

Die Gehaltebepaling

van

Aktiewe Droë Brouersgis

vir

Bantoebierbereiding

deur L. Badenhorst

UOVS-SASOL-BIBLIOTEK 0135781



11100954590122000019

DIE GEHALTEBEPALING VAN AKTIEWE DROË
BROUERSGIS VIR BANTOEBIERBEREIDING

deur

L. Badenhorst

Verhandeling voorgelê ter vervulling van
'n deel van die vereistes vir die graad

M.Sc. (Agric)

in die Fakulteit van Landbou
(Departement van Mikrobiologie)
Universiteit van die Oranje-Vrystaat

Pretoria

Desember 1971

UNIVERSITEIT VAN ORANJE-VRYSSTAAT
GEN. SMITZPARK 1
BIBLIOTHEK VERWYDER WOND NIE

Universiteit van Oranje-Vrystaat
16-5-195
Klas 163.42 / ...
No. 135781
BIBLIOTHEK

(i)

„Ek verklaar dat die verhandeling wat hierby vir die graad van M.Sc. (Agric) aan die Universiteit van die Oranje-Vrystaat deur my ingedien word, nie voorheen deur my vir 'n graad aan enige ander universiteit ingedien is nie.”

Badenhorst.....

L. Badenhorst

(ii)

Opgedra aan Lurey

VOORWOORD

Hiermee wil ek graag my dank en besondere waardering uitspreek teenoor dr. J.P. van der Walt, Hoof van die Navorsingsgroep vir Mikrobiologie aan die W.N.N.R., vir sy waardevolle raad en belangstelling tydens hierdie ondersoek asook vir sy kritiese leiding by die opstelling van hierdie manuskrip.

My dank aan prof. P.M. Lategan, wat as promotor vir hierdie studie opgetree het en dr. H.J. Potgieter vir hul opbouende kritiek en advies met die skryf van hierdie manuskrip.

Gedurende hierdie ondersoek was dit my voorreg om ruimskoots hulp en advies van kollegas en vriende, in besonder mnr. W.B. van der Riet, te ontvang. Daarvoor is ek hulle innig dankbaar.

Aan die W.N.N.R. my dank vir die toestemming om hierdie resultate vir studiedoeleindes te gebruik.

My opregte dank aan mev. Janet Cope vir haar onvermoeide ywer met die tik van die manuskrip.

Laastens, my opregte dank aan my Ouers, familie en vriende vir hul ondersteuning en aanmoediging gedurende die afgelope aantal studiejaar.

INHOUDSOPGAWE

INHOUD

Bladsy

OPSOMMING

SUMMARY

HOOFSTUK I

INLEIDING

	1
1.1 Algemeen	1
1.2 Die brou van bantoebier	2
1.3 Probleemstelling	3
1.4 Die bereiding van aktiewe droë brouersgis	5

HOOFSTUK II

DIE INVLOED VAN VERSKEIE FAKTORE OP DIE TELLING VAN DIE AANTAL LEWENSVATBARE GISSELLE EN LEWENSVATBARE „NIE-KULTUUR“ GISSELLE IN AKTIEWE DROË BROUERSGIS	7
--	---

2.1 Die invloed van die temperatuur van die rehidrasievloeistof	7
2.1.1 Inleiding	7
2.1.2 Bepaling van die invloed van die rehidrasievloeistof by verskillende temperature op die telling van die totale aantal lewensvatbare gisselle en totale aantal lewensvatbare „nie-kultuur“ gisselle wat in aktiewe droë brouersgis teenwoordig is	8

	<u>Bladsy</u>
2.1.3 Resultate en gevolgtrekking	8
2.2 Die invloed van verskillende rehidrasievloeistowwe by verskillende temperature	10
2.2.1 Inleiding	10
2.2.2 Bepaling van die invloed van verskillende rehidrasievloeistowwe by verskillende temperature op die totale lewensvatbare gisseltelling en totale lewensvatbare „nie-kultuur” gisseltelling van aktiewe droë brouersgis	10
2.2.3 Resultate en gevolgtrekking	10
2.3 Die invloed van die hou van aktiewe droë brouersgis suspensies vir verskillende tydspanes by 42°C	12
2.3.1 Inleiding	12
2.3.2 Bepaling van die invloed van die hou van 'n aktiewe droë brouersgis suspensie, vir verskillende tydspanes by 42°C, op die totale lewensvatbare gisseltelling en totale lewensvatbare „nie-kultuur” gisseltelling	12
2.3.3 Resultate en gevolgtrekking	12
2.4 Die invloed van verskillende hoeveelhede rehidrasievloeistof by 42°C	14
2.4.1 Inleiding	14
2.4.2 Bepaling van die invloed van verskillende rehidrasievloeistowwe by 42°C op die totale lewensvatbare gisseltelling en totale lewensvatbare „nie-kultuur” gisseltelling van aktiewe droë brouersgis	14
2.4.3 Resultate en gevolgtrekking	15
2.5 Die invloed van die temperatuur van die sekondêre verdunningsvloeistof	18
2.5.1 Inleiding	18
2.5.2 Bepaling van die invloed van die temperatuur van die sekondêre verdunningsvloeistof op die totale lewensvatbare gisseltelling van aktiewe droë brouersgis	18
2.5.3 Resultate en gevolgtrekking	18
2.6 Bespreking	19

HOOFSTUK III

DIE TEL VAN DIE TOTALE AANTAL GISSELLE EN TOTALE AANTAL LEWENSVATBARE GISSELLE IN AKTIEWE DROË BROUERSGIS	21
3.1 Inleiding	21
3.2 Die tel van die totale aantal gisselle in aktiewe droë brouersgis	21
3.2.1 Inleiding	21
3.2.2 Ondersoek na die moontlikheid om die Coulter telapparaat te gebruik om die totale aantal gisselle in aktiewe droë brouersgis te tel	21
3.2.3 Telling van die aantal gisselle in aktiewe droë brouersgis	26
3.2.4 Resultate en gevolgtrekking	26
3.3 Die telling van die totale aantal lewensvat- bare gisselle in aktiewe droë brouersgis	27
3.3.1 Inleiding	27
3.3.2 Telling van die totale aantal lewens- vatbare gisselle in aktiewe droë brouers- gis	27
3.3.3 Resultate en gevolgtrekking	30

HOOFSTUK IV

ONDERSOEK NA DIE KONTAMINERENDE MIKRO-ORGANISMES IN AKTIEWE DROË BROUERSGIS	32
4.1 Inleiding	32
4.2 Die telling van die totale aantal lewensvat- bare „nie-kultuur" giste en skimmels in aktiewe droë brouersgis	33
4.2.1 Inleiding	33
4.2.2 Bepaling van die aantal lewensvatbare „nie-kultuur" gisselle en skimmels in aktiewe droë brouersgis	35

	<u>Bladsy</u>
4.2.3 Resultate en gevolgtrekking	35
4.3 Die telling van die totale aantal lewensvatbare bakterieë in aktiewe droë brouersgis	36
4.3.1 Inleiding	36
4.3.2 Bepaling van die aantal lewensvatbare bakterieë in aktiewe droë brouersgis	38
4.3.3 Resultate en gevolgtrekking	38
4.4 Die telling van die totale aantal suurbestande bakterieë in aktiewe droë brouersgis	38
4.4.1 Inleiding	38
4.4.2 Bepaling van die aantal suurbestande bakterieë en melksuurbakterieë in aktiewe droë brouersgis	41
4.4.3 Resultate en gevolgtrekking	42
4.5 Die teenwoordigheid van <u>Escherichia coli</u> tipe I in aktiewe droë brouersgis	43
4.5.1 Inleiding	43
4.5.2 Bepaling van <u>E. coli</u> tipe I in aktiewe droë brouersgis	43
4.5.3 Resultate	47
4.6 Die teenwoordigheid van asynsuurbakterieë in aktiewe droë brouersgis	47
4.6.1 Inleiding	47
4.6.2 Bepaling van asynsuurbakterieë in aktiewe droë brouersgis	48
4.6.3 Resultate	49

HOOFSTUK V

DIE GISTINGSTEMPO VAN AKTIEWE DROË BROUERSGIS	50
5.1 Inleiding	50
5.2 Die bepaling van die gistingstempo van aktiewe droë brouersgis	53
5.2.1 Apparaat	53
5.2.2 Faktore wat die bepaling van die gistingstempo van aktiewe droë brouersgis beïnvloed	54

	<u>Bladsy</u>	
5.2.2.1	Inleiding	54
5.2.2.2	'n Standaard gistingssubstraat vir die bepaling van die gistingstempo van aktiewe droë brouersgis	54
	a. Inleiding	54
	b. Metode gevolg om 'n geskikte standaard gisting-substraat te vind	57
	c. Resultate en gevolgtrekking	58
5.2.2.3	Die invloed van verskillende hoeveelhede gistingssubstraat	61
	a. Inleiding	61
	b. Eksperimentele metode	61
	c. Resultate en gevolgtrekking	61
5.2.2.4	Die invloed om verskillende hoeveelhede aktiewe droë brouersgis	61
	a. Eksperimentele metode	61
	b. Resultate en gevolgtrekking	63
5.2.2.5	Die invloed van die spoed waarmee die magnetiese roerstafie in die gistingssubstraat roteer	63
	a. Inleiding	63
	b. Bepaling van die invloed van die spoed waarmee die magnetiese roerstafie in die gistingssubstraat roteer	63
	c. Resultate en gevolgtrekking	63
5.2.2.6	Die invloed van kooldioksiedgas-spoeling	65
	a. Inleiding	65
	b. Bepaling van die invloed van kooldioksiedgasspoeling	65
	c. Resultate en gevolgtrekking	65
5.2.2.7	Die invloed van skuimvorming	68
	a. Inleiding	68
	b. Bepaling van die invloed van skuimvorming	68
	c. Resultate en gevolgtrekking	68

5.2.3	Bepaling van die gistingstempo van aktiewe droë brouersgis	68
5.2.4	Die berekening van die gistingstempo van aktiewe droë brouersgis	71
5.2.4.1	Berekeningsmetode	71
5.2.4.2	Resultate en gevolgtrekking	73

HOOFSTUK VI

	DIE INVLOED VAN DIE TEMPERATUUR VAN DIE REHIDRASIE-VLOEISTOF OP DIE GISTINGSTEMPO VAN AKTIEWE DROË BROUERSGIS	76
6.1	Inleiding	76
6.2	Bepaling van die invloed van die temperatuur van die rehidrasievloeistof op die gistingstempo van aktiewe droë brouersgis	76
6.3	Resultate en gevolgtrekking	77

HOOFSTUK VII

	DIE VOG-, AS- EN STIKSTOFINHOUD VAN AKTIEWE DROË BROUERSGIS	79
7.1	Die vog- en asinhoud van aktiewe droë brouersgis	79
7.1.1	Inleiding	79
7.1.2	Bepaling van die vog- en asinhoud van aktiewe droë brouersgis	80
7.2	Die stikstofinhoud	80
7.2.1	Inleiding	80
7.2.2	Bepaling van die stikstofinhoud van aktiewe droë brouersgis	80
7.3	Resultate en gevolgtrekking	81

HOOFSTUK VIII

DIE VERBAND TUSSEN DIE VOG-, AS-, STIKSTOFINHOUD, TOTALE AANTAL LEWENSVATBARE GISSELLE EN DIE GISTINGS- TEMPO VAN AKTIEWE DROE BROUERSGIS	83
---	----

HOOFSTUK IX

BESPREKING	87
VERWYSINGS	90

OPSOMMING

Hierdie ondersoek was onderneem om die gehalte van aktiewe droë brouersgis, wat in Suid-Afrika bemark word, na te gaan.

Die invloed van verskeie faktore op die totale lewensvatbare gisseltelling en totale lewensvatbare „nie-kultuur” gisseltelling van aktiewe droë brouersgis is bepaal. Dit is gevind dat 99 ml fisiologiese soutoplossing, by 42°C, die geskikste rehidrasievloeistof vir aktiewe droë brouersgis is. Dit word aangetoon dat die totale lewensvatbare gisseltelling toeneem hoe langer die aktiewe droë brouersgissuspensie by temperature net laer as 42°C gehou word. Die temperatuur van die sekondêre verdunningsvloeistof beïnvloed nie die totale aantal lewensvatbare gisseltelling nie.

Dit is gevind dat terwyl die totale gisseltelling per gram aktiewe droë gis, soos met 'n Coulter telapparaat bepaal, tussen $21,8 \times 10^9$ en $52,8 \times 10^9$ gevarieer het, het die totale lewensvatbare gisseltelling tussen $19,3 \times 10^9$ en $39,8 \times 10^9$ gevarieer. Die totale „nie-kultuur” gisseltelling per gram aktiewe droë brouersgis het tussen $11,7 \times 10^2$ en $90,2 \times 10^5$ gevarieer.

Die totale lewensvatbare bakterietelling per gram aktiewe droë gis het tussen $30,0 \times 10^2$ en $12,9 \times 10^8$ gevarieer terwyl die totale suurbestande bakterietelling tussen 0 en $83,4 \times 10^7$ gevarieer het.

Geeneen van die aktiewe droë gismonsters wat ondersoek is, het Escherichia coli tipe I of asynsuurbakterieë bevat nie.

Om 'n aanduiding van die aktiwiteit van aktiewe droë brouersgis te kry, is die gistingstempo daarvan bepaal. Dit is gevind dat hierdie eienskap baie van monster tot monster varieer.

Die gistingstempo van aktiewe droë brouersgis is verhoog deur dit by 42°C te rehidreer.

Dit word aangedui dat daar geen verband tussen die vog-, as-, stikstofinhoud, totale lewensvatbare gisseltelling en die gistingstempo van aktiewe droë brouersgis bestaan nie.

Op grond van die verkreë resultate is tot die gevolgtrekking gekom dat die samestelling van aktiewe droë brouersgis, soos dit die verbruiker bereik, baie varieer.

SUMMARY

This investigation was undertaken to determine the quality of active dry yeast as it is produced in South Africa.

The influence of various factors on the total viable yeast cell count and on the total viable "non-culture" yeast cell count of active dry yeast was determined. It was found that 99 ml of physiological saline at 42°C is the most suitable rehydrating agent for active dry yeast. At temperatures just below 42°C the total viable yeast cell count and total viable "non-culture" yeast cell count increased with the passage of time. The temperature of the liquid used for the subsequent dilutions did not influence the viable yeast cell counts.

The total yeast cell count per gram of active dry yeast, as determined with a Coulter Counter, varied between $21,8 \times 10^9$ and $52,8 \times 10^9$ while the total viable yeast cell count varied between $19,3 \times 10^9$ and $39,8 \times 10^9$. The total viable "non-culture" yeast cell count per gram active dry yeast varied between $11,7 \times 10^2$ and $90,2 \times 10^5$.

While the total viable bacteria count per gram of active dry yeast varied between $30,0 \times 10^2$ and $12,9 \times 10^8$ the total viable acid resistant bacteria count varied between 0 and $83,4 \times 10^7$.

None of the active dry yeast samples analysed contained either Escherichia coli type I or acetic acid bacteria.

In order to obtain an indication of the activity of active dry yeast its fermentation rate was determined. Fermentation rates varied from sample to sample.

The fermentation rate of active dry yeast increased when it was rehydrated at 42°C.

No correlation between the moisture, ash, nitrogen content, total viable yeast cell count and fermentation rate of active dry yeast exists.

From the results obtained it was concluded that the composition of active dry yeast as produced in South Africa varies considerably.

HOOFSTUK I

INLEIDING

1.1 Algemeen

Bantoebier is die tradisionele drank van die Bantoe in Suid-Afrika. As 'n gefermenteerde, alkoholiese drank, wat van graanprodukte gemaak word, het bantoebier 'n bruin-pienk kleur en 'n suur smaak. As gevolg van die hoë konsentrasie van gesuspendeerde vaste stowwe en gisselle is dit ondeursigtig. In Suid-Afrika word bantoebier van gemoute graansorghum (kafferkoring) en 'n stysel toevoegsel, bestaande uit graansorghum of mielies, berei. Dit word normaalweg in 'n aktiewe fermenterende toestand gedrink (Novellie, 1968).

Met die migrasie van die Bantoe na die Suid-Afrikaanse stedelike gebiede oor die afgelope dekades het 'n steeds toenemende aanvraag na hul tradisionele drank, naamlik bantoebier, ontstaan. Om in hierdie groot aanvraag te voorsien is tot die bereiding van bantoebier op nywerheidskaal oorgegaan en gevolglik het 'n unieke, lokale gistingsindustrie tot stand gekom. Die bantoebierbedryf is tans die enigste groot, moderne industrie wat op die tradisie van bantoeestamme gefundeer is. Hierdie industrie word byna uitsluitlik deur munisipale outoriteite beheer. Volgens wetgewing word alle winste tot voordeel van die Bantoebevolking aangewend (Novellie, 1968).

Die bantoebierindustrie is ook 'n groot verbruiker van gis. In teenstelling met Europese bier word die gisselle nooit uit die bier herwin nie. In die boekjaar 1969/1970 is 619 773 Kg gis, in 'n aktiewe droë vorm, vir die brou van bantoebier gebruik.

1.2 Die brou van bantoebier

Die bereiding van bantoebier berus op twee mikrobiële omsettings, naamlik 'n melksuurfermentasie en 'n alkoholiese fermentasie.

Die melksuurfermentasie is die eerste fermentasie wat tydens die brou van bantoebier plaasvind. 'n Beslag van 10% (g/v) graansorghummout in water word vir agt tot 16 uur by 48°C tot 50°C gehou, waartydens 'n melksuurfermentasie plaasvind hoofsaaklik as gevolg van die ontwikkeling van die termofiele melksuurbakterieë, onder andere Lactobacillus leichmannii Bergey et al. en L. delbrueckii (Leichmann) Beijerinck. Hierdie bakterieë kom normaalweg op graansorghummout voor. Alhoewel die moontlikheid van verskaffing van reinkulture van melksuurbakterieë aan die industrie tans ondersoek word, het die stap nog nie grootskaalse toepassing gevind nie. Ongeveer 10% (v/v) van elke suursel word in die suurseltenk agtergehou om as inokulum vir die volgende beslag te dien. Aan die einde van die melksuurfermentasie het die beslag gewoonlik 'n pH 3,0 - 3,3, terwyl die melksuurinhoud tussen 0,3% en 1,6% varieer. Die finale pH van die beslag word deur die hoeveelheid suur wat geproduseer is en die bufferkapasiteit van die sorghummout bepaal (Novellie, 1968).

Die versuurde beslag word vervolgens na 'n volgende tenk oorgeplaas waar dit met ongeveer twee volumes water verdun word. By die mengsel word ook mieliegruis of graansorghum gevoeg. Die mengsel word dan vir 'n tydperk van twee uur gekook waartydens die meeste van die stysel gelatiniseer. As gevolg van die byvoeging van water en mieliegruis word die pH van die mengsel na ongeveer 3,7 tot 4,0 verhoog (Novellie, 1966). Die dik, suur beslag wat so verkry word, word na 60°C afgekoel. Wanneer die temperatuur van die beslag 60°C bereik het, word graansorghummout (die sogenaamde omkeringsmout) daarby gevoeg. Die temperatuur van die beslag word vir een en 'n half uur tot

twee uur by 60°C gehou waartydens stysel deur die moutamilases gehidroliseer word.

Die beslag word vervolgens na 30°C afgekoel en met aktiewe, droë brouersgis (ADG) geïnkuleer. Hierdie ADG word plaaslik van geselekteerde, bogistende stamme van Saccharomyces cerevisiae Hansen vervaardig. Die beslag word óf direk met ADG óf met ADG wat vooraf in water of beslag, by 35°C tot 40°C, gesuspendeer is, geïnkuleer. Die gisselle vorm 'n integrale deel van die bantoebier en word nie weer uit die bier herwin nie (Novellie, 1968).

Die geïnkuleerde beslag word vervolgens gefiltreer waartydens die growwer deeltjies, hoofsaaklik die sorghumdoppe, verwyder word. Die gefiltreerde beslag word na fermentasietenks oorgeplaas en vir agt tot 24 uur by 30°C gehou, waartydens die alkoholiese gisting plaasvind (Novellie, 1968).

Bantoebier word óf as vatbier óf in verpakkings verkoop. In geval van verpakte bier word die gefiltreerde beslag, kort na inokulasie, in plastiek - of kartonhouers gevoeg en by 'n laer temperatuur gehou sodat dit die verbruiker in 'n aktiewe gistende toestand bereik (Novellie, 1968).

1.3 Probleemstelling

Die brou van bantoebier verskil onder andere van die brou van Europese bier daarin dat die bantoebierbeslag, nadat dit na 60°C afgekoel het, nie weer aan hittebehandeling onderwerp word nie. Die rede hiervoor is dat die bantoebierbeslag 'n groot hoeveelheid ongegelatiniseerde moutstysel bevat wat met hoë temperatuurbehandeling sal gelatiniseer en die bantoebierbeslag tot 'n ongewenste graad sal verdik (Novellie, 1966a). Alhoewel α - en β -amilases die inaktiverende invloed van die lae pH en die temperatuur van 60°C tot 'n sekere mate kan weerstaan, is die ensieme nie in staat om die moutstysel, wat by hoë temperature gegelatiniseer is, af te bou nie. Die huidige brouproses is gevolglik nie daarop ingestel om die beslag te kook of selfs te pasteuriseer nie.

'n Groot verskeidenheid van ongewenste mikro-organismes is op die omkeringsmout teenwoordig. Baie min van hierdie ongewenste mikro-organismes word deur verhitting gedurende omsetting geïnaktiveer (van Kerken, 1968). Omdat die beslag nie gepasteuriseer word nie, word die ontwikkeling van die ongewenste mikro-organismes slegs beheer deur die pH van die beslag so laag as moontlik te hou. Om die groei van ongewenste mikro-organismes in die beslag verder te onderdruk en die hou vermoë van die bantobier te verseker, beveel Novellie (1966) aan dat die beslag so gou moontlik met 'n groot hoeveelheid aktiewe gis geïnkuleer moet word.

Dit kan aanvaar word dat die versuurde beslag, nadat dit vir twee uur gekook is, prakties steriel is. Swak versuring tydens die melksuurfermentasie met 'n ontoereikende verlaging van die pH van die beslag word as die algemene oorsaak vir die swak hou vermoë van bantobier aangevoer (Novellie, 1966). Afgesien van swak versuring word die hou vermoë van bantobier verder beïnvloed deur die lading mikro-organismes wat in die prakties steriele versuurde beslag ingevoer word.

Die versuurde bantobierbeslag kan dus op die volgende maniere met mikro-organismes besmet raak:

- a. Besmetting as gevolg van die toevoeging van onsteriele omkeringsmout.
- b. Besmetting as gevolg van onsteriele toerusting waarmee die beslag in aanraking kom.
- c. Toevallige besmetting vanuit die lug.
- d. Moontlike besmetting deur die toevoeging van ADG.

ADG van hoë gehalte, ten opsigte van vergistingsvermoë en besmetting met ongewenste mikro-organismes, word dus eender syds gebruik om die alkoholiese vergisting tydens bantobierbereiding binne 'n bepaalde tyd bevredigend uit te voer en

andersynds om die groei van ongewenste mikro-organismes te onderdruk.

Wat betref die gehalte van die aktiewe droë brouersgis wat in Suid-Afrika geproduseer word, sowel as metodes om die gehalte te bepaal, is egter nie veel bekend nie. Hierdie studie is gevolglik onderneem om betroubare metodes te vind om die gehalte van ADG, wat vir die brou van bantoebier gebruik word, te bepaal. Indien die gehalte van ADG bekend is, kan die brou van bantoebier beter beheer word met die gevolg dat 'n beter produk gelewer kan word.

1.4 Die bereiding van ADG

ADG wat vir die brou van bantoebier gebruik word, word industrieel vanaf geselekteerde bogistende S. cerevisiae stamme geproduseer (Novellie, 1968). Groot hoeveelheid melasse-propageermedium word met 'n gisinokulum, wat deur verskeie kultuurstadia vermeerder is, geïnokuleer. Tydens die groot-skaalse assimilasië word die temperatuur op 30°C gehou terwyl die medium hewig belug word.

Die gisselle word na 'n bepaalde tyd van propagering deur sentrifugale skeiers van die medium geskei en 'n „gisroom" word verkry. Die „gisroom" word saamgepers totdat dit 'n voginhoud van ongeveer 68% tot 70% het. Die „giskoek" wat so verkry word, word deur 'n geperforeerde metaalplaat gepers sodat silindriese vorms van die „giskoek" vorm. Die silindriese vorms word in kleiner deeltjies opgebreek en na 'n geperforeerde vlekvrystaalrollerband oorgeplaas waar dit gedroog word deur warm, vogtige lug deur die stapel te stuur. Om die aktiwiteit van die gis te behou moet die kondisies waaronder die gis gedroog word, gematig wees. Die warm lugtemperatuur varieer tussen 24°C en 43°C terwyl die lugvogtigheid so beheer word dat die vogtigheid van die ADG by 8% sal ekwilibreer. Die finale produk bestaan uit bruin-gekleurde, ongelyke silindriese vorms wat ongeveer 0,2 cm tot 1 cm lank is.

ADG kan die gehalte en brou van bantoebier veral op twee maniere nadelig beïnvloed naamlik deurdat dit die beslag óf met ongewenste mikro-organismes besmet, óf onbevredigend fermenteer. Gevolglik is die gehalte van ADG ten opsigte van hierdie twee eienskappe bepaal. ADG monsters is gereeld van die verskillende produsente ontvang en vir die volgende eienskappe ondersoek:

- a. Totale aantal gisselle.
- b. Totale aantal lewensvatbare gisselle.
- c. Totale aantal lewensvatbare „nie-kultuur” gisselle.
- d. Totale aantal lewensvatbare bakterieë.
- e. Totale aantal lewensvatbare suurbestande bakterieë.
- f. Teenwoordigheid van Escherichia coli (Migula) Castellani et Chalmers tipe I.
- g. Teenwoordigheid van asynsuurbakterieë.
- h. Die vog-, as- en stikstofinhoud.
- i. Die gistingstempo.

HOOFTUK II

DIE INVLOED VAN VERSKEIE FAKTORE OP DIE TELLING VAN DIE AANTAL LEWENSVATBARE GISSELLE EN „NIE-KULTUUR“ GISSELLE IN AKTIEWE DROË BROUERSGIS

2.1 Die invloed van die temperatuur van die rehidrasie vloeistof

2.1.1 Inleiding

'n Belangrike maatstaf vir die beoordeling van die kwaliteit van 'n gispreparaat is die persentasie lewensvatbare gisselle wat daarin teenwoordig is. Die bepaling hiervan berus op die konvensionele verdunnings- en uitplatingstegniek.

Dit is reeds bekend dat die gisselle van aktiewe droë bakkersgis (ADBG) sensitief is teenoor die temperatuur van die vloeistof waarin dit gerehidreer word. Peppler en Rudert (1953) het deur middel van plaattellings en kleurings-tegnieke aangetoon dat wanneer ADBG in vloeistof by 5°C tot 10°C gerehidreer word ongeveer een derde van die aktiewe gisselle in ADBG geïnaktiveer word.

Ongeveer 95% meer gisselle, soos deur middel van plaattellings bepaal, is geïnaktiveer wanneer ADBG by 4,5°C gerehidreer word, as wanneer ADBG by 37°C gerehidreer word. Dit word voorgestel dat die groter aantal lewensvatbare gisselle gekry word as gevolg van 'n sogenaamde skokeffek wat die hoër temperatuur van die rehidrasievloeistof op die gisselle in ADBG het (Sant & Peterson, 1958).

Die nadelige invloed wat die lae temperatuur van die rehidrasievloeistof op die lewensvatbaarheid van die gisselle

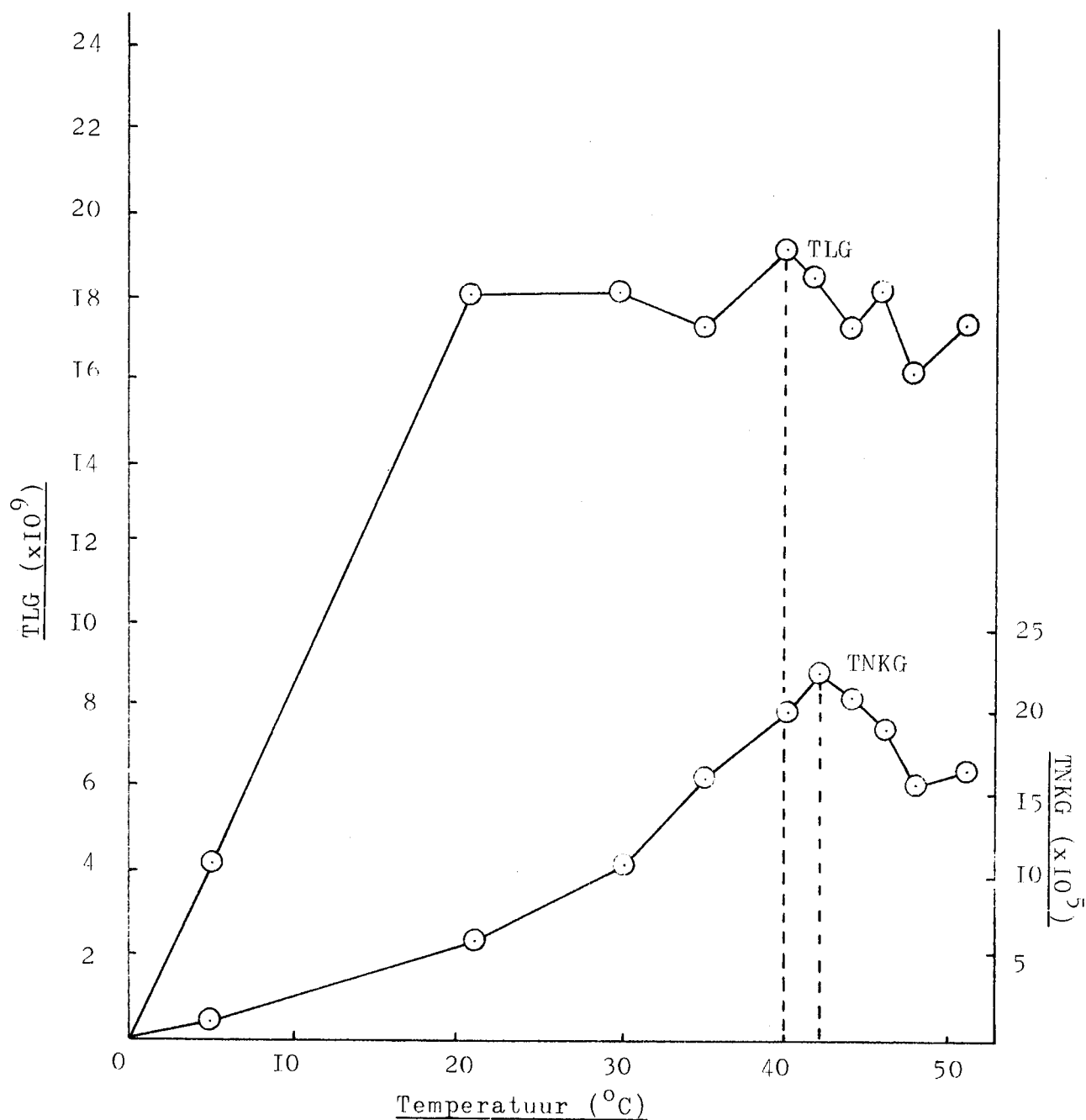
in ADBG het, kan toegeskryf word aan die feit dat groter hoeveelhede intrasellulêre vaste stowwe by lae temperature, naamlik 5°C tot 10°C, uit die gisselle geëkstrareer word as wat by hoër temperature die geval is (Herrera, Peterson, Cooper & Peppler, 1956). Chen, Cooper en Gutmanis (1966) het gevind dat die mate van die invloed wat die temperatuur van die rehidrasievloeistof op die lewensvatbaarheid van die gisselle in ADBG het ook deur die voginhoud van die ADBG bepaal word. Ekstrahering van die vaste stowwe uit die gisselle in ADBG word progressief meer soos die voginhoud van die ADBG onder 8% daal.

2.1.2 Bepaling van die invloed van die rehidrasievloeistof by verskillende temperature op die totale aantal lewensvatbare gisseltelling en totale aantal lewensvatbare „nie-kultuur” gisseltelling van ADG

Steriele, 99 ml hoeveelhede van 'n fisiologiese soutoplossing [0,85% (g/v) natriumchloried] is in skroefdekselbottels gevoeg en vir een uur 'n waterbad by 'n bepaalde temperatuur gehou om te ekwilibreer. Een gram hoeveelhede van dieselfde ADG monster is asepties afgeweeg en by die 99 ml hoeveelhede fisiologiese soutoplossing, wat by die verskillende temperature geëkwilibreer is, gevoeg. Die ADG suspensies is behandel soos in 3.3.2 bespreek, op die konvensionele wyse verdun, en die totale aantal lewensvatbare gisselle (TLG) en totale aantal lewensvatbare „nie-kultuur” gisselle (TNKG) in elke gissuspensie is soos in 3.3.2 en 4.2.2 aangegee, bepaal. Alle bepalinge is in sesvoud gedoen. Die resultate van die proef word in Figuur 1 aangegee.

2.1.3 Resultate en gevolgtrekking

Die TLG en TNKG tellings van 'n ADG monster word opvallend deur die temperatuur van die vloeistof, waarmee dit gerehidreer word, beïnvloed (Figuur 1). Hierdie verskynsel is in ooreenstemming met wat deur Peppler en Rudert (1953) en Sant en Peterson (1958) vir ADBG gekry is.



FIGUUR I

Die invloed van die temperatuur van die rehidrasievloeistof op die totale lewensvatbare gisseltelling (TLG) en totale lewensvatbare "nie-kultuur" gisseltelling (TNKG) in een gram ADG

Die hoogste TLG en TNKG telling word verkry wanneer die ADG by 40°C tot 42°C gerehidreer word. Terwyl die TLG tellings van monsters wat by kamertemperatuur gerehidreer is slegs met 2% van die telling by 42°C verskil, verskil die TNKG telling met meer as 70%.

2.2 Die invloed van verskillende rehidrasievloeistowwe by verskillende temperature

2.2.1 Inleiding

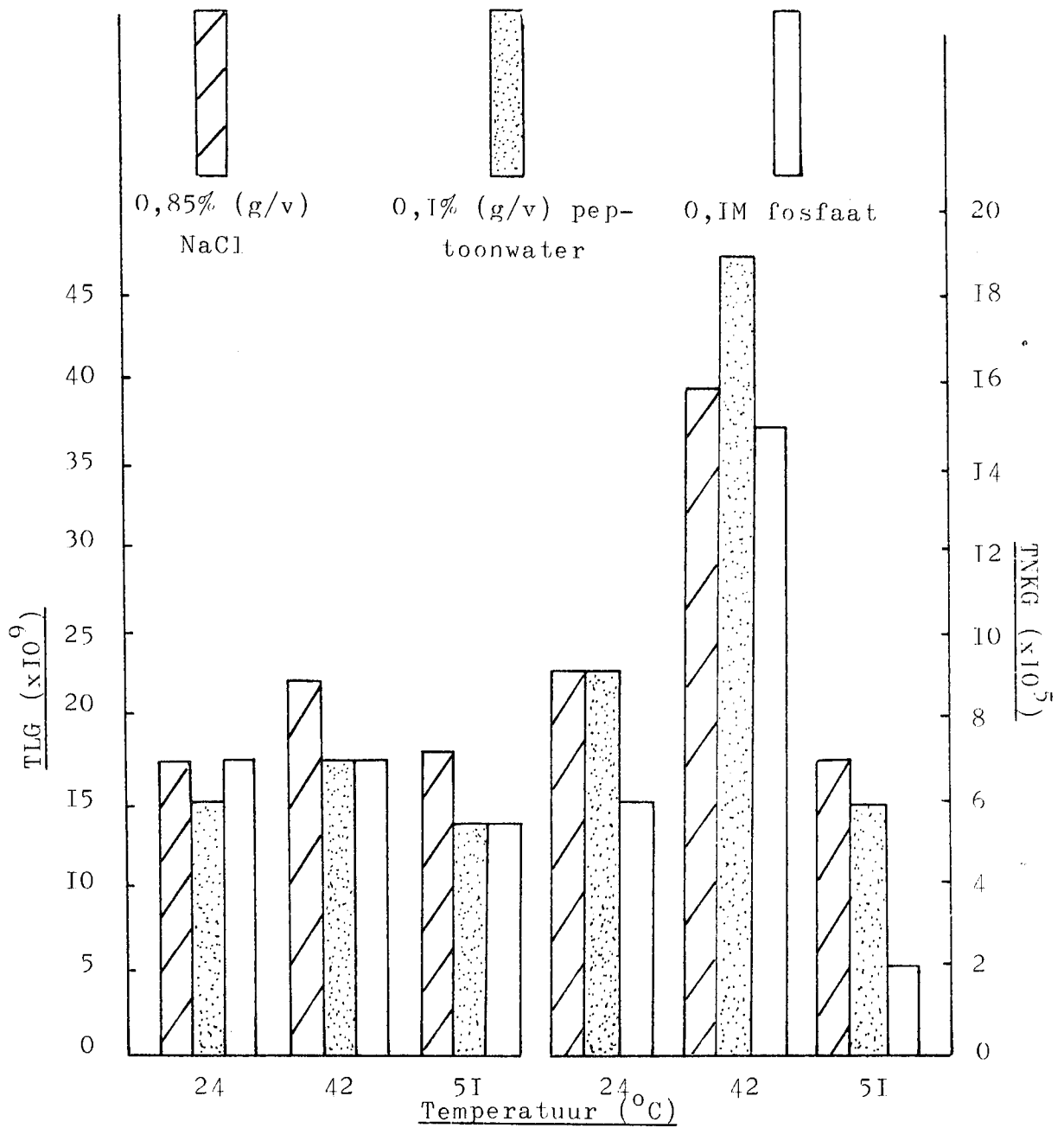
Peppler en Rudert (1953) het gevind dat in die geval van ADBG meer lewende gisselle volgens die plaattelling aangetoon is wanneer 0,1 M fosfaatbuffer by pH 7,0 as rehidrasievloeistof gebruik is, as wanneer kraanwater by pH 5,5 as rehidrasievloeistof gebruik is. Wat die invloed van verskillende rehidrasievloeistowwe by verskillende temperature op die TLG en TNKG in ADG is, is nie bekend nie en is gevolglik nagegaan.

2.2.2 Die bepaling van die invloed van verskillende rehidrasievloeistowwe by verskillende temperature op die TLG en TNKG tellings van ADG

Steriele, 99 ml hoeveelhede van verskillende rehidrasievloeistowwe, naamlik 0,1% (g/v) peptonwater, fisiologiese soutoplossing en 0,1 M fosfaatbuffer by pH 7,0 is by verskillende temperature geëkwilibreer. By elk van die geëkwilibreerde 99 ml hoeveelhede rehidrasievloeistof is 1 g hoeveelhede van dieselfde ADG monster gevoeg en verder verwerk soos in 3.3.2 bespreek. Die TLG en TNKG telling van elke ADG suspensie is volgens die metodes, soos in 3.3.2 en 4.2.2 bespreek, bepaal. Alle bepalings is in triplikaat gedoen. Die resultate word in Figuur 2 weergegee.

2.2.3 Resultate en gevolgtrekking

In ooreenstemming met wat deur Peppler en Rudert (1953) vir



FIGUUR 2

Die invloed van verskillende rehidrasievloeistowwe by verskil-
lende temperature op die totale lewensvatbare gisseltelling
(TLG) en totale lewensvatbare "nie-kultuur" gisseltelling (TNKG)
in een gram ADG

ADBG gekry is, is dit ook gevind dat die TLG en TNKG tellings van 'n ADG monster deur die samestelling van die vloeistof, wat gebruik word om die ADG monster te rehidreer, beïnvloed word. Die hoogste TLG telling is verkry wanneer die ADG monster met fisiologiese soutoplossing gerehidreer is terwyl die hoogste TNKG telling gekry is wanneer 'n ADG monster met 0,1% (g/v) peptonwater, gerehidreer is (Figuur 2).

2.3 Die invloed van die hou van ADG suspensies vir verskillende tydsperiodes by 42°C

2.3.1 Inleiding

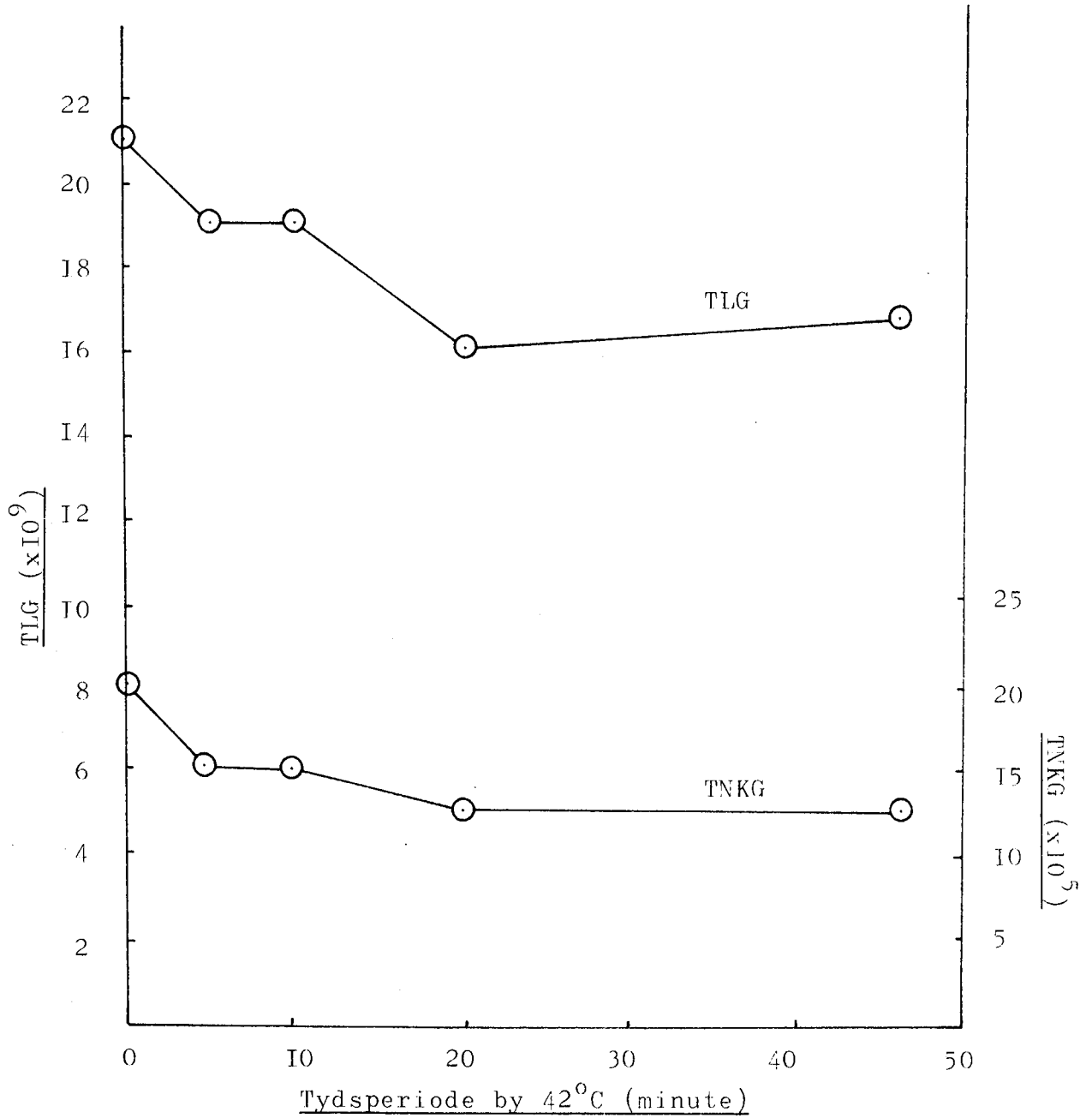
Peppler en Rudert (1953) het aangetoon dat die lewensvatbare gisselle in ADBG toeneem hoe langer die ADBG suspensie by 43°C, asook by temperature effens laer as hierdie temperatuur, gehou is. By temperature bo 43°C het die lewensvatbare gisseltelling afgeneem hoe langer die ADBG suspensie by dié bepaalde temperature gehou is.

2.3.2 Die bepaling van die invloed van die hou van 'n ADG suspensie vir verskillende tydsperiodes by 42°C op die TLG en TNKG tellings

'n Suspensie van 1 g ADG in 99 ml fisiologiese soutoplossing, wat vooraf by 42°C geëkwilibreer is, is berei. Hierdie suspensie is in 'n waterbad by 42°C gehou. Monsters van die suspensie is op verskillende tydsintervalle geneem en die TLG en TNKG tellings is soos reeds bespreek bepaal. Alle bepalings is in triplikaat gedoen. Die resultate word in Figuur 3 verstrekk.

2.3.3 Resultate en gevolgtrekking

Die TLG en TNKG tellings daal hoe langer die ADG suspensie by 42°C gehou word (Figuur 3). Na 20 tot 50 minute by 42°C het



FIGUUR 3

Die invloed van die hou van 'n ADG suspensie vir verskillende tydsperiodes by 42°C op die totale lewensvatbare gisseltelling (TLG) en totale lewensvatbare "nie-kultuur" gisseltelling (TNKG)

die TLG telling met ongeveer 19% gedaal terwyl die TNKG telling met 37% afgeneem het. Hierdie daling in TLG en TNKG telling kan toegeskryf word aan die inaktivering van die lewensvatbare gisselle wanneer dit by 42°C gehou word. Soos deur Sant en Peterson (1958) voorgestel blyk dit dus dat slegs 'n temperatuurskok nodig is om gisselle in ADG lewensvatbaar te maak.

2.4 Die invloed van verskillende hoeveelhede rehidrasievloeistof by 42°C

2.4.1 Inleiding

Deur middel van plaattellings en kleuringstegnieke is gevind dat die grootste aantal lewensvatbare gisselle in ADBG verkry word indien dit in kraanwater by 43°C gesuspendeer word en 15 minute by die temperatuur gehou word. By temperature effens laer as 43°C het die TLG telling toegeneem hoe langer die ADBG suspensie by die bepaalde temperatuur gehou is. Hoe langer die ADBG suspensie by temperature bo 43°C gehou is, hoe meer het die TLG telling afgeneem (Peppler & Rudert, 1953).

Wanneer een gram ADG by 99 ml fisiologiese soutoplossing, wat by 42°C geëkwilibreer is en by 9 ml fisiologiese soutoplossing wat ook by 42°C geëkwilibreer is, gevoeg word, is die afname in temperatuur verskillend. Dit is nie bekend of hierdie verskil in die afname in temperatuur die TLG en die TNKG telling van ADG sal beïnvloed nie. Hierdie moontlikheid is gevolglik nagegaan.

2.4.2 Bepaling van die invloed van verskillende hoeveelhede rehidrasievloeistof by 42°C op die TLG en TNKG telling van ADG

Steriele 99 ml en 9 ml hoeveelhede fisiologiese soutoplossing is vooraf in steriele houers gevoeg en met steriele rubberproppe

verseël. Die eindpunte van 'n termokoppel is in hierdie fisiologiese soutoplossings geplaas. Die oplossings is in 'n waterbad by 42°C geplaas en by hierdie temperatuur geëkwilibreer. Een gram hoeveelhede van dieselfde ADG monster is daarna by die verskillende hoeveelhede geëkwilibreerde fisiologiese soutoplossings gevoeg, goed geskud en daarna in die skudapparaat soos in 3.3.2 bespreek, behandel.

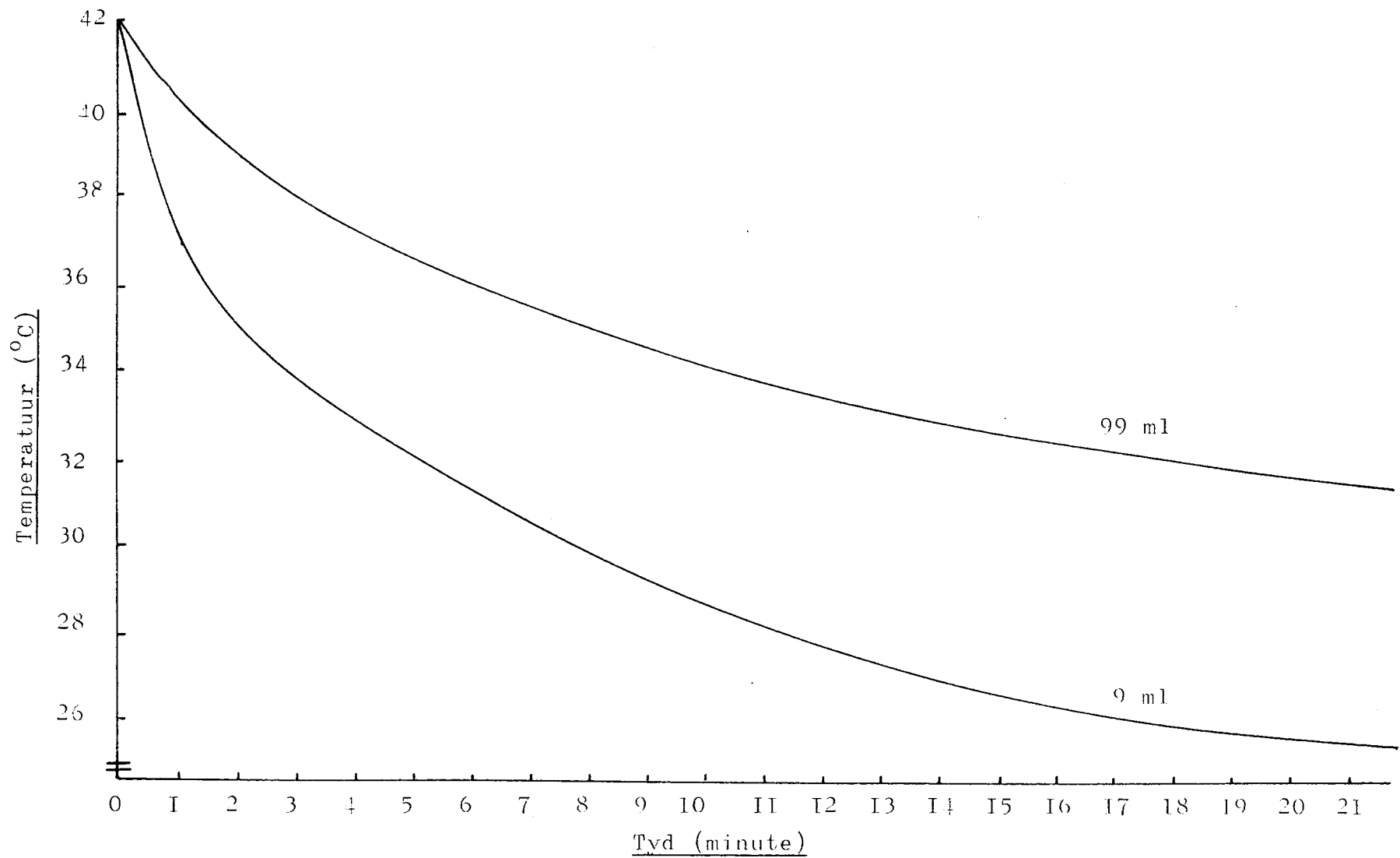
Gedurende hierdie rehidrasieproses is die verandering in temperatuur wat in die ADG suspensies plaasgevind het met behulp van die termokoppel bepaal. Lesings van die temperatuursverandering is elke $\frac{1}{5}$ van 'n sekonde, oor 'n tydperiode van 30 minute, geneem. Hierdie temperatuursverandering word in Figuur 4 aangetoon.

Die TLG en TNKG telling van elke ADG suspensie is daarna, soos in 3.3.2 en 4.2.2 bespreek, bepaal. Alle bepaling is in vyfvoud gedoen. Die resultate word in Tabel 1 aangedui.

2.4.3 Resultate en gevolgtrekking

Die afname in temperatuur wanneer 99 ml fisiologiese soutoplossing as rehidrasievloeistof gebruik word, verskil van die afname in temperatuur wanneer 9 ml fisiologiese soutoplossing as rehidrasievloeistof gebruik word (Figuur 4). Hieruit blyk dit dat die ADG monster wat met 99 ml fisiologiese soutoplossing gerehidreer is langer by temperature net onder 42°C was as wanneer 9 ml fisiologiese soutoplossing as rehidrasievloeistof gebruik is.

Die TLG en TNKG tellings van die ADG monster was 11% hoër wanneer 99 ml fisiologiese soutoplossing as rehidrasievloeistof gebruik word as wanneer 9 ml fisiologiese soutoplossing as rehidrasievloeistof gebruik is (Tabel 1). Dit blyk dus dat hoër TLG en TNKG tellings verkry word hoe langer 'n ADG suspensie net onder 42°C gehou word.



FIGUUR 4

Verandering in temperatuur wanneer 99 ml en 9 ml fisiologiese soutoplossing as rehidrasievloeistof vir een gram ADG gebruik word

TABEL 1

Die TLG en TNKG tellings van 'n ADG monster nadat dit met verskillende hoeveelhede fisiologiese soutoplossing by 42°C gerehidreer is

Hoeveelheid rehidrasievloeistof	TLG telling/g (x10 ⁹)	TNKG telling/g (x10 ⁵)
99 ml	29,0	90,2
9 ml	26,1	81,1

Hierdie resultate is in ooreenstemming met wat deur Pepler en Rudert (1953) en Herrera et al. (1956) vir ADBG gekry is. Na aanleiding van Herrera et al. (1956) is die rede hiervoor dat die selwande van die gisselle by hoër temperature vinniger herstel as by laer temperature sodat minder intrasellulêre stowwe tydens die eersgenoemde geval uit die gisselle uitlek met die gevolg dat meer lewensvatbare gisselle in hierdie suspensie teenwoordig is.

Om die aantal lewensvatbare mikro-organismes wat in ADG teenwoordig is, te bepaal, is dit dus nodig dat die ADG monster 'n gestandaardiseerde rehidrasie hittebehandeling moet ondergaan. Dit kan gedoen word deur die ADG suspensie vir 'n bepaalde tydperiode in 'n waterbad by 'n bepaalde temperatuur (laer as die optimale rehidrasietemperatuur) te hou, of om deurentyd 'n standaard hoeveelheid rehidrasievloeistof by 'n bepaalde temperatuur te gebruik. Gevolglik is 99 ml fisiologiese soutoplossing, wat by 42°C geëkwilibreer is, deurentyd as rehidrasievloeistof gebruik en is die ADG suspensie soos in 3.3.2 bespreek, behandel.

2.5 Die invloed van die temperatuur van die sekondêre verdunningsvloeistof

2.5.1 Inleiding

Die TLG telling van ADBG word slegs deur die temperatuur van die oorspronklike rehidrasievloeistof bepaal en die temperatuur van die sekondêre verdunningsvloeistof het weinig invloed daarop (Sant & Peterson, 1958).

2.5.2 Die bepaling van die invloed van die temperatuur van die sekondêre verdunningsvloeistof op die TLG van ADG

Een gram ADG is by 99 ml steriele fisiologiese soutoplossing by 21°C gevoeg. Die suspensie is soos vooraf bespreek gesuspendeer. Die TLG telling van die ADG suspensie is bepaal deur 99 ml steriele fisiologiese soutoplossing, wat by verskillende temperature geëkwilibreer is, as verdunningsvloeistof te gebruik. Die TLG tellings is op die konvensionele wyse soos in 3.3.2 bespreek, gedoen. Alle bepaling is in tripliikaat gedoen. Die resultate word in Tabel 2 aangegee.

2.5.3 Resultate en gevolgtrekking

TABEL 2

Die invloed van die temperatuur van die sekondêre verdunningsvloeistof op die totale lewensvatbare gisseltelling (TLG) van ADG

ADG monster	Temperatuur van die rehidrasievloeistof (°C)	Temperatuur van die sekondêre verdunningsvloeistof (°C)	TLG (x10 ⁹)
C.1	21	21	17,7
C.1	21	42	17,1

In ooreenstemming met wat deur Sant en Peterson (1958) vir ADBG aangetoon is, is gevind dat die TLG telling van ADG ook slegs deur die temperatuur van die rehidrasievloeistof beïnvloed word en dat die temperatuur van die verdunningsvloeistof wat vir die sekondêre verdunnings gebruik word weinig invloed daarop het (Tabel 2).

2.6 Bespreking

Uit die voorafgaande blyk dit dat met die bepaling van die TLG en TNKG telling vir die beoordeling van die gehalte van ADG deeglik rekening gehou moet word met die rehidrasieskok verskynsel soos reeds in die literatuur gerapporteer is (Sant & Peterson, 1958). Plaattellings van die TLG asook van die TNKG word merkbaar beïnvloed deur die temperatuur waarby die ADG gerehidreer word. In geval van die telling van TLG in preparate van ADG is die telling by kamertemperatuur 2% laer as by 42°C. In geval van die „nie-kultuur" gistelling is hierdie verskil baie groter en kan soveel as 73% bedra. Die resultate dui daarop dat 'n rehidrasietemperatuur van 40 tot 42°C as optimaal vir beide die TLG en TNKG tellings beskou kan word.

Die invloed van die samestelling van die rehidrasievloeistof op die TLG en TNKG tellings is minder opvallend. In geval van die TLG skyn dit asof fisiologiese soutoplossing by alle temperature die mees geskikte rehidrasievloeistof is aangesien hierdie rehidrasievloeistof konstant hoër tellings as die ander rehidrasievloeistowwe gee. In geval van die TNKG telling blyk dit dat fosfaatbuffer die mins geskikte rehidrasievloeistof is. By 24°C verskil die TNKG telling met peptonwater en fisiologiese soutoplossing nie merkbaar nie. By 42°C egter word 15% meer lewensvatbare gisselle getel as peptonwater as rehidrasievloeistof gebruik word as wanneer fisiologiese soutoplossing gebruik word.

Vir verdere ondersoek blyk dit dus dat fisiologiese soutoplossing die mees geskikte rehidrasievloeistof vir die bepaling van die TLG telling sou wees terwyl vir die TNKG telling peptonwater die mees geskikte rehidrasievloeistof is. Die gebruik van peptonwater as rehidrasievloeistof is egter nie prakties moontlik nie vanwee die hoë stikstofinhoud van hierdie medium en die feit dat die TNKG telling op die gebruik van 'n medium met 'n spesifieke stikstofbron berus (sien 4.2).

Die verlaagte telling as gevolg van die blootstelling van ADG aan die optimale rehidrasietemperatuur dui daarop dat gisselle by hierdie temperatuur mettertyd geïnaktiveer word. Die tyd vir rehidrasie by die optimale rehidrasietemperatuur moet dus so kort moontlik gehou word.

Dit blyk ook dat die tydsduur wat die ADG suspensie by temperature net onder die optimale rehidrasietemperatuur gehou word, die TLG en TNKG tellings beïnvloed. Dit is dus belangrik dat die ADG monster aan 'n standaard hittebehandeling onderwerp moet word.

In ooreenstemming met die bestaande literatuur blyk dit dat die temperatuur van die sekondêre verdunningsvloeistof geen merkbare invloed op die TLG en TNKG telling het nie.

Aan die hand van die verkreë resultate is die werksyde, soos in 3.3.2 bespreek, gevolg om die gehalte van ADG ten opsigte van die lewensvatbare mikro-organismes wat dit bevat, te bepaal.

HOOFSTUK IIIDIE TEL VAN DIE TOTALE AANTAL GISSELLE EN TOTALE AANTAL
LEWENSVATBARE GISSELLE IN AKTIEWE DROE BROUERSGIS3.1 Inleiding

Die totale aantal gisselle, wat in ADG teenwoordig is, sluit die totale lewensvatbare sowel as die totale dooie selle in. Die aantal dooie selle in 'n ADG monster kan 'n aanduiding van die gehalte van die preparaat gee.

3.2 Die tel van die totale aantal gisselle in ADG3.2.1 Inleiding

White (1954) bespreek verskeie metodes waarvolgens gisselle in ADG getel kan word. Gisselle in ADBG kan óf met behulp van 'n telkamer, byvoorbeeld 'n Thoma telkamer of 'n Neubauer hemasitometer óf met behulp van 'n elektroniese apparaat, byvoorbeeld 'n Coulter telapparaat getel word (Rainbow, 1968). Zellner, Gustin, Buck en Meyers (1963) het 'n Coulter telapparaat en 'n Thoma telkamer gebruik om gisselle te tel en 'n goeie verband tussen die twee metodes gevind.

3.2.2 Onderzoek na die moontlikheid om die Coulter tel-
apparaat te gebruik om die totale aantal gisselle
in ADG te tel

Die Coulter telapparaat kan alleenlik gebruik word om die aantal gisselle in ADG te bepaal indien die ADG suspensie hoofsaaklik uit gisselle, wat enkel voorkom, bestaan. Om te bepaal of ADG vreemde partikels bevat is 'n honderdvoudig verdunde ADG suspensie mikroskopies ondersoek. Vir die

bepaling van die moontlike teenwoordigheid van styselkorrels in ADG is 'n paar druppels van 'n Gram se jodiumoplossing by die ADG suspensie gevoeg. Uit die waarneming het dit geblyk dat ADG prakties slegs uit gisselle bestaan.

'n Model B Coulter Counter telapparaat, wat met koper-gaasdraad afgeskerm is om die elektriese stoornisse uit te skakel, is gebruik. Die Coulter telapparaat met 'n 50 μm buis is volgens die voorskrifte van die apparaat met „Paper Mulberry” stuifmeel, met 13,31 μm deursnee, gekalibreer. Die Coulter telapparaat is so gekalibreer dat slegs partikels waarvan die volume 3,47 μm of groter is, getel sou word. As elektroliet is 1,5% (g/v) natriumchloriedoplossing, wat vooraf deur 'n 0,45 μm Milipore filter gefiltreer is, gebruik.

By 99 ml, gefiltreerde 1,5 (g/v) natriumchloriedoplossing, wat vooraf in 'n skoon, droë beker van die Coulter telapparaat gevoeg is, is 1 ml van 'n 10^{-4} verdunning van die ADG suspensie, wat soos in 3.3.2 bespreek berei is, gevoeg. Sodoende is 'n 10^{-6} verdunning van die ADG monster verkry. Om te verseker dat die gisselle in die gisselsuspensie eweredig versprei is, is hierdie gisselsuspensie vir vyf minute deur die roerder van die Coulter telapparaat gemeng. Die aantal gisselle in 50 μl van hierdie gisselsuspensie is vervolgens bepaal. Deur van hierdie telling gebruik te maak is die aantal gisselle wat in 1 g van die ADG monster teenwoordig is, bereken.

Die tel van die gisselle met behulp van die Coulter telapparaat word bemoeilik omdat die opening van die buis gou met gisselaggregaate, wat in die ADG suspensie voorkom, verstop raak. Hierdie probleem kan egter oorbrug word deur die ADG suspensie aan ultrasoniese klankgolwe bloot te stel. Vir die doel is 'n MSE 100 watt ultrasoniese disintegreerder gebruik. Vyftien milliliter van 'n 10^{-4} verdunning van die ADG monster, wat soos in 3.3.2 bespreek berei is, is in 'n skoon, droë houer gevoeg en vir verskillende tydsperiodes met

ultrasoniese klankgolwe, met frekwensies van 18 tot 24 kilosisklusse per sekonde, behandel. Waar die behandeling langer as 30 sekondes geduur het, is die houer met die gisselsuspensie in ys verpak om verhitting te voorkom. Nadat die ADG suspensie vir verskillende tydperiodes met ultrasoniese klankgolwe behandel is, is die preparaat in die Neubauer hemasitometer getel en gemikroskopeer om vas te stel of enige gisselagregate nog teenwoordig was en of daar enige selffragmente teenwoordig was, wat daarop sou dui dat die gisselle deur opbreking vernietig is. Die resultate word in Tabel 3 aangedui.

TABEL 3

Gisseltelling van 'n ADG suspensie nadat
dit verskillende tye met ultrasoniese
klankgolwe (USK) behandel is

Tydsduur van USK behandeling (sek.)	Aantal gisselle/mm ² van die telkamer	Gemiddelde telling	Selagregate	Selffragmente
5	Gisselagregate	-	Teenwoordig	Afwesig
10	23, 40 [*] , 36, 31, 24, 34, 22, 33, 29, 18 [*]	26	Teenwoordig	Afwesig
30	19 ^{**} , 31, 24, 29, 23, 25, 32 ^{**} , 26, 31, 25	27	Afwesig	Afwesig

* Grootste verskil = 22

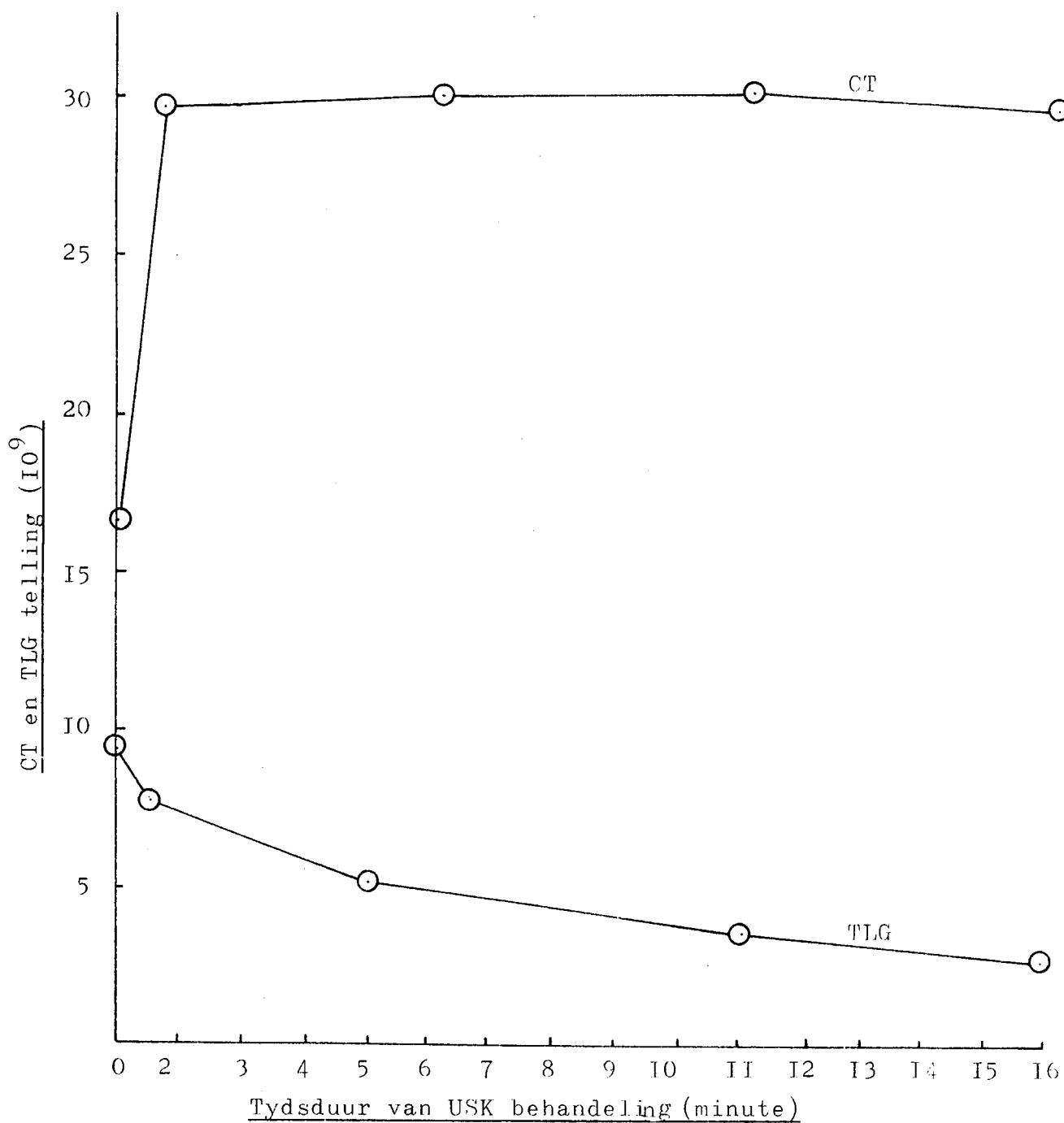
** Grootste verskil = 13

Dit blyk dat 'n USK behandeling van 30 sekondes voldoende is om die gisselaggregaate volledig op te breek sonder 'n merk-~~bare~~ beskadiging van die gisselwande (Tabel 3).

Vervolgens is die moontlikheid van opbreking van gisselle deur USK behandeling met behulp van die Coulter telapparaat ondersoek. Indien die gisselle in die ADG suspensie as gevolg van die USK behandeling opgebreek sou word sal partikels met 'n volume wat kleiner as die van die gisselle is, ontstaan. Gevolglik sal die waardes wat met die Coulter telapparaat verkry word baie varieer.

Ongeveer 15 ml van die 10^{-4} suspensie van die ADG monster, wat soos in 3.3.2 bespreek berei is, is asepties in steriele 50 ml Erlenmeyer flessies gevoeg. Die vibrerende staaf van die ultrasoniese apparaat is telkens voor- en nadat dit gebruik is met 'n etanolvlam gesteriliseer. Sodra die vibrerende staaf van die ultrasoniese apparaat afgekoel het, is die onderskeie ADG suspensies vir verskillende tydspanes met ultrasoniese klankgolwe behandel. Wanneer die behandeling langer as 30 sekondes geduur het, is die flessies met ys omring. Die aantal gisselle is vervolgens in die onderskeie suspensies, soos reeds bespreek, met die Coulter telapparaat bepaal. Die aantal lewensvatbare gisselle is volgens die metode soos in 3.3.2 bespreek, bepaal. Die resultate wat verkry is, word in Figuur 5 aangedui.

Omdat die Coulter tellings na USK behandeling konstant bly kan aanvaar word dat die gisselle nie deur die behandeling opgebreek word nie. Dit blyk egter dat die gisselle deur die USK behandeling geïnaktiveer word (Figuur 5). Inaktivering van die gisselle deur ultrasoniese klankgolwe vind waarskynlik plaas omdat intrasellulêre strukture van die gisselle beskadig word. Uit die voorgaande blyk dit dat die totale aantal gisselle wat in ADG teenwoordig is met behulp van 'n Coulter telapparaat getel kan word.



FIGUUR 5

Die invloed van ultra-soniese klankgolwe (USK) op die Coulter tellings (CT) en op die totale lewensvatbare gisseltelling (TLG) van 'n ADG suspensie

3.2.3 Telling van die totale aantal gisselle in ADG

Ongeveer 15 ml van die 10^{-4} verdunning van die ADG monster, wat soos in 3.3.2 bespreek berei is, is vir 30 sekondes met ultrasoniese klankgolwe behandel. By 99 ml gefiltreerde 1,5% (g/v) natriumchloriedoplossing, wat vooraf in 'n skoon, droë beker van die Coulter telapparaat gevoeg is, is 1 ml van die ultrasonies behandelde suspensie gevoeg. Die beker van die telapparaat is in posisie geplaas en die gisselsuspensie is vir vyf minute deur die ingeboude roerder van die telapparaat gemeng. Die aantal gisselle in 50 μ l van die gisselsuspensie is bepaal. Die totale aantal gisselle in ADG is vanaf die gemiddelde van tien bepalinge, waarvoor 0,5 ml van die ADG suspensie nodig was, bereken.

Ter kontrole is die aantal gisselle wat in die ultrasonies behandelde 10^{-4} ADG suspensie teenwoordig was ook met 'n Neubauer hemasitometer volgens die metode soos deur Zellner *et al.* (1963) beskryf, bepaal. Die totale aantal gisselle is vanaf die gemiddelde van tien velde, waarvoor $0,04 \text{ mm}^3$ van die ADG suspensie nodig was, bereken. Die resultate wat verkry is, word in Tabel 4 aangegee.

3.2.4 Resultate en gevolgtrekking

Die totale aantal gisselle in 1 g van die ADG monsters, wat van die verskillende produsente ontvang is, verskil onderling (Tabel 4). Die telling van die totale aantal gisselle met behulp van die Coulter telapparaat in 1 g ADG van produsent A varieer tussen $21,8 \times 10^9$ en $36,6 \times 10^9$ terwyl dit tussen $30,2 \times 10^9$ en $52,8 \times 10^9$ per gram ADG van produsent B varieer en tussen $27,0 \times 10^9$ en $39,2 \times 10^9$ per gram ADG van produsent C varieer.

Soos deur Zellner *et al.* (1963) aangedui is, is dit ook volgens die statistiese metodes soos in Hoofstuk VIII bespreek tydens hierdie ondersoek gevind dat 'n verband tussen die

tellings van die totale aantal gisselle met die Coulter telapparaat en die telkamer bestaan wanneer die tellings groter as 10^9 selle per gram is (Figuur 6). Voorkeur word egter gegee aan die tellings wat met die Coulter telapparaat verkry is aangesien hierdie tellings verkry is nadat die aantal gisselle in 0,5 ml van die ADG suspensie bepaal is terwyl slegs $0,04 \text{ mm}^3$ van die ADG suspensie nodig was om die telling met die telkamer te doen.

3.3 Die telling van die totale aantal lewensvatbare gisselle in ADG

3.3.1 Inleiding

Verskeie metodes, elk met sy eie voor- en nadele, kan aangewend word om die TLG van ADG te bepaal (White, 1954; Gilliland, 1959; Pierce, 1970). Die TLG telling van ADG is in hierdie ondersoek met behulp van die konvensionele verdunnings- en uitplaattegniek, soos deur Harrigan en McCance (1966) bespreek, bepaal. Soos deur van der Walt (1970) aanbeveel is mout-ekstrakagar as voedingsbodem vir die kweek van giste gebruik.

3.3.2 Telling van die TLG in ADG

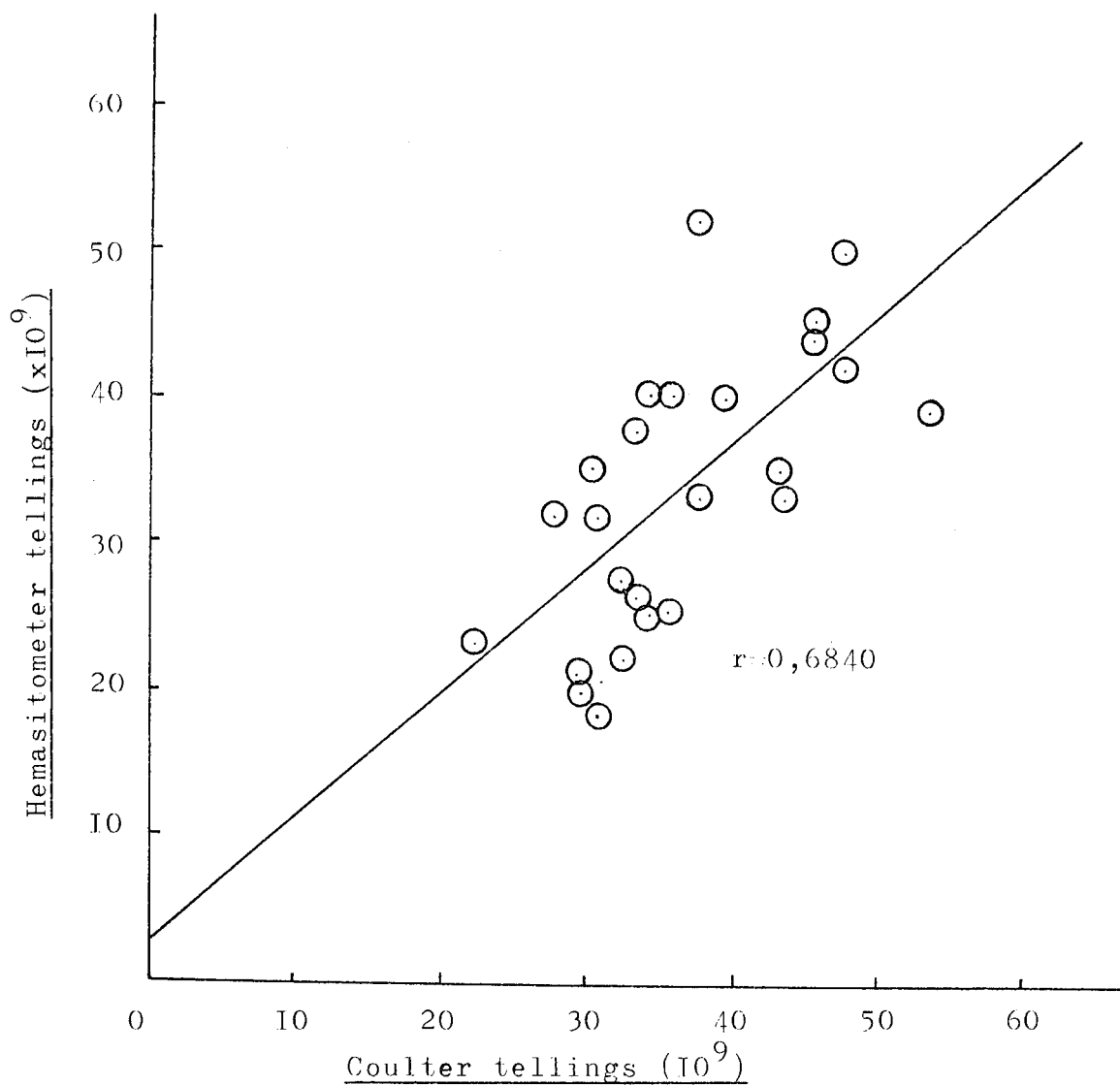
ADG monsters, in ongeopende verpakkings van 500 g, is gereeld van verskillende ADG produsente ontvang. Na vermenging is 'n verteenwoordigende hoeveelheid, ongeveer 25 g, van die ADG monster asepties in 'n steriele proefbuis oorgebring en by 5°C bewaar. Die gehalte van die ADG monster is so gou moontlik na ontvangs bepaal.

Die TLG in ADG is bepaal deur 1 g ADG, tot die vierde desimale syfer, op vogvrye basis bereken, asepties, in 'n steriele houër af te weeg en by 99 ml steriele fisiologiese soutoplossing, wat by 42°C geëkwilibreer is, te voeg. Die ADG is in die rehidrasievloeistof gesuspendeer deur die mengsel

TABEL 4

Die totale aantal gisselle in een gram ADG soos met behulp van die Coulter telapparaat (C.T.) en die Neubauer Hemasitometer (N.T.) bepaal

Monster nr.	Totale aantal gisselle ($\times 10^9$)					
	Produsent A		Produsent B		Produsent C	
	C.T.	N.T.	C.T.	N.T.	C.T.	N.T.
1	35,1	39,8	45,4	44,6	29,8	31,8
2	33,6	39,2	52,8	39,0	31,5	22,3
3	34,6	25,8	42,6	33,2	27,0	32,0
4	29,0	21,0	43,4	34,8	39,0	40,0
5	31,5	30,5	32,7	38,0	37,0	33,0
6	36,6	52,5	30,2	34,5	39,2	40,0
7	34,2	25,0	47,3	49,5	29,1	19,5
8	21,8	23,0	46,9	42,0	29,8	18,0
9	32,2	27,0	43,6	41,0	32,3	26,0
10	32,8	26,0	45,1	43,5	33,1	25,0
Gemiddeld	32,1	31,0	43,0	40,0	32,8	28,8



FIGUUR 6

Die verband tussen die Coulter tellings en die hemasitometer tellings van die totale aantal gisselle wat in een gram ADG teenwoordig is

vir 10 minute in 'n meganiese skudmasjien, wat met armslae van 30 cm 150 keer per minuut op en af beweeg, te skud. Deur die metode van Harrigan en McCance (1966) te gebruik, is verskillende verdunnings van die ADG suspensie gemaak en is bepaalde verdunnings uitgeplaat. Fisiologiese soutoplossing by kamertemperatuur (ca. 23^oC) is deurgaans as verdunningsvloeistof gebruik.

Moutekstrakagar, met 'n pH 3,5, is volgens die voorskrifte van Harrigan en McCance (1966) berei. Een milliliter van 'n bepaalde verdunning van die ADG suspensie is in 'n Petribakkie gevoeg. Die aangesuurde moutekstrakagar is hierby gevoeg, goed gemeng, laat stol en by 28^oC geïnkubeer. Na drie dae is die kolonies wat ontwikkel het, getel. Elke bepaling is in triplikaat gedoen. Deur aan te neem dat elke kolonie wat ontwikkel het 'n lewensvatbare gissel in die ADG verteenwoordig en die verdunningsfaktor in ag te neem, is die TLG, wat in ADG teenwoordig is, bereken.

Deur die TLG en die totale aantal gisselle wat in ADG teenwoordig is te vergelyk is die persentasie lewensvatbare gisselle, wat in die ADG monster teenwoordig is, bereken. Die resultate word in Tabel 5 aangegee.

3.3.3 Resultate en gevolgtrekking

Soos met die totale aantal gisselle die geval is verskil die totale lewensvatbare gisseltelling van 1 g ADG wat van verskillende produsente ontvang is, ook onderling. Die persentasie lewensvatbare gisselle in ADG van produsent A varieer tussen 61 en 85 terwyl dit in ADG van produsent B tussen 54 en 94 varieer en in ADG van produsent C tussen 66 en 90 varieer. Hierteenoor varieer die TLG tellings van 1 g ADG vanaf produsent A tussen $19,8 \times 10^9$ en $25,9 \times 10^9$ per gram, die ADG van produsent B tussen $24,0 \times 10^9$ en $39,8 \times 10^9$ per gram en die ADG van produsent C tussen $19,3 \times 10^9$ en $29,4 \times 10^9$ per gram (Tabel 5).

TABEL 5

Totale aantal lewensvatbare gisselle (TLG) en
persentasie lewensvatbare gisselle (%LG^{*})
in een gram ADG

Monster nr.	Produsent A		Produsent B		Produsent C	
	TLG (x10 ⁹)	%LG [*]	TLG (x10 ⁹)	%LG [*]	TLG (x10 ⁹)	%LG [*]
1	21,9	62	38,5	85	26,4	89
2	24,3	72	39,8	89	28,5	90
3	23,8	69	31,4	74	21,0	81
4	24,6	85	37,5	87	29,0	74
5	25,9	82	30,6	94	24,7	67
6	23,4	64	24,0	79	29,4	75
7	23,9	70	34,5	73	19,3	66
8	20,0	89	34,1	73	24,0	81
9	19,8	61	27,8	64	27,7	86
10	21,0	64	24,5	54	24,7	75
Gemiddeld	22,9	72	32,3	77	25,5	78

*%LG - TLG uitgedruk as 'n persentasie van die
totale aantal gisselle in 1 g ADG soos
met die Coulter telapparaat bepaal (3.2.3)

HOOFSTUK IVONDERSOEK NA DIE KONTAMINERENDE MIKRO-ORGANISMES IN
AKTIEWE DROË BROUERSGIS4.1 Inleiding

Bantoebierbeslag is 'n suur mengsel (pH 3,8 - 4,0) wat onder andere uit stysel, dekstriene, suikers, (hoofsaaklik glukose en maltose) peptiedes, proteïene, vry aminosure, minerale-soute en vitamïene bestaan (Novellie, 1968). Vir mikro-organismes wat redelike suur toestande kan weerstaan bied bantoebierbeslag dus 'n goeie voedingsbodem vir groei. Nadat die bantoebierbeslag vir twee uur gekook is en daarna tot 60°C afgekoel is, word die prakties steriele beslag met omkeringsmout, waarop 'n verkeidenheid mikro-organismes teenwoordig is, gemeng. Sekere mikro-organismes, wat normaalweg op die omkeringsmout teenwoordig is, word deur die suurgehalte van die beslag en die redelike hoë temperatuur, wat tydens omsetting heers, geïnaktiveer (Johannsen, 1971). Sekere mikro-organismes, byvoorbeeld die termofiele melksuurbakterieë, wat normaalweg op die omkeringsmout teenwoordig is, word nie merkbaar deur die hoë waterstofioonkonsentrasie en hoë temperatuur beïnvloed nie.

Nadat die beslag vir twee uur by 60°C gehou is, word dit na 30°C afgekoel en so gou moontlik daarna met ADG geïnokuleer. Die groei van kontaminerende mikro-organismes in die beslag word sodoende deur die groot aantal aktief vermeerderende gisselle vertraag of onderdruk. Die gehalte van ADG, met betrekking tot kontaminerende mikro-organismes, is nie bekend nie en gevolglik is die mate waartoe die ADG die beslag met ongewenste mikro-organismes besmet ook nie bekend nie.

Hoofsaaklik drie tipes mikro-organismes, naamlik die sogenaamde „nie-kultuur" giste, skimmels en bakterieë kan in ADG as ongewenste mikro-organismes teenwoordig wees.

4.2 Die telling van die totale aantal lewensvatbare „nie-kultuur" giste en skimmels in ADG

4.2.1 Inleiding

Die begrip „nie-kultuur" giste of „wilde" giste is moeilik om te definieer. Volgens White (1954) word „nie-kultuur" giste gedefinieer as enige gis of gisagtige mikro-organisme wat verskil van die betrokke gisras wat gekweek word. In die Europese bierindustrie mag dit selfs stamme van Saccharomyces cerevisiae, met ongewenste eienskappe, insluit.

Verskeie metodes is ontwikkel om die teenwoordigheid van „nie-kultuur" giste in kultuurgis aan te toon. Volgens White (1954) kan „nie-kultuur" giste van kultuurgiste op grond van hul kultuur en morfologiese eienskappe onderskei word.

„Nie-kultuur" giste kan van kultuurgiste onderskei word op grond van die feit dat laasgenoemde swak sporuleer. Deurdat die askospore van die „nie-kultuur" giste meer hitte bestand as die vegetatiewe kultuurgiste is, kan die teenwoordigheid van „nie-kultuur" giste deur bepaalde hittebehandelings aangetoon word (Gilliland, 1955). Richards (1970a) beweer egter dat hierdie metode nie betroubaar is nie omdat die verskil tussen die inaktiveringstemperatuur van die askospore van die vegetatiewe kultuurgiste gering mag wees.

„Nie-kultuur" giste kan van kultuurgiste onderskei kan word op die basis van verskille ten opsigte van hul gevoeligheid teenoor kristalviolet (Kato, 1967). Richards (1970a) het egter aangetoon dat sekere stamme van S. cerevisiae bestand is teenoor kristalviolet konsentrasies wat die groei van

„nie-kultuur" giste inhibeer. Richards (1970b) beskryf 'n membraanfilter tegniek waar kolonies van „nie-kultuur" giste selektief met safranien gekleur word. Hierdie metode is egter slegs bruikbaar in gevalle waar die kultuurgiste en „nie-kultuur" giste in 'n vloeistof aangetoon moet word en wanneer die konsentrasies van die kultuur giste and „nie-kultuur" giste laag is.

Harris en Watson (1968) beskryf 'n metode om aktidioon (sikloheksimied) te gebruik om „nie-kultuur" giste in die teenwoordigheid van kultuurgiste op te spoor. Omdat kultuurgiste egter so 'n wye spektrum van gevoeligheid teenoor aktidioon vertoon is die metode nie absoluut betroubaar nie (Richards, 1970a).

Richards (1970a) gee 'n oorsig van die immuno-fluoresente metodes wat onlangs ontwikkel is vir die onderskeiding van kultuurgiste en „nie-kultuur" giste. Die metode blyk egter onbetroubaar te wees omdat blastospore en gisselle waarvan die selwande beskadig is na behandeling met fluoressien-gemerkte sera soos „nie-kultuur" gisselle vertoon. 'n Verdere nadeel van hierdie metode is die feit dat 'n hele reeks sera teen alle moontlike kontaminerende „nie-kultuur" gissoorte beskikbaar moet wees.

Vir die doel van hierdie ondersoek is besluit om die „nie-kultuur" giste, wat in ADG teenwoordig is, volgens die lisienplaatmetode van Morris en Eddy (1957) te bepaal.

Hierdie metode berus op die feit dat die kultuurgis naamlik S. cerevisiae, in teenstelling met ander gissoorte, nie in staat is om L-lisien as enigste stikstofbron te benut nie. Hierdie bepaalde metode het egter inherente nadele. Daar kan nie volgens hierdie werkswyse tussen S. cerevisiae en ander Saccharomyces sensu stricto soorte onderskei word nie (Brady, 1965). Verder het van der Walt (1962) en Brady (1965) daarop gewys dat daar gissoorte bestaan wat nie tot

die geslag Saccharomyces sensu stricto behoort nie en wat ook nie in staat is om L-lisien as enigste stikstofbron te benut nie.

Die aantal „nie-kultuur" giste wat deur die gebruik van die lisienplaatmetode aangetoon kan word is dus beperk. Gevolglik gee die telling op die lisienmedium geen absolute telling nie en dien dit slegs as aanduiding van die graad van besmetting van ADG deur die sogenaamde „nie-kultuur" of „wilde" giste.

4.2.2 Bepaling van die aantal lewensvatbare „nie-kultuur" giste en skimmels in ADG

Met 'n Drigalskistafie is 0,2 ml van 'n bepaalde verdunning van die ADG monster, wat soos in 3.3.2 bespreek berei is, op die voorbereide Petribakkies met lisienmedium van Morris en Eddy (1957) uitgestryk. Die geïnkuleerde Petribakkies is vir drie dae by 28°C geïnkubeer waarna die gis- en skimmelkolonies, wat ontwikkel het, getel is. Die kolonies is morfologies onder 'n stereomikroskoop ondersoek en die aantal kolonies wat tot elke morfologiese groep giste of skimmels behoort het, is getel. Die verskillende „nie-kultuur" giste wat op die lisienplate ontwikkel het, is volgens die metodes soos deur van der Walt (1970) bespreek, geïsoleer, in rein kultuur gebring en geïdentifiseer.

Al die tellings is in triplikaat gedoen (Tabel 6).

4.2.3 Resultate en gevolgtrekking

Soos met die TLG tellings die geval was verskil die TNKG tellings van die ADG monsters wat vanaf verskillende produsente ontvang is ook onderling. Terwyl die TNKG telling in 1 g ADG wat deur produsent A gelewer is tussen $11,7 \times 10^2$ en $14,8 \times 10^3$ varieer, varieer die TNKG telling in 1 g van die ADG wat deur produsent B gelewer is tussen $2,2 \times 10^3$ en

$6,3 \times 10^6$ en die TNKG telling in 1 g van die ADG van produsent C tussen $4,0 \times 10^3$ en $90,2 \times 10^5$. Dit is veral opmerklik dat die ADG wat deur produsent C geproduseer is oor die algemeen relatief hoër TNKG tellings het (Tabel 6).

Gedurende die ondersoek is 72 „nie-kultuur“ gissoorte wat op die lisienmedium ontwikkel het, geïsoleer en na aanleiding van Lodder (1970) geïdentifiseer. Die volgende gissoorte is gevind: Candida krusei (Castellani) Berkhout, C. tropicalis (Castellani) Berkhout, C. pseudotropicalis (Castellani) Basgal, C. guilliermondii var. guilliermondii (Castellani) Langeron et Guerra, C. utilis (Henneberg) Lodder et Kreger-van Rij, C. intermedia (Cifferri et Ashford) Langeron et Guerra, C. lusitaniae van Uden et Carmo-Sousa, C. humicola (Daszewska) Diddens et Lodder, Pichia rhodanensis (Ramirez et Boidin) Phaff, Trichosporon cutaneum (de Beurm., Gougerot et Vaucher) Ota en Rhodotorula rubra (Demme) Lodder.

Behalwe vir Geotrichum candidum Link ex Pers. wat op enkele ADG monsters voorgekom het, was alle ADG monsters vry van skimmel kontaminasie.

4.3 Die telling van die totale aantal lewensvatbare bakterieë in ADG

4.3.1 Inleiding

Om 'n aanduiding van die totale aantal lewensvatbare bakterieë, wat in ADG monsters teenwoordig is, te kry, is verskillende verdunnings van 'n ADG monster uitgeplaat. Die medium van Green en Gray (1950) is as voedingsbodem gebruik. Hierdie medium bevat aktidioon in konsentrasies wat die groei van sensitiewe giste inhibeer terwyl die groei van bakterieë nie beïnvloed word nie (Green & Gray, 1950).

TABEL 6

Totale aantal levensvatbare „nie-kultuur” gisselle (TNKG) in een gram
ADG en die aantal levensvatbare „nie-kultuur” gisselle
per 10⁶ kultuur gisselle (NK/10⁶KG)

Monster nr.	Produsent A		Produsent B		Produsent C	
	TNKG (x10 ²)	NK/10 ⁶ KG	TNKG (x10 ³)	NK/10 ⁶ KG	TNKG (x10 ⁵)	NK/10 ⁶ KG
1	138,3	0,6	691,0	17,4	0,3	1,0
2	26,6	0,1	6250,0	157,0	10,3	36,1
3	23,3	0,1	5,0	0,2	0,1	0,4
4	75,0	0,3	3,0	0,1	0,04	0,2
5	26,6	0,1	2,8	0,1	0,4	1,7
6	126,0	0,5	5,0	0,2	0,7	2,5
7	33,3	0,1	2,2	0,1	2,3	12,0
8	148,0	0,7	3,3	0,1	21,9	91,3
9	76,7	0,4	80,2	2,9	90,2	325,0
10	11,7	0,1	4,0	0,2	88,7	359,0
Gemiddeld	68,6x10 ²	0,3	704,7x10 ³	17,8	21,5x10 ⁵	82,9

4.3.2 Bepaling van die lewensvatbare bakterieë in ADG

Bepaalde verdunnings van ADG, wat soos in 3.3.2 bespreek berei is, is volgens die metode van Harrigan en McCance (1966) uitgeplaat. Die afgekoelde voedingsbodem van Green en Gray (1950) waarby aktidioon gevoeg is, is dadelik by 1 ml van die ADG suspensie, wat vooraf in 'n steriele Petribakkie gepippetteer is, gevoeg en deeglik gemeng. Die medium is laat stol en die Petribakkies is vir twee tot drie dae by 37°C geïnkubeer waarna die kolonies wat ontwikkel het, getel is. Die bepaling is in triplikaat gedoen. Die resultate word in Tabel 7 aangedui.

4.3.3 Resultate en gevolgtrekking

Soos met die vorige resultate die geval was verskil die TLB tellings van ADG monsters wat ondersoek is aansienlik. Die TLB telling in 1 g ADG van produsent A varieer tussen $17,7 \times 10^7$ en $12,9 \times 10^8$ terwyl die TLB telling tussen $2,0 \times 10^5$ en $13,2 \times 10^7$ per gram ADG van produsent B varieer en die TLB telling tussen $3,0 \times 10^4$ en $12,3 \times 10^7$ per gram ADG van produsent C varieer (Tabel 7).

Hierdie tellings dui op die aantal bakterieë waarmee die prakties steriele beslag besmet word wanneer ADG daarby gevoeg word. Dit dui egter nie op die aantal bakterieë wat in staat sal wees om in die beslag te groei nie.

4.4 Die telling van die totale aantal lewensvatbare suurbestande bakterieë in ADG

4.4.1 Inleiding

Soos dit uit die voorgaande resultate blyk is ADG met bakterieë besmet en gevolglik word die beslag met hierdie bakterieë gekontamineer wanneer die ADG by die beslag gevoeg word.

TABEL 7

Totale aantal levensvatbare bacterië (TLB)
in een gram ADG

Monster nr.	Produsent A	Produsent B	Produsent C
	TLB ($\times 10^7$)	TLB ($\times 10^6$)	TLB ($\times 10^5$)
1	129,0	131,0	5,3
2	56,8	39,0	5,0
3	71,9	14,0	9,8
4	94,5	0,3	0,3
5	52,5	2,7	5,3
6	28,2	0,2	29,5
7	37,1	49,7	4,3
8	17,7	132,0	58,5
9	65,5	75,0	1230,0
10	51,1	78,3	1080,0
Gemiddeld	$60,4 \times 10^7$	$52,2 \times 10^6$	$242,8 \times 10^5$

Van Kerken (1968) het aangetoon dat sekere bakterieë, naamlik soorte van die geslagte Pediococcus, Leuconostoc en Lactobacillus in die suur beslag tydens die alkoholiese gisting van bantoebier kan groei. As gevolg van die groei van hierdie organismes word ongewenste stowwe, onder andere asynsuur en diasetiel, in die beslag geproduseer. Dit is bekend dat hierdie stowwe in konsentrasies so laag as 0,5% (g/v) bantoebier vir die verbruiker onaanvaarbaar maak (van der Walt, 1956; Novellie, 1968).

As gevolg van die hoë graad van suurheid van die beslag en die temperatuur waarby die alkoholiese gisting plaasvind, is alle bakterieë wat in ADG teenwoordig is, nie in staat om onder die toestande te groei nie. Die telling van die aantal bakterieë wat in ADG voorkom, (4.3), gee dus nie 'n werklike aanduiding van die aantal bakterieë wat in die suur beslag van die bantoebier sal groei nie. Dit is bekend dat die meeste melksuurbakterieë redelik suurbestand is (Thimann, 1963). Daar is dus vermoed dat die melksuurbakterieë wat in ADG teenwoordig is ook in staat sal wees om in die beslag te groei. Gevolglik is die aantal melksuurbakterieë in 'n ADG monster bepaal om sodoende 'n aanduiding te kry van die werklike aantal bakterieë wat in staat sal wees om in die beslag te groei.

Volgens Sharpe (1960) laat die selektiewe medium van Rogosa, Mitchell en Wiseman (1951) slegs die groei van giste en van spesies van die genera Lactobacillus, Pediococcus en Leuconostoc toe. Die groei van aktidioon gevoelige gissoorte op die medium van Rogosa et al. (1951) kan deur die toevoeging van 40 d.p.m. aktidioon, onderdruk word (Sharpe, 1960).

Om toestande wat in die beslag heers, na te boots is 'n moutekstrakvoedingsbodem, wat na pH 4,0 aangesuur is, ook gebruik om die aantal suurbestande bakterieë, wat in ADG teenwoordig is en by 28°C sal groei, te bepaal.

4.4.2 Bepaling van die totale aantal suurbestande bakterieë en melksuurbakterieë in ADG

Vir die tel van suurbestande bakterieë is verrykte moutekstrak-agar gebruik. Hierdie moutekstrakvoedingsbodem is berei deur 100 ml moutekstrak (15⁰B), wat vanaf moutekstrakvervaardigers verkry is, met 1% (g/v) gisekstrak (Bacto Yeast Extract) te verryk en na pH 4,0 met 10% (v/v) melksuur aan te suur. Hierdie vloeibare moutekstrakvoedingsbodem is gesteriliseer deur dit vir 15 minute in 'n autoklaaf by 121⁰C te hou. Nadat die moutekstrakvoedingsbodem na kamertemperatuur afgekoel het, is 80 d.p.m. aktidioon daarby gevoeg. Honderd milliliter, 3% (g/v) agar is vir 15 minute in 'n autoklaaf by 121⁰C gesteriliseer, tot 45⁰C laat afkoel en by die moutekstrakvoedingsbodem gevoeg. Sodoende is 'n moutekstrakvoedingsbodem by pH 4,0 verkry wat moutekstrak (7,5⁰B), 0,5% (g/v) gisekstrak, 40 d.p.m. aktidioon en 1,5% (g/v) agar bevat het. Vir die tel van melksuurbakterieë is die medium van Rogosa et al. (1951) gebruik.

Verskillende verdunnings van die ADG monster, wat soos in 3.3.2 bespreek berei is, is volgens die metode van Harrigan en McCance (1966) uitgeplaas. Die afgekoelde, nog vloeibare, agarvoedingsbodems is onderskeidelik by 1 ml hoeveelhede van die ADG suspensie, wat vooraf in Petribakkies gepippetteer is, gevoeg en goed gemeng. Om mikro-aerofiliese kondisies in die Rogosa medium te skep en te verhoed dat die medium tydens inkubasie uitdroog, is dubbellaag plate gegiet. Nadat die medium gestol het, is die Petribakkies met die Rogosa medium by 37⁰C geïnkubeer terwyl die Petribakkies met die moutekstrakvoedingsbodem by 28⁰C geïnkubeer is. Die kolonies wat na drie dae ontwikkel het, is getel. Die bepaling is in tripliikaat gedoen. Die resultate word in Tabel 8 aangedui.

Om die soorte bakterieë wat op die verskillende media onder die bepaalde toestande ontwikkel het, te identifiseer,

is vyf kolonies vanaf elke Petribakkie ewekansig, volgens die metode wat deur Harrigan en McCance (1966) aangegee word, geselekteer. Elke geselekteerde kolonie is in reinkultuur gebring. Die Gram kleurings-eienskap, katalase reaksie en beweeglikheid van die betrokke mikro-organismes in die verskillende reinkulture is volgens die metodes wat deur Harrigan en McCance (1966) aangegee word, bepaal. Indien die reinkulture Gram positiewe, nie-beweeglike en katalase negatiewe bakterieselle bevat het, is hierdie bakterieë as melksuurbakterieë geklassifiseer. Daar is tussen die spesies van die Lactobacillus, Leuconostoc en Pediococcus genera op grond van morfologiese verskille onderskei. Die teenwoordigheid van Leuconostoc spesies is bevestig deur die verdagte mikro-organisme op sukrose medium van Garvie (1960) uit te spreid, by 28°C of 37°C te inkubeer, en na die vorming van polisakkariede op te let. Die metode van Gibson en Adb-el-Malek (1954) is gebruik om te bepaal of die geïsoleerde bakterieë homo- of heterofermentatief was.

Omdat vyf kolonies ewekansig op die verskillende voedingsbodems gekies is, het die resultate wat gekry is, as aanduiding van die aantal en tipe melksuurbakterieë en suurbestande bakterieë wat in die ADG monster teenwoordig is, gedien. Die resultate word in Tabela 9 en 10 aangegee.

4.4.3 Resultate en gevolgtrekking

Aangesien die TSBB telling gemiddeld 16% tot 64% laer as die TLB telling is blyk dit dat alle bakterieë wat in ADG teenwoordig is meestal nie in staat is om in die suur beslag te groei nie. Slegs melksuurbakterieë is in staat om in die suur medium by 28°C te groei. Die TLMB telling is deurgaans laer as die TSBB telling wat daarop dui dat alle melksuurbakterieë wat in ADG teenwoordig is, nie in staat is om by 37°C op Rogosa medium te ontwikkel nie (Tabelle 8, 9 en 10).

Oor die algemeen het die ADG wat deur produsent A geproduseer word die hoogste TSBB telling wat tussen $7,6 \times 10^7$ en $8,3 \times 10^8$ bakterieë per gram varieer terwyl die TSBB telling per gram ADG van produsent B tussen $1,0 \times 10^5$ en $83,0 \times 10^6$ varieer en die TSBB telling van ADG van produsent C die laagste is en tussen 0 en $12,0 \times 10^6$ bakterieë per gram varieer (Tabel 8).

Terwyl hoofsaaklik heterofermentatiewe staaftvormige melksuurbakterieë op die Rogosa medium by 37°C ontwikkel het, het hoofsaaklik Leuconostoc soorte op die suur moutekstrak-medium by 28°C ontwikkel. Dit is opvallend dat terwyl die ADG wat deur produsent A geproduseer is geen Pediococcus soorte bevat het nie, was die ADG wat deur die ander produsente gelewer is met soorte van die geslagte Leuconostoc, Lactobacillus en Pediococcus besmet (Tabelle 9 en 10).

4.5 Die teenwoordigheid van Escherichia coli tipe I in ADG

4.5.1 Inleiding

E. coli tipe I word algemeen as 'n indikator-organisme vir moontlike fekale besmetting gebruik. Die teenwoordigheid van E. coli tipe I in ADG monsters sou aandui dat die ADG monsters moontlik met menslike patogene, byvoorbeeld Salmonella soorte, besmet kan wees asook dat ADG onhygiënies vervaardig is (Pelczar & Reid, 1965).

4.5.2 Bepaling van E. coli tipe I in ADG

'n Buis met MacConkey medium (Oxoid, 1969) waarin 'n Durhambuis gevoeg is, is met 0,5 ml van 'n honderdvoudige verdunning van die ADG monster, wat soos in 3.3.2 bespreek berei is, geïnkuleer. Die geïnkuleerde buis is vir een tot twee dae by 37°C geïnkubeer waarna daar gelet is of gas (in Durhambuis) en suur (kleurverandering van indikator in medium) in die

TABEL 8

Totale aantal lewensvatbare melksuurbakterieë (TMSB)
en totale aantal lewensvatbare suurbestande bakterieë (TSBB) in een gram ADG

Monster nr.	Produsent A				Produsent B				Produsent C			
	TMSB (x10 ⁶)	% MSB	TSBB (x10 ⁷)	% SBB	TMSB (x10 ⁴)	% MSB	TSBB (x10 ⁶)	% SBB	TMSB (x10 ⁴)	% MSB	TSBB (x10 ⁴)	% SBB
1	12,9	1,0	83,4	65	17,2	0,1	61,0	47	5,3	10	26,6	50
2	43,1	8,0	58,6	100	20,5	0,5	83,0	100	3,3	7	31,7	63
3	0,31	0,04	64,9	90	4,7	0,3	11,4	81	0,7	1	0	0
4	0,42	0,04	43,7	46	7,0	23,0	0,3	33	0,1	3	0,1	4
5	2,5	0,5	52,1	99	3,0	1,0	0,7	27	9,5	18	12,4	23
6	23,1	8,0	25,2	89	2,7	1,0	0,4	100	0,2	0,1	0	0
7	31,0	8,0	28,8	78	0,6	0,01	0,1	1	0,6	1	0	0
8	2,2	1,0	7,6	42	22,3	0,2	44,3	34	49,0	1	64,3	1
9	12,6	2,0	11,3	17	13,6	0,2	17,3	23	876,0	7	1203,0	10
10	4,4	0,1	8,8	17	4,6	0,1	12,7	16	800,0	7	1190,0	11
Gemiddeld	13,3x10 ⁶	3	38,4x10 ⁷	64	9,6x10 ⁴	3	23,1x10 ⁶	46	174,5x10 ⁴	6	252,8x10 ⁴	16

% MSB = Totale aantal lewensvatbare melksuurbakterieë uitgedruk as 'n persentasie van die totale aantal bakterieë soos in 4.3 bepaal

% SBB = Totale aantal lewensvatbare suurbestande bakterieë uitgedruk as 'n persentasie van die totale aantal bakterieë soos in 4.3 bepaal

TABEL 9

Soorte melksuurbakterieë wat in ADG monsters voorkom
 en op Rogosa medium by 37°C groei

Monster nr.	Produsent A				Produsent B				Produsent C			
	% Lactobacilli		% Leuco. spp.	% Pedio. spp.	% Lactobacilli		% Leuco. spp.	% Pedio. spp.	% Lactobacilli		% Leuco. spp.	% Pedio. spp.
	Heterof.	Homof.			Heterof.	Homof.			Heterof.	Homof.		
1	10	70	20	0	90	0	0	10	0	60	0	40
2	0	70	30	0	100	0	0	0	0	60	0	40
3	100	0	0	0	80	0	0	20	0	100	0	0
4	100	0	0	0	100	0	0	0	0	0	0	100
5	100	0	0	0	60	0	0	40	0	20	0	80
6	100	0	0	0	0	100	0	0	0	50	0	50
7	80	20	0	0	60	0	0	40	20	80	0	0
8	100	0	0	0	100	0	0	0	80	0	20	0
9	40	60	0	0	100	0	0	0	20	80	0	0
10	80	20	0	0	100	0	0	0	80	0	0	20
Gemiddeld	71	24	5	0	79	10	0	11	20	45	2	33

Leuco. spp. = Leuconostoc spesies

Pedio. spp. = Pediococcus spesies

Heterof. = Heterofermentatiewe

Homof. = Homofermentatiewe

TABEL 10

Soorte suurbestande bakterieë wat in ADG
voorkom en by 28°C op moutekstrakagar groei

Monster Nr.	Produsent A				Produsent B				Produsent C			
	% Lactobacilli		% Leuco. spp.	% Pedio. spp.	% Lactobacilli		% Leuco. spp.	% Pedio. spp.	% Lactobacilli		% Leuco. spp.	% Pedio. spp.
	Heterof.	Homof.			Heterof.	Homof.			Heterof.	Homof.		
1	0	0	100	0	0	20	80	0	0	0	100	0
2	0	0	100	0	0	20	80	0	0	0	100	0
3	0	0	100	0	0	20	80	0	0	0	0	0
4	0	0	100	0	0	20	80	0	0	0	0	100
5	0	0	100	0	0	40	60	0	0	25	0	75
6	0	0	100	0	0	67	0	33	0	0	0	0
7	0	0	100	0	0	0	100	0	0	0	0	0
8	100	0	0	0	0	0	100	0	20	0	80	0
9	20	20	60	0	0	0	100	0	40	0	60	0
10	60	20	20	0	0	0	100	0	20	0	80	0
Gemiddeld	18	4	78	0	0	19	78	3	8	2,5	42	17,5

Leuco. spp. = Leuconostoc spesies

Pedio. spp. = Pediococcus spesies

Heterof. = Heterofermentatiewe

Homof. = Homofermentatiewe

MacConkey medium geproduseer is. Indien geen gas en suur na twee dae geproduseer is nie, is aanvaar dat die ADG monster geen E. coli tipe I organismes bevat nie.

In gevalle waar gas en suur na een tot twee dae by 37°C in die MacConkey medium geproduseer is, is 0,5 ml van die MacConkeykultuur in tweede buise wat onderskeidelik MacConkey medium en 'n Durhambuis bevat asook in 'n buis wat triptonwater bevat en vooraf by 44°C geëkwilibreer is, gevoeg. Die geïnkuleerde buise is vir 24 uur in 'n waterbad by 44°C ($\pm 0,5^{\circ}\text{C}$) geplaas. Indien gas en suur in die MacConkey medium by hierdie temperatuur geproduseer word, is die triptonwaterkultuur vir die teenwoordigheid van indool, volgens die metode wat deur Harrigan en McCance (1966) aangegee word, getoets. In gevalle waar beide gas en suur asook indool geproduseer is, is 'n Gram kleuring van die betrokke mikro-organismes gemaak. Indien Gram negatiewe, staafvormige bakterieë teenwoordig is, word aanvaar dat die ADG monster met E. coli tipe I mikro-organismes besmet is. Alle bepalinge is in duplikaat gedoen.

4.5.3 Resultate

In geen ADG monsters wat ondersoek is, kon E. coli tipe I mikro-organismes aangetoon word nie. Uit die aard van die saak volg dit nie dat alle ADG wat die handel bereik, vry van E. coli is nie.

4.6 Die teenwoordigheid van asynsuurbakterieë in ADG

4.6.1 Inleiding

Volgens van der Walt (1956) en Novellie (1968) is die teenwoordigheid van asynsuur in bantoebier in konsentrasies so laag as 0,5% ongewens. Die bantoebier kan alleenlik vry van asynsuur gehou word indien die beslag en die eindproduk,

naamlik die bantoebier, nie met asynsuurproduserende mikro-organismes besmet raak nie. Gevolglik is die teenwoordigheid van asynsuurproduserende mikro-organismes in ADG ongewens.

Die asynsuurbakterieë is van die mees prominente asynsuurproduserende mikro-organismes (Pelczar & Reid, 1965). Volgens Gibbs en Shapton (1968) word die asynsuurbakterieë in drie genera, naamlik Acetobacter, Acetomonas en Gluconobacter ingedeel. Slegs spesies van die genera Acetobacter en Acetomonas is in staat om etanol, in die teenwoordigheid van suurstof, na asynsuur om te sit.

4.6.2 Bepaling van asynsuurbakterieë in ADG

Tien milliliter Acetobacter medium, wat vooraf asepties in 'n een liter Erlenmeyerfles gevoeg is, is met 1 ml van 'n honderdvoudige verdunning van die ADG monster geïnkuleer. Die fles is vir vyf dae by 25°C tot 28°C geïnkubeer, waarna die teenwoordigheid van asynsuur in die medium bepaal is deur daaraan te ruik. 'n Skerp, prikkellende, kenmerkende reuk van asynsuur dui die moontlike aanwesigheid van asynsuurbakterieë in die ADG monster aan. In twyfelagtige gevalle is subkulture in Acetobacter medium gemaak wat vir drie dae by 25°C tot 28°C geïnkubeer is en weer vir die teenwoordigheid van asynsuur getoets is.

Die teenwoordigheid van asynsuurbakterieë in die Acetobacter medium is bevestig deur 'n paar druppels van die verdagte suspensie op kalk-gisekstrak-agar uit te spreid en die geïnkuleerde Petribakkies vir drie dae by 25°C tot 28°C te inkubeer. Asynsuurbakterieë word herken deurdat helder sonies in die kalk-gisekstrak-medium om die kolonies ontstaan.

Die samestelling en voorbereiding van die media wat gebruik is, is as volg:

Acetobacter medium

Gisekstrak	0,5	g
D (+) glukose monohidraat	1	g
Sukrose	0,3	g
Maltose	0,3	g
Etanol (99 tot 100%)	4,5	ml
Gedistilleerde water	100	ml

Kalk-gisekstrak-agar

Gisekstrak	1	g
Kalsiumkarbonaat	2	g
D (+) glukose monohidraat	2	g
Agar	1,5	g
Etanol (99 tot 100%)	2	ml
Gedistilleerde water	100	ml

Die bestandele, behalwe die etanol, is in die water opgelos en vir 15 minute by 121^oC in 'n autoklaaf gesteriliseer. Nadat die media na 45^oC afgekoel het is die etanol daarby gevoeg. Die kalk-gisekstrak-agar is direk in Petri-bakkies gegiet.

4.6.3 Resultate

Al die ADG monsters wat ondersoek is, was vry van asynsuurbakterieë. Dit dui egter nie daarop dat alle ADG wat die handel bereik, vry van asynbakterieë is nie.

HOOFSTUK V

DIE GISTINGTEMPO VAN AKTIEWE DROË BROUERSGIS

5.1 Inleiding

Die tweede mikrobiële omsetting wat tydens die brou van bantoebier plaasvind, is 'n alkoholiese gisting. Hierdie gisting word deur bogistende stamme van *S. cerevisiae*, wat in die vorm van ADG aan die brouer voorsien word, uitgevoer.

Nadat die beslag na 30°C afgekoel het, word ADG daarby gevoeg. Die alkoholiese gisting wat hierop volg, word gewoonlik binne agt tot 24 uur voltooi (Novellie, 1968). Dit word aanbeveel dat die beslag met groot hoeveelhede ADG, ongeveer 0,02% (g/v), geïnkuleer word (Novellie, 1966; Visser, 1971). Die doel hiervan is om onder andere die groei van kontaminerende, ongewenste mikro-organismes deur die groot aantal aktief vermeerderende gisselle te onderdruk of te vertraag. Sodoende word die gehalte en die hou vermoë van die bantoebier verbeter.

Aktiewe droë brouersgis is 'n heterogene mengsel wat uit lewensvatbare kultuur gisselle, geïnaktiveerde gisselle, „nie-kultuur” gisselle en bakterieë bestaan (Hoofstuk III en IV). Om die alkoholiese gisting tydens bantoebierbereiding binne agt tot 24 uur te laat geskied en die groei van kontaminerende mikro-organismes in die beslag effektief te vertraag of te onderdruk, moet die gisselle wat in ADG teenwoordig is in 'n aktiewe toestand wees.

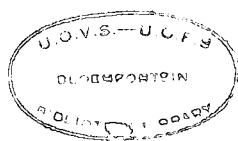
Gedurende die alkoholiese gisting word glukose, maltose en ander gisbare suikers, wat in die bantoebierbeslag teenwoordig is, hoofsaaklik na etanol en koolsuurgas omgesit.

Volgens die formule van Guy Lussac sal vir elke mol etanol wat tydens alkoholiese gisting gevorm word een mol koolsuurgas geproduseer word (Enebo & Sandegren, 1952). Koolsuurgas- of etanolproduksie kan dus gebruik word om die verloop van 'n alkoholiese gisting te volg. Thorne (1954) het die tempo waarteen koolsuurgas deur brouersgis, onder gespesifiseerde omstandighede geproduseer is, as maatstaf gebruik om die gedrag van die brouersgis gedurende alkoholiese gisting te kan voorspel.

Jago het reeds in 1885 voorgestel dat die vermoë van gis om gas in 'n sukrose oplossing, wat met ammonium- en kaliumfosfate verryk is, te produseer, as aanduiding van die aktiwiteit van die gis gebruik kan word (White, 1954). Sedert die tydperk van Jago is verskeie metodes ontwikkel om die tempo van koolsuurgasproduksie deur giste, tydens alkoholiese gisting, vas te stel. Verskeie appaarte is vir die doel beskikbaar. Die meeste appaarte bestaan uit 'n reaksiefles wat 'n sukrose oplossing en gis bevat en aan 'n gasburet verbind is. Die reaksiefles word geskud om die gisselle in suspensie te hou en te verhoed dat die gistingssubstraat met koolsuurgas oorversadig raak. Die hoeveelheid koolsuurgas wat tydens die alkoholiese gisting deur die gis in die reaksiefles geproduseer word, word bepaal deur die gas in 'n gasburet oor kwik of 'n kalsiumchloriedoplossing op te vang (White, 1954).

Lewis, Dwarkanath en Johar (1958) en Burrows en Harrison (1959) het die aktiwiteit van bakkersgis bepaal deur die bakkersgis met meel te meng en dan 'n deeg te maak. Die aktiwiteit van die bakkersgis is in verband gebring of met die tyd wat nodig was om die volume van die deeg te verdubbel of met die hoeveelheid koolsuurgas wat binne 'n bepaalde tyd geproduseer is.

Die gistingstempo van giste is deur Gilliland (1955) bepaal deur die verandering in soortlike gewig van 'n



gistingssubstraat wat tydens alkoholiese gisting plaasvind, na te gaan. Deur dit te vergelyk met die verandering in soortlike gewig van dieselfde gistingssubstraat wat deur 'n standaardgis tydens alkoholiese gisting teweë gebring is, is die gistingstempo van die onbekende gis bepaal.

Thorne (1954) het die apparaat van Bamann en Myrbäck (1941) wat later deur Enebo en Sandegren (1952) gewysig is, gebruik om die gistingstempo van brouersgis te bepaal. Die apparaat bestaan uit 'n bewegende fermentasieflessie waarin die gistingssubstraat en gis gevoeg is. Die fermentasieflessie word by konstante temperatuur in 'n waterbad gehou en is deur middel van 'n glasbuis aan 'n gasburet verbind. Die gasburet is met kwik gevul wat deur koolsuurgas, wat tydens alkoholiese gisting geproduseer word, verplaas word. Die gistingstempo van brouersgis is deur Thorne (1954) in terme van 'n enkele waarde die $\bar{\phi}$ waarde uitgedruk. Hierdie $\bar{\phi}$ waarde word bepaal om die hoofdeel van 'n alkoholiese gisting te karakteriseer en kan gedefinieer word as die hoeveelheid koolsuurgas wat in een uur deur 1 g gis geproduseer word. Hiervolgens is

$$\bar{\phi} = \frac{v \times h}{t \times g}$$

waar

v = 80% van die totale hoeveelheid koolsuurgas wat geproduseer kan word

h = 60

t = tyd in minute benodig deur die gis om 80% van die totale hoeveelheid koolsuurgas te produseer

g = massa van die gis wat tydens die bepaling gebruik is.

Anders as wat verwag is, is die Warburg-apparaat nie gebruik om die gistingstempo van aktiewe droë gis te bepaal nie. 'n Voorlopige ondersoek is uitgevoer om te bepaal of die Warburg-tegniek gebruik kan word om die gistingstempo van ADG te bepaal. Dit is egter gevind dat weens die heterogeniteit van die ADG en die klein hoeveelheid gis wat gebruik moet word, dit nie moontlik was om herhaalbare resultate met die Warburg-tegniek te kry nie. Die moontlikheid om 'n apparaat te gebruik soortgelyk aan die wat deur Enebo en Sandegren (1952) gebruik is, is ook ondersoek. Dit het egter geblyk dat weens die grootte van die apparaat dit omslagtig en lomp is en dus nie vir roetine doeleindes geskik sou wees nie. Gevolglik is die gistingstempo van ADG in hierdie ondersoek bepaal deur gebruik te maak van 'n apparaat wat gebaseer is op die apparaat wat deur Thorne (1954) gebruik is.

5.2 Die bepaling van die gistingstempo van ADG

5.2.1 Apparaat

Die apparaat wat gebruik is om die gistingstempo van ADG te bepaal, bestaan uit 'n 100 ml gasburet wat deur middel van glasbuise aan 'n peervormige glasreservoir en 'n fermentasieflessie verbind is (Figuur 7). Die gasburet en die glasreservoir is met 'n 10% (g/v) kalsiumchloriedoplossing gevul. Die apparaat is so gemonteer dat beide die gasburet en die reservoir op en af beweeg kan word.

Deur middel van 'n glas sybuis (x) wat van 'n kraan (b) voorsien is, word die gasburet aan die atmosfeer blootgestel. Die tweede glas sybuis (y) van die gasburet strek oor die rand van die waterbad in die waterbad in af. Die sybuis (y) is van 'n slypstuk voorsien waaraan 'n 50 ml fermentasieflessie, wat ook 'n slypstuk het, gasdig geheg kan word. Die fermentasieflessie is van 'n kantelbare syarm voorsien. Die syarm

bevat 'n slypstuk wat in 'n slypstuk van die fermentasieflessie pas en gasdig daaraan geheg kan word. Die syarm van die fermentasieflessie is so gekonstrueer dat indien dit gekantel word die hele inhoud daarvan in die fermentasieflessie sal beland. Die fermentasieflessie word deur middel van die sybuis, kraan (c) en 'n rubberbuis aan die atmosfeer verbind.

'n Magnetiese roerstafie, een sentimeter lank, in die fermentasieflessie word deur 'n Methrom magnetiese roerder, wat onderkant die waterbad geplaas is, aangedryf. Die glas waterbad is 45 cm diep en word byna tot oorlopenstoevol met kraanwater gevul. 'n Houtplank wat die waterbad ondersteun is hoog genoeg aan die metaalkonstruksie gekoppel sodat die magnetiese roerder onder die plank ingeskuif kan word. Die temperatuur van die waterbad word deur 'n Bühler termostaat, wat aan die metaalkonstruksie vas is, by 30°C ($\pm 0,5^{\circ}\text{C}$) gehou.

'n Metaalsilinder, wat kooldioksied bevat, is een meter van die apparaat af geplaas en is deur middel van 'n rubberbuis aan die apparaat verbind. 'n Veiligheidsuitlaatklep is in die rubberbuisverbinding tussen die kooldioksiedsilinder en die apparaat aangebring.

5.2.2 Faktore wat die bepaling van die gistingstempo van ADG beïnvloed

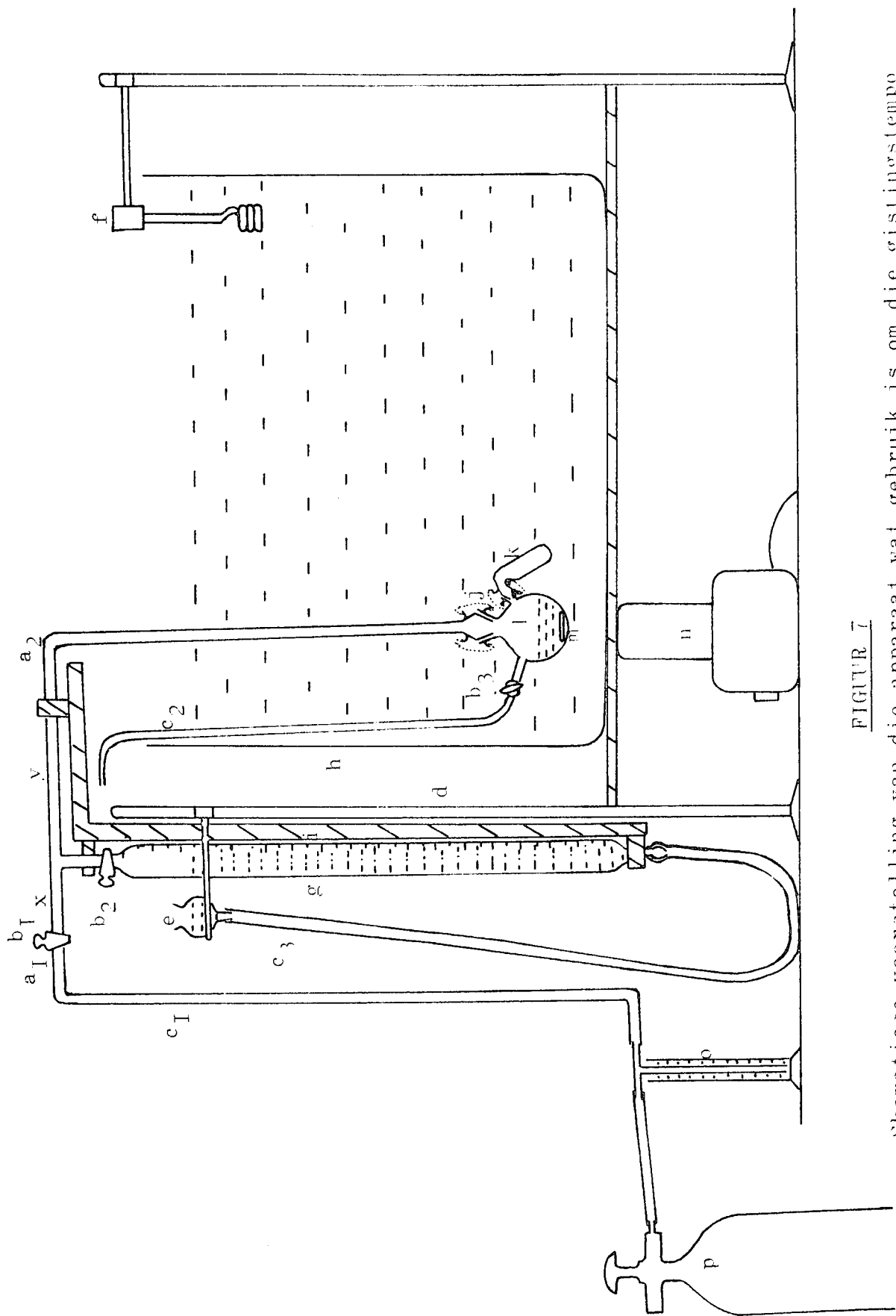
5.2.2.1 Inleiding

Die invloed van verskeie faktore op die gistingstempo van ADG is tydens voorafgaande ondersoeke nagegaan.

5.2.2.2 'n Standaard gistingsubstraat vir die bepaling van die gistingstempo van ADG

a. Inleiding

Om die gistingstempo van verskillende ADG monsters te vergelyk,



FIGUR 7

Skematiese voorstelling van die apparaat wat gebruik is om die gistingstempo van ADG te bepaal

Verklaring van Figuur 7

- a₁ - Sybuis (x)
- a₂ - Sybuis (y)
- b₁ - Kraan (b)
- b₂ - Kraan (a)
- b₃ - Kraan (c)
- c₁ - Rubberbuis
- c₂ - Rubberbuis
- c₃ - Dikwandige rubberbuis
- d - Metaalraamwerk
- e - Reservoir
- f - Termostaat
- g - 100 ml gasburet gevul met 10% (g/v)
CaCl₂ oplossing
- h - Waterbad
- i - Houtraamwerk
- j - Metaalvere
- k - Syarm
- l - Fermentasieflessie met fermentasiemedium
- m - Magnetiese roerstafie
- n - Magnetiese roerder
- o - Veiligheidsuitlaatklep
- p - Koolsuurgassilinder

is dit nodig dat die gistingstempo's daarvan onder identiese toestande bepaal word. Aangesien ADG tydens die brou van bantoebier gebruik word om die alkoholiese gisting uit te voer, is dit wenslik dat die gistingstempo van ADG in 'n substraat wat ongeveer dieselfde samestelling as die bantoebierbeslag het, bepaal word. Gevolglik is die moontlikheid ondersoek om sorghummoutekstrak as gistingsubstraat vir die bepaling van die gistingstempo van ADG te gebruik.

Die moontlikheid om 'n chemies gedefinieerde sintetiese of semi-sintetiese medium, wat kommersieël beskikbaar is, as gistingsubstraat te gebruik, is ook ondersoek.

b. Metode gevolg om 'n geskikte standaard gistingsubstraat te vind

'n Aantal sorghummoutekstrakte is berei deur 10% (g/v) graan-sorghummout in water mengsel tot pH 4,0 met 10% (v/v) melksuur aan te suur. Die aangesuurde mengsel is vir twee uur in 'n waterbad by 60°C gehou terwyl dit gedurig met meganiese roerders geroer is. Die moutekstrak is daarna deur 'n Whatman nr. 1 filtreerpapier gefiltreer. Die filtraat is so gou moontlik tot 93°C oor 'n bunsenvlam verhit. Die sorghummoutekstrakmedium is in een liter flesse gevoeg en vir 15 minute by 121°C, in 'n autoklaaf, gesteriliseer.

Om te bepaal of die samestelling van die verskillende moutekstrakte dieselfde is, is die gistingstempo van dieselfde ADG monster met die verskillende lotte moutekstrak as gistingsubstraat soos in 5.2.3 bespreek, met mekaar vergelyk. Aansienlike variasie in gistingstempo is egter waargeneem. Hierdie variasie kon moontlik aan verskille in die suikerinhoud van die verskillende ekstrakte toegeskryf word. Gevolglik is die glukose-, maltose- en maltotriose-inhoud van die verskillende lotte moutekstrakte met behulp van die Van Iterson-Kluyver metode van Kluyver (1914) bepaal. Vir hierdie doel is gebruik gemaak van geselekteerde kulture van S. unisporus Jörgenson,

S. cerevisiae en S. uvarum Beijerinck wat onderling in hul gisting van maltose en maltotriose verskil. Die glukose- en maltose-inhoud van die verskillende lotte moutekstrak is gelyk gestel en die gistingstempo van dieselfde ADG monster is daarin bepaal. Omdat die gistingstempo's nog steeds verskillend was, is die medium wat die laagste waarde gelewer het met 0,25 ml van die vitamienoplossing van van der Walt (1970) verryk. Die gistingstempo van dieselfde ADG monster is weereens daarin bepaal. Die gistingstempo's van dieselfde ADG monster was nog verskillend. Gevolglik is verskeie semi-sintetiese en chemies gedefinieerde sintetiese media as gistingsubstraat gebruik om die moontlikheid te ondersoek om hierdie tipe media as standaard gistingsubstraat te gebruik.

Die resultate wat verkry is word in Tabelle 11 en 12 aangegee.

c. Resultate en gevolgtrekking

Dit is nie moontlik om 'n sorghummoutekstrak met dieselfde samestelling agtereenvolgens te berei nie (Tabelle 11 en 12). Dit blyk ook dat die verskil tussen die moutekstrakte nie slegs aan die verskil in glukose-, maltose-, maltotriose- en vitamieninhoud toegeskryf kan word nie. Weens die feit dat dit nie moontlik is om moutekstrakte met dieselfde samestelling te berei nie, is dit gevolglik nie moontlik om sorghummoutekstrak as standaard gistingsubstraat vir die bepaling van die gistingstempo van ADG, te gebruik nie.

Sekere semi-sintetiese en chemies gedefinieerde sintetiese media kan as vergistingssubstraat gebruik word (Tabel 11). In vergelyking met die semi-sintetiese media blyk dit dat Wickerham stikstofbasis, verryk met 1,24% (g/v) glukose, die beste gistingsubstraat is (Tabel 11). Wickerham stikstofbasis is 'n chemies gedefinieerde sintetiese medium en dus ook ten volle reproduseerbaar. Aangesien hierdie medium ook kommersieël beskikbaar is, is dit maklik bekombaar en is dit

TABEL 11

Die $\bar{\phi}$ waardes van ADG met
verskillende gistingsubstraat

Medium [*]	$\bar{\phi}$	ALG gebruik
M.E. - 1	145	C.8
M.E. - 2	157	C.8
M.E. - 3	153	C.8
M.E. - 1	143	A.12
M.E. - 2	154	A.12
M.E. - 1 + malt	141	A.12
M.E. - 1 + vit.	127	A.12
M.E. - 1 + biot.	122	A.12
M.E. - 1	113	B.12
G.E. + glu.	126	B.12
B.P. + glu.	120	B.12
W.N. + glu.	129	B.12

*Vir die samestelling van die media
sien Tabel 12

TABEL 12

Die samestelling van verskeie gistingsubstrate vir die
bepaling van die gistingstempo van ADG

Medium	% Glukose	% Maltose	% Maltotriose	Ander	pH
M.E. - 1	1,24	0,11	0,17	Moutekstrak	4,0
M.E. - 2	1,24	0,51	0,15	Moutekstrak	4,0
M.E. - 3	-	-	-	Moutekstrak	4,0
G.E. + glu.	1,24	0	0	1,0% Gisekstrak	4,0
B.P. + glu.	1,24	0	0	1,0% Bacto Pepton	4,0
W.N. + glu.	1,24	0	0	Wickerham stikstof- basis	4,0
M.E. - 1 + malt	1,24	0,51	0,17	Moutekstrak	4,0
M.E. - 1 + vit.	1,24	0,51	0,17	Moutekstrak + 0,25 ml vitamienoplossing	4,0
M.E. - 1 + biot.	1,24	0,51	0,17	Moutekstrak + 0,06 mg% biotin	4,0

gevolglik in hierdie ondersoek met 1,24% (g/v) glukose ver-
ryk, na pH 4,0 gebring en as standaard gistingssubstraat gebruik.

5.2.2.3 Die invloed van verskillende hoeveelhede gisting- substraat

a. Inleiding

Om vas te stel watter volume gistingssubstraat 'n prakties
meetbare hoeveelheid koolsuurgas binne 'n redelike tyd sal
gee, is verskillende hoeveelhede gistingssubstraat gebruik om
die gistingstempo van ADG te bepaal.

b. Eksperimentele metode

Verskillende hoeveelhede gistingssubstraat is gebruik om die
gistingstempo van ADG te bepaal (5.2.3). Die resultate word
in Figuur 8 aangegee.

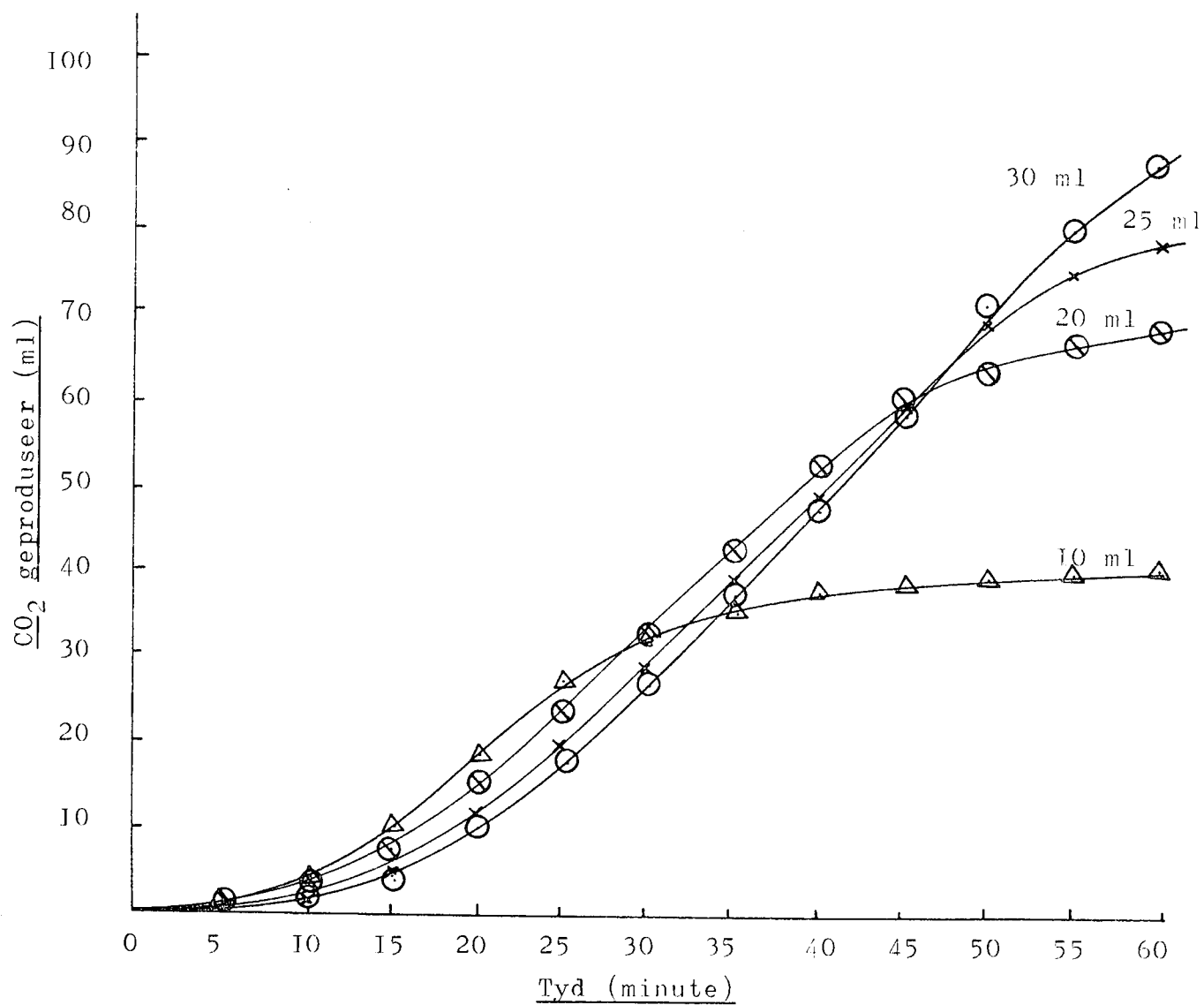
c. Resultate en gevolgtrekking

Waar 30 ml gistingssubstraat gebruik is, is meer as 100 ml
koolsuurgas geproduseer. Met 25 ml gistingssubstraat is on-
geveer 95 ml koolsuurgas na volledige gisting geproduseer,
sodat die gasburet byna volledig met gas gevul was (Figuur 8).
Om dié rede is besluit om 25 ml gistingssubstraat vir die
bepaling van die gistingstempo van ADG te gebruik.

5.2.2.4 Die invloed van verskillende hoeveelhede ADG

a. Eksperimentele metode

Verskillende hoeveelhede ADG is gebruik om die gistingstempo
van 'n bepaalde ADG monster te bepaal (5.2.3). Alle be-
palings is in duplikaat gedoen. Die resultate word in
Figuur 9 aangedui.



FIGUUR 8

Die produksie van koolsuurgas deur 0,5 g ADG in verskillende hoeveelhede gistingssubstraat

b. Resultate en gevolgtrekking

Koolsuurgas word teen verskillende tempo's deur verskillende hoeveelhede ADG geproduseer (Figuur 9). Dit is dus noodsaaklik dat presies dieselfde hoeveelheid ADG vir die bepaling van die gistingstempo van 'n ADG monster gebruik moet word. Gevolglik is 0,5 g ADG, afgeweg tot die vierde desimale syfer en op vogvrye basis bereken, deurgaans gebruik.

5.2.2.5 Die invloed van die spoed waarmee die magnetiese roerstafie in die gistingsubstraat roteer

a. Inleiding

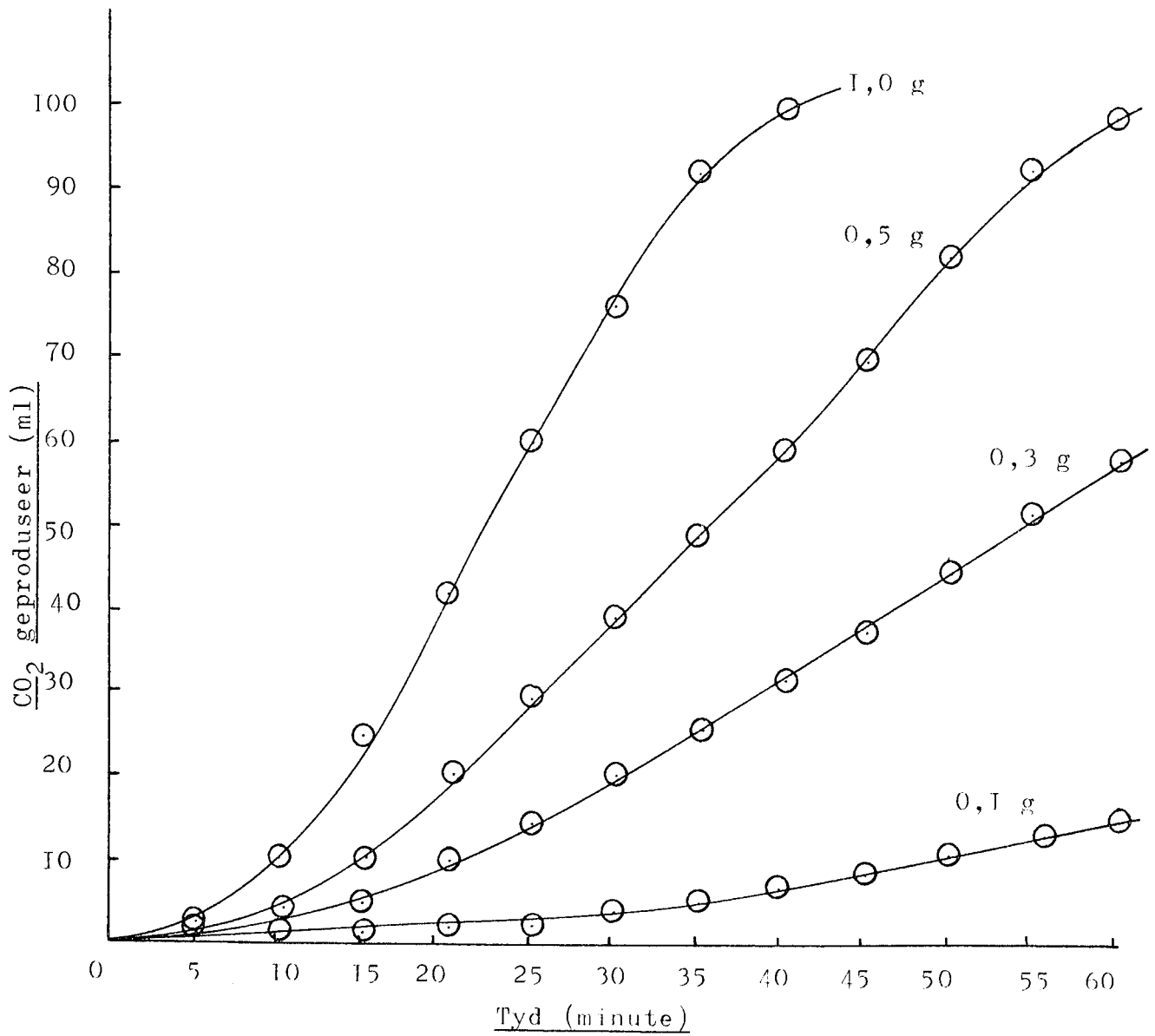
Volgens Schultz, Atkin en Frey (1942) is dit nodig dat die gistingsubstraat in die fermentasieflessie in beweging gehou word ten einde te verseker dat die gisselle in die gistingsubstraat in suspensie bly. Sodoende word ook verhoed dat die gistingsubstraat oorversadig met koolsuurgas raak en dat die koolsuurgas gevolglik onreëlmatig vrygestel word. Die beweging van die gistingsubstraat moet egter nie so hewig wees dat dit teen die wande van die fermentasieflessie opspat nie.

b. Bepaling van die invloed van die spoed waarmee die magnetiese roerstafie in die gistingsubstraat roteer

Die gistingstempo's van 'n ADG monster is agtereenvolgens, soos in 5.2.3 bespreek, bepaal terwyl die magnetiese roerstafie teen verskillende tempo's roteer het. Alle bepalinge is in duplikaat gedoen. Die resultate wat verkry is, word in Figuur 10 aangedui.

c. Resultate en gevolgtrekking

Indien geen rotasie van die magnetiese roerstafie in die vergistingsubstraat plaasgevind het nie, is die koolsuurgas tydens die vergisting onreëlmatig vrygestel. Waar die



FIGUUR 9

Die produksie van koolsuurgas deur verskillende hoeveelhede ADG

magnetiese roerstafie teen ongeveer 400 o.p.m. geroteer het, is die vergistingssubstraat teen die wande van die fermentasieflessie opgespat. In gevalle waar die magnetiese roerstafie teen 100 o.p.m. (± 1 o.p.m.) geroteer het, het die gisselle in die gistingssubstraat in suspensie gebly en het die gistingssubstraat nie teen die kante van die fermentasieflessie opgespat nie. Die koolsuurgas is ook in die geval reëlmatig vrygestel (Figuur 10). Hierdie rotasiespoed is gevolglik tydens die bepaling van die gistingstempo van ADG gebruik.

5.2.2.6 Die invloed van koolsuurgasspoeling

a. Inleiding

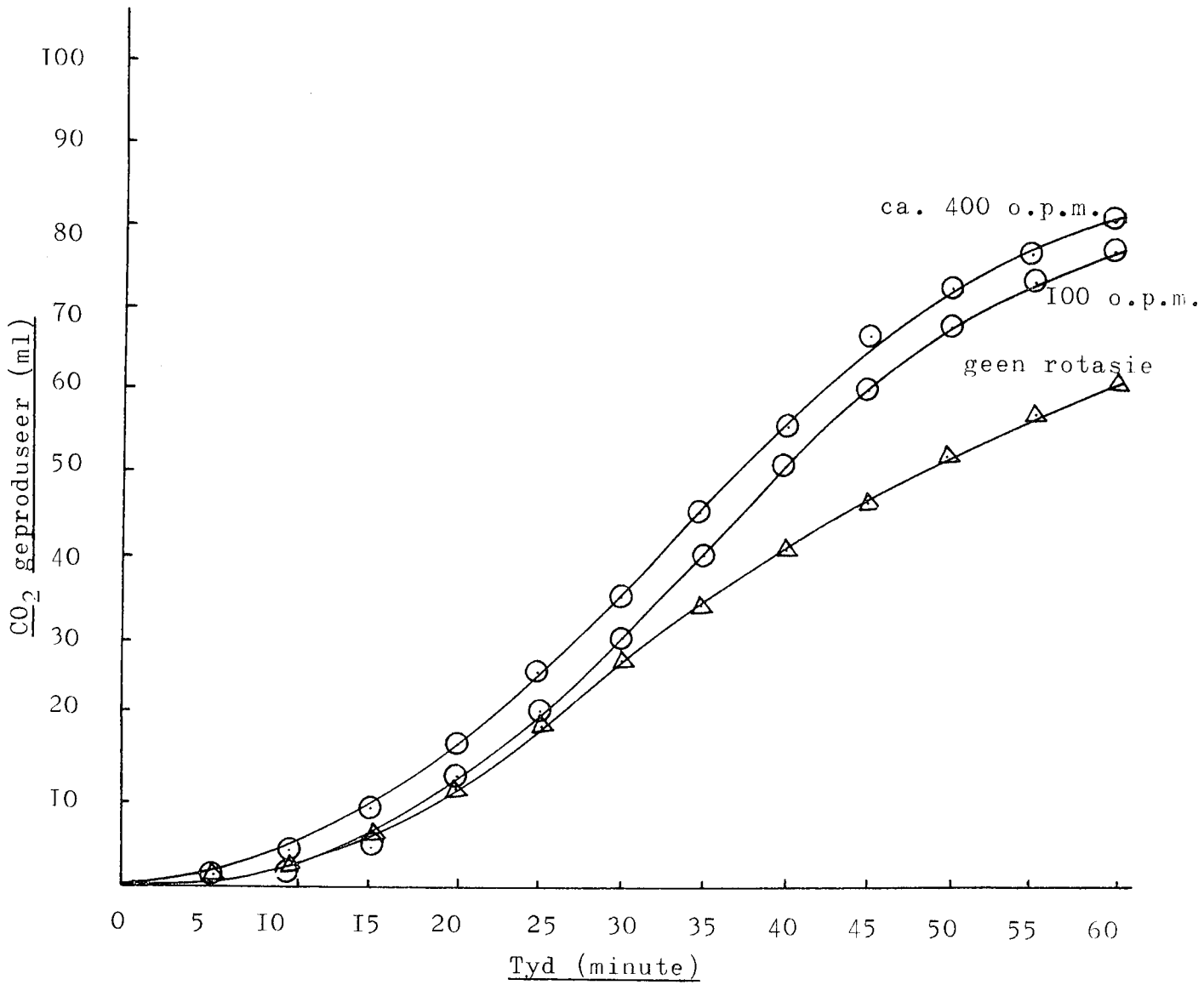
Die spoel van die apparaat met koolsuurgas is nodig om respirasie te onderdruk en te verseker dat die vloeistoffases, naamlik die kalsiumchloriedoplossing en die gistingssubstraat, met koolsuurgas versadig is.

b. Bepaling van die invloed van koolsuurgasspoeling

Nadat die apparaat vir 30 minute met koolsuurgas gespoel is, asook sonder dat die apparaat met koolsuurgas gespoel is, is die gistingstempo's van 'n ADG monster agtereenvolgens, soos in 5.2.3 bespreek, bepaal. Alle bepalings is in duplikaat gedoen. Die resultate word in Figuur 11 aangedui.

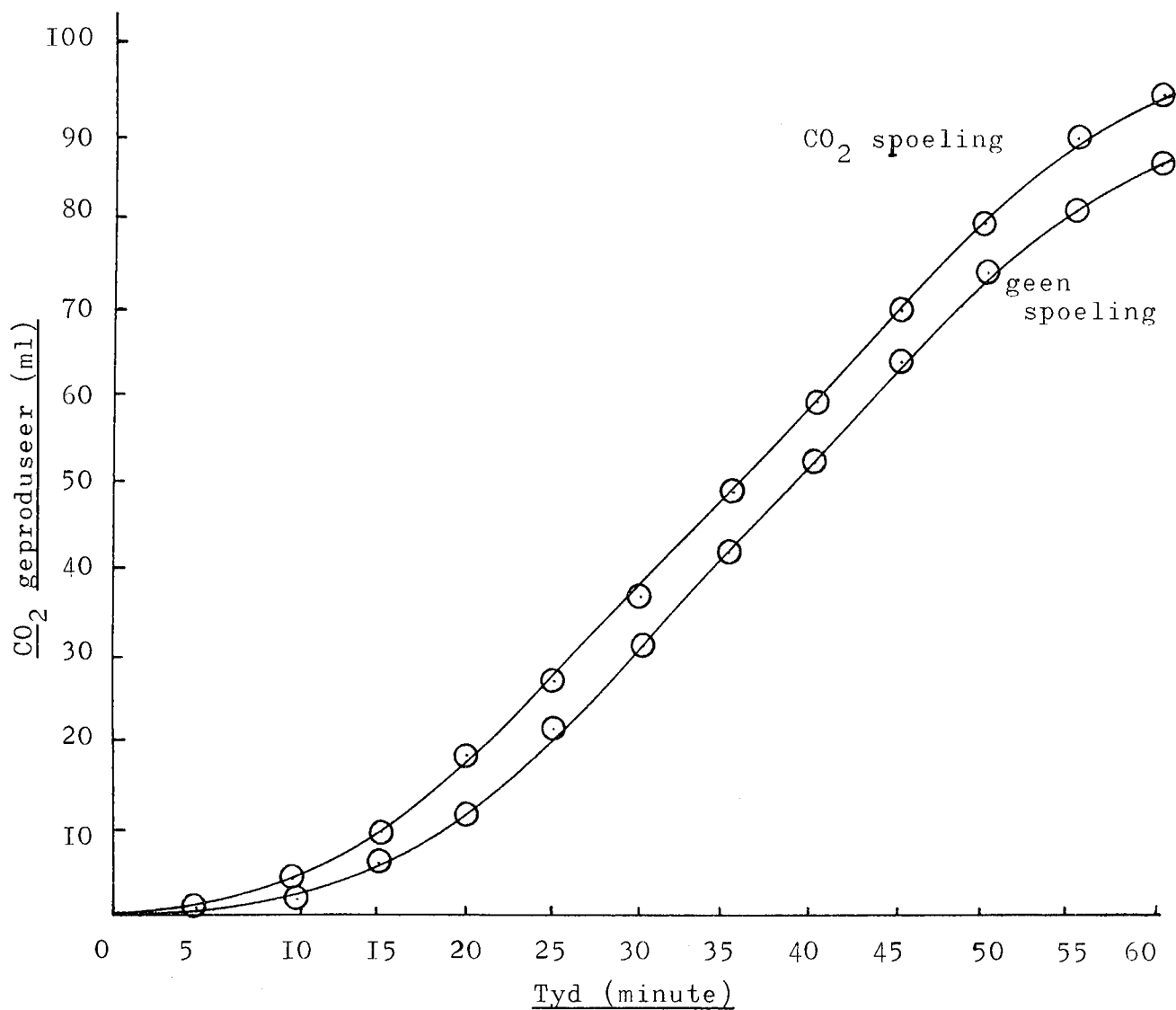
c. Resultate en gevolgtrekking

As gevolg van die Pasteur-effek, wat die vermoë van gis om te fermenteer onderdruk, blyk dit dat die produksie van koolsuurgas teen 'n stadiger tempo plaasgevind het wanneer die apparaat nie met koolsuurgas gespoel is nie (Figuur 11). Om die Pasteur-effek uit te skakel en fermentatiewe toestande in die apparaat te skep, is die apparaat soos in 5.2.3 bespreek, vooraf vir 30 minute met koolsuurgas gespoel.



FIGUUR 10

Die invloed van die spoed waarmee die magnetiese roerstaffie in die gistingsubstraat roteer op die gistingstempo van ADG



FIGUUR II

Die invloed van kooldioksidgevoelings op die gistingstempo
van ADG

5.2.2.7 Die invloed van skuimvorming

a. Inleiding

Tydens die bepaling van die gistingstempo van bepaalde ADG monsters is dit opgemerk dat groot hoeveelhede skuim gevorm kan word. Die gevolg hiervan was dat gisselle aan die kante van die fermentasieflessie bly vaskleef het. Dit is vermoed dat die vorming van skuim die gistingstempo van ADG beïnvloed.

b. Bepaling van die invloed van skuimvorming

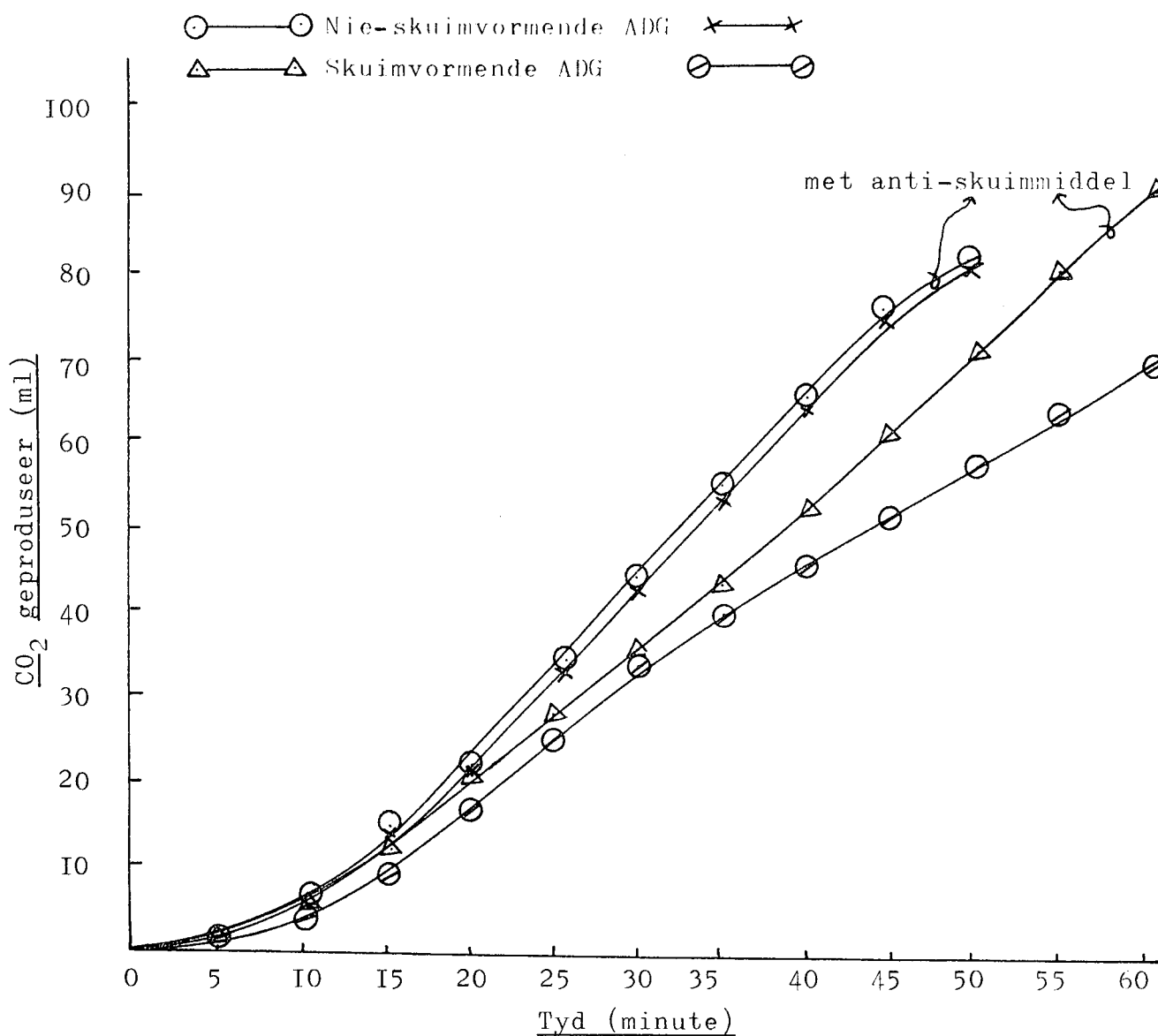
Die bepaling van die gistingstempo's van ADG monsters wat skuim vorm en van ADG monsters wat nie skuim vorm nie, is in duplikaat gedoen. Ongeveer 0,2 ml van 'n anti-skuimmiddel, wat uit 'n mengsel van sewe dele vloeibare medisinale paraffien en een deel oliesuur bestaan, is vooraf in die gistingssubstraat van een van die duplikaat bepalings gevoeg. Die prosedure, soos in 5.2.3 bespreek, is gevolg.

c. Resultate en gevolgtrekking

Die vorming van skuim beïnvloed die gistingstempo van ADG (Figuur 12). Dit blyk ook dat die vorming van skuim tydens gisting deur die anti-skuimmiddel onderdruk word sonder dat die gistingstempo van die giste beïnvloed word. Gevolglik is die vorming van skuim tydens die bepaling van die gistingstempo van ADG onderdruk deur vooraf 0,2 ml anti-skuimmiddel by die gistingssubstraat te voeg.

5.2.3 Bepaling van die gistingstempo van ADG

Met inagneming van die faktore wat die gistingstempo van ADG beïnvloed is die volgende werkswyse gevolg om die gistingstempo van ADG te bepaal. Die skoon, droë, magnetiese roerstafie, met plastiek oorgetrek, is in die fermentasieflessie,



FIGUUR 12

Produksie van kooldsuurgas deur skuimvormende en nie-skuimvormende ADG monsters in die teenwoordigheid en afwesigheid van anti-skuimmiddel

wat vooraf met gedistilleerde water gespoel is en by 50°C gedroog is, geplaas. Vyf en twintig milliliter (sien 5.2.2.3) gistingssubstraat (sien 5.2.2.2), waarby 0,2 ml anti-skuimmiddel gevoeg is (sien 5.2.2.7), is in die fermentasieflessie gevoeg. Kraan c van die fermentasieflessie is oopgelaat. In die syarm is 0,5 g ADG (sien 5.2.2.4) afgeweeg. 'n Hoë vakuum smeermiddel (Dow Corning Silikoon) is aan die slypstuk van die syarm aangesmeer. Die syarm is versigtig in sy posisie aan die fermentasieflessie geheg. Sorg is gedra dat van die ADG nie in die gistingssubstraat beland nie. Metaalvere is aangebring om te verseker dat die slypstukke van die syarm en die fermentasieflessie gasdig aanmekaar heg.

Die gasburet is na die boonste posisie geskuif sodat die punt van die sybuis (y) bo die oppervlakte van die water is. Die slypstuk van die sybuis (y) is ook met die hoë vakuum smeermiddel gesmeer. Die fermentasieflessie is versigtig aan die slypstuk van sybuis (y) geheg. Metaalvere is ook hier aangebring om 'n gasdigte aanhegting tussen die fermentasieflessie en die sybuis te verseker.

Vervolgens is die gasburet na die onderste posisie geskuif sodat die fermentasieflessie in die waterbad afsak en ongeveer 4 cm bo die magnetiese roerder tot stilstand kom. Die magnetiese roerder is aangeskakel en die gistingssubstraat is teen 100 o.p.m. (± 1 o.p.m.) (sien 5.2.2.5) van die magnetiese roerstafie gemeng.

Kraan a, b en c is steeds oopgelaat en die hele apparaat is vervolgens aan die koolsuurgassilinder deur middel van 'n rubberbuis gekoppel en vir 30 minute met koolsuurgas gespoel (sien 5.2.2.6). Gedurende die koolsuurgasspoeling is die kalsiumchloried reservoer herhaaldelik gelig en laat sak sodat alle lug uit die gasburet verplaas kon word.

Nadat die apparaat vir 30 minute met koolsuurgas gespoel is, is die koolsuurgas toevoer afgesluit en kraan c van die

fermentasieflessie is gesluit. Deur die reservoir tot op 'n bepaalde hoogte te skuif, is die kalsiumchloriedkolom in die gasburet tot op die nulmerk gebring. Kraan b, van sybuis x, is hierna gesluit. Deur die syarm van die fermentasieflessie versigtig te kantel, is die inhoud daarvan in die gisting-substraat gestort. Terselfdertyd is 'n stophorlosie aangeskakel. Die kamertemperatuur en lugdruklesing is so gou moontlik daarna gemeet en genoteer. 'n Negatiewe druk is in die gasburet gehandhaaf deur die kalsiumchloried oppervlakte in die reservoir altyd onder dié van die gasburet te hou. Die verstellings is, wanneer dit nodig was, gedurende die duur van die eksperiment gedoen. Deur die vlakke van die kalsiumchloriedoplossing in die reservoir en die gasburet gelyk te stel, is na tydsperiodes van vyf minute bepaal hoeveel koolsuurgas geproduseer is. Wanneer die produksie van gas afgeneem het, is 'n finale lesing geneem en terselfdertyd is die lugdruklesing en die kamertemperatuur weer bepaal en genoteer.

5.2.4 Die berekening van die gistingstempo van ADG

5.2.4.1 Berekeningsmetode

Thorne (1954) druk die gistingstempo van gis in terme van 'n enkele waarde, die sogenaamde \emptyset waarde uit. Die \emptyset waarde van gis word deur Thorne (1954) gedefinieer as die hoeveelheid koolsuurgas in milliliter by N.T.D. wat in een uur deur een gram gis geproduseer word.

Volgens Thorne (1954) word die einde van 'n gisting geleidelik bereik en gevolglik kan die volledige verloop van die gisting nie gebruik word om 'n enkele waarde te bereken wat die gisting sal karakteriseer nie. Om 'n gemiddelde waarde te kry, wat die hoofdeel van die gisting karakteriseer, is dit dus nodig om die finale waardes van die gisting buite berekening te laat.

Dit is gevind dat die vinnige afname in kooldioksied-
 produksie tydens gisting nie plaasvind voordat meer as 80% van
 die totale hoeveelheid kooldioksied geproduseer is nie (Thorne,
 1954). Om 'n enkele waarde te kry wat die gistingstempo onder
 enige gespesifiseerde eksperimentele kondisies karakteriseer
 bereken Thorne (1954) 'n gemiddelde $\bar{\phi}$ waarde, naamlik $\bar{\phi}$. Die
 $\bar{\phi}$ waarde word bereken deur die tyd wat nodig is om 80% van die
 totale hoeveelheid kooldioksied wat tydens volledige gisting
 geproduseer kan word, te bepaal. Vervolgens word hierdie
 waarde gebruik om die hoeveelheid kooldioksied by N.T.D., wat
 deur een gram gis in een uur geproduseer word, te bereken.
 In geval waar Wickerham stikstofbasis, verryk met 1,24% (g/v)
 glukose, soos in 5.2.3 bespreek, as gistingssubstraat gebruik
 word, is 76 ml kooldioksied, by N.T.D. bereken, na volledige
 gisting geproduseer. Tagtig persent hiervan is 60,8 ml.

Deur die resultate, soos in 5.2.3 verkry grafies voor te
 stel, word 'n grafiek wat die verloop van die vergisting aan-
 dui, verkry (Figuur 13). Van hierdie grafiek kan die tyd (t)
 wat nodig is om 60,8 ml (v) kooldioksied, by N.T.D. bereken, te
 produseer, verkry word. Aangesien 0,5 g ADG vir die bepaling
 gebruik word, is die $\bar{\phi}$ waarde as volg bereken:

$$\bar{\phi} = \frac{60 \times v}{t \times 0,5}$$

Uit Figuur 13 is t = 44 en v = 60,8, daarom is

$$\begin{aligned} \bar{\phi} &= \frac{60 \times 60,8}{44 \times 0,5} \\ &= 166. \end{aligned}$$

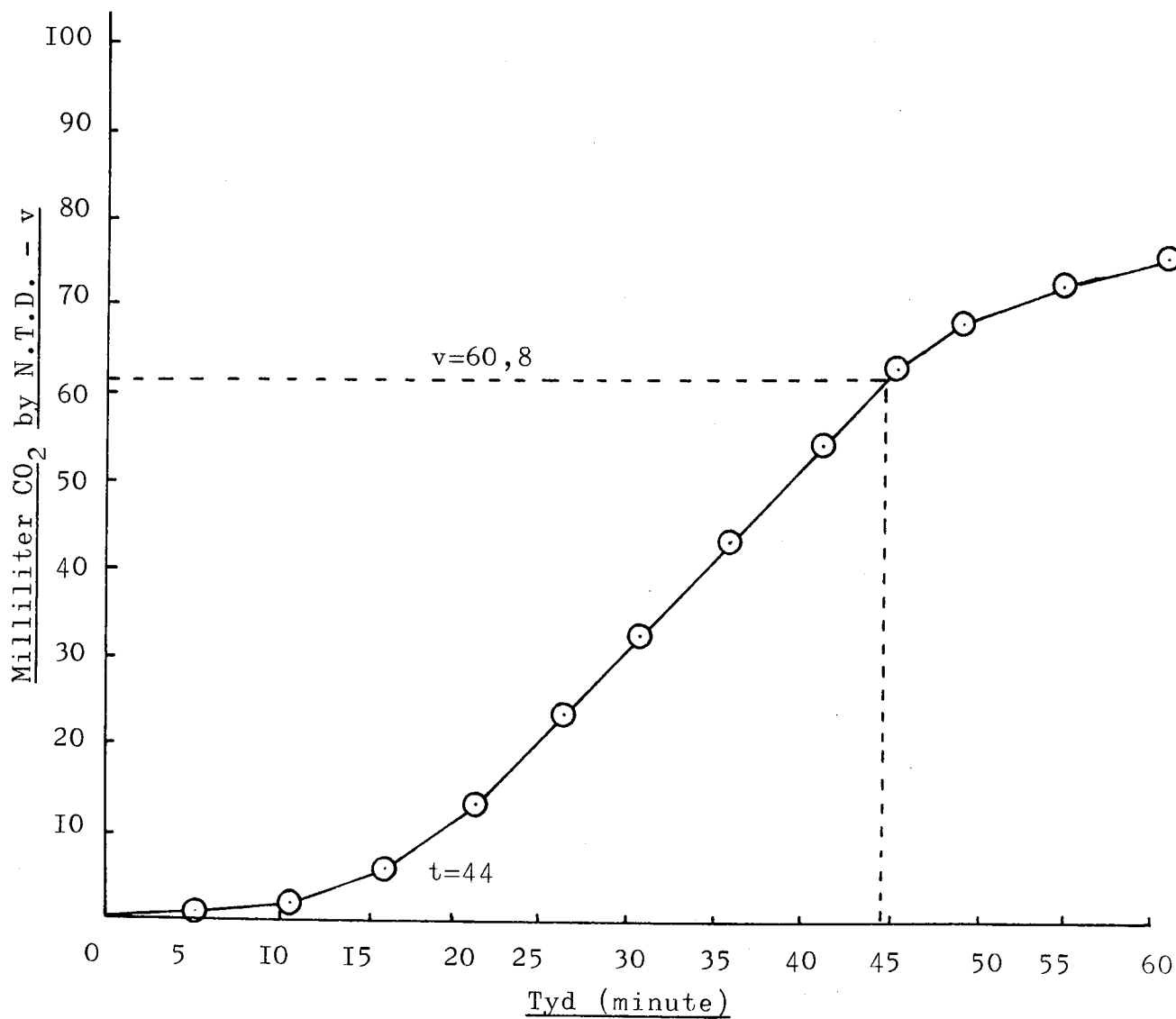
Die $\bar{\phi}$ waardes van ADG monsters is in duplikaat bepaal.
 Die resultate word in Tabel 13 aangegee.

5.2.4.2 Resultate en bespreking

Die gisting wat tydens die bepaling van die gistingstempo van ADG plaasvind, verskil van die gisting wat tydens bantoebierbereiding plaasvind in soverre dat die giskonsentrasie tydens die eersgenoemde gisting veel hoër as gedurende die laasgenoemde gisting is sodat daar geen noemenswaardige gisgroei gedurende hierdie gisting plaasvind nie. Tydens die bepaling van die gistingstempo van ADG word die gisselle gedurig geroer terwyl dit nie die geval tydens bantoebierbereiding is nie.

Dit word egter gehoop dat die waardes wat met hierdie metode verkry word, gebruik kan word om die gedrag van ADG tydens alkoholiese gisting te voorspel.

Soos met al die vorige ondersoekte eienskappe van ADG die geval was, blyk dit dat die gistingstempo's van verskillende ADG monsters heelwat varieer. Die $\bar{\phi}$ waardes van die ADG wat deur produsent A geproduseer is, varieer tussen 134 en 163 terwyl die $\bar{\phi}$ waardes van die ADG wat deur produsent B gelewer is tussen 122 en 163 gevarieer het en die $\bar{\phi}$ waardes van die ADG wat deur produsent C gelewer is tussen 128 en 143 gevarieer het.



FIGUUR 13

Die bepaling van die \emptyset waarde van ADG

TABEL 13

Die $\bar{\phi}$ waardes van die
verskillende ADG monsters

Monster nr.	Produsent A	Produsent B	Produsent C
	$\bar{\phi}$	$\bar{\phi}$	$\bar{\phi}$
1	147	131	142
2	150	144	131
3	145	139	143
4	138	141	133
5	150	139	128
6	149	141	133
7	163	151	132
8	137	163	143
9	143	146	136
10	134	122	135
Gemiddeld	146	142	136

HOOFSTUK VI

DIE INVLOED VAN DIE TEMPERATUUR VAN DIE REHIDRASIEVLOEISTOF OP DIE GISTINGSTEMPO VAN AKTIEWE DROE BROUERSGIS

6.1 Inleiding

Die aktiwiteit van ADBG word deur die temperatuur van die rehidrasievloeistof beïnvloed (Thorn & Reed, 1959). Peppler en Rudert (1953) en Ponté, Glass en Geddes (1960) het aangetoon dat die aktiwiteit van ADBG wat in water by ongeveer 5°C gerehidreer is, laer is as die aktiwiteit van ADBG wat in water by ongeveer 40°C gerehidreer is. ADBG wat in water by 4,5°C gerehidreer is, het 78% tot 89% minder koolsuurgas onder dieselfde toestande geproduseer as ADBG wat in water by 43°C gerehidreer is (Herrera *et al.*, 1956). Na aanleiding van Peppler en Rudert (1953) en Ponté *et al.* (1960) word die aktiwiteit van ADBG die beste herwin indien dit by ongeveer 40°C gerehidreer word.

Dit word aanbeveel dat ADG tydens die brou van bantoe-bier vooraf by 35°C tot 43°C gerehidreer word (Novellie, 1968; Visser, 1971). Die invloed wat die temperatuur van die rehidrasievloeistof op die gistingstempo van ADG het, is egter nie bekend nie. Gevolglik is hierdie invloed nagegaan.

6.2 Bepaling van die invloed van die temperatuur van die rehidrasievloeistof op die gistingstempo van ADG

Een gram hoeveelhede van dieselfde ADG monster is in 8 ml hoeveelhede fisiologiese soutoplossing, wat vooraf by verskillende temperature geëkwilibreer is, gerehidreer. Die ADG suspensies is deeglik gemeng deur dit te skud. Twee milliliter van die onderskeie suspensies is afsonderlik in 'n syarm

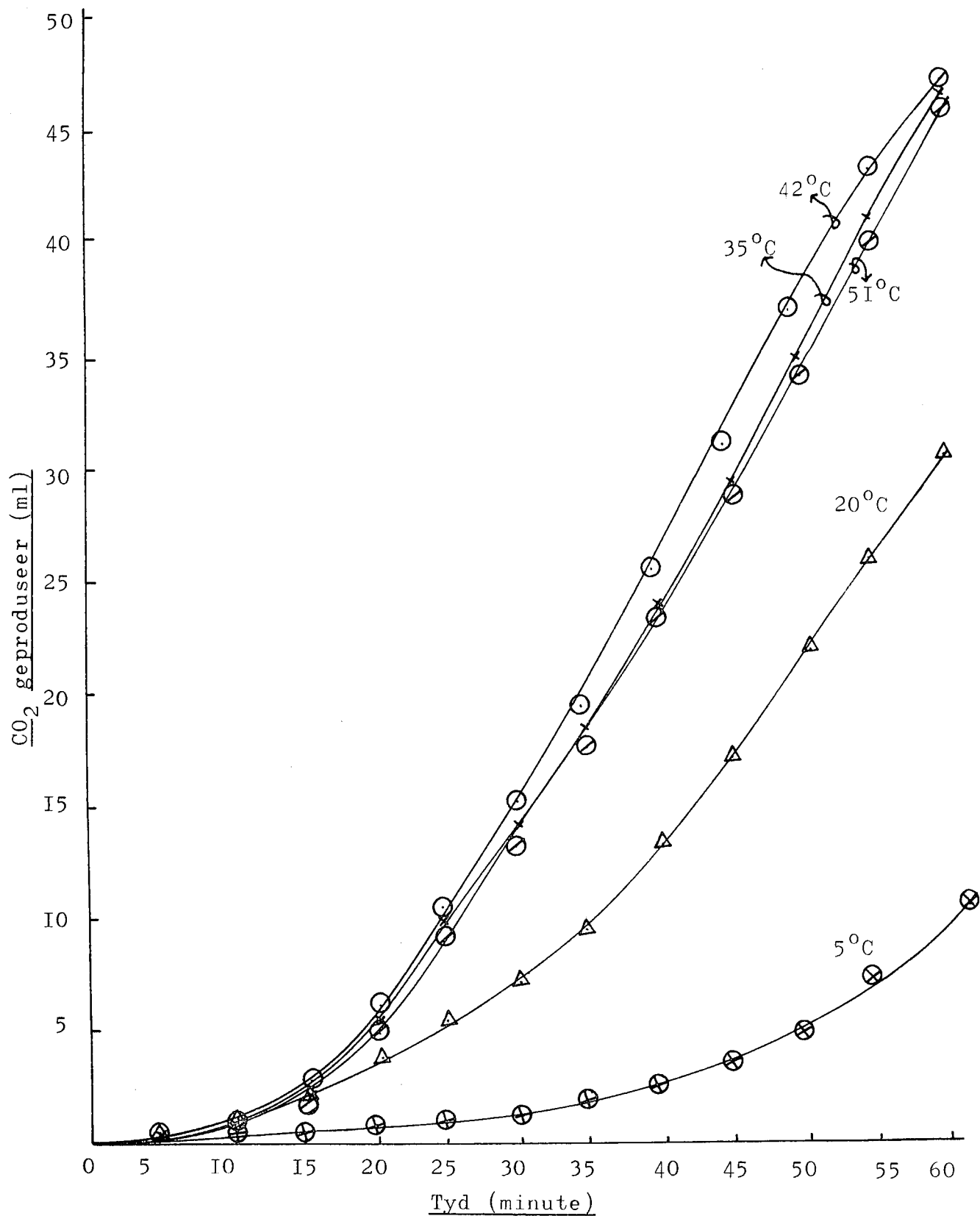
van die apparaat, soos in 5.2.1 beskryf, gevoeg.

Vooraf is die prosedure om die gistingstempo van ADG te bepaal met 'n leë syarm gevolg (5.2.3). Nadat die apparaat vir 25 minute met koalsuurgas gespoel is, is die fermentasieflessie uit die waterbad gelig. Die leë syarm is met die syarm, wat 2 ml van die ADG suspensie bevat het, vervang. Die fermentasieflessie is vervolgens weer in die waterbad laat afsak en die apparaat is vir 'n verdere vyf minute met koalsuurgas gespoel. Die gistingstempo's van die verskillende ADG suspensies is hierna bepaal (5.2.3). Alle bepalinge is in duplikaat gedoen. Die resultate word in Figuur 14 aangegee.

6.3 Resultate en gevolgtrekking

In ooreenstemming met die resultate wat deur Pepler en Rudert (1953) en Ponté *et al.* (1960) vir ADBG aangetoon is, is gevind dat die gistingstempo van ADG ook deur die temperatuur van die rehidrasievloeistof beïnvloed word. Die gistingstempo van ADG word die beste herwin wanneer dit by 35°C tot 42°C gerehidreer word (Figuur 14).

Dit is aangetoon dat die hoogste TLG telling vir ADG verkry word wanneer ADG by 42°C gerehidreer word (Hoofstuk II). Hierdie resultate dui daarop dat daar moontlik 'n verband tussen die gistingstempo van ADG en die TLG telling daarvan bestaan.



FIGUUR I4

Die invloed van die temperatuur van die rehidrasievloeistof op die gistingstempo van ADG

HOOFTUK VIIDIE VOG-, AS- EN STIKSTOFINHOUD VAN
AKTIEWE DROË BROUERSGIS7.1 Die vog- en asinhoud van ADG7.1.1 Inleiding

Die stabiliteit van ADBG neem vinnig af indien die voginhoud daarvan hoër as 12% is. Wanneer die voginhoud van ADBG onder 8% daal neem die aktiwiteit van die ADBG af aangesien meer gisselle gedurende die bereiding van ADBG geïnaktiveer word. ADBG wat 56%, 30% en 6,5% vog bevat het, het onderskeidelik 2%, 5,2% en 25% geïnaktiveerde gisselle bevat (Lewis et al., 1958).

Na aanleiding van Sant en Peterson (1958) is 'n voginhoud van 8% vir ADBG 'n voginhoud wat die aktiwiteit van die ADBG verhoog maar die stabiliteit daarvan verlaag en 'n voginhoud wat die stabiliteit van die ADBG verhoog maar die aktiwiteit daarvan verlaag. Volgens Bulletin nr. 37 (1969) van die International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC) is die voginhoud van ADBG 'n goeie maatstaf om die waarde van ADBG te bepaal. Dit blyk dat die gewenste voginhoud van ADBG 8% is (Lewis et al., 1958; Sant & Peterson, 1958; Thorn & Reed, 1959).

Dit is nie bekend of die vog- of asinhoud van ADG met die gistingstempo daarvan verband hou nie. Om die moontlikheid te ondersoek is die vog- en asinhoud asook die gistingstempo's van 'n aantal ADG monsters tydens 'n voorlopige ondersoek bepaal en vergelyk.

7.1.2 Bepaling van die vog- en asinhoud van ADG

Die metode van Brandon (1961) is gebruik om die vog- en asinhoud van ADG te bepaal. Die gistingstempo's van die ADG monsters is soos in 5.2.3 bespreek, bepaal. Alle bepalinge is in duplikaat gedoen. Die resultate word in Tabel 14 aangedui.

7.2 Die stikstofinhoud van ADG

7.2.1 Inleiding

Die stikstofinhoud van ADBG is een van die belangrikste kriteria om die aktiwiteit van ADBG te bepaal. Die stabiliteit van ADBG is omgekeerd eweredig aan die stikstofinhoud van ADBG terwyl die aktiwiteit met die stikstofinhoud van ADBG gekorreleer kan word. 'n Stikstofinhoud van 6,5% tot 7% van ADBG is 'n waarde waarby 'n kompromis tussen die maksimum stabiliteit en die maksimum aktiwiteit vir ADBG bereik word (Thorn & Reed, 1959).

Volgens die IUPAC bulletin nr. 37 (1969) dien die stikstofinhoud van ADBG as geen direkte aanduiding van die gehalte van ADBG nie. Die stikstofinhoud en die gistingstempo's van 'n aantal ADG monsters is egter bepaal om die moontlikheid te ondersoek of hierdie eienskappe van ADG nie met mekaar verband hou nie.

7.2.2 Bepaling van die stikstofinhoud van ADG

Die stikstofinhoud van ADG is volgens die makro-Kjedahlmetode soos deur Brandon (1961) bespreek, bepaal. Die gistingstempo's van die ADG monsters is volgens die gewone wyse bepaal. Alle bepalinge is in duplikaat gedoen. Die resultate word in Tabel 14 aangedui.

7.3 Resultate en gevolgtrekking

Die vog-, as- en stikstofinhoud van verskillende ADG monsters verskil onderling. Die voginhoud van ADG monsters varieer tussen 4,1% en 10,0%. Die asinhoud varieer tussen 5,3% en 6,4% terwyl die stikstofinhoud tussen 5,7% en 7,8% varieer (Tabel 14).

TABEL 14

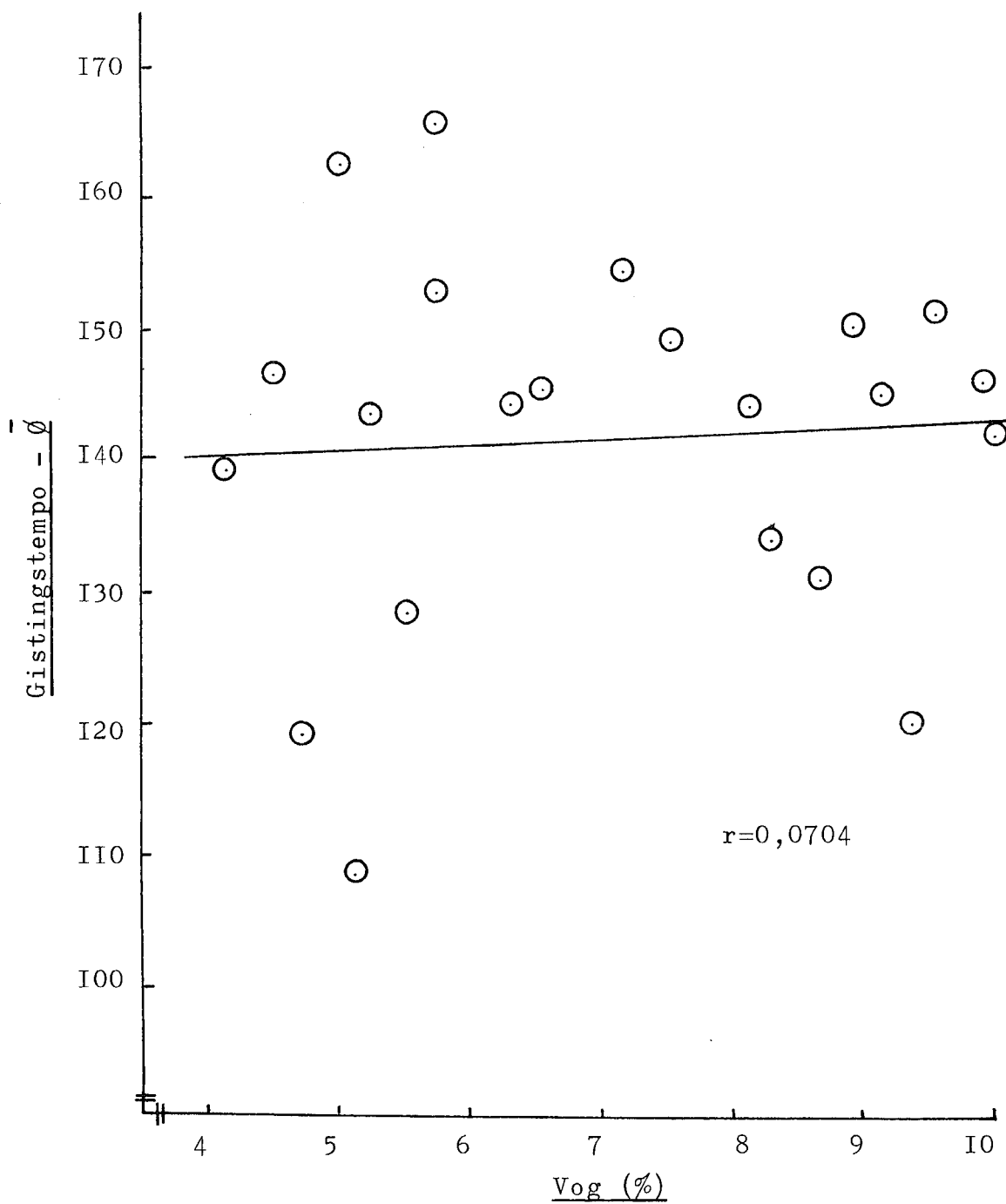
Die vog-, as- stikstofinhoud (N)
en gistingstempo's ($\bar{\phi}$) van ADG

Monster nr.	Produsent A				Produsent C			
	% Vog	% As	% N	$\bar{\phi}$	% Vog	% As	% N	$\bar{\phi}$
1	10,0	6,2	6,7	142	5,7	5,3	7,0	152
2	9,5	5,9	6,3	151	5,0	5,5	7,5	162
3	9,1	6,4	7,4	145	5,1	5,7	7,1	158
4	8,9	5,7	6,9	150	5,2	5,6	7,2	143
5	9,4	6,4	7,8	120	4,1	5,9	6,8	139
6	9,9	5,7	6,8	146	7,1	5,3	7,3	154
7	8,7	6,1	6,5	131	5,7	5,6	6,5	165
8	7,5	5,7	6,1	149	6,5	5,3	5,7	145
9	8,3	5,3	5,8	134	6,3	6,0	7,0	144
10	8,1	5,6	6,3	144	4,5	5,8	6,7	146
11	9,8	5,7	6,6	145	4,7	5,9	6,6	119
12	8,6	5,5	6,9	144	5,5	5,7	6,5	128
Gemiddeld	9,0	5,9	6,7	142	5,5	5,6	6,8	142

HOOFTUK VIIIDIE VERBAND TUSSEN DIE VOG-, AS-, STIKSTOFINHOUD,
TOTALE AANTAL LEWENSVATBARE GISSELE EN DIE
GISTINGSTEMPO VAN AKTIEWE DROË BROUERSGIS

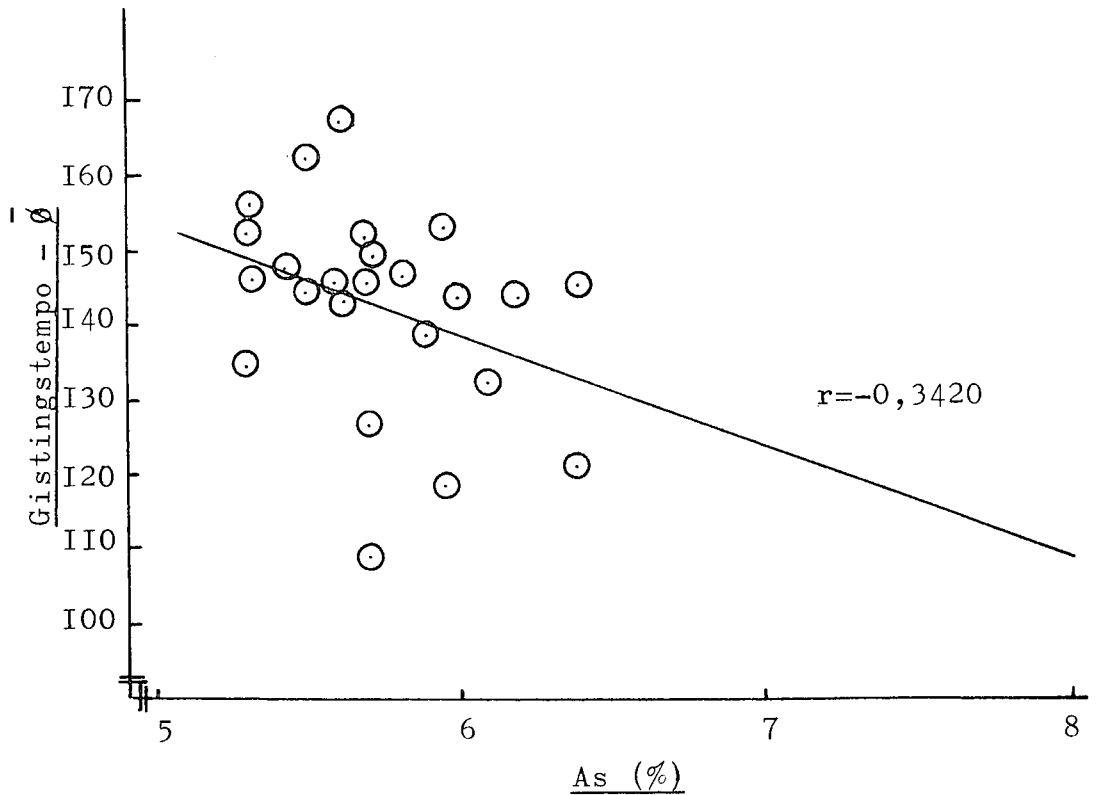
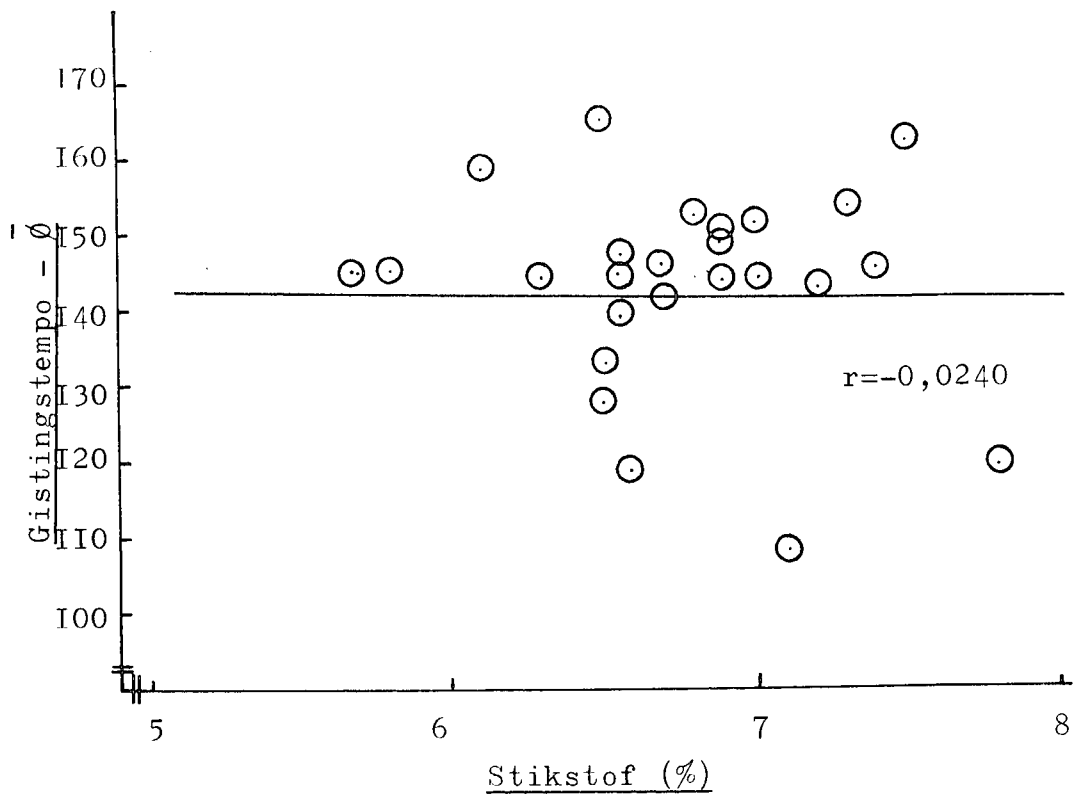
Ten einde vas te stel of enige verband tussen die vog-, as-, stikstofinhoud en die gistingstempo ($\bar{\phi}$) van ADG wat soos in 7.1 en 7.2 bepaal is, bestaan, is statistiese analise van hierdie data gedoen. Daar is verder ook bepaal of enige verband tussen die TLG telling (3.3.2) en die gistingstempo (5.2.4) van ADG bestaan.

Deur enkelvoudige korrelassies is bepaal dat daar geen verband tussen die bogenoemde eienskappe van ADG bestaan nie. Deur meervoudige (liniêre) regressies te bepaal, is bevestig dat daar geen reglynige verband tussen die waarnemings bestaan nie (Figure 15, 16 en 17).



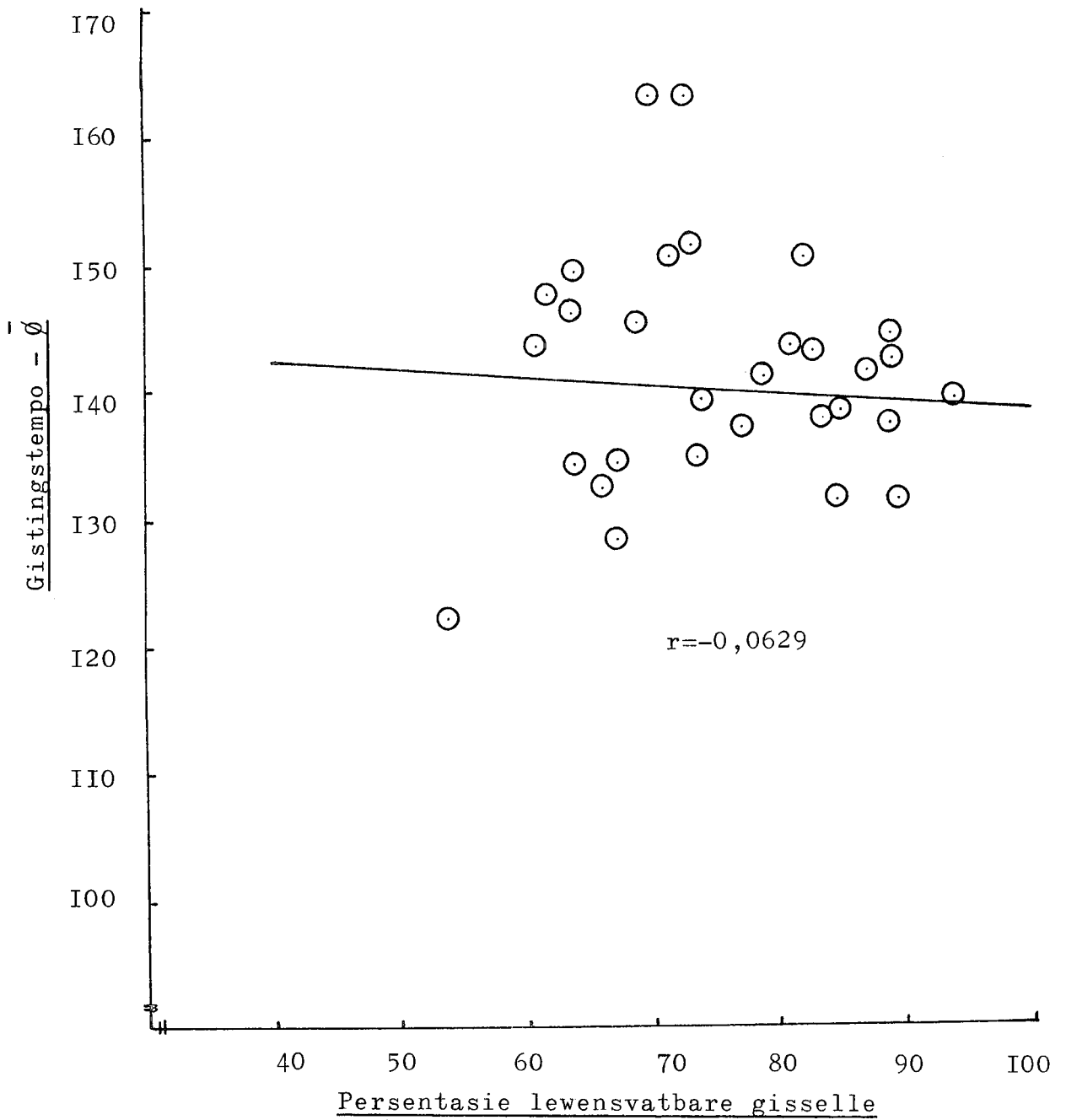
FIGUUR 15

Die verband tussen die persentasie vog en die gistingstempo van ADG



FIGUUR I6

Die verband tussen die persentasie as en stikstof
en die gistingstempo van ADG



FIGUUR 17

Die verband tussen die persentasie lewensvatbare gisselle en die gistingstempo van ADG

HOOFSTUK IX

BESPREKING

Die hoofdoel van hierdie ondersoek was om die gehalte van ADG wat vir die brou van bantobier gebruik word, na te gaan. Om die gehalte van ADG te bepaal was dit verder nodig om metodes te vind waarmee sekere eienskappe van ADG bepaal kan word. Gevolglik is hierdie studie ook onderneem om die mees geskikte metodes en tegnieke te vind om hierdie bepaalde eienskappe van ADG vas te stel.

ADG kan die gehalte en brou van bantobier veral op twee maniere nadelig beïnvloed, naamlik deurdat dit die beslag met ongewenste mikro-organismes kan besmet of dat dit die alkoholiese gisting onbevredigend uitvoer. Gevolglik moet die gehalte van ADG ten opsigte van hierdie twee eienskappe oorweeg word.

Dit blyk dat in sekere gevalle tot 64% van die totale aantal bakterieë wat in ADG voorkom in staat is om in die beslag te groei. Hierdie bakterieë is hoofsaaklik melksuurbakterieë, veral soorte van die geslagte Leuconostoc, Pediococcus en heterofermentatiewe soorte van die geslag Lactobacillus. Hierdie bakterieë kan tydens die alkoholiese gisting ongewenste produkte, byvoorbeeld diasetiel en asynsuur, in die beslag produseer en sodoende die geur en smaak van die bier nadelig beïnvloed. Alhoewel dit in die voedselbedryf algemeen gebruiklik is om die grondstowwe op grond van hul totale bakterietelling te oordeel, is die telling van die melksuurbakterieë en veral die soorte wat in die beslag kan vermeerder in die geval 'n goeie addisionele maatstaf van die gehalte van ADG.

Afgesien van bakteriële besmetting is gevind dat ADG taamlik algemeen met „nie-kultuur” giste besmet was. Die invloed wat die groei van „nie-kultuur” giste op die gehalte van bantobier het, is nie duidelik nie. Dit is moontlik dat sommige „nie-kultuur” giste tot die geur en smaak van bantobier kan bydra (de Schaepdrijver, 1971). Soos dit uit Hoofstuk IV blyk, is ADG egter met so 'n groot verskeidenheid „nie-kultuur” giste besmet dat dit onwaarskynlik is dat hierdie gisflora die kwaliteit van bantobier sal verbeter. Dit kan verder aanvaar word dat wanneer ADG met groot hoeveelhede swak gistende of nie-gistende giste besmet is die gistingsvermoë daarvan sal afneem.

Omdat die alkoholiese gisting tydens die brou van bantobier gewoonlik binne 'n vasgestelde tydsperiode uitgevoer moet word, is dit nodig dat ADG so aktief moontlik moet wees. Hierdie aktiwiteit van ADG kan op twee maniere bepaal word. Die eerste maatstaf wat sekerlik gebruik moet word in die beoordeling van die aktiwiteit van ADG is die totale kweekbare kultuur gisselle per gewigseenheid ADG wat dit bevat. Uit die aard van die saak moet dit so hoog moontlik wees. Hiernaas kan die aktiwiteit van ADG bepaal word in terme van die gistingsvermoë of gistingstempo daarvan. Dit is egter gevind dat 'n hoë lewensvatbare gistelling nie noodwendig op 'n hoë gistingstempo dui nie. Verskeie redes vir hierdie skynbare teenstrydigheid kan aangevoer word. Die belangrikste hiervan is die feit dat die lewensvatbare gisselle (bepaal onder min of meer aerobe kondisies) nie noodwendig in 'n optimale toestand met betrekking tot hul ensiemaktiwiteit ten opsigte van anaerobe stofwisseling verkeer nie. Derhalwe moet beide die totale aantal lewensvatbare gisseltelling sowel as die gistingstempo in die beoordeling van die aktiwiteit van ADG gebruik word.

Dit is gevind dat beide die gistingstempo en die totale lewensvatbare gisseltelling van ADG verhoog kan word indien dit by 40°C tot 42°C gerehidreer word. Dit sal dus 'n

aangewese praktyk wees om tydens die brou van bantobier die ADG, wat vir die alkoholiese gisting gebruik word, in 'n klein hoeveelheid vloeistof (beslag of water), wat by 40°C tot 42°C geëkwilibreer is, te suspendeer voordat dit by die beslag gevoeg word.

Uit die resultate wat met behulp van die toegepaste metodes verkry is, blyk dit dat die gehalte van die ADG wat in Suid-Afrika bemark word aansienlik varieer. Dit is nie bekend of hierdie variasie in gehalte ten opsigte van TLG telling, TLB telling en ander eienskappe beduidend vir die Bantobierindustrie is nie aangesien dit nie moontlik was om die monsters wat in die laboratorium ondersoek is vir hul doeltreffendheid in die brouery te vergelyk nie. Verdere proefnemings wat hiermee in verband staan behoort gedoen te word.

Om te verseker dat ADG van uniforme gehalte gelewer word, is dit noodsaaklik dat standarde daargestel word waaraan ADG moet voldoen. Dit sal op sy beurt daartoe bydra dat bantobier van hoogstaande kwaliteit geproduseer sal word en minder aan veranderinge onderworpe sal wees. Die resultate van hierdie ondersoek kan gebruik word om voorlopige standarde op te stel waaraan ADG moet voldoen.

VERWYSINGS

- BAMANN, E. & MYRBACK, K., 1941. Die Methoden der Fermentforschung. Academic Press Inc. Publishers. New York, 1945.
- BRADY, B.L., 1965. Utilization of amino compounds by yeasts of the genus Saccharomyces. Antonie van Leeuwenhoek 31, 95-102.
- BRANDON, A.L., 1961. Methods of yeast analysis: Total solids, moisture and total nitrogen. J. of the A.O.A.C. 44, 394-410.
- BURROWS, S. & HARRISON, J.S., 1959. Routine method for determination of the activity of baker's yeast. J. Inst. Brew. 65, 39-45.
- CHEN, S.L., COOPER, E.J. & GUTMANIS, F., 1966. Active dry yeast: Protection against oxidative deterioration during storage. Food Technology 20 (12), 79-83.
- DE SCHAEPDRIJVER, P., 1971. Persoonlike mededeling.
- ENEBO, L. & SANDEGREN, E., 1952. Rapid methods for determining the limiting attenuation of wort and beer. J. Inst. Brew. 58, 35-46.
- GIBBS, B.M. & SHAPTON, D.A., 1968. Identification methods for microbiologists. Part B. Academic Press. New York.
- GIBSON, T. & ABD-EL-MALEK, Y., 1945. The formation of carbon dioxide by lactic acid bacteria and Bacillus licheniformis and a cultural method of detecting the process. J. Dairy Res. 14, 35-40.

- GILLILAND, R.B., 1955. The examination of brewery yeasts. *J. Appl. Bact.* 18, 162-164.
- GILLILAND, R.B., 1959. Determination of yeast viability. *J. Inst. Brew.* 65, 424-428.
- GREEN, S.R. & GRAY, P.P., 1950. A differential procedure applicable to bacteriological investigation in brewing. *Wall. Lab. Comm.* 13 (43), 357-367.
- HARRIGAN, W.F. & McCANCE, M.E., 1966. *Laboratory methods in microbiology.* Academic Press. New York.
- HARRIS, J.O. & WATSON, W., 1968. The use of controlled levels of actidione for brewing and non-brewing yeast strain differentiation. *J. Inst. Brew.* 74, 286-290.
- HERRERA, T., PETERSON, W.H., COOPER, E.J. & PEPPLER, H.J., 1956. Loss of cell constituents on reconstitution of active dry yeast. *Archiv. Biochem. and Biophys.* 63, 131-143.
- INTERNATIONAL UNION FOR PURE AND APPLIED CHEMISTRY
Bulletin no. 37, 1968. Applied chemistry division.
The evaluation of active dry baker's yeast. - A progress report.
- JOHANNSEN, E., 1971. Persoonlike mededeling.
- *KATO, S., 1967. *Bull. Brewing science (Tokyo)* 13, 19.
In Richards (1970a).
- KLUYVER, A.J., 1914. *Biochemische Suikerbepalingen.* Diss. Delft.
- LEWIS, Y.S., DWARKANATH, C.T. & JOHAR, D.S., 1958. Production of active dry baker's yeast. *J. Sci. Industr. Res.* 17A, 146-149.

- MORRIS, E.O. & EDDY, A.A., 1957. Method for the measurements of wild yeast infection in pitching yeast. *J. Inst. Brew.* 63, 34-35.
- NOVELLIE, L., 1966. Bantu beer - Popular drink in South Africa. *Brewer and Dist.* 1, 27-31.
- NOVELLIE, L., 1968. Kaffir Beer Brewing. Ancient art and modern industry. *Wall. Lab. Comm.* 31 (104), 17-32.
- OXOID MANUAL OF CULTURE MEDIA, INGREDIENTS AND OTHER LABORATORY SERVICES., 1969. 3rd Edition. Tonbridge Printers Ltd. Kent.
- PELCZAR, M.J. & REID, R.D., 1965. Microbiology. 2nd Edition. McGraw-Hill book company. New York.
- PEPPLER, H.J. & RUDERT, F.J., 1953. Comparative evaluation of some methods for estimation of the quality of active dry yeast. *Cereal Chem.* 30, 146-152.
- PIERCE, J.S., 1970. Institute of Brewing: Analysis committee measurement of yeast viability. *J. Inst. Brew.* 76, 442-443.
- PONTE, J.G., GLASS, R.L. & GEDDES, W.F., 1960. Studies on the behavior of active dry yeast in breadmaking. *Cereal Chem.* 37, 263-279.
- RAINBOW, C., 1968. Institute of Brewing Analysis committee measurement of yeast concentration. *J. Inst. Brew.* 74, 427-429.
- RICHARDS, M., 1970a. Detection of yeast contaminants in pitching yeast. *Wall. Lab. Comm.* 33 (110), 11-15.
- RICHARDS, M., 1970b. Routine accelerated membrane filter method for examination of ultra-low levels of yeast contaminants in beer. *Wall. Lab. Comm.* 33 (111), 97-101.

- ROGOSA, M., MITCHELL, J.A. & WISEMAN, R.F., 1951. A selective medium for the isolation and enumeration of oral and fecal Lactobacilli. *J. Bact.* 62, 132-133.
- SANT, R.K. & PETERSON, W.H., 1958. Factors affecting loss of nitrogen and fermenting power of rehydrated active dry yeast. *Food Technology* 12, 359-362.
- SCHULTZ, A.S., ATKIN, L. & FREY, C.N., 1942. Determination of vitamin B by yeast fermentation method. *Ind. and Eng. Chem.* 14, 35-39.
- SHARPE, M.E., 1960. Selective media for the isolation and enumeration of Lactobacilli. *Lab. Practice* 9, 223-227.
- THIMANN, K.V., 1963. *The life of bacteria*. 2nd Edition. The MacMillan Company. New York.
- THORN, J.A. & REED, G., 1959. Active dry yeast. *Cereal Sci. Today* 4, 198-213.
- THORNE, R.S.W., 1954. Fermentation velocity of yeasts. I. Measurement of fermentation velocity and the effects of experimental conditions. *J. Inst. Brew.* 60, 227-238.
- VAN DER WALT, J.P., 1956. Kaffircorn malting and brewing studies. II. Studies on the microbiology of Kaffir Beer. *J. Sci. Food Agric.* 7, 105-113.
- VAN DER WALT, J.P., 1962. Utilization of ethylamine by yeasts. *Antonie van Leeuwenhoek* 28, 91-96.
- VAN DER WALT, J.P., 1970. Criteria and methods used in classification. *In* J. Lodder (ed.) *The Yeasts*. 2nd Edition. North Holland Publishing Co., Amsterdam.
- VAN KERKEN, A.E., 1968. S.A. Wetenskaplike Nywerheids Navorsingsraad. Nasionale chemiese navorsingslaboratorium. Chem 118. Bantoebierenheid jaarverslag 1969.

VISSER, J.H., 1971. Persoonlike mededeling.

WHITE, J., 1954. Yeast Technology. Chapman & Hall.
London.

ZELLNER, S.R., GUSTIN, O.F., BUCK, J.D. & MEYERS, S.P., 1963.
Growth and multiplication of Rhodotorula glutinis as
determined by viable and total cell counts. Antonie
van Leeuwenhoek 29, 203-210.

* Publikasie nie in sy oorspronklike vorm
geraadpleeg nie.

