

NAŠA ISKUSTVA U ODRŽAVANJU KULTURA BAKTERIJA MLJEČNO-KISELOG VRENJA ZA PROIZVODNJU KISELOG VRHNJA

(Nastavak)

Ljerka KRŠEV
Zagrebačka mljekara

Međusobni odnos bakterija mlječne kiseline i bakteriofaga

Bakteriofag se može nalaziti u bakterijskim stanicama proizvodne kulture duže vrijeme, a da pri tome ne izazove nikakve primjetne štete ili su nezaražene bakterije u kulturi rezistentne prema prisutnom bakteriofagu. Rezultat odnosa bakteriofag — bakterijska stanica ovisi o rezistentnosti bakterije i virulentnosti bakteriofaga, kao i o uvjetima okoline. Bakteriofag koji se nalazi unutar stanice, tj. *profag*, živi zajedno s njom i ne prouzrokuje nikakve štete, tj. ne lizira je sve do onog trenutka kad se stvore određeni uvjeti. Mikroorganizam koji u sebi sadrži bakteriofag naziva se *lizogenim* i to se svojstvo nasljeđuje. Ono u odnosu na streptokoke mlječne kiseline predstavlja izuzetan interes budući da uvrštavanje lizogenih sojeva u proizvodne kulture može izazvati lizu drugih osjetljivih sojeva.

Važno je svojstvo bakterija njihova sposobnost stvaranja rezistentnih oblika u odnosu na bakteriofag. Neki ruski autori su ustanovili da velike količine bakteriofaga dodane u kulturu ne izazivaju liziranje gotovo svih stanica, jer izvjestan, vrlo mali dio preživljava invaziju i postaje rezistentan prema djelovanju određenog faga. Ta je pojava napose značajna i cijenjena u svakodnevnoj proizvodnji, pa je veoma važno dobiti rezistentne sojeve koji uz to posjeduju i dragocjena proizvodna svojstva. Ipak, treba se pomiriti s činjenicom da kulture rezistentne prema jednom bakteriofagu nisu neosjetljive prema drugom. Bakteriofagi su visoko specifični tako, da ponekad jedan fag uništava samo određeni bakterijski soj. Takav fag se naziva *monovalentan* za razliku od *polivalentnog* koji ima širi spektar djelovanja. Virulentnost bakteriofaga raste u prisutnosti osjetljivih bakterijskih kultura tako, da u konstantnim uvjetima precjepljivanja faga zajedno s istom proizvodnom kulturom takav fag prima sposobnost da lizira i rezistentne kulture. To nas upućuje da česta promjena sastava kultura stvara nepovoljne uvjete za razvoj bakteriofaga. Praksa pokazuje da je taj način borbe s bakteriofagima veoma uspješan. Međusobno djelovanje bakteriofaga i streptokoka mlječne kiseline, a prema tome i rezultat borbe između njih, u znatnoj mjeri ovisi o kvantitativnom odnosu bakteriofaga i bakterijskih stanica. Sličan utjecaj ima i pH sredine, postojanje stimulanata ili inhibitora, adsorpcija i dr.

Kad smo izdvojili i pomiješali neke od ispitivanih sojeva iz zbinke čistih mljekarskih kultura s poznatim bakteriofagima, dobili smo ove znakove liziranja u kulturama s obzirom na pojedine koncentracije bakteriofaga (tablica 1 — 5).

Tablica 1.

Utjecaj različitih koncentracija bakteriofaga »*Ploudiv*« na razvoj kulture streptokoka mlječno - kiselog vrenja B-11 u sterilnom obranom mlijeku pri 24° C.

Koncentracija faga u kulturi	Pojava gruša nakon sati	Mikroskopska slika gruša	°SH gruša		Izgled gruša	Aktivnost gruša (kulture) *	
			min.	max.		min.	max.
0 : 1	12 — 14	tipične stanice bakterije <i>Str. lactis</i>	35	40	čvrst	19	40
10 : 1	12 — 14	»	34	38	»	18,5	39,5
1 : 10.000	> 24	krupne stanice nakon 4 — 5 h inkubacije	15	18	nema gruša	0,0007	0,0014
1 : 100.000	14 — 17	aglutinirane stanice	33	36	nježan	3	7
1 : 10,000.000	14 — 18	»	32	36	»	3,5	6,8

* Aktivnost kulture izražena je u milionjima živih stanica soja B-11/ml.

Tablica 2.

Utjecaj različitih koncentracija bakteriofaga »*Fag I*« na razvoj kulture streptokoka mlječno - kiselog vrenja B-11 u sterilnom obranom mlijeku pri 24° C.

Koncentracija faga u kulturi	Pojava gruša nakon sati	Mikroskopska slika gruša	°SH gruša		Izgled gruša	Aktivnost gruša (kulture) *	
			min.	max.		min.	max.
10 : 1	12 — 15	tipične stanice bakterije <i>Str. lactis</i>	35,8	39,7	čvrst	40	71
1 : 10.000	13 — 14	»	35,2	40,1	»	39,8	42,2
1 : 100.000	12 — 15	»	36,4	39,8	»	41	43,7
1 : 10,000.000	12 — 15	»	35,1	40,2	»	39,8	44

* Komentar kao u tablici 1.

Tablica 3.

Utjecaj različitih koncentracija bakteriofaga »Plovdiv« na razvoj mješovite kulture streptokoka mlječne kiseline B-11 i kvasca *Torula* sp. R-2 u sterilnom obranom mlijeku pri 24° C.

Koncentracija faga u kulturi	Pojava gruša nakon sati	Mikroskopska slika gruša	°SH gruša		Izgled gruša	Aktivnost gruša (kulture) *	
			min.	max.		min.	max.
0 : 1	10 — 14	tipične stanice kvasca <i>Torula</i> i bakterija <i>Str. lactis</i>	38,0	41,7	čvrst i poneka pukotina	41,9	42
10 : 1	11 — 15	»	38,0	40,5	»	40,8	42,1
1 : 10.000	10 — 15	»	39,9	40,7	»	43	46
1 : 100.000	11 — 14	»	37,8	41,6	»	39,8	46
1 : 10,000.000	12 — 15	»	41,2	43,4	»	39,7	40,5

* Komentar kao u tablici 1.

Tablica 4.

Utjecaj različitih koncentracija bakteriofaga »Plovdiv« na razvoj kulture aromotvornog streptokoka mlječno - kiselog vrenja 22 S u sterilnom obranom mlijeku pri 24° C.

Koncentracija faga u kulturi	Pojava gruša nakon sati	Mikroskopska slika gruša	°SH gruša		Izgled gruša	Aktivnost gruša (kulture) *	
			min.	max.		min.	max.
0 : 1	18 — 24	sitni koki u kraćim lancima	30,0	34,0	nježan, kompaktan	70	73,2
10 : 1	26	sitni koki pojedinačno	25,0	30,0	vrlo slab	45	50
1 : 10.000	30	poneka krupna stanica	10,0	12,0	nema gruša	0,00071	0,0098
1 : 100.000	24 — 27	nakupine aglutiniranih stanica	28,1	30,5	nježan, sirutka	9,1	11,7
1 : 10,000.000	22 — 26	»	29,5	30,8	»	21,5	30,9

* Komentar kao u tablici 1.

Tablica 5.

Utjecaj različitih koncentracija bakteriofaga »Fag 1« na razvoj kulture aromotivnog streptokoka mlječno - kiselog vrenja 22 S u sterilnom obranom mljeku pri 24° C.

Koncentracija faga u kulturi	Pojava gruša nakon sati	Mikroskopska slika gruša	°SH gruša		Izgled gruša	Aktivnost gruša (kulture) *	
			min.	max.		min.	max.
10 : 1	22 — 26	sitni koki	26,0	31,0	nježan, sirutka	50	56
1 : 10.000	30	poneka krupna stanica	11,2	13,3	nema gruša	0,00088	0,0011
1 : 100.000	21 — 25	nakupine aglutiniranih stanica	29,5	33,7	nježan, sirutka	13,8	21,9
1 : 10.000.000	20 — 25	sitni koki pojedinačno	30,0	33,6	»	56,2	68,9

* Komentar kao u tablici 1.

Kod velike koncentracije bakteriofaga (10 : 1), a to se u pravilu ne događa u svakodnevnoj proizvodnji, ne dolazi do liziranja, pa virulentnost bakteriofaga slabi. U razrjeđenju 1 : 10.000 liziranje teče brzo i završava razaranjem bakterijskih stanica, a u razrjeđenjima 1 : 100.000 i 1 : 10 miliona brzog i općeg liziranja do časa sazrijevanja kulture nema. Ako se, pak, takva kultura koja sada sadrži bakteriofag mnogokratno precjepljuje u tekućoj proizvodnji, kod idućeg precjepljivanja količina bakteriofaga postiže koncentraciju od 1 : 10.000, a ta dovodi do liziranja kulture. Ta se varijanta sreće najčešće u redovnoj proizvodnji. U kulturama koje ne sadrže isključivo streptokoke mlječne kiseline, već koje sadrže štapiće mlječno - kiselog vrenja ili kvasce djelovanje bakteriofaga se gotovo ne primjećuje. Smatra se da zaštitno djelovanje na streptokoke imaju u prvom redu kvasci i bakterije octene kiseline, jer su sposobni vitaminizirati sredinu.

Zbirka mljekarskih kultura

Takva zbirka kultura održava se precjepljivanjem odabranih organizama u obrano mljeku (0,1 % masti) u epruvetama s čitljivim oznakama. Iz pojedinih kultura zbirke sastavljaju se proizvodne primarne i sekundarne kulture određenog sastava. Pri uzgoju mljekarskih kultura u laboratoriju, one vrlo često smanjuju svoju aktivnost ili mijenjaju neka poželjna svojstva. Zato se obvezatno jednom do dva puta godišnje čitava zbirka mora preispitati na aktivnost i čistoću, i izbaciti nezadovoljavajuće sojeve. Važno je, osim toga, izdvojiti nove sojeve u zamjenu za odbačene, kao i za upotpunjavanje zbirke.

Najvažniji činioци pri izboru i sastavljanju proizvodnih kultura.

Jedan od prvih činilaca su *specifična svojstva mlječno-kiselog proizvoda*. Tako je npr. pri izboru kultura za kiselo vrhnje ili svježi sir važno da upo-

trijebljena kultura aktivno povećava kiselost u početku proizvodnog procesa (u prvih 6 sati, a sposobnost njihova daljnjeg znatnijeg povećanja kiselosti mora biti ograničena). Isto tako, radi poželjne arome treba sastaviti sojeve koji daju dobar okus i aromu gotovom proizvodu. Zato zajedno s odgovarajućim sojem vrste *Str. lactis*, kao dobrim tvorcem kiseline, uzimamo još i *Str. diacetilactis* u omjeru 1 : 10 ili 1 : 5. Za kiselo vrhnje bitno je još da se na površini vrhnja ne odvajaju sirutka i da se u kulturu mora još uklopiti sojeve koji daju viskoznu masu, kao npr. *Str. cremoris*.

Temperaturni uvjeti u toku proizvodnog postupka dirigiraju upotrebu mezofilnih ili termofilnih bakterija.

Međusobni odnosi među kulturama su prilično važni u izboru kultura. Vrlo često su pojave međusobnih odnosa mikroorganizama pri istovremenom rastu vrlo složene. U tom slučaju prave se 3—5 kombinacija koje se najepljuju u pasteurizirano mlijeko i nakon zrenja se odabire ona kombinacija koja ima najbolja svojstva. Treba uzeti u obzir i *prisutnost mikroflora pasteuriziranog mlijeka ili vrhnja* (koja također ima utjecaj na proizvodnu kulturu). Praćenje međusobnih odnosa te mikroflora i kulture od velikog je praktičnog značaja, jer se postignuti rezultati iskorištavaju, kako u izboru pojedinih članova kulture, tako i u primjeni optimalne količine proizvodne kulture. Jedna od grešaka mlječno-kiselih proizvoda je povećanje kiselosti zbog razvoja termorezistentnih štapića mlječno-kiselog vrenja. U ovisnosti o koncentraciji metabolizamskih proizvoda, streptokoki mlječne kiseline unešeni s proizvodnom kulturom zaustavljaju ili stimuliraju njihov rast. Prema tome, treba:

- a) odabrati kulturu streptokoka s izrazitim antagonističkim djelovanjem prema rastu termorezistentnih štapića mlječno-kiselog vrenja; i
- b) povećati ili smanjiti količinu kulture, već prema tome kako na te štapiće djeluje takav streptokok, jer se zahtjev pod a) vrlo teško može sprovesti s obzirom da su streptokoki s jakim antagonističkim djelovanjem gotovo redovno slabi proizvođači mlječne kiseline.

U više mahova pokušavali smo ubrzati proces stvaranja kiseline dodatkom kulture u količini većoj od 5% što predstavlja gornju granicu i prema podacima iz literature. No, praksa je pokazala da povećan dodatak kulture uvijek zahtijeva i njenu povećanu proizvodnju, a to opet uzrokuje pad njene kvalitete. Isto tako povećan dodatak kulture kvvari i konzistenciju gotovog proizvoda.

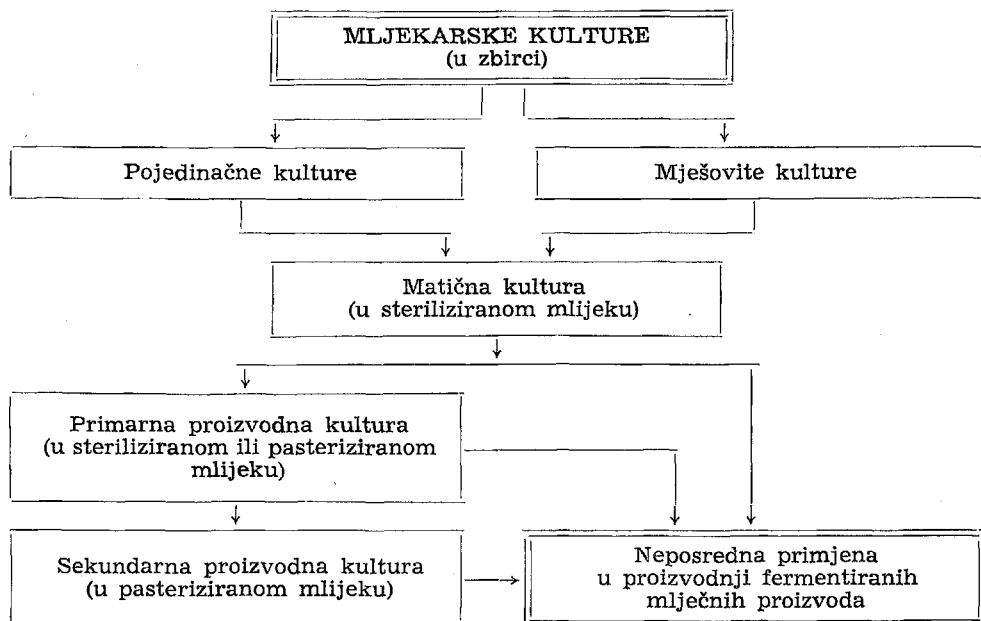
Mogućnost razvoja bakteriofaga za nas je jedan od najvažnijih činilaca koji uvjetuju izbor kulture i način njene upotrebe. Postoje dva načina sprečavanja razvoja bakteriofaga u proizvodnji fermentiranih proizvoda:

- a) primjena čistih pojedinačnih kultura; i
- b) primjena mješovitih kultura.

Primjena pojedinačnih kultura zahtijeva savršeno čist rad, izolirane prostorije, dezinfekciju i propisno čuvanje kulture. Prednost upotrebe mješovitih kultura je u tome da se uzima više sojeva, pa ako se jedan izolira ostali se normalno razvijaju. U svijetu se sve češće primjenjuju mješovite kulture. Ipak, i uza svu pažnju ponekad se desi da se ne uspije spriječiti razvoj bakteriofaga. Postepeno se bakteriofag koji lizira jedan ili dva soja počinje privikavati i na ostale sojeve. Primjenom metode svakodnevne zamjene proizvodnog soja, tj. kombinacije, sprečava se tendencija faga da pređe iz monovalentnog u poli-

valentni, pa se tako često uspijeva postići odumiranje bakteriofaga. Takva metoda zahtijeva 5—7 kombinacija, a svaka kombinacija je sastavljena od 3—5 sojeva. Prilikom predaje svake pojedine kombinacije (kulture) u proizvodnju zabilježi se sastav kombinacije i utvrđuje njena aktivnost. To nam omogućava da se, u slučaju narušavanja toka procesa zrenja u proizvodnim uvjetima, otkriju kulture kojih se aktivnost smanjila i da se odbace čitave kombinacije ili samo pojedini sojevi unutar njih.

Shema rada s mljekarskom kulturom u proizvodnji mlječno - kiselih proizvoda



Precjepljivanje sekundarne proizvodne kulture se ne preporuča, jer postoji mogućnost njenog onečišćenja i opadanja aktivnosti proizvodnih sojeva.

Održavanje aktivnosti kultura u laboratoriju i u proizvodnim uvjetima

Održavanje aktivnosti kultura zasniva se na dvjema osnovnim mogućnostima, kao što su:

- a) usporavanje metabolizma bakterijskih stanica; i
- b) odvajanje bakterijskih stanica od proizvoda njihovog metabolizma.

Metabolizam bakterija usporava se čuvanjem kultura pri nižim temperaturama ili isušivanjem kultura. Danas se čiste kulture čuvaju u smrznutom, osušenom ili tekućem stanju. Najrašireniji način čuvanja čistih kultura mlječno - kiselih bakterija je povremeno precjepljivanje u sterilno mlijeko. Uče-

stalost precjepljivanja ovisi o temperaturi pri kojoj se kulture drže u razdoblju između precjepljivanja. Tako se streptokoki mlječne kiseline precjepljuju svakih 7 dana, a štapići svakih 30 dana kada se čuvaju pri 3 — 4° C. Za održavanje aktivnosti kulture velik značaj ima pravovremeno prekidanje aktivnosti organizama pri optimalnoj temperaturi. Ako smo primarnu proizvodnu kulturu, nakon dobivanja željenog grusa, smjestili odmah u hladionik tada je njena aktivnost bila zadovoljavajuća u toku 8 dana, a aktivnost kultura držanih predugo u termostatu bila je već drugi ili treći dan znatno niža.

Vrlo često se aktivnost, a i druga svojstva kulture mijenjaju pod utjecajem kvalitete mlijeka. To se može izbjeći uzgojem sojeva u rekonstituiranom mlijeku iz obranog mlijeka u prahu (prethodno provjerenog na odsutnost antibiotika i sl.) ili u mlijeku krava s jednog dobra (opet, provjereno mlijeko). Skupno (miješano) mlijeko se smatra boljim od mlijeka jedne životinje, jer je prosječni kemijski sastav takvog mlijeka konstantniji. Međutim, važno je naglasiti da ne valja isuviše paziti pri izboru mlijeka za održavanje kultura, jer prilikom primjene u proizvodnim uvjetima koji su često puta mnogo nepovoljniji može doći do naglog pada aktivnosti kulture.

Mogućnosti povećanja aktivnosti kultura u laboratorijskim i proizvodnim uvjetima

Neki autori preporučuju dodavanje mlijeku namijenjenom za kulture raznovrsnih aktivatora, kao: vitamina, amino kiselina ili peptida. No, tu ne treba zaboraviti da je tako uzgajana kultura, kada se prenese u izuzetno nepovoljne uvjete razvoja u tekućoj proizvodnji slabija od kulturâ koje nisu uzgajane uz dodatak aktivatora. Smatramo da je umjesto aktivatora bakterija mlječne kiseline perspektivno potrebno razmotriti primjenu simbionata, poput kvasaca, bakterije octene kiseline i sl. Aktivnost proizvodne kulture zadržava se i povećava ako se smanji broj precjepljivanja, jer se prečestim precjepljivanjem poboljšavaju uvjeti rasta bakteriofaga, a također se povećava i broj kontaminantnih mikroorganizama. Tako se ispitivanjem primarne proizvodne kulture nisu našli štapići, a u sekundarnim proizvodnim kulturama našlo ih se oko 25.000/ml. Ako je količina štapića u 1 ml manja od 10.000 tada ih obično ne možemo vidjeti pod mikroskopom, pa se takve kulture uzimaju u proizvodnju. Zato se izravna primjena primarne proizvodne kulture i preporučuje svugdje gdje je to moguće.

Provjeravanje čistoće kultura streptokoka mlječne kiseline.

Kod svakodnevnog provjeravanja čistoće kultura primjenjuje se metoda mikroskopiranja i ispitivanja kiselosti kulture. Kiselost služi kao indikator razvoja bakterija mlječne kiseline i čistoće kulture. Količine stvorene mlječne kiseline za štapiće i koke mlječno - kiselog vrenja su različite. Ako kiselost svježe precjepljene i tek ohlađene streptokokne kulture pređe granicu od 42° SH, možemo sumnjati na njeno onečišćenje. Za točnije otkrivanje kontaminacije kulture termorezistentnim štapićima mlječne kiseline dobra je ova metoda, a osnovni joj je cilj provjeravanje čistoće, a ne određivanje količine streptokoka. Zato je dovoljno uzeti u ispitivanje razrjeđenja od 1 : 10.000 ili 1 : 1000:

Sekundarna proizvodna kultura	Mikroskopska slika kulture i njenih razrjeđenja	Čistoća kulture
kiselost < 41° SH	koki	čista
kiselost 41 — 43° SH	koki i štapići u slabijim razrjeđenjima	slabije onečišćena
kiselost > 43° SH	koki i štapići i u većim razrjeđenjima	jače onečišćena

Takva kontrola kulture ima znatan praktičan značaj, jer upućuje na odabiranje najbolje sheme za održavanje i pripremu proizvodne kulture.

Utvrđivanje uzroka narušavanja toka grušanja

Rješenju tog pitanja treba prići s više strana, jer mu uzrokom može biti više činilaca. Ponajprije treba obratiti pažnju na kretanje porasta kiselosti mlječno - kiselog proizvoda ili kulture. Imali smo priliku pratiti normalan porast kiselosti i mikroskopski vidjeti normalan razvoj naciopljenih mikroorganizama, ali do grušanja mlijeka ipak nije dolazilo. To se najčešće događa u jesenjem i proletnjem razdoblju godine, a isto tako i kod upotrebe mlijeka s malo suhe tvari, a napose kod upotrebe rekonstituiranog mlijeka. Kod sporog porasta kiselosti i lošeg razvoja mikroorganizama upotrijebljene kulture (provjereno mikroskopski) možemo pretpostaviti da do grušanja nije došlo iz ovih razloga:

- a) razvoj bakteriofaga;
- b) prisutnost bakteriostatika; i
- c) prisutnost inhibitornih proizvoda staničnog metabolizma.

Postoji niz metoda za otkrivanje uzroka narušavanja grušanja. Za proizvodne uvjete moraju metode biti jednostavne, i da se rezultati mogu dobiti u relativno kratkom vremenu. Jedna od prihvatljivih metoda je i ova: uzme se uzorak kulture ili proizvoda koji se sporo grušao ili se uopće nije grušao (ako se nije grušao tada se pažljivo kap po kap dodaje mlječna kiselina). Profil-triramo takav uzorak kroz filter papir, a nakon toga kroz membranski filter N° 2 ili N° 3. Petrijeva s hranjivim agarom razdijeli se (označi) na donjoj zdjelici na sektore, pa se na te sektore hranjive podloge mikrobiološkom ušicom nanesu sojevi koji su bili u sastavu proizvodne kombinacije. Na svaki sektor podloge se tada stavi kap filtrata i pusti da napravi trag od periferije prema središtu sektora. Petrijeve zdjelice s tako naciopljenom podlogom termostatiraju se pri 30° C u vremenu od 16 — 18 sati. Ako su prisutni bakteriofagi ili bakteriostatiki na mjestima gdje je ostao trag kapi filtrata nema rasta naciopljenog mikroorganizma. Da bismo, nadalje, odredili da li je u pitanju bakteriofag ili bakteriostatik, paralelno ispitujemo i djelovanje filtrata grijanog pri 80 — 85° C u trajanju od 2 — 5 min. Ako nije bilo rasta mikroorganizama ni kod ispitivanja s grijanim filtratom, zaključujemo da je inhibitor rasta termostabilan, a to su ili antibiotici ili proizvodi staničnog metabolizma. Međutim, ako je na rast mikroorganizma utjecao samo nezagrijani filtrat, zaključujemo da je gotovo sigurno prisutan bakteriofag.

Najjednostavnija je metoda za približno određivanje djelovanja inhibitor-nih tvari na upotrijebljene sojeve bakterija mlječne kiseline praćenje toka grušanja mlijeka u proizvodnoj kulturi. Ako je za izostanak grušanja kriv prisutan bakteriofag, tada u toku prvih 2—3 sata nakon cijepjenja dolazi do normalnog razvoja streptokoka mlječne kiseline koji se lijepo vide kod mikroskopskog pregleda (5—10 stanica, pa i više u vidnom polju). Kiselost može nastaviti da raste do 15°SH i tada tu stane, a u vidnom polju teško možemo naći streptokoke, ili vidimo samo poneku vrlo veliku stanicu.

Prema rezultatima ispitivanja i otkrivanja uzroka negrušanja mlijeka treba poduzeti određene mjere za otklanjanje uzroka. Ako je otkrivena prisutnost bakteriofaga u proizvodnji bilo kojeg mlječno-kiselog proizvoda ili proizvodne kulture, potrebno je odmah izmijeniti sve sojeve koji su se pokazali neopornima prema prisutnom bakteriofagu. Ako se ova mjera pokaže nedovoljno uspješnom, jer je bakteriofag proširio spektar djelovanja, treba po mogućnosti čitav proizvodni pogon (tvornicu) dekontaminirati otopinom klornog vapna. Ako su utvrđeni antibiotici treba obratiti pažnju na uvjete dobivanja i prijevoza mlijeka, i ukloniti moguće izvore antibiotika.

Z a k l j u č i

Za očuvanje aktivnosti, odnosno poželjnih svojstava mljekarskih kultura potrebno je neprekidno voditi računa o:

- kvaliteti (organoleptičkoj, kemijskoj i mikrobiološkoj) sirovog mlijeka;
- aseptičkim uvjetima rada pri precjepljivanju kultura; i
- pravilnom držanju kultura i njihovom obnavljanju u zbirci.

Za postizavanje stalnosti kvalitete gotovih fermentiranih mlječnih proizvoda potrebno je provoditi redovnu kontrolu:

- čistoće i aktivnosti matične kulture, kao i proizvodnih kultura;
- organoleptičkih svojstava (okusa, mirisa i konzistencije) i kiselosti (°SH) matične kulture i proizvodnih kultura;
- temperaturnih uvjeta pri proizvodnji fermentiranih mlječnih proizvoda;
- mikrobiološke čistoće gotovih fermentiranih proizvoda;
- organoleptičkih svojstava i kiselosti (°SH) gotovih proizvoda; i
- mikrobiološke čistoće svih površina strojnog uređaja, ambalaže i proizvodnih prostorija u kojima se proizvode fermentirani mlječni proizvodi.

L i t e r a t u r a

- Andersen, B. W. (1960): Single strain cultures can give improved products. *Amer. Milk. Rev.* 22 (9).
- Andersen, V. B. (1961): Developing a culture program for buttermilk and sour cream. *The milk dealer* 51 (1).
- Bogdanov, V. & Titov, A. (1951): Povišenje stojkosti žlivočnovo masla. *Mol. prom.* 12 (9) 26—31.
- Bogdanov, V. M.: Mikrobiologija moloka i moločnih produkta (3. izd.). Pišče-promizdat., Moskva, 1957.
- Cannon, R. Y. & Hawkins, G. E. (1962): Duration of secretion of bacteriostatic drugs in milk. *I. J. Dairy Sci.* 45 (6).
- Citti, Y. E., Sandine, W. E. & Elliker, P. R. (1963): Studies on slow and fast acid formation by *Streptococcus lactis*. *I. J. Dairy Sci.* 46 (6) 610 (58. Annual Meeting of ADSA, June 15—19. 1963, Lafayette, Indiana).
- Dahiya, R. S. & Speck, M. L. (1962): Symbiosis among *lactis* streptococci. *I. J. Dairy Sci.* 45 (5) 607.

- Hammer, B. W.: Dairy bacteriology (3rd ed.), John Wiley & Sons, Inc., New York, 1948.
- Kudrjavcev, V. M. (1963): Kolekcija tipovih kultur mikroorganizmov. *Mikrobiologija* 32 (5).
- Sherman, J. M. (1955): Streptococcus lactis and the streptococci of the so-called lactic group. *J. Dairy Sci.* 38 (10) 1184.
- Whitehead, H. R. & COX, G. A. (1935): The occurrence of bacteriophage in cultures of lactic streptococci. *New Zealand J. Sci. Technol.* 16.

JEDAN OD FAKTORA KOJI UTIČU NA KVARENJE STERILIZOVANOG MLEKA*

Stojanka MITIĆ, Ivana SPASIĆ, Ivanka OTENHAJMER
i Desanka MILENKOVIĆ
Institut za mlekarstvo Jugoslavije,
Novi Beograd

Uvod

Termički tretmani koji se upotrebljavaju za sterilizaciju mleka ne uništavaju uvek sve mikroorganizme, naročito ne izvesne forme spora termorezistentnih bakterija iz familije *Bacillaceae* i to rodova *Bacillus* i *Clostridium*. Ova rezistencija može biti vezana za jednu vrstu ili jedan soj, ili za neke ćelije jednog soja. Za kvarenje sterilizovanog mleka među termofilnim bakterijama naročito su značajne spore *Bacillus stearothermophilus*, a među mezofilnim spore *B. subtilisa*, *B. licheniformisa* i *B. circulansa*. Preživele spore ovih bakterija mogu vrlo brzo da stvaraju vegetativne oblike, te s toga brzo dovode i do kvarenja mleka. Međutim, mnogo su opasnije tzv. »uspavane« spore (*B. coagulans*), koje posle nekoliko nedelja ili meseci mogu da izazovu kvarenje mleka.

Kod »biološki sterilnog mleka« uništene su sve forme mikroorganizama i encima, bez vidljivih promena u fizičko-hemijskom i organoleptičkom pogledu. Međutim, u »komercijalno sterilnom mleku« može biti prisutan mali broj »inertnih« spora, koje nisu u stanju da pokvare mleko. Zbog toga se u zemljama s umerenom klimom toleriše prisustvo malog broja termofilnih spora u sterilizovanom mleku.

Međutim, poznato je da do kvarenja sterilizovanog mleka, prvih dana posle sterilizacije, može doći ili usled nedovoljnog dejstva toplote ili usled neispravnosti uređaja, koje omogućavaju mešanje sterilizovanog mleka sa sirovim mlekom, ili usled naknadne kontaminacije mikroorganizmima posle ispravno sprovedene sterilizacije.

Usled nedovoljnog dejstva toplote pri sterilizaciji mleka dolazi do preživljavanja spora prisutnih u sirovom mleku. Po navodima iz literature, a i našem sopstvenom iskustvu, do kvarenja sterilizovanog mleka najčešće dolazi usled prisustva sledećih sporogenih bakterija: *B. coagulansa*, koji daje gorak ukus mleku, *B. circulansa*, koji izaziva njegovu užeglost, zatim *B. cereusa*, *B. stearothermophilusa*, *B. subtilisa*, prouzrokovača slatkog zgrušavanja mleka i klostridija — *Cl. perfringensa* odnosno *Cl. sporogenesa*.

* Referat sa VIII Seminara za mljekarsku industriju od 2. do 4. II — 1970, Tehnološki fakultet, Zagreb