

(19)



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

K AUTORSKÉMU OSVĚDČENÍ

(61)

(23) Výstavní priorita
(22) Přihlášeno 14 06 78
(21) PV 3864-78

(11) (B1)

(51) Int. Cl. C 12 Q 1/04

(40) Zveřejněno 31 08 79
(45) Vydáno 01 6 82

(75)
Autor vynálezu Šavel Jan ing. a Prokopová Marie ing., České Budějovice

(54) Polopevná živná půda pro průkaz mikroorganismů kazících pivo

1

Předmětem vynálezu je polopevná živná půda, která umožňuje selektivně stanovit mikroorganismy kazící pivo. Z mikroorganismů, které se vyskytují v pivovarské výrobě, jen některé kazí pivo. Mohou to být například některé kmeny určitého druhu bakterií nebo kvasinek. Přitom tyto mikroorganismy kazí pivo různou rychlostí, takže se při kažení uplatňují v závislosti na množství a rychlosti růstu v pivu.

Dosavadní způsoby mikrobiologické kontroly se zakládaly na kultivaci provozních vzorků na specifických živných půdách, čímž se prokazovaly určité skupiny mikroorganismů. Tak bylo možné prokázat sice mikroorganismy kazící pivo, nebylo však možné přímo zjistit, které z nich se budou v pivu pomnožovat nejrychleji. Na těchto půdách někdy rostly i mikroorganismy, které pivo nekazily.

Kromě toho se některé bakteriální druhy musely kultivovat anaerobně, obvykle ve zvláštních nádobách, z nichž se vzduch odstranil a nahradil inertním plynem. To bylo časově i přístrojově náročné.

Tyto nevýhody odstraňuje nová půda. Půda se skládá z piva v koncentraci 20 až 99,98 %, nejlépe 70 %, a agaru v koncentraci 0,02 až 0,8 %, nejlépe 0,15 %, který vytváří polotekutou konzistenci půdy. K přípravě se může použít piva vyrobeného z mladiny různé koncentrace - 10 %, 12 % atd., piva nasyceného oxidem uhličitým nebo zbave-

ného oxidu uhličitého například třepáním, piva s různým obsahem rozpuštěného kyslíku apod.

Půda se může připravit odděleně a hotovou půdu zalévat vzorky nebo, je-li vzorkem přímo pivo, připravovat půdu mísením vzorku a roztoku agaru.

Nová půda prokazuje všechny druhy mikroorganismů, které kazí pivo. Pro speciální účely je možné dále tyto mikroorganismy dělit přířdkem vhodného inhibitoru do půdy. Tak lze ze směsi obsahující kvasinky i bakterie kazící pivo prokazovat pouze kvasinky, přidá-li se do půdy inhibitor bakterií, například tetracyklin, nebo naopak prokazovat bakterie, přidá-li se inhibitor kvasinek, například cykloheximid. Podobně se přířdkem kademnatých solí mohou potlačit pediokoky a prokazovat laktobacily.

Pro průkaz striktních anaerobů se upraví rH půdy redukčním činidlem například kyselinou askorbovou, cysteinem, thioglykolátem, sirnatanem nebo siřičitanem.

Pro dělení mikroorganismů podle citlivosti k rozpuštěnému kyslíku se půda vyrobí z piva s různým obsahem rozpuštěného kyslíku (koncentrace se stanoví přesně analyticky.)

Přesný počet mikroorganismů ve vzorcích s nízkým obsahem buněk se stanoví membránovou filtrací; membránové filtry s mikroorganismy se novou půdou přelévají.

Novost půdy spočívá v tom, že půda prokazuje pouze mikroorganismy kazící pivo, a to nejdříve ty, které se v pivu pomnožují nejrychleji. Podstatné je zde napodobení přirozeného kažení piva. Kromě toho je půda velmi levná a jednoduchá, při průkazu bakterií odpadá kultivace za nepřístupu vzduchu a průkaz mikroorganismů je rychlejší a pracovně jednodušší, než tomu bylo u dosud známých půd. Všechny tyto vlastnosti jsou vhodné zejména pro použití v provozní kontrole.

Půdy je možné použít především v provozních mikrobiologických laboratořích pivovarů, ve výzkumu apod.

Příklad 1

Průkaz mikroorganismů kazících pivo ve stočeném pivu.

0,2 g agaru se rozmíchalo ve 30 ml vody. Směs se rozvařila v autoklávu (120 °C, 15 min) a horká smísila se 100 ml 12 % piva. Směsí se zalévaly vzorky ve zkumavkách, v tomto případě proužky membránových filtrů s mikroorganismy zachycenými z piva filtrací. Po kultivaci (28 °C, 4 dny) se odečetl počet mikroorganismů.

Příklad 2

Průkaz bakterií kazících pivo ve vzorcích z provozu.

0,2 g agaru se rozmíchalo ve 30 ml destilované vody a směs zahřívala ve vodní lázni do rozpuštění agaru. Horká směs se smísila se 100 ml piva, předtím zbaveného oxidu uhličitého třepáním a zpasterovaného. Směsí se ve zkumavkách zalévaly vzorky z pivovarské výroby, například mladina ze stoků, pivo z kvasných a ležáckých nádob apod., a to vždy 1 ml vzorku 10 ml půdy. Před zaléváním půdy se k vzorkům přidal cykloheximid v takovém množství, aby výsledná koncentrace cykloheximidu po zalití vzorku bylo 0,002 %. Pro dokonalé zchlazení a rychlé dosažení polotekuté konzistence se půda zaočkováná vzorky ve zkumavkách ponechala 30 min při 5 °C v chladničce. Potom se zaočkováná půda kultivovala při 28 °C a v jednotlivých dnech odečítal počet bakterií kazících pivo.

Příklad 3

Průkaz kvasinek v stočeném pivu.

0,7 g agaru se rozmíchalo ve 100 ml vody a směs zahřívala v autoklávu (120 °C, 15 min). Po ochlazení na 50 °C se do zkumavek pipetovalo po 3 ml roztoku agaru a roztok tetracyklinu v takovém množství, aby jeho výsledná koncentrace po zalití pivem byla 0,005 %. Po otevření lahve 10 % nepasterovaného piva se opatrně pipetou nasálo 10 ml piva a ve zkumavce smísilo s agarem a tetracyklinem. Pro dokonalé zchlazení a rychlé dosažení polotekuté konzistence se půda zaočkovaná vzorky ve zkumavkách ponechala 30 min při 5 °C. Potom se zaočkovaná půda kultivovala (28 °C, 3 dny) a odečetl počet kvasinek.

P Ř E D M Ě T V Y N Á L E Z U

1. Polopevná živná půda pro průkaz mikroorganismů kazících pivo, vyznačená tím, že obsahuje pivo v koncentraci 20,0 až 99,9 % a agar v koncentraci 0,02 až 0,8 %.
2. Půda podle bodu 1, vyznačená tím, že dále obsahuje inhibitor některých mikroorganismů, jako cykloheximid, tetracyklin, nebo kademnaté soli.
3. Půda podle bodu 1 nebo 2, vyznačená tím, že dále obsahuje redukční činidlo, jako kyselinu askorbovou, cystein, thioglykolát, sirnatan nebo siřičitan.