

Použití membránových filtrů v pivovarské biologické kontrole

OLGA BENDOVÁ,

Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, Praha

663.4:66.067.37:658.562

Moderní pivovarská biologická kontrola vyžaduje, aby bylo možné kdykoli v krátkém čase určit biologickou čistotu provozu. Dosavadní metody poskytují výsledky často až za čtyři i více dní, podle stupně infekce. Proto byla hledána metoda, která by byla rychlá a dávala správné výsledky.

V pivovarských laboratořích v NSR se při biologické kontrole úspěšně používá membránových filtrů. Práce s filtry je velmi jednoduchá a rychlá. Při použití pevných půd lze touto metodou zjistit infekci již během 24 hodin. Kromě toho má metoda tu význačnou přednost, že membránové filtry zachytí i stopy infekce, neboť lze jimi přefiltrovat větší množství zkoumané kapaliny a nahromadit tak mikroorganismy, které se ve vzorku vyskytují v malém množství.

Vzhled a složení membránových filtrů, jejich úschova a sterilace a postup práce s nimi byl uveden již v dříve uveřejněném článku [7]. Stručně uvádíme, že jde o elastické membrány různého průměru a různé pórovitosti, založené na esterech celulosy, které se po sterilaci varem vkládají do sterilního Seitzova filtračního přístroje. Po skončení filtraci určitého množství kapaliny se pokládají na povrch živného substrátu a inkubují při vhodné teplotě.

Stanoví-li se touto metodou počet zárodků *E. Coli* ve vodě či v jiné kapalině není třeba se obávat, že by vzdušná infekce mohla skreslovat výsledky. Při vyšetřování biologického stavu pivovarských kapalin je však co nejprísněji dbát na to, aby byl do zkoumaných vzorků zamezen přístup vzdušných mikroorganismů. Proto se nálevka Seitzova přístroje přikrývá sterilním víčkem Petriho misky nebo se doporučuje pracovat v očkovací skříni. V NSR se jak k bakteriologickým rozborům vod, tak i k těmto

Zárodky zachycené na membránových filtrech lze kultivovat na substrátech tekutých, nebo zpevněných přidávkem agaru nebo želatiny. Místo agarových či želatinových půd lze používat též kulatých destiček z tvrdého papíru, které se vysterylizují v Petriho miskách a před upotřebením se napustí asi 7 ml tekutého substrátu. Na takto upravené destičky se



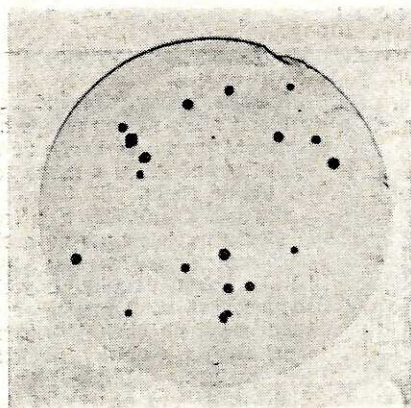
Membránový filtr přiložený na živný substrát v Petriho misce

přiloží membránové filtry a při vhodné teplotě inkubují. Není zvlášť vhodné kultivovat mikroorganismy, zachycené na filtrech pouze v tekutých půdách, neboť to vyžaduje jednak prodloužení inkubační doby (a tudíž výsledky lze obdržet později než při kultivaci na pevném prostředí), jednak výsledky nelze číselně vyjadřovat.

Metodou membránových filtrů lze provádět kontrolu všeho druhu. Lze jimi sledovat čistotu vodních zdrojů, vodovodního potrubí, kvasných kádí, ležácích sudů nebo tanků, lahví, sudů, filtrační hmoty a pod. Membránovými filtry lze zjistit případnou infekci piva nebo mladiny. Množství kapaliny, jež je třeba přefiltrovat, nelze přesně stanovit, neboť záleží na tom, o jaký vzorek jde a jaké množství mikroorganismů obsahuje. Schieman uvádí, že se v jeho laboratoři osvědčila tato množství: u nefiltrovaného piva 1 ml., u filtrovaného piva 180 ml a u vodovodní vody 500 ml. Vždy je však třeba pro filtraci zvolit jen takové množství kapaliny, aby filtr nebyl mikroorganismy přerostlý, což by znemožňovalo stanovení jejich počtu a jejich případnou identifikaci. K zvýšení intensity růstu *pediokoků* a mléčných bakterií doporučuje Kutscher inkubovat filtry za podmínek, které vyhovují anaerobnímu charakteru těchto mikrobů; používá se k tomu exsíkátoru naplněného asi 300 ml alkalického pyrogallolu.

Filtry přiložené na pevný substrát nebo vložené do substrátu tekutého se inkubují při teplotě 25 až 30 °C (pokud nejde o substrát s želatinou). Za 24 hodin se filtry prohlédnou. Nevyrostly-li po této době na filtru žádné kolonie, prohlížejí se až za 36, po př. 48 hodin. Po skončení kultivaci se kolonie posuzují jak makroskopicky, tak i mikroskopicky.

Filtry lze uschovávat jako dokumenty rozborů. Proto je třeba je usušit a obarvit. Suší se buď na vzduchu, nebo při teplotě, která nepřesahuje 60 °C. Na usušeném filtru jsou kolonie málo zřetelné. Po-



Kolonie *E. Coli* na membránovém filtru po kultivaci na Endo-agaru (bakteriologický rozbor vody)

účelům běžně používá pro membránové filtrace speciálního přístroje „Coli-5“, který se v podstatě podobá Seitzovu aparátu. Schieman používá filtračního přístroje „B-5“, což je modifikovaný aparát „Coli-5“ s kovovým víčkem. Přístrojem „Z-5“ lze přefiltrovat vzorek přímo na místě odběru čímž se vyloučí možnost vzdušné infekce a odpadá sterilace vzorkových lahvíček a filtrace v laboratoři (Schiemann).

stup při barvení filtrů je velmi jednoduchý. Do Petriho misky se vloží kulatá destička z tvrdého papíru a nechá se prosáknout roztokem barviva. Dobře se nám osvědčil nezředěný roztok methylenové modři podle *Löfflera*. Na destičku se přiloží usušený membránový filtr. Barvivo difunduje do filtru, přičemž se kolonie zbarvují více než ostatní filtrační plocha. Pro zvýšení kontrastu lze postupovat také tak, že se obarvený filtr na chvíli položí ještě do druhé misky na papírovou destičku prosáklou pouze destilovanou vodou. Takto se z filtru odssaje co nejvíce barviva a zvýší se barevný kontrast. Po obarvení se membránové filtry opět usuší.

Kolonie vyrostlé na filtrech po inkubaci při vhodné teplotě, po př. i přímo jednotlivé mikroby zachycené na filtrech, které nebyly inkubovány, lze mikroskopovat. Postupujeme při tom tak, že na podložní sklo kápneme cedrový olej, korkovrtem vyřízneme z filtru kolečko přibližně průměru 6 mm, které vložíme do kapky cedrového oleje. Olej prosvětlí preparát tak, že jej můžeme mikroskopem dobře pozorovat. Místo cedrového oleje lze použít též benzylalkoholu.

Tato metoda se nám rovněž dobře osvědčila při počítání kvasničných buněk v suspensi. Odměřené množství suspense se přefiltruje a připraví se preparát podle shora uvedeného způsobu. Zjistí se průměrný počet buněk v zorném poli a vynásobí se přepočítávacím faktorem, který se vypočte jako podíl filtrační plochy a plochy zorného pole.

Jak známo z literatury, mají dnes v cizině membránové filtry značné uplatnění. Jejich předností je snadná práce a rychlé výsledky, které lze srovnávat nejen mikroskopicky, nýbrž i makroskopicky. Výsledky rozborů zachycené na uschovaných filtrech, lze kdykoli přezkoušet. Přes všechny výhody, kterými se membránové filtry vyznačují, a to zvláště při bakteriologických rozbořech vod, nemůže se rozšířit jejich používání proto, že se doposud u nás nevyrábějí a že se musí k nám dovážet. Možnosti jak použít těchto filtrů v pivovarské biologické kontrole, budou dále zkoušeny.

Literatura

- [1] *Belting, A.*: Die Anwendung der Membranfiltermethode im Brauereibetriebe, Brauerei 32 (1952), 198
- [2] *Klos, H., Reimann, R.*: Die Anwendung der Membranfiltermethode in der praktischen biologischen Betriebskontrolle, Brauwissenschaft 1 (1954), 10
- [3] *Kutscher, U.*: Eine mikrobiologische Betrachtung zur Membranfiltermethode, W ss. Beilage-Brauerei 7 (1955), 83
- [4] *Raible, K.*: Über die Anwendung der Membranfilter im biologischen Brauerei-Laboratorium, Brauwissenschaft 7 (1951), 105
- [5] *Schiemann, E.*: Rationelle Brauerei-Betriebskontrolle mit dem Membranfilter, Brauwelt 30/31 (1955), 421
- [6] *Razumov, A. G.*: Membrannyje filtry i ich primeneniye pri mikrobiologičeskom issledovaniji vody, Mikrobiologija 2 (1955), 234
- [7] *Bendová, O.*: Použití membránových filtrů při sanitačně bakteriologických rozbořech, Kvasný průmysl 5 (1955), 106.