

# Vliv $Mn^{++}$ a $Mg^{++}$ na inhibici růstu mléčných bakterií $Cd^{++}$

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

576.852.24  
546.71  
546.46  
546.48

## Úvod

Naše předešlé sdělení (Šavel a Prokopová, 1974) se zabývalo vlivem kadmia na růst mléčných bakterií v půdě připravené z prokvašené sladiny. Přídavek  $CdCl_2 \cdot 2,5 H_2O$  potlačoval růst laktobacilů v rozmezí 200 až 1400 mg/l, růst pedokoků v koncentraci 1,6 až 100 mg/l.

Podle údajů v literatuře lze toxický vliv solí některých kovů (např. Zn a Cd) částečně nebo úplně eliminovat přidáním solí Mn, Mg nebo Ca (Reddish, 1957). Protože mléčné bakterie vyžadují pro svůj optimální růst dostatečné množství Mn, rozhodli jsme se sledovat v této práci závislost toxického účinku chloridu kademnatého na mléčné bakterie na obsahu solí Mn a Mg v živné půdě.

## Materiál a metody

Původ různých kmenů laktobacilů a pedokoků, příprava základní živné půdy B<sup>-</sup> pro jejich kultivaci, způsob kultivace a předkultivace a použité chemikálie popisuje předešlé sdělení (Šavel a Prokopová, 1974).

Půda s minimálním obsahem Mn a Mg (BM). Tato půda měla stejné složení jako půda B<sup>-</sup>, ale při její přípravě se vynechal přídavek  $MnSO_4$  a  $MgSO_4$ .

Půda s přídavkem chloridu kademnatého. Před rozlíváním na misky se k půdě přidal sterilní roztok chloridu kademnatého, aby se dosáhlo požadované koncentrace v půdě. Stejným způsobem se v případě potřeby k půdě BM přidávaly roztoky solí  $MnSO_4$  a  $MgSO_4$ .

## Výsledky pokusů

a) Stanovení minimální inhibiční koncentrace  $CdCl_2$  v půdě B<sup>-</sup> a v půdě BM

Na plotny půd B<sup>-</sup> a BM s přídavkem různého množství chloridu kademnatého se očkovací jehlou očkávaly různé kmeny mléčných bakterií. Po kultivaci se hodnotila intenzita růstu jednotlivých kmenů. Na obou půdách bez přídavku chloridu kademnatého rostly všechny zkoušené kmeny.

Pro laktobacily se připravila řada ploten s přídavkem  $CdCl_2 \cdot 2,5 H_2O$  v rozmezí 800–6,25 mg/l, přičemž každý následující stupeň obsahoval poloviční koncentraci chloridu kademnatého v půdě. Podobně pedokoky se očkávaly na plotny obsahující 100–0,05 mg/l  $CdCl_2 \cdot 2,5 H_2O$ .

Nejnižší koncentrace  $CdCl_2 \cdot 2,5 H_2O$ , označená jako minimální inhibiční koncentrace chloridu kademnatého, která v těchto koncentračních řadách potlačila úplně růst zaočkovaných kmenů bakterií, je uvedena v tabulce 1.

b) Vliv přídavku  $Mn^{++}$  a  $Mg^{++}$  na růst mléčných bakterií na půdě BM s chloridem kademnatým

Podle výsledků v tab. 1 lze nalézt takovou koncentraci chloridu kademnatého, při níž určitý kmen mléčných bakterií roste na půdě B<sup>-</sup>, ale neroste na půdě BM.

Tabulka 1. Minimální inhibiční koncentrace  $CdCl_2 \cdot 2,5 H_2O$  v půdách B<sup>-</sup> a BM

Kmen	Minimální inhibiční koncentrace (MIC) $CdCl_2 \cdot 2,5 H_2O$ [mg/l] v půdě		MIC [B <sup>-</sup> ] MIC [BM]
	B <sup>-</sup>	BM	
L. brevis	200	100	2,0
L. buchneri	200	100	2,0
L. casei	400	100	4,0
L. plantarum	200	50	4,0
L 21	800	400	2,0
L 26	1 400*	400	3,5
L 33	400	400	1,0
L 36	1 000*	400	2,5
P. cerevisiae	50	6,3	7,9
P 1	25	3,1	8,1
P 2	3,1	0,1	3,0
P 3	1,6	0,2	8,0
P 7	100	6,3	15,9
P 8	100	12,5	8,0
P 10	3,1	0,2	15,5

\*] stanoveno v dalším pokusu

Tabulka 2. Vliv přídavku  $Mn^{++}$  a  $Mg^{++}$  na růst mléčných bakterií v půdě BM s  $CdCl_2$

Kmen	Intenzita růstu					
	půda s $CdCl_2$ *)				půda bez $CdCl_2$	
	B <sup>-</sup>	BM	BM <sup>+</sup>		B <sup>-</sup>	BM
			(1) Mn <sup>++</sup>	(2) Mg <sup>++</sup>	(1) Mn <sup>++</sup>	(2) Mg <sup>++</sup>
A) L. brevis	++++	—	++++	—	++++	++++
L. plantarum	++++	—	++++	—	++++	++++
L. casei	++++	—	++++	—	++++	++++
L. buchneri	++++	—	++++	—	++++	++++
B) L 21, L 26	+++	—	+++	—	+++	++++
L 36	+++	—	+++	—	+++	++++
C) P 1, P 7	++++	—	++++	—	++++	++++
P. cerevisiae	++++	—	++++	—	++++	++++
D) P 8	++++	—	++++	—	++++	++++
E) P 2, P 3, P 10	+++	—	+++	—	+++	+++

\*) A: 100 mg/l, B: 400 mg/l, C: 6,3 mg/l, D: 12,5 mg/l, E: 1 mg/l  $CdCl_2 \cdot 2,5 H_2O$

(1) 40 mg/l  $MnSO_4 \cdot 4 H_2O$ , (2) 300 mg/l  $MgSO_4 \cdot 7 H_2O$

Například pro kmeny *L. brevis*, *L. buchneri*, *L. casei* a *L. plantarum* je tato hodnota 100 mg/l, pro kmeny *L 21*, *L 26*, *L 36* 400 mg/l, pro kmeny *P 2*, *P 3*, *P 10* 1 mg/l, pro kmeny *P. cerevisiae*, *P 1*, *P 7* 6,3 mg/l a pro kmen *P 8* 12,5 mg/l. Pro kmen *L 33* je minimální inhibiční koncentrace  $CdCl_2$  stejná v půdě B<sup>-</sup> i BM.

Protože půdy B<sup>-</sup> a BM se liší pouze obsahem  $Mn^{++}$  a  $Mg^{++}$  (půda B<sup>-</sup> obsahuje proti půdě BM navíc 40 mg/l  $MnSO_4 \cdot 4 H_2O$  a 300 mg/l  $MgSO_4 \cdot 7 H_2O$ ), je možné zpětným přidáním roztoků  $MgSO_4$  nebo  $MnSO_4$  k půdě BM zjistit, který z obou kationtů značně snižuje toxicitu  $Cd^{++}$ .

Výsledky uvádí tabulka 2.



## Diskuse

Provedené pokusy prokázaly, že toxický vliv  $Cd^{++}$  na růst mléčných bakterií výrazně vzroste, snížili se obsah  $Mn^{++}$  v živné půdě. Tento účinek se podařilo prokázat u všech zkoumaných kmenů, laktobacilů i pediokoků, je zvláště výrazný u pediokoků, jak ukázaly hodnoty poměru minimálních inhibičních koncentrací  $CdCl_2$  v půdě B- a BM. Přídavkem původního množství  $Mn^{++}$  do půdy před kultivací se toxicita  $Cd^{++}$  snížila a růst se obnovil v plném rozsahu.

Půda B-, která slouží k průkazu a stanovení mléčných bakterií v pivovarské mikrobiologické kontrole, obsahuje zvýšené množství  $Mn^{++}$  (přídavek 40 mg/l  $MnSO_4 \cdot 4 H_2O$ ). Množství  $Mn^{++}$ , které obsahuje půda BM (bez tohoto přídavku), nebylo možné přesně stanovit. Lze pouze předpokládat, že stopová množství  $Mn^{++}$  pocházejí z některých složek živné půdy i z prokvašené sladin, která tvoří její základ. Na půdě BM rostly dobře všechny zkoumané kmeny laktobacilů a pediokoků.  $Mg^{++}$  neměl na toxicitu  $Cd^{++}$  podstatný vliv. S jednotlivými složkami živných půd se do půdy dostává větší množství  $Mg$ , takže je možné, že další přídavek  $Mg$  již neovlivňuje toxicitu  $Cd$ .

O příznivém vlivu  $Mn$  na růst mléčných bakterií se zmiňuje řada prací (např. v přehledu Uhl a Kühbeck, 1969). Tito autoři také zkoumali vliv  $FeCl_3$ ,  $ZnSO_4$ ,  $CoCl_2$ ,  $CuSO_4$ ,  $MnSO_4$ ,  $VSO_4$  a  $Na_2MoO_4$ , na růst *Pediococcus cerevisiae* a našli, že pouze  $MnSO_4$  výrazně zvyšoval jeho růst. K optimálnímu růstu *P. cerevisiae* bylo zapotřebí 2,5–25 mg  $Mn^{++}$ /l. Stamer et al. (1964) prokázali, že 8 až 11 kmenů mléčných bakterií vyžadovalo pro optimální růst přídavek rajčatové šťáty a zjistili, že účinným faktorem byl v tomto případě  $Mn^{++}$ .

Lze tedy předpokládat, že toxický účinek  $Cd^{++}$  na mléčné bakterie souvisí s potřebou  $Mn^{++}$  pro růst těchto bakterií. Teprve přesná studie však může objasnit mechanismus tohoto účinku.

## Literatura

- [1] REDDISH, G. F.: Antiseptics, Disinfectants, Fungicides and Sterilization, 2. vydání, Philadelphia, 1957, s. 311
- [2] STAMER, J. R. - ALBURY, M. N. - PEDERSON, C. S.: 'Appl. Microbiol. 12, 1964, s. 165–168
- [3] ŠAVEL, J. - PROKOPOVÁ, M.: Kvas. prům. 20, 1974, s. 265–267
- [4] UHL, A. - KÜHBECK, G.: Brauwiss. 22, 1969, s. 121–129, 199–208, 248–254

**Šavel, J. - Prokopová, M.: Vliv  $Mn^{++}$  a  $Mg^{++}$  na inhibici růstu mléčných bakterií  $Cd^{++}$ . Kvas. prům. 21, 1975, č. 4, s. 79–80.**

Článek pojednává o toxickém vlivu  $Cd^{++}$  na mléčné bakterie. Potlačení růstu mléčných bakterií (8 kmenů laktobacilů a 7 kmenů pediokoků)  $Cd^{++}$  záviselo na obsahu  $Mn^{++}$ . Toxicita  $Cd^{++}$ , která byla v půdě s přídavkem  $MnSO_4$  podstatně vyšší pro pediokoky než pro laktobacily, dále vzrostla snížením obsahu  $Mn^{++}$  v půdě. Například v půdě připravené z prokvašené mladiny a z dalších látek s přídavkem 40 mg/l  $MnSO_4 \cdot 4 H_2O$  se minimální inhibiční koncentrace  $CdCl_2 \cdot 2,5 H_2O$  pohybovala pro laktobacily v rozmezí 200–1400 mg/l, pro pediokoky 1,6–100 mg/l, na stejné půdě bez  $MnSO_4$  v rozmezí 50–400 mg/l pro laktobacily a v rozmezí 0,1–12,5 mg/l pro pediokoky.

**Шавел, Я. — Проконова, М.: Влияние  $Mn^{++}$  и  $Mg^{++}$  на ингибирование размножения молочнокислых бактерий, вызываемое присутствием  $Cd^{++}$ . Квас. прум. 21, 1975, № 4, стр. 79–80.**

В статье рассматривается токсическое влияние присутствия  $Cd^{++}$  на молочнокислые бактерии. Степень подавления размножения этих бактерий изучалась экспериментально, причем в исследуемый материал входило 15 штаммов, в том числе 8 штаммов молочнокислых палочек и 7 штаммов педиококков. Эффективность ингибирования зависит от содержания  $Mn^{++}$ . Токсическое влияние  $Cd^{++}$  в питательной среде, содержащей  $MnSO_4$  обнаруживалось значительно сильнее по отношению к педиококкам чем к молочнокислым палочкам. При уменьшении концентрации  $Mn^{++}$  в среде токсичность  $Cd^{++}$  увеличивается. В среде приготовленной из сброженного сусла и дальнейших питательных веществ и содержащей 40 мг/л  $MnSO_4 \cdot 4 H_2O$  минимальная ингибирующая концентрация  $CdCl_2 \cdot 2,5 H_2O$  составляла от 200 до 1400 мг/л для молочнокислых палочек и от 1,6 до 100 мг/л для педиококков. В той же среде, однако без  $MnSO_4$  приведенные концентрации снижались до 50–400 мг/л для молочнокислых палочек и до 0,1–12,5 мг/л для педиококков.

**Šavel, J. - Prokopová, M.: Effects of  $Mn^{++}$  and  $Mg^{++}$  Upon the Toxic Activity of  $Cd^{++}$  Inhibiting the Growth of Lactobacilli. Kvas. prům. 21, 1975, No. 4, pp. 79–80.**

The article deals with the toxic effects  $Cd^{++}$  has upon lactic acid bacteria. Experiments carried out with 15 samples (8 strains of lactobacilli and 7 strains of pediococci) show conclusively that inhibiting effects of  $Cd^{++}$  upon the growth of strains depend on the concentration of  $Mn^{++}$  present in the medium. In medium containing  $MnSO_4$  the toxicity of  $Cd^{++}$  is far more pronounced with pediococci than with lactobacilli. The lower is the  $Mn^{++}$  concentration in the medium the more harmful is the influence of  $Cd^{++}$ . In medium prepared from well fermented wort and a number of other ingredients and containing 40 mg/l of  $MnSO_4 \cdot 4 H_2O$  the minimum inhibiting concentration of  $CdCl_2 \cdot 2,5 H_2O$  for lactobacilli was from 200 to 1400 mg/l, where as for pediococci only 1,6 to 100 mg/l. In the same medium, but without  $MnSO_4$  the concentrations were 50–400 mg/l and 0,1–12,5 mg/l respectively.

**Šavel, J. - Prokopová, M.: Einfluss des  $Mn^{++}$  und  $Mg^{++}$  auf die Inhibition des Wachstums der Milchsäurebakterien durch  $Cd^{++}$ . Kvas. prům. 21, 1975, No. 4, S. 79–80.**

Der Artikel befaßt sich mit dem toxischen Einfluß des  $Cd^{++}$  auf die Milchsäurebakterien. Die Inhibition des Wachstums der Milchsäurebakterien (8 Stämme Lactobazillen und 7 Stämme Pediokokken) durch  $Cd^{++}$  war von dem Gehalt des  $Mn^{++}$  abhängig. Die Toxizität des  $Cd^{++}$ , die in dem Boden mit  $MnSO_4$  wesentlich höher für Pediokokken als für Lactobazillen war, erhöhte sich weiter bei der Verminderung des  $Mn^{++}$  — Gehalts im Boden. Z. B. in dem Boden, der aus vergärter Süßwürze und aus weiteren Substanzen mit Zugabe von 40 mg/l  $MnSO_4 \cdot 4 H_2O$  zubereitet wurde, bewegte sich die minimale Inhibitionskonzentration des  $CdCl_2 \cdot 2,5 H_2O$  für Lactobazillen im Bereich zwischen 200 und 1400 mg/l, für Pediokokken 1,6 bis 100 mg/l; auf dem gleichen Boden ohne  $MnSO_4$  betrugen die Minimalkonzentrationen 50 bis 400 mg/l für Lactobazillen und 0,1 bis 12,5 mg/l für Pediokokken.