplazmatické membrány, cytoplazmy, která obsahuje ještě další struktury neboli organely, a z jádra. Kvasinka *Saccharomyces cerevisiae* slouží jako modelový organismus, kdy cílem není popsat jen tento konkrétní druh kvasinky, nýbrž celou řadu obecných jevů a vlastností vztahujících se i na jiné organismy, a to zejména pro její podobnost se savčí buňkou. Vzhledem k dokonalému přečtení genetické informace kvasinky je kvasinka nedílnou součástí genomového inženýrství, kdy je využíváno mimo jiné i 2 $\mu\text{m}$  plazmidu jako podkladu pro kvasinkové vektory nebo haploidního stádia kvasinky pro vytváření mutantních kmenů. Z pohledu genomového inženýrství lze s kvasinkou poměrně snadno pracovat a vnášet do ní řadu cizích genů, mimo jiné je testování výrazně ekonomicky úspornější než testování savčích buněk. [1, 2, 17, 33]



Obrázek 2 Buňka *Saccharomyces cerevisiae*, zdroj:  
<http://www.microbiologyonline.org.uk/about-microbiology/introducing-microbes/fungi>

#### 3.1 Buněčná stěna

Buněčná stěna kvasinek je charakteristická svojí velmi pevnou strukturou, čímž udržuje a určuje tvar buňky a zároveň chrání buňku před mechanickými nebo chemickými okolními vlivy. Buněčná stěna vyrovnává prostřednictvím pórů na povrchu, které volně propouštějí

vodu, minerály a sloučeniny mimo polysacharidů a glukosy, osmotický tlak v buňce, čímž je zajištěno rovnovážné rozložení vody v buňce. Polysacharidy utváří 80% buněčné stěny jako souvislou spleť vláken, jež je vyplněna bílkovinou. Buněčná stěna dále obsahuje určitý podíl lipidů, fosforečnanů a fosfolipidů. Glukany tvoří hlavní složku stěny utvořené z polysacharidů, dalším zkoumáním buněčné stěny byl zjištěn i obsah jiných látek jako jsou například mannany. Buňku lze zbavit pomocí rozkladné směsi vytvořené ze slin *Helix pomatia* (hlemýžď zahradní) nebo aplikací enzymů jako např. *Bacillus circulans* či *Cytophaga johnsonii* její buněčné stěny, čímž vzniká tzv. protoplast. Zbavena své buněčné stěny a nechráněna před okolními vlivy buňka praská a uvolňuje svůj obsah, čehož bývá využíváno při izolaci organel. [1, 2, 3, 17]

### 3.2 Cytoplazmatická membrána (plazmalema)

Jedná se o poměrně tenkou 7,5 až 8 nm silnou vrstvu, jež vytváří četné vychlípeniny zasahující do cytoplazmy, ohraničuje buňku a je viditelná pouze mikroskopicky. Membrána obsahuje především fosfolipidy, steroly a proteiny, dále bílkoviny a oligosacharidy. Její základní funkcí je selekce látek, jež pronikají dovnitř a ven z buňky, je obalem protoplastu a osmotickou bariérou a přenáší informace mezi buňkou a jejím okolím. Tzv. periplasma je prostorem mezi buněčnou stěnou a cytoplazmatickou membránou, kde jsou uloženy enzymy jako např. fosfatasa a invertasa. [1, 2, 3, 17]

### 3.3 Cytoplazma

Cytoplazma tvořená z 80% vodou představuje koloidní roztok různé hustoty a viskozity, složený z vysokomolekulárních a nízkomolekulárních látek. Je úložištěm buněčných struktur a organel, které představují různé metabolické systémy v buňce a jsou odděleny navzájem membránami. V cytoplazmě se odehrávají některé chemické reakce kvasinkové buňky např. glykolýza. [1, 3]

#### 3.3.1 Endoplazmatické retikulum

Cytoplazma obsahuje hladké nebo drsné endoplazmatické retikulum, což je systém vzájemně propojených cisteren, lamel nebo tubulů obsahujících enzymy a rezervní látky. Retikula jsou uzavřena dvěma membránami a chrání jeho obsah - enchylemu. Odlišnosti jsou patrné na obou površích retikul, kdy se na drsném retikulu vyskytují ribozómy, které činí

povrch granulózním na rozdíl od povrchu hladkého retikula. Jak již názvy obou systémů naznačují, nejedná se o dvě rozdílné části buňky jen názvem, ale především svojí funkcí. V drsné části endoplazmatického retikula probíhá syntéza bílkovin a procesy včetně transportu látek se syntézou související. Hladké endoplazmatické retikulum se účastní produkce steroidů. Obě retikula jsou zároveň místem pro ukládání a přenos meziproductů metabolismu. [1, 2, 3, 4]

### 3.3.2 Mitochondrie

Mitochondrie představuje velmi malý, kulatý, válcovitý, laločnatý až vláknitý útvar o velikosti 0,3 až 1  $\mu\text{m}$  šířky a 1 - 3  $\mu\text{m}$  délky, kterých se nachází v buňce kvasinky velké množství řádově počítáno na stovky. Počet a tvar je odvislý nejen od druhu kvasinky, ale i od kultivačního prostředí nebo růstové fáze, v níž se kvasinka nachází. Jako většina částí buněk je i mitochondrie obalena nikoliv jednou, ale dvěma membránami, z nichž vnější má velmi drsný pórovitý povrch a vnitřní tvoří vchlípeniny tzv. lišty, lamely nebo kristy, které pronikají dovnitř mitochondrie. Tyto membrány uzavírají obsah mitochondrie – tzv. matrix. Vedle bílkovin, lipidů a fosfolipidů obsahuje mitochondrie také určité množství RNA (ribonukleová kyselina) a DNA (deoxyribonukleová kyselina). V mitochondrii jsou soustředěny enzymy dýchacího řetězce a systém oxidační fosforylace. [2, 3, 4]

### 3.3.3 Vakuola

Vakuola je nejvýraznější částí cytoplazmy kvasinek. Tato kulatá organela s bradavičnatým povrchem je ohraničena od cytoplazmy membránou označovanou jako tonoplast. V mladších buňkách, zejména při fázi pučení, což je jeden ze způsobů rozmnožování, je patrné uskupení několika menších vakuol, které se postupně během dozrávání slučují v jednu větší vakuolu, která u starší buňky představuje prakticky celou výplň buňky. Vakuola, jež obsahuje roztok propouštějící světlo, představuje místo, kde se děje rozkladný proces těch částí buněk, které se neustále obnovují a rozkládají jako např. některé typy enzymů. Vakuola obsahuje hydrolytické enzymy, polyfosfáty nebo draselné ionty. Zároveň je rezervoárem neaktivních látek, jako je volutin či některé enzymy jako proteasa, ribonukleasa či esterasa. [1, 2, 33]

### 3.3.4 Golgiho aparát

Golgiho aparát se nachází ve zjednodušené formě i v buňce kvasinky jako soubor cisteren membránového charakteru či zploštělých měchýřků jinak řečeno tzv. diktozomů, které jsou uloženy rovnoběžně vedle sebe. Přenos prekurzorů buněčné stěny z cytoplazmy přes plazmatickou membránu je jednou z podstatných činností Golgiho aparátu vedle účasti na reverzi kvasinkovitých protoplastů. [1, 2, 4]

## 3.4 Jádro

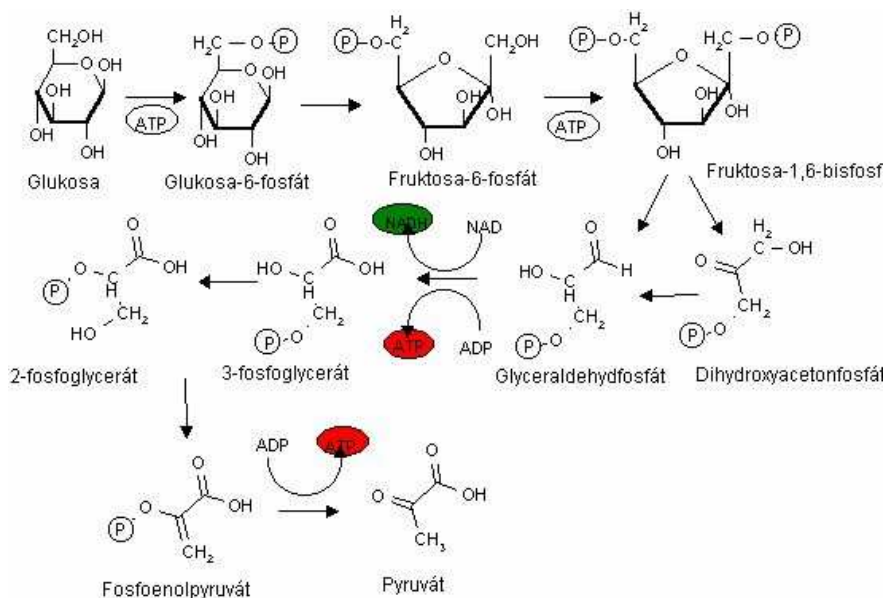
Kulaté jádro buňky bývá zpravidla umístěno v samotném středu buňky a je zde uložen genetický materiál buňky. Je základním kamenem buňky, bez něhož není buňka schopna dlouhodobě přežít. Jádro se velmi často přizpůsobuje tvaru buňky, má kulovitý či mírně protáhlý tvar a v obecné rovině lze hovořit o rozměrech jádra dosahujících zhruba 5–10  $\mu\text{m}$ , což představuje asi 10% celkového objemu buňky. Jádro je obaleno a chráněno dvěma fosfolipidovými membránami neboli jaderným obalem – tzv. karyolemou, jejíž povrch obsahuje póry, které mají sloužit k transportu látek přes membránu. Pod karyolemou se nachází vrstva karyoplazmy, jež obaluje jadérko a vyplňuje samotné jádro. Karyoplazma obsahuje chromatin, tedy deoxyribonukleovou kyselinu, zkráceně DNA, který je nositelem genetické informace, a několik dalších látek jako jsou histony nebo bílkoviny. Součástí karyoplazmy je i jadérko, které obsahuje ribonukleovou kyselinu (RNA). V jadérku probíhají různé enzymatické procesy související s DNA a RNA. Jadérko navíc obsahuje tzv. pólové tělísko vřetenka, které je nezbytné při dělení jádra během rozmnožování buněk. [1, 2, 4, 32]



## 4 METABOLISMUS, ROZMNOŽOVÁNÍ KVASINEK A BUNĚČNÝ CYKLUS

### 4.1 Metabolismus kvasinek

Metabolismus kvasinek neboli látková výměna představuje řadu biochemických procesů, jako jsou dostatek energie a stavebního materiálu pro zachování životních pochodů kvasinky, obnova vnitrobuněčných struktur, výměna látek s okolním prostředím nebo růst a rozmnožování, které závisí na řadě okolních faktorů jako jsou optimální přísun živin, ideální teplota a pH prostředí – tyto základní podmínky vedou k rychlé syntéze buněčné hmoty. Kvasinky jsou velmi přizpůsobivé svému okolí a stejně tak se přizpůsobuje okolí i metabolismus, který se vyznačuje vysokou mírou adaptability. Pokud nejsou tyto podmínky zachovány, metabolismus se zpomaluje a kvasinka využívá vlastních buněčných rezerv, což může vést až ke smrti buňky. Metabolismus je tvořen katabolickými a anabolickými procesy, kdy katabolické procesy představují získávání energie oxidací organických sloučenin a anabolické procesy znamenají syntetickou reakci, čili dochází ke spotřebě energie nutné pro tvorbu složitějších látek nezbytných pro život kvasinky. [1, 3]



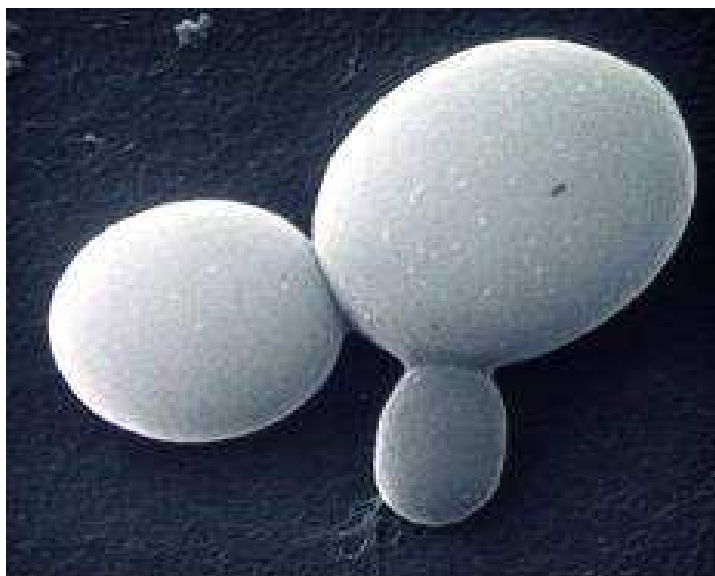
Obrázek 3 Glykolýza, zdroj: <http://www.viviente.cz/sacharidy/>

Výše uvedené schéma alkoholového kvašení neboli tzv. glykolýza představuje jeden z nejzákladnějších anaerobních katabolických procesů, kdy přeměnou cukrů – tedy glukosy a následnými enzymatickými reakcemi dochází k zajištění životních funkcí mikroorganismů.

## 4.2 Rozmnožování kvasinek

### 4.2.1 Pučení jako nepohlavní forma rozmnožování

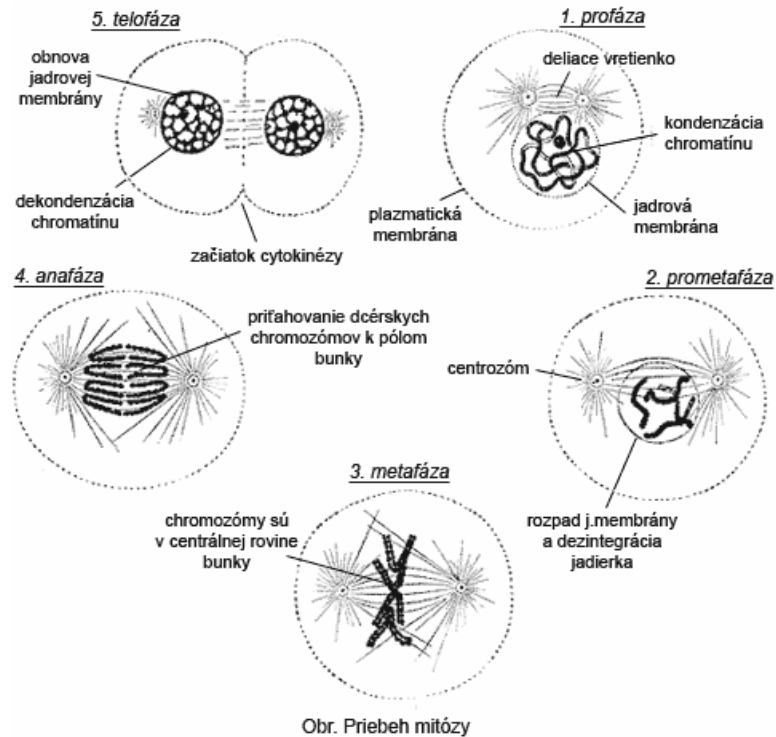
Znakem nepohlavního rozmnožování kvasinek neboli pučení je nejen vznik nové buňky, ale i jizev, které zůstávají na buněčné stěně v důsledku pučení po celou dobu její existence. Tyto jizvy nikdy nevznikají na stejném místě a jsou pojmenovány jako tzv. jizva zrodu a jizva mateřská, zároveň je tento typ pučení označován jako tzv. multipolární. Jizva zrodu se utváří na povrchu dceřiné buňky v místě oddělení od buňky mateřské. Jizva mateřská je znakem oddělení mateřské buňky od dceřiné. Počet jizev na buněčné stěně je hodnotícím kritériem stáří buňky, kdy v průměru může povrch buňky kvasinky obsahovat až 32 takovýchto jizev. [2]



Obrázek 4 Pučení *Candidy albicans*, zdroj:  
<http://www.zdravi4u.cz/view.php?cisloclanku=2007101701>

Při nepohlavním rozmnožování dochází zjednodušeně řečeno ke vzniku malé dceřiné buňky neboli pupene na těle mateřské buňky. Čočkovitý útvar vzniká v místě, kde buňka začíná pučet. Zde se nejprve shromažďují, splývají a dělí orgány jako je endoplazmatické retikulum, vakuola a mitochondrie, které následně přecházejí do pupene. Zároveň v této fázi začíná i mitotické dělení jádra, které migruje společně s dalšími složkami cytoplazmy k pupenu. Samotné pučení uzavírá vytvoření cytoplazmatické membrány a buněčné stěny mezi mateřskou a dceřinou buňkou, pupen se po dokončení vzrůstu a spojení drobných

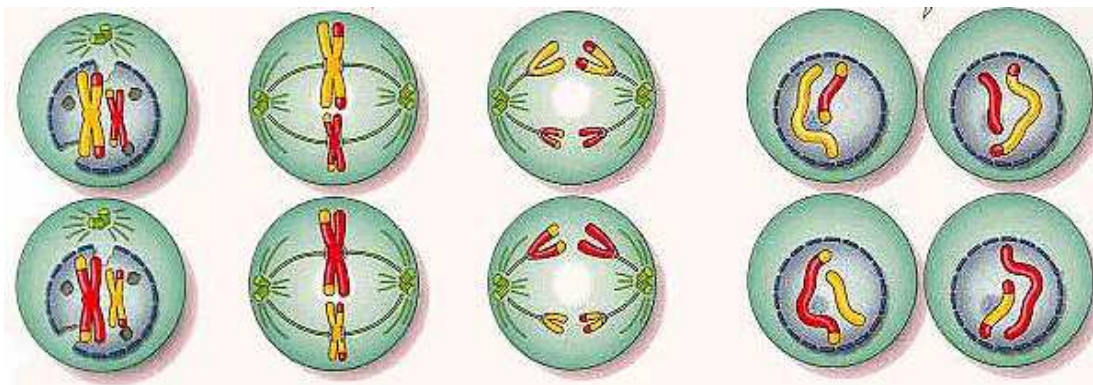
vakuol ve vakuolu jedinou nakonec od mateřské buňky zcela oddělí. Pokud oddělení neproběhne, vznikají tzv. buněčné svazky. Tento způsob rozmnožování je typický právě pro kvasinku *Saccharomyces cerevisiae*. [1, 2]



Obrázek 5 Průběh mitózy, zdroj:  
<http://www.bioweb.genezis.eu/?cat=2&file=mitoza>

#### 4.2.2 Pohlavní rozmnožování

Vedle pučení jsou kvasinky schopny se rozmnožovat pohlavně tvorbou pohlavních spor čili endospor v tzv. věcku (lat. *Ascus* – neboli asko), odtud jsou také kvasinky zařazeny mezi *Ascomycotina* do kategorie věckovýtusých hub. Proces pohlavního rozmnožování kvasinek představuje spájení dvou buněk haploidního charakteru (s jednou sadou chromozomů), což je označováno jako konjugace nebo kopulace, kdy dojde zároveň k tzv. karyogamii, jenž je spojením dvou jader dohromady, čímž vzniká jedno diploidní jádro, které je následným redukčním dělením neboli tzv. meiózou rozděleno ve čtyři haploidní jádra, kdy každé jádro obsahuje polární tělíčko s mikrotubuly a haploidní počet chromozomů. [1]



Obrázek 6 Meióza, zdroj: <http://giobio.ic.cz/obrazky/obecka.htm>

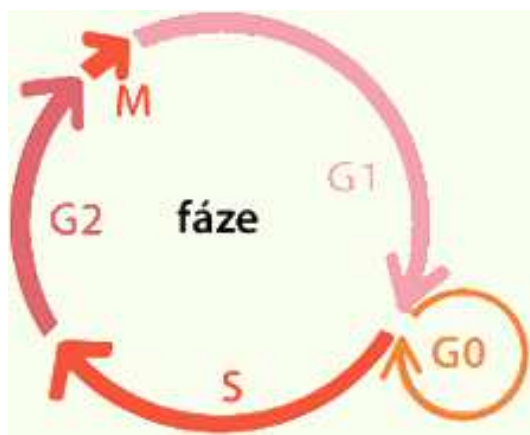
### 4.2.3 Buněčný cyklus

Buněčný cyklus představuje souhrn opakujících se procesů, které se dějí v buňce v dvou po sobě jdoucích buněčných děleních, kdy dochází k replikaci genetické informace a jejímu přenosu do nově vznikající buňky. [3]

**Interfází**, což je období mezi dvěma po sobě jdoucími mitózami, se označuje několik přípravných stupňů, které jsou následovány buněčným dělením. Jedná se o:

- a) presyntetickou  $G_1$ -fázi – je fáze charakteristická pro začátek přípravy dělení nejen jádra resp. replikace DNA, ale i celé buňky, ve které se nachází každý gen jen jednou. Dochází k syntéze ribonukleové kyseliny, proteinů, ribozomů či bílkovin a vytváří se zásoba nukleotidů. Buňka roste a zvětšuje svoji velikost, dochází k nárůstu objemu cytoplazmy v buňce a dělení mitochondrie. Jedná se o časově nejdelší část buněčného cyklu. Za nepříznivých podmínek však přechází buňka do klidové  $G_0$  fáze, kdy s ohledem na nepříznivé vnější a vnitřní podmínky pro dělení pozastavuje svůj růst. Pokud však průběh přípravné  $G_1$ -fáze nic nenarušuje, přechází tato fáze v syntetickou S-fázi, kdy dochází k replikaci DNA. [18, 19]
- b) syntetická S-fáze představuje zdvojení genetického materiálu čili syntézu chromozomální DNA a vytvoření dvou chromatid z jednoho chromozomu. I nadále pokračuje spájení RNA a proteinů. [1, 18, 19]
- c) replikace DNA je ukončena v postsyntetické  $G_2$ -fázi. Buňka dále pokračuje v růstu, tvorbě jiných buněčných struktur a připravuje se na mitotickou M-fázi. [18, 19]
- d) součástí interfáze jsou navíc kontrolní body buněčného cyklu a to vždy na konci  $G_1$  a  $G_2$ -fáze a anafáze, kdy je spuštěn mechanismus kontroly průběhu dané fáze. Zejména kontrola veškerých fází replikace DNA je velmi důležitá a tato poškození

detekují sensorové mechanismy. Při zjištění poškození je buněčný cyklus pozastaven, opraven a nadále pokračuje. Pokud však je poškození závažného charakteru, dochází k buněčné smrti neboli tzv. efektorovému mechanismu. [20]



Obrázek 7 Buněčný cyklus, zdroj:  
<http://www.ivaherbar.wz.cz/bunka/bun5.php>

**M-fáze**, též označovaná jako mitotická, je konečnou fází buněčného cyklu. Tato fáze je členěna na karyokinezi, která souvisí se změnami a rozdělením jádra a dále na cytokinezi, kdy jsou nové buňky vybaveny cytoplazmou a ostatními organelami v ní obsaženými a zároveň dochází k rozdělení na dvě geneticky identické dceřiné buňky. Cytokinezi lze časově zařadit souběžně s G<sub>1</sub>-fází dalšího buněčného cyklu. M-fáze prochází pěti stádii - a to profází, prometafází, metafází, anafází a telofází. Všechny tyto uvedené fáze jsou spojeny výlučně s předáním genetické informace dceřiným buňkám a vzniku identických shodně geneticky vybavených buněk jako byla buňka mateřská. [2, 18]

## 5 TŘÍDĚNÍ KVASINEK

Dle mezinárodní publikace „The Yeasts. A Taxonomic Study“ z roku 1984 jsou kvasinky členěny dle způsobu rozmnožování do tří skupin [1]:

1. rody tvořící askopory řadící se mezi tzv. *Ascomycetes* (vřeckaté houby)
2. rody tvořící bazidiospory neboli *Basidiomycetes* (stopkovýtrusné houby)
3. rody, u nichž není známa tvorba pohlavních spor čili způsob pohlavního rozmnožování, jsou řazeny mezi tzv. *Deuteromycetes*. [1, 2]

### 5.1.1 Ascomycetes

U tohoto rodu lze členit kvasinky dle specifických způsobů rozmnožování takto:

- a) vegetativní rozmnožování multilaterálním pučením – zde vyčnívá především rod *Saccharomyces*, resp. kvasinka *Saccharomyces cerevisiae*, která jak již bylo zmíněno slouží jako modelový organismus a pro svou schopnost zkvašovat cukry zejména glukosu, sacharosu, maltosu, galaktosu atd. našla významné místo v potravinářství, kde je užívána jako kvasinka pivovarská, vinařská, pekařská či lihovarská. Tuto skupinu dále rozšiřují rody, jež dobře rostou za přítomnosti 50 až 60% glukosy v prostředí a způsobují např. kažení medu či čokoládových figurek, za čímž stojí kvasinky rodu *Zygosaccharomyces*, dále se jedná o rody *Kluyveromyces*, *Pichia*, *Debaromyces*, *Lipomyces*, *Nematospora*, *Metschnikowia* a *Yarrowia*, jež je užívána při produkci biomasy z ropných alkanů. [1]
- b) vegetativní rozmnožování bipolárním pučením na široké základně – sem náleží rody *Saccharomyces*, *Nadsonia* a *Wickerhamia*. [1]
- c) vegetativní rozmnožování dělením – rody patřící do této skupiny se dělí dále na ty, jež nevytváří mycelium resp. podhoubí a množí se tvorbou sept neboli přepážek, zde náleží rod *Schizosaccharomyces*. Mezi rody, které vytváří mycelium, patří *Endomycopsis*, *Eremothecium*, *Ashbya* a *Saccharomycopsis*. [1]

### 5.1.2 Basidiomycetes

Tuto skupinu, která nezkrvašuje cukry, utváří rody pučících kvasinek, které tvoří tzv. bazidiospory neboli výtrusy a tzv. teliospory, což jsou kulovité silnostěnné útvary a jejich rozdělení je následovné [1, 2]:

- a) čeleď *Filobasidiaceae* – tvořena z rodu *Filobasidium* a *Filobasidiella*. Poslední jmenovaný rod kvasinek způsobuje závažná onemocnění tkání člověka a zvířat, zejména napadá mozkovou tkáň a velmi často způsobuje smrt.
- b) rody tvořící sporidie – *Rhodospodium*, *Sporidiobolus* a *Leucosporidium*.
- c) kvasinkovitá stádia vyšších bazidiomycet – tvořena řádem *Tremellales*. [1]

### 5.1.3 Deuteromycetes

Zde náleží rody, u nichž není známa tvorba pohlavních spor a velmi často proto bývají kvasinky a kvasinkovité mikroorganismy této skupiny označovány rovněž jako kvasinky nepravé, cizí nebo též divoké. Hovoří se o veškerých jiných rodech nebo druzích, než jakými jsou kulturní kvasinky. Identifikátorem nepravých kvasinek je způsob rozmnožování, biochemické znaky, aerobní nebo anaerobní metabolismus a v neposlední řadě i počet, velikost a tvar spor, které mohou být například kloboukovité, jako je tomu u rodu *Pichia* nebo jehlicovité, typické pro rod *Nematospora*. [1, 3]

Do popředí z této skupiny vystupuje rod *Candida*, který čítá asi 160 druhů kvasinek. Z tohoto hojně zastoupeného rodu vyčnívá *Candida utilis*, která slouží k produkci krmného droždí vyráběného z melasy a některých odpadních materiálů jako jsou např. louhy po citrónovém kvašení, při kterém vzniká kyselina citronová. [1]

*Deuteromycetes* obsahuje rody *Candida*, *Brettanomyces*, *Kloeckera*, *Cryptococcus*, *Rhodotorula*, *Sporobolomyces*, *Trichosporon* a *Geotrichum*. [1]

## 6 PRŮMYSLOVĚ VÝZNAMNÉ KVASINKY – PIVOVARSTVÍ, VINAŘSTVÍ, PEKAŘSKÉ DROŽDÍ

### 6.1 Pivovarství

Podstatou výroby piva jako alkoholického nápoje jsou dva základní principy, a to rozštěpení složitých cukrů (škrobů) v obilných zrnech na jednoduché zkvasitelné cukry a dále zkvašení těchto jednoduchých cukrů za užití kvasinek. [3]

#### 6.1.1 Suroviny k výrobě piva

Pivo je po staletí vyráběno ze tří základních surovin, a to sladu, chmele a vody. Slad je vyráběn z ječmene setého (lat. *Hordeum sativa*), který je ceněn pro svoji velmi snadnou klíčivost a zpracovatelnost, stejně tak jako pro své typické chuťové vlastnosti. Výroba piva podléhá převážně sladům z jarního ječmene. Hodnotícím kritériem sladu je především kvalita a čistota pěstované odrůdy, která vstupuje do výrobního procesu, neboť slad dodává pivu hlavní podíl extraktivních látek a jednotlivými technologickými postupy se tak zvyšuje odolnost piva proti nebiologickým zákalům, stejně tak stabilita konečného produktu. Chemické složení kvalitního sladu závisí na vlhkosti, která nesmí být vyšší než 6%, obsahu extraktu, který ovlivňuje samotné kvašení, obsahu škrobu ve škrobových zrnech, která jsou tvořena až z 98% chemicky čistým škrobem, dusíkatých látkách, neškrobových polysacharidech, lipidech, polyfenolových sloučeninách a některých dalších sloučeninách ve sladu obsažených. Pro výrobu piva se užívají zejména světlé slady plzeňského typu a tmavé slady mnichovského typu (světlá a tmavá piva), dále některé speciální slady jako slad karamelový, nakuřovaný nebo barvicí, jež jsou užívány pro speciální typy piv nebo náhražky sladu jako škrobnaté nebo cukernaté náhražky sladu či sladové výtažky. [3]

Chmel otáčivý (lat. *Humulus lupulus*) udává charakteristickou hořkou chuť piva především díky obsahu chmelových pryskyřic obsažených v samičích květenstvích, jež jsou využívána pro pivovarské účely. Sběr chmele resp. chmelových hlávek probíhá v měsících červnu a červenci, kdy hlávky ještě neobsahují semeno, které vzniká po oplození a není z hlediska zpracování chmele žádoucí. Chemické složení chmele je odvislé od pěstované odrůdy a místa pěstování. Obecně se udávají následující parametry: 10,0% vody, 15,0% pryskyřic, 4,0% polyfenolových látek, 0,5% silic, 3% vosků a lipidů, 15,0% dusíkatých látek, 44,5% sacharidických látek a 8,0% minerálních látek. Pro pivovarské účely hraje velmi význam-



nou roli obsah pryskyřic, polyfenolů a silic. Chmel pěstovaný na území České republiky dosahuje 3 až 5% hořkých kyselin, které se měří konduktometrem a vyjadřují se procentuálně jako konduktohodnota (KH). Jedná se zejména o  $\alpha$ -hořké kyseliny, které jsou tvořeny z humulonu, adhumulonu a kohumulonu, prehumulonu, posthumulonu a adprehumulonu a dále méně účinné  $\beta$ -hořké kyseliny, tedy lupulon, adlupulon a kulupulon, prelupulon a postlupulon. Hlávky navíc obsahují homulinon a lupotriion, což jsou měkké pryskyřice a dále tvrdé pryskyřice jako je humulinová a hulupinová kyselina, chmelové silice, polyfenolové látky chmele, sacharidy, lipidy, dusíkaté látky atd. [3, 21]



Obrázek 8 Chmelové hlávky, zdroj:  
<http://www.vancouverseedbank.ca/products/392/hops.jpg>  
 pg

Balení a skladování výrazně ovlivňuje kvalitu a trvanlivost chmele, proto by měl být chmel dokonale vysušen, což je zároveň i nejefektivnější způsob jeho konzervace a balení dle účelu pro krátkodobou nebo dlouhodobou spotřebu. Skladování chmele je nutné v chlazených místnostech s teplotou kolem 0°C bez přístupu světla čili v temnu. [3]

Voda a pivovarství jdou společně ruku v ruce, neboť spotřeba vody v tomto odvětví je jednou z největších. S ohledem na použití v té které části technologického procesu je voda členěna na vodu [3]:

- a) varní – vzhledem k obsahu vody v pivu, což činí 75 až 80% hmotnosti, by varní voda měla splňovat požadavky vody pitné, tzn. je kladen důraz na zdravotní a hygienickou nezávadnost

- b) mycí a sterilační – užitím chloru je voda zbavena veškerých mikroorganismů včetně zápachu a je užívána pro výplachy a sterilizaci
- c) provozní – která je upravována podle potřeb pro jednotlivé části výroby a rovněž výplachy výrobních zařízení. [3]

### 6.1.2 Procesy předcházející kvašení piva

Prvním krokem ve výrobě piva je příprava sladu, jejíž podstatou je **máčení** vytríděných a čistých ječmenných zrn ve sladovnách tak, aby zrna přijala vodu a zvýšila svůj objem až o 42 - 45% při produkci světlých sladů a o 45 – 48% při produkci sladů tmavých při teplotě 14 – 18°C, čímž je započat fyziologický proces klíčení zrna. Smyslem máčení v náduvnících, které trvá zhruba 2 dny, je zahájení enzymatických procesů v zrně spojených se syntézou dalších enzymů, které vedou k tzv. rozluštění zrna resp. endospermu zrna, jež se děje právě při obsahu zhruba 45% vody v zrně. Nejrychleji přijímá zrna máčecí vodu v prvních 4 – 8 hodinách, rovněž je důležitá i vhodná teplota této vody, neboť platí, že čím je máčecí voda teplejší, tím rychleji zrna vodu absorbuje. Během máčení je nutné zrna v máčárnách provzdušňovat a několikrát vyměnit i vodu, neboť vznikající oxid uhličitý působí nepříznivě na aerobní dýchání zrna a vznikající anaerobní neboli mrtvé dýchání by následné klíčení zrna mohlo zastavit. Výsledkem tohoto procesu by mělo být dosažení optimálního stupně domočení. Jako rizikové se jeví nedomočení zrna, jež lze však napravit přikropením během klíčení. Zcela nevhodné je však přemočení zrna, kdy v důsledku nedostatku kyslíku dochází k zrychlenému a nestejnému růstu zrna, jako i nedostatečnému rozluštění bílkovin, čímž je ovlivněna jakost konečného produktu ve formě nebiologických zákalů. [21, 22, 23]

Máčení spouští **klíčící pochody v zrně**, čehož je dosaženo umělým vytvořením podmínek přirozeného klíčení zrna, které probíhá v tzv. hromadách ve velkých místnostech neboli humnech s podlahou z hlazeného betonu, kde se pohybuje určitá stálá teplota, relativní vlhkost vzduchu 85 – 95% a rovněž nezbytné je i větrání. Vedle klasických humen může klíčení, jež trvá zhruba 5 dní, probíhat i ve speciálně konstruovaných pneumatických zařízeních jako jsou např. Saladínovy skříně nebo Gallandovy bubny. Z hlediska výrobního postupu má nepostradatelný význam rozluštění zrna a tvorba enzymů jako jsou fosfatasy, cytasy, amylasy a proteasy, které stojí za řadou změn v zrně. Např. fosfatasy způsobují kyselé reakce v zrně, jež jsou nepostradatelné pro činnost dalších enzymů. Působením cytasy dochází k měknutí zrna resp. k jeho cytolytickému rozluštění, kterému předcházelo na-

rušení endospermu, jež obsahuje škrob a makromolekuly bílkovin. Štěpení škrobů obsažených v endospermu na maltosu a glukosu se děje prostřednictvím amylasy. Přirozeně obsažena je v zrně cukrotvorná  $\beta$ -amylasa, dextrinotvorná  $\alpha$ -amylasa vzniká působením kyslíku postupně v průběhu klíčení zrna. Byť v této fázi klíčení probíhá štěpení škrobů ve velmi omezené míře, je aktivace tohoto enzymu nezbytná pro pozdější hydrolyzu škrobu během rmutování. Za účasti enzymů tedy dochází v zrně k morfologickým (růst obilky, střílky a kořínků), histologickým (měknutí endospermu resp. rozluštění zrna) a metabolickým procesům (štěpení vysokomolekulárních látek, především bílkovin a škrobu). Rozluštění zrna začíná v obilce nejprve v zárodku, kde dochází nejen k syntéze enzymů, ale i k vytváření růstových látek, a prostupuje celým zrnem až k vrcholu obilky, na jejímž hřbetu se vytváří střílka. Faktorů, jež ovlivňují rozluštění bílkovin v zrně, je několik. Lze hovořit zejména o odrůdě a ročníku ječmene, stejně tak o dostatečné zralosti ječmene v průběhu sklizně, stupni domočení či intenzitě větrání, která má podstatnou roli na začátku klíčení, kdy je započata enzymatická činnost. Kolbachovo číslo je hodnotícím kritériem rozluštění bílkovin udávajícím v procentech vyjádřený podíl dusíku ve sladince vůči celkovému obsahu dusíku ve sladu. Výsledná kvalita sladu je dána pomalým klíčením a pozvolným zvyšováním teploty během klíčení, kdy je dle typu sladu rozlišováno teplé vedení (teplotní rozmezí 20 - 25°C) a studené vedení (teplota do 17°C). Jak již bylo zmíněno, je nutné intenzivní větrání, neboť v důsledku vznikajícího oxidu uhličitého by mohlo být klíčení úplně zastaveno. Proto se hromady několikrát během tohoto procesu provětrávají a přehazují. Klíčení ječmene na humnech prochází několika stádii označovanými jako mokrá hromada, suchá hromada, pukavka, mladík a vyrovnaná hromada. Konečnou fází klíčení, též starou nebo zavadlou hromadou, je vznik zeleného sladu, což je zrno s okurkovou vůní, částečně povadlými, silnými, bílými kořínky, zdravou střílkou a rozluštěným, suchým, měkkým a moučnatým endospermem. [21, 22]

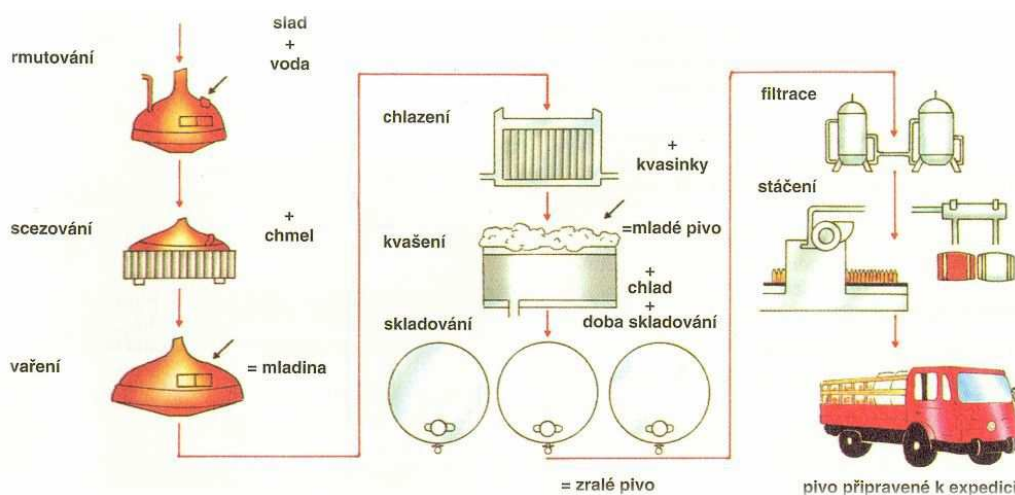
Aby mohl být takto vzniklý slad nasáklý vodu dále zpracován, je nutné snížit obsah vody v zrně na 4% a zachovat chemické reakce omezením aktivity enzymů, některé přímo inaktivovat pomocí **sušení a hvozdění sladu**, čímž navíc vznikají podmínky pro tvorbu barevných, chuťových a oxidoredukčních látek, které udávají tón sladu, zejména vůni, chuť a barvu. Toho je docíleno pomocí užití různých vysokých teplot, kdy hlavní rozdíl spočívá při sušení v tom, že je za dostatečného přísunu vzduchu užíváno teplotní rozpětí 20 – 60°C, naproti tomu hvozdění členěné do tří fází – a to růstové, enzymové a chemické, je dle typu

sladu prováděno při teplotách 60 - 80°C pro slad světlý a nebo teplotách 60 - 150°C pro slad tmavý. Suché kořínky a přerostlá střelka, tzv. sladový květ, jsou od zrna odděleny na odkličovače, čímž končí celá tato jedna výrobní fáze v procesu výroby piva. [21, 22]

Vzniklý slad je společně s vodou, chmelem či chmelovými přípravky použit pro **výrobu mladiny**, která se děje ve varně pivovaru a sestává z následujících kroků [3]:

- a) čišťení a šrotování sladu – k čištění sladu je přistupováno z důvodu odstranění prachu a nečistot, které slad znehodnocují při dopravě a nakládání s ním. Po té je slad šrotován ve šrotovnicích, což představuje mechanické rozdrčení zrna na jemnější a hrubší části tak, aby byly zároveň uchovány pluchy neboli obaly zrna, které slouží jako filtrační vrstva při scezování. Šrot by neměl obsahovat žádná celá zrna. Při šrotování dochází k narušení endospermu zrna, který je tímto procesem připraven pro nadcházející fyzikálně-chemické a enzymové reakce. [3, 21, 22]
- b) vystírání – jehož smyslem je uvolnění maximálního množství rozpustných látek jako sacharosa, maltosa, glukosa, gumovité látky, pentosany,  $\beta$ -glukany, lipidy nebo např. polyfenoly do roztoku, představuje smíchání nálevu varní vody dle závislosti na typu vyráběného druhu piva se sladovým šrotem ve vystíracích nádobách. Vystírání je prováděno zhruba 10 až 30 minut při studené vystírce, kdy teplota vody je nižší než 20°C, při teplé vystírce, kdy voda dosahuje teploty 35 - 38°C nebo při horké vystírce o teplotě vody 50 až 62°C. Následné přidání horké vody do již vzniklého roztoku je označováno jako zapářka. [3, 22]
- c) rmutování – rozštěpení a převedení části extraktu sladu do roztoku v požadovaném množství, na kterém závisí kvalita mladiny včetně analytických a organoleptických vlastností piva, je označeno jako rmutování. Nejcennější je štěpení škrobů za účasti amylolytických enzymů na zkvasitelné cukry. Rmutování je dle použité technologie zpracování členěno na dekokční a infuzní postupy, kdy při dekokčním způsobu je postupným vyhříváním jednoho až tří podílů rmutu prováděno povařování na technologicky důležité teploty rmutování, což vede k postupnému zcukřování škrobu. Infuzní postupy jsou takové, kdy není užito mechanického ani tepelného zpracování, nýbrž je využíváno dlouhodobé působení sladových enzymů za účelem rozpouštění a štěpení extraktu sladu. [3, 22]

- d) scezování – je časově velmi náročným procesem, kdy dochází k oddělení extraktivních látek v roztoku tzv. předku od mláta, tedy od pevného zbytku zcukřeného rmutu ve speciálních scezovacích kádích. Mláto je navíc dále louhováno za účelem uvolnění extraktu pomocí horké vody o teplotě 75 - 78°C a v této souvislosti se hovoří o vyslazování. Získaná sladina by měla být čirá a obsahovat co nejvyšší podíl extraktu. [3, 21, 22]
- e) chmelovar – je řadou na sebe navazujících chemických, mechanických a fyzikálních procesů. Při bodu varu, kdy je sladina vařena s chmelem po dobu 90 – 100 min., dochází k odpaření přebytečného množství vody, úplnému zastavení činnosti enzymů, sterilizaci mladiny, koagulaci vysokomolekulárních dusíkatých látek, redukujícím a oxidačním reakcím včetně uvolnění a reakce  $\alpha$ -hořkých kyselin chmele do roztoku za vzniku iso- $\alpha$ -hořkých kyselin. Zároveň dochází k tzv. Maillardově reakci, což je reakce aminokyselin za účasti sacharidů jako jsou např. monosacharidy, hexosy, pentosy atd. Tato reakce je typická pro vznik barevných látek jako jsou melanoidiny a aromatických látek včetně oxidoredukčních vlastností mladiny a budoucího piva. Vzniklá mladina je konečným produktem chmelovaru a je dále upravována. [3, 22]



Obrázek 9 Procesy výroby piva, zdroj: [http://www.ssss.cz/files/ucebnice\\_3lete\\_obory/pv/maso/pivo.htm](http://www.ssss.cz/files/ucebnice_3lete_obory/pv/maso/pivo.htm)

- f) chlazení mladiny – aby mohla být připravená mladina použita pro velmi důležitou fázi výrobního procesu, jakou je zakvašení kvasinkami, musí být mladina

z chmelovaru ochlazená ve vířivých kádích z teploty zhruba 95 - 97°C na teplotu v rozmezí 5 až 18°C dle typu kvašení, při níž kvasinky mohou plně rozvinout svoji činnost. Jemné a hrubé kaly, jež mladina obsahuje, se vylučují při rozdílných teplotách a jsou proto i označovány rovněž jako kaly horké (= jemné nad 60°C) a nebo chladové (= hrubé pod 60° - 40°C). Ve většině případů je mladina ještě dodatečně filtrována, aby byly jemné kaly v co nejvyšší míře odstraněny a nezpůsobovaly tak problémy při kvašení či nesnižovaly odolnost piva vůči zákalům. Extrakt zchlazené mladiny obsahuje zejména sacharidy a maltosu, dále bílkoviny nebo růstové látky tzv. bios, které jsou nezbytné pro základní životní funkce kvasinek. Navíc je nutné provzdušnění mladiny, neboť kyslík hraje velmi významnou roli pro metabolismus kvasinek a jejich rozmnožování. [3, 21, 22]

### 6.1.3 Hlavní kvašení piva resp. mladiny

Kvasinka *Saccharomyces cerevisiae* je nejen v pivovarství cíleně využívána pro výrobu alkoholických nápojů. Její použití má široký záběr jak při výrobě lihu, tak vína, ale také při produkci kvasných výrobků jako antibiotika nebo enzymy či při výrobě organických kyselin atd. Kvasinky jsou součástí pivovarské mikrobiologie, která se zabývá studiem kvasinek, ale i ostatních mikroorganismů vyskytujících se v pivovarství a shromažďuje informace spojené s životními nároky a projevy mikroorganismů. Pojem kvasinky je používán ve spojení s laboratorní fází při jejich kultivaci, jako kvasnice nebo várečné kvasnice je pojmenována aktivní kvasničná biomasa kvasinek vznikající např. při svrchním kvašení piva. Pivovarské kvasinky jsou v pivovarské terminologii definovány jako kvasinky kulturní, jichž je využíváno při produkci spodně nebo svrchně kvašených piv při určité teplotě, která je významným regulačním prvkem kvašení. Spodně kvašená piva neboli ležáky charakterizuje kvasinka *Saccharomyces cerevisiae* (starší označení - *carlsbergensis*) popř. (*uvarum*), kdy kvasnice volně sedimentují na dno kvasných nádob a optimální teplota je při stacionárním (tradičním) postupu v rozmezí 5 – 9°C, což je označováno jako studené vedení, nebo tzv. teplé vedení při teplotě 12 - 16°C, které je využito u intenzifikovaného postupu, kdy jsou procesy výroby ve velkoobjemových nádobách nebo cylindrokónických tancích (CKT) mnohem intenzivnější a rychlejší než při stacionárním postupu výroby. Naproti tomu svrchně kvašená piva zkvašuje kvasinka *Saccharomyces cerevisiae* při teplotě 15 až 22°C a intenzifikovaný postup není doporučován vzhledem k nevalné kvalitě piva, a to ať už zhoršenou chutí a barvou piva nebo ztrátou pěnivosti piva. Typickým znakem svrchního

kvašení je vynášení kvasnic na hladinu kvasícího média a tím vznik tzv. kvasničné deky. Rozdíly mezi svrchními a spodními kvasinkami jsou zejména ve skladbě genetické informace, růstu na specifických půdách, složité sporulaci kvasinek nebo různé teplotní odolnosti kvasinek či v technologických odlišnostech atd. [3]

Kvašení a fermentační procesy se při výrobě piva dělí na:

- a) hlavní kvašení
- b) dokvašení a ležení piva
- c) filtraci, stabilizaci, stáčení a expedici. [22]

**Hlavní kvašení** je odstartováno rozptýlením kvasinek pomocí dávkovacího čerpadla do zchlazené mladiny. Předpokladem pro bezproblémový průběh kvašení je dokonalé zcukření mladiny a její optimální složení, kdy zhruba 90% tvoří zkvasitelné cukry, dále dusíkaté látky, minerální látky, stopové prvky, vitaminy atd. Většina těchto látek pochází ze sladu, chmele a vody. Vliv na kvašení má rovněž vybraný kvasničný kmen a zákvasná dávka. Za účasti kyslíku dochází k syntéze ergosterolu z glukosy, což je faktor nezbytný pro rozmnožování kvasinek pučením, proto je nutné po dobu zakvašování provzdušňovat mladinu. Progrese kvasinek je znázorněna růstovou křivkou, kdy nejvyšší nárůst je zaznamenáván na počátku kvašení, nejnižší na konci kvašení v důsledku vyčerpání živin. Během hlavního kvašení dochází k řadě změn v mladině jako je pokles extraktu mladiny, změna pH a barvy nebo ke snížení obsahu dusíkatých látek. Podstatné je však zkvašování sacharidů, jejichž hladina v průběhu kvašení klesá a vznikají nejdůležitější metabolity kvašení jako je ethanol a oxid uhličitý. Dále vznikají i vedlejší produkty kvašení - např. isoamylalkohol, isobutanol, aldehydy, ketony, volné mastné kyseliny nebo glycerol či oxid siřičitý. [3, 22]

Jak již bylo uvedeno, dle užitých kmenů kvasinek se rozlišuje spodní (*Saccharomyces cerevisiae* var. *uvarum*) nebo svrchní kvašení (*Saccharomyces cerevisiae*). Výběru kvasnic je dáván velký význam, neboť vybraný kmen je odpovědný za průběh kvašení a konečnou jakost piva. V laboratořích proto dochází k propagaci kultury násadních kvasnic, které by měly mít náležitou mikrobiologickou čistotu, tzn. neměly by být prokázány známky divokých kvasinek, bakterií mléčného kvašení, pediokoků či jiných mikroorganismů. Kvasnice by měly vykazovat určitý stupeň vitality, stejně jako dobré kvasné schopnosti. Za takovýchto okolností jsou pak nasazovány do výroby opakovaně za sebou. Čistá kultura je izolována buď prostřednictvím jediné buňky, nejčastěji se však odebírají provozně osvědčené kvasni-

ce v průběhu nejbouřlivějšího kvašení, kdy se na povrchu kvasného média sdružují co do kvality zdravé a silné kvasnice. Při zakvašování provozně neodzkoušených kvasnic je nutné za použití sterilní mladiny provést rozkvašení, odebrat vzorek a následně provést izolaci kultury. Vedle výběru kvalitní kultury kvasnic je nutné i důsledné uchovávání získané kultury, které je možné provést několika způsoby. Dle provozu pivovaru resp. častého nasazování kvasnic do provozu se volí krátkodobější uchovávání kultury, které se provádí přeočkováním do sterilní mladiny bez přístupu světla a za udržení optimální teploty. Takto naočkovanou mladinu je pak nutné zhruba po 14 dnech v důsledku možné degradace opět přeočkovat. Kulturu lze po delší dobu uchovávat v 10% roztoku sacharosy při stanovené teplotě ve tmě a chladu nebo se využívá tzv. lyofilizace, což je zmrazování kultury. O vhodnosti použití kvasnic rozhodují mikroskopické kontroly, neboť kvasnice mohou být znečišťovány např. prachem, pískem nebo organickými či anorganickými látkami, které pak mohou vyvolat specifické problémy při kvašení. Velmi důležitou vlastností kvasinek, která vyvstává na konci kvasného procesu a je určujícím faktorem výše uvedeného členění, je tzv. flokulace, což je schopnost kvasinek vytvářet shluky a celky a usazovat se na dně nebo povrchu kvasného média. [3, 24]

V současné době se dává přednost **hlavnímu kvašení** tzv. stacionárním postupem v otevřených nebo uzavřených kvasných železobetonových, ocelových nebo např. nerezových kádích, které se děje v tzv. spilkách, což jsou speciálně vystavěné prostory se systémem chlazení a odváděním CO<sub>2</sub>. Kádě jsou konstruovány od 20 do 500 hl, většinou 2 m vysoké, což je vhodné pro usazování kvasnic na dno kádě. Při stacionárním kvašení činí zákvasná dávka 0,5 l kvasnic na 1 hl mladiny s následnou výtěžností 1,5 až 2 l kvasnic na 1 hl mladého piva. Svoji nezanedbatelnou roli zde hraje samozřejmě nízká teplota kolem 4,5 - 6°C a nezbytné provzdušňování mladiny. Hlavní kvašení trvá v průměru 7 až 12 dnů, kdy uvedená doba kvašení zároveň odpovídá procentuálnímu vyjádření extraktu v mladině obsaženém, přičemž hlavní spodní kvašení je rozděleno na čtyři fáze [3]:

- 1) zaprašování – k tomuto jevu dochází z časového hlediska velmi záhy, zhruba za 12 – 24 hodin, a to v důsledku uvolňujícího se oxidu uhličitého resp. flotačního efektu oxidu uhličitého, což se projevuje vynášením kvasinek nahoru k hladině a tvorbou bílé pěny na hladině. Kvasinky se při zaprašování adaptují na nové prostředí a zužitkovávají živiny v mladině obsažené. Tato adaptace kvasinek je na růstové křivce označována jako lag-fáze nebo též fáze přípravná, kdy kvasinky zvětšují svůj



objem a jejich enzymový systém se začíná aktivovat a připravovat na rozmnožování. [1, 3, 22]

- 2) nízké až vysoké bílé kroužky – které se vytváří zhruba během 40 hodin, jsou symbolem probíhajícího nejintenzivnějšího kvašení za tvorby charakteristických kroužků na povrchu mladiny, kulminuje oxid uhličitý a stejně jako při zaprašování i nyní dochází k poklesu pH a extraktu, naproti tomu se začíná zvyšovat teplota. Kvasinky nyní dosahují svého vrcholu, neboť se nacházejí v exponenciální fázi růstu a intenzivně se množí, dokud nejsou vyčerpány živiny v mladině. [1, 3, 22]
- 3) vysoké hnědé kroužky – v důsledku vysrážení a vynášení kalů na hladinu se původně bílé kroužky zbarvují hnědě a i nadále klesá pH a teplota se dále zvyšuje. Kvasinky prochází fází zpomalení růstu, která přechází až do fáze stacionární, kdy je rozmnožování již téměř zastaveno a živné médium prakticky vyčerpáno. [1, 3, 22]



Obrázek 10 Kvašení piva, zdroj:  
<http://projektysipvz.gytool.cz/ProjektySIPVZ/Default.aspx?uid=41>

- 4) propadání deky – posledním stádiem spodního kvašení je tvorba husté 2 – 3 cm silné deky, kterou vytváří na povrch vytlačené polyfenoly, hořké látky, polysacharidy či např. odumřelé kvasinky. Deku, kterou propadají vzniklé kroužky, není žádoucí vzhledem ke svému obsahu, proto je ručně sbírána, neboť látky v ní obsažené by měly negativní vliv na budoucí kvalitu piva. Kvasinky nacházející se ve fázi zpomaleného růstu vytváří sediment na dně kádě, který je členěn na horní a spodní

špínku, jenž není vhodná pro další nasazení, využívá se jen tzv. jádro, které je zbaveno nečistot a kontaminujících mikroorganismů pomocí promytí, vibračních sítí či praní a je dále uchováváno. [1, 3, 22]

Svrchní hlavní kvašení probíhající v láhvích nebo tancích trvá zhruba 2 – 8 dní za teploty vyšší než spodní hlavní kvašení, a to při 15 až 22°C, násadní dávka kvasnic je výrazně nižší než u spodního kvašení. [3]

Kvašení představuje získávání energie buňkám oxidací sacharidů bez přístupu vzduchu, tedy jedná se o anaerobní proces neboli glykolýzu. Nejdůležitějšími metabolity vznikajícími při kvašení je především oxid uhličitý a ethanol. Současně vznikají alifatické alkoholy, diketony, mastné kyseliny nebo estery. Rozpadem sacharidů se uvolněná energie soustřeďuje ve formě sloučenin s makroergickými vazbami s energií využitelnou pro další činnosti v buňce. Jedná se především o ATP (adenosintrifosfát),  $\text{NAD}^+$  a redukovanou formu NADH (nikotinamidadenindinukleotid). Ballingova rovnice, která matematicky znázorňuje zkvašení hexosy resp. šestiuhlíkového monosacharidu  $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$  zní takto [3, 21]:



V ideálním případě probíhá hlavní kvašení bez výraznějších problémů, ovšem může docházet i k určitým nepravidelnostem hlavního kvašení, a to v důsledku nevyhovujícího fyziologického stavu kvasnic nebo nedodržení zaběhlého postupu kvašení, ať už je to počáteční nevyhovující teplota, kdy se hovoří o pomalém rozkvašování nebo nepřiměřeném provzdušnění zakvašované mladiny či rychlém ochlazení mladiny na konci hlavního kvašení, což způsobuje nedostatečné odbourávání biacetylu. Problematická je rovněž zvýšená tvorba dusitanů, ke které dochází při kontaminaci kvasnic nebo mladiny a dokáže omezit nebo úplně pozastavit růst kvasnic. Co se týká kvasinek, může dojít vlivem nevhodné skladovací teploty či vysokými koncentracemi mladiny k ochuzování kvasinek o jejich kvasné schopnosti nebo kvasnice pak následně velmi záhy sedimentují atd. [3]

#### 6.1.4 Dokvašování, ležení piva a filtrace

V ležáckých sklepích v sudech nebo tancích probíhá pomalé dokvašování piva resp. sacharidů a zbylého extraktu, který sytí pivo oxidem uhličitým, v pivu obsažených při teplotách, které klesají z 5°C na 2°C a posléze 0°C. V této dokvašovací fázi, kde hraje roli teplota, užitý tlak, čiření a mírné provzdušnění, dochází k přeměně látek, ať už aminokyselin, vol-

ných mastných kyselin, sirných sloučenin nebo změně vyšší alkoholů nebo esterů, čímž se mění rovněž složení zeleného piva. V pivu se utváří zejména jeho chuť a vůně, snižuje se kvasničná chuť piva a hořkost a vzniká pro pivo typický buket včetně jeho celkového charakteru. Při fermentaci i dokvašování dochází k uvolňování oxidu uhličitého, což je využíváno zejména z hlediska ekonomického, neboť plyn je tzv. jímán a dále užíván v pivovaru k předplnění ležáckých tanků, při stáčení sudů nebo lahví, k odvodu vody nebo je vyexpedován. [3, 21, 22, 24]

Při stacionárním postupu výroby je doba dokvašování odvislá od typů konečného výrobku:

- 21 dní u výčepních 10% piv
- 50 až 70 dnů u 12% piv neboli ležáků
- 90 – 120 dní u speciálních typů piv. [22]

Dokvašené pivo je následně upravováno odstředováním, scezováním ve scezovacích nádobách nebo filtrací ve sladinových filtrech, které tvoří filtrační linky s cílem odstranit kaolové částice a mikroorganismy a získat čiré a koloidně stabilní pivo. Jako filtry jsou užívány syntetické tkaniny, křemeliny, perlity nebo např. membrány z plastu nebo kovu atd. [3]

### **6.1.5 Pasterace a stáčení piva**

Pasterace představuje zvýšení biologické stability piva tepelným ohřevem, čímž je úplně zastavena činnost mikroorganismů, jenž mohou způsobit kažení konečného produktu čili piva. V současné době je pasterace prováděna v ponorných a tunelových pastérech při teplotě 62°C po dobu 20 – 30 minut, čímž dojde k usmrcení kvasinek a laktobacilů. Pro exportní účely, kdy je požadována delší trvanlivost, je pivo stabilizováno pomocí bentonitů, polyfenolů, enzymových stabilizátorů nebo antioxidačních přípravků. Pivo je následně stáčeno ve stáčírňách do lahví či plechovek nebo sudů a i zde je třeba mít na zřeteli jisté zásady, jako je zamezení ztrát oxidu uhličitého a dalších těkavých látek nebo zamezení přístupu kyslíku včetně dokonalé sanitace veškerého stáčicího zařízení. [3, 21]

## **6.2 Vinařství**

Vinohradnictví a vinařství je v České republice upravováno legislativně v souladu s požadavky Evropské unie zákonem č. 321/2004 Sb. o vinohradnictví a vinařství a o změně některých souvisejících zákonů. [25]

### 6.2.1 Vinná réva – surovina ovlivňující budoucí víno

Kvašení moštu, ať už pro přípravu vína bílého, růžového nebo červeného vína, šumivých nebo perlivých vín, které předchází samotné výrobě vína, je odvislé od několika faktorů. Jedná se především o kvalitu pěstovaných odrůd vinné révy (lat. *Vitis vinifera*) jako je např. z bílé révy pěstována v České republice odrůda Burgundské bílé, Tramín, Sauvignon, Veltlínské zelené či Müller-Thurgau, z červených odrůd pak lze jmenovat např. Portugalské modré, Frankovku nebo Vavřínecké atd. [26]

Vedle tohoto hraje neméně důležitou roli zralost bobulí vinné révy a obsah cukrů, jež kulminuje v období vyzrávání, které v našich klimatických podmínkách připadá na měsíc říjen a cukr tehdy převyšuje koncentraci kyselin. Bobule, visící na třapinách, jsou obaleny slupkou, pod níž se nachází dužina, jež v sobě skrývá několik semen, která se však mechanicky odstraňují společně s třapinami, neboť tyto nepříznivě ovlivňují chuť vína množstvím tříslovin v nich obsažených. [26, 27]



Obrázek 11 Vinná réva, zdroj:  
<http://www.brabeczc.cz/dokumenty.php?ID=16>

Chemické složení bobulí je tvořeno cukry, kyselinou vinnou a jablečnou, dusíkatými látkami, enzymy, tříslovinami, aromatickými látkami, vitaminy, minerálními látkami a barvivy atd. Barviva, jež tvoří nejhodnotnější část slupky bobule, vytváří barevnou kompozici vína. Jedná se o flavony a chlorofyl, které udávají barevný tón bílému vínu a dále o barvivo obsažené v modrých bobulích tzv. anthokyan, jež je podstatou barvy červeného vína. [27]

Pro kvašení a přípravu vína se používají výhradně hrozny zdravé, nikoliv poškozené, neboť při užití takovýchto hroznů může docházet k nežádoucím reakcím při kvašení a přemnožení mikroorganismů, zejména octových a mléčných bakterií, jež mohou negativně ovlivnit kvalitu budoucího vína octovým nebo mléčným kvašením. Jako ukazatel kvality se při přejímce hroznů z vinic vyhodnocuje zejména ve stupních udávána cukernatost ( $^{\circ}\text{NM}$ ) za pomocí Českého normalizovaného moštoměru. Toto číslo udává podíl cukru v kilogramech ve 100 litrech moštu. Dále je užíván tzv. Klosterneuburský moštoměr ( $^{\circ}\text{KMW}$ ), který naopak vyjadřuje podíl cukru v kilogramech na 100 kg moštu. [27, 28]

Dalším činitelem zasahujícím do výroby vína a průběhu kvašení je mikrobiální složení mikroflóry na povrchu bobule, které obsahuje velké množství mikroorganismů mimo jiné tzv. divoké kvasinky, jež mají největší zastoupení z celkového počtu mikroorganismů na bobuli obsaženém. Mikroorganismy ulpívají na bobuli zejména vířením vzduchu či prostřednictvím hmyzu, rovněž počet mikroorganismů ovlivňuje tíha plodů vinné révy, které v průběhu dozrávání klesají k zemi, kdy počet mikroorganismů ještě stoupá v souvislosti se zvýšenou prašností a mikrobiálním složením půdy vinice. Sběr vinné révy se provádí výhradně za suchých dní, neboť déšť smývá část mikroflóry z bobulí, čímž se oslabuje následné kvašení moštu. [27]

### **6.2.2 Technologické postupy předcházející kvašení moštu**

Po fázi, kdy jsou neomyté bobule v lisovnách v kontinuálním vřetenovém lisu současně drceny a lisovány nebo jsou tyto dvě činnosti prováděny odděleně na specializovaných zařízeních, jsou bobule dále mlety pomocí mlýnků a odzrňovány na vystíracích či odstředivkových odzrňovačích. Vzniklý rmut z bílých hroznů se okamžitě dále zpracovává v lisovačích, kdežto rmut z modrých odrůd se nechává macerovat a nakvašovat několik dní, aby došlo k uvolnění barviv a aromatických látek, k čemuž dochází i ohřevem rmutu na určitou teplotou, aby se barviva a aromata uvolnila v co největší možné koncentraci. Tyto veškeré technologické procesy pro získávání rmutu jsou předvojem lisování, kdy se odděluje rmut od moštu, tedy pevná složka od složky tekuté. Hodnotícím kritériem tzv. výtěžku moštu při lisování je podíl moštu ve rmutu, který je udáván zralostí hroznů, odrůdou vinné révy či použitým tlakem při lisování a typem lisu. Ze 100 kg hroznů lze získat asi 90 litrů rmutu, kdy vylisováním vznikne zhruba 75 litrů moštu, což představuje cca 75% výtěžek moštu získaný lisováním. [22, 27, 29]

### 6.2.3 Úpravy moštu před kvašením

Jednou z povolených úprav moštu před samotným kvašením je tzv. statické odkalování moštu, což v sobě zahrnuje odstranění nečistot a sedimentů z třapin nebo semen hroznů, jež při delším louhování mohou znehodnotit chuť vína uvolněním např. tříslovin nebo dojde k pomnožení mikroorganismů v třapinách či bobulích obsažených. Odkalování je usazováním sedimentu na dně kvasných tanků nebo sudů, ke kterému dochází v průběhu 24 až 36 hodin za pomoci zasíření oxidem siřičitým a ochlazování moštu. Následuje stáčení moštu a vzniklý sediment, jež představuje 10 – 40% celkového objemu moštu, je dále zkvašován a zpracován na víno nižší jakosti. Odkalování je prováděno i dalšími metodami jako je filtrování moštu nebo použití speciálně konstruovaných odstředivek. [22, 27, 29]

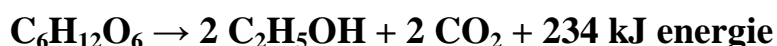
Dále je v praxi upravován podíl vinné a jablečné kyseliny v moštu pomocí odbourání uhlíčanem vápenatým v případě, že obsah kyselin je tak vysoký, že jej nebude možné odstranit přirozeným biologickým způsobem za pomoci jablečno-mléčného kvašení. [22, 27]

Za zmínku stojí i úprava cukernatosti moštu, což nebývá většinou potřeba vzhledem ke klimatu a období, ve kterém hrozny v České republice vyzrávají. Nicméně za nepříznivých letních období, kdy obsah kyselin v bobulích převyšuje obsah cukru, je dle zákona povoleno přislazení sacharosou, aby došlo k adekvátnímu prokvašení moštu. [22]

### 6.2.4 Kvašení moštu

Při kvašení moštu dochází k rozsáhlým biochemickým reakcím za účasti enzymů a koenzymů, z nichž je podstatné alkoholového kvašení způsobené činností kvasinek, při němž se spotřebovává cukr a vzniká tak ethanol a oxid uhličitý nebo dále např. jablečno-mléčné kvašení, které nastává po ukončení kvasného procesu a životního cyklu kvasinek a má za následek snížení kyselosti vína. [22, 27]

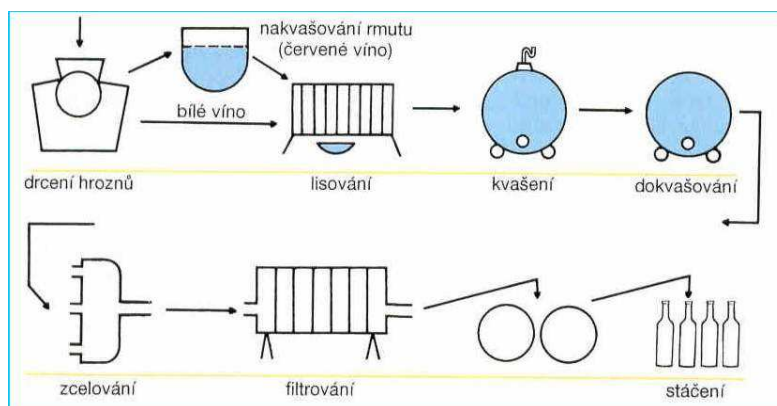
Kvašení probíhá dle následující rovnice, kdy se molekula cukru rozkládá na 2 molekuly alkoholu a 2 molekuly oxidu uhličitého, přičemž dochází k uvolnění 234 kJ energie [29]:



Mošt získaný lisováním prochází zjednodušeně řečeno třemi základními fázemi kvašení:

- 1) 1. fáze – kdy se kvasinky adaptují na prostředí a začínají pučet - tento proces trvá zhruba 2 až 4 hodiny

- 2) 2. fáze – tzv. bouřlivé kvašení moštu, které trvá 7 až 14 dní v závislosti na rozmnožování a růstu kvasinek, v této tzv. exponenciální fázi dochází navíc ke vzniku velkého množství oxidu uhličitého a uvolňování tepelné energie
- 3) 3. fáze neboli dokvašování je fáze, kdy je růst kvasinek ukončen a společně se sedimentem klesají kvasinky ke dnu kvasné nádoby. [27]



Obrázek 12 Technologické procesy při výrobě vína, zdroj:

<http://vladahadrava.xf.cz/napoje.html>

Jak již bylo uvedeno, kvasný proces je odvislý od složení mikroflóry na povrchu bobulí a tento ovlivňuje celý průběh kvašení a kvalitu vylisovaného moštu. Povrch bobulí je obvykle osídlen mikrobiální populací  $10^3 - 10^5$  CFU/g. Divoké kvasinky, z kterých převládá především *Kloeckera apiculata*, dále se vyskytují *Hanseniaspora*, *Candida*, *Pichia*, *Kluyveromyces* spp. a jiné mikroorganismy jako bakterie mléčného kvašení a bakterie octového kvašení (*Gluconobacter*, *Acetobacter* spp.) nebo plísně (*Botrytis*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Alternaria*, *Ucinula*, *Cladosporium* spp.), startují vždy tzv. spontánní kvašení vzhledem k několikanásobně vyššímu počtu oproti kvasince *Saccharomyces cerevisiae*, která je původcem alkoholového kvašení moštu a svojí činností zahajuje v bodě, kdy vlivem zvýšeného obsahu ethanolu (4 až 5% obj. ethanolu) nejsou divoké kvasinky schopny pokračovat ve zkvašování glukosy a fruktosy, nepokračuje jejich rozmnožování a kvasinky odumírají. Divoké kvasinky ovlivňují buket vína a rovněž uvolňují značné množství kyselin. V praxi je spontánní kvašení podrobováno důkladné kontrole a namátkovým mikrobiálními zkouškám, neboť převažujícím vysokým počtem divokých kvasinek proti kvasinkám kulturním může dojít k pozastavení kvasného procesu, což má za následek vznik mléčného nebo octového kvašení, který má přímo destruktivní výsledek celého kvašení. Spontánní

kvašení je doprovázeno nejen zvýšením teploty na 25 až 30°C, ale i nárůstem oxidu uhličitého. Oba tyto jevy je ve velkovýrobě nutné usměrňovat, neboť se znehodnocují jak aromatické, tak buketní látky, a to za pomoci regulace kvasného procesu ochlazováním na nižší teplotu, čímž se zkvalitňuje samotný výsledný produkt. [22, 27, 28, 29]

Mimo spontánní kvašení je využíváno i zakvašování moštu pomocí bouřlivě kvasícího moštu či užitím zákvasu z čistých kvasinkových kultur nebo ze směsi kvasinkových kultur. V případě, že mošt nekvasí dostatečně, může být činitelů, jež tento jev způsobují, více. Pomalé kvašení je výsledkem nedostatku kyslíku, nedostatečného množství kulturních kvasinek nebo výrobou moštu z nezdravých či nezralých hroznů. Za takovýchto okolností je mošt ošetřen, provzdušněn a je přidán, jedná-li se o nedostatek kulturních kvasinek, bouřlivě kvasící zdravý mošt obsahující 7 až 8% obj. ethanolu, jež zároveň vyloučí z kvasného procesu díky zvýšenému obsahu ethanolu divoké kvasinky a obnoví tak kvasný proces. Použití zákvasů z čistých kvasinkových kultur nebo směsi kvasinkových kultur je v principu založeno na stejné bázi jen s rozdílem počtu použitých ras kvasinek. Čistá kultura vzniká izolací a kultivací jediné buňky nejčastěji kvasinek *Saccharomyces cerevisiae* var. *elipsoideus* nebo *Saccharomyces bayanus*. Směs kvasinkových kultur je směsí až 6 ras kvasinek, jež se izolují a kultivují zvlášť a získané kultury se smísí až při vytváření zákvasu. Základní zákvas, též označovaný jako matečný, se vyrábí zhruba 4 dny před samotným vinobraním tak, že je ze zdravých hroznů vylisován mošt, jež se pasterizuje a posléze naočkuje čistými kvasinkovými kulturami. Mošt silně zkvasí během dvou až tří dnů a je dále užíván jako zákvas. K užití, ať už zákvasu z čistých kvasinkových kultur nebo směsi kvasinkových kultur se v praxi uchyluje v případě, že mošt je vyráběn z vadných a napadených hroznů a jeho kvalita není valná. Touto cestou se mošt tzv. napraví, neboť zákvas se ještě navíc zasílí oxidem siřičitým, čímž dojde k potlačení negativního např. mléčného kvašení. Ve vínech se vyskytují nejčastěji kvasinky *Saccharomyces cerevisiae*, *Kloeckera apiculata* či *Hanseniaspora uvarum*, tyto tvoří až 90% mikroflóry, dále pak jsou zastoupeny kvasinky *Saccharomyces bayanus*, *Candida vini mycoderma*, *Candida zeylanoides* (tzv. mázdrové kvasinky, jež vytvářejí na povrchu tekutého média silnou slizkou vrstvu tzv. mázdru) nebo *Torulopsis stelata*. V poslední době je trendem nahradit kvašení pomocí přirozeného složení mikroflóry bobulí užitím aktivních suchých vinných kvasinek (ASVK), které se aktivují desetinásobným množstvím vlažné vody o teplotě nanejvýš 35°C po dobu 30 mi-



nut a po odkalení se přidají do moštu. 1 g suchých kvasinek je schopen zakvasit až 10 litrů moštu. [22, 27, 29]

### 6.2.5 Faktory ovlivňující kvašení

Aby měl kvasný proces optimální průběh a bylo dosaženo maximálního výsledku, je nutné, aby byly vytvořeny adekvátní podmínky pro výrobu kvalitního produktu. Jedná se zejména o teplotu kvasinkám vyhovující a to v rozmezí 15 až 20°C, 8% až 20% koncentraci cukerného roztoku, kontrolovaný přístup vzduchu, jež usnadňuje rozmnožování kvasinek, dále je sledován podíl dusíku a dusíkatých látek, jenž jsou zdrojem výživy kvasinek a jejich koncentrace se zvyšuje úměrně délce působení kvasinek ve víně, svoji roli hraje i oxid siřičitý při růstu a rozmnožování kvasinek a dále např. enzymy, minerální látky či vitaminy skupiny B jako je thiamin, biotin nebo kyselina pantotenová či pyridoxin, jež rovněž příznivě ovlivňují rozmnožovací schopnosti kvasinek a jsou označovány jako aktivátory. [27]

### 6.2.6 Dokvašování, dolévání, čistění a stáčení vína

Dolévání vína je důležitým krokem při dokvašování vína, neboť při pomalém dokvašování v důsledku zbytků cukru se nevytváří dostatečné množství oxidu uhličitého, který je přirozeným konzervantem vína. Víno tak přichází vlivem odpařování do styku se vzduchem, jenž může vyvolat různé změny ve víně jako je křísovatění, jež způsobuje kvasinka *Candida mycoderma* nebo hnědnutí vína. Proto jsou kvasné sudy a tanky dolévány až po zátku, aby bylo zamezeno přístupu vzduchu, a jsou pravidelně kontrolovány. Po ukončení činnosti kvasinek vlivem jejich rozkladu jsou uvolňovány aminokyseliny nebo vitamin B<sub>1</sub>, čímž počíná jablečno-mléčné kvašení, které snižuje kyselost vína a víno se tak stává jemnějším díky ustoupení kyseliny jablečné. [22, 27, 28]

Po prokvašení a dokončení dokvašování se víno začíná samovolně čistit usazováním a dochází ke změnám látek ve víně obsažených. Například třísloviny se částečně vysrážejí a částečně zůstávají ve víně jako i bílkoviny nebo minerální látky. Kvasinky se při čistění vysrážejí úplně. Tento proces trvá asi 4 – 8 týdnů a částice pozvolna sedimentují ke dnu kvasných nádob, kde vznikají kaly. V praxi se však čistění vína urychluje za užití přetáčení vína, síření, filtrování nebo číření. [22, 27]

Vzniklý sediment neboli kal se odstraňuje stáčením vína, které je rozděleno na dvě etapy – tzv. první a druhé stáčení vína. K prvnímu stáčení vína se přistupuje v případě, že je veške-

rý cukr téměř prokvašen a zároveň je zohledněna míra kyselin ve víně obsažených. Odebrané vzorky jsou testovány a víno je stáčeno většinou za přístupu vzduchu. Následně se víno čistí zhruba 6 – 8 týdnů a po té přichází na řadu druhé stáčení vína. [22, 26, 27]

### **6.2.7 Stabilizace vína a láhvování**

Před samotným láhvováním prochází víno tzv. stabilizací, kdy se dotváří charakter vína. Jedním ze způsobů stabilizace vína je síření vína za užití oxidu siřičitého SO<sub>2</sub>, což má za následek potlačení výskytu bakterií i kvasinek a potlačuje se oxidace vína. Mimo jiné zabráňuje stárnutí a hnědnutí vína a slouží jako konzervant. Pro své antimikrobiální účinky je síření užíváno pro ošetření sklepních prostor, sudů i ostatních zařízení, které přicházejí do styku s vínem. [22, 26]

Principem čiření je použití tzv. čiřidel, kdy je využívána jejich schopnost vysoké absorpce a vysrážení s nežádoucími látkami ve víně obsaženými, které se usazují a vytvářejí kaly. Bývá užíváno např. aktivní uhlí pro odstranění nepříjemné pachuti vína po plísní, dále polyvinylpolypyrrolidon neboli PVPP, jež usměrňuje obsah tříslovin, nebo se dále čiření provádí prostřednictvím vaječného bílku, kaolinu či bentonitu atd. [22, 27]

Víno bývá dále pasterizováno ohřevem na určitou teplotu, která zabrání růstu mikroorganismů ve víně a finální tečkou je pak před samotným láhvováním filtrace, kdy jako filtrační vrstva je užitá např. křemelina. Jedná se o průtok vína několika filtračními membránami, které zachycují zbytky nečistot obsažené ve víně. [22, 27]

Víno upravené metodami výše popsanými je určeno k plnění do lahví a expedici. Po úplném ukončení kvasných procesů se víno stáčí do lahví o objemu 0,7 a 1 l a k uzávěru hrdla je použita korková zátka. V současné době se užívá i papírových Tetra-pak obalů s plastovým uzávěrem zejména ke stáčení konzumních vín, která jsou určena k rychlé spotřebě. Co se týče archivních vín, tyto mají svá specifika pro dlouhodobé uchovávání ve sklepech, která zvyšují jeho jakost a tím i cenu mezi znalci vína. [27]

## **6.3 Pekařské droždí**

Užívání kvasinek k výrobě pekařských výrobků má historii starou zhruba 5 000 let, kdy se začalo využívat kontaminace těsta mikroorganismy, které způsobovaly kvašení a tím lepší konzistenci těsta, přes např. využití kvasného odpadu vznikajícího při výrobě piva nebo

vína, jenž se užíval pro lepší nakvašení těsta nebo produkci droždí za užití melasy v 18. století. Výroba droždí se dostala přes všechna tato úskalí do současné podoby, kdy je vykonávána výhradně automatizovaně. Pekařským droždím jsou dle současné legislativy Zákona o potravinách a tabákových výrobcích č. 110/1997 Sb. ve znění novely č. 306/2000 Sb. a prováděcích vyhlášek Ministerstva zemědělství kvasinky druhu *Saccharomyces cerevisiae* Hansen, jež mají za následek především zvětšení objemu těsta prostřednictvím oxidu uhličitého a nebo způsobují změny v konzistenci a hutnosti těsta. Dále se užívá i kvasinka *Saccharomyces rosei*, která našla uplatnění díky své odolnosti proti nízkým teplotám při zmrazování pro výrobu mrazených těst nebo kvasinka *Saccharomyces rouxii*, jež se užívá pro těsta s vysokým obsahem cukru. [30]

### 6.3.1 Suroviny vstupující do výroby droždí

Technologický postup výroby droždí spočívá zejména v úspěšném rozmnožování kvasinek, které se odehrává pro účely velkovýroby výhradně laboratorně na cukerných substrátech biologickou cestou. Vzhledem k vysoké náchylnosti droždí ke kontaminaci cizími mikroorganismy je tento jev v laboratorní fázi prakticky nemožný. Prioritou při výrobě droždí nejsou ale jen vysoké požadavky na mikrobiologickou čistotu droždí a sterilitu látek, jenž vstupují do tohoto procesu, nýbrž i dodržování hygienických zásad pro udržování výrobních prostor v dokonalé čistotě či dodržování technologických postupů. [22, 31]

Prvotními vstupními surovinami do výroby droždí jsou voda a melasa, což je odpadní nebo matečný sirup vznikající po zpracování cukrové řepy, který obsahuje především sacharózu, rafinózu, vodu, dusíkaté látky či popeloviny. Pro výrobu pekařského droždí by měla používat melasa vykazovat kvocient čistoty (Q) v rozmezí 55 až 53% hm. Melasa je podrobována mikrobiologickým testům a posuzuje se její vhodnost pro další použití na výrobu droždí, stejně voda musí být použita zdravotně nezávadná, výhradně pitná a měla by obsahovat dostatek hořčíku (cca 125 mg/litr). Rovněž voda je biologicky testována, neboť její užití prochází celým procesem výroby droždí a její spotřeba není nikterak zanedbatelná – jedná se o zhruba 50 – 100 litrů vody na 1 kg lisovaného droždí. [22, 24, 31]

Aby byla výnosnost droždí ze vzniklé zápary co nejvyšší, je potřeba doplnit vodu a melasu o některé minerální prvky (hořčík, fosfor, draslík, síra, měď, zinek atd.), vitamíny (zejména vitamíny skupiny B – pyridoxin, thiamin či biotin a jiné), dusíkaté látky, pomocné látky jako jsou technické kyseliny, desinfekční přípravky a odpěňovací prostředky a v neposlední

řadě také vzduch, jímž je zápara provětrávána, který je podrobován rovněž mikrobiologickým zkouškám a je několikrát filtrován než je přistoupeno k jeho použití. Ve speciálních varných kádích, kde je melasa připravována diskontinuálně, patří mezi nejběžnější úpravy jejího zpracování čiření melasy, pasterizace nebo sterilizace, okyselování nebo úprava její koncentrace. Stejně jako při čiření vína, i zde existuje několik způsobů čiření melasy, z nichž nejběžněji používaným způsobem je čiření za tepla. Tento způsob představuje zahřívání melasy na teplotu 85°C za postupného přidání slabého roztoku kyseliny sírové a superfosfátu. Tím je docíleno vysrážení bílkovin a barviv, které sedimentují a vytvářejí kaly po dobu zhruba 5 – 7 hodin a následuje odstředování na odstředivkách. [22, 24]

### 6.3.2 Propagace čisté kultury kvasinek

Hlavní roli v procesu výroby droždí hraje ušlechtilá kvasinka *Saccharomyces cerevisiae* Hansen. Při výrobě droždí je využit tzv. Pasteurův efekt, kdy je snížena spotřeba sacharidů a anaerobní metabolismus kvasinky přechází na aerobní, čímž dochází k zvýšené produkci kvasničné biomasy při nižší tvorbě alkoholu. [31]

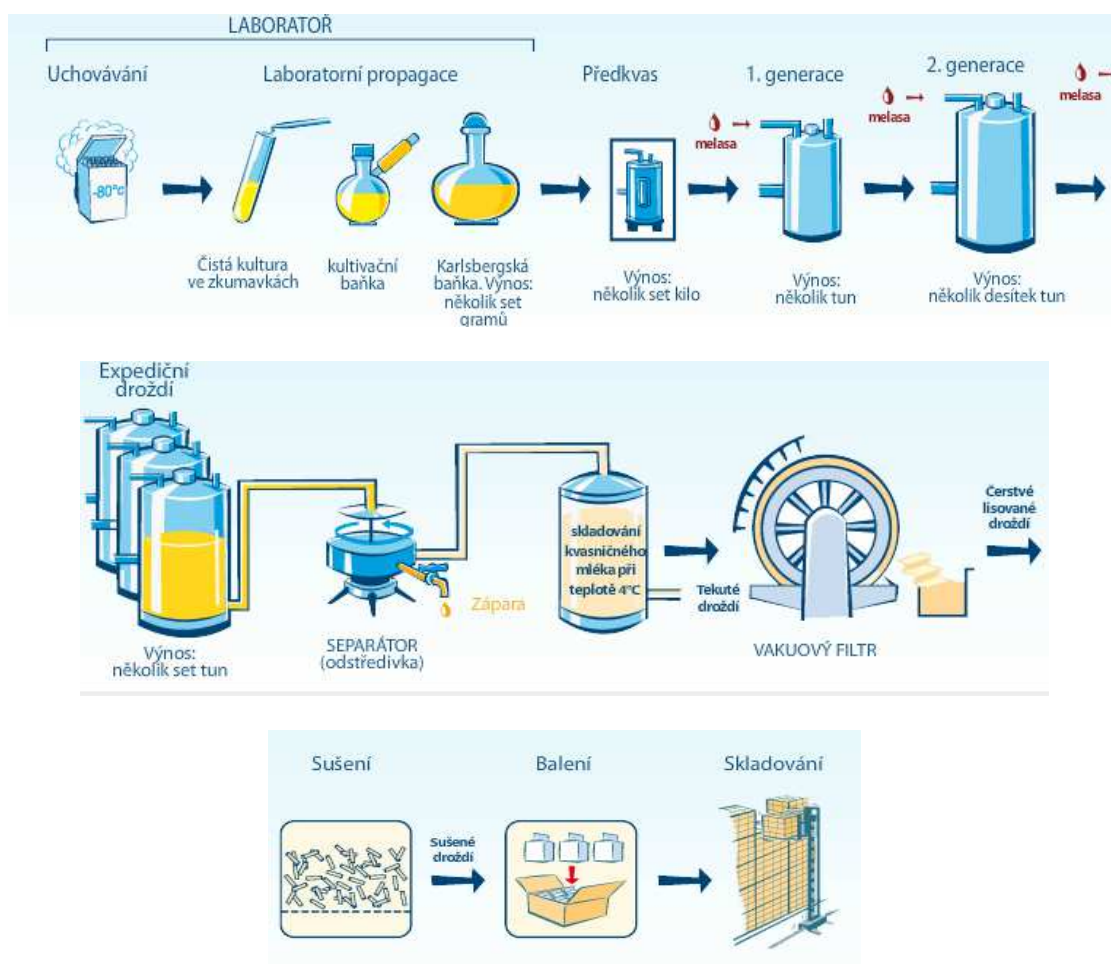
Propagace kvasinek probíhá laboratorně a postupně navazuje na propagaci provozní. Kvasinky jsou rozmnožovány anaerobně laboratorně v kultivačních zkumavkách či baňkách o objemu několika mililitrů nebo tzv. Erlenmeyerových baňkách v rozmezí od 50 do 5000 ml, kde živným médiem je tzv. sladinka, což je tekutina připravená ze sladu. Přechod k provozní propagaci představuje propagační kovová nádoba tzv. Karlsbergská baňka o objemu 15 litrů. Proces rozmnožování kvasinek trvá 24 až 48 hodin za teploty 25 – 30°C a je podrobován důkladným mikroskopickým kontrolám, výnos činí zhruba 0,5 až 1 litr kvasinek. Úspěšnost rozmnožování a následná výnosnost závisí na již zmiňovaných vnějších okolnostech, jako je optimální pH a teplota, ale také odpovídající kvalita kultivačního média. Laboratorně propagované kvasinky se uchovávají nejčastěji ve zkumavkách se sladivým agarem nebo za pomoci tzv. lyofilizace, což je vakuové vymrazování, které se v případě kvasinek provádí až na teplotu -80°C. [22, 24]

### 6.3.3 Předkvas, násadní a expediční droždí

Poslední propagační laboratorní stupeň společně s melasovou záparou je označován jako tzv. předkvas a je prvním krokem v procesu provozní propagace droždí. Předkvas a následné fáze výroby probíhají v propagační stanici, kde je dbáno na vysoký stupeň čistoty

používaných propojených nerezových fermentorů včetně samotné stanice, aby nedošlo ke kontaminaci mikroorganismy, které by mohly negativně ovlivnit výsledné vlastnosti droždí. [22]

Předkvas, jehož doba kultivace činí 8 – 14 hodin, je zároveň využíván pro I. generaci tzv. násadního nebo generačního droždí, které se užívá při finální fázi kultivace expedičního droždí. Z celkového objemu melasy, kdy velikost kádí je v rozmezí 2,5 – 20 m<sup>3</sup>, vzniká zhruba 10 – 15% kvasinek a asi 20% alkoholu na daný objem. V této fázi zdaleka není využito větrání ani ostatních podnětů ve své plné intenzitě k co nejvyšší produkci biomasy. [22, 24]



Obrázek 13 Technologický postup výroby droždí, zdroj: <http://www.vseodrozdí.cz/cs/cesta-ke-slibne-budoucnosti.php>

Jednotlivé stupně produkce násadního droždí se v současné praxi dělí na I. a II. stupeň za užití přítokového způsobu výroby, čímž se zvyšuje obsah kultivačního média a zároveň se

tak eliminuje vznik ethanolu v médiu. Vzdávající kvasničná biomasa dosahuje tímto přítokovým způsobem koncentrace 50 kg sušiny na 1 m<sup>3</sup>. [22]

II. stupeň je vesměs obdobný jako stupeň předešlý, rozdíl však je v nástupu intenzivnějšího větrání a tím se snižujícího obsahu ethanolu v zápaře. Při obou stupních je důležité sledovat koncentraci média, teplotu, pH, obsah CO<sub>2</sub>, stimulatory růstu a podobně. [22]

Zápary se po ukončení kultivace odstředují na odstředivkách, vzniklé kvasničné mléko je dále propíráno vodou a velmi krátce skladováno. Násadní droždí, jež se nelisuje, musí být likvidováno během 3 (I. generace) nebo 5 dnů (II. generace). [22, 24]

Rozdílem ve výrobě tzv. expedičního neboli prodejního droždí oproti droždí násadnímu je nižší koncentrace zápary, což je prováděno ředěním melasy pomocí vody. Je nutné udržovat konstantní teplotu kolem 30°C a pH v rozmezí 3,8 – 4,8, neboť zvýšení obou hodnot vede k produkci nekvalitního droždí odrážející se především na jeho trvanlivosti. Kultivace kvasinek v kvasných tancích probíhá zhruba 20 hodin, kdy dojde k zvýšení hmotnosti kvasinek o 5 – 8%. Obecně lze říci, že ze 100 kg melasy je vyrobeno resp. vytěženo až 90 kg droždí za vzniku 30 l ethanolu. [22, 24]

#### **6.3.4 Odstředování, chlazení, zahušťování a balení droždí**

Odstředování zápary se provádí na odstředivkách nebo separátorech v odstředovací stanici, kde je odděleno kvasničné mléko od zápary. Kvasničné mléko je nutné několikrát proprat a poté vždy znovu odstředit, neboť díky tomuto je zvýšena následná trvanlivost hotového výrobku. Před dalšími zásahy jako je zahušťování a balení droždí, je nutné kvasničnou suspenzi resp. mléko zchladit na teplotu 4°C, čímž jsou částečně inaktivovány buněčné pochody v mléku, které je připraveno na jednu z posledních fází výroby, kdy je pomocí centrifugace navýšen objem droždí a prostřednictvím vakuových filtrů odsáta přebytečná voda, čímž vzniká sušina droždí o celkové hustotě 30%. [22, 24]

Droždí je následně lisováno a dále tvarováno na tzv. liberkovačkách, pro velkovýroby se droždí formuje a balí do hranolů o hmotnosti 500 g a 1000 g a je připraveno k expedici. Pro domácnosti je droždí lisováno do malých kostek, nejčastěji o váze 42 g. Zároveň je důležitá volba obalového materiálu i technika balení, neboť nevhodné balení za užití neadekvátního obalu vede ke kontaminaci droždí. Vzhledem k tomu, že droždí je složeno z živého organismu resp. kvasinek, je nutné aby byla dodržena teplota při skladování

4 – 6°C, která zachová aktivitu kvasinek a droždí je tak možné použít po dobu 7 – 28 dní, což je většinou udávaná a garantovaná trvanlivost výrobcem. [22, 24]

### 6.3.5 Kvalita droždí

Droždí se vyrábí nejen jako lisované, ale i jako granulované nebo aktivní sušené droždí, instantní sušené droždí nebo inaktivní sušené droždí. Požadavky na jakost droždí upravuje Vyhláška č. 335 zákona č. 110/1997 Sb. ve znění pozdějších předpisů. Aby byla posouzena kvalita droždí, prochází droždí řadou rozborů, které vyhodnocují vůni, barvu, vzhled, chuť, rozplývavost, elektrickou vodivost a konzistenci droždí, což představuje fyzikálně chemické vlastnosti výrobku. Z hlediska chemického složení droždí hraje významnou roli obsah sušiny, popela, dusíku, arsenu, těžkých kovů či nukleových kyselin a vitaminů atd. Biochemické zkoušky vyhodnocují činnost enzymů, jež má souvislost s technologickou aktivitou kvasinek, např. rychlost tvorby CO<sub>2</sub>, která symbolizuje mohutnost kynutí těsta. Co se týká vyhodnocování droždí z hlediska pekárenského, jsou zkoušky zaměřeny na mohutnost kynutí, kdy se měří buď množství uvolněného plynu a nebo objem těsta. Kvalita droždí se prokazuje mimo jiné i tzv. Ostrovskeho zkouškou, kdy se zadělané těsto vloží do vody a měří se čas jeho vyplavení na povrch, který by se měl pohybovat v rozmezí 10 – 15 minut. Neméně důležité jsou rovněž mikrobiologické zkoušky, kdy droždí nesmí vykazovat některé druhy plísní a je povoleno dle ČSN jen nepatrné % divokých resp. nepravých kvasinek. [24, 30, 31]

## 7 PATOGENNÍ KVASINKY

Úspěšnou cestou v boji proti patogenním mikroorganismům, ať už plísním, bakteriím nebo kvasinkám v potravinářství je předpoklad, že výsledné produkty jsou vyráběny prostřednictvím kvalitních surovin a pomocných látek, je dbáno na vysoký stupeň jejich sterility, zejména, co se droždí týká, a v neposlední řadě je nezbytné, aby veškerá výrobní zařízení včetně výrobních prostor odpovídala přísným hygienickým a sanitačním kritériím. Kombinací všech těchto nejdůležitějších vyjmenovaných složek je docíleno vysoce jakostního produktu. Ovšem i při dodržení veškerých těchto podmínek dochází ke kontaminaci, a to ať už při vstupu některých surovin do procesu, nedodržením technologických postupů nebo nevhodným způsobem skladování, kdy je otevřena zákázonosná cesta řadě mikroorganismů, které znehodnocují ať samotný výrobní proces, či výrobek. Některé projevy jako různé formy povlaků nebo typy kvašení, které rozkládají kyseliny a znehodnocují např. víno, slizovitost, změny barevnosti, nepříjemné pachutě nebo zákaly lze během výroby užitím síření, odkalování, odstředování či např. nápravou pomocí koncentrovaných kyselin v počátečních stádiích eliminovat úplně, proto je nutné provádět v různých částech technologických procesů mikrobiologické zkoušky, analytické rozborů a senzorická hodnocení. Někdy je však produkt znehodnocen natolik, že již není možné jej jakýmkoliv způsobem napravit a proto je výrobní proces zastaven nebo produkt znehodnocen. Největší hrozbou pro potravinářský průmysl představují především bakterie a plísně, nicméně existuje i malá skupina kvasinek, jež nepříznivě ovlivňují některá blíže představená odvětví.

### 7.1.1 Pivo

Nejběžnějším problémem kažení piva je výskyt zákalů, které zapříčiňují jak kvasinky, tak některé bakterie. Pasterizace při teplotě 60°C po dobu 15 až 20 minut eliminuje mikroflóru piva a prodlužuje tak jeho trvanlivost. Kvasinky by neměly být při mikrobiologických zkouškách v pivu absolutně prokázány. Rozvoj patogenní činnosti mikroorganismů je podnícen vysokým obsahem vitaminů, především skupiny B, živin a nízkého obsahu alkoholu v rozmezí od 1,6 do 4%. Dle formy zákalu lze specifikovat, který kmen kvasinek stojí za tím kterým typem zákalu. Může se jednat o kvasinky kulturní, tedy *Saccharomyces carlsbergensis*, jež vytváří hrubší zákaly, které snáze sedimentují ke dnu. Dále to mohou být velmi špatně sedimentující jemné zákaly tvořící se působením divokých kvasinek



*Saccharomyces pastorianus* nebo *Saccharomyces oviformis*. Dále se mohou v pivu objevit kvasinky *Torulopsis*, *Rhodotorula* nebo *Candida*, které se tvoří ve zvětralém pivu. [31]

### 7.1.2 Víno

Jako nemoci vín jsou označovány změny některých složek vína a vznik složek nových, kdy oba tyto jevy způsobují svojí činností mikroorganismy zpravidla ve vínech, jenž mají nižší obsah kyselin nebo alkoholu kolem 10% obj. ethanolu a jsou např. skladována v sudech, kde není prováděna dostatečná dolévka a vyskytuje se zde určité množství vzdušného kyslíku. Vedle bakterií a plísní utočí na takovýto typ vína i kožotvorné a kyslíkomilné kvasinky jako je *Candida vini*, *Candida mycoderma*, *Candida crusei*, *Hansenula anomala*, *Pichia membranaefaciens*, *Zygosaccharomyces bailii* (kontaminant láhvového vína) nebo *Willa* a vytvářejí zejména po ukončení alkoholového kvašení na povrchu vína tzv. mázdru, což je shluk velkého množství buněk obvykle šedobílé barvy. Proto bývají takovéto kvasinky vyskytující se prakticky v každém víně označovány jako mázdrové a tato velká uskupení na povrchu vína jako tzv. křís nebo křísovatění. Způsobují oxidaci ethanolu na vodu a oxid uhličitý a vytvářejí těkavé kyseliny a aldehydy, čímž ovlivňují nepříznivě chuť vína. Ač bývá tvorba mázdry při výrobě některých typů vín jako je například sherry podporována, u běžných přírodních stolních vín je křísovatění potlačováno a to už při kvašení rmutu sířením za pomoci oxidu siřičitého. Náprava křísovatění zachyceného v prvopočátcích spočívá v přisíření a zamezení přístupu vzdušného kyslíku doléváním vína. Silnější přisíření, scelení vínem s vyšším obsahem ethanolu včetně dezinfekce sudů, v nichž bylo takovéto víno uchováváno, je užito v pokročilejším stádium křísovatění, ovšem ovlivňuje i chuť vína a jeho chemické složení. Velmi nepříjemné je napadení vína tzv. myšinou, kterou způsobují jak mléčné bakterie, tak některé kvasinkové mikroorganismy, zejména *Brettanomyces*, kdy víno získává vůni a chuť po myších výkalech a je prakticky nepoživatelné. Vína, která obsahují zbytky cukrů, jsou náchylná ke tvorbě zákalů, jež způsobují kvasinky *Saccharomyces cerevisiae*, var. *ellipsoideus* nebo *Saccharomyces oviformis*. [25, 26, 27, 31]

### 7.1.3 Droždí

Výrobu droždí ohrožuje zejména problém spojený se vzdušnou kontaminací. Droždárny proto dbají na vysokou sterilitu vzduchu, jež se při výrobě užívá. Nicméně velmi problematické je období kvetení stromů a keřů a dozrávání některých druhů ovoce, především šves-

tek a hroznů, kdy je vzduch přesycen velkým množstvím kvasinek a boj se vzdušnou kontaminací se tak stává velmi obtížným. Toto období negativně ovlivňuje nejen výrobu droždí, ale i samotné pekárny. [1, 30]

Trvanlivost droždí je odvislá od několika faktorů, zejména závisí na obsahu vody v droždí, užití teplotě při skladování a v neposlední řadě i podílu mikrobiologické kontaminace, kdy kvasinky nesmí být ve fázi růstu a počet pučících a mrtvých kvasinek nesmí přesáhnout hodnotu zhruba 2%. Hotové droždí by mělo být složeno výhradně z buněk *Saccharomyces cerevisiae*, nicméně se v otevřených kádích, kde je problematické za přístupu vzduchu udržet monokulturu této kvasinky, vyskytují i divoké kvasinky jako *Candida utilis*, *Candida mycoderma*, *Candida tropicalis*, *Candida krusei*, *Torulopsis albida*, *Torulopsis lipofera*, *Saccharomyces exiguus* a *Rhodotorula*. Výskyt divokých kvasinek v droždí se projevuje prodloužením času kynutí a nevhodnou mikrobiologickou a technologickou jakostí. [31]

Droždí nejčastěji podléhá vlastnímu rozkladu kvasinek neboli autolýze, kdy hlavním spouštěčem je nevyhovující teplota skladování kolem 10°C, zvýšená vlhkost a nedodržení technologického postupu výroby droždí. Rozklad kvasinek v droždí se projevuje nepříjemným zápachem a mazlavou konzistencí a droždí není vhodné pro další použití. [31]

## 8 ZÁVĚR

Cílem bakalářské práce bylo představení života kvasinek, jak v jejich přirozeném prostředí, tak jejich použití v potravinářském průmyslu, kdy je zejména schopnost fermentovat cukry pomocí *Saccharomyces cerevisiae* na alkohol využívána pro výrobu piva nebo vína. Zároveň se z aerobně produkované kvasničné biomasy kvasinkou *Saccharomyces cerevisiae* Hansen vyrábí neméně důležité droždí, jež je nezbytnou surovinou pro výrobu pekařských výrobků, ať už se jedná o každodenně konzumovaný chléb a podobně.

V jednotlivých částech práce je rozvinuta blíže výroba piva, vína a droždí, resp. proces kvašení, bez kterého by nebylo dosaženo ani jednoho z výše uvedených produktů. Do kvasného procesu vstupuje ve všech třech odvětvích kvasinka *Saccharomyces cerevisiae*. Jak z práce vyplývá, je tato kvasinka schopna se adaptovat na částečně nepříznivé vnější podmínky a je schopna svůj metabolismus přizpůsobit a vegetovat jak anaerobně, tak aerobně. Obou těchto schopností je v potravinářství využíváno, stejně tak jako její vyšší odolnosti vůči alkoholu.

Je patrné, že kvasné procesy a vstup kvasinek do výroby probíhají ve všech třech zmíněných odvětvích na jiné bázi. Při výrobě piva je dle svrchně nebo spodně kvašeného typu piva dodána zákvasná dávka kvasnic do mladiny a kvasný proces je tímto zahájen. Kvasinky při výrobě vína vstupují do procesu již při sběru hroznů, tedy v úplném prvopočátku, neboť jsou přirozenou součástí mikroflóry bobulí. Pomocí kroků, jež upraví bobule vinné révy do podoby moštu s vhodnou cukernou koncentrací, kvasinky zahajují kvašení, resp. fermentaci cukrů na alkohol. Při výrobě droždí je výsledným produktem za dodání melasy a kvasinek lisovaná forma kvasinek *Saccharomyces cerevisiae*, které jsou produkovány výhradně v podobě laboratorní, a to propagací čisté kvasinkové kultury tohoto kmene a následným naočkováním melasy.

Z výše uvedeného je tedy zřejmé, že kvasinky mají vysokou míru adaptability vůči okolnímu prostředí a zároveň i značnou variabilitu, kterou využívá hojně právě potravinářský průmysl. S mikrobiologií je dále spjat i např. průmysl mlékárenský, konzervářský, masný, mlynářský apod. Mimo to jsou však kvasinky a ostatní mikroorganismy stavebním kamenem biochemie, genetiky, molekulární biologie, lékařské mikrobiologie, zemědělské mikrobiologie, i genového inženýrství, z nichž pramení poznatky prospěšné pro život a zdraví člověka.

## SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] ŠILHÁNKOVÁ, Ludmila, 1995. *Mikrobiologie pro potravináře a biotechnology*. 2. vydání. Praha: VICTORIA PUBLISHING. ISBN 80-85605-71-6.
- [2] BENDO VÁ, Olga a Blanka JANDEROVÁ, 1985. *Základy biologie kvasinek*. 1. vydání. Praha: Univerzita Karlova.
- [3] BASAŘOVÁ, Gabriela et al., 2010. *Pivovarství. Teorie a praxe výroby piva*. 1. vydání. Praha: VŠCHT. ISBN 978-80-7080-734-7.
- [4] ČECHOVÁ, Leona a Magda JANALÍKOVÁ, 2007. *Obecná mikrobiologie*. 1. vydání. Zlín: Univerzita Tomáše Bati. ISBN 978-80-7318-516-9.
- [5] *Wikipedie: Otevřená encyklopedie: Osmotický tlak* [online]. c2012 [citováno 25. 02. 2012]. Dostupný z:  
<[http://cs.wikipedia.org/w/index.php?title=Osmotick%C3%BD\\_tlak&oldid=8223177](http://cs.wikipedia.org/w/index.php?title=Osmotick%C3%BD_tlak&oldid=8223177)>
- [6] *Wikipedie: Otevřená encyklopedie: Sterilizace (mikrobiologie)* [online]. c2012 [citováno 26. 02. 2012]. Dostupný z:  
<[http://cs.wikipedia.org/w/index.php?title=Sterilizace\\_\(mikrobiologie\)&oldid=8199399](http://cs.wikipedia.org/w/index.php?title=Sterilizace_(mikrobiologie)&oldid=8199399)>
- [7] *Wikipedie: Otevřená encyklopedie: PH* [online]. c2012 [citováno 26. 02. 2012]. Dostupný z WWW:  
<<http://cs.wikipedia.org/w/index.php?title=PH&oldid=8375454>>
- [8] *Wikipedie: Otevřená encyklopedie: Symbióza* [online]. c2012 [citováno 26. 02. 2012]. Dostupný z:  
<<http://cs.wikipedia.org/w/index.php?title=Symbi%C3%B3za&oldid=8302266>>
- [9] *Wikipedie: Otevřená encyklopedie: Pivo* [online]. c2012 [citováno 27. 02. 2012]. Dostupný z: <<http://cs.wikipedia.org/w/index.php?title=Pivo&oldid=8406143>>
- [10] MATOULKOVÁ Dagmar a Jan ŠAVEL. Pivovarství a taxonomie pivovarských kvasinek. *Kvasný průmysl – archiv* [online]. 2007, roč. 53, č. 7-8 [citováno 27. 02. 2012]. ISSN 0023-5830. Dostupné z:  
<<http://kvasnyprumysl.biz/cz/journal/2007/7-8/>>

- [11] *Wikipedie: Otevřená encyklopedie: Louis Pasteur* [online]. c2012 [citováno 27. 02. 2012]. Dostupný z WWW:  
<[http://cs.wikipedia.org/w/index.php?title=Louis\\_Pasteur&oldid=8436427](http://cs.wikipedia.org/w/index.php?title=Louis_Pasteur&oldid=8436427)>
- [12] *Wikipedie: Otevřená encyklopedie: Pasterizace* [online]. c2012 [citováno 01.03. 2012]. Dostupný z:  
<<http://cs.wikipedia.org/w/index.php?title=Pasterizace&oldid=8235106>>
- [13] RYCHTERA, Mojmír, Jiří UHER a Jan PÁČA, 1991. *Lihovarství, drožd'ařství a vinařství I a II*. Praha: VŠCHT. ISBN 80-7080-117-4.
- [14] *Wikipedie: Otevřená encyklopedie: Kvasinky* [online]. c2012 [citováno 01. 03. 2012]. Dostupný z:  
<<http://cs.wikipedia.org/w/index.php?title=Kvasinky&oldid=7945954>>
- [15] PELIKÁN, Miloš, František DUDÁŠ a Drahomír MÍŠA, 2002. *Technologie kvasného průmyslu*. 2. vydání. Brno: Mendlova zemědělská a lesnická univerzita. ISBN 80-7157-578-X.
- [16] RADA, V. *Využití masokostní moučky v zemědělství*. Brno, 2009. Bakalářská práce. Mendlova zemědělská a lesnická univerzita, Agronomická fakulta, Ústav agrochemie, půdoznalství, mikrobiologie a výživy rostlin. Vedoucí bakalářské práce Pavel Ryant. Dostupný z: <<http://www.af.mendelu.cz/lide/clovek.pl>>
- [17] BURÁŇNOVÁ, V. *Kvasinky jako modelový organismus pro ekotoxikologii*. Brno, 2009. Bakalářská práce. Masarykova univerzita, Přírodovědecká fakulta, Recetox, Výzkumné centrum pro chemii životního prostředí a ekotoxikologii. Vedoucí bakalářské práce Klára Hilscherová. Dostupný z: <[http://is.muni.cz/th/223199/prif\\_b/Veronika\\_Buranova\\_BP\\_2009.pdf](http://is.muni.cz/th/223199/prif_b/Veronika_Buranova_BP_2009.pdf)>
- [18] *BIOWEB.genezis.eu: Bunka: Bunkový cyklus* [online]. c2012 [citováno 10. 03. 2012]. Dostupný z: <<http://www.bioweb.genezis.eu/?cat=2&file=bunkcyklus>>
- [19] *Kiwi.Mendelu.cz: Mitóza* [online]. c2012 [citováno 10.03. 2012]. Dostupný z: [http://user.mendelu.cz/urban/vsg1/mendel/klas\\_cel3a.html#](http://user.mendelu.cz/urban/vsg1/mendel/klas_cel3a.html#)

- [20] *Wikipedie: Otevřená encyklopedie: Kontrolní body buněčného cyklu* [online]. c2012 [citováno 10. 03. 2012]. Dostupný z: <[http://cs.wikipedia.org/w/index.php?title=Kontroln%C3%A1\\_D\\_body\\_bun%C4%9B%C4%8Dn%C3%A9ho\\_cyklu&oldid=8334345](http://cs.wikipedia.org/w/index.php?title=Kontroln%C3%A1_D_body_bun%C4%9B%C4%8Dn%C3%A9ho_cyklu&oldid=8334345)>
- [21] FRKALOVÁ, Z. *Výroba piva, změny a perspektivy po vstupu do EU*. Zlín, 2007. Bakalářská práce. Univerzita Tomáše Bati, Fakulta technologická, Úsek potravinářského inženýrství. Vedoucí bakalářské práce Josef Mrázek. Dostupný z: <[https://dspace.knihovna.utb.cz/bitstream/handle/10563/4646/frkalov%C3%A1\\_2007\\_bp.pdf?sequence=1](https://dspace.knihovna.utb.cz/bitstream/handle/10563/4646/frkalov%C3%A1_2007_bp.pdf?sequence=1)>
- [22] PELIKÁN, Miloš, František DUDÁŠ a Drahomír MÍŠA, 2002. *Technologie kvasného průmyslu*. 2. vydání. Brno: Mendlova zemědělská a lesnická univerzita. ISBN 80-7157-578-X.
- [23] *Sladovna Bruntál: Slad* [online]. c2012 [citováno 15. 03. 2012]. Dostupný z: <<http://www.sladovnabruntal.cz/>>
- [24] KUBÍKOVÁ, V. *Kvasnice v pekárenském a pivovarnickém průmyslu*. Zlín, 2010. Bakalářská práce. Univerzita Tomáše Bati, Fakulta technologická, Ústav biochemie a analýzy potravin. Vedoucí bakalářské práce Lubomír Šimek. Dostupný z: <[https://dspace.knihovna.utb.cz/bitstream/handle/10563/11357/kub%C3%ADkov%C3%A1\\_2010\\_bp.pdf?sequence=1](https://dspace.knihovna.utb.cz/bitstream/handle/10563/11357/kub%C3%ADkov%C3%A1_2010_bp.pdf?sequence=1)>
- [25] NOVOTNÁ KŘÍŽÍKOVÁ, O. *Monitoring mikrobiologické kvality vín*. Zlín, 2011. Bakalářská práce. Univerzita Tomáše Bati, Fakulta technologická, Ústav technologie a mikrobiologie potravin. Vedoucí bakalářské práce Magda Doležalová. Dostupný z: <[http://dspace.k.utb.cz/bitstream/handle/10563/16434/k%C5%99%C3%AD%C5%BEkov%C3%A1\\_2011\\_bp.pdf?sequence=1](http://dspace.k.utb.cz/bitstream/handle/10563/16434/k%C5%99%C3%AD%C5%BEkov%C3%A1_2011_bp.pdf?sequence=1)>
- [26] KOHOUT, František, 1982. *O víně*. 1. vydání. Praha: Merkur.
- [27] FARKAŠ, Ján, 1980. *Technologie a biochemie vína*. 2. vydání. Přeložil Josef DROZD a František VÁCHA. Praha: SNTL a Bratislava: Alfa.

- [28] LIŠKOVÁ, S. *Výskyt bakterií mléčného kvašení ve víně*. Zlín, 2010. Bakalářská práce. Univerzita Tomáše Bati, Fakulta technologická, Ústav technologie a mikrobiologie potravin. Vedoucí bakalářské práce Leona Buňková. Dostupný z: <[http://dspace.k.utb.cz/bitstream/handle/10563/12826/li%C5%A1kov%C3%A1\\_2010\\_bp.pdf?sequence=1](http://dspace.k.utb.cz/bitstream/handle/10563/12826/li%C5%A1kov%C3%A1_2010_bp.pdf?sequence=1)>
- [29] NÁDVORNÍKOVÁ, L. *Faktory ovlivňující kvalitu vína*. Zlín, 2009. Bakalářská práce. Univerzita Tomáše Bati, Fakulta technologická, Ústav potravinářského inženýrství. Vedoucí bakalářské práce Pavel Valášek. Dostupný z: <[https://dspace.knihovna.utb.cz/bitstream/handle/10563/8341/n%C3%A1dvorn%C3%ADkov%C3%A1\\_2009\\_bp.pdf?sequence=1](https://dspace.knihovna.utb.cz/bitstream/handle/10563/8341/n%C3%A1dvorn%C3%ADkov%C3%A1_2009_bp.pdf?sequence=1)>
- [30] PŘÍHODA, Josef, Pavla HUMPOLÍKOVÁ a Dana NOVOTNÁ, 2003. *Základy pekárenské technologie*. 1. vydání. Praha: Pekař a cukrář. Knižnice pekaře a cukráře, sv. 6. ISBN 80-902922-1-6.
- [31] ARPAI, Ján a Vladimír BARTL, 1977. *Potravinárska mikrobiológia*. 1. vydání. Bratislava: Alfa a Praha: SNTL.
- [32] *Wikipedie: Otevřená encyklopedie: Buněčné jádro* [online]. c2012 [citováno 23. 04. 2012]. Dostupný z WWW: <[http://cs.wikipedia.org/w/index.php?title=Bun%C4%9B%C4%8Dn%C3%A9\\_j%C3%A1dro&oldid=8159133](http://cs.wikipedia.org/w/index.php?title=Bun%C4%9B%C4%8Dn%C3%A9_j%C3%A1dro&oldid=8159133)>
- [33] KYZLINK, Vladimír, 1988. *Teoretické základy konzervace potravin*. 1. vydání. Praha: SNTL a Bratislava: Alfa.

**SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK**

°C	Celsiův stupeň
°KMW	Klosterneuburský moštoměr
°NM	Normalizovaný moštoměr
A <sub>H2O</sub>	Vodní aktivita prostředí
Aj.	A jiné.
Apod.	A podobně.
ASVK	Aktivní suché vinné kvasinky
Atd.	A tak dále.
ATP	Adenosintrifosfát
CFU/g	Jednotka tvořící kolonie (z angl. Colony Forming Units per gram)
CKT	Cylindrokónický tank
č.	Číslo
ČSN	Česká státní norma
DNA	Deoxyribonukleová kyselina
hl	Hektolitr
kg	Kilogram
KH	Konduktohodnota
kJ	Kilojoul
l	Litr
lat.	Latinsky
m	Metr
mg	Miligram
Min.	Minuta.
NAD <sup>+</sup>	Nikotinamid adenin dinukleotid



NADH	Redukovaný nikotinamid adenin dinukleotid
Např.	Například.
nm	Nanometr
pH	Potenciál vodíku (z angl. potential of hydrogen).
PVPP	Polyvinylpolypyrrolidon
Q	Kvocient čistoty
Resp.	Respektive.
RNA	Ribonukleová kyselina
Sb.	Sbírka
Tj.	To jest.
Tzv.	Tak zvaně.
UHT	Vysokoteplotní úprava (z angl. Ultra-high temperature processing)
µm	Mikrometr

**SEZNAM OBRÁZKŮ**

Obr. 1. Bioreaktor v Salzburku .....	19
Obr. 2. Buňka <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .....	20
Obr. 3. Glykolýza .....	24
Obr. 4. Pučení <i>Candidy albicans</i> .....	25
Obr. 5. Mitóza .....	26
Obr. 6. Meióza .....	27
Obr. 7. Buněčný cyklus .....	28
Obr. 8. Chmelové hlávky .....	32
Obr. 9. Procesy výroby piva .....	36
Obr. 10. Kvašení piva .....	40
Obr. 11. Vinná réva .....	43
Obr. 12. Technologické procesy při výrobě vína .....	46
Obr. 13. Technologický postup výroby droždí .....	52