

Vztah mezi dvěma metodami stanovení cizích kvasinek v pivovarství

Ing. JAN ŠAVEL - Ing. MARIE PROKOPOVÁ, Jihočeské pivovary, n. p., Čes. Budějovice

Cizí kvasinky se v pivovarské mikrobiologii stanovují různými způsoby. Značného rozšíření dosáhly kultivační metody na pevných půdách. Tyto půdy zpravidla obsahují látku, která potlačuje růst kulturních kvasinek, ale nebrání rozvoji cizích kvasinek, nebo je v půdách některá z živin nutná k růstu kvasničných buněk ve formě, kterou mohou využívat pouze cizí kvasinky.

Jednotlivé půdy se liší spektrem cizích kvasinek, které je na nich možno stanovit. Proto se doporučuje stanovení cizích kvasinek na dvou různých půdách. Například Seidel (1972) doporučuje v poslední době kombinaci půd s krystalovou violetí a lysinem, Bendová a Kurzová (1972) a Tolar a Šavel (1972) půdy s krystalovou violetí a kyselinou monojódovou.

Při návrhu vhodné kombinace půd je nutno znát vztahy mezi druhy cizích kvasinek, které rostou na těchto půdách. Uvažujeme-li dvě indikační půdy (A a B), které potlačují růst kulturních kvasinek, ale umožňují rozvoj divokých kvasinek, existují čtyři základní vztahy:

1. Všechny druhy cizích kvasinek rostoucí na půdě A rostou i na půdě B.
2. Všechny druhy cizích kvasinek rostoucí na půdě B rostou i na půdě A.
3. Žádný z druhů cizích kvasinek neroste na půdě A a B současně.
4. Některé druhy cizích kvasinek rostou na půdě A a B současně.

Platí-li vztahy 1 a 2 současně, mají obě půdy stejnou schopnost prokázat cizí kvasinky.

Praktický význam zjištění vztahu obou kultivačních metod je zřejmý. Umožňuje správně interpretovat výsledky získané těmito metodami, což je důležité zejména v případě, přisuzuje-li se oběma skupinám cizích kvasinek různá závažnost. Pouze v případě 3 je možno počet cizích kvasinek zjištěných metodou A a metodou B sčítat, aby se získal celkový obsah cizích kvasinek.

Vztah mezi různými metodami stanovení se obvykle určuje souběžným očkovaním čistých kmenů cizích kvasinek, které se často vyskytují v pivovarské výrobě, na příslušné indikační půdy. Výhodou tohoto postupu je jeho univerzálnost, nevýhodou skutečnost, že v provozních vzorcích mohou převládat jen některé z testovaných druhů.

Také citlivost různých kmenů stejného druhu cizích kvasinek k indikačním látkám přítomným v půdách může být různá. Může docházet i k interakcím mezi různými kmeny kvasinek, které se ve zkoumaném vzorku vyskytují společně. Například metabolity vylučované jedním druhem kvasinek mohou ovlivnit růst druhého druhu. Navíc mohou ve zvoleném výběru cizích kvasinek chybět druhy, které se vyskytují v provozních vzorcích.

Abychom ověřili souhlas mezi vztahem nalezeným laboratorním testováním dvou půd a vztahem existujícím při praktických analýzách, očkovali jsme vzorky kvasničných sedimentů z různých druhů pív na dvě různé indikační půdy. Zvolili jsme půdu s krystalovou violetí a kyselinou monojódovou, mezi nimiž, podle laboratorního testování (Bendová a Kurzová 1972), existuje vztah úplně disjunkce (vztah 3). Tyto metody se proto považují za doplňkové.

Při průkazu cizích kvasinek na půdě s krystalovou violetí se kvasinky očkují na mladinový nebo sladínový agar s 18–20 mg krystalové violeti v 1 litru půdy. Na této půdě rostou především kvasinky rodu *Saccharomyces*, kromě kulturních kvasinek (*Saccharomyces carlsbergensis* Hansen, nyní *Saccharomyces uvarum* Beijerinck).

Na půdě s kyselinou jódovou (10^{-3} molu/litr půdy) rostou různé cizí kvasinky kromě kvasinek rodu *Saccharomyces*. Obě uvedené metody jsou tedy založeny na potlačení kulturních kvasinek přísadkou vhodného inhibitoru.

Po kultivaci jsme pomnožené kolonie přeočkovali, metodou podle Lederbergových (1952), razítkem pokrytým

sametem z jedné indikační půdy na nezaočkovanou plotnu druhé půdy a pro kontrolu ještě na čistou plotnu původní půdy.

Podle vztahu nalezeného laboratorním šetřením by po přenosu neměly kvasinky růst na doplňkové půdě. Výsledky pokusů uvádějí tabulky 1, 2, 3.

Tabulka 1. Růst kolonií cizích kvasinek přenesených z půdy s krystalovou violetí na půdu s kyselinou jódoctovou

	Počet vzorků	%
Žádný růst přenesených kolonií	3	15,8
Růst všech přenesených kolonií	6	31,6
Růst pouze některých přenesených kolonií	10	52,6
Celkem	19	100,0

Tabulka 2. Růst kolonií cizích kvasinek přenesených z půdy s kyselinou jódoctovou na půdu s krystalovou violetí

	Počet vzorků	%
Žádný růst přenesených kolonií	7	25,0
Růst všech přenesených kolonií	2	7,2
Růst pouze některých přenesených kolonií	19	67,8
Celkem	28	100,0

Tabulka 3. Relativní počet kolonií (%) rostoucích po přenosu z jedné půdy na druhou při růstu pouze některých přenesených kolonií

Počet vzorků	Relativní počet rostoucích kolonií	Ø
a) Přenos z půdy s krystalovou violetí na půdu s kyselinou jódoctovou		
10	30,7; 30,3; 50,0; 8,4; 7,8; 50,0; 46,2; 23,8; 87,5; 66,5	40,1
b) Přenos z půdy s kyselinou jódoctovou na půdu s krystalovou violetí		
19	72,0; 26,7; 80,0; 13,6; 17,0; 12,5; 46,0; 71,2; 3,8; 8,3; 5,9; 62,1; 3,5; 0,2; 3,4; 33,5; 16,6; 48,9; 28,5	29,0

Získané výsledky ukazují, že vztah mezi oběma skupinami cizích kvasinek nalezený přetiskovou technikou se podstatně liší od vztahu zjištěného laboratorními testy s čistými kmeny cizích kvasinek.

Pouze u menšího množství vzorků je možno výsledky obou metod sčítat, aby se zjistil celkový obsah cizích kvasinek v analyzovaném vzorku. Pravidlo o sčítání obsahu cizích kvasinek, které vyplývá z předpokladu disjunkce spekter cizích kvasinek prokazatelných oběma metodami, v obecném případě neplatí.

Poněkud odlišné zastoupení vztahových skupin při přenosu z jedné půdy na druhou a při přenosu v opačném směru (tab. 1, 2, 3) lze pravděpodobně vysvětlit jak nedostatečně velkým souborem zkoušených vzorků, tak tím, že počet cizích kvasinek, které je možno prokázat na půdě s krystalovou violetí a na půdě s kyselinou jódoctovou, nemusí být stejné.

K zhodnocení praktické použitelnosti obou metod bude nutné stanovit cizí kvasinky oběma metodami ve velkém souboru vzorků z provozních stáček a ověřit vliv obou skupin cizích kvasinek na kvalitu piva. Tímto námětem se zabývá další naše sdělení.

Literatura

- BENDOVÁ, O. - KURZOVÁ, V., Kvas. prům. 18, 1972, s. 77—78.
 LEDERBERG, J. - LEDERBERG, E. M., J. Bact. 63, 1952, s. 399 in: Braun, W. Bakteriální genetika, Praha 1968, s. 399
 SEIDEL, H., Brauwiss. 25, 1972, s. 384—389.
 TOLAR, J. - ŠAVEL, J.: Kvas. prům. 18, 1972, s. 52—55.

Lektorovala Doc. dr. Olga Bendová, CSc.

Šavel, J. - Prokopová, M.: Vztah mezi dvěma metodami stanovení cizích kvasinek v pivovarství. Kvas. prům., 20, 1974, č. 2, s. 25—27.

Článek se zabývá vztahy mezi stanovením cizích kvasinek v pivovarství metodou s krystalovou violetí a metodou s kyselinou monojódoctovou. Obvykle se tento

vztah určuje očkováním a kultivací čistých kmenů cizích kvasinek na obou půdách. Je navržena metoda, která umožňuje rozhodnout, zda vztah nalezený tímto způsobem odpovídá výsledkům zjištěným analýzami provozních vzorků. Používá se Lederbergovy otiskové metody (replica plating technique), původně navržené k izolaci mutantů. Výsledky ukázaly, že např. pro metody stanovení cizích kvasinek na půdě s krystalovou violetí a na půdě s kyselinou jódoctovou platí vztah úplné disjunkce (nalezený očkováním čistých kmenů cizích kvasinek na obě půdy) jen u malého počtu analyzovaných vzorků.

Шавел, Я. — Прокопова, М.: Сравнение двух методов, применяемых в пивоваренной промышленности для определения диких дрожжей. Квас. прум. 20, 1974, № 2, стр. 25—27.

В статье рассматривается взаимоотношение между данными, полученными при определении диких дрожжей с помощью двух разных методов, применяемых в пивоваренной промышленности, т. е. кристаллического фиолетового и моноиодуксусной кислоты. Обычно применяется инокуляция и разведение чистых штаммов диких дрожжей в обеих средах. Приводится метод, дающий возможность проверить, до какой степени установленное указанным образом отношение отвечает данным, полученным путем анализа образцов в ходе производства. Метод основан на применении отпечатков и был первоначально предложен Ледербергом для изолирования мутантов. Результаты изучения показали, что лишь у сравнительно малого анализированных проб было установлено отношение между данными полученными посредством инокуляции и разведения чистых культур диких дрожжей в двух указанных средах (кристаллическом фиолетовом и моноиодуксусной кислоте), равняющееся полному разобщению.

Šavel, J. - Prokopová, M.: Correlation of Two Methods Used in Brewing Industry for the Determination of Wild Yeast. Kvas. prům. 20, 1974, No. 2, pp. 25—27.

The article deals with the correlation of results obtained by applying for the determination of wild yeast two different methods generally used in brewing industry, viz. crystal violet method and monoiodo-acetic acid one. Common technique used at present is inoculation and propagation of pure strains of wild yeast in both mentioned substrates. The authors present a new method permitting to decide, whether the correlation established in the mentioned way fits the results of actual analyses. The method is based on the Lederberg replica plating technique, originally developed for the isolation of mutants. The study shows that only for a small number of analyzed samples the correlation of results obtained by employing two mentioned methods (inoculation of pure strains of wild yeast and propagation in two different substrates) has the character of total disjunction.

Šavel, J. - Prokopová, M.: Verhältnis zwischen zwei Methoden der Fremdhefenbestimmung für die Brauindustrie. Kvas. prům. 20, 1974, No. 2, S. 25—27.

Der Artikel befasst sich mit den Verhältnissen zwischen den Fremdhefenbestimmungen mittels zweier Methoden: der Methode mit Kristallviolett und der Methode mit Monojodessigsäure. Dieses Verhältnis wird üblicherweise durch Inokulation und Kultivierung der reinen Fremdhefenstämme auf beiden Nährböden ermittelt. Es wird eine Methode vorgeschlagen, welche die Entscheidung ermöglicht, ob das auf die erwähnte Weise bestimmte Verhältnis den durch Analysen der Betriebsproben erzielten Ergebnissen entspricht. Dazu wird die Lederberg-Abdruck-Methode (replica plating technique) angewendet,

die ursprünglich für die Isolierung von Mutanten vorgeschlagen wurde. Die Ergebnisse zeigten, dass z. B. für die Methoden der Fremdhefenbestimmung auf Kristallviolett und Jodessigsäureböden das Verhältnis der voll-

kommenen Disjunktion (das durch Inoculation der Fremdhefenreinstämme auf beide Böden ermittelt wurde) nur bei einer geringen Zahl der analysierten Proben seine Geltung behält.