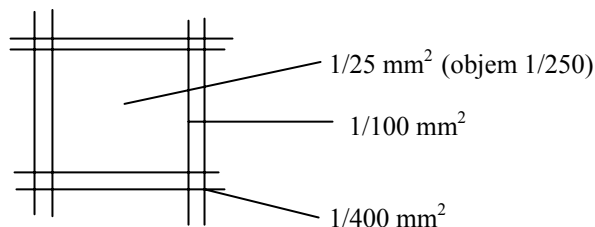


POZOROVÁNÍ KVASINEK, VITÁLNÍ TEST

- Úvod:** Vitální test slouží ke stanovení procenta živých a mrtvých buněk (důležité např. při stanovení jakosti pekařského droždí nebo kontrole pivovarských kvasnic). K vitálnímu testu se používá methylenová modř, která zbarví mrtvé buňky modře, živé zůstávají nezbarveny.
- Pomůcky:** Bürkerova komůrka, Erlenmeyerovy baňky, zkumavky, pipety, krycí sklíčko, Pasteurova pipeta, mikroskop
- Chemikálie:** methylenová modř (R6), sterilní voda
- Postup:**
- 1) 0,5 ml zásobní kultury kvasinek z pekařského droždí napipetujeme do 5 ml sterilní vody v Erlenmeyerově baňce.
 - 2) Z Erlenmeyerovy baňky pipetujeme do čtyřech zkumavek po 1 ml suspenze. První zkumavku ponecháme při laboratorní teplotě, ostatní umístíme do horké vodní lázně – druhou zkumavku na 5 minut, třetí na 10 minut a čtvrtou na 15 minut. Po vyjmutí zchladíme studenou vodou.
 - 3) Provedeme stanovení počtu živých a mrtvých buněk v jednotlivých zkumavkách. Do prohlubně Bürkerovy komůrky nanese kapku suspenze a zakryjeme krycím sklem. K okraji krycího skla kápneme kapku methylenové modři.
 - 4) Pozorujeme pod mikroskopem při vhodném zvětšení. Stanovíme počet živých a mrtvých buněk v deseti čtvercích. Buňky ležící na levé a spodní straně do počtu buněk zahrnujeme, buňky na pravé a horní straně ne. Postup opakujeme pro suspenze kvasinek v jednotlivých zkumavkách.
 - 5) Stanovíme koncentraci buněk v Erlenmeyerově baňce a sestrojíme graf závislosti přeživších kvasinek na čase, po který byly vystaveny zvýšené teplotě.

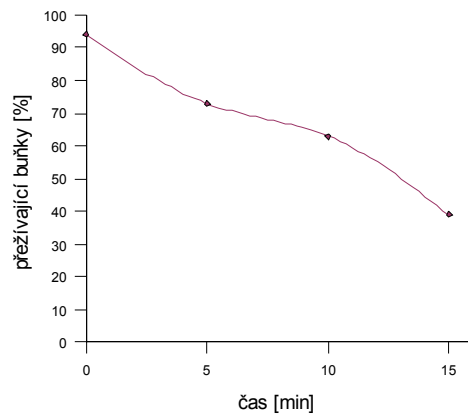
Obrázek: čtvereček Bürkerovy komůrky



Tabulka:

čas [min]	počet živých b. v 10 čtvercích	počet mrtvých b. v 10 čtvercích	celkový počet b. v 10 čtvercích	přeživající b. [%]
0	68	4	72	94
5	47	17	64	73
10	43	25	68	63
15	26	40	66	39

Graf: Graf závislosti počtu přeživších kvasinek na čase, po který byly vystaveny zvýšené teplotě.



Výpočet: celkový počet buněk v deseti čtvercích – 72, objem nad čtverečkem – $1/250 \text{ mm}^3$,
potom $72 \cdot 250 \cdot 10^3 / 10 = 1,8 \cdot 10^6 \text{ CFU/ml}$

Závěr: Koncentrace kvasinek zjištěná mikroskopicky byla $1,8 \cdot 10^6 \text{ CFU/ml}$. S prodlužující se dobou, po kterou byly kvasinky vystaveny zvýšené teplotě, postupně docházelo k ubýtku živých buněk.