

ta do sladoledarne. Prilikom transporta morala bi se održavati niska temperatura (+4°C).

Korišćenje zgusnute sirutke u proizvodnji sladoleda ima prednost pred krutim dodacima jer nije potrebno dugo miješanje, nema mogućnosti pojave grudica i nema bojazni da sladoled dobije okus po kuhanome.

Iz dobivenih rezultata može se zaključiti da bi se zgusnuta sirutka dobi-vena ultrafiltracijom mogla uspješno koristiti u tehnologiji sladoleda. Kod toga će trebati više pažnje obratiti na kiselost.

Sirutka je vrlo jeftina sirovina, a za postupak ultrafiltracije se troši samo energija za rad pumpe, to bi dodavanje zgusnute sirutke u sladolednu smjesu moglo bit vrlo ekonomično.

#### Literatura

1. Crowhurst B. (1975.): The use of whey in ice cream, **Ice Cream and Frozen Confectionery** 627.
2. Egli W., Meister W. (1972.): Nadomjestak obranog mlijeka u prahu sa demineraliziranom slatkom sirutkom u sladoledu, Meyhall Chemical AG.
3. Filjak Dubravka (1974.): Uloga sladoleda i drugih smrznutih proizvoda u našoj prehrani **Mljekarstvo XXIV** 42—46.
4. Gal Eva (1972.): Sirutka, nusproizvod mekih sireva, njena prerada i korišćenje **Mljekarstvo XXII** 254—260.
5. Hyde K. A., Rothwell J. (1973.). Ice Cream, Churchill Livingstone Edinburg i London.
6. Službeni list br. 33 (1970.): »Pravilnik« o kvaliteti mlijeka i proizvoda od mlijeka, sirila i mljekarskih kultura, sladoleda i prašaka za sladoled, jaja i proizvoda od jaja.
7. Vajić B. (1963.): Mlijeko i proizvodi od mlijeka, skripta.
8. Žirić Đenana, Baković D. (1975.): Primjena RO/UF u prehrambenoj industriji, Jugoslavenski kongres o ishrani, Ohrid.

## PROUČAVANJE I IZBOR FAGOREZISTENTNIH ČISTIH KULTURA ZA INDUSTRIJSKU PRERADU MLIJEKA

Slavica ŠVIGIR-VARGA, dipl. ing., mr Ljerka KRŠEV, ZM Mljekarsko poduzeće »DUKAT«, Zagreb

(nastavak)

### Diskusija i zaključak

Rezultati u tabelama 1, 2, 3 i 4 odnose se na ispitivanja 12 sojeva mezo-filnih streptokoka i to: 8 su Str. lactis, 3 Str. cremoris i 1 Str. diacetylactis.

U HMB + 1% L i  $\beta$ -podlozi upotrijebili smo homogene i heterogene sojeve prema test fagu Plovdiv 1 i Sliven 1 DL15A, jer smo htjeli ispitati mogućnost pojave multisenzibilnosti među sojevima. Dvije podloge smo upotrijebili radi kontrole i dobivanja senzibilnije podloge. Uporedo smo ispitivali razvoj kiselosti test i kontrolnih uzoraka radi potrebe djelovanja faga na ispitane sojeve.

Tabela 5.

**Karakteristike izoliranih bakteriofaga str. lactis-a tipa I i II iz Zagrebačke  
mljekare — Sirana.  
Fagoosjetljiv test soj Str. lactis-a 399.**

Tipovi izol. faga	Broj faga	Broj liziranih sojeva	Titar faga	Broj plakova	Promjer plakova	Trajanje latent. perioda	Kraj lizisa	Mikroskopska slika toka lizisa soja
I	1	1	10 <sup>-6</sup>	10—100 miliona u 1 ml	1—2 mm	30'	2—3h	<b>Početak:</b> Vrlo neujednačene forme koka (sasvim sitnih ili krupnih štap. u nakupini) <b>Kraj:</b> Ostaci l. stanica-fantomi i po koja ogromna deg. štap. koka
II	1	0	10 <sup>-3</sup>	50—500 tisuća u 1 ml	0,2—0,8 mm	50'	6—10h	Isto samo u puno manjem broju

**Fagorezistencija sojeva Str. lactis-a iz sastava polivalentnih kultura za fermentaciju  
kiselog vrhnja protiv test faga Str. lactis I u HMB+1% L.**

Ispitivani sojevi	Vrsta	Inkub. zrenja °C <sup>h</sup>	Kontr. rasta soja (-) fag	Kultura + test fag Str. lactis I u razređenju						Titar
				HMB + 1% L						
				10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>	
90 <sub>5</sub>			+	+	+	+	+	+		
Z <sub>3</sub>			+	+	+	+	+	+		
SB <sub>6</sub>			+	+	+	+	+	+		
404		15—16h	+	—	—	—	—	+	10 <sup>-5</sup>	
ST(M)	Str. lactis.		+	—	+	+	+	+	10 <sup>-1</sup>	
399		28—30°C	+	—	—	+	+	+	10 <sup>-2</sup>	
314 <sub>1</sub>			+	+	+	+	+	+		
313	6	9	+	—	+	+	+	+	10 <sup>-1</sup>	

UKUPNO: 8 sojeva: fagorezist — 7 sojeva, fagoosjet. — 1 soj

Tabela 6.

Termorezistentnost sojeva faga *Str. lactis* I i II

Oznaka izoliranog faga	Titar faga	°C termičke obrade											
		70		80		90		85		95			
		5'	30'	5'	30'	5'	30'	10'	Nakon hlađenja vrh.	Nakon 10h zrenja vrh.	1'	Nakon hlađenja vrh.	Nakon 10h zrenja vrh.
I	10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-5+</sup>	10 <sup>-4+</sup>	10 <sup>-2+</sup>	10 <sup>-1+</sup>	—	—	10 <sup>-1+</sup>	10 <sup>-2+</sup>	10 <sup>-5+</sup>	—	—	10 <sup>-2+</sup>
II	10 <sup>3</sup>	10 <sup>-3+</sup>	10 <sup>-2+</sup>	10 <sup>-2+</sup>	10 <sup>-1+</sup>	—	—	—	—	—	—	—	—

Tabela 7.

## Dobivanje sekundarno izoliranih sojeva nakon liza fagoosjetljivih sojeva iz sastava polivalentne kulture za fermentirano vrenje

Testirani sojevi	Tipovi faga koji liziraju				Filtrat iz sirutke neuspjele proizvod.	Spontani rast nakon lize	Aktivitet sojeva	Odnos stanica u populaciji		Vrijeme pojave sekundarnih sojeva	Broj izoliranih sekundarnih kolonija sojeva	Ukupno dobiveno sekund. sojeva
	P	S	D	I				% fagoosjet.	% fago-rezist.			
404	—	—	—	L 10 <sup>-5</sup>	L 10 <sup>-5</sup>	10	10 <sup>-8</sup>	80	20		20	30
399	L 10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	—	L 10 <sup>-4</sup>	10	10 <sup>-10</sup>	96	4	2—4—6	18	28
70c	L 10 <sup>-6</sup>	L 10 <sup>-6</sup>	L 10 <sup>-4</sup>	—	—	15	10 <sup>-8</sup>	90	10	dana	25	40
S <sub>22</sub>	L 10 <sup>-5</sup>	L 10 <sup>-4</sup>	L 10 <sup>-6</sup>	—	—		10 <sup>-9</sup>	85	15		15	15
UKUPNO: 113												

Tabela 8.

## Svojstva sekundarno izoliranih kultura nakon lize bakterija mlječne kiseline

Testirani sojevi	Izvorni sojevi			Sekundarno izrasli sojevi							
	°SH kod koagul.	Vrijeme post. koagul.	Rast sekund. kult.	Karakter. izraslih kol. na MPA + 10%L	Broj izraslih kolonija	Mikroskopska slika sekund. sojeva	Postignuti °SH kod koagul. m. djel. sek. sojeva	Vrijeme koagul.	°SH nakon dodatka 2-3%/o K. E.	Odnos soja prema homolog. faga	
										Rezist.	Osjetlj.
404	40	15—16h	2—4—6 dana	Plosnate,	30	mali, okrugli sitni	20—25	48h	30—36 24h	R	—
399	37	15—16h	„	staklaste kolonije	28	koki u nakupinama ili krupniji	23—28	48h	30—34 24h	R	—
70c	34	15—16h	„	0,3—0,5 µmØ	40	koki slični kvascima ili	30—31	72h	32—34 24h	R	—
S <sub>22</sub>	28	15—16h	„	„	15	izdužene štapičaste forme	12—14	7 dana	20—22 48h	R	

Tabela 9.

## Razvoj sojeva u kombiniranoj kulturi za jogurt sa i bez filtrata iz neuspjele proizvodnje jogurta

Vrijeme zrenja	1h		45'		2h		10'		2h		50'		8h	
T-test-uzorak K-kontrolni uzorak	T		K		T		K		T		K		T	
Postignuti °SH	16		21,3		17,3		26,4		19,5		32,7		72,6	81,8
Lbc. bulg (LbVR)	+		1		1		1		1		2		5	5
Str. therm. (STBB)	+		3		+		4		+		4		R	5

+ = prisutno rijetko

Od 12 testiranih sojeva sa test fagima fagoosjetljivi su 3, a 9 su fagorezistentni na test fage.

Sojevi:

Str. lactis	399
Str. cremoris	70c
Str. diacetil.	S <sub>22</sub>

moraju se izbaciti iz programa rotacije za kombinirane kulture. Postoji multisenzibilitet tj. srodnost kod fagoosjetljivih sojeva jer su sojevi:

- Str. cremoris 70c fagoosjetljiv na fag test Plovdiv 1
- Str. lactis fagoosjetljiv na Sliven, fag Str. cremoris-a i fag DL15A Str. diacetilactis-a.
- Str. diacet. S<sub>22</sub> fagoosjetljiv na fag Plovdiv 1
- Str. lactis 399 fagoosjetljiv na Sliven i fag DL15A

Prema tome:

- Soj 399 lizira se sa 3 faga
- Soj S<sub>22</sub> lizira se sa 2 faga
- Soj 70c lizira se sa 3 faga

Dokazano je djelovanje faga na test sojeve po osjetnom padu °SH test sojeva + fag u komparaciji sa kontrolom. Pad °SH kreće se od 50—35% od izvorne.

Fag tipa I Str. lactis-a izvršio je lizu jednog soja oznake 404 u titru 10<sup>-5</sup> dok ostalih 7 ispitivanih sojeva su rezistentni na taj fag.

Fag tipa II nije lizirao nijedan soj, vjerojatno, jer mu je titar slab, 10<sup>-3</sup>.

Vrlo je interesantan pokus ispitivanja preživljavanja faga tipa Str. lactis-a nakon hlađenja i zrenja vrhnja, koje je prethodno ispitano na termorezistentnost na 85/10' i 95/1'. Nakon zrenja nađeni su preživjeli fagi u razređenju  $10^{-5}$ . Vrlo važan postupak koji bi se mogao upotrijebiti kao odgovor tj. potvrdu naših pretpostavki o uzrocima prethodno opisanog incidenta u fermentaciji vrhnja.

Također smo pokušali sa izolacijom faga iz naše tvornice. Često se događa da laboratorijski provjerena matična i tehnička kultura na aktivitet, biokemijsku aktivnost i mikroskopski odgovara, ali nakon jedne upotrebe u proizvodnji zaostaje fermentacija mlijeka.

Nakon isključenja ostalih inhibitornih faktora jasno je da se kultura inficirala fagima pogona koji su svojim djelovanjem lizirali sve osjetljive stanice sojeva uporabne kulture.

Zapravo je najbitnije ispitati rezistetnosnost sojeva na fage u sredini u kojoj se oni upotrebljavaju. Postoji više tipova faga i skoro svako geografsko područje ima svoje tipove.

Izvori infekcije fagom su:

- sirovo mlijeko
- reinficirano pasterizirano mlijeko
- lizogene kulture
- sirutka (ostaci u kantama, cijevima, duplikatorima, raspršene kapljice u zraku)
- paster, separator
- zrak u tvornici
- mljekarski neoprani, nedezinficirani uređaji i cijevna armatura
- neuspjele čiste kulture i mlječni proizvodi
- sirana.

Po dinamici razvoja mlječne kiseline izraženo u stupnjevima SH i postepenog nestajanja Str. thermophilus-a (koji se pretvara u ovalne forme, izdužene, štapičaste koje nestaju) dok Lbc. bulgaricus dosegne odnos 5, što je prikazano u tabeli 9, može se zaključiti da je u filtratu neuspjelog jogurta iz proizvodnje bila inhibitorna supstanca — vjerojatno bakteriofag. Djelovanje faga dokazano je pojavom plakova u vrlo malom broju na čvrstoj podlozi.

### Zaključak

Problem prisutnosti bakteriofaga u našoj mljekari postoji, a njihovo djelovanje se očituje u atakiranju normalnog rada čistih kultura sojeva bakterija mlječne kiseline koji sudjeluju u proizvodnji najakumulativnijih proizvoda mljekare. Ispitivanjem fagorezistencije pojedinih sojeva mlječnih kultura sa test fagima iz stranih izvora u laboratorijskim uslovima kao i sa fagima koji su izolirani u našoj proizvodnji potvrđeno je da su oni vjerojatno glavni uzročnici nestalne i nesigurne proizvodnje fermentiranih proizvoda našeg pogona. Pored mjera koje se poduzimaju u svrhu prevencija, izolacije prostorija za proizvodnju kultura, pronalaženje izvora infekcije i uništavanja bakteriofaga u pogonu jasno je da je fagorezistetna, biološki aktivna i adaptivna čista kultura jedan od najvažnijih faktora u borbi protiv djelovanja bakteriofaga.

Priprema takove kulture složen je, stručan, dugotrajan i konstantan posao. Naš laboratorij je na početku tog rada koji je opisan u referatu. Radi kompleksnosti tog zadatka potrebna bi bila suradnja raznih laboratorija i instituta u zemlji za organiziran i stručni pristup u rješavanju problema koji prate proizvodnju fermentiranih proizvoda, a naročito proizvodnju čistih kultura.

#### Literatura

1. ADAMS, M. H. (1963): Bacteriophages. Interscience Publishers Inc, N. York.
2. BERTANI, G. (1959): Studies of Lysogenesis. The mode of phage liberation by lysogenetic *Escherichia coli*, **J. Bact.** **62**, 3.
3. BERGEY, S. (1957): Manual of determinative bacteriology, seventh edit., Baltimore.
4. BORDET J. et BORDET P. (1965): Bacteriophagie et variabilité microbienne. **Ann. Inst. Pasteur** **72**.
5. BRADLEY, D. E. et KAY, D. (1960): The fine structure of bacteriophage. **J. gen. microb.** **23**, 553—563.
6. BRAUN—BLANQUET, J. (1970): Pflanzensociologie, 3e édition, Springer, Wien, New York.
7. COLLINS, E. B. (1957): Action of Bacteriophage on mixed strain starter cultures. II Relation to acid production of the proportion of resistant bacteria, **J. Dairy Sci.** **35**.
8. DEMEREC, M. FANO, U. (1963): Bacteriophage resistant mutants in *E. coli*, **Genetics**, **30**.
9. DEANE, D. et NELSON, F. (1961): Multiple strain Bacteriophage infection of commercial Lactic Starter, **J. Dairy Sci.** **35**.
10. KAY, D. et FILDES, P. (1961): The calcium requirement of typhoid Bacteriophage, **Brit. J. exp. path.** **31**.
11. LINDER, R. WUREK, TH (1967): **Bull. Soc. Bact. Nord. Fr.**, Lille, **20**, 44—50, **Gyn. Obst.**, Paris **66**.
12. MANWELL, I. (1948): Inhibitory strains of lactic streptococci and their significance in the selection of culture for starter, **J. Dairy Res.** **15**, 3.
13. GELIN, M. (1970): *C. R. Sci.*, Paris, **270**, 425—427.
14. SINGER, E. (1971): The Bacteriophage lambda, Ed. A. D. Hershey, Cold Spring Harbor Laboratory.
15. WHITEHEAD, H. HUNTER, J. (1958): Starter culture for cheese manufacture. Maintenance of acid producing activity in cultures of lactic streptococci, **J. Dairy Res.** **10**.

## RAZMATRANJE OTPADNIH VODA MLJEKARSKE INDUSTRIJE \*

Mira ŠPIRIĆ, dipl. ing. Zagrebačka mljekara, Zajedničke službe, Zagreb

Kad govorimo o otpadnim vodama mljekarske industrije moramo imati na umu dvije stvari:

1. mogućnost smanjenja količine otpadnih voda,
2. mogućnost iskorištenja nus-proizvoda.

U mljekarskoj industriji nije moguće izbjeći potrošnju vode za pranje, ali iskustva pokazuju da se u mnogim mljekarama može postići smanjenje količine mlječnih sastojaka koji se gube u otpadnim vodama, kao i količinu otpadnih voda.

\* Referat održan na XV Seminaru za mljekarsku industriju, na Tehnološkom fakultetu od 25. i 26. I 1977.