

KOMPARATIVNI UZGOJ NEKIH SOJEVA LAKTOBACILA NA RAZLIČITIM HRANJIVIM PODLOGAMA

Zdenka KORITNIK, Dubravka DRAGOJLOV
»Zagrebačka mljekara«

UVOD

O vrstama hranjivih podloga pogodnih za rast, izolaciju, identifikaciju, brojanje i održavanje laktobacila su do danas pisali mnogi autori, kao što su Mitchell, Rogosa, Sharpe, Kulp i White, Davis, i Wiseman. Svi oni su na osnovu svog eksperimentalnog rada su uzgojem laktobacila na određenim hranjivim podlogama dolazili do određenih iskustava i rezultata, koji su ih navodili da tu podlogu opišu, preporuča i da se njome služe. Tako smo i saznali za MRS agar, Paradajzov agar, sirutkin agar, LRStm, L agar i za još mnoge druge hranjive podloge, čiji su osnovni sastojci bili sok od mrkve, narande ili jetre. U tom dosta širokom izboru mi smo odabrali nekoliko hranjivih podloga najprihvatljivijih za pripremu i naše laboratorijske mogućnosti. Komparativnim uzgojem naših odabranih sojeva laktobacila na tim hranjivim podlogama mi smo došli do određenih iskustava i rezultata o kojima će biti govora u daljnjem izlaganju. Svrha takvog našeg rada bila je od tih nekoliko hranjivih podloga odabrati onu, koja bi u našim laboratorijskim uvjetima najviše odgovarala za praćenje rasta i broja laktobacila. Taj broj laktobacila bi nam poslužio kao kvantitativni pokazatelj aktivnosti određenog soja laktobacila u proizvodnim uslovima.

MATERIJALI I METODE

Sojevi laktobacila koje smo ispitivali uzeti su iz laboratorija za čiste kulture, Zagrebačke mljekare«. To su bili sojevi: -L. acidophilus, šifra (E), -L. bulgaricus, šifra (P3), -L. helveticus (šifra (X1).

Svi ovi sojevi se koriste u proizvodnji acidofila, jogurta i sira.

Hranjive podloge: MRS agar i bujon naročito pogodan za razvoj i rast laktobacila. Osnovne komponente te podloge su ekstrakt mesa, ekstrakt kvasca, glukoza, pepton i tween 80. Konačni pH je 6,5.

Paradajzov agar za brojanje i kultivaciju laktobacila a naročito se preporuča za L. acidophilus. Glavne komponente tog agara su paradajzov sok, pepton i hidrolizirano mlijeko.

Konačni pH je 6,1.

L agar visoko diferencirana podloga za kultivaciju laktobacila. Osnovne komponente te podloge su pepton, natrijev citrat i glukoza.

Konačni pH je 7,0.

Sirutkin agar pogodno hranilište za uzgoj i brojanje laktobacila, ali je vrlo pogodan i za rast kvasaca i pljesni i vrlo je osjetljiv za upotrebu. Osnovne komponente tog agara su sirutka, saharoza, kvašćev ekstrakt.

Konačni pH je 6,8.

LBStm selektivni agar za izolaciju i brojanje laktobacila ali vrlo nepogodan za kultivaciju. Isključuje rast pljesni i streptokoka. Osnovne komponente su KH₂PO₄, pepton, kvašćev ekstrakt, glukoza, amonijev citrat i tween 80.

Konačni pH 5,5.

* Referat sa 16. naučnog sastanka mikrobiologa i »epidemiologa Jugoslavije« 1. simpozijuma »Epidemiološki problemi u turizmu« održan u Puli od 3—8. VI — 1974.

Metoda rada

Iz sva tri soja laktobacila (E, P3 X1) uzgajanih na mlijeku MRS bujonu i sirutkinom bujonu priredili smo razrijeđenje sa F. O. u rasponu od 10^1 — 10^6 . Zatim smo od svakog razrijeđenog zasijavali po 1 ml u petrijevke i zalijevali sa 10 ml određene podloge i pri tome lagano miješali. Kod zasijavanja u MRS agar služili smo se dvostrukim slojem zbog dobivanja što boljih anaerobnih uvjeta. Inkubirali smo pri 42°C, za sojeve P3 i X1 i pri 37°C za soj E. Dužina trajanja inkubacije bila je 48 sati i nakon toga smo očitavali narasli broj kolonija.

Rezultati ispitivanja

Naziv hranjive podloge	Dužina trajanja inkubacije	L. bulgaricus P3/ml	L. helveticus X1/ml	L. acidophilus E/ml
MRS agar	48 h	4.100,000.000	1.130,000.000	8,000.000
		2.900,000.000	2.300,000.000	6,300.000
		3.585,000.000	980,000.000	8,150.000
		3.200,000.000	1.730,000.000	4,900.000
LBS tm agar	48 h	1,000.000	1.200,000.000	2,000.000
		870.000	972,000.000	2,430.000
Sirutkin agar	48 h	6.760,000.000	4.700,000.000	2.130,000.000
		7.320,000.000	5.630,000.000	1.630,000.000
		5.130,000.000	6.300,000.000	2.450,000.000
L agar	48 h	24.000	80.000	
		17.000	54.300	
		40.000	69.200	
		26.000	61.000	
Paradajzov agar	48 h	4.000	23.500	3.200
		2.700	17.200	2.080
		3.500	40.000	3.000

Diskusija i zaključak

Rezultati koje smo dobili u toku našeg ispitivanja ukazuje na to da su za naše sojeve najbolje rezultate dale MRS podloga, sirutkin agar i LMStm podloga iako se i tu vide odstupanja između pojedinih sojeva. Ostale podloge, koje drugi autori preporučuju kao naročito dobro za L. acidophilus, kao što je paradajzov i L agar, kod nas su se pokazale nepovoljne kako za rast tako i za brojanje laktobacila. Sve ove podloge ne daju neku značajniju morfološku diferencijaciju pojedinih sojeva, jer su kolonije na svim podlogama vrlo slične. Ipak kolonije na MRS podlozi su najkarakterističnijeg oblika sa kompaktnim centrom i čupavim perifernim dijelom što se može vrlo lako i vidjeti i na pozitivima.

Literatura:

1. M. Elisabeth Sharpe (1962): Enumeration and studies of lactobacillus in food products.
2. De Man J. C. Rogosa M. et Sharpe M. E. J. APPL. BACT. 1960 23, 130.
3. J. G. Davis Cheese