

## Proučavanje aktivnosti čistih i miješanih kultura *Lactobacillus bulgaricus* i *Streptococcus thermophilus* u enzimatski hidroliziranom mlijeku\*

Ana ARSOV, dipl. inž., Karmen GODIĆ, dipl. biol., Biotehniška fakulteta, VTOZD za živinorejo, Inštitut za mlekarstvo, Ljubljana

Izvorni znanstveni rad — Original Scientific Paper  
Prispjelo: 1. 6. 1990.

UDK: 637.146.34

### Sažetak

Proučavali smo utjecaj enzimatski razgrađene laktoze enzimom beta-galaktozidazom (*Maxilact LX 5.000*) na aktivnosti čistih i miješanih kultura *Lbc. bulgaricus* i *Str. thermophilus*. Aktivnost kultura smo utvrđivali na osnovi vremena koagulacije, tvorbe mliječne kiseline, porasta broja mikroorganizama pojedinih kultura pri temperaturi 42°C i u postfermentacijskom razdoblju pri temperaturi 6°C. Utjecaj enzimatski razgrađene laktoze u mlijeku na povećanu aktivnost kulture bilo je moguće točno odrediti samo u čistim kulturama *Str. thermophilus*.

Riječi natuknice: aktivnost čistih kultura bakterija *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*

### Uvod

Opće konstatacije o povoljnom utjecaju enzimatski razgrađene laktoze u mlijeku na aktivnost jogurtne kulture su poznate, ali je još ipak mnogo nejasnoća u vezi sa sposobnošću iskorištavanja pojedinih šećera, a prije svega u vezi s međusobnom stimulacijom u miješanoj kulturi.

Cilj naših istraživanja je bio proučavanje mogućnosti usmjeravanja na pripremu jogurtne kulture, sastavljene od određenih čistih kultura, koja bi djelovala optimalno u određenim uvjetima tehnološkog procesa proizvodnje jogurta od mlijeka s enzimatski razgrađenom laktozom.

Zbog zamršenosti brojnih biokemijskih reakcija i genetski uvjetovanih svojstava pojedinih čistih kultura, takva su proučavanja nužna, iako obrađuju samo jedan od činilaca koji bitno utječu na tok fermentacije i aktivnosti pojedinih mikroorganizama.

U razvijenim mljekarskim zemljama još uvijek proučavaju aktivnost jogurtne kulture s različitih aspekata. Značajan je utjecaj pojedinih komponenta u mediju djelovanja te kulture, prije svega ugljikohidrata, odnosno šećera.

\* Rad je iznesen na 9. jugoslavenskom međunarodnom Simpoziju »Suvremena proizvodnja i prerada mlijeka«, Portorož, 1990.

Naslov originala na slovenskom jeziku: »Proučavanje aktivnosti čistih in mešanih kultur *Lactobacillus bulgaricus* in *Streptococcus thermophilus* v encimatsko hidroliziranem mleku»  
Prijevod sa slovenskog na hrvatski jezik: Matej Markeš, dipl. inž.

Ustanovljene su signifikantne razlike rasta mikroorganizama jogurtne kulture: *Lbc. bulgaricus* i *Str. thermophilus* u čistoj i miješanoj kulturi u prisutnosti glukoze, galaktoze, laktoze, saharoze. *Str. thermophilus* fermentira svih pet ugljikohidrata, dok *Lbc. bulgaricus* glukozu, laktozu i fruktozu iskoristava, a galaktozu i saharozu u čistoj kulturi ne može fermentirati. U kombinaciji sa *Str. thermophilus* *Lbc. bulgaricus* može rasti u prisutnosti galaktoze i saharoze. U miješanoj kulturi raste *Str. thermophilus*, u usporedbi s *Lbc. bulgaricus* — slabije, u kombinaciji je rast obaju mikroorganizama stimuliran, pri čemu izrazitije *Lbc. bulgaricus* (Amoro i sur., 1989). Pritom treba imati u vidu i to da se svi sojevi tih mikroorganizama ne ponašaju podjednako. Spomenute konstatacije vrijede samo za pojedine sojeve.

U tom smislu je značajno proučavanje specifične aktivnosti  $\beta$ -galaktozidaze u času rasta i aktivnosti *Str. thermophilus* i *Lbc. bulgaricus*. Cilj ovih proučavanja je mogućnost izbora najprimjerenijih sojeva za mikrobiološku kulturu u proizvodnji jogurta. Bilo je, naime, ustanovljeno da neki ljudi probavljaju laktozu iz jogurta znatno bolje, nego laktozu iz drugih mliječnih proizvoda. Sojevi s većom aktivnošću vlastite  $\beta$ -galaktozidaze su za proizvodnju jogurta još posebno značajni (Lin i sur., 1989).

U slučaju slabije aktivnosti vlastite  $\beta$ -galaktozidaze, fermentacija mikroorganizmima ne teče dovoljno djelotvorno, što se odražava u trajanju fermentacije, odnosno trajanju koagulacije, a djelomično i u količini nastale mliječne kiseline.

Značajna je konstatacija da je enzimatski hidrolizirana laktoza utjecala na povećanu proizvodnju mliječne kiseline nekih sojeva *Lbc. bulgaricus* nakon 12 sati, a pojedinih sojeva *Str. thermophilus* tek nakon 24 sata (Sharma, Dutta, 1986).

### Materijal i metode rada

Pri provedbi istraživačkog programa upotrijebili smo kao ishodišni materijal za izolaciju čistih kultura *Lbc. bulgaricus* i *Str. thermophilus*, jogurt, izrađen u proizvodnom pogonu i zatim pohranjen 24 sata pri temperaturi 6°C. Daljnje precjepljivanje i uzgoj kultura odvijalo se u sterilnom obranom rekonstituiranom mlijeku (10% rastopina obranog mlijeka u prahu, sterilizirana pri 121°C 10 minuta).

#### Provedba postupka:

- cijepjenje jogurta na selektivne hranjive podloge za *Streptococcus* i *Lactobacillus* vrste;
- precjepljivanje najtipičnijih kolonija u sterilizirano rekonstituirano mlijeko u prahu (1% inokuluma), inkubacija pri 42°C do koagulacije;
- utvrđivanje trajanja koagulacije i određivanje nastale kiseline.

Na osnovi koagulacijskih karakteristika i aktivnosti kulture (tvorba kiseline) izabrali smo brze i spore varijante *Lbc. bulgaricus* i *Str. thermophilus*, koje su se međusobno razlikovale po aktivnosti u odnosu na trajanje koagulacije i tvorbu kiseline.

U daljnjem proučavanju upotrijebili smo izabrane mikroorganizme u obliku čistih i miješanih kultura.

Testiranje smo proveli u mlijeku s hidroliziranom i nehidroliziranom laktozom; za provedbu enzimske hidrolize laktoze upotrijebili smo enzim  $\beta$ -galaktozidazu, Maxilat LX 5.000. Enzimska hidroliza odvijala se istovremeno s fermentacijom mlijeka.

Kontrolu aktivnosti i rasta čistih i miješanih kultura bakterija proveli smo u vremenskom razmaku do 0 do 24 sata, pri čemu smo pratili dvije faze:

- fazu rasta i aktivnosti kulture u inkubacijskom (fermentacijskom) razdoblju pri temperaturi 42°C (do koagulacije),
- fazu rasta i aktivnosti u razdoblju od 24 sata nakon koagulacije pri temperaturi 6°C.

Time smo željeli utvrditi i intenzivnost tzv. naknadne fermentacije jogurta, koja postepeno opada, ali je podjednako zanimljiva sa stanovišta utjecaja enzimski hidrolizirane i nehidrolizirane laktoze na djelovanje kulture jogurta u postfermentacijskom razdoblju, jer se to može bitno odraziti i na svojstva jogurta.

#### Mikrobiološke analize:

- određivanje broja *Str. thermophilus* (hranjiva podloga po Chalmer-su);
- određivanje broja *Lbc. bulgaricus* (Rogosa agar); metodika je provedena po standardnim metodama (Oxoid Manual, 1976).

#### Kemijsko fizikalne analize:

- određivanje pH vrijednosti (pH metar: Iskra Ma 5722);
- određivanje % mliječne kiseline (neutralizacija nastale kiseline s konc. 0,10 mol/l NaOH i izračunavanje mliječne kiseline u %).

#### Rezultati i diskusija

Aktivnost i rast čistih i miješanih kultura određivali smo na osnovi određivanja broja *Str. thermophilus* i *Lbc. bulgaricus*, zatim tvorbe mliječne kiseline i trajanja koagulacije. Usporedno smo promatrali rezultate brzih<sup>(+)</sup> i sporih<sup>(-)</sup> mikroorganizama razvrstanih na broj m. o. i trajanje koagualcije mlijeka s hidroliziranom i nehidroliziranom laktozom.

Porast broja mikroorganizama *Str.*<sup>(-)</sup> bio je izrazito veći u hidroliziranom mlijeku u usporedbi s nehidroliziranim; broj brže varijante *Str.*<sub>2</sub><sup>(+)</sup> se povećavao približno podjednako u mlijeku s hidroliziranom i nehidroliziranom laktozom do koagulacije. U uvjetima neoptimalnih mogućnosti djelovanja pri temperaturi 6°C je broj tih mikroorganizama porastao nešto više u jogurtu od mlijeka s enzimatski nehidroliziranom laktozom. U miješanoj kulturi je broj

Str.<sub>1</sub><sup>(-)</sup> i Str.<sub>2</sub><sup>(+)</sup> brže rastao u mlijeku s hidroliziranom laktozom, razlika, u usporedbi s nehidroliziranim mlijekom, je bila veća pri bržoj varijanti Str.<sub>2</sub><sup>(+)</sup>.

Mliječna je kiselina pri sporijoj varijanti brže porastala u hidroliziranom mlijeku, što vrijedi i za porast broja mikroorganizama Str.<sub>1</sub><sup>(-)</sup>. Pri bržoj varijanti (Str.<sub>2</sub><sup>(+)</sup>) nisu bile utvrđene bitne razlike između hidroliziranog i nehidroliziranog mlijeka (Tabela 1 i 2).

**Tabela 1. Broj mikroorganizama i razvoj kiseline u mlijeku s hidroliziranom (H) i nehidroliziranom (NH) laktozom — čista kultura *Str. thermophilus* pri temperaturi 42°C do koagulacije, a nakon koagulacije pri temperaturi 6°C.**

**Table 1. The number of microorganisms and acidity development in milk containing hydrolysed (H) and nonhydrolysed (NH) lactose — pure culture *Str. thermophilus* during the coagulation at temperature 42°C and after coagulation at 6°C.**

Vrijeme kontrole (sat)	Broj m.o./ml. (x10 <sup>7</sup> ) Number of m.o./ml. (x10 <sup>7</sup> )				% mliječne kiseline % lactic acid			
	a				b			
	STR <sub>1</sub> <sup>(-)*</sup>				STR <sub>2</sub> <sup>(+)**</sup>			
Controle time (hour)	H		NH		H		NH	
	a	b	a	b	a	b	a	b
0	0,81	0,140	1,14	0,152	1,9	0,156	2,2	0,170
2	45	0,386	5,1	0,394	40	0,442	40	0,530
K	43	0,549	4,8	0,413	50	0,500	47	0,552
6	30	0,543	6,0	0,417	44	0,566	56	0,587
24	40	0,540	7,5	0,427	34	0,594	52	0,637

K — koagulacija  
coagulation

(-) — spora varijanta  
slow variant

(+) — brza varijanta  
fast variant

Pri čistoj kulturi *Lbc. bulgaricus* bio je utvrđen znatno sporiji porast broja mikroorganizama u usporedbi sa *Str. thermophilus*, napose u hidroliziranom mlijeku. Broj mikroorganizama sporije varijante (Lbc<sub>2</sub><sup>(-)</sup>) je skoro podjednako brzo rastao u hidroliziranom i nehidroliziranom mlijeku; pri bržoj varijanti Lbc<sub>1</sub><sup>(+)</sup> bio je zapažen intenzivniji porast broja mikroorganizama u mlijeku s nehidroliziranom laktozom, napose u početnoj fazi. U miješanoj kulturi bio je uočen rast broja mikroorganizama brže varijante (Lbc<sub>1</sub><sup>(+)</sup>) u hidroliziranom mlijeku; isto je bilo ustanovljeno i za sporiju varijantu (Lbc<sub>2</sub><sup>(-)</sup>) što znači da je mogućnost rasta brža a sporija varijanta *Lbc. bulgaricus* bolja u hidroliziranom mlijeku iako je rast obiju varijanta u čistoj kulturi nešto teže odrediti, budući da je tendencija boljeg rasta u nehidroliziranom mlijeku. U

**Tabela 2. Broj mikroorganizama i razvoj kiseline u mlijeku s hidroliziranom (H) i nehidroliziranom (NH) laktozom — miješana kultura *Str. thermophilus* i *Lbc. bulgaricus* pri temperaturi 42°C do koagulacije i pri temperaturi 6°C nakon koagulacije**

**Table 2. The number of microorganisms and acidity development in milk containing hydrolysed (H) and nonhydrolysed (NH) lactose-mixed culture of *Str. thermophilus* and *Lbc. bulgaricus* during the coagulation at temperature 42°C and after coagulation at 6°C.**

Vrijeme kontrole (sat)	Broj m.o./ml. (x10 <sup>7</sup> ) Number of m.o./ml. (x10 <sup>7</sup> )				% mliječne kiseline % lactic acid			
	a				b			
	STR <sub>1</sub> <sup>(-)*</sup>				STR <sub>2</sub> <sup>(+)**</sup>			
Controle time (hour)	H		NH		H		NH	
	a	b	a	b	a	b	a	b
0	0,85	0,160	0,66	0,150	0,62	0,173	0,82	0,170
2	22	0,350	3,7	0,413	35	0,386	3,0	0,458
K	68	0,493	26	0,547	72	0,476	13,0	0,519
6	65	0,432	35	0,556	80	0,481	13,5	0,513
24	70	0,434	50	0,560	75	0,441	22	0,512

K — koagulacija  
coagulation

(-) — spora varijanta  
slow variant

(+) — brza varijanta  
fast variant

\* Broj STR<sub>1</sub> u miješanoj kulturi STR<sub>1</sub><sup>(-)</sup> + LBC<sub>2</sub><sup>(-)</sup>  
Number of STR<sub>1</sub><sup>(-)</sup> in mixed culture of STR<sub>1</sub><sup>(-)</sup> + LBC<sub>2</sub><sup>(-)</sup>

\*\* Broj STR<sub>2</sub><sup>(+)</sup> u miješanoj kulturi STR<sub>2</sub><sup>(+)</sup> + LBC<sub>1</sub><sup>(+)</sup>  
Number of STR<sub>2</sub><sup>(+)</sup> in mixed culture of STR<sub>2</sub><sup>(+)</sup> + LBC<sub>1</sub><sup>(+)</sup>

postfermentacijskom razdoblju (pri temperaturi 6°C) bio je ustanovljen intenzivniji rast Lbc<sub>1</sub><sup>(+)</sup> i Lbc<sub>2</sub><sup>(-)</sup> u hidroliziranom mlijeku. Kiselina je pri bržoj varijanti Lbc<sub>1</sub><sup>(+)</sup> intenzivnije porasla u nehidroliziranom mlijeku; pri Lbc<sub>2</sub><sup>(-)</sup> bio je porast kiselosti do koagulacije gotovo podjednak, a nakon koagulacije je pri temperaturi od 6°C brže rasla u nehidroliziranom mlijeku (Tabela 3 i 4.).

Trajanja koagulacije čistih kultura sa slabijom aktivnošću (Str<sub>1</sub><sup>(-)</sup> i Lbc<sub>2</sub><sup>(-)</sup>) nisu se razlikovala u hidroliziranom mlijeku, dok je u nehidroliziranom mlijeku bila ustanovljena samo manja razlika obiju čistih kultura.

Očitija je bila razlika između brzih varijanti čistih kultura *Str. thermophilus* i *Lbc. bulgaricus* (Str<sub>1</sub><sup>(-)</sup> i Lbc<sub>2</sub><sup>(-)</sup>), napose u nehidroliziranom mlijeku. Prilično dulje trajanje koagulacije je bilo u usporedbi sa *Str. thermophilus*, ustanovljeno pri bržoj varijanti Lbc<sub>1</sub><sup>(+)</sup> u hidroliziranom i nehidroliziranom mlijeku (Tabela 3). U miješanim kulturama brzih i sporih varijanata je bilo ustanovljeno kraće trajanje grušanja u hidroliziranom mlijeku; u nehidroliziranom mlijeku grušanje je trajalo bitno dulje, što napose vrijedi za miješanu kulturu brzih varijanata (Str<sub>2</sub><sup>(+)</sup> i Lbc<sub>1</sub><sup>(+)</sup>).

**Tabela 3. Broj mikroorganizama i razvoj kiseline u mlijeku s hidroliziranom (H) i nehidroliziranom (NH) laktozom — čista kultura *Lbc. bulgaricus* pri temperaturi 42°C do koagulacije i temperaturi 6°C nakon koagulacije**

**Table 3. The number of microorganisms and acidity development in milk containing hydrolysed (H) and nonhydrolysed (NH) lactose — pure culture *Str. thermophilus* during the coagulation at temperature 42°C and after coagulation at 6°C**

Vrijeme kontrole (sat)	Broj m.o./ml. ( $\times 10^7$ ) Number of m.o./ml. ( $\times 10^7$ )				% mliječne kiseline % lactic acid			
	a				b			
	STR <sub>1</sub> <sup>(-)</sup>				STR <sub>2</sub> <sup>(+)</sup>			
Controle time (hour)	H		NH		H		NH	
	a	b	a	b	a	b	a	b
0	0,21	0,158	0,20	0,162	0,09	0,152	0,12	0,145
2	7,2	0,319	14,7	0,330	10,0	0,310	13,1	0,250
K	4,5	0,409	10,1	0,463	7,4	0,470	7,9	0,461
6	13,5	0,472	18,2	0,525	13,0	0,503	15,3	0,552
24	15,2	0,483	17,3	0,547	13,2	0,507	16,2	0,557

K — koagulacija  
coagulation

(-) — spora varijanta  
slow variant

(+) — brza varijanta  
fast variant

**Tabela 4. Broj mikroorganizama i razvoj kiseline u mlijeku s hidroliziranom (H) i nehidroliziranom (NH) laktozom — miješana kultura *Str. thermophilus* i *Lbc. bulgaricus* pri temperaturi 42°C do koagulacije i pri temperaturi 6°C nakon koagulacije**

**Table 4. The number of microorganisms and acidity development in milk containing hydrolysed (H) and nonhydrolysed (NH) lactose-mixed culture of *Str. thermophilus* and *Lbc. bulgaricus* during the coagulation at temperature 42°C and after coagulation at 6°C**

Vrijeme kontrole (sat)	Broj m.o./ml. ( $\times 10^7$ ) Number of m.o./ml. ( $\times 10^7$ )				% mliječne kiseline % lactic acid			
	a				b			
	STR <sub>1</sub> <sup>(-)*</sup>				STR <sub>2</sub> <sup>(+)**</sup>			
Controle time (hour)	H		NH		H		NH	
	a	b	a	b	a	b	a	b
0	0,25	1,173	0,30	0,170	0,18	0,160	0,16	0,150
2	5,0	0,386	2,5	0,458	7,6	0,350	5,0	0,413
K	11,5	0,476	4,5	0,519	8,2	0,493	4,9	0,547
6	20,0	0,481	6,0	0,513	14,0	0,432	9,5	0,556
24	22,0	0,441	9,8	0,512	13,8	0,434	9,2	0,560

K — koagulacija  
coagulation

(-) — spora varijanta  
slow variant

(+) — brza varijanta  
fast variant

\* Broj LBC<sub>1</sub><sup>(+)</sup> u miješanoj kulturi LBC<sub>1</sub><sup>(+)</sup> + STR<sub>2</sub><sup>(+)</sup>  
Number of LBC<sub>1</sub><sup>(+)</sup> in mixed culture of LBC<sub>1</sub><sup>(+)</sup> + STR<sub>2</sub><sup>(+)</sup>

\*\* Broj LBC<sub>2</sub><sup>(-)</sup> u miješanoj kulturi LBC<sub>2</sub><sup>(-)</sup> + STR<sub>1</sub><sup>(-)</sup>  
Number of LBC<sub>2</sub><sup>(-)</sup> in mixed culture of LBC<sub>2</sub><sup>(-)</sup> + STR<sub>1</sub><sup>(-)</sup>

**Tabela 5. Aktivnost čistih i miješanih kultura *Lbc. bulgaricus* i *Str. thermophilus* — koagulacijska svojstva u enzimatski hidroliziranom (H) i nehidroliziranom (NH) mlijeku pri temperaturi 42°C**

**Table 5. The activity of pure and mixed cultures of *Lbc. bulgaricus* and *Str. thermophilus* — coagulation properties of hidrolysed (H) and nonhidrolysed (NH) milk at temperature 42°C**

Čista kultura Pure culture	Trajanje koagulacije (sat) Duration of coagulation (hour)	Čista kultura Pure culture	Trajanje koagulacije (sat) Duration of coagulation (hour)	Miješana kultura Mixed cultuer	Trajanje koagulacije (sat) Duration of coagulation (hour)
STR <sub>1</sub> <sup>(-)</sup> H	3 <sup>h</sup> 10'	LBC <sub>1</sub> <sup>(+)</sup> H	2 <sup>h</sup> 44'	STR <sub>1</sub> <sup>(-)</sup> + LBC <sub>2</sub> <sup>(-)</sup> H	2 <sup>h</sup> 10'
STR <sub>1</sub> <sup>(-)</sup> NH	3 <sup>h</sup> 45'	LBC <sub>1</sub> <sup>(+)</sup> NH	3 <sup>h</sup> 35'	STR <sub>1</sub> <sup>(-)</sup> + LBC <sub>2</sub> <sup>(-)</sup> NH	2 <sup>h</sup> 15'
STR <sub>2</sub> <sup>(+)</sup> H	2 <sup>h</sup> 15'	LBC <sub>2</sub> <sup>(-)</sup> H	3 <sup>h</sup> 10'	STR <sub>2</sub> <sup>(+)</sup> + LBC <sub>1</sub> <sup>(+)</sup> H	2 <sup>h</sup> 10'
STR <sub>2</sub> <sup>(+)</sup> NH	2 <sup>h</sup> 15'	LBC <sub>2</sub> <sup>(-)</sup> NH	3 <sup>h</sup> 40'	STR <sub>2</sub> <sup>(+)</sup> + LBC <sub>1</sub> <sup>(+)</sup> NH	2 <sup>h</sup> 30'

(-) spora varijanta  
slow variant

(+) brza varijanta  
fast variant

### Zaključak

Rezultati istraživanja ne daju dovoljno jasna opredjeljenja o aktivnosti pojedinih varijanata *Lbc. bulgaricus* i u čistoj i miješanoj kulturi te u hidroliziranom i nehidroliziranom mlijeku, dok pri *Str. thermophilus* postoji mogućnost opredjeljenja i izbora podesnih varijanata.

### RESEARCHES IN THE ACTIVITY OF PURE AND MIXED CULTURES LACTOBACILLUS BULGARICUS AND STREPTOCOCCUS THERMOPHILUS IN ENZYMATICALLY HYDROLYZED MILK

#### Summary

The effect of enzymatically disintegrated lactose by the enzyme beta-galactosidase (Maxilact LX 5000) on the activity of pure and mixed cultures *Lbc. bulgaricus* and *Str. thermophilus* was studied. The cultures' activity was determined on the basis of the duration of coagulation, formation of lactic acid and increase of the number of microorganisms of separate cultures at the temperature of 42°C and in the postfermentational period at the temperature of 6°C. The effect of enzymatically disintegrated lactose in milk on the increased activity of the culture could be determined more definitely only with pure cultures of *Str. thermophilus*.



Additional index words: Activity of pure cultures of bacteria *Streptococcus thermophilus* *Lactobacillus bulgaricus*

#### Literatura

- AMAROSO, M. J., MANCA de NADRA, M. C., OLIVIOR, G.: Glucose, galactose and utilization by *Lactobacillus bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* isolated from commercial yoghurt. *Milchwissenschaft* 43, 1988, 10, s. 626—631.
- ARSOV, A., GOLC, S., GODIĆ, K.: Uporaba encimatske hidrolize pri obdelavi mleka. Poročilo za RSS, URP: Biotehnologija v živinoreji, Domžale 1987, 18 s.
- LIN, W. J., SAVAINO, D. A., HAILANDER, S. K. : A method for determining galactosidase activity of yoghurt cultures in skim milk. *Journal of Dairy Science* 72, 1989, 2, s. 351—359.
- SHARMA, R. K., DUTTA, S. M.: Effect of Lactose Hydrolysis in Milk on acid production by lactic acid bacteria. *A Journal of Dairy Research* 5, 1986., 1, s. 13—15.
- The Oxoid Manual of culture Media-Ingredients and other laboratory services. Tonbridge Printers, Kent, 1976.