

# SPRAWOZDANIE

z zadania pt.

## **„Badania nad lambikami jako szczególnym typem piw dzikich”**

Umowa w ramach realizacji projektu:

**Wdrożenie programu badawczego laboratorium Maryendstadt”.**

Jednostka realizująca:

**Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego im. Prof. Waława  
Dąbrowskiego – Państwowy Instytut Badawczy**

**ul. Rakowiecka 36, 02-532 Warszawa**

Warszawa, grudzień 2021

## Wstęp

Lambik uważane jest za najstarsze istniejące piwo. Oryginalny „Lambic” to jedno z niewielu piw fermentacji spontanicznej, które powstaje tylko w jednym miejscu na świecie, w Belgii. Początek ponad 400 letniej historii tego piwa ma miejsce we wsi Lembeek położonej w regionie Payottenland, którego powietrze jako jedyne na świecie zawiera specjalne bakterie o nazwie *Brettanomyces* potrzebne do jego produkcji. Ta wyjątkowa flora występuje tylko w rejonie rzeki Senne i wszelkie próby sporządzenia tego piwa poza granicami kraju spełzły na niczym. Piwo otrzymuje się za pomocą fermentacji spontanicznej, odmiany tradycyjnej fermentacji górnej, której powodzenie uzależnione jest właśnie od bakterii *Brettanomyces*.

Zasyp lambika to około 35-40% niesłodowanej pszenicy i 60-65% jasnego słodu o dużej sile diastatycznej. Tak duży udział niesłodowanej pszenicy ma zapewnić m.in. większą ilość białka, co skutkuje lekkim zamgleniem gotowego piwa, a przede wszystkim zapewnia obfitą i trwałą pianę. Do produkcji lambika wykorzystuje się stary, wyleżakowany, minimum trzyletni chmiel. Nie nadaje on już piwu goryczki, ani aromatu, za to spełnia rolę zapobiegającą rozwojowi bakterii.

Proces zacierania jest dość specyficzny, metoda ta nazwana jest „turbid mashing”. Pszenicę i sód jęczmienny miesza się z wodą o temperaturze około 40-45°C, dodaje się wrzącej wody, aby podnieść temperaturę do 62°C, a następnie płyn dekantuje się do kotła. Zacier pozostały w kadzi zaciernej zalewa znów wrzącą wodą, aby podnieść temperaturę do 72°C, następnie znów przeprowadza się dekantację płynu do kociołka. W kotle brzeczką jest gotowana 20 minut i z powrotem zwracana do kadzi zaciernej do filtracji. Brzeczką przednią transportowana jest do kotła warzelnego i tam gotowana jest z chmielem 4-5 godzin, następnie jest filtrowana w celu oddzielenia chmielin i przepompowywana do tac chłodniczych na poddaszu browaru, gdzie następuje wolne schłodzenie i samoistne zaszczerpienie brzeczeki mikroorganizmami obecnymi w powietrzu. Schłodzona brzeczką przelewana jest do drewnianych kadzi. W użyciu są zazwyczaj beczki po winie, umyte i odkażone siarką, co pozwala wyeliminować pleśń, jednak bytują w nich inne mikroorganizmy w tym drożdże *Brettanomyces* które odgrywają ogromną rolę w czasie fermentacji lambików.

Badania przeprowadzone w latach 70 XX wieku pozwoliły zidentyfikować 100 różnych kolonii drożdży, 27 kolonii bakterii octowych i 38 kolonii bakterii mlekowych w jednym tylko typie lambika.

Fermentacja Lambika zachodzi w czterech nakładających się na siebie etapach:

- I etap – dominacja dzikich drożdży *Kloeckera apiculata* i bakterii z rodzaju *Enterobacter* (*E.kobei*, *E. hormaechei*) oraz gatunki *Klebsiella pneumoniae* i *Escherichia coli*. Bakterie namnażają się bardzo szybko i rozkładają glukozę do etanolu, dwutlenku węgla, ale produkują przy tym też kwas octowy i mlekowy. Duże nagromadzenie metabolitów w postaci przede wszystkim kwasu octowego, ale także alkoholu powoduje, że bakterie te giną po około 30-40 dniach. *K. apiculata* zdolne są tylko do wykorzystania glukozy, giną gdy tylko to źródło pożywienia zostanie wyczerpane. Drożdże te powodują między innymi rozkład białek, dzięki czemu piwo nie jest podatne na zmętnienie na zimno.

- II etap – dominacja drożdży *Saccharomyces*, rozpoczyna się po około 10-15 dniach i trwa około 7 miesięcy. W tym czasie drożdże przefermentowują niemal wszystkie cukry, wytwarzając alkohol i dwutlenek węgla.
- III etap – dominacja bakterii produkujących kwas mlekowy i kwas octowy. Etap ten rozpoczyna się po około 3-4 miesiącach, a szczyt osiąga po 6-8 miesiącach. Organizmami dominującymi są bakterie *Pediococcus* i *Lactobacillus* produkujące kwas mlekowy nadający charakterystyczną łagodną kwaśność lambikom, oprócz nich pojawiają się bakterie produkujące kwas octowy z etanolu.
- IV etap – dominacja drożdży *Brettanomyces*. Etap ten rozpoczyna się po około 7 miesiącach. Drożdże *Brettanomyces* są odpowiedzialne za tworzenie profilu aromatycznego piwa przede wszystkim za sprawą produkcji dużej ilości estrów (głównie mleczanu etylu i octanu etylu). W obecności powietrza *Bretty* formują na powierzchni piwa kożuch stanowiący warstwę ochronną przed utlenianiem i przed bakteriami octowymi, które mogłyby popsuć piwo.

Po roku czasu otrzymujemy młodego lambika, który najczęściej mieszany jest z lambikiem trzyletnim i leżakowany w butelce, gdzie drożdże *Brettanomyces* zużywają cukry złożone, obecne jeszcze w młodym lambiku i nagazowują tym samym piwo.

Piwa typu lambik bardzo rzadko występują jako piwa niemieszane. Nieblendowany lambic jest teraz dostępny właściwie tylko w okolicach Brukseli i Payottenlandu. Najczęściej miesza się ze sobą stare i młode roczniki (powstaje Gueuze), dodaje karmelu (powstaje Faro), bądź owoców, syropów lub owocowych ekstraktów (lambiki owocowe). Czysty Lambik ma pełny, kwaskowaty smak, indywidualny charakter i styl, który zawdzięcza bogatej tradycji i wyjątkowemu procesowi produkcji. Określany jest on jako wytrawny albo podobny w smaku do cydru, ale w żadnym stopniu nie oddaje to wyjątkowego charakteru tego piwa.

Gueuze – typ piwa powstały w XIX wieku, na potrzeby eksportu, kiedy to obmyślono metodę mieszania ze sobą starych i młodych Lambików, które po butelkowaniu przechodzą drugą fermentację. Powoduje to wytworzenie się w butelce naturalnego dwutlenku węgla i wspaniałego smaku. Piwa typu Gueuze są złote, mają cydrowo-winne nuty aromatyczne i są z reguły słodsze od czystych lambików. Tradycyjnie rozlewa się je do wysokich szklanic o grubych ściankach.

Faro to typ niskoalkoholowego piwa robionego na bazie lambika, do którego dodaje się karmelu, przez co uzyskuje słodko-kwaśny bukiet aromatyczny.

Lambiki owocowe to belgijskie piwa owocowe to najczęściej piwa typu lambik, do których – w trakcie fermentacji lub leżakowania w dębowych beczkach - dodawane są owoce w postaci wiśni, malin, brzoskwini lub czarnych porzeczek (może to być również syrop albo ekstrakt z tychże owoców). Do najbardziej popularnych, a według niektórych najsmaczniejszych piw w ogóle, należy "Framboise" i "Kriek". Framboise (piwo fermentowane z owocami malin) to połączenie kwasowości lambika ze słodyczą malin. Piwo to wspaniale pachnie, ma piękny, często rubinowy kolor i jest naturalnie musujące. Natomiast oryginalny Kriek jest belgijskim piwem, do którego podczas fermentacji dodaje się uprawianych w okolicy wiśni. Podobnie jak Framboise, jest orzeźwiające i ma barwę od różowawej po ciemnoczerwoną. Charakteryzuje się łagodnym i słodkim smakiem wiśni równoważonym przez kwasowość lambika.

Piwa typu lambik są obecnie produkowane na całym świecie, zazwyczaj piwowarzy usiłują odtworzyć produkcję tradycyjnych lambików, używając blendów (oferowanych przez kolekcje kultur drobnoustrojów i specjalistyczne firmy specjalizujące się w produkcji i sprzedaży szczepów/blendów) złożonych z bakterii i drożdży, które odwzorowują mikroflorę obecną w trakcie fermentacji lambików.

Lambiki zawierają bardzo szerokie spektrum związków, które nadają im bogaty smak i zapach. Badania Thompson Witrick i innych (Thompson Witrick K., Duncan S.E., , Hurley K.E., O’Keefe S.E.: Acid and Volatiles of Commercially-Available Lambic Beers, Beverages, MDPI, 2017) miały na celu zidentyfikować związki zawarte w wybranych, komercyjnie dostępnych na rynku belgijskim Lambikach. W sumie 50 lotnych i półlotnych związki zidentyfikowano w dziewięciu markach handlowych (tabela poniżej). Spośród 50 zidentyfikowanych związków siedemnaście zostało wcześniej zidentyfikowane w literaturze. Octan etylu stwierdzono w stężeniach 11,8-66,9 mg/L. Kwasy octowy i mlekowy obserwowano odpowiednio od 723–1642 mg/l i 995–2557 mg/l.

Chemical	IRI	Confirmed	Cuvee Renee	Oude Gueuze Velle	Cantillon	Hanssens Artisan	Cantillon Bio	3 Fonteinen	Girardin	Oude Boon	Boon	Compounds
Ethyl acetate	587	628	x	x	x	x	x	x	x	x	x	ester
Propanoic acid	637	668	x	x	x	x	x	x	x	x	x	acid
Isoamyl alcohol	683	734	x	x	x	x	x	x	x	x	x	alcohol
2-methyl-1-butanol	689	744	x	x	x	x	x	x	x	x	x	alcohol
Isobutyl acetate	752	776	x	x	x	x	x	x	x	x	x	esters
Ethyl isobutyrate	764	756	x	x	x	x	x	x	x	x	x	ester
Ethyl butyrate	804	800	x	x	x	x	x	x	x	x	x	ester
Furfural (2-furanyl)	833	829	x	x	x	x	x	x	x	x	x	heterocyclic aldehyde
Isovaleric acid (3-Methylbutanoic acid)	851	854	x	x	x	x	x	x	x	x	x	Acid
Butanoic acid, 2-methyl-, ethyl ester (ethyl 2-methyl butyrate)	853	846	x	x	x	x	x	x	x	x	x	ester
Butanoic acid, 3-methyl-, ethyl ester	857	854	x	x	x	x	x	x	x	x	x	ester
2-Furanmethanol	860	866	x	x	x	x	x	x	x	x	x	furfuryl alcohol
Hexanol	873	880	x	x	x	x	x	x	x	x	x	alcohol
Isoamyl Acetate	880	876	x	x	x	x	x	x	x	x	x	ester
1-Butanol, 2-methyl-, acetate	882	880	x	x	x	x	x	x	x	x	x	ester
Styrene	888	893	x	x	x	x	x	x	x	x	x	benzene
Lactic Acid	906		x					x	x			acid
1-(2-furanyl)-Ethanone	910	910	x			x						ketone
5,5-Dimethyl-2(5H)-furanone	952	951		x	x	x	x	x		x		ketone
Heptyl alcohol	953	962	x	x	x	x	x	x	x	x	x	alcohol
Ethyl isochloroacetate	966	968	x	x	x	x	x	x	x	x	x	ester
1-Propanol, 3-(methylthio)-	977	978	x	x	x	x	x	x	x	x	x	sulfur
Hexanoic acid (Caproic acid)	986	1019	x	x	x	x	x	x				acid
Hexanoic acid, ethyl ester	998	996	x	x	x	x	x	x	x	x	x	ester
Isoamyl lactate	1067	ND	x	x	x	x	x	x	x	x	x	ester
Octanol	1070	1072	x	x	x	x	x	x	x	x	x	alcohol
Heptanoic acid, ethyl ester	1097	1097	x	x	x	x	x	x	x	x	x	ester
2-Nonanol	1099	1098	x	x	x	x	x	x	x	x	x	alcohol
Nonanal	1102	1104	x	x	x	x	x	x	x	x	x	aldehyde
Valeric Acid	1104			x								acid
Isopentyl 3-methylbutyrate (Butanoic acid, 3-methyl-, 3-methylbutyl ester)	1104	1103			x	x	x		x			ester
Phenylethyl Alcohol	1110	1118	x	x	x	x	x	x	x	x	x	alcohol
2-ethyl-hexanoic acid	1119	1129	x	x	x	x	x	x				acid
Ethyl benzoate (Benzoic acid ethyl ester)	1166	1170	x	x	x	x	x	x	x	x	x	ester
4-ethylphenol	1166	1169	x	x	x	x	x	x	x	x	x	phenolic
Octanoic acid	1180	1179	x	x	x	x	x	x	x	x	x	acid
Octanoic acid, ethyl ester (ethyl caprylate)	1197	1198	x	x	x	x	x	x	x	x	x	ester
Decanal	1204	1209	x	x	x	x	x	x	x	x	x	aldehyde
Benzeneacetic acid, ethyl ester	1244	1244	x	x	x	x	x	x	x	x	x	ester
Isopentyl hexanoate (Isoamyl caproate)	1249	1254	x	x	x	x	x	x	x	x	x	ester
β-Phenethyl acetate (Acetic acid, 2-phenylethyl ester)	1255	1260	x	x	x	x	x	x	x	x	x	ester
Decanal	1271	1272	x	x	x	x	x	x	x	x	x	alcohol
p-Ethylguaiacol	1278	1287	x	x	x	x	x	x	x	x	x	phenol
Nonanoic acid, ethyl ester	1295	1297	x	x	x	x	x	x	x	x	x	ester
Decanoic acid	1367	1373	x	x	x	x	x	x				acid
Ethyl 9-decanoate	1386	ND	x	x	x	x	x	x				ester
Decanoic acid, ethyl ester (Ethyl decanoate)	1394	1398	x	x	x	x	x	x	x	x	x	ester
Octanoic acid, 3-methylbutyl ester	1455	1450	x	x	x	x	x	x	x	x	x	ester
Ethyl dodecanoate	1594	1593	x	x	x	x	x	x	x	x	x	ester
Acetic acid			x		x	x			x	x	x	Acid
Isobutanol (1-Propanol, 2-methyl-)		647		x			x	x	x	x	x	alcohol

## Charakterystyka drożdży *Brettanomyces*

Drożdże *Brettanomyces* odgrywają kluczową rolę w czasie fermentacji lambików. Zostały one po raz pierwszy wyizolowane i opisane przez Nielsa Claussena w 1904 roku. Claussen wyizolował je z angielskiego stocks ales (stąd nazwa angielski grzyb). W 1921 roku Kufferath i Van Lear wyizolowali z belgijskiego lambika szczep o charakterystyce opisanej przez Claussena i zaklasyfikował je jako *Brettanomyces bruxellensis*. W 1940 roku Mathieu Custers scharakteryzował 17 różnych szczepów *Brettanomyces* wyizolowanych z angielskich i belgijskich piw.

Mimo, że *B. bruxellensis* i *S. cerevisiae* różnicowały się około 200 milionów lat temu, mają nadal wiele cech wspólnych, do których należy zaliczyć – wysoką odporność na

stres osmotyczny i etanolowy, umiejętność wzrostu w środowisku o ograniczonej ilości tlenu i niskim pH.

Cechą wyróżniającą *Brettanomyces* jest ich zdolność do fermentacji alkoholowej nawet w obecności tlenu, gdzie oddychanie tlenowe jest możliwe. Zdolność ta nazwana jest efektem Crabtree. Zachodzi tylko wtedy gdy stężenie cukru jest wysokie, drożdże produkują wówczas alkohol etylowy, aby zapobiec rozwojowi innych mikroorganizmów. Efekt ten jest dość nietypowy, gdyż mikroorganizmy w środowisku tlenowym preferują oddychanie jako formę dostarczania energii, a nie fermentację (Efekt Pasteura). *Brettanomyces* wykazują się odwrotnym efektem Pasteura, co oznacza że fermentacja glukozy na etanol jest zatrzymana w środowisku beztlenowym, a pobudzona w obecności tlenu. Aby zdominować środowisko niektóre szczepy *Brettanomyces* np. *B. bruxellensis* w obecności tlenu oprócz etanolu produkują też dużo kwasu octowego, który obniża pH roztworu. Ilość wyprodukowanego kwasu octowego silnie zależy od szczepu. Stężenie kwasu octowego w Lambikach wynosi od 0,4 do 1,2g/l, powyżej tej wartości jest już mocno wyczuwalny i źle wpływa na cechy organoleptyczne. *Brettanomyces* są w stanie wykorzystywać szerokie spektrum węglowodanów. Jednak ta zdolność jest różna zależnie od szczepu. Większość jest w stanie fermentować fruktozę i maltozę, aczkolwiek preferują glukozę. Niektóre szczepy nie są w stanie fermentować maltozy tak jak np. *B. anomalus* (stąd nazwa nadana przez Custera, który po raz pierwszy wyizolował ten szczep z angielskiego ale). Zdolność do fermentacji galaktozy jest różna zależnie od szczepu. *B. custersianus* nie jest w stanie metabolizować maltozy, ale jest w stanie metabolizować maltotriozę. Fermentacja lub leżakowanie gotowego piwa w obecności tych drożdży może zapewnić całkowitą fermentację maltotriozy, podniesienie stabilności przechowalniczej i zapewnić ochronę przed rozwojem bakterii psujących piwo. Jednak z punktu widzenia piwowarstwa znaczącą cechą drożdży *Brettanomyces* jest ich zdolność fermentacji cukrów złożonych takich jak cellobioza i dekstryny. Dekstryny takie jak maltotetroza i maltopentoza są obecne jako cukry resztkowe po zakończeniu fermentacji głównej piwa. *Brettanomyces* wytwarzają -glukozydazę, która hydrolizuje cukry złożone na glukozę, dzięki czemu można otrzymać piwa lepiej odfermentowane, z większą zawartością alkoholu, o mniejszej ilości cukrów resztkowych, a tym samym niższej wartości kalorycznej. Niektóre szczepy *Brettanomyces* mają zdolność do hydrolizy celobiozy, czyli dwucukru obecnego w drzewie i jej późniejszej fermentacji do alkoholu. Może to wyjaśniać dlaczego *Brettanomyces* potrafią przeżyć w drewnianych beczkach kilka lat. Hydroliza wiązań 1,4 glikozydowych wymaga obecności enzymu -glukozydazy. Enzym ten ma zdolność do uwalniania naturalnych aromatów z różnych substratów. Wyizolowano go między innymi z szczepów: *B. bruxellensis* i *B. anomala*. W toku badań przeprowadzonych w 2008 roku przez Daenen wykazano, że Bretty są w stanie hydrolizować wiązania glikozydowe w komponentach chmielowych i dzięki temu uwalniać aromat w trakcie leżakowania piwa, co pozytywnie wpływa na bukiet trunku. Ponadto wykazano, że Bretty dzięki obecności właśnie -glukozydazy są w stanie pozytywnie wpłynąć na aromat Krieków uwalniając z wiśni związki zapachowe.

Optymalna temperatura wzrostu *Brettanomyces* znajduje się między 25 a 28°C. *Brettanomyces* są nieco bardziej wrażliwe na stężenie etanolu w porównaniu do większości drożdży *Saccharomyces*. Badania prowadzone na podłożach syntetycznych wykazały że stężenie 14,5 -15% obj. etanolu stanowi górny limit przy którym Bretty są w stanie rosnąć. W piwowarstwie takie stężenia nie są osiągalne, więc można przyjąć, że Bretty wytrzymują typowe stężenie alkoholu w piwie. Co ważne stężenie alkoholu wpływa na produkcję związków smakowo-zapachowych przez *Brettanomyces*. Zauważono pozytywną korelację

stresu alkoholowego na produkcję estrów etylowych, alkoholu fenyloetylowego i 4-etylogwajakolu.

*Brettanomyces* wnoszą do piwa szereg związków smakowo-zapachowych określanych często jako stajenne, dymne, plastik, przyprawowe, goździkowe, medyczne, metaliczne, skórzane, mysie, kozie, roślinne, owoców tropikalnych, cytrusowe suma tych aromatów daje odczucie najczęściej funkcjonujące pod nazwą “Funky” “Brett” lub “Wild”. Główne związki chemiczne są odpowiedzialne za aromat i smak fenolowy w lambikach są to: 4-etylogwajakol (4-EG), 4-etylofenol (4-EP) i ich prekursorzy 4-winylogwajakol (4-VG) i 4-winylofenol (4-VP). Interesujące jest to, że 4-EP i 4-EG, które uznawane są za wady w winach, a w lambikach i innych belgijskich piwach kwaśnych, a także w amerykańskich Coolship Ale uznawane są wręcz za nieodzowny składnik aromatu.

#### Główne związki fenolowe obecne w lambikach.

	stężenie w lambikach [ppb]	Zapach i smak
4-winylofenol	0-69	fenolowy, medyczny
4-winylogwajakol	0-258	goździkowy
4-etylofenol	63-1130	medyczny, końskiej derki
4-etylogwajakol	427-5770	korzenny, goździkowy

Cechą, która silnie wyróżnia *Brettanomyces* jest ich zdolność do produkcji dużej ilości aromatów owocowych. *Bretty* cechują się dużo wyższą aktywnością enzymu esterazy w porównaniu do drożdży *Saccharomyces* i *Kloeckera*. *Bretty* produkują bardzo mało octanu izoamylu, ale za to dużo kaprylanu etylu i maślanu etylu w porównaniu z *S. cerevisiae* i *S. pastorianus*. *Brettanomyces* są w stanie produkować kilka kwasów tłuszczowych w tym pośrednio kwas izowalerianowy (zapach zjełczałego sera, starych skarpet). Powstaje on na drodze transaminacji aminokwasu L-leucyny do kwasu -ketoizokaproinianowego, następnie dekarboksylacji do aldehydu izoamylowego i ostatecznie jego utlenianiu do kwasu izowalerianowego. Cechą odróżniającą drożdże *Brettanomyces* od *Sacchcarmoyces* jest też produkcja glicerolu. *Bretty* wytwarzają go bardzo mało w stosunku do szlachetnych drożdży piwowarskich, co prawda glicerol nie jest związkiem lotnym i nie ma zapachu, ale za to wnosi słodki smak i daje pełnię smakowo-zapachową.

#### **Cel i zakres pracy**

Celem pracy była charakterystyka piw typu Lambik otrzymanych z użyciem drożdży dzikich, głównie *Bretanomycess* i bakterii. Wybrane szczepy/blendy (pozyskane z dostępnych kolekcji lub firm zajmujących się selekcją i namnażaniem drożdży/bakterii dla potrzeb browarów) zostały wykorzystane do prób fermentacji w skali mikro, w warunkach browaru w Zwoleniu. Otrzymane młode piwa typu lambik (po 8-12 miesiącach od momentu nastawu) zostały poddane kompleksowej ocenie w zakresie: parametrów fizykochemicznych (zawartość alkoholu, barwa, pH, goryczka, profil związków lotnych) i cech sensorycznych.

Wykonano także badania mikrobiologiczne, w celu określenia rodzaju i ilości mikroorganizmów obecnych w ww. piwach oraz badania genetyczne, w celu potwierdzenia ich przynależności gatunkowej.

## Metodyka badań

Przygotowanie brzeczek, nastaw i fermentację piw prowadzono w skali mikro w warunkach browaru w Zwoleniu. Stosowano brzeczki o ekstrakcie w przedziale od 12 do 26 stopni Plato i różnej barwie, chmielone starym chmielem.

Do zaszczepienia wykorzystano pozyskane (głównie komercyjnie) szczepy i blendy zawierające: drożdże piwowarskie, drożdże dzikie i bakterie, np.

- OLY-212 firmy Omega Yeasts (*Saccharomyces*, *Brettanomyces bruxellensis*, *Brettanomyces lambicus*)
- TROIS (*Brettanomyces bruxellensis*)
- LAMBICUS firmy Imperial Yeasts (*Brettanomyces bruxellensis*)
- Belgian Blend firmy Wyeast (*Brettanomyces*, *Lactobacillus*, *Saccharomyces cerevisiae*)
- BRUXELENISIS firmy White labs (*Brettanomyces*)
- AMALGAMATION II firmy The Yeast Bay (*Brettanomyces*)

Badania fizykochemiczne, instrumentalne i sensoryczne piw wykonano w akredytowanym laboratorium Pracowni Piwa i Słodu Zakładu Technologii Przetworów Owocowych i Warzywnych IBPRS-PIB (certyfikat akredytacji Polskiego Centrum Akredytacji nr AB 452), wg poniższych metod:

- Zapach, smak, smakowość, goryczka metodą sensoryczną wg PN-A-79093-1:2000
- Zawartość alkoholu, ekstraktu pozornego, ekstrakt rzeczywistego, ekstraktu brzeczki podstawowej oraz stopień odfermentowania pozornego i rzeczywistego metodą spektrometrii w zakresie bliskiej podczerwieni (NIR) wg PB-ZO/PPS 16 wyd.6 z 31.05.2021
- Wartość energetyczną metodą z obliczeń wg PB-ZO/PPS 16 wyd.6 z 31.05.2021
- pH metodą potencjometryczną wg PN-A-79093-4:2000
- Zawartość goryczki metodą spektrofotometryczną wg PB-ZO/PPS 10 wyd.6 z 06.08.2020
- Zawartość ubocznych produktów fermentacji (aldehyd octowy, estry, alkohole, diacetyl) metodą chromatografii gazowej z detekcją płomieniowo-jonizacyjną (GC-FID) 9.39 Analytica EBC, 2.21.1 MEBAK (wyd. 2013)

Badania mikrobiologiczne i genetyczne (wyniki zawarte w części pt. Raport z badań mikrobiologicznych) piw wykonano w akredytowanym laboratorium Zakładu Mikrobiologii IBPRS-PIB (certyfikat akredytacji Polskiego Centrum Akredytacji nr AB 452).

## **Wyniki badań**

### **Wyniki badań fizykochemicznych i oceny organoleptycznej piw.**

Opis próbek:

- 1) JB1 SOUR WHISKEY BARLEY WINE OYL-212 (nastaw 24.11.2020)
- 2) JD18 LAMBIC TROIS (nastaw 16.10.2020)
- 3) R51 SOUR WHISKEY BARLEY WINE OYL 220+OYL 221 (nastaw 25.11.2020)
- 4) R86 PP LONDON FOG + LAMBICUS (nastaw 23.12.2020)
- 5) R95 BELGIAN BELGIAN BLEND + TROIS (nastaw 20.01.2021)
- 6) R96 BELGIAN BELGIAN BLEND + TROIS + LAMBICUS (nastaw 20.01.2021)
- 7) R100 BELGIAN BELGIAN BLEND + BRUXELENIS (nastaw 20.01.2021)
- 8) R101 BELGIAN BELGIAN BLEND + BRUXELENIS (nastaw 20.01.2021)
- 9) R104 PA SO4 + BRUXELENIS (nastaw 20.01.2021)
- 10) R105 PA SO4 + LAMBICUS (nastaw 20.01.2021)
- 11) R106 PA SO4 + TROIS (nastaw 20.01.2021)
- 12) R107 PA SO4 + LAMBICUS + TROIS (nastaw 20.01.2021)
- 13) R119 OUD BRUIN BELGIAN BLEND + TROIS (nastaw 20.01.2021)
- 14) R127 OUD BRUIN BELGIAN BLEND + LAMBICUS (nastaw 20.01.2021)
- 15) R128 OUD BRUIN BELGIAN BLEND + LAMBICUS (nastaw 20.01.2021)
- 16) R152 BRETT ALE AMALGAMATION II (nastaw 01.03.2021)
- 17) R153 BRETT ALE AMALGAMATION II (nastaw 01.03.2021)
- 18) R158 SOUR BRETT AMALGAMATION II (nastaw 01.03.2021)
- 19) R162 SOUR BRETT OMEGA DIPA (nastaw 01.03.2021)
- 20) R163 SOUR BRETT OMEGA DIPA (nastaw 01.03.2021)



Tabela 1. Wyniki oceny fizykochemicznej piwa (próbki 1-2)

Parametr	1. JB1 SOUR WHISKEY BARLEY WINE OYL-212  (nastaw 24.11.2020)			2. JD18 LAMBIC TROIS  (nastaw 16.10.2020)		
	powt.1	powt. 2	średnia	powt.1	powt. 2	średnia
<b>Ekstrakt pozorny, % (m/m)</b>	4,66	4,66	4,66	3,14	3,14	3,14
<b>Ekstrakt rzeczywisty, % (m/m)</b>	8,69	8,68	8,69	5,56	5,55	5,56
<b>Alkohol, % (m/m)</b>	9,63	9,63	9,63	5,36	5,36	5,36
<b>Alkohol, % (v/v)</b>	12,41	12,40	12,41	6,86	6,87	6,87
<b>Ekstrakt brzeczki podstawowej, % (m/m)</b>	25,94	25,93	25,94	15,74	15,74	15,74
<b>Stopień odfermentowania pozornego, %</b>	82,03	82,03	82,03	80,02	80,02	80,02
<b>Stopień odfermentowania rzeczywistego, %</b>	69,60	69,59	69,60	66,59	66,60	66,60
<b>Wartość energetyczna, kcal/100 ml</b>	99,47	99,47	99,47	57,57	57,55	57,56
<b>Wartość energetyczna, kJ/100 ml</b>	416,52	416,51	416,52	241,31	241,31	241,31
<b>pH</b>	4,11	4,1	4,11	3,16	3,16	3,16
<b>Goryczka, j. BU</b>	29,9	29,2	29,55	3,70	3,40	3,55
<b>Aldehyd octowy, mg/l</b>	8,07	8,20	8,14	4,09	4,30	4,20
<b>Octan etylu, mg/l</b>	121,66	121,36	121,51	140,11	146,82	143,47
<b>Diacetyl, mg/l</b>	0,020	0,019	0,019	0,039	0,041	0,040
<b>n-propanol, mg/l</b>	40,28	40,38	40,33	26,95	27,38	27,17
<b>Izo-butanol, mg/l</b>	36,11	36,15	36,13	14,93	15,36	15,14
<b>Octan izoamylu, mg/l</b>	0,18	0,18	0,18	0,28	0,29	0,28
<b>Alkohole amyłowe, mg/l</b>	96,68	96,51	96,59	41,16	42,47	41,81

Tabela 2. Wyniki oceny fizykochemicznej piwa (próbki 3-4)

Parametr	3. R51 SOUR WHISKEY BARLEY WINE OYL 220 + OYL 221 (nastaw 25.11.2020)			4. R86 PP LONDON FOG + LAMBICUS (nastaw 23.12.2020)		
	powt.1	powt. 2	średnia	powt.1	powt. 2	średnia
<b>Ekstrakt pozorny, % (m/m)</b>	5,68	5,67	5,68	0,26	0,26	0,26
<b>Ekstrakt rzeczywisty, % (m/m)</b>	9,48	9,47	9,48	2,62	2,62	2,62
<b>Alkohol, % (m/m)</b>	9,02	9,02	9,02	5,19	5,18	5,19
<b>Alkohol, % (v/v)</b>	11,66	11,65	11,66	6,57	6,57	6,57
<b>Ekstrakt brzeczki podstawowej, % (m/m)</b>	25,65	25,66	25,66	12,65	12,66	12,66
<b>Stopień odfermentowania pozornego, %</b>	77,84	77,84	77,84	97,95	97,95	97,95
<b>Stopień odfermentowania rzeczywistego, %</b>	66,28	66,27	66,28	80,34	80,33	80,34
<b>Wartość energetyczna, kcal/100 ml</b>	98,29	98,30	98,30	45,47	45,47	45,47
<b>Wartość energetyczna, kJ/100 ml</b>	412,04	412,02	412,03	189,70	189,70	189,70
<b>pH</b>	3,99	3,99	3,99	3,65	3,65	3,65
<b>Goryczka, j. BU</b>	27,4	27,5	27,45	4	3,6	3,80
<b>Aldehyd octowy, mg/l</b>	4,73	5,23	4,98	5,19	5,17	5,18
<b>Octan etylu, mg/l</b>	140,82	144,32	142,57	70,14	71,23	70,69
<b>Diacetyl, mg/l</b>	0,015	0,016	0,015	0,002	0,002	0,002
<b>n-propanol, mg/l</b>	35,74	36,41	36,07	16,53	17,00	16,76
<b>Izo-butanol, mg/l</b>	28,71	29,18	28,94	20,25	20,58	20,42
<b>Octan izoamylu, mg/l</b>	0,31	0,31	0,31	0,13	0,13	0,13
<b>Alkohole amyłowe, mg/l</b>	78,13	79,48	78,81	48,88	49,80	49,34

Tabela 3. Wyniki oceny fizykochemicznej piwa (próbki 5-6)

Parametr	5. R95 BELGIAN BELGIAN BLEND + TROIS (nastaw 20.01.2021)			6. R96 BELGIAN BELGIAN BLEND + TROIS+ LAMBICUS (nastaw 20.01.2021)		
	powt.1	powt. 2	średnia	powt.1	powt. 2	średnia
<b>Ekstrakt pozorny, % (m/m)</b>	-0,59	-0,59	-0,59	1,40	1,40	1,40
<b>Ekstrakt rzeczywisty, % (m/m)</b>	2,33	2,33	2,33	4,32	4,33	4,33
<b>Alkohol, % (m/m)</b>	6,52	6,52	6,52	6,58	6,58	6,58
<b>Alkohol, % (v/v)</b>	8,23	8,22	8,23	8,37	8,36	8,37
<b>Ekstrakt brzeczki podstawowej, % (m/m)</b>	14,78	14,77	14,78	16,75	16,74	16,75
<b>Stopień odfermentowania pozornego, %</b>	pow.100	pow.100	pow.100	91,65	91,64	91,65
<b>Stopień odfermentowania rzeczywistego, %</b>	85,25	85,24	85,25	75,89	75,89	75,89
<b>Wartość energetyczna, kcal/100 ml</b>	53,59	53,59	53,59	61,43	61,43	61,43
<b>Wartość energetyczna, kJ/100 ml</b>	223,17	223,15	223,16	256,66	256,66	256,66
<b>pH</b>	3,35	3,35	3,35	3,34	3,34	3,34
<b>Goryczka,j. BU</b>	2,7	2,4	2,55	2,7	3	2,85
<b>Aldehyd octowy, mg/l</b>	5,03	5,14	5,09	4,87	4,92	4,90
<b>Octan etylu, mg/l</b>	87,04	88,03	87,53	90,65	90,41	90,53
<b>Diacetyl, mg/l</b>	0,001	0,002	0,001	0,002	0,002	0,002
<b>n-propanol, mg/l</b>	11,29	11,48	11,38	11,73	11,35	11,54
<b>Izo-butanol, mg/l</b>	12,08	12,28	12,18	13,24	13,27	13,25
<b>Octan izoamylu, mg/l</b>	0,19	0,19	0,19	0,20	0,20	0,20
<b>Alkohole amyłowe, mg/l</b>	42,20	42,60	42,40	46,23	46,36	46,30

Tabela 4. Wyniki oceny fizykochemicznej piwa (próbki 7-8)

Parametr	7. R100 BELGIAN BELGIAN BLEND + BRUXELENSIS (nastaw 20.01.2021)			8. R101 BELGIAN BELGIAN BLEND + BRUXELENSIS (nastaw 20.01.2021)		
	powt.1	powt. 2	średnia	powt.1	powt. 2	średnia
<b>Ekstrakt pozorny, % (m/m)</b>	2,10	2,10	2,10	1,87	1,87	1,87
<b>Ekstrakt rzeczywisty, % (m/m)</b>	5,00	5,00	5,00	4,88	4,86	4,87
<b>Alkohol, % (m/m)</b>	6,54	6,53	6,54	6,82	6,81	6,82
<b>Alkohol, % (v/v)</b>	8,34	8,34	8,34	8,69	8,69	8,69
<b>Ekstrakt brzeczki podstawowej, % (m/m)</b>	17,31	17,30	17,31	17,69	17,68	17,69
<b>Stopień odfermentowania pozornego, %</b>	87,89	87,89	87,89	89,41	89,40	89,41
<b>Stopień odfermentowania rzeczywistego, %</b>	73,02	73,01	73,02	74,26	74,24	74,25
<b>Wartość energetyczna, kcal/100 ml</b>	63,70	63,69	63,70	65,18	65,17	65,18
<b>Wartość energetyczna, kJ/100 ml</b>	266,41	266,41	266,41	272,47	272,40	272,44
<b>pH</b>	3,44	3,43	3,44	3,45	3,45	3,45
<b>Goryczka, j. BU</b>	2,9	3,1	3,00	2,8	3	2,90
<b>Aldehyd octowy, mg/l</b>	2,98	3,00	2,99	4,29	4,35	4,32
<b>Octan etylu, mg/l</b>	81,14	81,55	81,34	92,12	93,00	92,56
<b>Diacetyl, mg/l</b>	0,002	0,002	0,002	0,003	0,003	0,003
<b>n-propanol, mg/l</b>	12,34	12,45	12,39	15,38	15,94	15,66
<b>Izo-butanol, mg/l</b>	11,98	12,13	12,05	15,52	15,76	15,64
<b>Octan izoamylu, mg/l</b>	0,22	0,23	0,23	0,34	0,35	0,35
<b>Alkohole amyłowe, mg/l</b>	43,89	44,17	44,03	57,79	58,32	58,05

Tabela 5. Wyniki oceny fizykochemicznej piwa (próbki 9-10)

Parametr	9. R104 PA SO4 + BRUXELENIS (nastaw 20.01.2021)			10. R105 PA SO4 + LAMBICUS (nastaw 20.01.2021)		
	powt.1	powt. 2	średnia	powt.1	powt. 2	średnia
<b>Ekstrakt pozorny, % (m/m)</b>	1,78	1,78	1,78	2,23	2,23	2,23
<b>Ekstrakt rzeczywisty, % (m/m)</b>	4,28	4,28	4,28	4,61	4,61	4,61
<b>Alkohol, % (m/m)</b>	5,57	5,56	5,57	5,25	5,24	5,25
<b>Alkohol, % (v/v)</b>	7,09	7,08	7,09	6,69	6,69	6,69
<b>Ekstrakt brzeczki podstawowej, % (m/m)</b>	14,90	14,90	14,90	14,63	14,63	14,63
<b>Stopień odfermentowania pozornego, %</b>	88,09	88,07	88,08	84,74	84,74	84,74
<b>Stopień odfermentowania rzeczywistego, %</b>	72,86	72,84	72,85	70,18	70,18	70,18
<b>Wartość energetyczna, kcal/100 ml</b>	54,24	54,25	54,25	53,22	53,22	53,22
<b>Wartość energetyczna, kJ/100 ml</b>	226,85	226,84	226,85	222,80	222,80	222,80
<b>pH</b>	3,39	3,39	3,39	3,27	3,27	3,27
<b>Goryczka, j. BU</b>	2,9	2,6	2,75	1,8	1,9	1,85
<b>Aldehyd octowy, mg/l</b>	3,28	3,27	3,28	2,62	2,59	2,60
<b>Octan etylu, mg/l</b>	31,28	30,51	30,90	49,97	49,67	49,82
<b>Diacetyl, mg/l</b>	0,066	0,065	0,065	0,079	0,072	0,076
<b>n-propanol, mg/l</b>	33,10	32,90	33,00	32,86	32,93	32,89
<b>Izo-butanol, mg/l</b>	30,66	30,51	30,58	27,87	27,96	27,91
<b>Octan izoamylu, mg/l</b>	0,11	0,11	0,11	0,90	0,92	0,91
<b>Alkohole amyłowe, mg/l</b>	80,26	79,39	79,83	75,78	76,19	75,99

Tabela 6. Wyniki oceny fizykochemicznej piwa (próbki 11-12)

Parametr	11. R106 PA SO4+TROIS (nastaw 20.01.2021)			12. R107 PA SO4 + LAMBICUS + TROIS (nastaw 20.01.2021)		
	powt.1	powt. 2	średnia	powt.1	powt. 2	średnia
<b>Ekstrakt pozorny, % (m/m)</b>	2,46	2,46	2,46	2,14	2,13	2,14
<b>Ekstrakt rzeczywisty, % (m/m)</b>	4,80	4,80	4,80	4,59	4,58	4,59
<b>Alkohol, % (m/m)</b>	5,16	5,16	5,16	5,44	5,44	5,44
<b>Alkohol, % (v/v)</b>	6,59	6,59	6,59	6,94	6,94	6,94
<b>Ekstrakt brzeczki podstawowej, % (m/m)</b>	14,66	14,65	14,66	14,97	14,97	14,97
<b>Stopień odfermentowania pozornego, %</b>	83,20	83,19	83,20	85,71	85,70	85,71
<b>Stopień odfermentowania rzeczywistego, %</b>	68,97	68,96	68,97	70,99	70,99	70,99
<b>Wartość energetyczna, kcal/100 ml</b>	53,36	53,35	53,36	54,51	54,51	54,51
<b>Wartość energetyczna, kJ/100 ml</b>	223,48	223,47	223,48	228,15	228,14	228,15
<b>pH</b>	3,41	3,41	3,41	3,42	3,42	3,42
<b>Goryczka, j. BU</b>	1,8	1,7	1,75	2,3	2,2	2,25
<b>Aldehyd octowy, mg/l</b>	5,05	5,15	5,10	6,76	6,88	6,82
<b>Octan etylu, mg/l</b>	42,83	42,19	42,51	20,89	20,69	20,79
<b>Diacetyl, mg/l</b>	0,071	0,062	0,066	0,068	0,071	0,069
<b>n-propanol, mg/l</b>	34,31	34,59	34,45	32,83	32,50	32,66
<b>Izo-butanol, mg/l</b>	27,71	28,02	27,87	28,44	28,26	28,35
<b>Octan izoamylu, mg/l</b>	0,18	0,16	0,17	0,12	0,11	0,11
<b>Alkohole amyłowe, mg/l</b>	75,43	76,02	75,72	78,07	77,79	77,93

Tabela 7. Wyniki oceny fizykochemicznej piwa (próbki 13-14)

Parametr	13. R119 OUD BRUIN BELGIAN BLEND + TRIOS (nastaw 20.01.2021)			14. R127 OUD BRUIN BELGIAN BLEND +LAMBICUS (nastaw 20.01.2021)		
	powt.1	powt. 2	średnia	powt.1	powt. 2	średnia
<b>Ekstrakt pozorny, % (m/m)</b>	1,94	1,94	1,94	-2,04	-2,04	-2,04
<b>Ekstrakt rzeczywisty, % (m/m)</b>	4,95	4,95	4,95	1,20	1,20	1,20
<b>Alkohol, % (m/m)</b>	6,82	6,81	6,82	7,29	7,29	7,29
<b>Alkohol, % (v/v)</b>	8,69	8,68	8,69	9,14	9,14	9,14
<b>Ekstrakt brzeczki podstawowej, % (m/m)</b>	17,75	17,76	17,76	15,08	15,07	15,08
<b>Stopień odfermentowania pozornego, %</b>	89,07	89,06	89,07	>100	>100	>100
<b>Stopień odfermentowania rzeczywistego, %</b>	74,00	74,01	74,01	92,63	92,63	92,63
<b>Wartość energetyczna, kcal/100 ml</b>	65,44	65,44	65,44	54,67	54,67	54,67
<b>Wartość energetyczna, kJ/100 ml</b>	273,62	273,60	273,61	227,07	227,05	227,06
<b>pH</b>	3,53	3,54	3,54	3,54	3,54	3,54
<b>Goryczka,j. BU</b>	10,2	10,1	10,15	10,6	11	10,80
<b>Aldehyd octowy, mg/l</b>	5,81	5,96	5,89	4,66	4,87	4,77
<b>Octan etylu, mg/l</b>	60,83	60,40	60,62	52,24	52,97	52,61
<b>Diacetyl, mg/l</b>	0,010	0,015	0,013	0,014	0,010	0,012
<b>n-propanol, mg/l</b>	17,99	19,02	18,50	17,71	17,32	17,51
<b>Izo-butanol, mg/l</b>	20,87	20,44	20,65	22,99	22,85	22,92
<b>Octan izoamylu, mg/l</b>	0,26	0,20	0,23	0,24	0,23	0,23
<b>Alkohole amyłowe, mg/l</b>	58,86	58,03	58,45	64,33	64,28	64,31

Tabela 8. Wyniki oceny fizykochemicznej piwa (próbki 15-16)

Parametr	15. R128 OUD BRUIN BELGIAN BLEND +LAMBICUS (nastaw 20.01.2021)			16. R152 BRETT ALE AMALGAMATION II (nastaw 01.03.2021)		
	powt.1	powt. 2	średnia	powt.1	powt. 2	średnia
<b>Ekstrakt pozorny, % (m/m)</b>	1,19	1,18	1,19	1,22	1,21	1,22
<b>Ekstrakt rzeczywisty, % (m/m)</b>	4,32	4,33	4,33	3,45	3,45	3,45
<b>Alkohol, % (m/m)</b>	7,10	7,09	7,10	4,88	4,88	4,88
<b>Alkohol, % (v/v)</b>	9,02	9,01	9,02	6,20	6,20	6,20
<b>Ekstrakt brzeczki podstawowej, % (m/m)</b>	17,64	17,64	17,64	12,87	12,88	12,88
<b>Stopień odfermentowania pozornego, %</b>	93,25	93,24	93,25	90,53	90,54	90,54
<b>Stopień odfermentowania rzeczywistego, %</b>	77,25	77,23	77,24	74,53	74,53	74,53
<b>Wartość energetyczna, kcal/100 ml</b>	64,96	64,95	64,96	46,38	46,38	46,38
<b>Wartość energetyczna, kJ/100 ml</b>	271,29	271,30	271,30	193,90	193,89	193,90
<b>pH</b>	3,54	3,54	3,54	3,38	3,38	3,38
<b>Goryczka, j. BU</b>	10,3	10,9	10,60	7,7	8,2	7,95
<b>Aldehyd octowy, mg/l</b>	7,12	7,32	7,22	3,84	3,87	3,86
<b>Octan etylu, mg/l</b>	55,08	55,93	55,51	45,04	45,29	45,17
<b>Diacetyl, mg/l</b>	0,010	0,017	0,014	0,001	0,001	0,001
<b>n-propanol, mg/l</b>	18,97	21,52	20,24	19,25	19,54	19,40
<b>Izo-butanol, mg/l</b>	22,99	23,26	23,12	10,15	10,43	10,29
<b>Octan izoamylu, mg/l</b>	0,25	0,24	0,25	0,07	0,09	0,08
<b>Alkohole amyłowe, mg/l</b>	64,91	65,94	65,43	28,21	28,10	28,16



Tabela 9. Wyniki oceny fizykochemicznej piwa (próbki 17-18)

Parametr	17. R153 BRETT ALE AMALGAMATION II (nastaw 01.03.2021)			18. R158 SOUR BRETT AMALGAMATION II (nastaw 01.03.2021)		
	powt.1	powt. 2	średnia	powt.1	powt. 2	średnia
<b>Ekstrakt pozorny, % (m/m)</b>	0,52	0,52	0,52	-1,10	-1,10	-1,10
<b>Ekstrakt rzeczywisty, % (m/m)</b>	2,75	2,75	2,75	1,27	1,27	1,27
<b>Alkohol, % (m/m)</b>	4,90	4,90	4,90	5,18	5,18	5,18
<b>Alkohol, % (v/v)</b>	6,21	6,20	6,21	6,52	6,52	6,52
<b>Ekstrakt brzezki podstawowej, % (m/m)</b>	12,23	12,22	12,23	11,53	11,54	11,54
<b>Stopień odfermentowania pozornego, %</b>	93,85	93,86	93,86	>100	>100	>100
<b>Stopień odfermentowania rzeczywistego, %</b>	78,64	78,62	78,63	89,38	89,34	89,36
<b>Wartość energetyczna, kcal/100 ml</b>	43,90	43,90	43,90	40,46	40,46	40,46
<b>Wartość energetyczna, kJ/100 ml</b>	183,26	186,25	184,76	168,25	168,25	168,25
<b>pH</b>	3,45	3,45	3,45	3,43	3,44	3,44
<b>Goryczka, j. BU</b>	8,3	7,8	8,05	1,5	1,9	1,70
<b>Aldehyd octowy, mg/l</b>	5,97	5,90	5,93	6,87	6,74	6,80
<b>Octan etylu, mg/l</b>	50,26	48,59	49,42	54,31	54,51	54,41
<b>Diacetyl, mg/l</b>	0,004	0,003	0,003	0,003	0,004	0,003
<b>n-propanol, mg/l</b>	19,24	18,54	18,89	9,84	10,31	10,07
<b>Izo-butanol, mg/l</b>	11,14	10,91	11,02	10,64	10,53	10,59
<b>Octan izoamylu, mg/l</b>	0,08	0,10	0,09	0,45	0,45	0,45
<b>Alkohole amyłowe, mg/l</b>	32,06	31,51	31,78	44,59	44,31	44,45

Tabela 10. Wyniki oceny fizykochemicznej piwa (próbki 19-20)

Parametr	19. R162 SOUR BRETT OMEGA DIPA (nastaw 01.03.2021)			20. R163 SOUR BRETT OMEGA DIPA (nastaw 01.03.2021)		
	powt.1	powt. 2	średnia	powt.1	powt. 2	średnia
<b>Ekstrakt pozorny, % (m/m)</b>	2,05	2,05	2,05	0,54	0,54	0,54
<b>Ekstrakt rzeczywisty, % (m/m)</b>	4,29	4,29	4,29	2,82	2,82	2,82
<b>Alkohol, % (m/m)</b>	4,93	4,93	4,93	5,00	4,99	5,00
<b>Alkohol, % (v/v)</b>	6,29	6,28	6,29	6,33	6,32	6,33
<b>Ekstrakt brzeczki podstawowej, % (m/m)</b>	13,76	13,77	13,77	12,48	12,47	12,48
<b>Stopień odfermentowania pozornego, %</b>	85,12	85,11	85,12	95,70	95,69	95,70
<b>Stopień odfermentowania rzeczywistego, %</b>	70,37	70,38	70,38	78,54	78,55	78,55
<b>Wartość energetyczna, kcal/100 ml</b>	49,86	49,87	49,87	44,86	44,86	44,86
<b>Wartość energetyczna, kJ/100 ml</b>	208,74	208,73	208,74	187,27	187,27	187,27
<b>pH</b>	3,45	3,44	3,45	3,47	3,47	3,47
<b>Goryczka, j. BU</b>	1,7	1,1	1,40	0,7	0,8	0,75
<b>Aldehyd octowy, mg/l</b>	15,53	15,40	15,46	22,44	21,06	21,75
<b>Octan etylu, mg/l</b>	50,39	47,53	48,96	64,78	59,46	62,12
<b>Diacetyl, mg/l</b>	0,002	0,005	0,003	0,007	0,008	0,007
<b>n-propanol, mg/l</b>	9,42	10,52	9,97	12,64	11,10	11,87
<b>Izo-butanol, mg/l</b>	10,08	9,88	9,98	12,07	11,47	11,77
<b>Octan izoamylu, mg/l</b>	0,31	0,35	0,33	0,43	0,35	0,39
<b>Alkohole amyłowe, mg/l</b>	42,85	42,48	42,67	49,30	46,98	48,14

Tabela 11. Parametry otrzymanych piw (próbki 1-20)

Parametr	Średnia (n=20)	Odchylenie standardowe	Wartość maksymalna	Wartość minimalna
Ekstrakt pozorny, % (m/m)	1,60	1,72	-2,04	5,68
Ekstrakt rzeczywisty, % (m/m)	4,32	1,98	1,20	9,48
Alkohol, % (m/m)	6,11	1,32	4,88	9,63
Alkohol, % (v/v)	7,79	1,72	6,20	12,41
Ekstrakt brzeczki podstawowej, % (m/m)	15,89	3,73	11,53	25,94
Stopień odfermentowania pozornego, %	87,82	31,49	77,84	>100
Stopień odfermentowania rzeczywistego, %	75,22	6,94	66,27	92,63
Wartość energetyczna, kcal/100 ml	58,27	15,15	40,46	99,47
Wartość energetyczna, kJ/100 ml	243,67	63,57	168,25	416,52
pH	3,48	0,22	3,16	4,11
Goryczka, j. BU	6,55	7,88	0,70	29,90
Aldehyd octowy, mg/l	6,28	4,42	2,59	22,44
Octan etylu, mg/l	69,18	33,21	20,69	146,82
Diacetyl, mg/l	0,02	0,03	0,00	0,08
n-propanol, mg/l	22,08	9,91	9,42	40,38
Izo-butanol, mg/l	19,84	8,18	9,88	36,15
Octan izoamylu, mg/l	0,29	0,23	0,07	0,92
Alkohole amyłowe, mg/l	58,39	18,29	28,10	96,68

W tabeli 11 zestawiono średnie parametry ocenianych 20 piw. Jak widać, pomimo przynależności do typu Lambik, różniły się one między sobą znacznie pod względem parametrów fizykochemicznych. Zawartość alkoholu w poszczególnych wynosiła od 6,2 do 12,4% obj., co jest naturalne biorąc pod uwagę, że zostały one otrzymane z brzeczki o Plato między 11,5 a 26. Stopień odfermentowania pozornego wyniósł od 77,8 do ponad 100%, co miało odzwierciedlenie w odczuciu pełni. Wszystkie piwa były kwaśne (pH między 3,16 a 4,11) ale prawdopodobnie ze względu na ekstrakt rzeczywisty i wyjściowy (czyli Plato), w różny sposób przełożyło się to na odczucie kwaśności (tabela 12). Goryczka (oprócz 2 piw) była minimalna, i praktycznie niewyczuwalna. Profil związków lotnych, głównie prawdopodobnie za sprawą zastosowanych rodzajów i gatunków drobnoustrojów, był bardzo zróżnicowany, co wpłynęło na intensywność i charakter bukietu poszczególnych piw. Większość piw zawierała spore ilości aldehydu octowego. Uwagę zwraca bardzo wysoka zawartość octanu etylu (ester), co jest charakterystyczne dla lambików, oraz izo-butanolu. Zawartość w nich alkoholi amyłowych jest natomiast porównywalna do innych rodzajów piw.

Reasumując, otrzymane piwa cechuje duża różnorodność cech, wynikająca z zastosowanych surowców (skład brzeczki) i mikroorganizmów.

Tabela 12 Ocena sensoryczna piw.

<b>Próbka piwa</b>	<b>barwa</b>	<b>Zapach i smak</b>	<b>pełnia</b>
1	ciemne	słodowy, karmelowy, kwaśny, gorzki, estrowy, alkoholowy	pełne
2	jasne	b. kwaśny, estrowy, octowy, alkoholowy	niepełna
3	ciemne	słodowy, karmelowy, kwaśny, gorzki, estrowy, alkoholowy	pełne
4	jasne	b. kwaśny, estrowy, octowy, alkoholowy	niepełna
5	jasne	b. kwaśny, estrowy, octowy, alkoholowy	niepełna
6	jasne	b. kwaśny, estrowy, octowy, alkoholowy	niepełna
7	jasne	b. kwaśny, estrowy, octowy, alkoholowy	niepełna
8	jasne	b. kwaśny, estrowy, alkoholowy	niepełna
9	bursztynowe	kwaśny, estrowy, alkoholowy	niepełna
10	bursztynowe	kwaśny, estrowy, alkoholowy	niepełna
11	jasne	b. kwaśny, estrowy, octowy, alkoholowy	niepełna
12	jasne	b. kwaśny, estrowy, octowy, alkoholowy	niepełna
13	ciemne	Karmelowy, kwaśny, estrowy, alkoholowy	prawie pełne
14	ciemne	b. kwaśny, słodowy, estrowy, alkoholowy	Prawie pełne
15	ciemne	b. kwaśny, estrowy, słodowy, karmelowy, alkoholowy	Prawie pełne
16	ciemno-bursztynowe	kwaśny, estrowy, alkoholowy, winny	Prawie pełne
17	ciemno-bursztynowe	kwaśny, estrowy, alkoholowy, winny	Prawie pełne
18	ciemno-bursztynowe	b. kwaśny, estrowy, octowy, alkoholowy	niepełna
19	jasne	b. kwaśny, estrowy, octowy, alkoholowy	niepełna
20	jasne	b. kwaśny, estrowy, octowy, alkoholowy	niepełna

Wszystkie piwa, w momencie oceny, charakteryzowały się typowym dla lambików smakiem i zapachem silnie estrowym, czasem owocowym, często octowym, z nutami fenolowymi i typowymi dla win. W większości piw goryczka była praktycznie niewyczuwalna. Wszystkie piwa były kwaśne lub bardzo kwaśne. Większość oceniających preferowała piwa ciemne, z wyraźnymi nutami karmelowymi i słodowymi, ale nie należy tego traktować w kategoriach wiążących, gdyż jest to sprawa bardzo indywidualna - nie wszyscy lubią lambiki, głównie ze względu na silnie kwaśny smak, wyraźne nuty octowe i zdecydowany aromat. Należy też pamiętać, że w trakcie dalszego przechowywania/dojrzenia aromat piw będzie ulegał dalszym zmianom i zróżnicowaniu, wtedy prawdopodobnie pojawi się szersza gama zróżnicowanych, wyczuwalnych nut zapachowych.

## Raport z Badań Mikrobiologicznych

Obiekt badań:

Dwadzieścia próbek piw w opakowaniach niehandlowych (pojemniki plastikowe poj. 330ml):

Opis próbek:

1. JB1 SOUR WHISKEY BARLEY WINE OYL-212 (nastaw 24.11.2020) – kod próbki w laboratorium - 959/21
2. JD18 LAMBIC TROIS – kod próbki w laboratorium (nastaw 16.10.2020) -960/21
3. R51 SOUR WHISKEY BARLEY WINE OYL 220+OYL 221 (nastaw 25.11.2020) – kod próbki w laboratorium-961/21
4. R86 PP LONDON FOG + LAMBICUS (nastaw 23.12.2020) – kod próbki w laboratorium-962/21
5. R95 BELGIAN BELGIAN BLEND + TROIS (nastaw 20.01.2021) – kod próbki w laboratorium-963/21
6. R96 BELGIAN BELGIAN BLEND + TROIS + LAMBICUS (nastaw 20.01.2021) – kod próbki w laboratorium-964/21
7. R100 BELGIAN BELGIAN BLEND + BRUXELENSIS (nastaw 20.01.2021) – kod próbki w laboratorium-965/21
8. R101 BELGIAN BELGIAN BLEND + BRUXELENSIS (nastaw 20.01.2021) – kod próbki w laboratorium-966/21
9. R104 PA SO4 + BRUXELENSIS (nastaw 20.01.2021) – kod próbki w laboratorium-967/21
10. R105 PA SO4 + LAMBICUS (nastaw 20.01.2021) – kod próbki w laboratorium-968/21
11. R106 PA SO4 + TROIS (nastaw 20.01.2021) – kod próbki w laboratorium-969/21
12. R107 PA SO4 + LAMBICUS + TROIS (nastaw 20.01.2021) – kod próbki w laboratorium-970/21
13. R119 OUD BRUIN BELGIAN BLEND + TROIS (nastaw 20.01.2021) – kod próbki w laboratorium-971/21
14. R127 OUD BRUIN BELGIAN BLEND + LAMBICUS (nastaw 20.01.2021) – kod próbki w laboratorium-972/21
15. R128 OUD BRUIN BELGIAN BLEND + LAMBICUS (nastaw 20.01.2021) – kod próbki w laboratorium-973/21
16. R152 BRETT ALE AMALGAMATION II (nastaw 01.03.2021) – kod próbki w laboratorium-974/21
17. R153 BRETT ALE AMALGAMATION II (nastaw 01.03.2021) – kod próbki w laboratorium-975/21
18. R158 SOUR BRETT AMALGAMATION II (nastaw 01.03.2021) – kod próbki w laboratorium-976/21
19. R162 SOUR BRETT OMEGA DIPA (nastaw 01.03.2021) – kod próbki w laboratorium-977/21
20. R163 SOUR BRETT OMEGA DIPA (nastaw 01.03.2021) – kod próbki w laboratorium-978/21

### Identyfikacja zastosowanych metod:

1. PN-ISO 15214:2002 Mikrobiologia żywności i pasz. Horyzontalna metoda oznaczania liczby mezofilnych bakterii fermentacji mlekowej. Metoda płytkowa w temperaturze 30°C (podłoże MRS specyficzne dla bakterii fermentacji mlekowej)
2. PB-ZM/PBJM 03 wyd. 2 z08.01.2019 r. Oznaczanie ogólnej liczby drobnoustrojów w piwie metodą płytkową (podłoże WL, odpowiednie dla piwa, na którym rosną drożdże i bakterie, inkubacja w temperaturze 27°C)

W raporcie podany jest:

- wynik końcowy oznaczonej ilości drobnoustrojów podany w jtk/ml w każdej próbce, na dwóch rodzajach pożywek, na których wyrosły bakterie i drożdże (tabelka z dokładnym wynikiem ilości drobnoustrojów we wszystkich próbkach)
- opis w co wykryto w wybranych próbkach z podaniem nazwy drobnoustroju
- zdjęcia drobnoustrojów z mikroskopu,
- sekwencje DNA badanych mikroorganizmów,
- wynik porównania badanej sekwencji z bazą danych sekwencji GenBanku, dzięki któremu odczytujemy jaki drobnoustrój wykryto.

### Wyniki badań:

Kod próbki w laboratorium	Badany parametr / Wynik	
	Liczba mezofilnych bakterii fermentacji mlekowej PN-ISO 15214:2002	Ogólna liczba drobnoustrojów oznaczona metodą płytkową PB-ZM/ PBJM 03, wyd. 2 z 8.01.2019 r.
959/21	<1 jtk/ ml	<1 jtk/ ml
960/21	4,5 x 10 <sup>5</sup> jtk/ml	3,5 x 10 <sup>4</sup> jtk/ml
961/21	5,1 x 10 <sup>4</sup> jtk/ml	1,1 x 10 <sup>5</sup> jtk/ml
962/21	1,4 x 10 <sup>5</sup> jtk/ml	5,2 x 10 <sup>5</sup> jtk/ml
963/21	9,0 x 10 <sup>4</sup> jtk/ml	1,2 x 10 <sup>5</sup> jtk/ml
964/21	3,3 x 10 <sup>4</sup> jtk/ml	1,1 x 10 <sup>5</sup> jtk/ml
965/21	4,6 x 10 <sup>3</sup> jtk/ml	8,9 x 10 <sup>3</sup> jtk/ml
966/21	1,3 x 10 <sup>4</sup> jtk/ml	1,1 x 10 <sup>4</sup> jtk/ml
967/21	1,4 x 10 <sup>6</sup> jtk/ml	5,6 x 10 <sup>6</sup> jtk/ml
968/21	2,5 x 10 <sup>5</sup> jtk/ml	2,6 x 10 <sup>5</sup> jtk/ml
969/21	5,7 x 10 <sup>5</sup> jtk/ml	1,0 x 10 <sup>6</sup> jtk/ml
970/21	4,6 x 10 <sup>5</sup> jtk/ml	4,4 x 10 <sup>5</sup> jtk/ml
971/21	2,5 x 10 <sup>4</sup> jtk/ml	1,5 x 10 <sup>4</sup> jtk/ml
972/21	2,4 x 10 <sup>4</sup> jtk/ml	7,3 x 10 <sup>4</sup> jtk/ml
973/21	4,6 x 10 <sup>4</sup> jtk/ml	1,5 x 10 <sup>3</sup> jtk/ml
974/21	5,0 x 10 <sup>4</sup> jtk/ml	6,3 x 10 <sup>4</sup> jtk/ml
975/21	8,2 x 10 <sup>4</sup> jtk/ml	9,4 x 10 <sup>4</sup> jtk/ml
976/21	7,5 x 10 <sup>4</sup> jtk/ml	1,1 x 10 <sup>4</sup> jtk/ml
977/21	1,9 x 10 <sup>4</sup> jtk/ml	1,2 x 10 <sup>4</sup> jtk/ml
978/21	6,9 x 10 <sup>4</sup> jtk/ml	6,4 x 10 <sup>4</sup> jtk/ml

## Identyfikacja metodą PCR kolonii bakterii - etapy:

### Kolonie bakterii:

1. Przesiew na podłoże PCA, obserwacje mikroskopowe.
2. Izolacja genomowego DNA: genomowy DNA został wyizolowany za pomocą zestawu DNeasy® PowerFood® Microbial Kit (Qiagen) wg instrukcji producenta.
3. Amplifikacja DNA: fragment regionu 16S rDNA został zamplifikowany za pomocą dedykowanych starterów do powielania materiału genetycznego bakterii, tj. starterów 16S-F i 16S-R. Amplifikację DNA przeprowadzono z wykorzystaniem polimerazy DreamTaqGreen PCR Master Mix (ThermoScientific) w amplifikatorze SimpliAmpQantStudio (Thermo Fisher).
4. Sekwencjonowanie DNA: sekwencjonowanie DNA – badania przeprowadzone w laboratorium Genomed.
5. Analiza sekwencji DNA: końcowa sekwencja analizowanego fragmentu DNA została złożona za pomocą programu Serial Cloner. Porównanie badanej sekwencji z sekwencjami zdeponowanymi w międzynarodowej bazie sekwencji *GenBank* przeprowadzono za pomocą programu BLAST.

### **Wyniki badań:**

#### Próbka PBM/189/2021 (960/21)

Bakterie Gram-dodatnie, katalazo-ujemne i oksydazo-ujemne. Na agarze PCA kolonie bakterii lekko kremowe, okrągłe, drobne. W preparacie mikroskopowym widoczne bakterie – krótkie pałeczki. Sekwencja rejonu 16S operonu rDNA tych mikroorganizmów wykazuje największe podobieństwo do sekwencji rejonu 16S operonu rDNA bakterii należących do gatunku *Lactocaseibacillusparacasei* (dawniej:*Lactobacillusparacasei*) (99,88% identyczności).

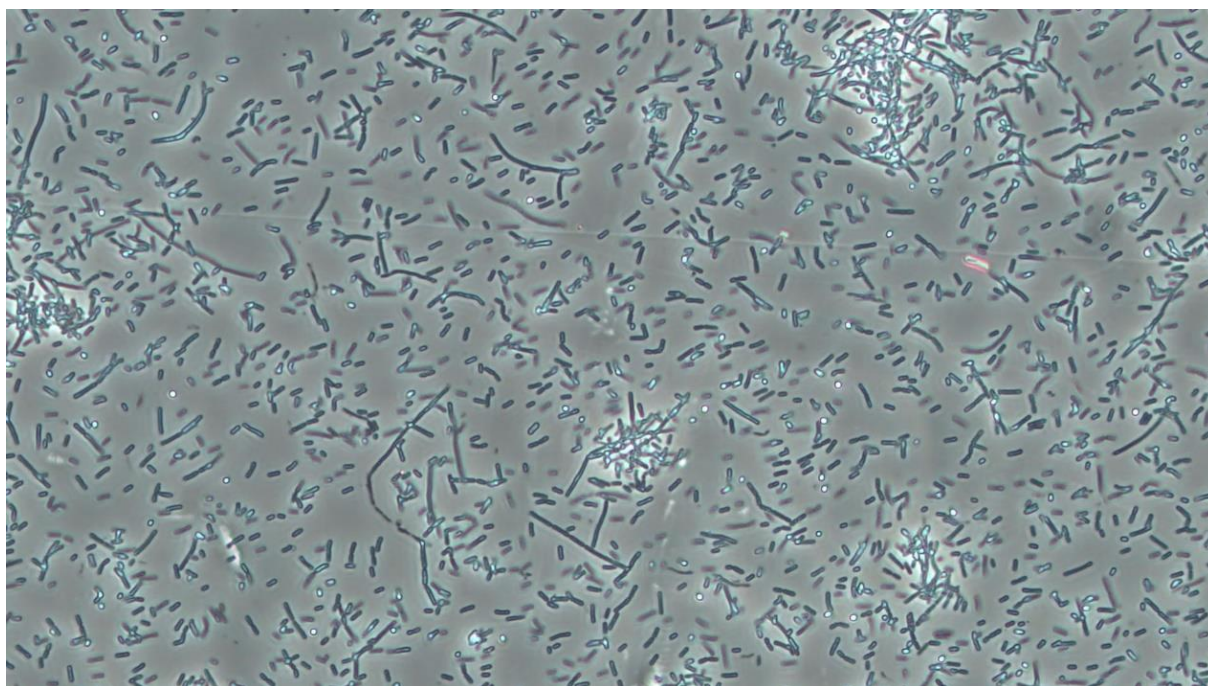
#### Próbka PBM/190/2021 (968/21)

Bakterie Gram-dodatnie, katalazo-ujemne i oksydazo-ujemne. Na agarze PCA kolonie bakterii lekko kremowe, okrągłe, drobne. W preparacie mikroskopowym widoczne bakterie – krótkie pałeczki. Sekwencja rejonu 16S operonu rDNA tych mikroorganizmów wykazuje największe podobieństwo do sekwencji rejonu 16S operonu rDNA bakterii należących do gatunku *Lentilactobacillusparabuchneri* (dawniej:*Lactobacillusparabuchneri*) (100,00% identyczności).

Zdjęcie preparatów mikroskopowych sporządzonych z badanych hodowli:

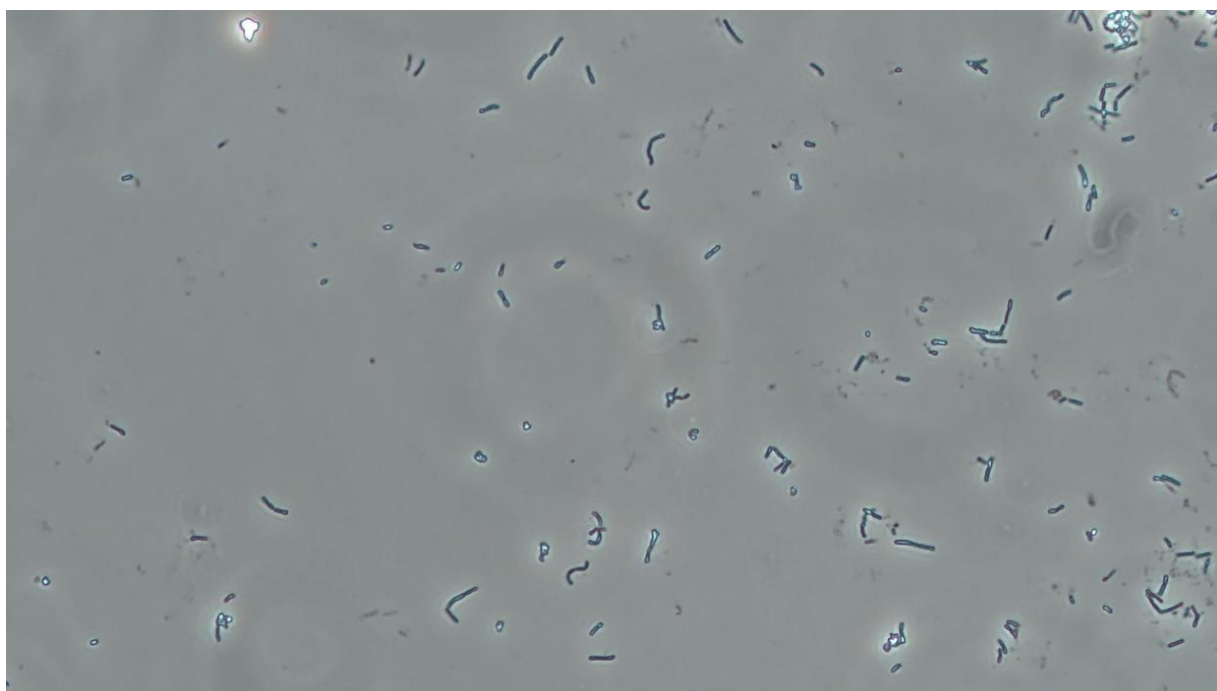
**Próbka PBM/189/2021 (960/21)**

Powiększenie 1500x



**Próbka PBM/190/2021 (968/21)**

Powiększenie 1500x





**Sekwencja rejonu 16S operonu rDNA badanych mikroorganizmów (wyniki uzyskane od nieakredytowanego podwykonawcy):**

**Próbka PBM/189/2021 (960/21)**

TACATGCAGTCGAACGAGTTCTCGTTGATGATCGGTGCTTGCACCGAGATTCAAC  
ATGGAACGAGTGGCGGACGGGTGAGTAACACGTGGGTAACCTGCCCTTAAGTGG  
GGGATAACATTTGGAAACAGATGCTAATACCGCATAGATCCAAGAACCGCATGG  
TTCTTGGCTGAAAGATGGCGTAAGCTATCGCTTTTGGATGGACCCGCGGCGTATT  
AGCTAGTTGGTGAGGTAATGGCTCACCAAGGCGATGATACGTAGCCGAACTGAG  
AGGTTGATCGGCCACATTGGGACTGAGACACGGCCAAACTCCTACGGGAGGCA  
GCAGTAGGGAATCTTCCACAATGGACGCAAGTCTGATGGAGCAACGCCGCGTGA  
GTGAAGAAGGCTTTCGGGTCGTAAACTCTGTTGTTGGAGAAGAATGGTCGGCAG  
AGTAACTGTTGTCGGCGTGACGGTATCCAACCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTG  
CCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGATTTATTGGGCGTA  
AAGCGAGCGCAGGCGGTTTTTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCTCGGCTTAACCGAG  
GAAGCGCATCGGACACTGGGAAACTTGAGTGCAGAAGAGGACAGTGGAATCCA  
TGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATATGGAAGAACACCAGTGGCGAAGGCGGC  
TGTCTGGTCTGTAACCTGACGCTGAGGCTCGAAAGCATGGGTAGCGAACAGGATTA  
GATACCCTGGTAGTCCATGCCGTAACGATGAATGCTA

**Próbka PBM/190/2021 (968/21)**

CTATACATGCAGTCGAACGCGTCTTGGTTATTGATGTTAAGTGCTTGCATTTAACT  
GATTTAACATTGAGACGAGTGGCGAACTGGTGAGTAACACGTGGGTAACCTGCC  
TTGAAGTAGGGGATAACACTTGGAAACAGGTGCTAATACCGTATAACAACCAA  
ACCACCTGGTTTTTGGTTTTAAAAGATGGCTTCGGCTATCACTTTAGGATGGACCCG  
CGGCGTATTAGCTTGTGGT  
AAGGTAACGGCCTACCAAGGCAATGATACGTAGCCGACCTGAGAGGGTAATCGG  
CCACATTGGGACTGAGACACGGCCAAACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAA  
TCTTCCACAATGGACGAAAGTCTGATGGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGG  
TTTCGGCTCGTAAACTCTGTTGTTGGAGAAGAACAGGTGTGAGAGTAACTGTTC  
ACATCTTGACGGTATCCAACCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGC  
GGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGATTTATTGGGCGTAAAGCGAGCGCA  
GGCGGTTTTCTTAGGTCTGATGTGAAAGCCTTCGGCTTAACCGGAGAAGTGCATCG  
GAAACCAGGAGACTTGAGTGCAGAAGAGGACAGTGGAATCCATGTGTAGCGGT  
GAAATGCGTAGATATATGGAAGAACACCAGTGGCGAAGGCGGCTGTCTGGTCTG  
TAACTGACGCTGAGGCTCGAAAGC

## Wyniki porównania badanej sekwencji z bazą danych sekwencji GenBanku:

Próbka PBM/189/2021 (960/21)

	Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Lactobacillus paracasei strain 3319 16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Lactocaseibacillus paracasei</a>	1474	1474	100%	0.0	99.88%	1469	<a href="#">MT613613.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Lactobacillus paracasei strain 3208 16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Lactocaseibacillus paracasei</a>	1474	1474	100%	0.0	99.88%	1460	<a href="#">MT613551.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Lactobacillus paracasei strain 3154 16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Lactocaseibacillus paracasei</a>	1474	1474	100%	0.0	99.88%	1476	<a href="#">MT613527.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Lactobacillus paracasei strain 3153 16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Lactocaseibacillus paracasei</a>	1474	1474	100%	0.0	99.88%	1475	<a href="#">MT613526.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Lactobacillus paracasei strain 3133 16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Lactocaseibacillus paracasei</a>	1474	1474	100%	0.0	99.88%	1466	<a href="#">MT613510.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Lactobacillus paracasei strain 3089 16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Lactocaseibacillus paracasei</a>	1474	1474	100%	0.0	99.88%	1459	<a href="#">MT613483.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Lactobacillus paracasei strain 2335 16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Lactocaseibacillus paracasei</a>	1474	1474	100%	0.0	99.88%	1471	<a href="#">MT604793.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Lactobacillus paracasei strain 2281 16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Lactocaseibacillus paracasei</a>	1474	1474	100%	0.0	99.88%	1470	<a href="#">MT604755.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Lactobacillus paracasei strain 2011 16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Lactocaseibacillus paracasei</a>	1474	1474	100%	0.0	99.88%	1476	<a href="#">MT604604.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Lactobacillus paracasei strain 1870 16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Lactocaseibacillus paracasei</a>	1474	1474	100%	0.0	99.88%	1472	<a href="#">MT597695.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Lactobacillus paracasei strain 1864 16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Lactocaseibacillus paracasei</a>	1474	1474	100%	0.0	99.88%	1467	<a href="#">MT597691.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Lactobacillus paracasei strain 1861 16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Lactocaseibacillus paracasei</a>	1474	1474	100%	0.0	99.88%	1479	<a href="#">MT597688.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Lactobacillus paracasei strain 4784 16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Lactocaseibacillus paracasei</a>	1474	1474	100%	0.0	99.88%	1471	<a href="#">MT545151.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Lactobacillus paracasei strain 4542 16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Lactocaseibacillus paracasei</a>	1474	1474	100%	0.0	99.88%	1467	<a href="#">MT545056.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Lactobacillus paracasei strain 4539 16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Lactocaseibacillus paracasei</a>	1474	1474	100%	0.0	99.88%	1470	<a href="#">MT545053.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Lactobacillus paracasei strain 4520 16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Lactocaseibacillus paracasei</a>	1474	1474	100%	0.0	99.88%	1463	<a href="#">MT545038.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Lactobacillus paracasei strain 4508 16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Lactocaseibacillus paracasei</a>	1474	1474	100%	0.0	99.88%	1455	<a href="#">MT545029.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Lactobacillus paracasei strain 4443 16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Lactocaseibacillus paracasei</a>	1474	1474	100%	0.0	99.88%	1467	<a href="#">MT544969.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Lactobacillus paracasei strain 4436 16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Lactocaseibacillus paracasei</a>	1474	1474	100%	0.0	99.88%	1466	<a href="#">MT544962.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Lactobacillus paracasei strain 4404 16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Lactocaseibacillus paracasei</a>	1474	1474	100%	0.0	99.88%	1471	<a href="#">MT544934.1</a>

Próbka PBM/190/2021 (968/21)

	Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Lactobacillus parabuchneri strain SM-L 16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Lentilactobacillus parabuchneri</a>	1393	1393	100%	0.0	100.00%	1524	<a href="#">JX003594.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Lactobacillus parabuchneri strain 3347 16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Lentilactobacillus parabuchneri</a>	1387	1387	100%	0.0	99.87%	1483	<a href="#">MT613633.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Lactobacillus parabuchneri strain 6903 16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Lentilactobacillus parabuchneri</a>	1387	1387	100%	0.0	99.87%	1457	<a href="#">MT463961.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Lactobacillus parabuchneri gene for 16S rRNA, partial sequence, strain: T9-11</a>	<a href="#">Lentilactobacillus parabuchneri</a>	1387	1387	100%	0.0	99.87%	1479	<a href="#">AB368914.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Lactobacillus parabuchneri gene for 16S rRNA, partial sequence, strain: T12-7</a>	<a href="#">Lentilactobacillus parabuchneri</a>	1387	1387	100%	0.0	99.87%	1457	<a href="#">AB368913.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Lactobacillus parabuchneri strain TP3 16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Lentilactobacillus parabuchneri</a>	1386	1386	100%	0.0	99.87%	1516	<a href="#">KU315059.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Lactobacillus parabuchneri strain 6420 16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Lentilactobacillus parabuchneri</a>	1384	1384	100%	0.0	99.74%	1485	<a href="#">MT515861.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Lactobacillus parabuchneri strain 6902 16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Lentilactobacillus parabuchneri</a>	1384	1384	99%	0.0	99.87%	1456	<a href="#">MT463960.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Lactobacillus parabuchneri strain HBUAS6106 16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Lentilactobacillus parabuchneri</a>	1384	1384	99%	0.0	99.87%	1497	<a href="#">MT211334.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Lactobacillus parabuchneri strain HBUAS62475 16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Lentilactobacillus parabuchneri</a>	1384	1384	99%	0.0	99.87%	1500	<a href="#">MK835730.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Lactobacillus parabuchneri strain FAM21731, complete genome</a>	<a href="#">Lentilactobacillus parabuchneri</a>	1384	6893	99%	0.0	99.87%	2600578	<a href="#">CP018796.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Lentilactobacillus parabuchneri strain B3BL14G 16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Lentilactobacillus parabuchneri</a>	1384	1384	99%	0.0	99.87%	1490	<a href="#">MW700852.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Lentilactobacillus parabuchneri strain K1BL 16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Lentilactobacillus parabuchneri</a>	1384	1384	99%	0.0	99.87%	1484	<a href="#">MW698734.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Lentilactobacillus parabuchneri strain O1BL8p 16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Lentilactobacillus parabuchneri</a>	1384	1384	99%	0.0	99.87%	1478	<a href="#">MW698192.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Lentilactobacillus parabuchneri strain O1BL8m 16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Lentilactobacillus parabuchneri</a>	1384	1384	99%	0.0	99.87%	1483	<a href="#">MW698191.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Lentilactobacillus parabuchneri strain O1BL7 16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Lentilactobacillus parabuchneri</a>	1384	1384	99%	0.0	99.87%	1480	<a href="#">MW698190.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Lentilactobacillus parabuchneri strain O1BL4p 16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Lentilactobacillus parabuchneri</a>	1384	1384	99%	0.0	99.87%	1485	<a href="#">MW698189.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Lentilactobacillus parabuchneri strain K1BLba 16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Lentilactobacillus parabuchneri</a>	1384	1384	99%	0.0	99.87%	1484	<a href="#">MW697452.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Lentilactobacillus parabuchneri strain K1BL5a 16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Lentilactobacillus parabuchneri</a>	1384	1384	99%	0.0	99.87%	1483	<a href="#">MW697450.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Lentilactobacillus parabuchneri strain K1BL4a 16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Lentilactobacillus parabuchneri</a>	1384	1384	99%	0.0	99.87%	1483	<a href="#">MW697449.1</a>

## Identyfikacja metodą PCR kolonii drożdży - etapy:

### Kolonie drożdży:

1. Przesiew na podłoże SA, obserwacje mikroskopowe.
2. Izolacja genomowego DNA: genomowy DNA został wyizolowany za pomocą zestawu Plant/FungiIsolation Kit (NorgenBiotek) wg instrukcji producenta.
3. Amplifikacja DNA: fragment D1/D2 genu 26S rDNA został zamplifikowany za pomocą starterów dedykowanych do powielania materiału genetycznego z drożdży, tj. NL1 i NL4. Amplifikację DNA przeprowadzono z wykorzystaniem polimerazy DreamTaq Green PCR Master Mix (ThermoScientific) w amplifikatorze SimpliAmpQantStudio (Thermo Fisher).
4. Sekwencjonowanie DNA: sekwencjonowanie DNA – badania przeprowadzone w laboratorium Genomed.
5. Analiza sekwencji DNA: końcowa sekwencja analizowanego fragmentu DNA została złożona za pomocą programu Serial Cloner. Porównanie badanej sekwencji z sekwencjami zdeponowanymi w międzynarodowej bazie sekwencji *GenBank* przeprowadzono za pomocą programu BLAST.

### **Wyniki badań:**

#### PBM/182/2021 (971/21)

Na agarze SA kolonie kremowe, okrągłe, błyszczące, wypukłe. W preparacie mikroskopowym zaobserwowano komórki o morfologii charakterystycznej dla drożdży. Sekwencja rejonu D1/D2 genu 26S rDNA tych mikroorganizmów wykazuje największe podobieństwo do sekwencji rejonu D1/D2 genu 26S rDNA drożdży należących do gatunku *Brettanomycesbruxellensis* (99,82% identyczności).

#### PBM/183/2021 (978/21 typ I)

Na agarze SA kolonie kremowe, duże, chropowate. W preparacie mikroskopowym zaobserwowano komórki o morfologii charakterystycznej dla drożdży. Sekwencja rejonu D1/D2 genu 26S rDNA tych mikroorganizmów wykazuje największe podobieństwo do sekwencji rejonu D1/D2 genu 26S rDNA drożdży należących do gatunku *Pichiakudriavzevii* (100,00% identyczności).

#### PBM/184/2021 (978/21 typ II)

Na agarze SA kolonie kremowe, jednorodne, błyszczące, okrągłe i wypukłe. W preparacie mikroskopowym zaobserwowano komórki o morfologii charakterystycznej dla drożdży. Sekwencja rejonu D1/D2 genu 26S rDNA tych mikroorganizmów wykazuje największe podobieństwo do sekwencji rejonu D1/D2 genu 26S rDNA drożdży należących do gatunku *Saccharomycescerevisiae* (100,00% identyczności).

PBM/185/2021 (975/21 typ I)

Na agarze SA kolonie kremowe, jednorodne, błyszczące, okrągłe i wypukłe. W preparacie mikroskopowym zaobserwowano komórki o morfologii charakterystycznej dla drożdży. Sekwencja rejonu D1/D2 genu 26S rDNA tych mikroorganizmów wykazuje największe podobieństwo do sekwencji rejonu D1/D2 genu 26S rDNA drożdży należących do gatunku *Saccharomyces cerevisiae* (100,00% identyczności).

PBM/186/2021 (975/21 typ II)

Na agarze SA kolonie kremowe, okrągłe, błyszczące, wypukłe. W preparacie mikroskopowym zaobserwowano komórki o morfologii charakterystycznej dla drożdży. Sekwencja rejonu D1/D2 genu 26S rDNA tych mikroorganizmów wykazuje największe podobieństwo do sekwencji rejonu D1/D2 genu 26S rDNA drożdży należących do gatunku *Brettanomyces bruxellensis* (100,00% identyczności).

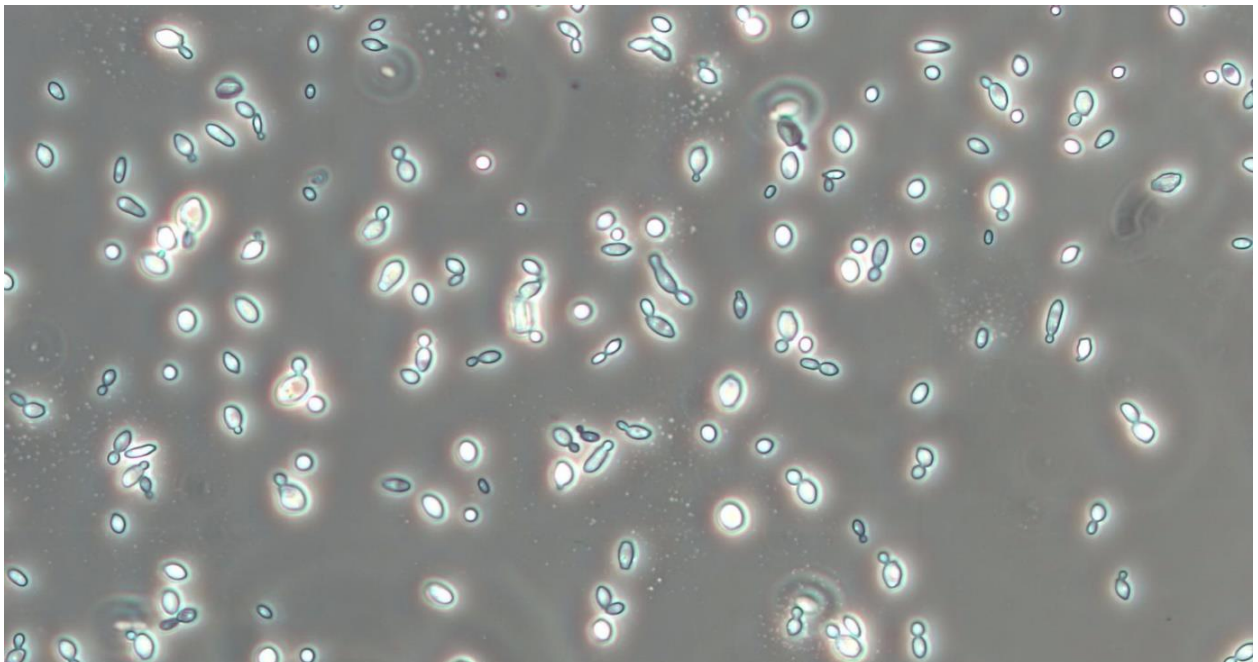
PBM/187/2021 (977/21)

Na agarze SA kolonie kremowe, jednorodne, błyszczące, okrągłe i wypukłe. W preparacie mikroskopowym zaobserwowano komórki o morfologii charakterystycznej dla drożdży. Sekwencja rejonu D1/D2 genu 26S rDNA tych mikroorganizmów wykazuje największe podobieństwo do sekwencji rejonu D1/D2 genu 26S rDNA drożdży należących do gatunku *Saccharomyces cerevisiae* (100,00% identyczności).

**Zdjęcia preparatów mikroskopowych sporządzonych z badanych hodowli:**

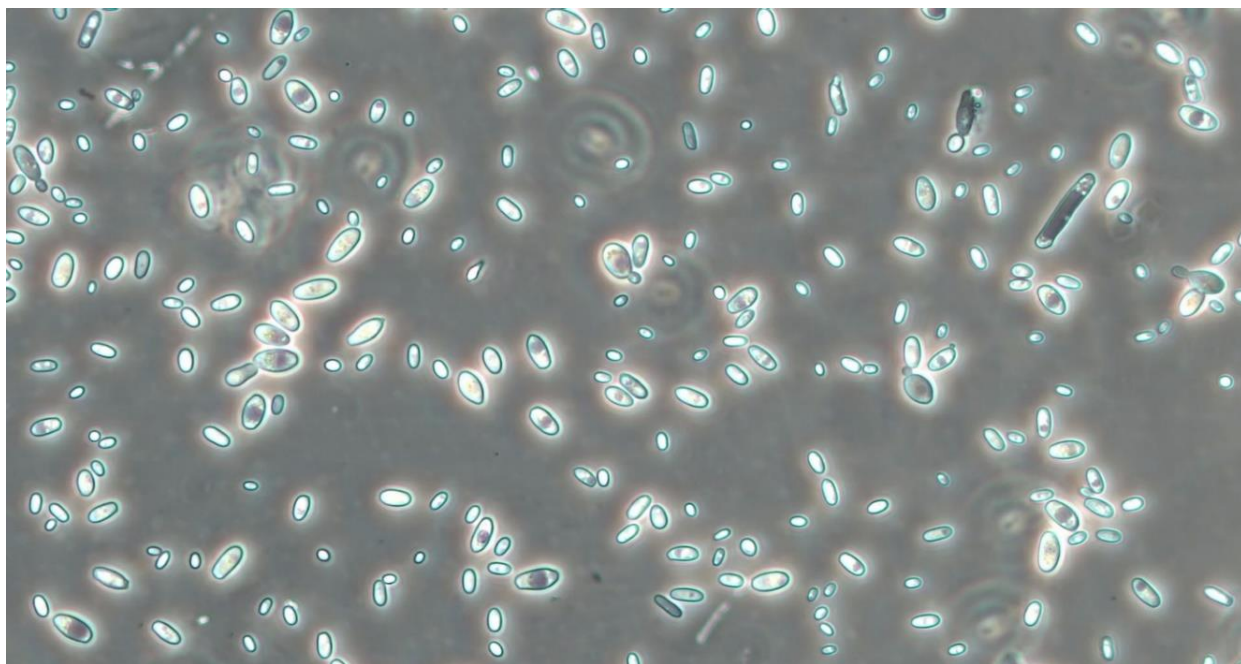
**PBM/182/2021 (971/21)**

Powiększenie 600x

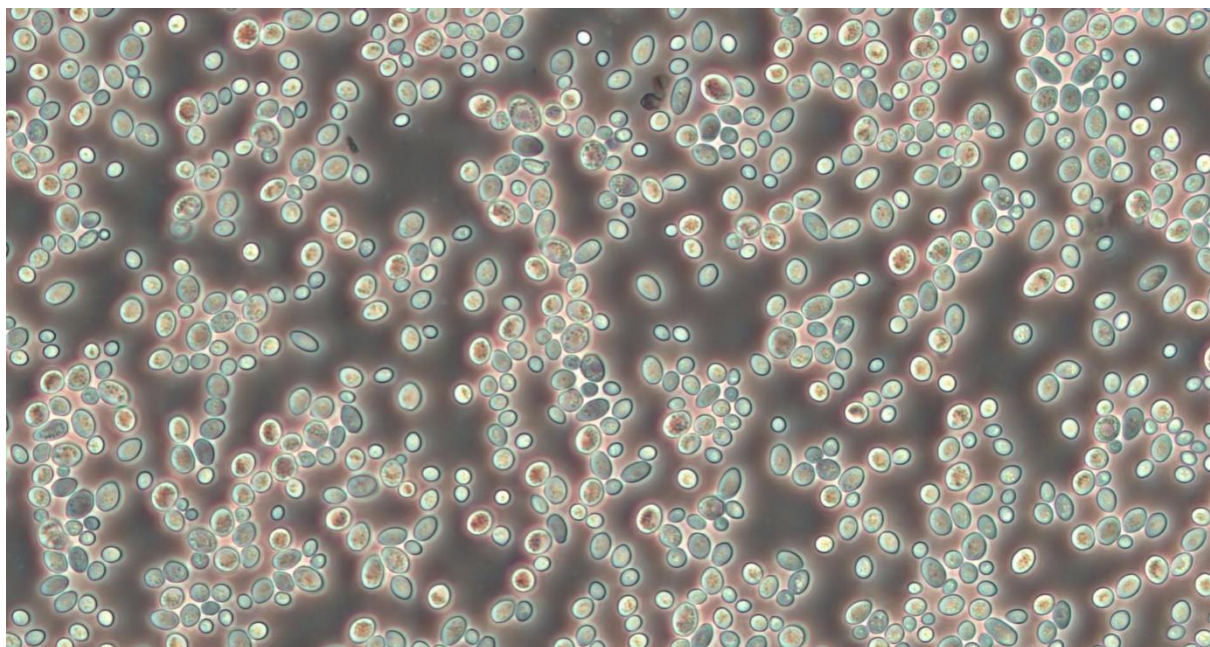




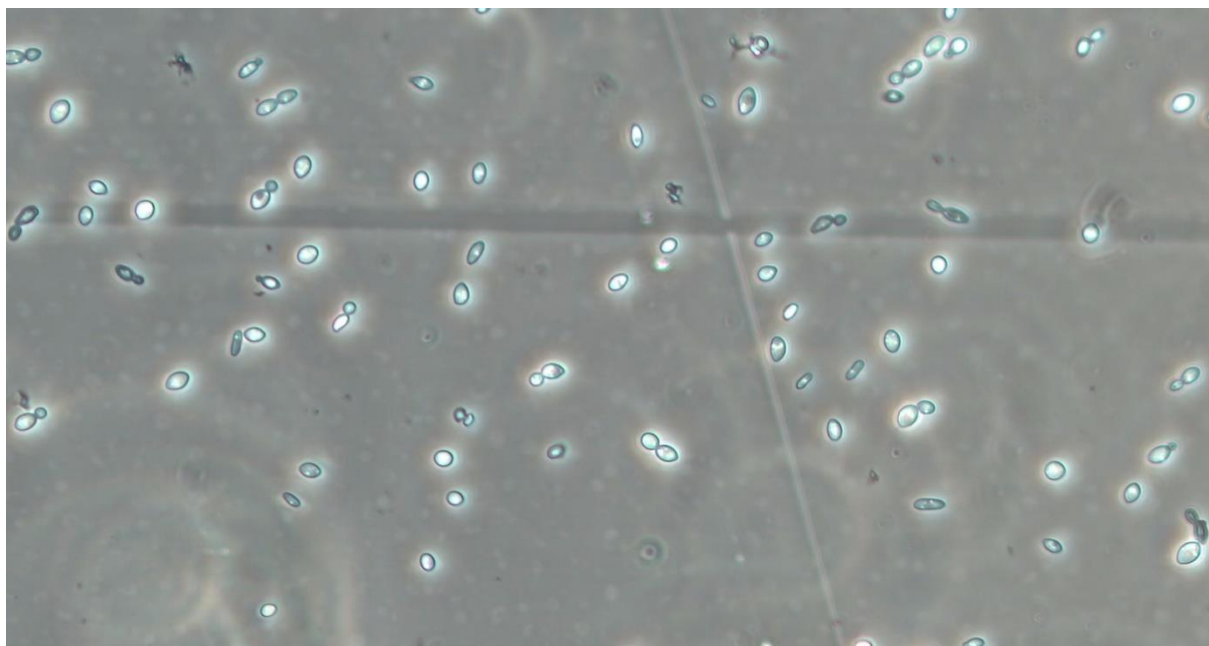
**PBM/183/2021 (978/21 typ I)**  
Powiększenie 600x



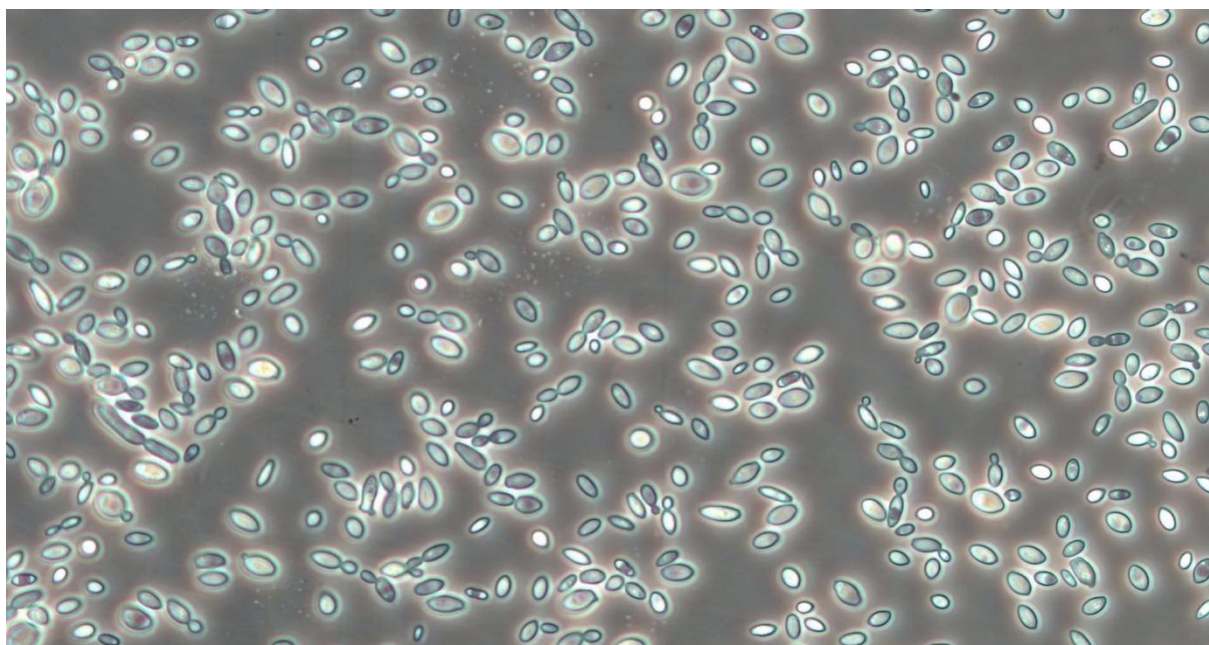
**PBM/184/2021 (978/21 typ II)**  
Powiększenie 600x



**PBM/185/2021 (975/21 typ I)**  
Powiększenie 600x



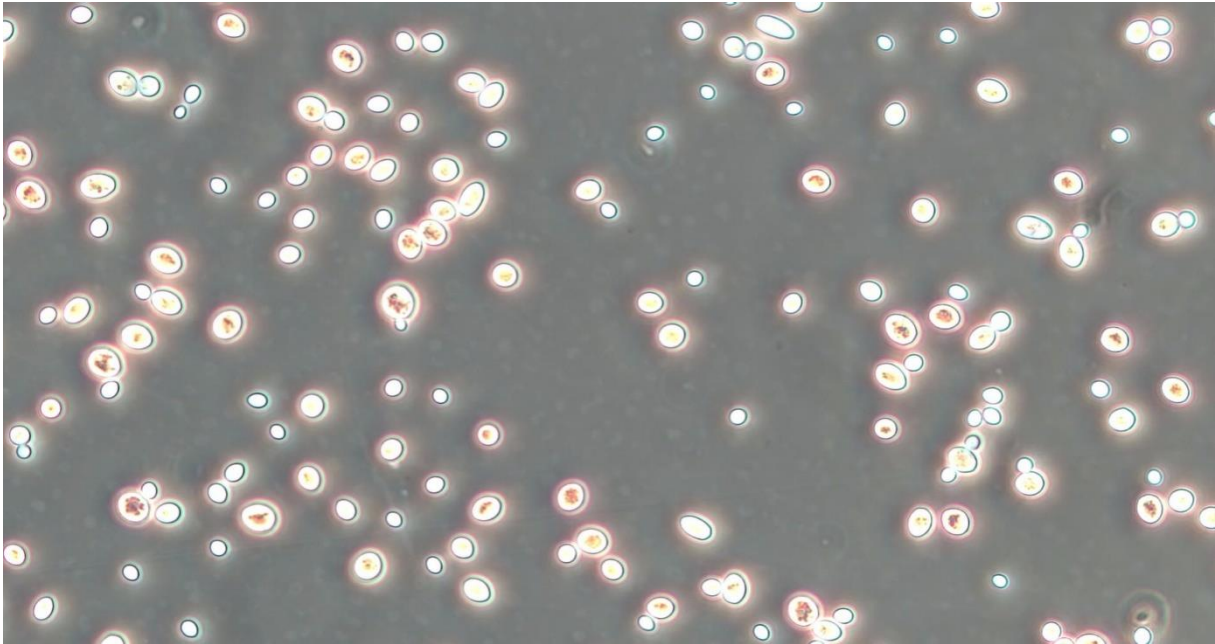
**PBM/186/2021 (975/21 typ II)**  
Powiększenie 600x





**PBM/187/2021 (977/21)**

Powiększenie 600x



**Sekwencja rejonu D1/D2 genu 26S rDNA badanych mikroorganizmów (wyniki uzyskane od nieakredytowanego podwykonawcy):**

PBM/182/2021 (971/21)

```
GCGGCAAGAGCCCAAATTTGAAATCGGGCAACCGAGTTGTAATTTGGGGACGGG
ACACTAGAGAGGAGGAAGGCGATTAAGTGCCTTGGAAACAGGCTGCCGTAGAGGG
TGAGAGCCCCGTGAATCGCTGGAGACCGATCAATTAGTGCCCCCGAAGAGTCG
AGTTGTTTGGGAATGCAGCTCTAAGTGGGTGGTATATTCCATCTAAGGCTAAATA
TTAGCGAGAGACCGATAGCAAACAAGTACAGTGATGGAAAGATGAAAAGAACTT
TGAAAGAGAGTGAAATAGTACGTGAAATTGTTGAAAGGGAAGGGTATTTGATC
CGACATGGTGTTTAGCAGCGGCCCGTTCCCTCGTGGATGGGTGCACCTGGTTTACA
CTGGGCCAGCATCGGTTCTGGGAGCCATATACGGGGTTCGTGAATGTGGCCCTTC
GATTCTGTTCGGAGGGTGTATAGCGCGGACATCTTGTGGCTAGCCGGGACCGGGG
ACTGCGGTGACTTGTACCAAGGATGCTGGCAGAACGAGCAAATACCACCCGTCT
TGAAACACGGACCCAG
```

PBM/183/2021 (978/21 typ I)

```
TAGCGGCGAGTGAGCGGCAAGAGCTCAGATTTGAAATCGTGCTTTGCGGCACGA
GTTGTAGATTGCAGGTTGGAGTCTGTGTGGAAGGCGGTGTCCAAGTCCCTTGAA
CAGGGCGCCCAGGAGG
```

PBM/184/2021 (978/21 typ II)

GCGGCAAAAGCTCAAATTTGAAATCTGGTACCTTCGGTGCCCGAGTTGTAATTTG  
GAGAGGGCAACTTTGGGGCCGTTCCCTTGTCTATGTTCCCTTGGAACAGGACGTCAT  
AGAGGGTGAGAATCCCGTGTGGCGAGGAGTGCGGTTCTTTGTAAAGTGCCTTCGA  
AGAGTCGAGTTGTTTGGGAATGCAGCTCTAAGTGGGTGGTAAATCCATCTAAAG  
CTAAATATTGGCGAGAGACC  
GATAGCGAACAAGTACAGTGATGGAAAGATGAAAAGAACTTTGAAAAGAGAGTG  
AAAAAGTACGTGAAATTGTTGAAAGGGAAGGGCATTGATCAGACATGGTGTTTT  
GTGCCCTCTGCTCCTTGTGGGTAGGGGAATCTCGCATTTCCTGGGCCAGCATCA  
GTTTTGGTGGCAGGATAAATCCATAGGAATGTAGCTTGCCTCGGTAAGTATTATA  
GCCTGTGGGAATACTGCCAGCTGGGACTGAGGACTGCGACGTAAGTCAAGGATG  
CTGGCATAATGGTTATATGCCGCCCGTCTTGA

PBM/185/2021 (975/21 typ I)

GCGGCAAGAGCCCAAATTTGAAATCGGGCAACCGAGTTGTAATTTGGAGACGGG  
ACACTAGAGAGGAGGAAGGCGATTAAGTGCCCTTGGAACAGGCTGCCGTAGAGGG  
TGAGAGCCCCGTGAATCGCTGGAGACCGATCAATTAGTGCCCGCCGAAGAGTCG  
AGTTGTTTGGGAATGCAGCTCTAAGTGGGTGGTATATTCCATCTAAGGCTAAATA  
TTAGCGAGAGACCGATAGCAAACAAGTACAGTGATGGAAAGATGAAAAGAACTT  
TGAAAGAGAGTGAAATAGTACGTGAAATTGTTGAAAGGGAAGGGTATTTGATC  
CGACATGGTGTTTAGCASC GGCCCGTTCCTCGTGGATGGGTGCACCTGGTTTACAC  
TGGGCCAGCATCGGTTCTGGGAGCCATATACGGGGTTCGTGAATGTGGCCCTTCG  
ATTCTGTTCGGAGGGTGTTATAGCGCGGACATCTTGTGGCTAGCCGGGACCGGGGA  
CTGCGGTGACTTGTACCAAGGATGCTGGCAGAACGAGCAAATACCACCCGTCTT  
GAAC

PBM/186/2021 (975/21 typ II)

GCGGCAAGAGCCCAAATTTGAAATCGGGCAACCGAGTTGTAATTTGGAGACGGG  
ACACTAGAGAGGAGGAAGGCGATTAAGTGCCCTTGGAACAGGCTGCCGTAGAGGG  
TGAGAGCCCCGTGAATCGCTGGAGACCGATCAATTAGTGCCCGCCGAAGAGTCG  
AGTTGTTTGGGAATGCAGCTCTAAGTGGGTGGTATATTCCATCTAAGGCTAAATA  
TTAGCGAGAGACCGATAGCAAACAAGTACAGTGATGGAAAGATGAAAAGAACTT  
TGAAAGAGAGTGAAATAGTACGTGAAATTGTTGAAAGGGAAGGGTATTTGATC  
CGACATGGTGTTTAGCAGCGGCCCGTTCCTCGTGGATGGGTGCACCTGGTTTACA  
CTGGGCCAGCATCGGTTCTGGGAGCCATATACGGGGTTCGTGAATGTGGCCCTTC  
GATTCTGTTCGGAGGGTGTTATAGCGCGGACATCTTGTGGCTAGCCGGGACCGGGG  
ACTGCGGTGACTTGTACCAAGGATGCTGGCAGAACGAGCAAATACCACCCGTCT  
TGAA

PBM/187/2021 (977/21)

AAGCTCAAATTTGAAATCTGGTACCTTCGGTGCCCGAGTTGTAATTTGGAGAGGG  
CAACTTTGGGGCCGTTCCCTTGTCTATGTTCCCTTGGAACAGGACGTCATAGAGGGT  
GAGAATCCCGTGTGGCGAGGAGTGCGGTTCTTTGTAAAGTGCCTTCGAAGAGTCG



AGTTGTTTGGGAATGCAGCTCTAAGTGGGTGGTAAATTCCATCTAAAGCTAAATA  
 TTGGCGAGAGACCGATAGCG  
 AACAAGTACAGTGATGGAAAGATGAAAAGAAGCTTTGAAAAGAGAGTGAAAAG  
 TACGTGAAATTGTTGAAAGGGAAGGGCATTGATCAGACATGGTGTGTTTGTGCC  
 TCTGCTCCTTGTGGGTAGGGGAATCTCGCATTTCCTGGGCCAGCATCAGTTTTGG  
 TGGCAGGATAAATCCATAGGAATGTAGCTTGCCTCGGTAAGTATTATAGCCTGTG  
 GGAATACTGCCAGCTGGGACTGAGGACTGCGACGTAAGTCAAGGATGCTGGCAT  
 AATGGTTATATGCCGCCCGTCTTGAAA

## Wyniki porównania badanej sekwencji z bazą danych sekwencji GenBanku:

PBM/182/2021 (971/21)

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Brettanomyces bruxellensis strain BZL-122 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Brettanomyces b...</a>	1026	1026	99%	0.0	99.82%	585	<a href="#">MN371933.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Brettanomyces bruxellensis isolate YKS-3 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Brettanomyces b...</a>	1020	1020	98%	0.0	99.82%	610	<a href="#">MH930867.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Brettanomyces bruxellensis culture CBS.74 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Brettanomyces b...</a>	1020	1020	99%	0.0	99.64%	738	<a href="#">KY107614.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Brettanomyces bruxellensis culture CBS.2547 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Brettanomyces b...</a>	1020	1020	99%	0.0	99.64%	924	<a href="#">KY107613.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Brettanomyces bruxellensis culture CBS.78 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Brettanomyces b...</a>	1020	1020	99%	0.0	99.64%	883	<a href="#">KY107612.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Brettanomyces bruxellensis culture CBS.72 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Brettanomyces b...</a>	1020	1020	99%	0.0	99.64%	915	<a href="#">KY107610.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Brettanomyces bruxellensis culture CBS.4482 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Brettanomyces b...</a>	1020	1020	99%	0.0	99.64%	921	<a href="#">KY107609.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Brettanomyces bruxellensis culture CBS.98 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Brettanomyces b...</a>	1020	1020	99%	0.0	99.64%	895	<a href="#">KY107608.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Brettanomyces bruxellensis culture CBS.96 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Brettanomyces b...</a>	1020	1020	99%	0.0	99.64%	796	<a href="#">KY107607.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Brettanomyces bruxellensis culture CBS.2796 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Brettanomyces b...</a>	1020	1020	99%	0.0	99.64%	829	<a href="#">KY107606.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Brettanomyces bruxellensis culture CBS.97 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Brettanomyces b...</a>	1020	1020	99%	0.0	99.64%	925	<a href="#">KY107605.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Brettanomyces bruxellensis culture CBS.4602 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Brettanomyces b...</a>	1020	1020	99%	0.0	99.64%	922	<a href="#">KY107603.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Brettanomyces bruxellensis culture CBS.2336 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Brettanomyces b...</a>	1020	1020	99%	0.0	99.64%	914	<a href="#">KY107602.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Brettanomyces bruxellensis culture CBS.4459 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Brettanomyces b...</a>	1020	1020	99%	0.0	99.64%	924	<a href="#">KY107599.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Dekkera bruxellensis genomic DNA containing ITS2 and 28S rRNA gene, strain R-52489</a>	<a href="#">Brettanomyces b...</a>	1020	1020	99%	0.0	99.64%	988	<a href="#">LK024190.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Brettanomyces bruxellensis strain VKM-Y-3064D large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Brettanomyces b...</a>	1020	1020	99%	0.0	99.64%	880	<a href="#">MZ930478.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Dekkera bruxellensis strain NRRL Y-12961 26S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Brettanomyces b...</a>	1020	1020	99%	0.0	99.64%	3203	<a href="#">JQ689028.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Brettanomyces bruxellensis strain NRRL Y-12961 26S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Brettanomyces b...</a>	1020	1020	99%	0.0	99.64%	3202	<a href="#">EU011655.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Brettanomyces bruxellensis NRRL Y-12961 28S rRNA, partial sequence, from TYPE material</a>	<a href="#">Brettanomyces b...</a>	1020	1020	99%	0.0	99.64%	3321	<a href="#">NG_055124.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Dekkera bruxellensis 18S rRNA gene, ITS1, 26S rRNA and 5S rRNA genes (rDNA tandem repeat 1), and partial...</a>	<a href="#">Brettanomyces b...</a>	1020	1020	99%	0.0	99.64%	9943	<a href="#">AM850055.1</a>

PBM/183/2021 (978/21 typ I)

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Wickerhamomyces anomalus strain Y2 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Wickerhamomyc...</a>	231	231	100%	8e-57	100.00%	583	<a href="#">MN648836.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Pichia kudriavzevii strain Y1 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Pichia kudriavzevii</a>	231	231	100%	8e-57	100.00%	581	<a href="#">MN648835.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Pichia kudriavzevii isolate P4 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Pichia kudriavzevii</a>	231	231	100%	8e-57	100.00%	559	<a href="#">MN464132.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Pichia kudriavzevii strain XJ-123 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Pichia kudriavzevii</a>	231	231	100%	8e-57	100.00%	581	<a href="#">MN371963.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Pichia kudriavzevii strain NT-108 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Pichia kudriavzevii</a>	231	231	100%	8e-57	100.00%	569	<a href="#">MN371951.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Pichia kudriavzevii strain DR-125 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Pichia kudriavzevii</a>	231	231	100%	8e-57	100.00%	578	<a href="#">MN371941.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Pichia kudriavzevii isolate Reactor 2 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Pichia kudriavzevii</a>	231	231	100%	8e-57	100.00%	572	<a href="#">MK621174.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Pichia kudriavzevii strain YCJ10 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Pichia kudriavzevii</a>	231	231	100%	8e-57	100.00%	567	<a href="#">MK656262.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Pichia kudriavzevii strain Cm2-6-Y4 26S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Pichia kudriavzevii</a>	231	231	100%	8e-57	100.00%	573	<a href="#">MG245854.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Pichia kudriavzevii strain Cm2-24-Y4 26S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Pichia kudriavzevii</a>	231	231	100%	8e-57	100.00%	556	<a href="#">MG245852.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Pichia kudriavzevii strain NJAULZ-JM3 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Pichia kudriavzevii</a>	231	231	100%	8e-57	100.00%	580	<a href="#">MH244203.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Pichia kudriavzevii isolate DSP-1 26S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Pichia kudriavzevii</a>	231	231	100%	8e-57	100.00%	569	<a href="#">MF769603.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Pichia kudriavzevii isolate 2mo17 26S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Pichia kudriavzevii</a>	231	231	100%	8e-57	100.00%	533	<a href="#">MF631053.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Pichia kudriavzevii isolate 1ba12 26S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Pichia kudriavzevii</a>	231	231	100%	8e-57	100.00%	572	<a href="#">KY817775.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Pichia kudriavzevii isolate 11Y11 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Pichia kudriavzevii</a>	231	231	100%	8e-57	100.00%	568	<a href="#">MF574470.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Pichia kudriavzevii isolate NBT 13 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Pichia kudriavzevii</a>	231	231	100%	8e-57	100.00%	572	<a href="#">MF461295.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/> <a href="#">Pichia kudriavzevii partial 28S rRNA gene, strain EXF-6462</a>	<a href="#">Pichia kudriavzevii</a>	231	231	100%	8e-57	100.00%	546	<a href="#">LT594889.1</a>

PBM/184/2021 (978/21 typ II)

	Description	Scientific Name	Common Name	Taxid	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Saccharomyces sp. "boulardii" strain H1 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Sacchar...</a>	<a href="#">NA</a>	<a href="#">252598</a>	1024	1024	100%	0.0	100.00%	590	<a href="#">MT449154.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Saccharomyces cerevisiae strain SC12 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Sacchar...</a>	<a href="#">baker's ...</a>	<a href="#">4932</a>	1024	1024	100%	0.0	100.00%	597	<a href="#">MN648826.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Saccharomyces cerevisiae strain F2-Y333-8 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Sacchar...</a>	<a href="#">baker's ...</a>	<a href="#">4932</a>	1024	1024	100%	0.0	100.00%	587	<a href="#">MK329994.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Saccharomyces cerevisiae strain F2-T230-10A large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Sacchar...</a>	<a href="#">baker's ...</a>	<a href="#">4932</a>	1024	1024	100%	0.0	100.00%	587	<a href="#">MK329987.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Saccharomyces cerevisiae strain ZT5 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Sacchar...</a>	<a href="#">baker's ...</a>	<a href="#">4932</a>	1024	1024	100%	0.0	100.00%	583	<a href="#">MK908004.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Saccharomyces cerevisiae strain ML3 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Sacchar...</a>	<a href="#">baker's ...</a>	<a href="#">4932</a>	1024	1024	100%	0.0	100.00%	592	<a href="#">MK907993.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Saccharomyces cerevisiae strain FBKL2.8012 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Sacchar...</a>	<a href="#">baker's ...</a>	<a href="#">4932</a>	1024	1024	100%	0.0	100.00%	561	<a href="#">MK722467.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Saccharomyces cerevisiae strain FBKL2.8004 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Sacchar...</a>	<a href="#">baker's ...</a>	<a href="#">4932</a>	1024	1024	100%	0.0	100.00%	576	<a href="#">MK722459.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Pichia terricola isolate FBKL2.91296 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Pichia.t...</a>	<a href="#">NA</a>	<a href="#">54551</a>	1024	1024	100%	0.0	100.00%	559	<a href="#">MK581120.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Saccharomyces mikatae isolate FBKL2.923 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Sacchar...</a>	<a href="#">NA</a>	<a href="#">114525</a>	1024	1024	100%	0.0	100.00%	573	<a href="#">MK581073.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Saccharomyces cerevisiae clone ITS_9 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Sacchar...</a>	<a href="#">baker's ...</a>	<a href="#">4932</a>	1024	1024	100%	0.0	100.00%	576	<a href="#">MK262975.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Saccharomyces cerevisiae strain G9 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Sacchar...</a>	<a href="#">baker's ...</a>	<a href="#">4932</a>	1024	1024	100%	0.0	100.00%	558	<a href="#">MH094131.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Saccharomyces cerevisiae strain S5R1-1 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Sacchar...</a>	<a href="#">baker's ...</a>	<a href="#">4932</a>	1024	1024	100%	0.0	100.00%	590	<a href="#">MG773372.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Saccharomyces cerevisiae large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Sacchar...</a>	<a href="#">baker's ...</a>	<a href="#">4932</a>	1024	1024	100%	0.0	100.00%	568	<a href="#">MK990288.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Saccharomyces cerevisiae clone Turkey strain_108-T8 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequ...</a>	<a href="#">Sacchar...</a>	<a href="#">baker's ...</a>	<a href="#">4932</a>	1024	1024	100%	0.0	100.00%	579	<a href="#">MK358176.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Saccharomyces cerevisiae clone Turkey strain_107-T7 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequ...</a>	<a href="#">Sacchar...</a>	<a href="#">baker's ...</a>	<a href="#">4932</a>	1024	1024	100%	0.0	100.00%	580	<a href="#">MK358175.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Saccharomyces cerevisiae clone Turkey strain_106-K6 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequ...</a>	<a href="#">Sacchar...</a>	<a href="#">baker's ...</a>	<a href="#">4932</a>	1024	1024	100%	0.0	100.00%	569	<a href="#">MK358174.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Saccharomyces cerevisiae clone Turkey strain_105-E2 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequ...</a>	<a href="#">Sacchar...</a>	<a href="#">baker's ...</a>	<a href="#">4932</a>	1024	1024	100%	0.0	100.00%	580	<a href="#">MK358173.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Saccharomyces cerevisiae clone Turkey strain_75-Z13 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequ...</a>	<a href="#">Sacchar...</a>	<a href="#">baker's ...</a>	<a href="#">4932</a>	1024	1024	100%	0.0	100.00%	586	<a href="#">MK358168.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Saccharomyces cerevisiae clone Turkey strain_12-Y2 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Sacchar...</a>	<a href="#">baker's ...</a>	<a href="#">4932</a>	1024	1024	100%	0.0	100.00%	573	<a href="#">MK358150.1</a>

PBM/185/2021 (975/21 typ I)

	Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Saccharomyces cerevisiae isolate 21LE005 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Saccharomyces cerevisiae</a>	1007	1007	100%	0.0	100.00%	589	<a href="#">OK274334.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Saccharomyces cerevisiae isolate WLP001 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Saccharomyces cerevisiae</a>	1007	1007	100%	0.0	100.00%	589	<a href="#">MZ506610.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">PREDICTED: Peromyscus maniculatus bairdii 28S ribosomal RNA (LOC121826663), rRNA</a>	<a href="#">Peromyscus maniculatus ba...</a>	1007	1007	100%	0.0	100.00%	2313	<a href="#">XR_006068885.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Saccharomyces cerevisiae strain Y58 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Saccharomyces cerevisiae</a>	1007	1007	100%	0.0	100.00%	611	<a href="#">MZ221131.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Saccharomyces cerevisiae strain Y50 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Saccharomyces cerevisiae</a>	1007	1007	100%	0.0	100.00%	613	<a href="#">MZ221128.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Saccharomyces cerevisiae strain Y40 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Saccharomyces cerevisiae</a>	1007	1007	100%	0.0	100.00%	616	<a href="#">MZ221126.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Saccharomyces cerevisiae strain Y30 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Saccharomyces cerevisiae</a>	1007	1007	100%	0.0	100.00%	613	<a href="#">MZ221125.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Saccharomyces cerevisiae strain Y27 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Saccharomyces cerevisiae</a>	1007	1007	100%	0.0	100.00%	565	<a href="#">MZ221124.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Chain E_25S ribosomal RNA</a>	<a href="#">Saccharomyces cerevisiae...</a>	1007	1007	100%	0.0	100.00%	3396	<a href="#">TZY_E</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Saccharomyces cerevisiae strain UMCC 2988 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Saccharomyces cerevisiae</a>	1007	1007	100%	0.0	100.00%	624	<a href="#">MZ170807.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Saccharomyces cerevisiae strain UMCC 2986 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Saccharomyces cerevisiae</a>	1007	1007	100%	0.0	100.00%	613	<a href="#">MZ170801.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Saccharomyces cerevisiae strain UMCC 2984 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Saccharomyces cerevisiae</a>	1007	1007	100%	0.0	100.00%	598	<a href="#">MZ170795.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Chain LA_25S rRNA (3184-MER)</a>	<a href="#">Saccharomyces cerevisiae...</a>	1007	1007	100%	0.0	100.00%	3394	<a href="#">7NRC_LA</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Saccharomyces cerevisiae strain IMF17 chromosome XII</a>	<a href="#">Saccharomyces cerevisiae</a>	1007	10075	100%	0.0	100.00%	1128049	<a href="#">CP063266.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Saccharomyces cerevisiae isolate 3-4-7 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Saccharomyces cerevisiae</a>	1007	1007	100%	0.0	100.00%	616	<a href="#">MW969723.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Saccharomyces cerevisiae isolate 2-8-16 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Saccharomyces cerevisiae</a>	1007	1007	100%	0.0	100.00%	615	<a href="#">MW969722.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Saccharomyces cerevisiae isolate 2-8-11 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Saccharomyces cerevisiae</a>	1007	1007	100%	0.0	100.00%	606	<a href="#">MW969721.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Saccharomyces cerevisiae isolate 2-8-10 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Saccharomyces cerevisiae</a>	1007	1007	100%	0.0	100.00%	618	<a href="#">MW969720.1</a>

PBM/186/2021 (975/21 typ II)

	Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Brettanomyces bruxellensis strain BZL-122 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Brettanomyces b...</a>	1014	1014	100%	0.0	100.00%	585	<a href="#">MN371933.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Brettanomyces bruxellensis isolate YKR-3 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Brettanomyces b...</a>	1014	1014	100%	0.0	100.00%	610	<a href="#">MH930867.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Brettanomyces bruxellensis culture CBS:74 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Brettanomyces b...</a>	1014	1014	100%	0.0	100.00%	738	<a href="#">KY107614.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Brettanomyces bruxellensis culture CBS:2547 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Brettanomyces b...</a>	1014	1014	100%	0.0	100.00%	924	<a href="#">KY107613.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Brettanomyces bruxellensis culture CBS:78 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Brettanomyces b...</a>	1014	1014	100%	0.0	100.00%	883	<a href="#">KY107612.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Brettanomyces bruxellensis culture CBS:72 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Brettanomyces b...</a>	1014	1014	100%	0.0	100.00%	915	<a href="#">KY107610.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Brettanomyces bruxellensis culture CBS:4482 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Brettanomyces b...</a>	1014	1014	100%	0.0	100.00%	921	<a href="#">KY107609.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Brettanomyces bruxellensis culture CBS:98 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Brettanomyces b...</a>	1014	1014	100%	0.0	100.00%	895	<a href="#">KY107608.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Brettanomyces bruxellensis culture CBS:96 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Brettanomyces b...</a>	1014	1014	100%	0.0	100.00%	796	<a href="#">KY107607.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Brettanomyces bruxellensis culture CBS:2796 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Brettanomyces b...</a>	1014	1014	100%	0.0	100.00%	829	<a href="#">KY107606.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Brettanomyces bruxellensis culture CBS:97 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Brettanomyces b...</a>	1014	1014	100%	0.0	100.00%	925	<a href="#">KY107605.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Brettanomyces bruxellensis culture CBS:4602 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Brettanomyces b...</a>	1014	1014	100%	0.0	100.00%	922	<a href="#">KY107603.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Brettanomyces bruxellensis culture CBS:2336 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Brettanomyces b...</a>	1014	1014	100%	0.0	100.00%	914	<a href="#">KY107602.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Brettanomyces bruxellensis culture CBS:4459 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Brettanomyces b...</a>	1014	1014	100%	0.0	100.00%	924	<a href="#">KY107599.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Dekkera bruxellensis genomic DNA containing ITS2 and 28S rRNA gene, strain R-52489</a>	<a href="#">Brettanomyces b...</a>	1014	1014	100%	0.0	100.00%	988	<a href="#">LK024190.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Brettanomyces bruxellensis strain VKM-Y-3064D large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Brettanomyces b...</a>	1014	1014	100%	0.0	100.00%	880	<a href="#">M2930478.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Brettanomyces bruxellensis isolate UASWS2512 RU4 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Brettanomyces b...</a>	1014	1014	100%	0.0	100.00%	560	<a href="#">MW648821.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Brettanomyces bruxellensis isolate UASWS2503 KN3 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Brettanomyces b...</a>	1014	1014	100%	0.0	100.00%	561	<a href="#">MW648812.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Brettanomyces bruxellensis isolate UASWS2500 KM1 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Brettanomyces b...</a>	1014	1014	100%	0.0	100.00%	561	<a href="#">MW648809.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Brettanomyces bruxellensis isolate UASWS2492 GE3 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Brettanomyces b...</a>	1014	1014	100%	0.0	100.00%	554	<a href="#">MW648801.1</a>

PBM/187/2021 (977/21)

	Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">PREDICTED: Peromyscus maniculatus bairdii 28S ribosomal RNA (LOC121826663), rRNA</a>	<a href="#">Peromyscus maniculatus bairdii</a>	998	998	100%	0.0	100.00%	2313	<a href="#">XR_006068885.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Saccharomyces cerevisiae strain Y58 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Saccharomyces cerevisiae</a>	998	998	100%	0.0	100.00%	611	<a href="#">M2221131.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Saccharomyces cerevisiae strain Y50 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Saccharomyces cerevisiae</a>	998	998	100%	0.0	100.00%	613	<a href="#">M2221128.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Saccharomyces cerevisiae strain Y40 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Saccharomyces cerevisiae</a>	998	998	100%	0.0	100.00%	616	<a href="#">M2221126.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Saccharomyces cerevisiae strain Y30 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Saccharomyces cerevisiae</a>	998	998	100%	0.0	100.00%	613	<a href="#">M2221125.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Chain E, 25S ribosomal RNA</a>	<a href="#">Saccharomyces cerevisiae S288C</a>	998	998	100%	0.0	100.00%	3396	<a href="#">7AZY_E</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Chain LA, 25S rRNA (3184-MER)</a>	<a href="#">Saccharomyces cerevisiae S288C</a>	998	998	100%	0.0	100.00%	3394	<a href="#">7NRC_LA</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Saccharomyces cerevisiae strain IMF17 chromosome XII</a>	<a href="#">Saccharomyces cerevisiae</a>	998	9983	100%	0.0	100.00%	1128049	<a href="#">CP063266.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Saccharomyces cerevisiae strain 03P2101 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Saccharomyces cerevisiae</a>	998	998	100%	0.0	100.00%	568	<a href="#">MW756298.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Saccharomyces cerevisiae strain 03P2217 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Saccharomyces cerevisiae</a>	998	998	100%	0.0	100.00%	571	<a href="#">MW756293.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Saccharomyces cerevisiae strain 03P2207 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Saccharomyces cerevisiae</a>	998	998	100%	0.0	100.00%	562	<a href="#">MW756292.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Saccharomyces cerevisiae strain 03P2187 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Saccharomyces cerevisiae</a>	998	998	100%	0.0	100.00%	561	<a href="#">MW756291.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Saccharomyces cerevisiae strain 03P2143 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Saccharomyces cerevisiae</a>	998	998	100%	0.0	100.00%	565	<a href="#">MW756290.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Saccharomyces cerevisiae strain 03P222 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Saccharomyces cerevisiae</a>	998	998	100%	0.0	100.00%	566	<a href="#">MW756289.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Saccharomyces cerevisiae strain 10B411 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Saccharomyces cerevisiae</a>	998	998	100%	0.0	100.00%	564	<a href="#">MW756283.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Saccharomyces cerevisiae strain 09B387 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Saccharomyces cerevisiae</a>	998	998	100%	0.0	100.00%	565	<a href="#">MW756282.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Saccharomyces cerevisiae strain 09B357 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Saccharomyces cerevisiae</a>	998	998	100%	0.0	100.00%	563	<a href="#">MW756279.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Saccharomyces cerevisiae strain 12R239 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Saccharomyces cerevisiae</a>	998	998	100%	0.0	100.00%	569	<a href="#">MW756274.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Saccharomyces cerevisiae strain 12R227 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Saccharomyces cerevisiae</a>	998	998	100%	0.0	100.00%	566	<a href="#">MW756273.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Saccharomyces cerevisiae strain 12R216 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Saccharomyces cerevisiae</a>	998	998	100%	0.0	100.00%	567	<a href="#">MW756272.1</a>
<input checked="" type="checkbox"/>	<a href="#">Saccharomyces cerevisiae strain 12R210 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	<a href="#">Saccharomyces cerevisiae</a>	998	998	100%	0.0	100.00%	559	<a href="#">MW756271.1</a>

## Podsumowanie:

W przebadanych próbkach piwa wykryto bakterie:

- *Lacticaseibacillusparacasei*
- *Lentilactobacillusparabuchneri*.

Identyfikację genetyczną metodą PCR wykonano dla wybranych próbek(960/21), (968/21).

W ww. próbkach piwa wykryto także drożdże:

- *Brettanomycesbruxellensis*,
- *Pichiakudriavzevii*,
- *Saccharomycescerevisiae*.

Identyfikację genetyczną metodą PCR wykonano dla wybranych próbek(971/21), (978/21 ), (975/21), (977/21).

## Literatura:

1. Bokulich N.A., Bamforth C.W. (2013) The Microbiology of Malting and Brewing. Microbiology and Molecular Biology Reviews 2, 157-172
2. Chrapek Dorota, [www.homebrewing.pl](http://www.homebrewing.pl),
3. Cioch M., Semlik-Szczurek D., Zdaniewicz M., Walczak A. (2016) Wykorzystanie drożdży nienależących do rodzaju *Saccharomyces* w procesie fermentacji brzeczki piwnej. Postępy w mikrobiologii browarniczej – nowe mikroorganizmy, nowe piwa, nowe możliwości, 55-65
4. Cook J.D., Deutschman W.A. (2017) Determination of sugar metabolism profiles of non-traditional yeasts in the *Saccharomyces* and *Brettanomyces* American Society of Brewing Chemists
5. Daenen L., Sterckx F., Delvaux F.R., Verachtert H., Derdelinckx G., (2008) Evaluation of the glycoside hydrolase activity of a *Brettanomyces* strain of glycosides from sour cherry (*Prunuscerasus l.*) used in the production of special fruit beer. FEMS Yeast 8
6. Gilliland R.B. (1961) *Brettanomyces* occurrence, characteristics and effects on beer flavour. Journal of the Institute of Brewing
7. Keersmaecker J.D. (1996) The mystery of lambic beer. Scientific American
8. King A., Dickinson J., (2000) Biotransformation of monoterpene alcohols by *Saccharomyces cerevisiae*, *Torulasporea delbrueckii* and *Kluyveromyces lactis*, Yeast 16
9. Kumara H.M.C.S., Cort S., Verachtert H.,( 1993) Localization and characterization of  $\alpha$ -glucosidase activity in *Brettanomyces lambicus*. Applied and Environmental Microbiology
10. Kunze W. Technologia Piwa i Słodu, 1999, wyd. Piwochmiel
11. Lentz M., Putzke T., Hessler R., Luman E. (2014) Genetic and physiological characterization of yeast isolated from ripe fruit and analysis of fermentation and brewing potential. The Institute of Brewing and Distilling
12. Steensels J., Daenen L., Malcorps P., Derdelinckx G., Verachtert H., Verstrepen K.J., (2015) *Brettanomyces* yeasts- From spoilage organisms to valuable contributors to industrial fermentations. International Journal of Food Microbiology

13. Tataridis P., Kanelis A., Logotetis S., Nerancis E., (2013) Use of non-*Saccharomyces Torulaspora delbrueckii* yeast strains in winemaking and brewing. *Matica Srpska Journal for Natural Science*
14. Thompson Witrick K. (2012) Characterization of aroma and flavor compounds presents in lambic (gueuze) beer. *Praca doktorska*
15. Thompson Witrick K., Duncan S.E., , Hurley K.E., O'Keefe S.E.: *Acid and Volatiles of Commercially-Available Lambic Beers, Beverages, MDPI, 2017*