

Lysin-Agar

Zur Isolierung und Koloniezahlbestimmung von Wildhefen aus Brauereihefen.

Lysin-Agar-Basis

Art.-Nr. CM 191

Typische Zusammensetzung	(g/l)
Glucose	44,5
Kaliumdihydrogenphosphat	1,78
Magnesiumsulfat	0,89
Calciumchlorid	0,178
Natriumchlorid	0,089
Adenin	0,00178
D,L-Methionin	0,000891
L-Histidin	0,000891
D,L-Tryptophan	0,000891
Borsäure	0,0000089
Zinksulfat	0,0000356
Ammoniummolybdat	0,0000178
Mangan(II)-sulfat	0,0000356
Eisen(II)-sulfat	0,0002225
Lysin	1,0
Inosit	0,02
Calciumpantothenat	0,002
Thiaminchloridhydrochlorid (Aneurin)	0,0004
Pyridoxin	0,0004
p-Aminobenzoesäure	0,0002
Nicotinsäure	0,0004
Riboflavin	0,0002
Biotin	0,000002
Folsäure	0,000001
Agar	17,8
pH 4,8 ± 0,2	

Zubereitung

1 ml 50%ige Kaliumlactat-Lösung (OXOID, Art.-Nr. SR 37) zu 100 ml Aqua dest. geben. Darin 6,6 g Lysin-Agar-Basis suspendieren, bis zum vollständigen Lösen erhitzen und auf 50°C abkühlen. 0,1 ml 10%ige Milchsäure-Lösung (OXOID, Art.-Nr. SR 21) zur Einstellung des pH-Wertes auf 4,8 ± 0,2 zufügen. Platten gießen und überschüssige Feuchtigkeit auf der Oberfläche durch Trocknen bei 36°C entfernen.

Beschreibung

Lysin-Agar ist - bis auf den Agaranteil - ein vollsynthetischer Nährboden, der zuerst von Morris und Eddy¹ zur Isolierung und Koloniezahlbestimmung von Wildhefen aus Brauereihefen beschrieben wurde. Walters und Thielton² untersuchten 180 Hefe-Spezies in einem flüssigen, synthetischen Nährboden, der Lysin als einzige Stickstoffquelle enthielt. Sie fanden, daß normale Stämme von *S. cerevisiae* oder *S. carlsbergensis* kein Lysin verwerten können, während viele andere Hefen, einschließlich der Wildhefen, dazu in der Lage sind. Sie hielten ihre Hefe-Stammkulturen auf der Schrägschicht von Röhrcchen mit Malzextrakt-Agar und die Kultur von *Brettanomyces* spp. auf Malzextrakt-Kreide-Agar. Später beschrieben Morris

Nährböden

und Eddy¹ einen festen Lysin-Agar zur Isolierung und Koloniezahlbestimmung von Wildhefen aus Brauereihefen.

Kulturverfahren

1. Die Proben von Brauereihefen dreimal mit Aqua dest. waschen und zentrifugieren.
2. 0,2 ml der Suspension mit maximal 10^7 Zellen je ml mit einem gebogenen Platindraht auf der Oberfläche von Lysin-Agar ausstreichen.
3. Bei 25°C bebrüten und täglich auf Wachstum begutachten.
4. Die Anzahl der Kolonien zählen. Den Grad der Kontamination als Anzahl der Wildhefen-Zellen je Million Zellen des ursprünglichen Inokulums ausdrücken.

Die Anzahl der Zellen im Inokulum ist für die Zählbarkeit der Kolonien auf den Platten wichtig. Wie von Morris und Eddy¹ gezeigt werden konnte, wachsen kleine Anzahlen von Zellen (ca. 100-1000) noch abgegrenzt auf dem Nährboden.

Wenn die Zellzahl der Brauereihefen etwa 10 000 übersteigt, kann die Koloniezahl der Wildhefen als direktes Maß der Kontamination herangezogen werden³.

Lagerung und Haltbarkeit

Trockennährboden:

Fest verschlossen, lichtgeschützt, 10-25°C.

Milchsäure-Lösung: 2-8°C.

Haltbarkeit: siehe Etikett.

Qualitätskontrolle

Positivkontrolle

Pichia fermentans ATCC 10651

Negativkontrolle

Saccharomyces carlsbergensis ATCC 2700

Zusätzliche Hinweise

Die Brauereihefen können als leichter Hintergrundfilm wachsen, während die Wildhefen als Kolonien auf dem Film erscheinen.

Literatur

1. Morris, E.O. und Eddy, A. A. (1957) J. Inst. Brew. 63(1), 34-35.
2. Walters, L.S. und Thiselton, M.R. (1953) J. Inst. Brew. 59, 401.
3. Fowell, R.R. (1965) J. Appl. Bacteriol. 28, 373-383.