

# MIKROBIOLOŠKA ANALIZA KOMERCIJALNOG VINSKOG KVASCA

## PRINCIP:

Napraviti odgovarajuća razrjeđenja uzorka komercijalnog vinskog kvasca, izbrojati stanice u Thoma-ovoj komorici i nacijepiti na sladni agar u Petrijevim zdjelicama. Izračunati koncentraciju stanica kvasca u suhom komercijalnom kvascu i izraciti u CFU/g. Uočiti eventualnu prisutnost kontaminanata u uzorku.

## POSTUPAK:

1. Suspendirati 1 g komercijalnog vinskog kvasca u 99 mL sterilne vode u Erlenmeyer-ovoj tikvici (razrjeđenje  $10^{-2}$ ). Iz ovako pripremljenog razrjeđenja pripremiti dalje odgovarajuća razrjeđenja, tako da se svaki put po 1 mL dobro homogenizirane suspenzije kvasca prenese u epruvetu s 9 mL sterilne vode. Pritom treba paziti na aseptičnu tehniku rada, a pripremljena razrjeđenja odmah označiti.
2. Odabrati odgovarajuće razrjeđenje (ono koje nije mutno) za brojanje u Thoma-ovoj komorici.
3. U posebnu suhu i sterilnu epruvetu prenijeti 2 mL ove suspenzije te dodati 1 kap metilenskog modrila. Dobro homogenizirati, nanijeti na Thoma-ovu komoricu i izbrojati žive i mrtve stanice, te izračunati njihov postotak u ukupnom broju stanica.
4. Izračunati koje razrjeđenje treba nacijepiti na sladni agar (po 0,1 mL) tako da na podlozi izraste 30-300 kolonija. Odgovarajuće razrjeđenje nacijepiti na Petrijeve zdjelice u 3 paralele, označiti svaku id njih i potom inkubirati u termostatu (28 °C / 3 dana) (okrenuto naopačke tako da se termostatiraju na poklopcima).
5. Nakon termostatiranja pregledati ploče, uočiti eventualne kontaminante i mikroskopirati ih. Prebrojati kolonije kvasaca na pločama i izračunati koncentraciju stanica kvasca u komercijalnom preparatu te izraziti kao CFU/mL. Napraviti nativni preparat jedne karakteristične, dobro izdvojene kolonije kvasca.