

Gramnegativní bakterie kontaminující pivo

863.41:579.8
663.41.004.64

Prof. Dr. OLGA BENDOVIÁ, DrSc., Přírodovědecká fakulta UK Praha, katedra genetiky, mikrobiologie a biofyziky
VĚRA KURZOVÁ, prom. biol., Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, Praha

Nejsou-li v pivovarském provozu dodržena pravidla hygieny a sanitace, nastává kontaminace meziproductů výroby a finálního produktu různými mikroorganismy, jejichž zdroji mohou být suroviny, voda a vzduch v pivovaru. Převážně jde o bakterie grampozitivní a gramnegativní.

Až dosud byly z hlediska jakosti piva považovány za nejnebezpečnější grampozitivní zástupci rodu *Lactobacillus* a *Pediococcus*, jejichž pomnožení je častou příčinou zákalů piva a jejich metabolické produkty ovlivňují vznik nežádoucích příchutí a arómatu piva. Otázkám jejich taxonomického zařazování a průkazu v pivě byla po řadu let až do současnosti věnována velká pozornost. Přehled vývoje názorů na taxonomii laktobacilů a pediokoků s příslušnými literárními odkazy byl zpracován ve VÚPS a uveřejněn v časopise Kvasný průmysl [1]. Experimentálně ověřený příspěvek k metodice jejich průkazu a výsledky průzkumu jejich výskytu v pivovarsko-sladařských surovinách a v pivě jsou uvedeny v závěrečných zprávách VÚPS [2].

Z hlediska současných zkušeností zdaleka však nelze podceňovat význam kontaminace pivovarské výroby gramnegativními bakteriemi.

Uvádí se, že zhruba 75 % těchto kontaminantů jsou gramnegativní *Enterobacteriaceae*, často označované jako koliformní bakterie [3]. Z celé řady zástupců této čeledi lze v odebraných vzorcích zjistit přítomnost *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter agglomerans*, *Citrobacter freundii*, *Klebsiella aerogenes*, *Proteus mirabilis*, *Proteus rettgeri*, *Serratia marcescens*, *Hafnia alvei*, *Hafnia protea*, *Escherichia coli* aj.

Dříve se mělo zato, že zástupci této čeledi se nemohou vyvíjet v zakvašené mladině [4]. Platnost tohoto názoru však popřel Priest [5, 6], který prokázal, že bakterie, které často provázejí kvašení mladiny, přísluší k čeledi *Enterobacteriaceae*. V tomto případě jde o druh *Hafnia protea*, bakterie dříve zařazované jako *Flavobacterium*

proteus [7], později jako *Obesumbacterium proteus* [8] a v současnosti podle Priesty [6] jako zástupci rodu *Hafnia*. Tyto bakterie vyvíjející se v kvasící mladině ovlivňují nejen jakost piva svými metabolickými produkty a jeho konečné pH, ale i stupeň prokvašení [5]. V porovnání s ostatními enterobakteriemi roste *Hafnia protea* na laboratorních médiích pomaleji, a tedy zpravidla nelze její kolonie zaznamenat již po 24 hodinách inkubace, jako tomu bývá u jiných zástupců této čeledi. U těchto bakterií se snižuje růst již při pH nižším než 4,4 a při 2% koncentraci etanolu (váž. %). Optimální teplota růstu je 37 °C. Pro *Hafnia protea* platí stejná limitní hodnota pH, avšak její růst se zpomaluje již při 1,0–1,2% koncentraci etanolu. Také její optimální růstová teplota je nižší — 30 až 32 °C. Pokud jde o nepříznivý vliv na míru kvašení mladiny, byly u *Hafnia protea* zaznamenány výrazné kmenové difference [5]. V pivě, u něhož se v průběhu první fáze jeho výroby mohla uplatňovat kontaminace příslušníky *Hafnia protea*, byly prokázány vyšší koncentrace n-propylalkoholu, isobutylalkoholu, isopentylalkoholu, dimetylsulfidu a dimetyldisulfidu v závislosti na kontaminujících kmenech. Zvýšené koncentrace vyšších alkoholů a 2,3-butandiolu nebyly kmenově závislé.

Jako další zástupce bakterií kontaminujících zakvašenou mladinu byl identifikován fakultativně anaerobní *Citrobacter freundii* [3, 5, 9]. Vyvíjí se v mladině i při pH 4,1, nikoliv však při 2,5% koncentraci etanolu. Svými vlastnostmi se úzce řadí k známé a velmi probádané bakterii *Escherichia coli*. Za anaerobních podmínek produkuje z jednoduchých cukrů řadu organických kyselin. Pyruvát vytvořený během glykolýzy redukuje na laktát, ve značné míře na formiát, acetát a etanol. Při nižším pH než 6,0 degraduje formiát na vodík a CO₂. Jeho metabolismu se účastní také pentofosfátová dráha a pravděpodobně i *Entner-Doudoroffova dráha* [10]. Energetický zisk v podobě ATP je nízký, a proto je jeho spotřeba sacharidů relativně vysoká. *Citrobacter freundii* tvoří v pivě dimetylsulfid a jiné těkavé sirné sloučeniny, ovlivňující

chutí a vůni piva [11, 12, 13]. Keevil a jeho spolupracovníci [14] zjistili vysoké koncentrace dimetylsulfidu ve směsné kultuře těchto bakterií s kvasinkami, zatímco čistá kvasinková kultura v mladině dimetylsulfid netvořila. V bakteriální kultuře zaznamenali také tvorbu diisopropylsulfidu. Z výsledků své práce vyvozují, že aroma piva infikovaného *Citrobacter freundii* je značně odlišné od piva nekontaminovaného, a proto zdůrazňují, že i poměrně nízké koncentrace bakterií, přežívajících v kvasici mladině po omezenou dobu může být dostačující pro nepříznivé ovlivnění jakosti výrobku. Také jiné enterobakterie produkují různé těkavé látky jako estery, vyšší alkoholy, vicinální diketony aj. [13, 15, 16].

V současnosti se v této souvislosti věnuje pozornost také druhu *Enterobacter agglomerans*, jehož kmeny byly izolovány z opakovaně nasazených kvasnic a z kvasicí mladiny [17]. Jde o běžně saprofytickou, jen výjimečně fytopatogenní bakterii, vyskytující se na povrchu rostlin. Jejími zdroji může být ječmen, slad a chmel. *Enterobacter agglomerans* byl však také izolován z různých zdrojů životního prostředí [18, 19], z potravy [18, 20] a z různých klinických vzorků lidských a zvířecích [18, 21, 22, 23]. Podle 8. vydání Bergey's Manual of Determinative Bacteriology [24] se zařazuje do rodu *Erwinia*. O nomenklatuře tohoto taxonu však nebylo dosud definitivně rozhodnuto. Vzhledem k tomu, že z piva izolované kmeny jsou fenotypicky velmi podobné kmenům *E. Agglomerans*, které studovali Ewing a Fife [18], používá se zpravidla tento druhový název [17]. Kontaminace kvasného procesu bakteriemi *Enterobacter agglomerans* se pokládá za velmi nežádoucí proto, že zvýšenou tvorbou těkavých látek negativně působí na chuť a aroma piva. Vuuren a spolupracovníci [25] zjistili, že v přítomnosti buněk *Enterobacter agglomerans* v koncentraci 10^6 /ml kvasicí mladiny se zvýšil v pivě obsah diacetylu a zejména však dimetylsulfidu. Například obsah dimetylsulfidu v kontrolním vzorku byl stanoven $54,6 \mu\text{g/l}$, v kontaminovaném vzorku $142,8 \mu\text{g/l}$. Ve stejném vzorku zjistili i zvýšený obsah acetaldehydu a metylacetátu. Při organoleptické zkoušce zaznamenali změny chuti a arómatu piva (ovocná, mléčná, sirná).

Na základě výsledků své práce autoři učinili závěr v tom smyslu, že *Enterobacter agglomerans* je třeba považovat za nežádoucí bakterii, kontaminující kvašení mladiny. Tento svůj názor zdůvodnili zjištěním, že tyto bakterie přežívají kvasný proces a v závislosti na koncentraci buněk mohou negativně ovlivňovat chuť a aroma piva.

Z uvedeného přehledu je tedy zřejmé, že enterobakterie kontaminující kvasnice a mladinu mohou svou životní činností poškozovat jakost konečného výrobku. Nejde však jen o organoleptické vlastnosti piva. Neméně povážlivou je i jejich schopnost redukovat nitráty na nitrity, jsou nevhodné nejen pro normální průběh kvašení, ale i pro zdravotní závadnost vyráběného piva. Příspěvkem k řešení této problematiky jsou výsledky prací z uplynulých let [26, 27, 28].

Kromě enterobakterií se mohou v pivovarské výrobě uplatňovat i jiné gramnegativní bakterie. Jsou to mj. např. octové bakterie, jejichž význam pro biologickou stabilitu piva se dosud podceňoval s poukazem na jejich aerobní metabolismus. Tento převládající názor korigovali Ploss, Erber a Echenbecher [29], kteří studovali výskyt octových bakterií ve velkém počtu vzorků (1203) odebraných v pivovarské výrobě, počínaje surovinami až po hotové pivo. Zjistili, že suroviny a kvasnice prakticky nejsou zdrojem této kontaminace, naproti tomu však kontaminované vzorky ze spilky, z ležáckého sklepa a téměř z celého úseku stáčení až po lahvové pivo, vykazovaly více či méně početné procentní zastoupení. Zdůraznili, že hojný výskyt octových bakterií ve vzorcích z kvasné-

ho procesu, schopnost jednotlivých zástupců vyvíjet se při teplotách kolem nuly a také při relativně nízkém parciálním tlaku kyslíku znamená pro pivo v ležáckém sklepech a pro stočené pivo značné nebezpečí. Pokud jde o druhové zastoupení, identifikovali uvedení autoři 465 kmenů, mezi nimiž kolem 77 % patřilo k druhu *Acetobacter pasteurianus* s převahou subspecies *pasteurianus* a nízkými počty obou ostatních subspecies [subsp. *loaniensis* a subsp. *ascendens*] a kolem 21 % zástupců druhu *Gluconobacter oxydans* subsp. *suboxydans*. *Acetobacter aceti* byl zjištěn pouze v 8 případech (2 %). V tomto nízkém počtu byly zastoupeny všechny tři subspecies: subsp. *xylinum*, subsp. *orleanensis* a subsp. *aceti*.

Z dalších gramnegativních bakterií byly japonskými autory izolovány zástupci rodů *Aeromonas*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Zymomonas* a *Achromobacter* [30]. Bližší identifikace však u těchto izolátů nebyla provedena.

Bakterie rodu *Zymomonas* jsou pohyblivé a nepohyblivé tyčinky, které za anaerobních podmínek zkvašují glukózu a fruktózu na etanol a CO_2 . V jejich metabolismu se uplatňuje Entner-Doudoroffova dráha. Typový druh *Zymomonas mobilis* byl dříve uváděn jako *Pseudomonas lindneri*, *Saccharomonas lindneri* nebo *Termobacterium mobile*; *Zymomonas anaerobia* jako *Achromobacter anaerobium* nebo *Saccharomonas anaerobia*.

Z piva byla izolována nepohyblivá varieta *Zymomonas anaerobia* var. *immobilis*. Za základní diagnostický rozdíl mezi *Zymomonas mobilis* a *Zymomonas anaerobia* se považovala schopnost *Zymomonas mobilis* zkvašovat vedle glukózy a fruktózy také sacharózu a tvořit levanová pouzdra. V současné době se dělení rodu na *Zymomonas mobilis* a *Zymomonas anaerobia* zpochybňuje, protože byly i z piva izolovány kmeny *Zymomonas anaerobia*, které dovedou zkvašovat sacharózu a popř. tvořit i levanová pouzdra. *Zymomonas anaerobia* se považuje za běžného kontaminanta pivovarů vyrábějících svrchně kvašené pivo, zejména v souvislosti s používáním přídavku cukru koncem hlavního kvašení. Avšak i u *Zymomonas mobilis* byly zjištěny kmeny kontaminující pivo. Kontaminovaná piva vykazují „ovocné“ aroma, přecházející v zápach po sirovořidku. V souvislosti s touto kontaminací se uvádí i zápach piva po shnilých jablkách v důsledku tvorby sirovořidku a acetaldehydu, které jsou pro tyto bakterie charakteristické [4, 13, 34, 35, 36].

Jako gramnegativní nesporulující tyčinky s polárními bičíky jsou v současnosti zařazeny do čeledi *Pseudomonadaceae*. Správnost jejich dřívějšího včlenění do skupiny *Achromobacter-Alcaligenes* se popírá vzhledem k prokázání Enter-Doudoroffově metabolické dráze, která se u uvedené skupiny vyskytuje pouze sporadicky [31].

Vedle zástupců *Zymomonas*, jejichž škodlivost se většinou uvádí v souvislosti se svrchně kvašenými pivy, byly v nedávné době izolovány z německých, skandinávských, amerických i japonských piv gramnegativní tyčinky, jejichž charakteristickým znakem je striktní anaerobní metabolismus. Proto také se jejich izolace nedařila v případech, kdy nebyly splněny podmínky striktní anaerobiozy [33, 37, 38, 40].

Podle německých autorů [37] byla piva silně zakalena, měla sedimentu a vykazovala nepříjemný zápach. Hodnoty pH však nebyly změněny. Mikroskopicky byly zjištěny krátké i dlouhé tyčinky, některé svým tvarem připomínaly korkovou zátku. Bakterie byly pohyblivé s peritrichálním nebo laterálním uspořádáním bičíků. Velikost buněk se pohybovala v rozmezí $0,4-0,8 \times 2-25 \mu\text{m}$, některé buňky byly i delší. Bakterie se vyskytovaly jednotlivě, i v párech, někdy také v řetízcích. Na běžném MRS-agaru tvořily kulaté, bělavé až špinavě béžové kolonie, většinou s drsným povrchem, o průměru asi 3 mm. Byly však izolovány i bakterie tvořící kolonie hladké, bělavé barvy a

menších rozměrů. V tekutém médiu tvořily nejdříve zákal, který se na konci logaritmické fáze značně snížil, přičemž na dně kultivační nádoby vznikl objemný pevný sediment. V jiném případě byla kultura dále zakalena s pozdější tvorbou slabšího sedimentu. Kmeny se dobře vyvíjely jak při pH 4,5, tak při pH 8,5, při 15 °C i při 40 °C, dokonce slabé pomnožování bylo zaznamenáno i při 44 °C. V přítomnosti utilizovatelných zdrojů uhlíku se velmi dobře pomnožovaly, okyselovaly médium a zpravidla silně tvořily plyn (CO₂). Hlavními metabolickými produkty uvedených bakterií při utilizaci glukózy byly především kyselina propionová, v menší míře kyselina octová a jantarová. Podobně tomu bylo při kultivaci v médiu s kyselinou mléčnou, kdy se však tvořilo méně kyseliny propionové, zatímco obsah kyseliny octové byl vyšší.

Vzhledem k morfologickým vlastnostem, gramnegativitě a chování ke kyslíku byly tyto bakterie zařazeny do čeledi *Bacteroidaceae*. V souvislosti s tvorbou kyseliny propionové, octové a jantarové mělo se nejdříve zato, že jde o příslušníky rodu *Bacteroides* [37]. Na základě tvorby kyseliny propionové jako hlavního metabolického produktu, pohyblivosti a procentuálního obsahu G+C (guanin + cytosin) bylo možno soudit, že jde o *Bacteroides serpens*. Oproti popisu tohoto druhu postrádaly však uvedené izoláty schopnost ztekucovat želatinu a tvořit H₂S.

Současně však Lee et al. [33, 38] popsali anaerobní gramnegativní bakterie izolované z piva, jejichž vlastnosti se shodovaly s vlastnostmi bakterií izolovaných Backem et al. [37]. Zařadili tyto bakterie do čeledi *Bacteroidaceae* jako nový rod *Pectinatus* s jediným druhem, který nazvali *Pectinatus cerevisiiphilus* vzhledem k tomu, že jej izolovali z piva. Typový druh uložili ve sbírce American Type Culture Collection (ATCC) pod číslem 29359. Na základě organoleptického hodnocení pív uvedli, že nový izolát negativně ovlivňuje jejich jakost produkcí sirovodíku. Piva zaočkovaná uvedenými bakteriemi silně zapáchala po zkažených vejcích. K nepříznivému vlivu izolátu na pivo přispěla i tvorba kyseliny propionové a octové i silný zákal.

Zdroj kontaminace nebyl v tomto případě dosud zjištěn zřejmě v důsledku obtíží s izolací těchto bakterií vzhledem k jejich striktně anaerobnímu charakteru. Podle předběžných zkoušek lze je však snadno zničit teplem, a to již za minuty při 58 °C nebo použitím dezinfekčních prostředků na bázi jódu nebo chlóru [33].

Také němečtí autoři [37] poté nazvali své izoláty *Pectinatus cerevisiiphilus*. Poukázali však na to, že u jejich kmenů nebylo možno zjistit tvorbu kyseliny mléčné z glukózy ani enzymaticky, ani plynovou chromatografií. Zaznamenali rozdíly i v utilizaci některých zdrojů uhlíku.

Vedle těchto striktně anaerobních tyčinek byly však z piva izolovány také striktně anaerobní koky, které rovněž kalily pivo a svými metabolickými produkty kazily jeho jakost [9]. Gramnegativní charakter těchto koků byl poněkud méně výrazný. Při jejich barvení podle Grama v různých fázích růstu nastávalo vždy zřetelné avšak nikdy dokonalé odbarvení. V kulturách v tekutém i na pevném médiu bylo možno pozorovat monokoky, diplokoky i kratší řetězky. Velikosti buněk byly zhruba 1,4–1,6 × 1,6–2,0 μm. Kolonie byly bílé až krémově zbarvené, téměř neprůsvitné, kulaté, lehce konvexní, hladké a lesklé. Na MRS-agaru měly průměr maximálně 1,5 mm. V tekutém médiu se tvořil zákal a po delší inkubaci velký sediment. Všechny kmeny se rozmnožovaly při 15 a 40 °C, v rozmezí pH 4,5–8,5. Jako hlavní metabolické produkty z glukózy vznikaly kyseliny máselná, izovalerová, valerová a kapronová, ve stopách izomáselná a octová. Produkty z kyseliny mléčné se lišily. Především se tvořila kyselina octová, propionová, máselná a valerová, malé množství kyseliny izovalerové a byla prokázána ve stopách tvorba kyseliny izomáselné a kapronové. Z threo-

ninu vznikala u všech kmenů kyselina propionová [39]. Stejně jako u izolátů zařazených do rodu *Pectinatus* byla u nich zjištěna i tvorba acetoinu [41]. Na základě morfologických znaků, vztahu ke kyslíku a gramnegativního charakteru byly tyto koky zařazeny do rodu *Megasphaera* čeledi *Veillonellaceae*, zejména se zřetelem k tvorbě kyseliny kapronové. Tento rod je však reprezentován pouze jediným druhem *Megasphaera elsdenii*, jehož metabolické produkty jsou téměř shodné s produkty uvedených izolátů. Totéž platí i pro řadu fyziologických a biochemických znaků. Jsou zde však i některé rozdíly, a to např. v růstu při 15 °C a ve velikosti buněk. Nejzávažnějším rozdílem je však složení bází DNA, které je zřetelně nižší u izolátů ve srovnání s *Megasphaera elsdenii*. Proto Weiss et al. [39] označují své izoláty pouze jako *Megasphaera species I.* a *Megasphaera species II.* Pokud jde o nedokonalé odbarvování jejich buněk při Gramově barvení a jejich zařazení do rodu *Megasphaera*, je vidět shodu i v tomto směru, protože *Megasphaera elsdenii* je uváděna jak mezi gramnegativními, tak i mezi grampozitivními koky [39].

Němečtí autoři zkoumali také míru nebezpečí, které ohrožuje jakost piva při kontaminaci uvedenými striktně anaerobními koky a tyčinkami [41]. Zaočkovali různé kmeny včetně kmenů typových do 7 různých typů pív, lišících se vzájemně chemickým složením. Během kultivace byly zajištěny anaerobní podmínky. Autoři zjistili, že se všechny izoláty v pivech dobře pomnožovaly s výjimkou typu *Altbier* ($p =$ asi 11,8 %, $A =$ asi 3,5 %, pH 4,00) a typu světlý *Doppelbock* ($p =$ asi 18,4 %, $A =$ 6,5 % pH — 4,53). V prvním případě šlo o vliv nízkého pH, ve druhém případě o vysokou koncentraci etanolu. Za anaerobních podmínek daných v pivech tím, že jimi byly zcela naplněny lahvičky s obloučkovými uzávěry, nevyvíjely se však v nich izoláty, které svými vlastnostmi odpovídaly charakteristice druhu *Hafnia protea* a také se v nich nepomnožoval typový kmen *Megasphaera elsdenii*. K jeho pomnožení bylo třeba, aby kultivace pobíhala při 37 °C za striktně anaerobních podmínek ve speciální kultivační nádobě. Autoři také zjistili, že lze izoláty těchto koků a tyčinek několikanásobně pasážovat v pivě a že se také dobře pomnožují v mladině, ovšem pouze při striktně anaerobioze.

Také v Japonsku byly izolovány striktně anaerobní gramnegativní katalasonegativní tyčinky, které kazily pivo [40]. Izolát označili jako VTT-E-79100. Kromě již uvedených vlastností se vyznačoval laterálním umístěním bičíků a tvorbou kyseliny propionové jako hlavního metabolického produktu z různých zdrojů uhlíku. I když u izolátu byly zjištěny některé znaky odlišné od referenčního kmene, byl zařazen do rodu *Pectinatus*.

Z uvedených sdělení lze tedy soudit na závažnost kontaminace pív těmito anaeroby zejména tehdy, je-li v čerstvě stočeném pivě zajištěn nízký obsah rozpuštěného kyslíku [0,4–0,8 mg/l] a méně než 1 ml vzduchu v hrdlovém prostoru láhve.

K důkazu uvedených mikroorganismů je třeba zajistit striktně anaerobní podmínky, pH v rozmezí 5,0–7,0 a teplotu 28–30 °C. Kultury uchovávané v chladničce v tekuté půdě je třeba přeočkovat vždy za 10 až 14 dní, kultury ve vpichu nejdéle za čtyři týdny.

Rychlá metoda detekce kontaminace výroby těmito anaeroby před jejich pomnožením v pivě nebyla dosud vyvinuta.

Mikrobiologické oddělení Výzkumného ústavu pivovarského a sladařského se řadu let zabývá rovněž problematikou mikroorganismů kontaminujících pivovarskou výrobu. Výzkum byl zaměřen jak na izolaci a identifikaci cizích kvasinek, tak na otázky mléčných bakterií — pediokoků a laktobacilů. Pozornost byla věnována i gramne-

gativním bakteriím, ať již to byly práce týkající se maximálně přípustné hranice koliformních bakterií v pivovarských meziproduktech a v hotovém pivo nebo snaha o upřesnění znalostí o vlivu kontaminace mladinovými bakteriemi na průběh kvašení z hlediska schopnosti těchto mikroorganismů redukovat nitráty na nitrity.

V současné době je výzkumná činnost problematiky pivovarských bakteriálních kontaminantů orientována na sledování výše popsané skupiny anaerobních gramnegativních piva škodlivých bakterií. Z většího počtu vzorků lahového piva byly izolovány anaerobní tyčinky a koky a z řady těchto izolátů byly vybrány ty, které kromě schopnosti kazit pivo a růstu v atmosféře CO₂ byly současně gramnegativní. Zatímco vybrané izoláty tyčinek jednoznačně vykazují gramnegativní charakter, koky se jeví jako gramlabilní.

Vzhledem k tomu, že se podle morfologického vzhledu, zejména co se týče velikosti, liší od čistě grampozitivních koků, byly i tyto koky zařazeny do našeho průzkumu. U vybraných izolátů se provádějí série biochemických identifikačních testů, které mají určit jejich příslušnost k výše jmenovaným skupinám gramnegativních anaerobních nebo fakultativně anaerobních mikroorganismů.

Literatura

- [1] BENDOVÁ, O. - KURZOVÁ, V.: Kvasný průmysl, **26**, 1980, č. 9, s. 197
- [2] BENDOVÁ, O. - KURZOVÁ, V.: Výzkumné zprávy VÚPS, Vliv mikrobiálních kontaminantů na jakost piva a metody jejich stanovení ev. č. 6/2, 1978, 1977
Výzkum mikroorganismů kontaminujících pivovarskou výrobu se zřetelem k zajištění trvanlivosti piva ev. č. 6/2, 1979
- [3] ESCHENBECHER, F. - ELLENRIEDER, M.: Proc. EBC, Nice, 1975, s. 497
- [4] AULT, R. G.: J. Inst. Brew. **71**, 1965, s. 376
- [5] PRIEST, F. G. - COWBOURNE, M. A. - HOUGH, J. S.: J. Inst. Brew. **80**, 1974, s. 342
- [6] PRIEST, F. G. - SOMERVILLE, H. J. - COLE, J. A. - HOUGH, J. S.: J. Gen. Microbiol. **75**, 1973, s. 295
- [7] SHIMWELL, J. L. - GRIMES, M.: J. Inst. Brew. **42**, 1936, s. 348
- [8] SHIMWELL, J. L.: Brew. Journal **99**, 1963, s. 759
- [9] COWBOURNE, M. A. - PRIEST, F. G. - HOUGH, J. S.: Brewers Digest **47**, 1972, s. 36
- [10] WHITING, P. H. - MIDGLEY, M. - DAWES, E. A.: J. Gen. Microbiol. **92**, 1976, s. 304
- [11] ANDERSON, R. J. - HOWARD, G. A.: J. Inst. Brew. **80**, 1974, s. 357
- [12] DREWS, B. - BÄRWALD, G. - NIEFIND, H. J.: Proc. EBC, Inter-laken, 1969, s. 419
- [13] PRIEST, F. G. - HOUGH, J. S.: J. Inst. Brew. **80**, 1974, s. 370
- [14] KEEVIL, W. J. - HOUGH, J. S. - COLE, J. A.: J. Inst. Brew. **85**, 1979, s. 99
- [15] BLACKWOOD, A. C. - NEISH, A. C. - LEDINGHAM, G. A.: Journal of Bacteriology **72**, 1956, s. 497
- [16] VAN RIEMANN, - SCHEIBLE, E.: Brauwelt **110**, 1969, s. 1074
- [17] VAN VUUREN, H. J. - KERSTERS, K. - DE LEY, J. - TOERIE, D. F. - MEISEL, R.: J. Inst. Brew. **84**, 1978, s. 315
- [18] EWING, W. H. - FIFE, M. A.: Inst. J. Syst. Bacteriology **84**, 1978, s. 315
- [19] NEILSON, A. H. - SPARELL, L.: Appl. and Environment. Microbiology **32**, 1976, s. 197
- [20] AHO, P. E. - SEIDLER, R. J. - EVANS, H. J. - RAJN, P. N.: Phytopathology **64**, 1974, s. 1413
- [21] GILARDI, G. L. - BOTTONE, E. - BIRNBAUM, M.: Appl. Microbiology **20**, 1970, s. 151
- [22] GILARDI, G. L. - BOTTONE, E. - BIRNBAUM, M.: Antonie van Leeuwenhoek **37**, 1971, s. 529
- [23] VON GRAEVENITY, S. - STROUSE, A.: Antonie van Leeuwenhoek **32**, 1966, s. 429
- [24] BUCHANAN, R. E. - GIBBONS, N. E.: Bergery's Manual of Determinative Bacteriology, 8th Edition, Baltimore, USA, Williams and Wilkins Company, 1974
- [25] VAN VUUREN, H. J. J.: J. Inst. Brew. **86**, 1980, s. 31
- [26] WEINER, J. P. - RALPH, D. J. - TAYLOR, L.: Proc. EBC, Nice 1975, s. 565
- [27] BENDOVÁ, O. - KURZOVÁ, V.: Závěrečná zpráva VÚPS ev. č. 6/2, 1978, Vliv mikrobiálních kontaminantů na jakost piva a metody jejich stanovení
- [28] ŠAVEL, J. - PROKOPOVÁ, M. - ŠATAVA, J.: Kvasný průmysl **22**, 1976 s. 268
- [29] PLOSS, M. - ERBER, J. - ESCHENBECHER, F.: Proc. EBC, Berlin 1979, s. 521
- [30] NISHIKAWA, N. - KONGO, M. - KARAKAWA, T.: Bull. Brew. Sci **25**, 1979, s. 13
- [31] DADDS, M. J. S. - MARTIN, P. A.: J. Inst. Brew. **79**, 1973, s. 388
- [32] BEVERS, J. - VERACHTERT, H.: J. Inst. Brew. **82**, 1976, s. 35
- [33] LEE, S. Y. - MABEE, U. S. - JANGAARD, N. O. - HORINCHI, E. K.: J. Inst. Brew. **86**, 1980, s. 28
- [34] RAIBOW, C.: Process Biochemistry **6**, 1971, s. 15
- [35] DADDS, M. J. S. - MACPHERSON, A. L. - SINCLAIR, A.: J. Inst. Brew. **77**, 1971, s. 453
- [36] ANDERSON, R. J. - HOWARD, G. A. - HOUGH, J. S.: Proc. EBC, Estoril 1971, s. 253
- [37] BACK, W. - WEISS, N. - SEIDEL, H.: Brauwiss. **32**, 1979, s. 233
- [38] LEE, S. Y. - MABEE, M. S. - JANGAARD, N. O.: Int. J. Syst. Bacteriol. **28**, 1978, s. 582
- [39] WEISS, N. - SEIDEL, H. - BACK, W.: Brauwiss. **32**, 1979, s. 189
- [40] HAIKARA, A.: Bios **9**, 1980, s. 20
- [41] SEIDEL, H. - BACK, W. - WEISS, N.: Brauwiss. **32**, 1979, s. 262

Bendová, O. - Kurzová, V.: Gramnegativní bakterie kontaminující pivo. Kvas. prům., **27**, 1981, č. 12, s. 268—271.

V článku je uveden přehled současných názorů na význam gramnegativních bakterií kontaminujících pivovarskou výrobu. Jde o některé zástupce čeledi *Enterobacteriaceae* včetně *Enterobacter agglomerans*, jimž se v této souvislosti dříve nevěnovala pozornost, dále o bakterie rodu *Acetobacter*, *Zymomonas* a v nedávné době popsané striktně anaerobní tyčinky *Pectinatus cerevisiiphilus* a koky z rodu *Megasphaera*.

Бендова, О., Курзова, В.: Грамотрицательные бактерии, загрязняющие пиво. Квас. прум., **27**, 1981, № 12, стр. 268—271.

Приводится обзор по современным взглядам на значение грамотрицательных бактерий, загрязняющих пивоваренное производство. Речь идет о некоторых представителях *Enterobacteriaceae*, включая *Enterobacter agglomerans*, которым в этой связи раньше не уделялось внимание, далее о бактериях расы *Acetobacter Zymomonas* в последнее время описанные строго анаэробные папочки *Pectinatus cerevisiiphilus* и коки расы *Megasphaera*.

Bendová, O. - Kurzová, V.: Gramnegative Bacteria Contaminating Beer. Kvas. prům. **27**, 1981, No. 12, pp. 268—271.

A review of present opinions on the significance of gramnegative bacteria contaminating beer production is given. Some microorganisms from the family *Enterobacteriaceae* including *Enterobacter agglomerans*, which had not been taken into account in this connection in the past, bacteria from the genus *Acetobacter*, *Zymomonas* and recently described strictly anaerobic rods of *Pectinatus cerevisiiphilus* and cocci from the genera *Megasphaera* are discussed.

Bendová, O. - Kurzová, V.: Gramnegative Bakterien a's Bierkontaminanten. Kvas. prům. **27**, 1981, No. 12. S. 268—271.

Es wird eine Übersicht der gegenwärtigen Ansichten auf die Bedeutung der gramnegativen Bakterien, die im Brauereibetrieb als Kontaminanten auftreten. Es handelt sich um einige Vertreter der *Enterobacteriaceae* inkl. *Enterobacter agglomerans*, denen bisher in diesem Zusammenhang keine Aufmerksamkeit gewidmet wurde, weiter um Bakterien der Genera *Acetobacter* und *Zymomonas* und um die unlängst beschriebene strikt anaerobe Stäbchen *Pectinatus cerevisiiphilus* und Kokken von dem Genus *Megasphaera*.