

UTJECAJ ANTIBIOTIKA NA MIKROFLORU I KVALITETNE POKAZATELJE SIRARSKE KULTURE

III dio

Okus, aromu i hranidbenu vrijednost raznih vrsti sireva određuju biokemijske promjene sastava mladih sireva pod uticajem mlječno-kiselinskih i drugih mikroorganizama koji učestvuju u fermentativnim procesima i procesima zrenja.

Mikroflora sirovog mlijeka — koja je uništena pasterizacijom — kod proizvodnje raznih vrsti sireva mekih, polutvrdih i tvrdih nadoknađuje se prethodno selekcioniranom i istraženom mlječno-kiselom mikroflorom. U mikroflori sirarske kulture, osim što se kod mnogih sireva upotrebljava kultura za maslac, upotrebljavaju se čiste kulture *Str. lactis* i *Lb. casei* pojedinačno ili kombinirano kao kod bijelih salamurenih sireva.

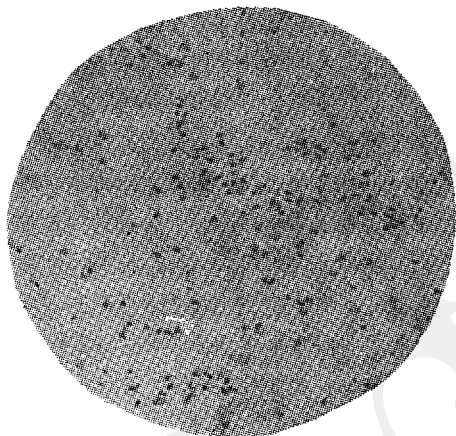
Faktori, koji utječu na razvitak mikroflore u kulturama različitih vrsti sireva a time i na fermentativne i encimatske procese zrenja sireva, su i antibiotici koji se nalaze u mlijeku namijenjenom za pripremu kultura i sireva. Antibiotici gotovo podjednako koče razvoj *Str. lactis* i *Lb. casei*, koji učestvuju u sastavu sirarske kulture. Različiti antibiotici, prema količini koju sadrži mlijeko, smanjuju broj mikrobnih stanica u kulturi, izazivaju promjene morfoloških karakteristika i smanjuju im fermentativnu sposobnost. Rezultat toga jest, da grušanje mlijeka nastupa sa zakašnjenjem ili uopće ne nastupa. Sposobnost nekih antibiotika, kao što je penicilin, da koči samo gram pozitivne — među koje spadaju mlječno-kiselinske bakterije — a da ne koče razvitak gram negativnih, kao što su bakterije grupe *coli-aerogenes*, dovodi do njihova nesmetanog razvoja i proizvodnje sireva s napuhnutom konzistencijom, nagorkim, slatkastim okusom i nespecifičnim okusom kao i u slučajevima, kad se upotrebljava velika količina vrlo aktivne kulture.

Ispitan je utjecaj slijedećih vrsti i količina antibiotika: penicilina od 0,0001 I. J. do 1 I. J./ml; aureomicina od 0,0001 do 5 gama/ml; i streptomocina od 0,01 do 50 gama/ml.

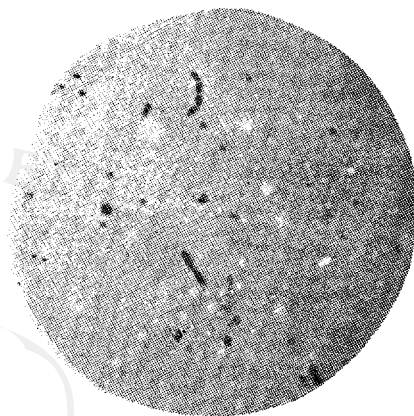
Ispitan je utjecaj antibiotika na pojedine vrste mlječno-kiselinskih bakterija, koje učestvuju u mikroflori kultura *Str. lactis* i *Lb. casei* i u kulturama dobivenim njihovom kombinacijom. Kontrolni uzorci mlijeka i uzorci mlijeka, koji su sadržavali različite vrste i količine antibiotika cijepljeni su svježom kulturom starom 20 sati.

Utjecaj antibiotika na *Str. lactis* bio je ispitivan nakon cijepljenja različitih uzoraka mlijeka s 1% čiste kulture i inkubiranih pri 30° C u trajanju od 10 sati.

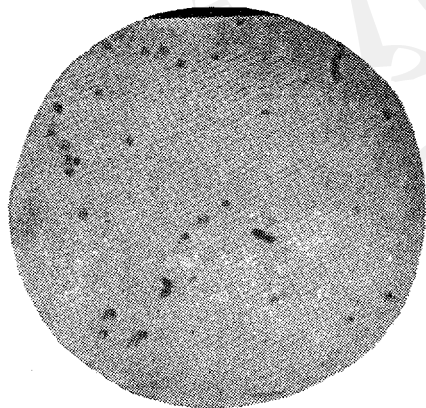
Uzorci mlijeka koji su sadržavali penicilin od 0,0001 I. J. do 0,025 I. J./ml nisu pokazivali kočenje razvitka *Str. lactis*. Nakon 10 sati cijepljeno mlijeko, kao i kontrolno, ima gustu konzistenciju, mlječno-kiseo okus i miris te kiselost 80—85° T i pH 4,5. Kod mikroskopiranja opažaju se dobro oblikovani diplokoki *Str. lactis* (sl. 1). Mlijeko, koje sadrži od 0,05 I. J. do 0,1 I. J. penicilina, također



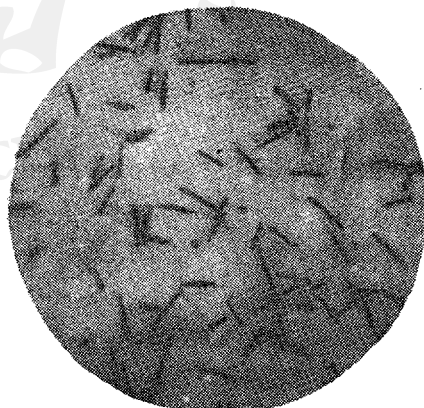
Sl. 1 — *Str. lactis*



Sl. 2 — *Str. lactis* pri količini penicilina od 0,025 I.J./ml mlijeka



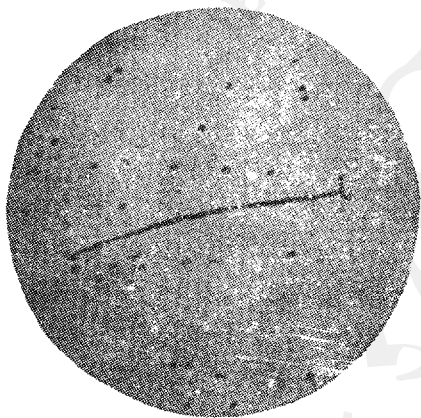
Sl. 3 — *Str. lactis* pri količini aureomicina većoj od 1 gama/ml mlijeka



Sl. 4 — *Lb. casei*

se gruša nakon 10 sati. Gruš je meke labilne konzistencije, sa slabo izraženim mlječno-kiselim okusom i mirisom, te kiselošću 60—70° T, i pH 4,8—5. Kod mikroskopiranja opažaju se stanice s većim kokima, malo eliptično izduženim. Kod nekih stanica koki su skupljeni, a diplokoki sličie kratkim debelim štapićima. U mlijeku, koje sadrži 0,15, 0,2, 0,3, 0,5 i 1 I. J./ml penicilina u velikoj mjeri koči se razvitak *Str. lactis*. Uzorci 10 sati nakon cijepljenja ostaju tekući s odgovarajućom kiselošću 38°, 35°, 28°, 24° i 23° T. Kod mikroskopiranja zapažaju se pojedinačni diplokoki odebljali ili skupljeni kao kratki štapići i pojedinačni kratki lanci s kokima različitih veličina (sl. 2).

Aureomicin u mlijeku u količini manjoj od 0,5 gama/ml ne koči djelovanje *Str. lactis*. Kod količine od 0,5 i 1 gama/ml mlijeko se gruš sa zakašnjenjem. Cijepljeno mlijeko ima slab gruš i slabo izraženi mlječno-kiseo okus i miris. Kiselost uzoraka je oko 60° T i pH oko 5. Kod mikroskopiranja opaža se mali broj diplokoka s morfološkim promjenama. Aureomicin u mlijeku u količini većoj od 1 gama/ml uvelike koči razvitak *Str. lactis* i mlijeko se uopće ne gruš. Kod mikroskopiranja se opažaju stanice *Str. lactis* sa znatno izmijenjenim morfološkim karakteristikama (sl. 3).



Sl. 5 — *Lb. casei* pri količini penicilina većoj od 0,1 I. J./ml mlijeka



Sl. 6 — *Lb. casei* pri količini aureomicina većoj od 1 gama/ml mlijeka

Streptomycin u mlijeku također — već prema količini — koči razvitak *Str. lactis*. Male količine streptomicina u mlijeku 0,01—1 gama/ml ne koč razvitak mikroorganizama. Sadrži li mlijeko više od 5 gama/ml streptomicina koči se razvitak *Str. lactis*. Mlijeko 10 sati nakon dodatka kulture još ima tekuću konzistenciju i kiselost od 21—40° T i pH 5,5—6,2. Mlijeko se gruš između 20—48 sati. Kod mikroskopiranja opaža se mali broj diplokoka s normalnim i takovih s izmijenjenim morfološkim karakteristikama.

Utjecaj antibiotika na razvitak *Lb. casei* ispituje se cijepljenjem mlijeka — koje sadrži različite antibiotike, i kontrolnog mlijeka bez antibiotika — s 1% kulture uz inkubaciju pri 40° C. Uzorci se analiziraju nakon 8 sati, za koje vrijeme kontrolni uzorci, napravljeni iz mlijeka koje ne sadrži antibiotike, grušaju se s gustim grušem i imaju kiselost 90° T i pH 4,3 te normalno razvijenu mikrofloru (sl. 4). Mlijeko koje sadrži do 0,025 I. J./ml penicilina cijepljeno s *Lb. casei* gruš se za 8 sati kao i kontrolno, bez promjene kvalitetnih pokazatelja i morfoloških karakteristika. Kod mlijeka s više od 0,025—0,05 I. J./ml grušanje nastupa u gotovo isto vrijeme. U mikroskopskoj slici osim po obliku i veličini normalnih štapića susreću se izdužene i iskrivljene stanice. Zgrušano mljeko ima meki gruš i kiselost 60—70° T i pH 4,8. Mlijeko, koje sadrži više od 0,1 I. J./ml penicilina uopće se ne gruš, a kod mikroskopiranja opažaju se na vidnom polju malobrojni ili pojedinačni štapići sa znatno izmijenjenim morfološkim karakteristikama (sl. 5).

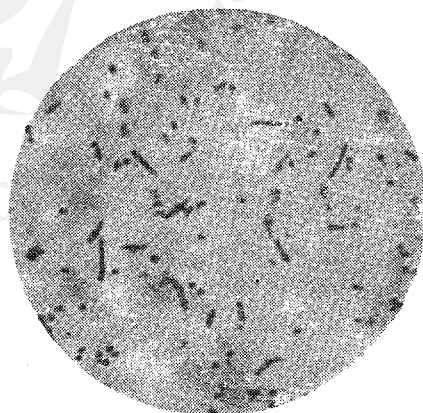
Aureomicin u mlijeku u količini manjoj od 0,5 gama/ml ne pokazuje da koči razvitak *Lb. casei*. Uzorci mlijeka zgrušavaju se u isto vrijeme i imaju iste kvalitetne pokazatelje kao i kontrolno mlijeko. U morfološkim karakteristikama *Lb. casei* nisu se ustanovila odstupanja. Aureomicin u mlijeku u količini većoj od 1 gama/ml koči djelovanje *Lb. casei*. Takva mlijeka ne grušaju se. Kod mikroskopiranja opažaju se na vidnom polju malobrojne ili pojedinačne stanice *Lb. casei* sa znatno izmijenjenim morfološkim karakteristikama (sl. 6).

Streptomycin u mlijeku u manjoj količini od 0,1 gama/ml ne koči razvitak *Lb. casei*. Sadrži li u mlijeku 1—5 gama/ml pokazuje se kočenje razvoja. Nakon 8 sati mlijeko ostaje tekuće. Kod mikroskopiranja opaža se mali broj štapića oblika streptobakterija ili oblika izduženih i iskrivljenih štapića (sl. 7).

Utjecaj antibiotika na mikrofloru kombinirane kulture s mikrobiološkim sastavom *Str. lactis* i *Lb. casei*, (koja se upotrebljava i kao kultura za bijele salamurene sireve) ispituje se nakon cijepjenja kontrolnog mlijeka i uzoraka mlijeka koje sadrži različite antibiotike s 1 ‰ kombinirane kulture i inkubacije kod 32° C u trajanju od 10 sati.



Sl. 7 — *Lb. casei* pri količini streptomocina od 1—5 gama/ml mlijeka

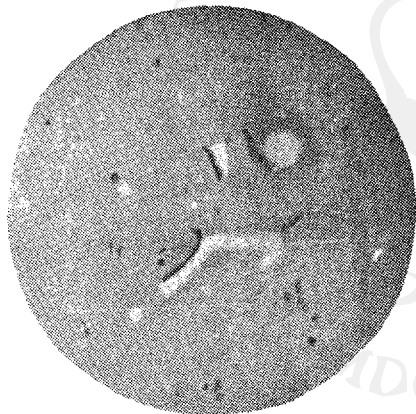


Sl. 8 — Mikroflora sirarske kulture

Mlijeko, koje sadrži penicilina manje od 0,05 I. J./ml, cijepljeno s kombiniranom sirarskom kulturom, grušava se za isto vrijeme kao i kontrolni uzorak mlijeka, koji ne sadrži antibiotike. Dobiveno cijepljeno mlijeko ima gustu konzistenciju, mlječno-kiseo okus i miris. Kiselost mu je kao i kod kontrolnog 80—85° T i pH 4,5. U mikroskopskoj slici opažaju se po obliku i veličini normalni diplokoki *St. lactis* i štapići *Lb. casei* (sl. 8). Penicilin u količini od 0,1 I. J./ml malo koči razvitak mikroflora cijepljenog mlijeka. Gruš mu je nešto malo labilan, a kiselost mu je nešto niža 65—70° T i pH 4,8. Kod mikroskopiranja opažaju se diplokoki normalnog oblika i veličine i oni izmijenjenih oblika. Nekoji štapići *Lb. casei* su malo izduženi. Penicilin u mlijeku u količini većoj od 0,2 I. J./ml uvelike koči razvitak mikroflora sirarske kulture. Takva mlijeka ne grušaju se nakon 10 sati. Kod mikroskopiranja opažaju se pojedinačni diplokoki i štapići s izmijenjenim morfološkim karakteristikama (sl. 9).

Aureomicin u mlijeku u količini manjoj od 0,5 gama/ml ne usporava razvitak mikroflore. Uzorci mlijeka s takovim sadržajem aureomicina grušaju se u isto vrijeme kao i kontrolni i imaju iste kvalitativne pokazatelje i morfološke karakteristike *Str. lactis* i *Lb. casei*. Aureomicin u mlijeku u količini većoj od 1 gama/ml koči razvitak kombinirane sirarske kulture. Takova mlijeka se uopće ne grušaju. Kod mikroskopiranja opažaju se na vidnom polju diplokoki i pojedinačni štapići s izmijenjenim morfološkim karakteristikama (sl. 10).

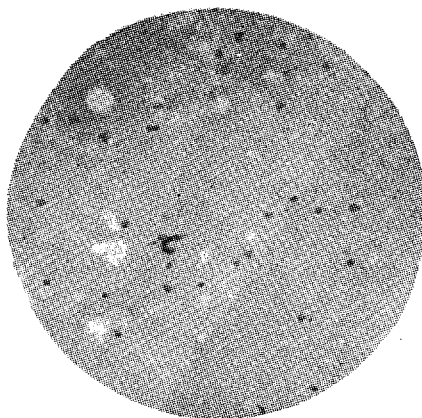
Streptomycin u količini manjoj od 1 gama/ml ne koči mikrofloru i ne djeluje na fermentacione procese i kvalitativne pokazatelje sirarske kulture. Streptomycin u mlijeku u količini većoj od 5 gama/ml koči razvitak mikroflore



Sl. 9 — Utjecaj penicilina u količini većoj od 0,2 I.J. ml/mlijeka na mikrofloru sirarske kulture



Sl. 10 — Utjecaj aureomicina u količini većoj od 1 gama/ml mlijeka na mikrofloru sirarske kulture



Sl. 11 — Utjecaj streptomicina u količini većoj od 5 gama/ml mlijeka na mikrofloru sirarske kulture

sireva. Nakon 10 sati cijepljeno mlijeko ima tekuću konzistenciju. Kod mikroskopiranja opaža se mali broj diplokoka bez znatnih izmjena morfoloških karakteristika i pojedinačni štapići *Lb. casei* (sl. 11).

I drugi faktori mogu utjecati na aktivnost fermentativnih procesa i kvalitete pokazatelje cijepljenog mlijeka sa čistim kulturama *Str. lactis* i *Lb. casei* i kombiniranom sirarskom kulturom mikrobiološkog sastava *Str. lactis* i *Lb. casei*. Kultiviranjem *Str. lactis* kod temperature niže od optimalne 25—30° C, npr. kod 20° C, ili kod više od optimalne, npr. kod 40° C, dovodi do usporavanja fermentativnog procesa te dobivanja kulture s mekšim grušem i s kiselošću oko 65° T i pH 4,8. Ne opažaju se promjene u morfološkim karakteristikama. Mlijeko cijepljeno s *Lb. casei* kod temperature 25—30° C grušća se sa zakašnjenjem. Kod mikroskopiranja opažaju se malo izduženi štapići od 4—6 mikrona na oko 10 mikrona i malo odebljani. Osim pojedinačnih susreću se štapići i oblika diplobakterija ili kratkih streptobakterija. Kod temperature iznad 48—50° C stanice *Lb. casei* su izduljene i tanje. Kombinirana kultura za sireve napravljena kod temperature niže od 32° C je siromašnija na *Lb. casei*. Pri mikroskopiranju, osim malo izduljenih i malo odebljanih *Lb. casei* ne opažaju se druge promjene. Kombinirana kultura pri temperaturi većoj od 32° C ima malo *Str. lactis*, a cijepljeno mlijeko dobiva rastezljivu konzistenciju zbog znatne količine *Lb. casei*. Ne opažaju se druge promjene u morfološkim karakteristikama dvaju mikroorganizama.

Promjene u aktivnosti i morfološkim karakteristikama dobivene pod utjecajem odstupanja od optimalnih temperatura kod pripremanja kulture, bitno se razlikuju od utjecaja antibiotika, kako na dinamiku fermentativnih procesa, tako i na kvalitetu kulture i morfološke karakteristike *Str. lactis* i *Lb. casei*.

Iz rezultata tih istraživanja mogu se izvesti slijedeći zaključci:

1. antibiotici u mlijeku koje sadrži: penicilina više od 0,05 I. J./ml, aureomicina više od 0,5 gama/ml i streptomicina više od 5 gama/ml djeluju inhibitorno na razvitak *Str. lactis* uz degenerativne promjene stanica i sniženje fermentativne aktivnosti;

2. antibiotici u mlijeku koje sadrži: penicilina više od 0,025—0,05 I. J./ml, aureomicina više od 1 gama/ml i streptomicina više od 1—5 gama/ml djeluju inhibitorno na razvitak *Lb. casei* uz degenerativne promjene štapića i sniženje fermentativne aktivnosti;

3. Antibiotici u mlijeku, koje sadrži: penicilina više od 0,1 I. J./ml, aureomicina više od 1 gama/ml i streptomicina više od 5 gama/ml djeluju inhibitorno na mikrofloru kombinirane sirarske kulture, izazivajući degenerativne promjene morfoloških karakteristika *Str. lactis* i *Lb. casei* i smanjujući fermentativnu aktivnost;

4. Promjene morfoloških karakteristika i fermentativne aktivnosti *Str. lactis* i *Lb. casei* pod utjecajem antibiotika bitno se razlikuju od onih prozrokovanih utjecajem temperature kod pripreme i čuvanja kultura.