

Rast i aktivnost bakterijske kulture *Propionibacterium shermanii* u obranom mlijeku, retentatu obranog mlijeka i u smjesama retentata obranog mlijeka i retentata demineralizirane sirutke

Ljerka Kršev, Branka Magdalenić, Ljubica Tratnik

Izvorni znanstveni rad – Original scientific paper

UDK: 579.872.1

Sažetak

U obranom mlijeku, retentatu obranog mlijeka (ugušćenog do 1/2 i 1/3 početnog volumena) i u mješavini retentata obranog mlijeka i retentata demineralizirane sirutke (u omjerima 80 : 20, 70 : 30 i 50 : 50) praćeni su rast i aktivnost bakterije *Propionibacterium shermanii*.

Fermentacijom mlijeka bakterijom *P. shermanii* postiže se pH 4,6 nakon 24 sata.

Maksimalan broj stanica/ml mlijeka dostiže se u redu veličine 10^7 (ml^{-1}) dok se u retentatu mlijeka postiže 10^9 (ml^{-1}) stanica.

Dodatkom retentata demineralizirane sirutke u retentat mlijeka (ugušćenog do 1/3 početnog volumena) maksimalan broj stanica u ml ($10^9/\text{ml}$) postiže se uz veći dodatak retentata demineralizirane sirutke (30 i 50%) i to za 26 sati fermentacije bakterijom *P. shermanii*.

Riječi natuknice: *Propionibacterium shermanii* kultura, rast, aktivnost u različitim supstratima (obrano mlijeko, retentat obranog mlijeka, smjese retentata obranog mlijeka i retentata demineralizirane sirutke)

Uvod

Djelovanjem mikroorganizama neki od sastojaka mlijeka mijenjaju se, stvaraju se novi sastojci, pa tako fermentacijom dobiveni mliječni proizvodi postižu nova svojstva (Petterssen, et al., 1983.). Proizvedena mliječna kiselina produžuje trajnost proizvoda, a nastale aromatične tvari daju fermentiranim proizvodima poseban i svojstven okus (Kršev, 1989.).

Fermentacijom mlijeka nekim bakterijama razgrađuje se askorbinska kiselina i vitamini B₆ i B₁₂, dok vitamini A i D uglavnom ostaju nepromijenjeni. Fermentacijom mlijeka sojevima vrste *Lactobacillus acidophilus* fermentirani proizvod obogaćeni se folnom kiselinom i holinom (Petričić, 1984.), a rastom nekih bakterija kao na primjer *Propionibacterium shermanii* u mlijeku se sintetizira vitamin B₁₂ (Kršev, 1989; Davies, 1984.). Neki sojevi bakterija *P. shermanii* kao soj s oznakom L₂ mogu u smjesi s kulturom za proizvodnju kefiru povećati čak dvostruko količinu vitamina B₁₂ u proizvodu. Neke vrste bakterija propionske kiseline vrlo su značajne za proizvodnju tvrdih sireva, a posljednjih godina ove se bakterije, posebno *P. shermanii* sve više koriste za proizvodnju vitamina B₁₂, jer tijekom

fermentacije ugljikohidrata mogu sintetizirati 5,6-dimetilbenzoimidazol (Florent, 1986.). Bakterije propionske kiseline mogu rasti u veoma širokom rasponu pH vrijednosti (5 do 7,5) (Brezina, 1984.). Glukozu razgrađuju preko Embden-Meyerhofovog ciklusa, ali neki autori tvrde da imaju i enzime za heksozamonofosfatni ciklus (Hettinger and Reinhold, 1972.). Fermentirajući ugljikohidrate, mliječnu kiselinu i polihidroksialkohole ove bakterije stvaraju propionsku kiselinu, a u manjim količinama stvaraju octenu, mravlju i jantarnu kiselinu (Davies, and Law, 1984.).

U ovom radu istražen je rast i aktivnost kulture bakterije *P. shermanii* u obranom mlijeku, retentatu obranog mlijeka i smjesi retentata obranog mlijeka i retentata demineralizirane slatke sirutke.

Materijal, metode rada i analiza

Rast i aktivnost bakterije *P. shermanii* praćeni su u slijedećim podlogama:

1. Obranom mlijeku, proizvedenom u R.O. »Dukat«, mljekara Zagreb (tablica 1.)
2. Obranom mlijeku ugušćenom ultrafiltracijom do 1/2 i 1/3 početnog volumena – retentat obranog mlijeka (tablica 1.)
3. Smjesama retentata obranog mlijeka (ugušćenje do 1/3 početnog volumena) i retentata demineralizirane sirutke (demineralizirana sirutka ultrafiltracijom ugušćena do 1/20 početnog volumena) u omjerima 80:20, 70:30 i 50:50 (tablica 2).

Tablica 1. Prosječni kemijski sastav obranog mlijeka, retentata obranog mlijeka i demineralizirane sirutke

Table 1 The average chemical composition of skim milk, skim milk retentate, and demineralized whey retentate

(n=5)

	Obrano mlijeko Skim milk	Retentat obranog mlijeka Skim milk retentate		Retentat demineralizirane sirutke Demineralized whey retentate
		ugušćenje thickened to: 1/2	ugušćenje thickened to: 1/3	
Suha tvar (%) Dry matter	8,3	12,1	14,2	14,6
Laktoza (%) Lactose	4,4	4,8	5,1	6,4
Proteini (%) Proteins	3,1	6,1	7,5	6,6
Pepeo (%) Ash	0,7	1,0	1,1	0,2
Mast (%) Fat	0,1	0,1	0,3	1,3
Mliječna kiselina (%) Lactic acid	0,1	0,2	0,3	0,1

Tablica 2. Kemijski sastav smjesa retentata obranog mlijeka (ugušćenog do 1/3) i retentata demineralizirane sirutke (ugušćene do 1/20 početnog volumena)
 Table 2 The chemical composition of the mixture of skim milk retentate (thickened to 1/3) and demineralized whey retentate (thickened to 1/20 of original volume).
 (n=5)

	Smjesa retentata obranog mlijeka i retentata demineralizirane sirutke u omjerima Mixture of skim milk retentate and demineralized whey retentate in proportions:		
	80 : 20	70 : 30	50 : 50
Suha tvar (4) Dry matter	14,3	14,3	14,4
Laktoza Lactose	5,4	5,5	5,7
Proteini (%) Proteins	7,3	7,2	7,0
Pepeo (%) Ash	0,9	0,8	0,6
Mast (%) Fat	0,5	0,6	0,8
Mliječna kiselina (%) Lactic Acid	0,2	0,2	0,2

Bakterijska kultura

Liofilizirana kultura bakterija propionske kiseline – Propionic acid bacteria (Chr. Hansen's Lab. Danska) *P. shermanii* nacijepljena je (2%,g/v) u sterilizirano (121° C/15') rekonstituirano obrano mlijeko 12,5 % suhe tvari). Za istraživanje je korišteno nacijepljeno mlijeko inkubirano 25 do 30 sati pri temperaturi 30°C. Nakon 2 do 3 precjepivanja postignut je uvijek svježe pripravljen inokulum s prosječno 1,4 – 10⁷ stanica/ml podloge.

Priprema hranjivih podloga

Prije nacijepivanja podloge (1. obrano mlijeko, 2. retentat obranog mlijeka i 3. mješavina retentata mlijeka i sirutke) su pasterizirane pri 80°C/l do 2 minute, te ohlađene do optimalne temperature rasta istraživane bakterije.

Praćenje rasta i aktivnosti bakterije *P. Shermanii* u analiziranim podlogama:

U 200 ml pripremljene, analizirane podloge nacijepi se 2% (v/v) bakterijske kulture uzgojene u obranom rekonstituiranom i steriliziranom mlijeku, te inkubira pri 30° C/28 do 30 sati.

Tijekom inkubacije svakih 1 do 2 sata određivane su aktivna i titracijska kiselost te broj bakterijskih stanica/ml sve do postizanja pH-vrijednosti 4,6.

Mikrobiološke analize

Za određivanje broja stanica bakterije *P. shermanii* u analiziranim podlogama tijekom inkubacije korištena je podloga laktat agar (Neil and Van, 1928.), pH 7 – 7,3. Nacijepljena podloga inkubirana je pri 30° C/72 sata.

Fizikalno-kemijske analize

Fizikalno-kemijski sastav upotrijebljenih podloga (obranog mlijeka, retantata mlijeka i smjesa retentata) određeni su slijedećim analizama:

- suha tvar: sušenjem pri 102 ± 2°C
- pepeo: žarenjem (550°C)
- laktoza: IDF, 1974.
- mast: Gerber
- proteini: Kjeldahl (Rowland, 1938.)
- titracijska kiselost: Soxhlet-Henkel
- aktivna kiselost (pH) pH-metrom »Iskra«, model MA 5735
- količina mliječne kiseline: računski formulom °SH · 0,0225.

Izračunavanje kinetičkih parametara (Luedeking and Piret, 1979.):

Brzina rasta (dN/dt) i nastajanja ukupnih kiselina (dp/dt) određene su derivacijom krivulje rasta.

Brzina rasta prikazana je kao brzina promjene broja stanica u vremenu (dN/dt) N ml⁻¹h⁻¹.

Brzina nastajanja ukupnih kiselina prikazana je kao brzina promjene koncentracije ukupne kiseline u vremenu (dp/dt) g⁻¹h⁻¹.

Specifična brzina rasta određena je kao funkcija log broja stanica:

$$\mu = \left(\frac{1}{N} \right) \cdot \left(\frac{dN}{dt} \right) \quad (\text{h}^{-1})$$

Rezultati rada i rasprava

Kemijski sastav pripremljenih podloga za uzgoj bakterije *P. shermanii*

Usporedbom kemijskog sastava obranog mlijeka i retentata obranog mlijeka ugušćenog do 1/2 i 1/3 početnog volumena (tablica 1.), vidi se da je sastav retentata različit od onog u mlijeku. Povećana je količina suhe tvari, kao i količina proteina u suhoj tvari. Zbog toga je retentat mlijeka za bakterije mliječne kiseline hranjiva podloga s novim karakteristikama u poređenju s mlijekom, što navode i drugi autori (Mystry and Kosikowski, 1983.)

Sastav mješavina retentata mlijeka i retentata sirutke (tablica 2) je sličan prosječnom sastavu retentata obranog mlijeka ugušćenog do 1/3 početnog volumena (tablica 1). Što je veći postotak retentata sirutke dodan u retentat mlijeka smanjuje se količina proteina i pepela u mješavini, a raste količina laktoze. Bak-

terije mliječne kiseline rastu na kompleksnim podlogama, a mlijeko se smatra veoma povoljnom podlogom za njihov razvoj (Mystry and Kosikowski, 1983.).

Ultrafiltriranjem mlijeka kao i dodavanjem koncentrata sirutkinih proteina (retentata demineralizirane sirutke) u retentat mlijeka postiže se hranjiva podloga koja sadržava iste sastojke kao i mlijeko, ali u različitim odnosima, što svakako utječe na rast i aktivnost bakterija mliječne kiseline (Mystry and Kosikowski, 1985.; Marshal, et al., 1982.; Cox and Macbean, 1977.).

Kinetički parametri uzgoja bakterija *P. shermanii* u analiziranim podlogama

Brzina rasta, brzina nastajanja ukupne kiseline i specifična brzina rasta (μ) praćene su tijekom fermentacije obranog mlijeka, retentata mlijeka te mješavine retentata obranog mlijeka i retentata demineralizirane sirutke (u omjerima 80 : 20, 70 : 30 i 50 : 50) kulturom bakterije *P. shermanii*. Rezultati su prikazani u dijagramima 1 do 18.

Fermentacijom mlijeka kulturom bakterije *P. shermanii* pH vrijednost 4,6 postiže se nakon 24 sata fermentacije (dijagram 3). U retentatu mlijeka postiže se pH 4,6 nakon nešto duže inkubacije tj. nakon 28 sati (dijagram 6., 9.). Ovi rezultati potvrđuju pufersko djelovanje proteina na nastalu ukupnu kiselinu, kao što se navodi u literaturi za bakterije mliječne kiseline (Mystry and Kosikowski, 1985.).

Dodatak koncentrata sirutkinih proteina (retentata demineralizirane sirutke) u retentat mlijeka (ugušćenog do 1/3) produžuje se trajanje inkubacije do postizanja pH 4,6 (dijagrami 12., 15., 18.).

Maksimalni broj stanica/ml podloge koji se razvije u mlijeku dostigne do 10^7 /ml dok se u retentatu mlijeka produženjem inkubacije (do pH 4,6) maksimalan broj poveća do 10^8 /ml odnosno 10^9 /ml nakon 30 sati inkubacije.

Dodatkom retentata sirutke u retentat obranog mlijeka (1/3) maksimalan broj stanica / ml dostigne 10^9 /ml (dijagram 10). Veći dodatak retentata sirutke (30 i 50%) u retentat mlijeka uzrokovao je da se isti broj stanica bakterije/ml postigao nakon 26 sati fermentacije (dijagrami 13. i 16.).

Podaci pokazuju da dodatak retentata demineralizirane sirutke u retentat mlijeka, povoljno utječe na rast bakterije, što se slaže s podacima koje iznose Jelinek i sur (1984) koji sirutku navode kao vrlo dobru podlogu za uzgoj bakterije *P. shermanii*.

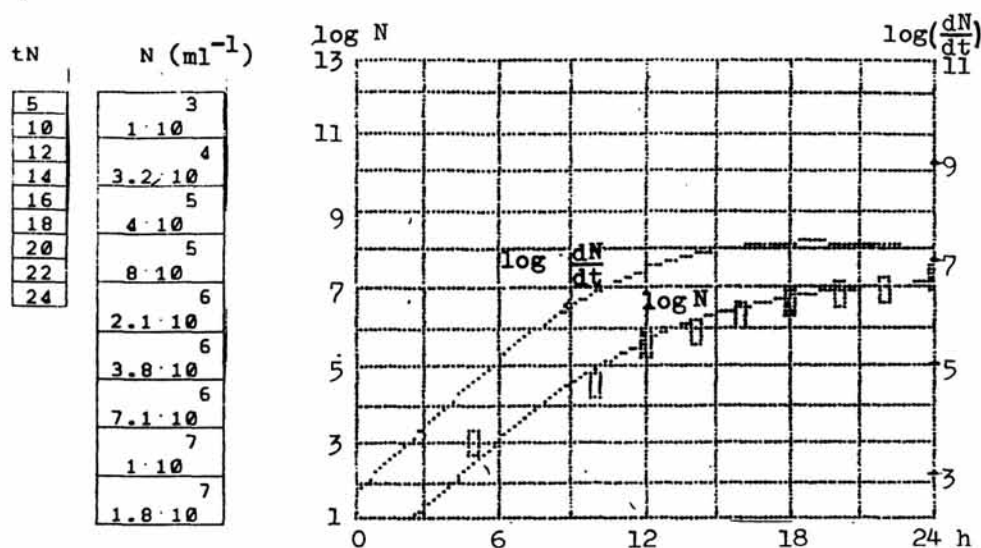
Maksimalne vrijednosti brzine rasta (dN/dt) u mlijeku postižu se nakon 3 sata fermentacije, a ta se vrijednost u retentatu mlijeka postiže nakon dužeg trajanja fermentacije (dijagrami 1., 4. i 7.).

Dodatkom retentata sirutke maksimalna brzina rasta (dN/dt) u odnosu na mlijeko postiže se za znatno dužeg trajanja fermentacije (15 sati za mješavinu s 20%, a 18 sati za mješavine sa 30 i 50% retentata demineralizirane sirutke).

Maksimalna vrijednost brzine nastajanja ukupne kiseline (dp/dt) je u mlijeku zabilježena u 9-tom satu fermentacije (dijagram 2.), a u retentatu mlijeka maksimum je oko 10-tog sata fermentacije i po vrijednosti je manji (dijagrami 5 i 8).

Dodatkom retentata sirutke u retentat mlijeka (ugušćenog do 1/3) maksimalna vrijednost brzine nastajanja ukupne kiseline (dp/dt) pomiče se ranijoj fazi fermentacije, nakon 5-tog sata fermentacije, a vrijednosti su također nešto manje nego one postignute u mlijeku (dijagrami 11., 14. i 17.).

Maksimalna vrijednost specifične brzine rasta (μ) u mlijeku postiže se nakon 3 sata fermentacije (dijagram 3.) u retentatu mlijeka i u mješavini sa retentatom sirutke u kasnijoj fazi fermentacije, nakon 15-tog sata (dijagrami 6., 9., 12., 15. i 18.), ali se uočava da su te vrijednosti približne onima mlijeka (dijagram 3.), osim u retentatu mlijeka, ugušćenog do 1/3 (dijagram 9.) nešto su ispod vrijednosti u obranom mlijeku.



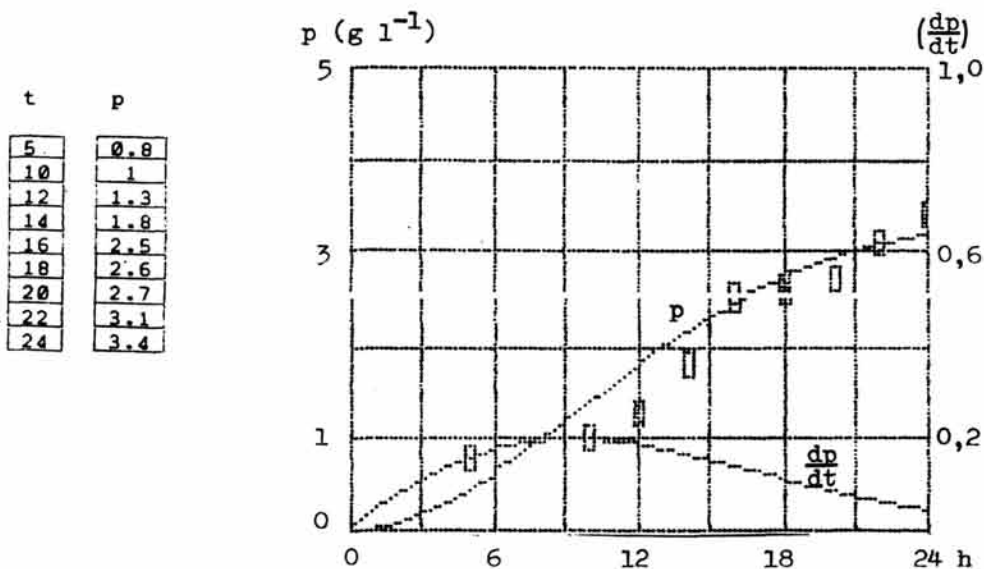
Dijagram 1. Brzina rasta ($\frac{dN}{dt}$) kulture *Propionibacterium shermanii* u obranom mlijeku.

Diagram 1 Rate of growth ($\frac{dN}{dt}$) of *P. shermanii* culture in skim milk.

Zaključak

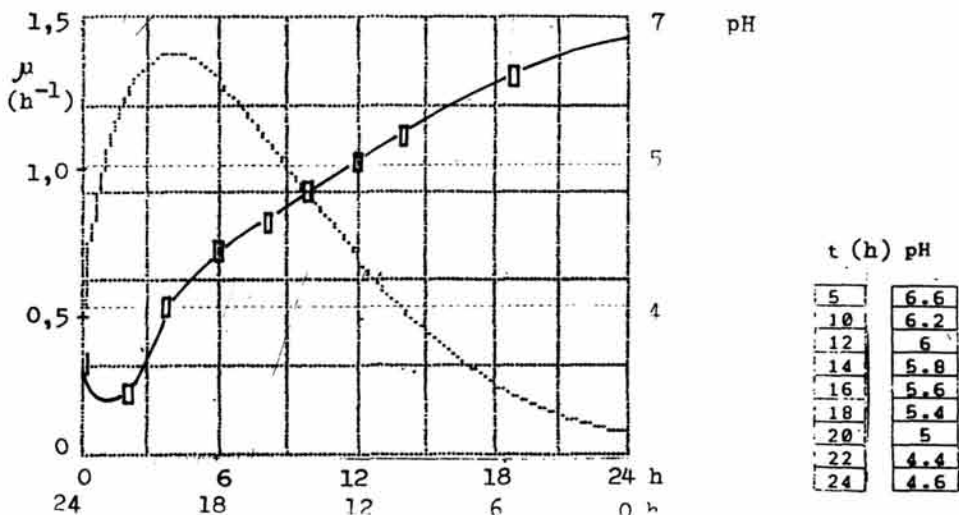
Na osnovu rezultata istraživanja rasta bakterije *Propionibacterium shermanii* u obranom mlijeku, retentatu obranog mlijeka, te u smjesi retentata mlijeka i retentata demineralizirane sirutke, mogu se izvesti slijedeći zaključci:

- Rast bakterije *P. shermanii* u retentatu mlijeka sporiji je nego u mlijeku.
- Dodatak retentata demineralizirane sirutke u retentat mlijeka povoljno djeluje na rast analizirane bakterijske kulture.



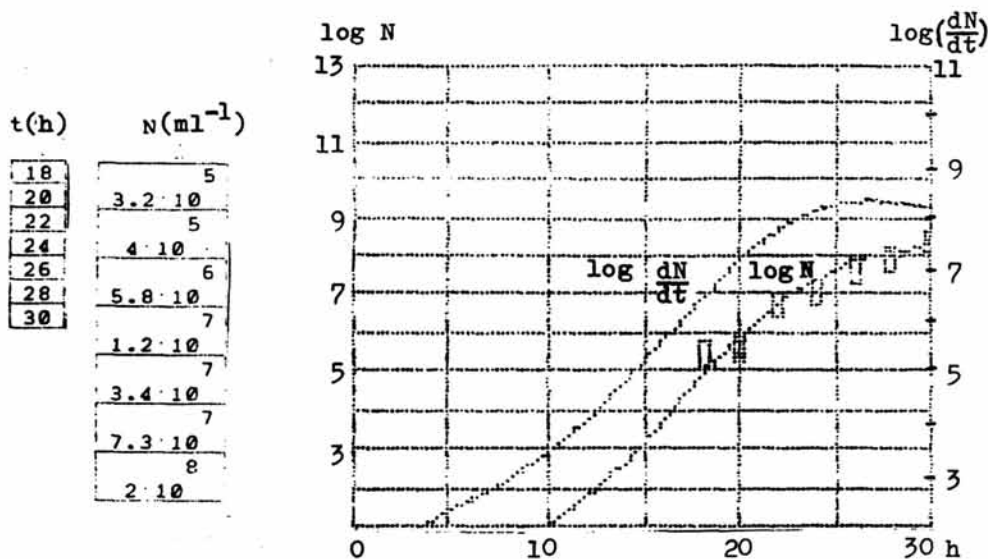
Dijagram 2. Brzina nastajanja ukupne kiseline ($\frac{dp}{dt}$) u obranom mlijeku tijekom fermentacije kulturom *P. shermanii*.

Diagram 2 Rate of formation of acid ($\frac{dp}{dt}$) in skim milk during fermentation by *P. shermanii* culture.



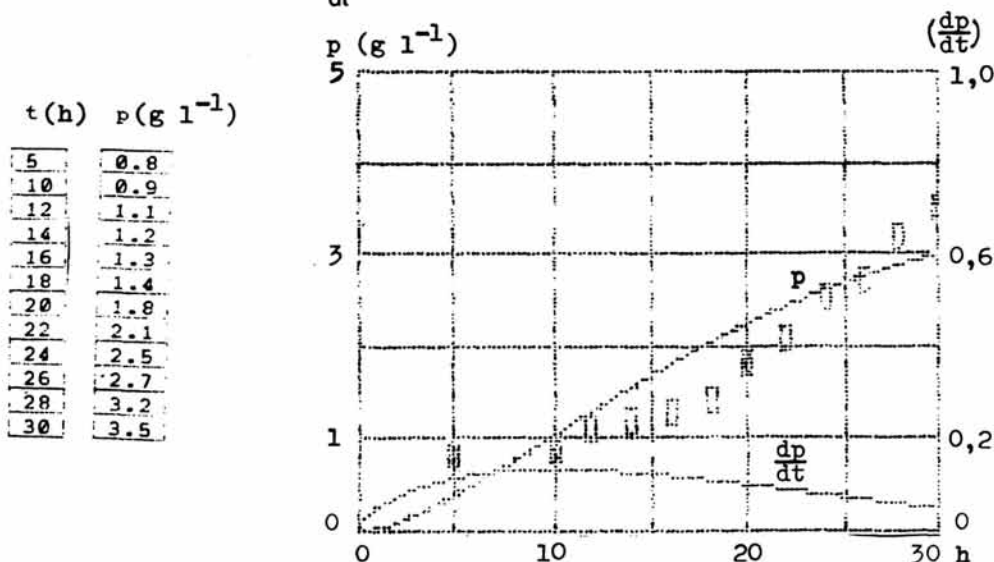
Dijagram 3. Specifična brzina rasta (μ) bakterije *P. shermanii* i promjena pH vrijednosti obranog mlijeka tijekom fermentacije tom kulturom.

Diagram 3 Specific rate of growth (μ) of *P. shermanii* Bacteria and changes in pH values in skim milk during fermentation with their culture.



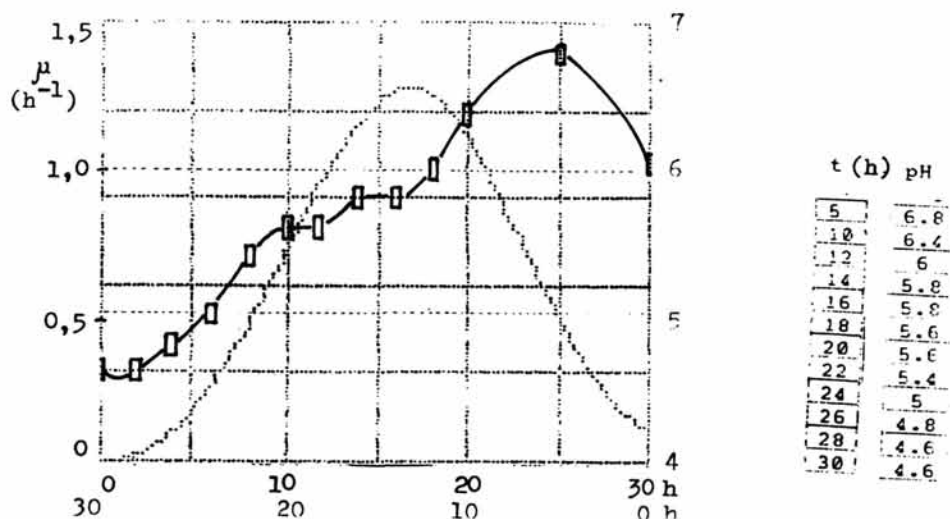
Dijagram 4. Brzina rasta ($\frac{dN}{dt}$) kulture *P. shermanii* u retentatu obranog mlijeka (1/2).

Diagram 4 Rate of growth ($\frac{dN}{dt}$) of *P. shermanii* in skim milk retentate (1/2).

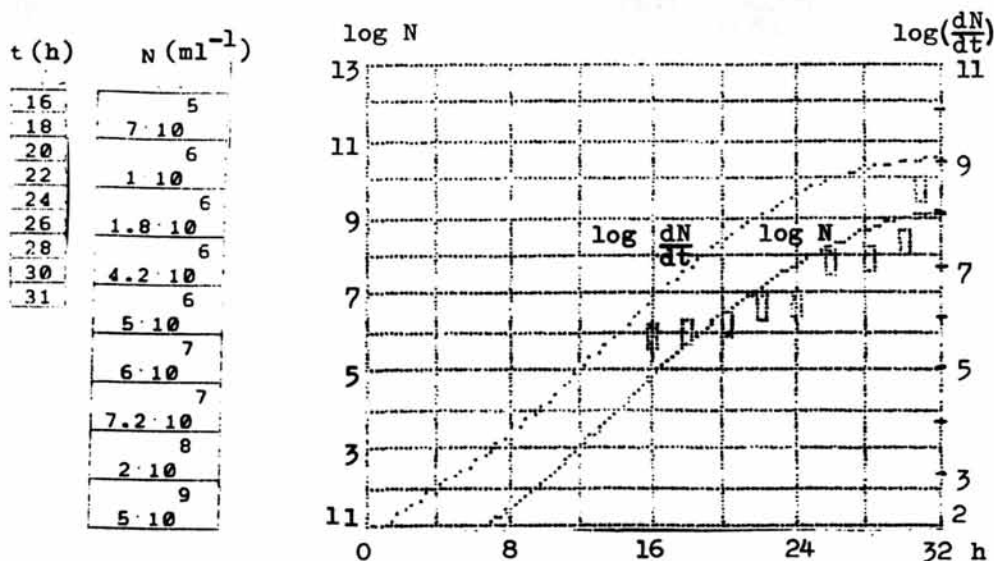


Dijagram 5. Brzina nastajanja kiseline ($\frac{dp}{dt}$) u retentatu obranog mlijeka (1/2) tijekom fermentacije kulturom *P. shermanii*.

Diagram 5 Rate of formation of acid ($\frac{dp}{dt}$) in skim milk retentate (1/2) during fermentation by *P. shermanii* culture.

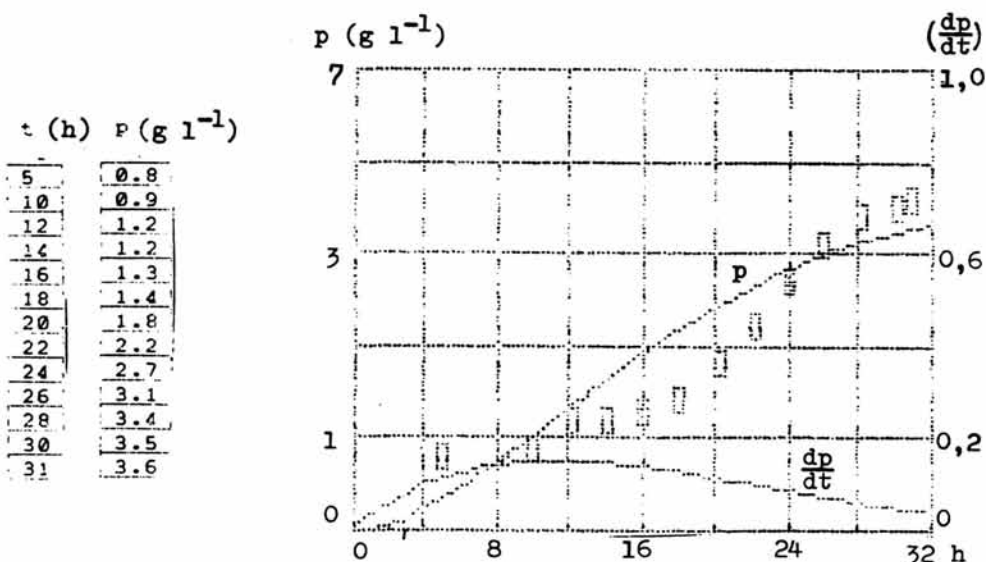


Dijagram 6. Specifična brzina rasta (μ) bakterije *P. shermanii* i promjena pH vrijednosti retentata obranog mlijeka (1/2) tijekom fermentacije tom kulturom.
Diagram 6 Specific rate of growth (μ) of *P. shermanii* Bacteria and changes in pH values in skim milk retentate (1/2) during fermentation by their culture.



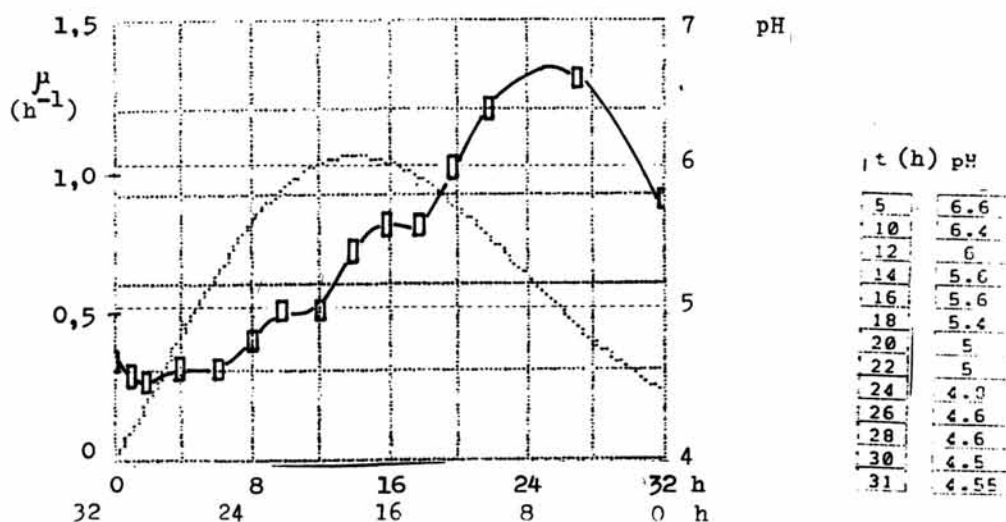
Dijagram 7. Brzina rasta ($\frac{dN}{dt}$) kulture *P. shermanii* u retentatu obranog mlijeka (1/3).

Diagram 7 Rate of growth ($\frac{dN}{dt}$) of *P. shermanii* culture in skim milk retentate (1/3).



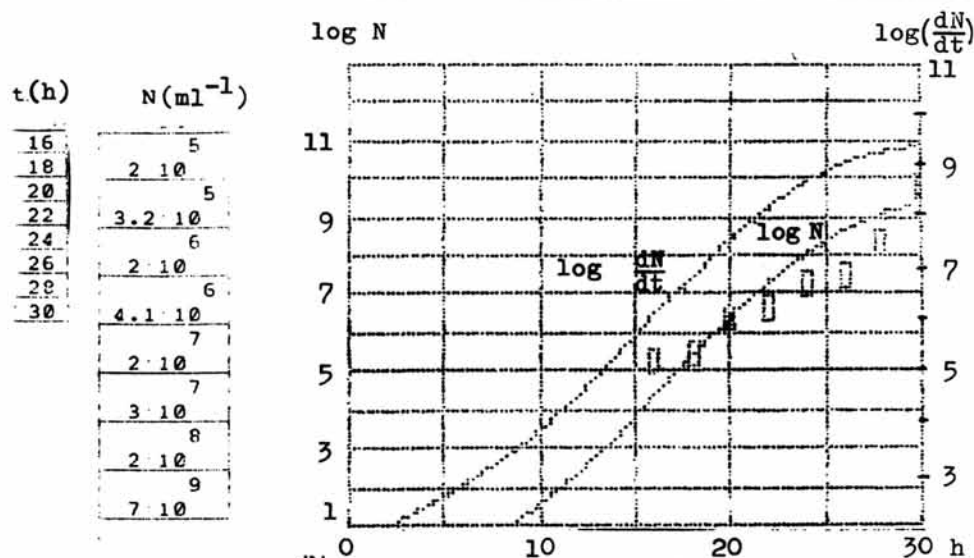
Dijagram 8. Brzina nastajanja kiseline ($\frac{dp}{dt}$) u retentatu obranog mlijeka (1/3) tijekom fermentacije kulturom *P. shermanii*.

Diagram 8 Rate of formation of acid ($\frac{dp}{dt}$) in skim milk retentate (1/3) during fermentation with *P. shermanii* culture.



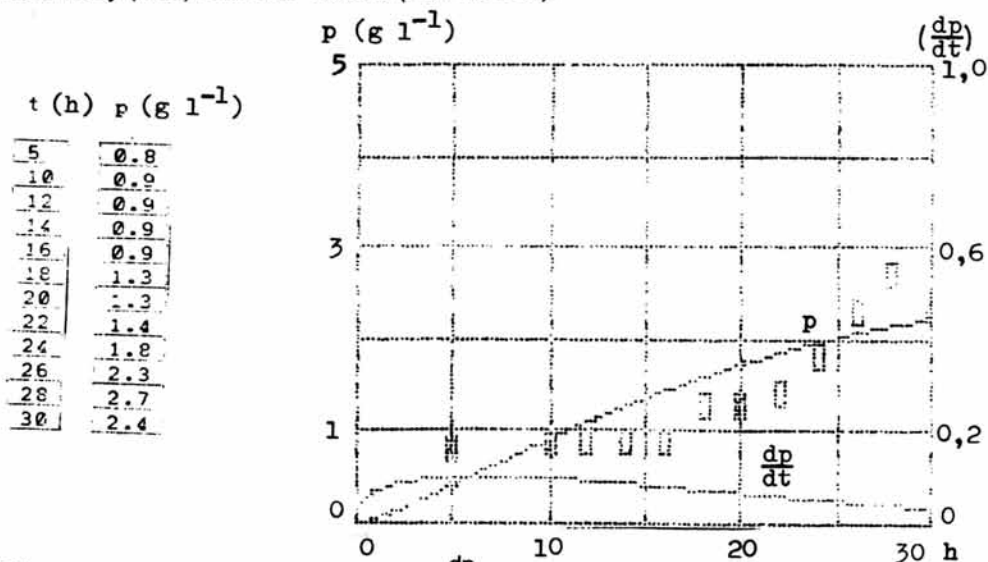
Dijagram 9. Specifična brzina rasta (μ) bakterije *P. shermanii* i promjena pH vrijednosti obranog mlijeka (1/3) tijekom fermentacije tom kulturom.

Diagram 9 Specific rate of growth (μ) of *P. shermanii* Bacteria and changes in pH values in skim milk retentate (1/3) during fermentation by their culture.



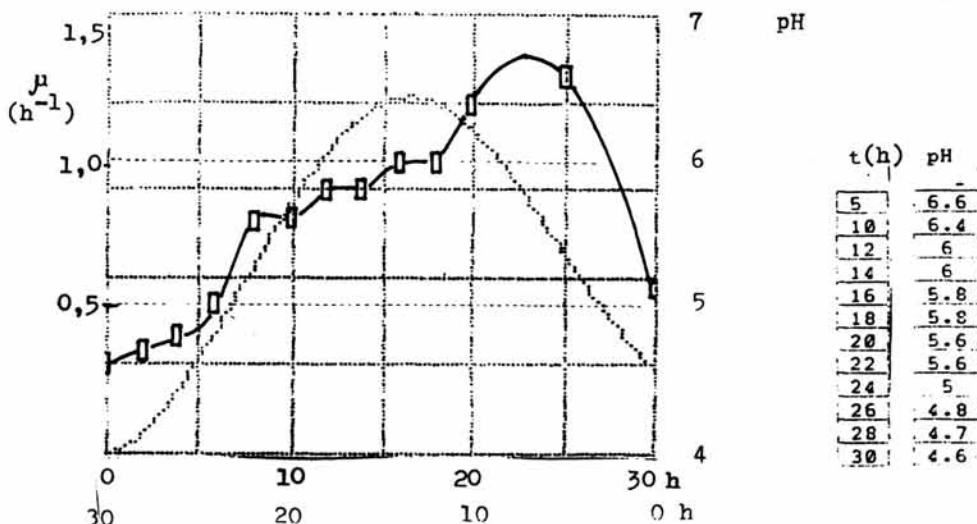
Dijagram 10. Brzina rasta ($\frac{dN}{dt}$) kulture *P. shermanii* u mješavini retentata obranog mlijeka (1/3) i retentata demineralizirane sirutke (1/20) u omjeru 80 : 20.

Diagram 10 Rate of growth ($\frac{dN}{dt}$) of *P. shermanii* culture in skim milk (1/3) and demineralized whey (1/20) retentate mixture (ratio 80 : 20).



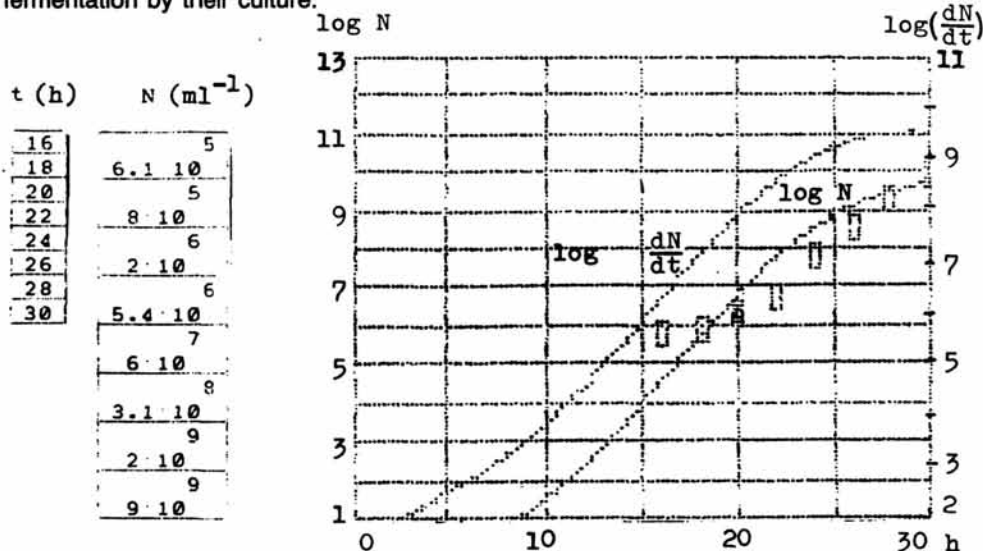
Dijagram 11. Brzina nastajanja kiseline ($\frac{dp}{dt}$) u mješavini retentata obranog mlijeka (1/3) retentata demineralizirane sirutke (1/20) u omjeru 80 : 20 tijekom fermentacije kulturom *P. shermanii*.

Diagram 11 Rate of acid formation ($\frac{dp}{dt}$) in skim milk (1/3) and demineralized whey (1/20) retentate mixture (ratio 80 : 20) during fermentation by *P. shermanii* culture.



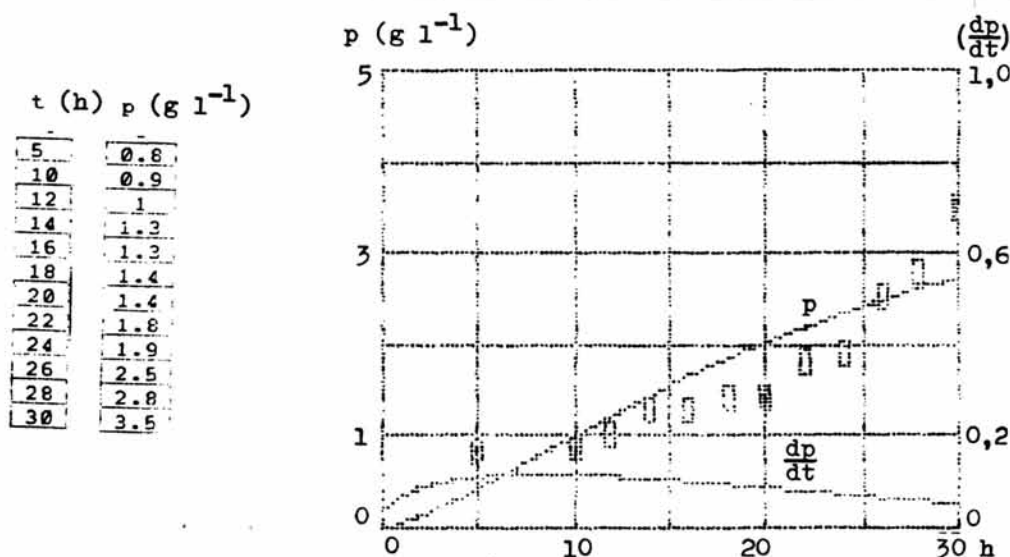
Dijagram 12. Specifična brzina rasta (μ) bakterije *P. shermanii* i promjena pH vrijednosti mješavine retentata obranog mlijeka (1/3) i retentata demineralizirane sirutke u omjeru 80 : 20 tijekom fermentacije tom kulturom.

Diagram 12 Specific rate of growth (μ) of *P. shermanii* Bacteria and changes in pH values in skim milk (1/3) and demineralized whey (1/20) retentate mixture (ratio 80 : 20) during fermentation by their culture.



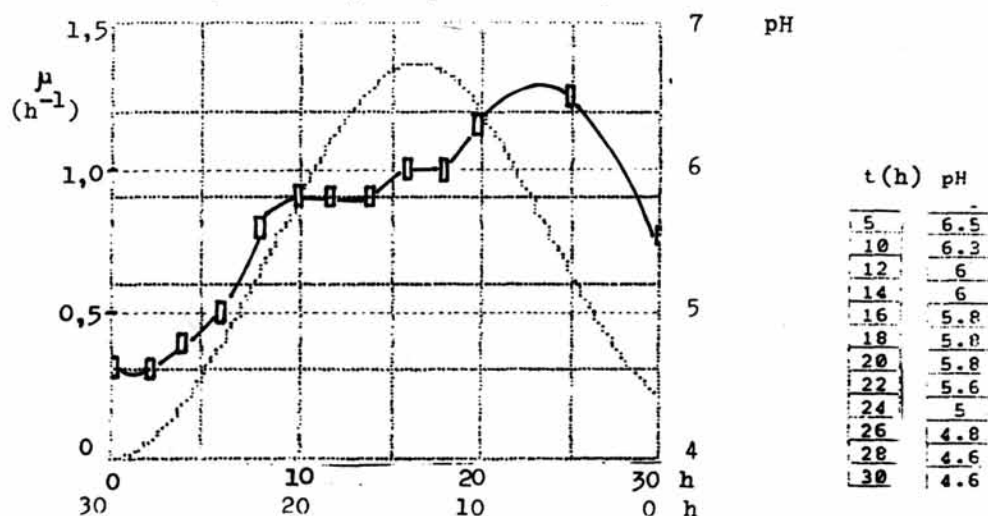
Dijagram 13. Brzina rasta ($\frac{dN}{dt}$) kulture *P. shermanii* u mješavini retentata obranog mlijeka (1/3) i retentata demineralizirane sirutke (1/20) u omjeru 70 : 30.

Diagram 13 Rate of growth ($\frac{dN}{dt}$) of *P. shermanii* culture in skim milk (1/3) and demineralized whey (1/20) retentate mixture (ratio 70 : 30).



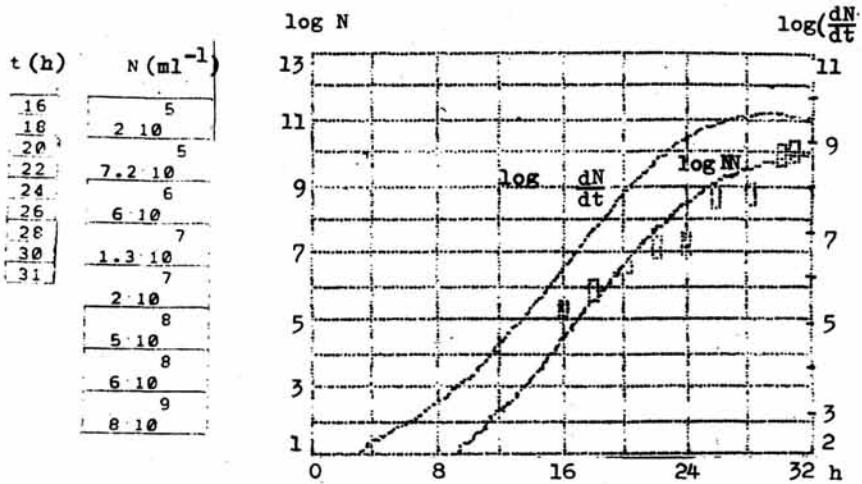
Dijagram 14. Brzina nastajanja kiseline ($\frac{dp}{dt}$) u mješavini retentata obranog mlijeka (1/3) i retentata demineralizirane sirutke (1/20) u omjeru 70 : 30 tijekom fermentacije kulturom *P. shermanii*.

Diagram 14 Rate of formation acid ($\frac{dp}{dt}$) in skim milk (1/3) and demineralized whey (1/20) retentate mixture (ratio 70 : 30) during fermentation by *P. shermanii* culture.



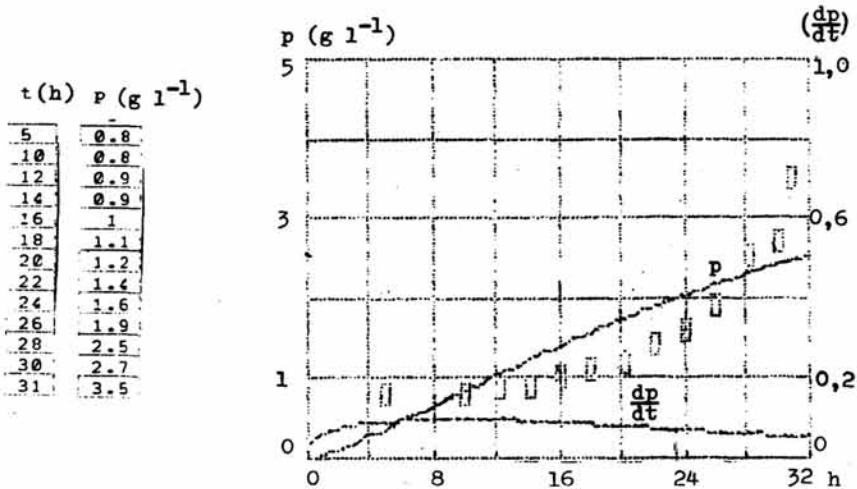
Dijagram 15. Specifična brzina rasta (μ) bakterije *P. shermanii* i promjena pH vrijednosti mješavine retentata obranog mlijeka (1/3) i retentata demineralizirane sirutke (1/20) u omjeru 70 : 30 tijekom fermentacije tom kulturom.

Diagram 15 Specific rate of growth (μ) of *P. shermanii* bacteria and changes in pH values in skim milk (1/3) and demineralized whey retentate mixture (1/20) (ratio 70 : 30) during fermentation by their culture.



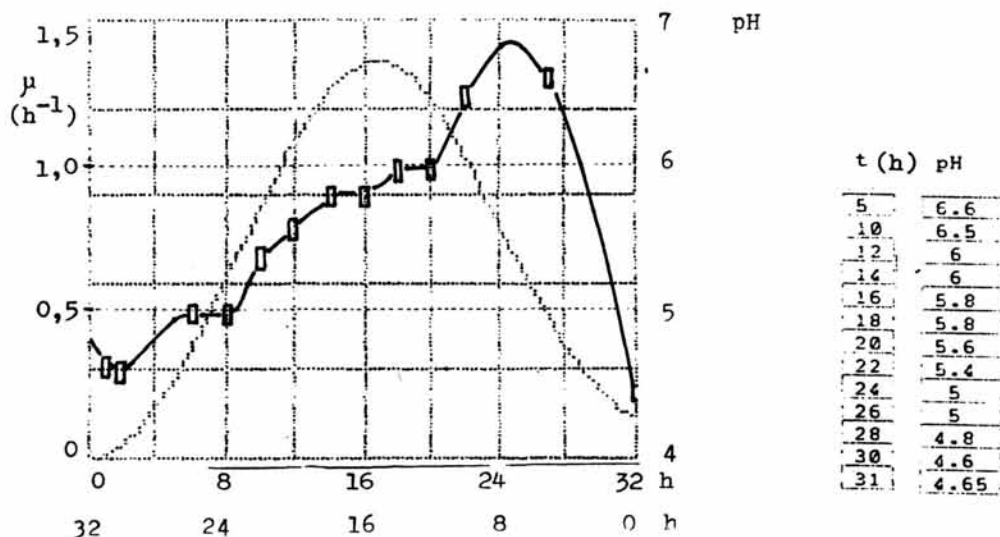
Dijagram 16. Brzina rasta ($\frac{dN}{dt}$) kulture *P. shermanii* u mješavini retentata obranog mlijeka (1/3) i retentata demineralizirane sirutke (1/20) u omjeru 50 : 50.

Diagram 16 Rate of growth ($\frac{dN}{dt}$) of *P. shermanii* culture in skim milk (1/3) and demineralized whey (1/20) retentate mixture (ratio 50 : 50).



Dijagram 17. Brzina nastajanja kiseline ($\frac{dp}{dt}$) u mješavini retentata obranog mlijeka (1/3) i retentata demineralizirane sirutke u omjeru 50 : 50 tijekom fermentacije kulturom *P. shermanii*.

Diagram 17 Rate of acid formation ($\frac{dp}{dt}$) in skim milk (1/3) and demineralized whey (1/20) retentate mixture (ratio 50 : 50) during fermentation by *P. shermanii* culture.



Dijagram 18. Specifična brzina rasta (μ) bakterije *P. shermanii* i promjena pH vrijednosti mješavine retentata obranog mlijeka (1/3) i retentata demineralizirane sirutke (1/20) u omjeru 50 : 50 tijekom fermentacije tom kulturom.

Diagram 18 Specific rate of growth (μ) of *P. shermanii* Bacteria and changes in pH values in skim milk (1/3) and demineralized whey retentate mixture (ratio 50 : 50) during fermentation by their culture.

GROWTH AND ACTIVITY OF PROPIONIBACTERIUM SHERMANII BACTERIAL CULTURE IN SKIM MILK, SKIM MILK RETENTATE AND SKIM MILK RETENTATE MIXTURES AND DEMINERALIZED WHEY RETENTATE.

Summary

Growth and activity of *Propionibacterium shermanii* in skim milk, skim milk retentate thickened to 1/2 and 1/3 of initial volume and in mixture of skim milk retentate and demineralized whey retentate (ratios 80 : 20, 70 : 30 and 50 : 50) were studied.

P. shermanii culture fermenting milk attained pH 4,6 after 24 hours.

The maximum number of cells/ml is reached in milk in the vicinity of 10^7 (ml^{-1}), and corresponding count in milk retentate is 10^9 (ml^{-1}) ceels. The addition of demineralized whey retentate (30 to 50 %) to milk retentate (thickened to 1/3 of initial volume) delayed the achievement of maximum cells' number ($10^9/\text{ml}$) to over 26 hours of fermentation.

Additional index words: *Propionibacterium shermanii* culture, growth activity in different media (skim milk, skim milk retentate, mixtures of skim milk retentate and demineralized whey retentate).

Literatura

- BREZINA, P., JELINEK, J., DUCHKOVA, K. (1984): **Prümýsil potravín 10**, 33, (535.111 – 538.111).
- COX, C. C., MACBEAN, R. D. (1977): The Austr. Journal of Dairy Techn., March, 19-22.
- DAVIES, F. L., LAW, B. A. (1984): Advances in the microbiology and biochemistry of cheese and fermented milk, Elsevier Appl. Sci. Publ., London.
- FLORENT, J. (1986): 5-Vitamins, Biotechnology 4, Ed. by Rehm, H. J. and Reed, G., str. 11-125.
- HETTINGER, O. H., REINHOLD, E. W. (1972): **J. Milk Food Technol.** 35, 295, 359, 437.
- International Dairy Federation (1974): Doc. No 28.
- JELINEK, J., BREZINA, P., MATHAVJEROVA, H. (1984): **Prümýsil potravín 12**, 35, (651-137).
- KRŠEV, Lj. (1989): Mikrobne kulture u proizvodnji mliječnih proizvoda, Udruženje mljekarskih radnika Hrvatske, Zagreb.
- LUDEKING, R. and PIRET, E. L. (1979): A kinetic study of the lactic acid fermentation batch process at controlled pH.
- MARSHAL, V. M., COLE, W. M., VEGA, J. R. (1982): **J. of Dairy Res.** 49, 665-670.
- MYSTRY, V. V., KOSIKOWSKI, F. V. (1983): **J. Dairy Sci.** 66 (Suppl. 1).
- MYSTRY, V. V., KOSIKOWSKI, F. V. (1985): **J. Dairy Sci.** 68, 2536.
- NEIL, C. B. VAN (1928): The propionic bacteria, Vitgeverszavan, N. V., Boissevain, J. W., Haarlem.
- PETTERSSSEN, L., GRAF, W., SEWELIN, V. (1983): Symposium of the Swedish Nutrition Foundation, Ed. Bo. Hallargen, Almquist and Wiksell Int., Stockholm.
- PETRIČIĆ, A. (1984): Konzumno i fermentirano mlijeko, Udruženje mljekarskih radnika Hrvatske, Zagreb.
- ROWLAND, J. C. (1938): **J. Dairy Res.**, 9, 42-47.

Adrese autora – Authors addresses:

Prof. dr. Ljerka Kršev
Dukat, d.d., Mljekara Zagreb
Mr. Branka Magdalenić
Vindija, d.d., Varaždin
Doc. dr. Ljubica Tratnik
Prehrambeno-biotehnoški fakultet Zagreb

Primljeno – Received:

15. 6. 1994.