

Munk
VI

F o r e l e s n i n g e r

i

MELKENS BAKTERIOLOGI

v e d

NORGES LANDBRUKSHØGSKOLE

av

P r o f e s s o r S t ø r e n

637.1
S

637.1
S

F o r e l e s n i n g e r

i

MELKENS BAKTERIOLOGI

v e d

NORGES LANDBRUKSHØGSKOLE

av

P r o f e s s o r S t ø r e n

S. S. S. S.-TRYKK

Skrivemaskinstua Oslo, februar 1943.

I N N H O L D .

	Side
MIKROORGANISMENE I MELK	1
A. BAKTERIER	2
I. Melkesyrebakteriene	2
1. Ekte melkesyrebakterier	3
2. Uekte melkesyrebakterier	36
II. Ekte smørsyrebakterier	44
III. Propionsyrebakterier	45
IV. Eggehvitespaltende bakterier	47
V. Fettspaltende bakterier	54
VI. Alkalidannende bakterier	55
VII. Luftbakterier	56
VIII. Trådbakterier	57
B. GJÆR	57
C. MUGGSOPPER	60
MELKENS INFEKSJONSKILDER	62
MELKENS BAKTERICIDE EGENSKAPER	74
BAKTERIOFAGER I MELK	78
MELKENS ALMINNELIGE BAKTERIEFLORA	79
BAKTERIEFLORAEN I VARMEBEHANDLET MELK	83
BAKTERIELLE MELKEFEIL	88

MIKROORGANISMENE I MELK.

Når man ser hen til melkens allsidige innhold av næringsstoffer, er det ganske naturlig at man ved den bakteriologiske analyse av melken kan treffe på mange forskjellige mikroorganismer. Langt overveiende består disse av bakterier, forholdsvis lite er det av gjærarter og ennå mindre av muggsopper. Bakteriene er som regel saprofyter, kun leilighetsvis kan det i melken påvises patogene arter.

Mikroorganismene er kommet i melken ved infeksjon, og det er den mikrobielle flora som behersker de nærmeste omgivelser av melken under dens produksjon, oppbevaring og behandling som vil gjenfinnes i melken. Men kun en del av melkens mikroorganismer finner sig helt til rette i den og utvikler seg i større eller mindre grad. Disse er imidlertid så konstant til stede at man med rette betegner dem som melkens normale bakterier, som med regelmessighet på de forskjelligste steder på jorden fremkaller samme slags gjæringer i melken. Men når man erindrer den store variabilitet som bakteriene er underkastet og de ulike forhold hvorunder de hyppig kommer til å utvikle seg, så er det godt å forstå at disse gjæringer i sine detaljer ikke alltid forløper ens, og derfor kan det også konstateres at melken på ulike steder, under ulike forhold og til ulike tider kan veksle noe i utseende, smak og lukt.

Melkens mikroorganismer grupperes mest hensiktsmessig etter deres frekvens i melken og på grunnlag av de typiske gjæringer som de fremkaller, og de karakteristiske gjæringsprodukter som derved oppstår. En oversikt over denne gruppering gir følgende oppstilling:

Bakterier: Sukkerspalttere, Eggehvitespalttere, Fettspalttere,
Alkalidannere, Luftbakterier, Trådbakterier.

Gjær: Saccharomyceter og Torulaceer.

Muggsopper:

A . B A K T E R I E R .

I . M e l k e s y r e b a k t e r i e r .

At melkesyregjæringen var en biologisk prosess ble første gang oppstillet som hypotese av Fuchs i 1841, men det var Pasteur som i 1857 påviste eksistensen av levende melkesyrefermenter og som først beskrev en organisme som kunne syrne melken. Hans "levure lactique" synes å ha vært en aerogenesart, da den var en kortstav som forgjærte laktose under syre- og gassproduksjon og ofte bevirket at kulturen ble slimet. Samme år påviste også Boutroux at melkesyregjæringen under tiden var ledsaget av sterk kullsyredannelse. I 1872 beskrev F. Cohn noen melkesyrebakterier, men den første renkultur antar man ble isolert av Lister i 1878 ved å fortynne sur melk så sterkt at hver dråpe av væsken ikke skulle kunne inneholde mer enn en bakterie. Dråper overførtes så i steril melk, melken koagulerte og viste seg kun å inneholde en bakterieart som han kalte Bacterium lactis. Så vidt den noe ufullstendige beskrivelse viser, var det en streptokokk.

Først etter at Koch hadde innført de smeltelige faste næringssubstrater i den bakteriologiske teknikk, tok studiet av bakteriene i melken fart.

I 1884 offentliggjorde Hueppe viktige undersøkelser over melkens spaltninger ved mikroorganismer med beskrivelse av forskjellige melkesyrebakterier. Blant disse også en art som utmerket seg ved å levere noe gass, og som han kalte Bacterium acidi lactici og som han fant i stort antall i alle melkeprøver. Året etter isolerte og beskrev Escherich de to tarmbakterier Bacterium coli og Bacterium aerogenes som begge var melkesyrebakterier. I de følgende år fulgte en rekke arbeider bl.a. av Grottenfelt (1889), Storch (1890) og Conn (1891), som viste at det var nok en stor mengde bakterier, både kule- og stavformer, som ved melkesyredannelse brakte melk til å koagulere, og at Hueppes bakterie neppe var den alminneligste surmelksbakterie. Günther og Thierfelder (1894) bekreftet for så vidt dette som den form som de hyppigst påtraff i melk hverken morfologisk eller kulturelt viste fullstendig overensstemmelse med Hueppes, men til tross herfor, identifiserte de den som denne.

I 1896 lyktes det Leichmann å fastslå at den spontane syrning av melk nesten alltid fremkaltes av en og samme art. Han kalte den Bacterium lactis acidi, og den viste seg å være den samme som var iaktatt av flere av de tidligere forskere, og dermed ble Hueppes bakterie fratatt betegnelsen

som den alminnelige surmelksbakterie, og senere undersøkelser har vist at den er en koliaerogenes-art.

I de senere forløpne år er kjennskapet til melkesyrebakteriene i høy grad utdypet, særlig ved von Freudenreich, Beijrinck, Weigmann, Burri, Barthel, Virtanen, Hammer og Knudsen, men fremfor alle av Orla-Jensen, som for tiden regnes som den største autoritet på området.

I så vel systematikken som benevningen av de mange melkesyrebakterier som etter hånden ble funnet, oppstod snart det rene kaos, men Beijrinck brakte noen orden i dette ved å dele melkesyrebakteriene i to hovedgrupper, nemlig "Aerobacter" og "Lactobacter". Til den første henregnet han alle de former som var typisk gassdannende, til den annen de former som koagulerte melken uten gass. Disse siste delte han atter i to undergrupper: "Lactococcus" omfattende kule- og svakt ovoide former og "Lactobacillus" som var stavformete. Denne gruppering er senere i det vesentlige bibeholdt, idet Lactobactene benevnes ekte melkesyrebakterier og Aerobactene uekte melkesyrebakterier.

På grunnlag så vel av morfologiske som fysiologiske egenskaper, oppstillet Orla-Jensen i 1919 en systematikk som nå er alminnelig anerkjent. Etter denne stilles de ekte melkesyrebakterier i følgende hovedgrupper:

I. Danner kun ubetydelig biprodukter ved siden av melkesyre og omfatter slektene:
a. Streptococcus,
b. Thermobacterium og Streptobacterium

II. Danner som regel en kjennelig mengde biprodukter ved siden av melkesyren og omfatter slektene:
a. Betacoccus
b. Betabacterium og Bifidobacterium

De uekte melkesyrebakterier i de to grupper:

I. Tetracoccus og Microbacterium

II. Koli-aerogenesbakterier.

I amerikansk og til dels engelsk litteratur benyttes meget Bergeys systematikk i hvilket alle ekte melkesyrebakterier er oppført som en slekt, hvis forskjellige arter bærer fellesnavnet "Lactobacillus".

1. Ekte melkesyrebakterier.

Disse er sporeløse, grampositive kule- og stavbakterier som forgjærer kullhydrater med melkesyre som hovedprodukt. De har ikke katalase, spalter altså ikke vannstoffhyperoksyd, reduserer ikke nitrater.

a. Vekstformer.

Kuleformene har mest et tverrmål på knapt 1 mikron, stavformene har høyst forskjellig lengde, men bredden er gjerne 0,7-1 mikron og cellenes ender kan være mer eller mindre avrundet. Begge formene kan vokse i kortere eller lengere kjeder. Forøvrig avhenger celleformene for en stor del av livsvilkårene, og streptokokker kan anta tydelig stavform, og staver kan bli så korte at de kan forveksles med kokker.

De ekte melkesyrebakterier mangler bevegelsesevne.

I sitt første utviklingsstrin har de ekte melkesyrebakterier kapsler, som hos enkelte raser kan oppnå en anselig størrelse, men for det meste forsvinner kapslene med induksjonsperiodens avslutning, og uten noen oppsvelling av cellene eller noen slimdannelse. En bemerkelsesverdig unntagelse danner bl.a. tette melksbakterien.

Da bakteriene trives best ved meget begrenset lufttilgang, viser stikkulturer i gelatin eller agar en dårlig overflatevekst, utviklingen skjer nede i stikket. Platekoloniene er som regel meget små, sjelden over 1 mm i tverrmål, de er nokså ukarakteristiske, kun en enkelt art smelter gelatin og kun noen patogene arter danner fargestoffer. Betakokkene er eiendommelige ved å danne slim i rørsukkeroppløsninger.

b. Næring og næringskrav.

De ekte melkesyrebakterier er heterotrofe, krever for sin ernæring så vel organiske som uorganiske substanser. Disse anvendes dels som energikilder, dels som byggemateriale.

I den levende celle produseres energien ved oksydasjoner (respirasjon) eller nedbrytninger (gjæringer) av assimilerte substanser, byggematerialene av de opptatte stoffer etter at de ved spaltninger og synteser er omdannet i former som kreves for vekst og nydannelse av celler.

Livsprosessene formidles av de enzymer og andre aktivatorer av forskjellig art (biofaktorer) som dannes i cellen og som katalytisk utløser de kjemiske reaksjoner som ligger til grunn for cellens livsytringer.

Melkesyregjæringen.

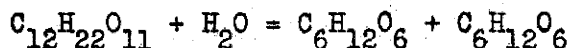
Som energikilde foretrekker de ekte melkesyrebakterier kullhydrater, men kan også utnytte enklere forbindelser: alkoholer, trioser og salter av lavere organiske syrer. Ved en forgjæring av disse dannes som hovedprodukt melkesyre.

Med hensyn til kullhydratene som næringskilde, så forgjæres ikke de sammensatte og kolloidale sukkerarter som sådanne, først må eterbindingene løses og de enkelte heksoser frigjøres, og kun når bakteriene har de enzymer

som kreves for denne prosess, kan disse sukkerarter nyttiggjøres.

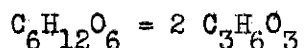
I melken er det laktosen som tjener som energikilde og alle ekte melkesyrebakterier kan utnytte den.

Laktosen spaltes i sine komponenter glukose og galaktose



Denne hydrolyse katalyseres ved enzymet laktase, og kun de mikroorganismer som inneholder dette enzym kan altså forgjære laktose. Blant disse er melkesyrebakteriene de dominerende.

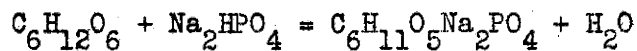
Begge heksosener kan forgjæres til melkesyre. Denne gjæring kan synes å måtte forløpe ganske enkelt,



men allerede tidlig var man oppmerksom på at det ved siden av melkesyren ble dannet forskjellige biprodukter i større eller mindre mengder, og dette røpet at prosessen ikke forløp så enkelt. Særlig fra dette århundredets begynnelse har melkesyregjæringen vært gjenstand for en intens utforskning (Neuberg, Orla-Jensen, Virtanen) som har vist at den er meget komplisert, og selv i dag er den ikke helt klarlagt.

For det første er heksosene i sin alminnelige form slett ikke forgjærbare, det må skje en indre omforming i molekylet før en spaltning overhodet kan inntre. Hvori denne omforming består, er ennå ukjent både m.h.t. de nye formers struktur og måten hvorpå de oppstår. Man har nøyet seg med å betegne disse nye fysiologiske reaksjonsformer som "heterosukker". Den frie stabile form av heksosen er omdannet i en lettere angripelig.

I 1905 ble det gjort den viktige iakttagelse at ved alkoholgjæringen hadde gjæren evne til å binde fosfater til sukker på en sådan måte at fosforsyren ikke mer felles med magnesiamikstur og altså var bundet i organisk form. Prosessen kalles "fosforylering". Noen år senere påviste Virtanen at dette forhold også gjelder for melkesyrebakteriene. Det dannes esterforbindelser - zymofosfater - blant hvilke i alle fall et heksosemonofosfat er påvist.

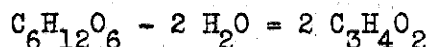


Uten denne fosforylering som katalyseres av enzymet fosfatase, kan det ikke inntre noen forgjæring. Fosfater er altså ikke bare som en del av andre mineralstoffer, et nødvendig næringsstoff for bakteriene, men også en nødvendig katalysator. Ved fosforyleringen gjøres sukkermolekylet mer labilt, går lettere i stykker.

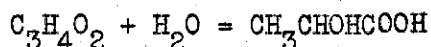
Det neste trin i gjæringsprosessen består i en "defosforylering" av zymofosfatene ved enzymet fosfatase. Sukkeret og fosforsyren frigjøres,

men samtidig med dette sammenbrudd skjer det ved enzymet glykolase en sprengning av heksosekjeden i midten av molekylet og det dannes metylglyoksal

CH_3COCHO :



Ved en simpel vannopptagelse (oksydoreduksjon, dismutasjon) ved en aldehydketonmutase (glyoksalase) omdannes til slutt metylglyoksalet i melkesyre



Denne dismutasjon kan foregå symmetrisk og asymmetrisk og fører til dannelse av forskjellige stereiske melkesyreformer: de asymmetriske dekstro- (høyredreie) og lævo- (venstredreie) melkesyre, og den symmetriske racemiske melkesyre.

Hvilken modifikasjon det dannes, avhenger av bakteriarten, idet konfigurasjonen av syren beror på cellekonstruksjonen. Dannelsen av den ene eller annen modifikasjon skyldes, uavhengig av så vel kullstoff- som kvelstoffnæringen, særegne enzymer. De arter som i melk danner ren d- eller l-melkesyre, vil også i kunstig substrat gi de samme modifikasjoner, og de arter som i melk gir like meget av d- og l-syre (inaktiv syre), vil som regel også under andre forhold opprettholde denne likevekt. Når det unntagelsesvis dannes mer av den ene enn av den annen modifikasjon, må dette ligge i at den ene av de to aktive enzymer produseres lettere enn det annet. I så fall er det eksempler på at bakteriene likefrem kan miste evnen til å produsere det underlegne enzym. Dette er særlig observert blant streptobakterier og betakokker.

Ved siden av melkesyre dannes mer eller mindre av biprodukter vesentlig eddiksyre, propionsyre, myresyre, ravsyre, kulldioksyd. Under gunstige livsvilkår vil noen arter kunne forgjære 95-97 % av sukkeret til melkesyre, andre mindre, ned til 80-85 %. Gjæringens renhet beror til dels på kullstoffkilden, således vil f.eks. pentoser alltid gi mer biprodukter enn heksoser, videre vil sukkerkonsentrasjonen ha sin betydning. De fleste arter produserer mest syre når konsentrasjonen er begrenset. Streptokokker gir optimum ved 0,5-2 %, stavformer ved 2-10 %. Gjæringseffekten vil dog som regel være karakteristisk med 2 %. Er det lite sukker, ikke mer enn bakterien lett kan forgjære, kan en del av den dannede og bundne syre (laktat) forgjære videre. Mengden av flyktige syrer øker også under mindre gunstige livsvilkår (høy temperatur, rikelig lufttilgang etc.) og i eldre kulturer.

Evnen til å forgjære forskjellige kullstoff-forbindelser er avhengig av kvelstoffkilden og høyst ulik ikke bare hos de forskjellige slekter, men også arter og stammer.

I melk vil den maksimale syreproduksjon beregnet som melkesyre, for streptokokkenes vedkommende som regel være 0,5-0,8 %, mens termo- og streptobakteriene leverer betydelig mer, opptil 3 %. Betabakteriene er gjennomgående svake syredannere og leverer betydelig av biprodukter, betakokkene bl.a. acetylmetylkarbinol som ved oksydasjon gir diacetyl. Denne "aromatiske gjæring" vil senere bli nærmere behandlet.

Åndingen (respirasjonen).

Åndingen (respirasjonen) er energiproduserende oksydasjons- og reduksjonsprosesser knyttet til den levende celle. Surstoff i en eller annen form er nødvendig for cellevirksomheten, men mens noen bakterier kan nyttiggjøre seg det atmosfæriske surstoff ved at dette aktiveres på cellens overflate (overflaterespirasjon) er andre avskåret herfra og må skaffe seg den nødvendige energi ved endogene oksydasjonsprosesser (intermolekylær eller intramolekylær respirasjon). Det hersker delte meninger om reaksjonsmekanismen ved disse respirasjonstyper, men det molekylære surstoff reagerer ikke direkte med den levende celle, det må først aktiveres, og dette skjer ved formidling av et "respirasjonsferment" og en jernforbindelse i ferroform i cellens overflate. Denne oksyderes til ferriforbindelse som transporterer og avgir surstoffet til oksydable celledsubstanser, idet jernet selv reduseres.

Ved den inter- og intramolekylære ånding anvendes ikke det atmosfæriske surstoff. Oksydasjonsprosessene består her i en enzymatisk avspaltning av H-atomer fra cellebestanddeler som derved blir surstoffrikere (H-donatorer) og det aktiverte vannstoff overføres til andre cellebestanddeler som altså reduseres (H-acceptorer).

De obligate aerobionter krever det atmosfæriske surstoff, for de obligate anaerobionter er det en gift som de slett ikke kan tåle. De fakultative anaerobionter kan til en viss grad utnytte det, eller surstoffet er dem helt indifferent. I første fall er det mulighet for at det opptrer som H-acceptor under dannelsen av vann.

De ekte melkesyrebakterier er alle fakultative anaerobionter, men enkelte stavformer nærmer seg dog sterkt de obligat anaerobe.

I de senere år er det utført atskillige undersøkelser over respirasjonen. Da prosessens forløp stiller seg høyst forskjellig alt etter næringssubstratets art, må det ved sammenligninger av de forskjellige bakteriearter anvendes ganske bestemte kulturmetoder som erfaringsmessig byr de beste utviklingsbetingelser for vedkommende bakterieart. Respirasjonsintensiteten Q_{O_2} er forbruket av fritt surstoff uttrykt i $mm^3 O_2$ pr. mg bakterier pr. time. Eksempelvis kan anføres følgende tall hentet fra Arne Hansens undersøkelser

av noen stavformer:

	Medium	Temp.	CO ₂
Tbm. cereale	II	37°	6
- helveticum	I	37	1,6
Sbm. casei	I	30	8
Ebm. breve	II	30	37

Kvelstoffomsetningen.

Kvelstoffet brukes dels som energikilde, men hovedsakelig til oppbygging av cellene. Det er jo ikke så meget som skal til, men melkesyrebakteriene er i det hele tatt variable m.h.t. de krav de stiller til kvelstoffnæringen. Hvis på den annen side kvelstoffnæringen er god, så trives de selv med spor av sukker.

Med unntagelse av en enkelt art (*Sc. liquefaciens*) sezernerer de ekte melkesyrebakterier ikke i levende live noen proteolytiske enzymer. De må derfor ha sin kvelstoffnæring i en så findispers form at den kan opptas gjennom celledmembranen. Det var tidligere en alminnelig oppfatning at de krevet kvelstoffet i form av genuine eggehvite-stoffer eller dem nærstående komplekser av aminosyrer, og at de ikke kunne nyttiggjøre seg enkle aminosyrer eller ammoniumsalter som eneste kvelstoffkilde, om enn nærvær av dypere proteinspaltningsprodukter nok kunne ha en stimulerende innflytelse på livsvirkosomheten.

Undersøkelser av Orla-Jensen i 1936 røkket ved denne oppfatning. Melkesyrebakteriene krever for sin livsførsel visse aktivatorer, og er sådanne til stede, kan flere arter klare seg ikke alene med et begrenset utvalg av aminosyrer, men endog ammoniumsalter.

Ved disse undersøkelser benyttes surmyse som grunnsubstrat. Oppvarmes den, utfelles albuminet, og etter nøytralisasjon og sterilisasjon dannes en felling av eggehvite. Filtratet herfra inneholder 0,05 % "restkvelstoff" (kreatin, kreatinin, urinstoff og ammoniakk) hvori inngår 0,02 % N i form av kompliserte forbindelser som kun kan utfelles ved spesifikke eggehvitefellingsmidler, men disse små mengder kan settes ut av betraktning. Filtratet inneholder forøvrig de nødvendige næringsstoffer, sukker, mineralske bestanddeler og aktivatorer.

Dette grunnsubstrat tilsattes en enkelt eller blanding av to eller flere av de i kaseinmolekylet inngående aminosyrer eller ammoniumsalter, og de forskjellige bakteriearters syreproduksjon ble bestemt.

Uten her i detalj å kunne gå inn på de mange interessante resultater, skal kun det vesentlige refereres:

Termobakteriene stillet de største krav til kvelstoffnæringens all-

sidighet. Selv om de i motsetning til andre melkesyrebakterier ikke krever tryptofan, stiller de ellers like så høye krav til sin kvelstoffnæring som de høyere dyr, for foruten cystein, tyrosin (eller fenylalanin), lysin og histidin, må de for optimal trivsel også ha arginin, glutaminsyre, asparagin og kreatin. En tilsetning av glutatation kan være nyttig, men under tiden også skadelig.

Streptobakteriene trives med ammoniumsalter og cystein som eneste kvelstoffkilde, men kreatin og glutaminsyre kan være nyttig.

Streptokokkene klarer seg med ammoniumsalter alene, men for optimal utvikling er tilskudd av histidin, leucin, kreatin og gjærnukleinsyre av betydning. I denne forbindelse må nevnes at forgjæringsgraden av et kullhydrat som regel viser seg å være sterkt avhengig av de øvrige bestanddeler av næringssubstratet, og inneholder dette høyere eggehviteforbindelser, dannes de største syremengder.

Disse iakttagelser er senere bekreftet av andre forskere, kun enkelte har stillet seg tvilende til at streptokokkene skulle klare seg med ammoniumsalter alene.

Når en nå ser hen til det store utvalg av aminosyrer som kaseinet inneholder og restkvelstoffet, er det forklarlig at melken for de aller fleste arter må være et ypperlig næringssubstrat. Alle arter som alminnelig forekommer i melken nyttiggjør seg de kolloidale kaseinater like godt som peptoner. De arter som ikke kan bruke kaseinater, utvikler seg ikke i melk, og har ingen evne til å syrne den, laktalbuminet skal være uten betydning for melkesyrebakterienes trivsel.

Når det under tiden viser seg at melkesyrebakteriene ikke vil trives i melk, kan man dog ikke uten videre herav slutte at kvelstoffnæringen ikke passer dem, for vantrivselen kan muligens skrive seg fra abnormiteter i kaseinatens dispersjon eller fra baktericide stoffer eller hva det er mest sannsynlig, fra at det i melken savnes de for resorpsjonen nødvendige aktivatorer. Denne forklaring støttes av den kjemsgjøring at ved tilsetning av selv små mengder gjærautolysat kan bakteriene trives utmerket. Søncke Knudsen gir et eksempel: I en melk trivdes en melkesyrebakterie utmerket, i en annen melk var veksten langsom og cellene viste klare tegn på degenerasjon. Tilsattes imidlertid denne melk ikke mer enn 0,001 % gjærautolysat (tilsvarende 0,005 mg N i 100 ml melk ble veksten like god som i den første melk. Den lille kvelstoffmengde har ikke kunnet dekke det for bakterienes vekst nødvendige behov, det må være tilførsel av aktivatorer som var årsak til at utviklingen ble så

livlig. Gjærautolysatet er forøvrig i seg selv en dårligere kvelstoffkilde enn f.eks. kaseinpepton. Når det allikevel, særlig overfor stavformer, synes å være en bedre N-kilde, så ligger dette i at gjærautolysatet ikke alene inneholder aktivatorer, men det dannes også sådanne av gjærautolysatet når det steriliseres sammen med kullhydrater.

En av vanskelighetene ved bedømmelsen av forskjellige substraters næringsverdi ligger i at det ved sterilisasjonen av næringssubstratene dannes forbindelser som virker aktiverende, tildels også hemmende på bakterienes utvikling.

Også en liten tilsetning av pepton vil øke syredannelsen. De i bakteriologien benyttede peptoner inneholder nemlig aktivatorer som stammer fra de enzympreparater som er brukt ved deres fremstilling. Et preparats hensiktsmessighet beror derfor ikke bare på den forbindelse hvorav det er fremstillet, men også på fremstillingsmåten. Denne pepton-virkning gir forklaring på at melkesyrebakterier i melk kan utfolde en større aktivitet (vekst og syredannelse) sammen med peptoniserende mikroorganismer (*Bact. fluorescens*, *Tc. liquefaciens*, *Oospora lactis*, etc.), eller når melken tilsettes litt av en flytende kultur av disse mikroorganismer etter at de er drept. I god overensstemmelse med dette er f.eks. den iakttagelse som Søncke Knudsen har gjort at visse betakokker trives dårligst i aseptisk melket melk, noe bedre i samme melk behandlet på alminnelig måte, og ennå bedre i litt eldre handelsmelk. De langt fleste arter vokser som nevnt best i melk, ofte vanskelig i kunstige substrater. Men det er også eksempler på det motsatte, og hvis bakteriene i mange generasjoner dyrkes utenfor melken, kan de til slutt ikke engang vokse i den. De er blitt tilvænet kun å kunne bruke en bestemt kvelstoffforbindelse. Dette er antagelig årsaken til at noen melkesyrebakterier er saprofyte, andre patogene til tross for at de er nær beslektet. De patogene har etterhånden tilvænet seg spesielle kvelstoffnæringer, og trives først når de får disse. Av samme grunn er mange stavformete melkesyrebakterier som hører hjemme i fordøyelsesorganene meget vanskelige å kultivere.

Kvelstoffnæringen tjener som før nevnt helt overveiende til celleoppbyggingen, og da man kun kjenner en art som sesernerer proteolytiske enzymer, må i melkekulturer det resorberte kasein ved bakteriecellens spaltende og syntetiserende endoenzymer først avbygges til enklere forbindelser, og disse deretter oppbygges til de for cellens protoplasma karakteristiske proteinstoffer. Til dels kan dog proteolytiske enzymer formå å trengé igjennom celledemembranen og angripe kaseinet utenfor cellen, men spaltningen som kan gå ned til aminosyrer, er dog i følge amerikanske forskere ubetydelig og foregår hovedsa-

kelig i inkubasjonsstadiet mens reaksjonen i melken ennå er nær nøytral. Med syreproduksjonen stagnerer proteolysen og stopper helt opp når den maksimale syreprosent er nådd. Det er ikke alle melkesyrebakterier som kan proteolyse melken på denne måte, betakokkene f.eks. mangler denne evne, og det samme gjelder i alle fall stammer av streptokokker. Bakterier som hurtig koagulerer melken viser den største proteolyse, hos svake syredannere kan den neppe merkes.

Cellens syntetiserende enzymers virksomhet er helt bundet til den levende celle.

Helt anderledes stiller proteolysen seg hvis melkesyren ved tilsetning av nøytralisasjonsmidler kan bindes etter hvert som den dannes og reaksjonen holdes nøytral. Nærmere herom lengere fram.

Næringssalter.

Uorganiske salter er likeså nødvendige for melkesyrebakteriene som for alle andre levende celler, ikke alene til opprettholdelse av et riktig osmotisk trykk og til byggemateriale, men også som nødvendige aktivatorer for de fysiologiske celleprosesser. Størst behov stilles til Na, K, Mg, Ca, Mn og Fe, Cl, PO_4 og SO_4 -joner, men ellers synes også mange andre katjoner i minimale mengder å virke stimulerende på livsytringene. Men i det hele tatt er behovet av mineralske stoffer meget begrenset, og utover behovet er virkningen av giftig art, særlig gjelder dette de tunge metalljoner, Br og J.

I melken vil melkesyrebakteriene finne alle de mineralske forbindelser som de krever, men ved dyrking i kunstig substrat må disse salter tilsettes, alminnelig 0,5 % K_2HPO_4 , 0,1 % $MgSO_4$, 0,1 % NaCl og 0,001 % $FeCl_3$. Som foran nevnt er nærvær av fosfater en betingelse for sukkerartenes forgjæring og magnesium er nødvendig ved fosforyleringen.

Aktivatorer.

I likhet med alle andre levende celler krever også melkesyrebakteriene for sin livsvirksomhet katalysatorer som virker dels aktiverende, dels regulerende på livsprosessene. De kan være mer eller mindre kompliserte stoffer som ko-enzymmer og vitaminer eller metallsalter i minimale mengder. Der er foran nevnt at en tilsetning av gjærautolysat til melk begunstiger melkesyrebakterienes trivsel og at årsaken er den at autolysatet inneholder aktivatorer som supplerer hva normalt finnes av disse i melk. På den annen side kan visse melkesyrebakterier som vokser godt i gjærautolysat trives ennå bedre om dette tilsettes melk.

Av melkens vitaminer kommer de fettoppløselige A og D ikke i betraktning, da melkesyrebakteriene vokser like godt i skarpt separert melk som i hel-

melk. Av de varnopløselige skal iflg. Orla-Jensen også C være uten betydning, det er derfor B-vitaminene som fanger interessen. Av disse er det tvilsomt om den varmelabile B₁-faktor (aneurin) er nødvendig. Virtanen har dog konstatert at det i alle fall virker aktiverende på melkesyrebakterienes vekst, men ikke på melkesyregjæringen. Derimot hersker det ingen tvil om at melkesyrebakteriene krever de to aktivatorer B₂ (laktoflavinet) og "bios". Den siste er et ennå ikke klarlagt kompleks av faktorer hvorav en, nemlig pantoten-syre (C₁₈H₁₅O₅N) antas å ha den største vitale betydning. Laktoflavinet kan dog ikke alene aktivere melkesyrebakteriene, det krever ved sin side bios, som derimot alene har denne evne om ikke i utpreget grad.

Disse to faktorer stimulerer sammen både vekst og gjæring.

Laktoflavinet og bios har iflg. Orla-Jensen den felles egenskap at de adsorberes til Norritkull og kan ekstraheres av kullene (elueres) bl.a. med metylalkohol. Behandles melk med kull, viser filtratet seg derfor å være et ytterst kummerlig næringsmedium og dette selv om det tilsettes laktoflavin. Tilsettes derimot filtratet et ekstrakt av kullene (eluat) inntreer livlig vekst og syredannelse, hvilket viser at melkesyrebakteriene krever også bios. Både laktoflavinet og pantotensyren er meget termostabile, men mens det første er alkaliømfintlig, er den siste alkalifast. Behandles derfor eluatet med alkalier, ødelegges laktoflavinet.

Følgende forsøk av Orla-Jensen og medarbeidere illustrerer fortrefelig disse aktivatorers betydning for melkesyrebakterienes gjæringsevne.

Syredannelse i ‰ etter 118 timer.

	Melk		B ₂	Tbm. lact. 37°	Tbm. helv. 37°	Sbm. casei 30°	Sc. therm. 37°	Sc. crem. 30°	Sc. lact. 30°
	Bi-os	B ₂							
I melk	+	+		19,6	23,6	4,7	6,3	8,3	7,2
" kullfiltrat	-	-		0,2	0,9	0,2	0,3	0,5	0,5
" " + B ₂	-	-	+	0,6	0,9	0,1	0,2	0,5	0,5
" " + eluat	+	+		9,9	9,0	2,3	5,2	5,4	3,4
" " + " (alkalibeh.)	+	-		7,7	4,5	0,1	4,5	5,9	3,4
" " + do. + B ₂	+	-	+	16,2	20,5	8,6	5,9	7,2	5,6

De stavformede bakterier krever mer laktoflavin enn streptokokkene.

Orla-Jensen hevdet i sin tid at stavformene krever nok en, ikke nærmere definert, aktivator ved siden av de foran nevnte. Ved inndamping av myse i vakuum heftet den ved de første fraksjoner av det melkesukker som utkrystal-

liserte. Nå har Virtanen og medarbeidere vist at melken også inneholder en vannoppløselig faktor (Mgb) av ennå ukjent struktur, som virker aktiverende i alle fall på Tbm. helveticums syredannelse, men ikke på veksten. Den adsorberes ikke til Frankonit.

Vi har tidligere sett at et tilskudd av pepton stimulerer bakterieveksten og syrningen. Årsaken hertil er ikke bare å søke i at peptoner er en god kvelstoffkilde, men også i at de alminnelig anvendte peptonpreparater inneholder både laktoflavin og bios. Av det første nok selv for stavformer, av bios derimot for lite for disse, men tilstrekkelig for streptokokkene. For disse spiller også peptonenes puffervirkning inn. De proteolytiske enzymer er meget rike på laktoflavin, og fra dem stammer peptonpreparatenes innhold av denne aktivator. Peptonenes bios er det mulighet for stammer fra de peptoniserte proteiner, da alanin inngår i pantotensyrens konstitusjon.

Eksempel på peptonenes virkning på syredannelsen (pr.mille) gir følgende forsøk av Orla-Jensen:

	Tbm. lactis	Tbm. helveticum	Sb. casei	Sc. cremoris	Sc. lactis	Sc. thermophilus
1. Laktoseoppl. + pept.Witte	2,1	0,3	0,6	2,6	2,5	2,6
2. " + kaseinat	0,5	0	0,5	0	1,4	1,1
3. Sur myse	0,2	1,1	0,2	0,9	1,6	2,0
4. " + pept.Witte	9,4	16,0	9,6	5,6	5,2	5,2
5. " + kaseinat	9,5	17,8	10,4	5,4	4,5	5,9
6. Løpe-myse	0,2	4,3	2,5	2,3	2,3	2,3
7. " + pept.Witte	8,8	14,9	9,2	4,7	4,1	4,7
8. " + kaseinat	11,0	13,1	10,1	5,2	5,0	5,6
9. Melk	14,0	14,6	8,1	4,5	4,3	3,8

1. Utilstrekkelig av bios. Laktoseoppløsningen mangler aktivatorer.
2. " " " og laktoflavin.
3. " " kvelstoff.
6. " " " og bios.

Det er foran (s. 10) også nevnt at melkesyrebakteriene til en viss grad stimuleres i sine livsytringer i symbiose med fluorescenter. Dette lar seg forklare da fluoresinet er et flavin.

Forskjellige melkesyrebakterier og særlig de som vokser dårlig i melk, fremmes meget sterkt i sin utvikling hvis melken tilføres visse planteekstrakter. Dette skriver seg overveiende fra at de inneholder laktoflavin, men også visse aminosyrer som cystein, asparagin, lysin, glutation. Vi har

tidligere sett virkningen av gjærautolysatet, og Davis fant dette som det ypperste, men at optimum så vel av vekst som gjæring oppnåddes når det fikk et tilskudd av enkelte planteekstrakter, som derfor må inneholde en faktor som savnes eller kun forekommer i ringe mengder i gjær.

Orla-Jensen undersøkte virkningen av en lang rekke ekstrakter tilsett melken i sådanne mengder at kvelstoffinnholdet i alle var ens. Dyrking ved optimaltemperatur, titrering umiddelbart etter inkubasjonsperioden før bakteriene var svekket:

	Sc. lactis	Sc. cremoris	Sbm. casei	Tbm. lactis
Melk uten tilsetning	7,2	5,0	7,4	11,5 °/oo
" + potetekstrakt	8,3	7,9	12,4	14,4
" + tomatpuré	7,9	8,1	15,0	16,9
" + gjærekstrakt	7,7	8,0	11,3	12,8
" + kugjødselekstrakt	7,0	6,8	10,6	15,5
" + Liebigs kjøttekstrakt	7,4	6,5	11,0	14,9

Ekstraktene førte alle til forhøyet syredannelse og det selv uten tilsetning av laktoflavin eller bios. De må derfor alle inneholde begge aktivatorer. Da en tilsetning av bios over alt forhøyet aktiveringen, må det antas at ingen av ekstraktene er særlig rike på bios. Derimot inneholder de så meget laktoflavin at et tilskudd av dette ikke forhøyet aktiviteten.

Ved siden av de kjente termolabile baktericide stoffer inneholder melken termostabile som virker hemmende på melkesyrebakteriene (nærmere herom lengere fram). Lignende stoffer forekommer i gjærekstrakt og sannsynligvis også i andre ekstrakter, så man alltid vil ha å gjøre med et samspill av aktivatorer og hemningsstoffer, og det beror da på omstendighetene hvilke av disse faktorer som skal bli de dominerende. Det forskjellige krav på bestemte vekststoffer og den forskjellige ømfintlighet overfor bestemte hemningsstoffer som de enkelte arter oppviser, er en vesentlig årsak til at forskjellige stoffer ved den spontane syrning av melken, snart gir den ene og snart den annen art overhånd.

Foruten vitaminer virker også et tilskudd av visse aminosyrer aktiverende på visse bakteriearter.

c. Forhold som har innflytelse på livsvirksomheten.

Melkesyrebakterienes livsvirksomhet gir seg til kjenne i vekst, syredannelse og proteolyse.

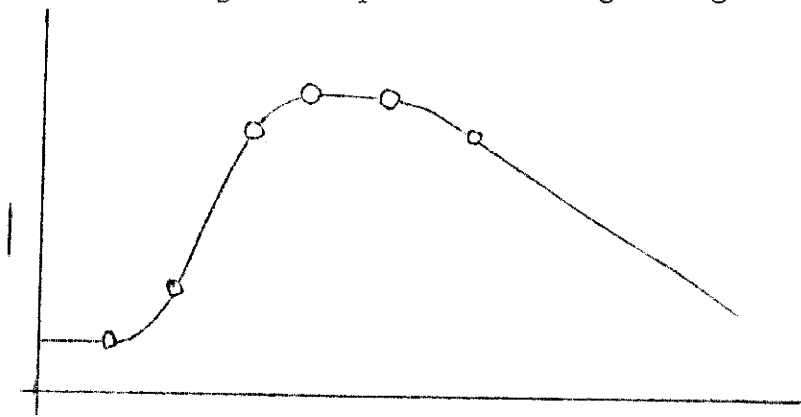
Bakterieveksten.

Nydannelsen av celler avhenger av næringssubstratets natur, H-ione-

konsentrasjonen og temperaturen.

At næringssubstratet må inneholde de for energiproduksjonen og celleoppbyggingen nødvendige kullstoff- og kvelstoffkilder samt aktivatorer er innlysende, men de ulike arters krav i så henseende er forskjellig. Vi har sett forskjellig evne til å kunne forgjære sukkerarter, ulike forhold overfor det atmosfæriske surstoff, at noen arter kan nøye seg med uorganiske kvelstoffforbindelser med tilskudd av visse organiske, andr krever høymolekylære organiske substanser, behovet for aktivatorer stiller seg forskjellig osv. Det er ved dyrking i mer eller mindre "kunstige" substrater at det er lyktes å konstatere de særegenskaper i denne henseende som de forskjellige bakterier er i besittelse av.

De fleste undersøkelser som er foretatt over veksthastigheten hos melkesyrebakteriene er helt overveiende utført ved deres dyrking i kunstige substrater og under optimale ernæringsbetingelser, sjeldnere i melk som dog



for de langt fleste frembyr ideelle vekstbetingelser. Det er nemlig noen arter som trives dårlig i melk så veksten er nokså kummerlig. Overpodes en bakteriekultur i et nytt næringssubstrat og bakterieantallet pr. cm^3 telles

time etter time, og antallet uttrykt logaritmisk, på de forskjellige tidspunkter fremstilles i grafisk form, vil man få bakterienes "vekstkurve" som skjematisk vil ha ovenstående utseende.

Vekstforløpet har forskjellige faser, amerikanske forskere har oppstillet hele 7, nemlig:

1. l-a: Den initiale stasjonære fase: Bakterieantallet er konstant, det tar sin tid innen bakteriene finner seg til rette.
2. a-b: Den positivt accelererende vekstfase: Veksten begynner med økende hastighet.
3. b-c: Den logaritmiske vekstfase: Antallet øker med jevn hastighet.
4. c-d: Den negativt accelererende vekstfase: Antallet øker, men med avtagende hastighet.
5. d-e: Den maksimale stasjonære fase: Antallet holder seg uforandret.
6. e-f: Den accelererende dødsfase: Antallet avtar med økende hastighet.
7. f-g: Den logaritmiske dødsfase: Antallet avtar med jevn hastighet.

I dødsfasen avtar antallet av levende celler meget hurtig, men en del celler viser en merkelig resistens. Omplantes en kultur i dette stadium i friskt substrat, vil det dog vise seg at de to første faser i den nye kultur blir betydelig forlenget, det tar tid innen bakteriene atter kommer i vigør, men til gjengjeld viser de senere en stor vitalitet og gjæringsevne. Helt omvendt er forholdet hvis omplantningen skjer når kulturer er i den logaritmiske fase, da kan første fase i den nye kultur helt bortfalle.

Ikke alene antallet, men også den enkelte bakteriecelles form og størrelse undergår forandringer i vekstløpet. I den positive vekstfase blir cellene større og opptar lett basiske fargestoffer, i den negative fase blir de mindre og i dødsfasen farges de ikke lenger av de basiske, men vel av sure fargestoffer, og samtidig kan de anta irregulære former (involusjonsformer):

Når cellene i vekstfasen vokser seg større, tar det også noen lengere tid innen de deler seg, veksthastigheten blir til en viss grad bremset, men denne forøkelse av størrelsen fører imidlertid til et livligere stoffskifte, større gjæringseffekt, da forholdet mellom cellenes overflate og vekt øker og dermed resorpsjonen av næringsstoffer.

Ved "generasjonstiden" forstås den tid som medgår til en celledeling. Herover foreligger for melkesyrebakterienes vedkommende en del undersøkelser, men da de er foretatt under ulike vilkår er resultatene temmelig divergerende. For *Sc. lactis* i melk ved 21-24° C i vekstfasen bestemte Rahn generasjonstiden til 50-60 min., Mason til 23-30 min. og Supinska og Mateszewski ved 28-30° C til 74-166 min.

Veksten er i høy grad avhengig av substratets.

Reaksjon. De første undersøkelser skyldes Svanberg (1919) som for stammer av *Sc. lactis* og *Tbm. helveticum* ved stigende pH fant følgende relative veksthastigheter:

	ph.	4,5	5,0	5,5	6,0	6,5	6,7
<i>Sc. lactis</i>	36	70	90	97	-	43	2
<i>Tbm. helveticum</i>	45	83	100	78	28	6	

Optimal vekst viste *Sc. lactis* ved pH 5,5-6,4 og et sterkt tilbakefall i veksten ved pH 6,5-6,8. For *Tbm. helveticum* pH 5-6 henholdsvis pH 6,0-6,4.

Senere undersøkelser av Virtanen er i full overensstemmelse hermed.

Sc.lactis Opprinnelig 0,47 mill. pr. cm ³ . 20°				Tbm.helveticum Opprinnelig 1,4 mill. pr. cm ³ . 42°			
pH	Mill. etter timer		Relat. vekst- hast.	pH	Mill. etter timer		Relat- vekst- hast.
	3	5			3	5	
4,09	0,8	1,1	1,3	3,91	1,6	2,9	12,3
4,71	2,4	12,3	25,0	4,59	2,6	7,9	53,3
5,36	3,9	38,2	79,8	5,37	4,3	13,6	100
5,78	5,6	47,7	100	5,88	3,2	8,4	57,3
6,31	3,9	23,9	49,7	5,99	3,2	7,0	45,8
0,90	2,4	11,9	23,7	6,32	1,9	5,4	32,8
7,52	0,7	1,8	2,8				

Orla-Jensen angir at i sin alminnelighet ligger optimum for vekst hos streptokokker ved pH 6,5, hos stavformer ved pH 6,0.

Temperaturens innflytelse på veksten av de foran nevnte bakterier illustreres likeledes av Virtanen.

Sc.lactis Opprinnelig 1,1 mill. pr. cm ³ pH 5,8			Tbm.helveticum Opprinnelig 1,3 mill. pr. cm ³ pH 5,4		
Temp. °C	Mill. etter 3 timer	Relat. vekst- hastighet	Temp. °C	Mill. etter 5 timer	Relat. vekst- hastighet
10	1,5	-	30	2,7	2,8
15	7,4	16,1	36	12,8	24,7
20	9,1	20,6	37	17,6	36,8
25	28,8	71,2	42	47,8	100
30	29,8	73,8	45	32,2	66,5
33	40,0	100	50	4,6	7,1
36	23,6	57,3	52	0,6	0
42	1,7	1,5			
45	1,2	-			

Optimaltemperaturen for denne stamme av Sc. lactis ligger altså ved 33° og under 10° og over 45° opphører veksten. De tilsvarende temperaturer for Tbm. helveticum er 42°, henholdsvis knapt 30° og 52°. Andre arter stiller andre temperaturkrav.

Syredannelsen.

Da melkesyregjæringen er den normale energiproduserende reaksjon, kunne det ventes at den var avhengig av de samme faktorer som veksten. Til en viss grad er dette også tilfelle, men noen parallellisme består dog ikke.

Næringssubstratet. Ved siden av kullhydrater, alkoholer etc. kan også andre næringsstoffer i mer eller mindre grad utnyttes som energikilder. De enkelte arter stiller ikke samme krav på tilgang av kullhydrater, veksten kan hos en art være like god som hos en annen, selv om tilgangen på kullhydrater er mer begrenset for den første enn for den siste. De forskjellige kullstoffkilder utnyttes i ulike grad og syreproduksjonen blir dermed for-

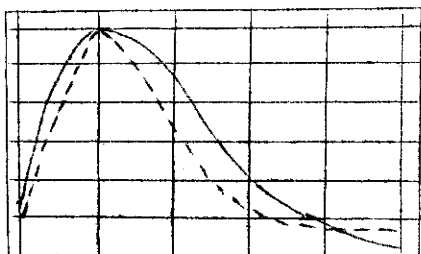
skjellig. Noen vilkårlig valgte eksempler fra Orla-Jensens arbeider er gitt i følgende tabell, som angir maksimal syreproduksjon i promille i samme grunnsubstrat med Wittepepton (W) eller kaseinpepton (C) og forskjellige kullstoffkilder:

	Sc.lactis		Tbm.lactis		Sbm. casei		Bc.cremoris	
	W	C	W	C	W	C	W	C
Manitt	1,9	3,8	0	0	0	0	0	0
Glukose	4,0	7,4	3,8	10,8	4,4	12,8	2,1	6,3
Galaktose	2,7	5,6	2,3	7,9	4,1	10,1	1,7	2,0
Sakkarose	0	0,2	4,1	10,6	0,1	0,7	2,3	6,1
Laktose	3,2	6,3	4,5	8,8	4,1	9,2	2,3	5,0
Dekstrin	2,5	5,0	0	1,1	0	0	0	0

Det er tidligere vist at noen aktivatorer fremmer veksten, men ikke syredannelsen og omvendt, og visse kjemiske forbindelser, f.eks. monojodeddiksyre, kan innen begrensede mengder forhindre syredannelsen, men ikke veksten.

Selv om celleformeringen er forbundet med syredannelse, så utelukker ikke dette at gjæringsevnen er uavhengig av celleveksten, for gjæringsevnen er ikke absolutt bundet til den levende celle. Dette ble for melkesyrebakterienes vedkommende bevist av Virtanen i 1928. Ved å behandle tørrpreparater av *Tbm. helveticum* med toluol i 1 1/2 time ble alle levende celler drept, men gjæringsevnen var ikke dermed tapt, selv om den nok var svekket. Gjæringen kan til og med forløpe med stor hastighet, ja sogar være optimal under betingelser da vekst er helt utelukket, endoenzymene er aktivt virksomme.

Fosfatkonsentrasjonen. Som foran nevnt (s. 5) er fosforsyre uunnværlig ved melkesyregjæringen, både ved å være et nødvendig næringsstoff og en katalysator for energiproduksjonen (fosforyleringen).



Virtanen har vist at gjæringshastigheten hos levende celler av *Sc. lactis* og *Tbm. helveticum* under forøvrig gode livsvilkår, er optimal ved en fosfatkonsentrasjon tilsvarende 1 % P_2O_5 . Ved sterkere konsentrasjoner blir gjæringen straks hemmet. Gjæringshastigheten uten fosfat og i en fosfatopløsning med 5 % er den

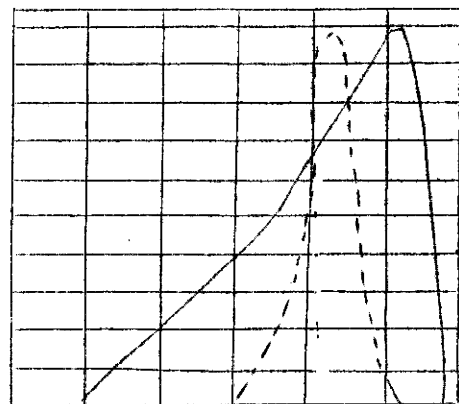
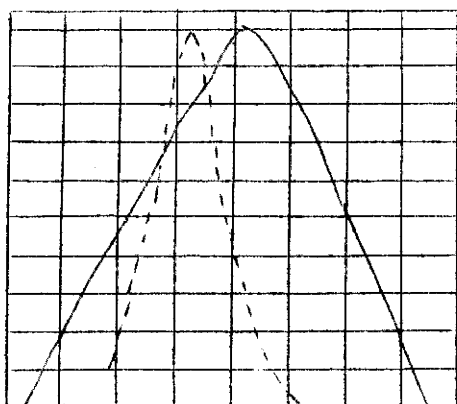
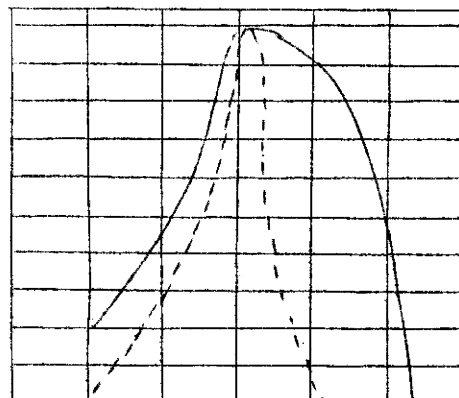
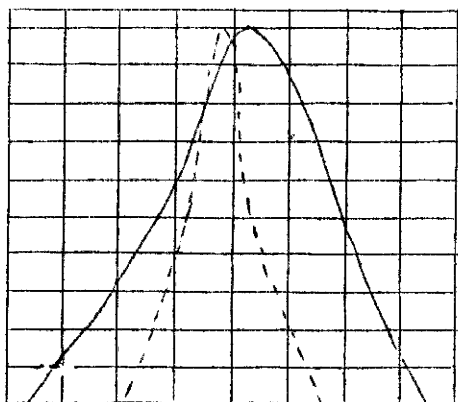
samme, ca. 2/3 av den maksimale, og i denne henseende er det ingen forskjell på *Sc. lactis* og *Tbm. helveticum*.

Hva gjæringens avhengighet av H-ionekonsentrasjonen og temperaturen angår, foreligger for de samme bakterier også undersøkelser av Virtanen,

som fant at gjæringshastigheten i løpet av 1 time i 1 døgn gamle glukosekul-
turer var:

Sc.lactis		Tbm.helveticum		Sc.lactis		Tbm.helvet.	
ved pH	9,5 - 0	pH	9,5 - 0	ved 10°	- 17,7	10°	- 0
	8,6 - 30		8,6 - 48,5		14 - 31,0		15 - 5,9
	7,8 - 50,1		7,8 - 60,0		20 - 48,2		20 - 21,5
	6,5 - 96,6		6,5 - 92,0		25 - 66,6		30 - 37,4
	6,2 - 100		6,2 - 100		30 - 100		40 - 67,5
	4,6 - 40,8		5,0 - 67,0		37 - 99,3		50 - 100
	3,4 - 24,5		4,6 - 51,5		48 - 60,5		55 - 64,6
	2,9 - 14,3		4,0 - 46,4		52 - 19,0		60 - 0
			2,3 - 0,8		55 - 0		

Som det sees er melkesyregjæringsens avhengighet av aciditeten for
begge disse karakteristiske typer av melkesyre bakterier temmelig nøyaktig den
samme, mens temperaturkurvene både m.h.t. optimum som maksimum og minimum er
ganske forskjellige.



Til tross for at forholdet til temperaturen således slett ikke er konstant, så er det neppe noe annet som mer karakteriserer de forskjellige arter. Optimaltemperaturen for syredannelse ligger for de termofile arter og termobakteriene ved 40-45° C, for de patogene ved 35-37°, og for alle de øvrige ved 30° og derunder. Dette siste er å legge merke til da det i litteraturen meget alminnelig angis at blodtemperaturen er den beste. Tvertom, går temperaturen bare opp i 35°, merkes for mange arter en betydelig svekkelse av syreproduksjonen, og ved 40° er denne ofte ganske ringe eller slett ingen.

En alminnelig oversikt over temperaturgrensene for syredannelse gir følgende:

	Minimum	Maksimum
Alm. streptokokker	10° (5-6)	40° (50)
Streptobakterier	10	45
Termobakterier	20	50
Betakokker	5	38
Betabakterier	14	35

Maks. og min. temp. avhenger langt mer av bakterienes vitalitet enn av næringen. Svake stammer har derfor langt steilere temperaturkurver enn sterke.

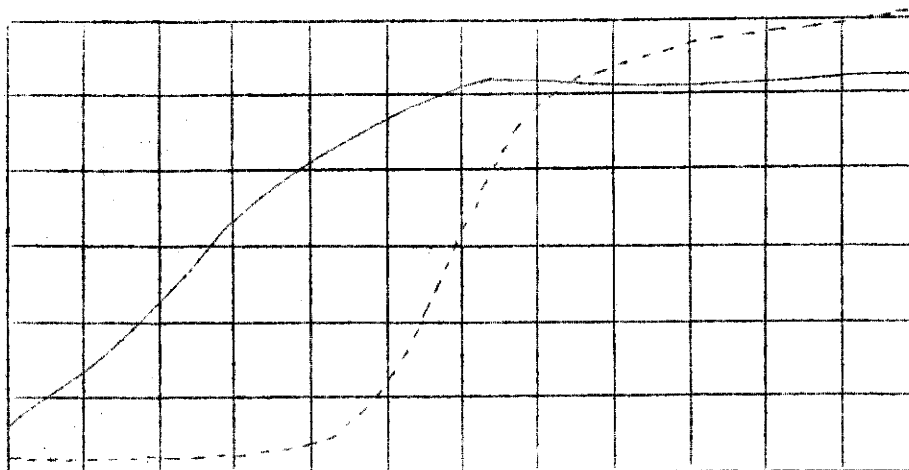
Dødtemperaturen er meget vanskelig å bestemme, da den meget beror på H-ionekonsentrasjonen i den kultur som skal prøves, og hvor gammel den er. Enn videre kan de enkelte celler i samme kultur ha vidt forskjellig motstandsdyktighet mot oppvarming. Orla-Jensen angir at ved 1/4 times oppvarming drepes:

Patogene streptokokker alm. ved	60°
Betakokker	65
Streptokokker alm.	70
De fleste andre arter	70-75

men selv i melk som er pasteurisert til 80-85° kan det finnes, om enn sjelden, visse streptokokker. Som regel vil de arter som har høy optimaltemperatur være de mest motstandsdyktige.

Ovenstående grafiske fremstilling er illustrerende for forholdet mellom vekst og gjæring at gjæring kan ha langt rommeligere intervall enn veksten, men man må være oppmerksom på at gjæringshastigheten her er bestemt i kulturer som har befunnet seg i den logaritmiske vekstfase og med gunstige temperaturer og en konstant og favorabel H-ionekonsentrasjon. I virkeligheten dannes det i gjæringens forløp stadig syre, H-ionekonsentrasjonen stiger og virker dempende på gjæringshastigheten, og skjæringen stopper før eller senere.

I en kultur av *Sc. lactis* i melk ved 21-24° bestemte Rahn vekst og syredannelse i løpet av 36 timer ved 21-24°. Resultatene gjengis her grafisk, idet bakterieantallet er oppført som logaritme og syreproduksjonen i ‰.



Vi ser her at til tross for livlig vekst er det i de første 12 timer ingen syredannelse (inkubasjonsstadiet). Vi ser videre hvorledes veksten begynner å slakke av mellom 12 og 18 timer, men at gjæringen nå er i full gang, det er etterhånden dannet så meget syre at denne virker hemmende på veksten. Etter 24 timer er veksten helt opphørt (den maksimale stasjonære fase), men gjæringen fortsetter helt til det er dannet så meget syre som det overhodet kan dannes under de gitte forhold.

Som allerede foran nevnt (s. 7) vil streptokokkene som regel kunne produsere 0,5-0,8 ‰, stavbakteriene 1,5-2,0 ‰ melkesyre. Nå er det ikke syre-representen, men H-ione-konsentrasjonen som er avgjørende for opphøret av vekst og gjæring. Svanberg viste at det er den udissozierte del av melkesyren som virker som gift på bakteriene, og syrer som er mindre dissoziert enn melkesyren virker mer giftig, syrer som er mer dissoziert, mindre giftig enn melkesyren. Hemnings-pH-verdien for *Sc. lactis* skal med saltsyre og svovelsyre være ca. 3,4, fosforsyre 3,5, melkesyre 4,7, men eddiksyre 5,1. M.h.t. H-ione-konsentrasjonens innflytelse på gjæringen, så er den den samme, uansett syrens art, for enzymenes virk-somhet opphører ved en viss laveste pH.

Men når det gjelder melkesyren, kommer nok en faktor i betraktning, nemlig den at også dannede laktationer har en hemmende virkning. Svanberg gir følgende eksempel herpå for *Sc. lactis*: 30 cm³ myse tilsattes forskjelli-

ge mengder normal natriumlaktatopløsning og den endelige surhetsgrad ved 18° bestemtes:

Laktatopløsning cm ³	Surhetsgrad Th.	pH	Udissosiert syre
0	23,8	3,93	0,0070
1	20,8	4,78	0,0075
2	19,0	4,60	0,0077
3	18,6	4,75	0,0078
5	16,4	4,95	0,0076

Tilsettes en melkekultur kritt så reaksjonen holdes nøytral, skulle det med sikte på H-ione-konsentrasjonens innflytelse, være betingelser for en fullstendig forgjæring av melkesukkeret, men når mange arter ikke er i stand hertil, så skyldes det den sterke opphoping av laktater.

Av ovenstående eksempel fremgår at hemningen av gjæringen inntreer når konsentrasjonen av udissosiert syre er ca. 0,01 normal. For *Tbm. helveticum* inntreer hemning først ved ca. 0,1 normal, den er altså betydelig mindre følsom. Hver enkelt art har sin hemningsverdi.

En enkeltcelles "gjæringsevne" er den mengde av et stoffskifteprodukt som cellen kan produsere i 1 time. Det foreligger for *Sc. lactis* en del undersøkelser herover. Foruten å være avhengig av H-ione-konsentrasjonen og temperaturen, beror den på i hvilket vekststadium cellen befinner seg og på bakterieantallet pr. cm³.

I inkubasjonsstadiet foregår det en stadig celleformering, men først når det er tilbaketrukket og bakterieantallet er over 1 mill. pr. cm³, kan det påvises noen syredannelse. På dette tidspunkt har allikevel gjæringsevnen sitt maksimum, først når celleantallet har nådd nevnte størrelse er altså mengden av den produserte syre målbar. I løpet av den logaritmiske vekstperiode svekkes gjæringsevnen, men da antallet av celler nå er steget til milliarder, så øker allikevel syreprosenten inntil H-ione-konsentrasjonen m.m. setter en stopper for vekst og gjæring.

Følgende er utdrag av en tabell fra Rahns undersøkelser:

Etter timer	Antall bakterier	Gjæringsevne mg	Aciditet S-H
0	38 000	-	6,6
3	184 000	-	6,6
6	1 600 000	-	6,6
9	18 700 000	46,2 x 10 ⁻¹⁰	6,8
12	112 000 000	10	7,4
15	430 000 000	13,8	10,4
18	1 000 000 000	11,7	18,2
21	1 250 000 000	6,6	25,4
24	1 490 000 000	2,0	27,4
27	1 300 000 000	0,5	28,6
30	1 170 000 000	0,5	29,4
33	1 380 000 000	0	29,2
36	1 550 000 000	0	30,8

Det er foran nevnt at cellene i vekstfasene vokser seg større. Et interessant eksempel på hvorledes dette under ellers like forhold virker på gjæringsevnen gir Supinska og Mateszewski:

Stamme	Cellens		Gjæringsevne mg melkesyre pr. time
	vol. μ ₃	overflate μ ₂	
Sc. lactis 2	0,76	4,04	15,7 ⁻¹⁰
" 10	0,63	3,58	9,6
" 11	0,58	3,36	5,24
" 4	0,42	2,74	4,01
" cremoris 1	1,13	5,32	24,4
" " 6	0,89	4,53	17,4

Proteolyse.

De ekte melkesyrebakterier (med en unntagelse, Sc. liquefasciens) secernerer ikke proteolytiske enzymer. Når det allikevel som omtalt s. 11 kan påvises dannelse av mindre mengder kaseinspaltningsprodukter i melkekulturer av f.eks. Sc. lactis og Tbm. helveticum, må disse skrive seg fra en proteolytisk virkning av endoenzymer i bakteriecellens overflate. Spaltingen foregår kun så lenge reaksjonen ikke vesentlig avviker fra melkens normale (pH 6,5) og stanser helt når det er dannet så meget melkesyre at pH er sunket til 5,5-5,0 eller på det stadium da melken i alminnelighet koagulerer, og celleveksten har nådd sitt maksimum. De proteolytiske enzymer har da utspilt sin rolle og befinner seg i en latent tilstand i bakteriecellen.

Av denne latente tilstand vil imidlertid de proteolytiske enzymer vekkes hvis den dannede syre nøytraliseres og reaksjonen bringes innenfor de grenser innen hvilke de er virksomme.

Det var von Freudenreich som i 1897 gjorde denne viktige oppdagelse. Han podet melkesyrebakterier i melk tilsatt kritt og fikk derved melkesyren nøytralisert etter hvert som den ble dannet. Ved analyse konstaterte han at kaseinet i større eller mindre grad var oppløst og spaltet. Freudenreich mente først at proteolysen var knyttet til den levende celle, men da det viste seg at den fortsatte lenge etter bakterienes død, kunne den også forklares som en ren enzymatisk prosess. I de døde celler begynner en selvfordøyelse (autolyse), cellene oppløses, enzymene frigjøres, går over i substratet - her melken - og kan eventuelt angripe kaseinet direkte. Cellens syntetiserende enzymer kommer her ikke i betraktning, for deres virksomhet er bundet til den levende celle.

Allerede i 1900 hevdet Orla-Jensen at det var en sådan autolyse av melkesyrebakteriene som lå til grunn for kvelstoffomsetningen i nøytralisert melk og i ost, men først i 1925 leverte Virtanen det endelige bevis for at

denne kaseinspaltning var en enzymatisk reaksjon som ikke var knyttet til den levende celle. - Bakteriecellen inneholder imidlertid ikke alltid samme mengder proteolytiske enzymer, mengden står i nøye forbindelse med bakterieveksten, altså særlig avhengig av aciditet og temperatur, og ved disse faktorerens optimalverdier vil også enzymproduksjonen være på høydepunktet.

Ser vi så hen til enzymenes evne til å spalte kasein, så er denne høyst forskjellig selv hos stammer av samme art, den utfolder seg kraftigst ved optimalverdiene for vekst.

Eksempel herpå gir Tarnanen for *Tbm. helveticum*:

Temp. 42° C.		
Beg.	pH	
	Etter 44 timer	
		Relativ spaltning
4,5	4,5	12
4,9	4,9	27
5,2	5,3	54
5,7	5,7	100
6,2	6,3	98
7,0	6,8	78

pH 6,1, 20 timer	
°C.	Relativ spaltning
5	19
20	48
37	89
42	100
50	74

Undersøkelsen er utført med samme stamme av *Tbm. helveticum* som Virtanen benyttet ved sine vekst- og gjæringsforsøk, og inntegnes de fundne verdier i diagrammet s. 21 vil det sees - og det er meget viktig - at proteolysen finner sted innen langt videre temperaturgrenser enn tilfellet er for vekst og gjæring.

For en stamme av *Sc. lactis* fant Diethelm:

Temp. 30° C.	
pH	Relativ spaltning
4,8	26
5,5	57
6,3	100
6,6	97
6,9	85

pH 6,32	
°C.	Relativ spaltning
4	24
20	67
30	100
37	92
45	64

Mens vekst og gjæring betinges eller stimuleres ved nærvær av aktivatører, så har disse ingen betydning for proteolysen. Nilson viste i alle fall dette for de i syrevekkere forekommende streptokokker. Aktivatorenes virkning er knyttet til den levende celle.

Allerede ved sine første forsøk påviste v. Freudenreich at spaltningen av kaseinet ved *Tbm. helveticum* førte til dannelselse av peptoner og aminosyrer. Tarnanen og Virtanen konstaterte at autolysat fra denne bakterie inneholdt minst tre forskjellige enzymer - en proteinase som spaltet kasein ned

til polypeptider, en polypeptidase som spaltet polypeptider til enklere peptider og aminosyrer og en dipeptidase som formår å spalte dipeptider med frie amino- og karboksylgrupper.

Evnen til å spalte kasein er høyst forskjellig, ikke alene hos de ulike slekter og arter, men også hos stammer av samme art. Eksempler herpå vil bli gitt lenger fram under den nærmere beskrivelse av de meieriteknisk viktige bakterier. Ved bedømmelsen av spaltnings-evnen må det imidlertid tas i mente at enzymene kun er aktive innen begrensede H-ionekonsentrasjoner og temperaturer.

Fargestoffreduksjon.

Visse kjemiske forbindelser kan, når de tilsettes en bakteriekultur, fungere som H-acceptorer i de oksydasjons-reduksjons-prosesser som betinger cellens liv og vekst. Denne reduksjon demonstreres synlig ved fargestoffer som ved reduksjonen går over i sine ufargete leukoforbindelser f.eks. lakmus og metylenblått. Ikke alle melkesyrebakterier virker like hurtig reduserende. Som regel vil arter som vokser langsomt i melk også avfarge melken langsomt. De fleste streptokokker og staver avfarger melken hurtigere enn de koagulerer den, andre avfarger meget langsomt. Imidlertid er "lakmusprøven" ofte benyttet ved differensiering av *Sc. lactis* arter fra enterokokker og mastitstreptokokker, idet de første avfarger melken hurtigere enn de koagulerer den, de siste først senere eller slett ikke. Demeter som spesielt har undersøkt forholdet for *Sc. lactis* og fekale streptokokker hevder dog at det forekommer så mange overgangsformer at reduksjonsevnen neppe kan nyttes som artskjennemerke.

d. De i meieriteknisk henseende viktigste ekte melkesyrebakterier.

For et nærmere studium av en bakteriart må man selvfølgelig først og fremst sikre seg at den er en renkultur. For melkesyrebakterienes vedkommende vil som regel arbeidet hermed begynne med en spredning på agar med pepton (helst kaseinpepton), glukose og gjærekstrakt eller på værteragar. Av de fremkomne kolonier utplukkes et antall som overføres i lakmusemelk. Melkekulturene må derpå renses ved gjentatte utstrykninger på agar. For den nærmere identifisering studeres koloniform, celleform, temperaturkrav, vekst og syredannelse i glykosebuljong og i melk, samt forgjæring av forskjellige sukkerarter.

Ved undersøkelse på næringskrav er det nødvendig at de substrater som skal prøves steriliseres separat. For kullhydratenes vedkommende støter man nemlig ved samsterilisering på den ulempe at disse ved steriliseringen omdannes, druesukker f.eks. delvis i fruktsukker (levulose), levulose i druesukker, men også i andre sukkerarter, i metylglyoxal etc. Videre spiller aciditeten inn, idet H-ionekonsentrasjonen blir desto høyere jo høyere og

langvarigere sterilisasjonen av næringssubstratene er. Ved oppvarmingen forener substratenes aldehydgrupper seg med N-holdige stoffers amidgrupper, hvorved en tilsvarende mengde karboxylgrupper blir frigjort. Nå er det heller ikke likegyldig om sukkeret er oppløst i destillert vann eller ledningsvann, for i siste fall vil OH i vannet omforme en del av suktermolekylet i en mindre stabil form som er lettere forgjærbar.

Hvor det kommer an på et nærmere studium av rasespaltninger og mutasjoner må det anlegges kulturer av en enkelt celle, men de vanlige renyrkingsmetoder ved hensiktsmessig utførelse gir en helt betryggende renkultur. Absolutt nødvendig er det å kontrollere bakterien ved forplantning gjennom lengere tid i næringssubstrat av konstant sammensetning.

Melkesyrebakterienes evne til å utnytte forskjellige kullhydrater og alkoholer etc. som energikilde er som tidligere nevnt høyst forskjellig. Orla-Jensen har oppstilt de substanser som må trekkes inn i analysen i en nummerert rekkefølge:

- | | | |
|-----------------------|-----------------------|-------------------------|
| 1. Glyserin (Alkohol) | 7. Lævulose (Heksose) | 13. Laktose (Biose) |
| 2. Xylose (Pentose) | 8. Glukose " | 14. Raffinose (Tetrose) |
| 3. Arabinose " | 9. Mannose " | 15. Inulin (Polyose) |
| 4. Ramnose " | 10. Galaktose " | 16. Dekstrin " |
| 5. Sorbit (Alkohol) | 11. Saccarose (Biose) | 17. Stivelse " |
| 6. Mannit " | 12. Maltose " | 18. Salicin (Glykosid) |

Ved å benytte ordenstallene for de forbindelsene som bakterien forgjærer får en dens "gjæringssymbol". Dette er f.eks. for den typiske *Tbm. helveticum*:

7 8 9 10 12 13 16.

Det er imidlertid å merke at som regel er det kun noen få forbindelser som en art konstant forgjærer, andre kun av og til. (I foran nevnte eksempel er de konstante understreket.) Evnen til å forgjære en bestemt sukkerart kan forsvinne etter gjentatte omplantninger, til gjengjeld kan andre sukkerarter som tidligere ikke ble forgjæret tre i stedet. Denne variasjonstendens skriver seg fra at ved de livsbetingelsene hvorunder bakterien levet før den ble isolert, ervervet den egenskaper som den ved fortsatt dyrking i et gunstigere miljø etter hvert tapet.

I årenes løp er det gjort mange forsøk på å systematisere melkesyrebakteriene, men det ene system etter det annet har man måttet forlate fordi nye undersøkelser har vist deres uhensiktsmessighet. Orla-Jensen, som utvilsomt er den av nåtidens forskere som mest inngående har beskjeftiget seg med studiet av melkesyrebakteriene, har i 1919 oppstilt et siste system som nå mer

og mer anerkjennes for å ha store fortrin fremfor de tidligere. Det er bygget ikke alene på bakterienes morfologiske, men også på deres biokjemiske egenskaper. Idet vi i det følgende vil følge dette, er samtidig også opptatt de nye navn som denne forsker har gitt tidligere beskrevne arter.

1. gruppe: Ved siden av melkesyren dannes kun ubetydelig bi-
produkter.

a. Kuleformer: Slekten Streptococcus.

b. Stavformer: Slektene Thermobacterium og Strepto-
bacterium.

2. gruppe: Ved siden av melkesyren dannes betydelig biproduk-
ter.

a. Kuleformer: Slekten Betacoccus.

b. Stavformer: Slektene Betabacterium og Bifidebac-
terium.

1. gruppe. De homofermentative slekter.

Streptokokkene (Sc).

Bakterier av denne slekt deler seg i en retning. Etter delingen kan cellene dels henge sammen og danne lange kjeder (rene streptokokker), dels hurtig falle fra hverandre og danne for det meste diploformer. Som regel strekker streptokokkene seg før delingen så cellene blir ovale og etter delingen er døttrecellene ofte eggformete og flattrukte tvers på delingsretningen. Hvis veksten er livlig, er det mange langkjede former som ikke får tid til å strekke seg før delingen og danner da skiveformete segmenter eller dobbelt halvkuleform. I buljong danner de langkjedete bunnfall, som hurtig setter seg så væsken blir klar, mens de kortkjedete holder seg suspendert i lengere tid. Er kulturene svekket, blir kjedene ofte både korte og tynne. I melk blir aldri kjedene så lange. I det følgende vil forholdet i melk være avgjørende for kjedenes betegnelse. I agarstikk eller på gelatinplater kan cellene bli stavformet.

Under forutsetning av at næringssubstratet inneholder tilstrekkelige mengder aktivatorer, tilfredsstilles streptokokkenes kvelstoffkrav av ammoniumsalter, men det produseres mer syre hvis det ved siden finnes aminosyrer og da spesielt histidin og leusin. Dette forklarer at disse bakterier fremfor andre melkesyrebakterier trives så godt i melk. Her er både kvelstoff- og kullstoffkildene rikelige, og normalt er det også nok av de nødvendige aktivatorer, og det så meget mer som deres behov for disse siste, særlig for laktoflavin er relativt beskjedent. Hertil kommer at melkens normale surhetsgrad ligger nær deres optimale, pH ca. 6,5.

Streptokokkene danner alle d-melkesyre. De er imidlertid temmelig ømfintlige overfor større syre- og laktatkonsentrasjoner, og produserer derfor i melk ikke mer enn høyst 0,7-0,8 % syre beregnet som melkesyre, pH-verdien

synker sjelden under 4,2.

Streptokokkene er ikke særlig ømfintlige overfor koksalt. Først når konsentrasjonen overstiger 5 %, merkes en påtakelig tilbakegang i syredannelsen, som helt stanser ved ca. 10 %.

Mens som tidligere omtalt en kvelstoffomsetning neppe kan påvises i friske melkekulturer, stiller forholdet seg anderledes i eldre kulturer og når syren nøytraliseres. Ved autolyse frigjøres proteolytiske enzymer som angriper kaseinet. Kaseinspaltningssevnen er dog høyst forskjellig hos de ulike arter.

Streptokokkene danner en stor slekt og omfatter foruten overmåte viktige saprofyte- også noen patogene former.

Sc. lactis. *Sc. lactis* er den bakterie som helt dominerer i selv-syrnet melk. Delte meninger gjøres gjeldende med hensyn til hvorfra den egentlig stammer, da den er funnet både på planter og i tarmuttømmelser. Til tross for at den slett ikke regelmessig er særlig representert i fugjødse, så synes de fleste forskere dog å helle til den anskuelse at den på grunn av sitt nære slektskap med de alminnelige tarmstreptokokker må betraktes som en form av disse som i melken finner et miljø med de aller gunstigste utviklingsbetingelser. Når det på grunn av dens regelmessige forekomst i svinegjødse er hevdet at svinetarmen er dens naturlige oppholdssted, så er dette postulat uholdbart, da forutsetningen var at svinene ble foret med meieriavfall.

Sc. lactis forekommer i mange varianter som viser større eller mindre ulikheter så vel i morfologiske som i fysiologiske egenskaper. Holder vi oss til dens forhold i melk, så opptrer den her helt overveiende som diplokokker med svakt tilspissete celler, men under tiden også i korte kjeder. Med hensyn til dens temperaturkrav, vokser den alminneligst mellom 10 og 37° C, helst ved ca. 30°, danner syre mellom 7 og 40° med optimum 30-35°. Den dør ved 60-65°, unntagelsesvis noen grader herover.

Den inntar blant de ekte melkesyrebakterier en særstilling, idet den kan utvikle seg i peptonbuljong uten særskilt kullstoffkilde, men forgjærer ellers særlig lett alle heksosere, laktose og dekstrin, og som regel ikke sakkarose.

I melk dannes det maksimalt 0,8 % syre, derav 96-97 % er høyredreie-ende melkesyre, resten eddiksyre, myresyre og CO₂. Av den siste dog som regel ikke mer enn gassen absorberes av melken uten å gi "striper" i koagulet. Enkelte stammer skal kunne produsere acetylmetylkarbinol, men de er sjeldne.

Laktusmelk avfarges før koagulasjonen og rødfarges deretter fra overflaten. Den reduserer hurtig metylenblått.

Kaseinspaltningssevnen er høyst forskjellig, hos enkelte stammer lar

den seg neppe påvise, men som regel vil iflg. Barthel, som først (1914) påviste denne evne hos *Sc. lactis*, 10-20 % av kvelstoffet gå i oppløsning i en melkekrittkultur i løpet av 2 måneder ved 14-20°. Ved 36° er spaltningen meget mindre.

Som foran nevnt har man funnet flere varieteter, her skal kun nevnes en *Sc. lactis var. maltigenes* som fremkaller den eiendommelige "maltsmak" som under tiden syrevekkere og smør kan være beheftet med.

Streptococcus cremoris ble i 1890 av Storch påvist i fine kvaliteter av syrevekkere og syrnet smør, og kulturer av den kom derfor etter hånden i stor anvendelse som "fløtesyrningsbakterie". Den må betraktes som en kulturform, som i motsetning til *Sc. lactis* ikke hvor som helst forekommer i selvsyrnet melk.

Også av den er det funnet varieteter. Cellene er som regel kule- runde og opptrer i melk dels som diplokokker dels, og det langt hyppigere, i kjeder, ofte meget lange.

Under 10° vokser den langsomt og har tilbøyelighet til å bli slimdannende, ved 15° er veksten livlig, dens optimumstemperatur ligger ved 25-30° C, koagulerer ikke melk ved 39° C, er i det hele tatt mer varmeømfintlig enn *Sc. lactis*. I sin sukkergjæring skiller den seg også fra denne ved ikke å forgjære maltose eller dekstrin, og heri har man et temmelig sikkert middel til dens identifikasjon. Forgjærer ikke sakkarose. Gjæringen er temmelig ren, og det dannes i melk sjelden over 0,7 % syre. Enkelte stammer leverer acetylmetylkarbinol og merkbare mengder CO₂.

I lakmusmelk skiller den seg lite fra *Sc. lactis*, men reduserer metylenblått noe langsommere.

Dens kaseinspaltende evne er vekslende, men dog gjennomgående større enn hos noen av de andre streptokokker.

Den i tettmelk forekommende og av Sopp først studerte slimdannende *Sc. taette* anser Orla-Jensen som en varietet av *Sc. cremoris*. Den vokser godt selv ved lave temperaturer. Slimdannelsen er liten ved dyrking ved høyere temperaturer og forsvinner når syredannelsen har nådd sitt maksimum.

Streptococcus mastitidis (*Sc. agalactiae*) er den hyppigste årsak til jurbetennelse hos kyr, som forøvrig kan huse den i juret uten at det kan påvises klinisk. Den er ikke patogen overfor mennesker.

Den står i mange henseender *Sc. cremoris* nær, opptrer både i korte og lange kjeder (stakittformer). Vokser ikke under 15° eller over 40°, helst ved 37°. Drepes ved lavpasteurisering ved 70-72°. Fra *Sc. cremoris* skiller den seg blant annet ved at den i kaseinpeptonbuljong forgjærer sakkarose like godt som laktose. I melk produserer den ikke mer enn 0,5 % syre. Lakmusmelk

rødfarges før den koaguleres og etterpå avfarges den. Metylenblått reduseres meget langsomt eller slett ikke i løpet av et døgn. Kaseinspaltningsvevnen er meget svakere enn hos *Sc. cremoris*.

Streptococcus faecium (*Sc. faecalis*) er den melkesyrestreptokokk som alltid dominerer blant de "enterokokker" som alltid forekommer i menneskets feses. Også i kugjødse, særlig i kalvegjødse er den representert. Morfologisk skiller den seg lite fra *Sc. lactis*. Den vokser dog ved noe lavere temperaturer og like opptil 50°, og mange stammer overstår en oppvarming til 70°, men ikke en høypasteurisering, henregnes derfor til de termoresistente arter. Med hensyn til evnen til å utnytte forskjellige kullstoffkilder, skiller den seg også fra *Sc. lactis*: produserer dog i melk sjelden mer enn 0,6 % syre. Den er derimot en dårlig kaseinspalter.

Streptococcus glycerinaseus er en *Sc. lactis* og *Sc. faecium* nærstående art som av flere forskere nærmest betraktes som en varietet av *Sc. faecium* med spesiell evne til å forgjære glyserin og andre alkoholer. Da den kun sparsomt forekommer i kugjødse og sjelden påtreffes i melk er det bemerkelsesverdige at den jevnlig opptrer i ost, sannsynligvis fordi den begunstiges i sin utvikling av den glyserin som her dannes ved fettets spaltning.

Streptococcus bovis er den hyppigste streptokokk i kugjødse. I melk vokser den i kortere kjeder med tykke kapsler. Trives ikke under 20°, best ved 35° og ikke over 40°, klarer ikke 65°. I sin evne til å forgjære forskjellige kullstoffkilder viser den en mindre variasjonsbredde og et mer konstant gjæringssymbol enn *Sc. lactis* og *Sc. faecium*. I lakmusmelk forholder den seg omtrent som *Sc. lactis*. Kaseinspaltningen er betydelig, den står her helt på høyde med *Sc. lactis* og *Sc. cremoris*.

Streptococcus inulinaseus står i nært slektskap med *Sc. bovis*, men mangler kaseinspaltningsvevnen. Den skal særlig forekomme i kuas munn, og det er da forklarlig at den regelmessig gjenfinnes i gjødselen.

Streptococcus thermophilus tilhører også menneskets og kuas endemiske mikroflora, men trer sterkt tilbake for de foran nevnte arter. I melk vokser den alt etter temperaturen som diplokokker eller kortere eller lengere kjeder, på kunstig substrat er formene meget vekslende. Den vokser langsomt ved alminnelig værelsestemperatur, hurtigst ved 40-45°, atter langsommere ved 50°, men drepes først ved 80°. Den forgjærer hverken alkoholer eller polysakkarider, produserer i melk 0,8 % syre. Den spalter ikke kasein. I lakmusmelk forholder den seg som *Sc. cremoris*, rødfarger melken før koagulasjonen, avfarger den etterpå. Som termofil bakterie overstår den en lavpasteurisering, men neppe høypasteurisering. Den spiller en meget viktig rolle ved fremstillingen av de høyt ettervarmede ostesorter, både surmelks- og løpeoster.

Streptococcus liquefaciens forekommer i gjødsel og ofte som "jurkokk". Morfologisk ligner den *Sc. lactis*, fysiologisk står den *Sc. glycerinaceus* meget nær, men atskiller seg fra begge ved å sezernere et proteolytisk enzym og smelte gelatin (ble derfor tidligere kalt "smeltende Güntheri"). Den inntar derfor en særstilling blant de ekte melkesyrebakterier og tilhører for så vidt tetrakokkenes gruppe av de uekte melkesyrebakterier, men sin stilling i systematikken skyldes det forhold at den ikke har katalase.

Vokser ved relativt lave temperaturer, overstår 60° i 30 min., men ikke lavpasteurisering ved $70-72^{\circ}$. Melken koagulerer allerede ved 0,3 % syre som følge av en kombinert syre- og løpevirkning, men syrningen fortsetter til det er dannet 0,7 % syre. Det dannes atskillig flyktige syrer. Kaseinspaltningen er ualminnelig sterk og ledsages av en bitter smak.

Termobakteriene (Tbm).

Lenne slekt omfatter utpregete langstaver som hyppig vokser i lange tråder. I vannpreparater kan de enkelte celler vanskelig iakttas, derimot lett i kanadabalsam. Da de er anaerobe er overflatekoloniene meget små, høyst 0,5 mm i diameter og med takket rand. Dybdekoloniene er også små og har uregelmessig formete utløpere. I strekkulturer antar ofte cellene merkelige involusjonsformer. Enkelte arter er karakteristiske ved at cellene jevnlig inneholder volutinkorn, hvis antall synes å stå i forbindelse med rikelig tilgang på kullstoff- og fosforholdig næring.

Sitt navn har slekten fått fordi de vokser og forgjærer kraftigst ved relativt høy temperatur. Under 20° vokser de dårlig, best omkring 40° , atter dårlig omkring 50° , men drepes først ved ca. 75° . Sin kraftigste vekst har de ved pH 6,0.

De forgjærer regelmessig heksoser og laktoser, enkelte arter også sakkarose og dekstrin, slett ikke pentoser og alkoholer. Forøvrig beror forgjøringen meget på kvelstoffnæringen, og med hensyn til denne er termobakteriene de mest fordringsfulle av alle ekte melkesyrebakterier. De krever cystein, tyrosin, lysin, histidin, arginin, glutaminsyre, asparagin og kreatin. Foruten bios krever de betydelige mengder laktoflavin.

Kullhydratene forgjæres til venstre- eller inaktiv melkesyre, litt eddiksyre og under tiden spor av kulldioksyd. Det dannes som regel 1-2 % syre. Kaseinspaltningen er meget betydelig.

Thermobacterium lactis (*Lactobacillus lactis*) er den art som alminnelig forekommer i melken om enn aldri i påfallende mengder og dette er forklarlig, da den kun forekommer i rent underordnet mengde i kugjødsel, hvorfra den må antas å stamme. Henstilles melken imidlertid ved $40-50^{\circ}$ vil den når

de termofile streptokokker har hevet surhetsgraden til dens optimum, hurtig komme til utvikling og ved gjentatte omplantninger ved 40° blir den enerådende. Den vokser langsomt ved 20°, best ved 38-40° og selv ved 51° kan det være vekst. Den forgjærer konstant glukose, mannose, galaktose og laktose, inkonstant lavulose, sakkarose, maltose, dekstrin og salisin og danner i melk ved 38° alminnelig ca. 1,5 %, men ikke 2 % venstre-melkesyre.

Kaseinspaltningsevnen er meget betydelig. I krittmeik ved 38° fant Pjeturson for 5 stammer i løpet av 30 dager at 10-16 % av total-kvelstoffet var gått i oppløsning og nesten alt var avbygget til aminosyrer. Dens proteolytiske enzymer er virksomme selv ved 10-12°.

Med sin termotoleranse, sterke syredannelse og dype proteolyse er det forklarlig at den spiller en overordentlig viktig rolle i schweitzerost-ystringen, og at den lett lar seg isolere fra mysen og unge oster.

Imidlertid kan den forekomme i mange typer, derom vitner de mange variasjoner som er påvist i den inkonstante del av gjæringssymbolet. En art som således står den meget nær er

Thermobacterium helveticum (*Bacillus casei epsilon*) der som navnet antyder opptrer i den ekte schweitzerost. Den hører hjemme i kalvemagen så lenge kalven får melk og finnes derfor i kalvegjødsel, men ikke i eldre kuers gjødsel. Ved bruk av naturløpe er det derfor rimelig at den gjenfinnes i osten. Den synes også å være en art som hører hjemme i alpelandene.

Med hensyn til dens egenskaper, skiller den seg fra *Tbm. lactis* vesentlig ved at koloniene er mer "grovkrystallinske", cellene noe bredere og av mer vekslende lengde samt sterkt lysbrytende. Optimumstemperaturen for vekst er litt høyere, 38-42° og den vokser ikke ved 51°. Den danner derimot mest syre ved 38°, men nær like meget ved 30°, nemlig minst 2 og oppimot 3 % inaktiv melkesyre. Den er således en meget kraftig syredanner. Forgjærer de samme sukkerarter som *Tbm. lactis*, dog ikke sakkarose. Kaseinspaltningsevnen er vel så stor som hos *Tbm. lactis*.

Thermobacterium intestinale (*Bacillus acidophilus*) hører til de viktigste stavformete melkesyrebakterier i menneskets tarmkanal, og finnes også i rikelige mengder i kalvegjødsel så lenge kalven får melk. Den står *Tbm. lactis* så nær at disse to arter lett kan forveksles, men den skiller seg distinkt fra denne ved å danne inaktiv melkesyre.

Den står forøvrig i nært slektskap også til andre melkesyrestaver bl.a. de odontologiske og vaginale.

I melk forekommer den selvfølgelig sjelden eller aldri, den må isoleres fra fæces. Den er for så vidt av liten meieriteknisk interesse, men når

den allikevel er tatt med, er det fordi den har fått anvendelse i melkediet-
ikken som surmelkspreparat under navn av "acidofilusmelk". Den aktiveres
sterkt av tarmsekreter og utvikler seg livlig i melken ved dens naturlige pH.

I denne forbindelse må også nevnes

Thermobacterium bulgaricum og Tbm. jugurt som er karakteristiske for
de orientaske surmelkstyper. De forekommer ikke i menneskets fæces selv ved
rikelig nytelse av surmelk, de går til grunne i tarmkanalen. De forgjærer
ikke så mange sukkerarter som Tbm. intestinale og leverer henholdsvis venstre-
og inaktiv melkesyre. Det gjelder forøvrig for alle disse tre arter at de
er lunefulle med hensyn til å kunne forgjære forskjellige kullhydrater, fordi
gjæringsevnen avhenger av de forhåndenværende kullstofforbindelser og alko-
holer.

Streptobakteriene (Sbm).

Disse stavformer har fått sitt navn fordi de gjerne danner lange
kjeder i samme former som streptokokkene. På fast næringssubstrat er koloni-
ene av vekslende størrelse, men glattrannete. Cellene er gjerne 3-5 my lange
og knapt 1 my brede, men under visse forhold meget kortere, så de lett kan
forveksles med kokker.

Temperaturkrav: Minimum ca. 10°, optimum 30°, maksimum 38-40°, dre-
pes ved 65-75°.

De forgjærer nesten alle de vanlige kullstofforbindelser og danner
dels høyre dels inaktiv melkesyre. De er også fordringsløse m.h.t. kvelstoff,
de klarer seg med ammoniakksalter og cystein, men kreatin og glutaminsyre kan
være nyttig. Den aller gunstigste kvelstoffkilde er gjærekstrakt og det er
forklarlig da de krever både laktoflavin og pantotensyre. Kaseinspaltnings-
evnen er vekslende.

Streptobacterium casei (Bac. casei alfa, Lactobac. casei) mangler
aldri i melken og stammer fra kugjødse, som særlig inneholder rikelige meng-
der ved fôring med rotfrukter og surfôr. Den trives godt i melk, men vokser
noe langsomt. Ved melkens selvsyrning avløser den streptokokkene, idet den
danner opptil 1,5 % d-melkesyre. Det er forøvrig bemerkelsesverdig at den
først danner litt inaktiv- og senere d-melkesyre. Den spalter kraftig kasein
ned til aminosyrer og står i så henseende på høyde med termobakteriene, og
spaltningen er betydelig selv ved lavere temperaturer. Dette i forbindelse
med at den tåler opptil 6 % koksalt, gjør det forståelig at den er den viktig-
ste eggehvitespalter i ost, hvor den aldri mangler og derfor lett isoleres
fra hvilken som helst ost.

Streptobacterium plantarum er en utpreget plantebakterie som gjen-

nom gjødselen kommer i melken. Den gjør seg imidlertid her lite gjeldende, den syrner meget langsomt, da melkens eggehvite er dårlig kvelstoffkilde. Den spalter da heller ikke kasein.

2. gruppe. De heterofermentative slekter

omfatter arter som ved siden av melkesyre leverer betydelige mengder av bi-produkter, både fete syrer og gass.

Betabakteriene (Bbm.)

har sitt navn fordi de så hyppig finnes på beten. De forekommer på grønne og gjærede plantematerialer, i surdeig, sure poteter og surkål. Da de passerer tarmkanalen, finnes de igjen i all slags fæces, og fra formidler og gjødsel kommer de i melken. De forekommer både som kokker og staver. For alle er det karakteristisk at nedbrytningen av kullstoffkildene skjer ved en blandet alkohol og melkesyregjæring, idet kullhydratene over metylglyoksal spaltes dels over acetaldehyd til alkohol og kullsyre, dels til melkesyre, som igjen for en del, over pyrodruesyre, omleires i eddiksyre og kullsyre. Gjæringsproduktene er altså melkesyre, eddiksyre, alkohol og kullsyre. Mengdeforholdet mellom melkesyren og de flyktige syrer er vekslende, ikke alene hos de enkelte arter, men også for en og samme art, fordi melkesyren i gjæringens forløp minker og eddiksyren øker. Imidlertid er det for så vidt forskjell i gjæringen som kokkene leverer venstre-, stavene inaktiv melkesyre.

Betabakteriene er med hensyn til forgjæringen av de forskjellige kullstoffkilder langt mer variable enn de homofermentative slekter, og de utmerker seg ved i høyere grad enn de sistnevnte ved å kunne utnytte pentoser, hvilket er forklarlig da de deltar i nedbrytningen av alle slags planterester. I rørsukkergelatin produserer betakokker hyppig meget slim.

I melken trives de gjennomgående dårlig, antagelig fordi eggehvitestoffene ikke passer dem som kvelstoffkilde, og melken ikke inneholder de nødvendige aktivatorer i tilstrekkelig mengde, et bevis for det siste ligger i at en tilsetning av gjær- eller planteekstrakter stimulerer sterkt både vekst og gjæring. De spalter slett ikke, eller nesten ikke kasein.

Kun få arter er derfor av meieriteknisk interesse.

Betacoccus cremoris spiller en viktig rolle som aromadanner ved syring av melk og fløte. Arten omfatter flere former. Morfologisk skiller disse seg lite fra streptokokkene. De vokser best ved 25-30°, dårlig ved 40°, og har sitt gjæringsoptimum ved pH 5,8. Av de alminnelige sukkerarter forgjærer de ikke mannose og maltose og kun unntagelsesvis sakkarose, slett ikke pentoser og polysakkarider. Det dannes venstre-melkesyre og betydelige mengder flyktige syrer (eddiksyre og myresyre) og kullsyre samt litt alkohol.

I melk vokser de gjennomgående dårlig og formår ikke å koagulere den, men som foran nevnt vil selv en liten tilsetning av gjærautolysat bevirke at det dannes opptil 1 % syre. Men ikke nok hermed, det dannes ved siden av de foran nevnte gjæringsprodukter også acetylmetylkarbinol, moderforbindelsen for det aromatiske diacetyl. Årsaken hertil er den at ved en tilstrekkelig surhetsgrad pH 4,0-4,5 inntreder det en modifikasjon i gjæringsprosessen som skyldes citronsyren og Ca-ionene i melken. Prosessens forløp er ennå ikke klarlagt, men grunnsubstansen for aromastoffene er antagelig pyrodruesyre som opptrer som mellomprodukt ved sukkerets forgjæring. De forhold som forøvrig spiller inn ved aromadannelsen er nærmere omtalt i teknologien under "syrningsteknikk".

En form av *Betacoccus cremoris* er Bc. paracitrovorus.

De stavformete arter - Betabacterium i engere forstand - forekommer i mange varieteter både som korte og lange staver. De vokser vel så godt ved 40° som ved 20-30° og overstår til dels en oppvarming til 75°. De vokser dårlig i melk, formår først etter lang tid å produsere så meget syre at melken koagulerer. De danner inaktiv melkesyre, hyppig med et overskudd av d- eller l-melkesyre. I likhet med betakokkene produserer de aromastoffer. De spalter ikke kasein. Her skal kun nevnes:

Bbm. breve og Bbm. longum som forekommer i ost (Emmentaler, Skyr) da de fremfor andre melkesyrebakterier kan utnytte kalklaktat som kullstoffkilde, samt Bbm. caucasicum som sammen med *Sbm. casei* og gjær finnes i kefir-korn. I renkultur vokser den nesten ikke i melk, men sammen med gjæren leverer den inntil 1,5 % syre.

Bifidobakteriene (Bf.).

Bacterium bifidum har en uregelmessig celleform, ofte med forgrening hvorav dens navn. Den er den hyppigst forekommende melkesyrestav i menneskets tarmkanal, ikke alene hos diebarn, men også hos voksne som daglig nyter melk. Den er derfor lett å isolere fra fæces. Frisk isolert er den anaerob, men tilvennes lett å vegetere aerobt. Vekstgrensene er 20-45°, best vokser den ved 32-38°, drepes ved 60°. I gjæringsevne ligner den betakokkene, men forgjæringen av sakkarose er avhengig av N-kilden, og her står pepsinfordøyet kasein foran alle andre. Merkelig nok liker den ikke gjærautolysat. Den danner d-melkesyre og store mengder flyktige syrer dog ikke CO₂. I melk danner den opptil 1,5 % syre, hvorav 25-50 % er flyktige. Spalter ikke kasein. Den har ingen meieriteknisk betydning.

2. Uekte melkesyrebakterier.

Disse skiller seg fra de ekte både ved å ha katalase og således spalter vannstoffperoksyd, og ved å redusere nitrater til nitriter. Melkesyregjæringen er meget uren, det dannes meget eddiksyre og til dels betydelige mengder gass. De er sporeløse.

I naturen forekommer de alltid sammen med de ekte, og vegeterer på alle lett spaltbare, så vel vegetabiliske som animalske materialer, således på planter, i jord, i vann og i faste ekskrementer fra mennesker og dyr.

Orla-Jensen skiller dem i to hovedgrupper.

1. Slechter som stiller lignende ernæringskrav som de ekte, i det hele tatt i mange henseender står disse meget nær. Hertil hører de kuleformede tetrakokker og stavformede mikrobakterier.
2. Slechter som nøyer seg med ammoniakksalter og i regelen danner mer eller mindre kullsyre og vannstoff. Hertil hører koli- og aerogenesbakteriene.

1. gruppe.

Tetrakokkene (Tc.).

De kuleformede bakterier kalles med et fellesnavn mikrokokker. Alt etter delingsplanets retning i forhold til modercellens vil de under veksten kunne opptre i forskjellige vekstforbund og deretter betegnes de som streptokokker, tetrakokker, sarcina og stafylokokker. Nå er forholdet at en mikrokokk som i alminnelighet kun opptrer i ett av disse vekstforbund under tiden også kan opptre i andre. Dette gjelder i utpreget grad tetrakokkene og sarcina. Følgen herav er at det kan være umulig etter det morfologiske utseende bestemt å kunne avgjøre hvilken art man har for seg. Da hertil kommer at det heller ikke er noen utpreget forskjell i biologisk henseende, mener Orla-Jensen at man bør benytte betegnelsen tetrakokker som fellesnavn.

Mikrokokkene er overmåte utbredt i naturen, men kun en liten brøkdel av dem er melkesyrebakterier som har interesse for meieribruket. Det er da fortrinnsvis disse siste som her kommer i betraktning under betegnelsen tetrakokker.

Disse skriver seg fra kugjædsel, men da de også finnes i melken i juret ("jurkokker") er det fra disse kilder de kommer i melken.

Tetrakokkene er grampositive, mer eller mindre aerobe, det beror meget på tilgangen av sukker. Er sukker til stede, vokser de godt som dybdekolonier, er det mangel på det, er overflatevekst mer utpreget. Overflatekoloniene utmerker seg ved sine farger, som kan variere fra hvit, grå, gullig til rød-brunlig. Ikke bare for den enkelte art, men også innenfor arten veksler fargen, som synes å være uavhengig av kvelstoffnæringen. Tetrakokkene er spore-

løse.

De tåler oppvarming til 70-75°, optimaltemperaturen ligger omkring 30°, men de vokser og utfolder sine livsfunksjoner mellom 15 og 40°, ja enkelte endog ved temperaturer nær 0°.

En del av dem smelter gelatin.

Deres evne til å forgjære forskjellige sukkerarter er høyst forskjellig, og i motsetning til streptokokkene er det vanskelig på grunnlag av denne evne å identifisere de enkelte arter. De leverer hyppigst d-melkesyre, men er gjennomgående svake syredannere, dog finnes alle avskygninger fra sterke til ikke-syredannere. De første er som regel grampositive og står de ekte melkesyrebakterier nærmere enn de siste, som er gramnegative. Orla-Jensen sier derfor at de riktigst burde stilles i to slekter. Melkesyregjæringen er høyst uren, det dannes temmelig meget eddiksyre, særlig gjelder dette de mer aerobe. Da de til dels kan forbrenne de syrer de danner til kullsyre og vann, forklarer kanskje dette at syreprosenten blir liten. Koagulerer de melken, skjer dette ovenfra nedover. Koagulasjonen skyldes dog som regel ikke bare syredannelsen, men vel så meget at tetrakokkene er utstyrt med proteolytiske enzymer, som både virker koagulerende og til dels også kaseinspaltende. Gorini som først påviste deres forekomst i melken i juret kalte dem derfor for "acid-proteolytiske" eller "syre- og løpedannende" kokker.

Eks. på en acid-proteolytts kaseinspaltning avhengighet av surhetsgrad og temperatur gir Diethelm:

30°	
pH	Spaltnings-%
6,87	95
6,58	100
6,30	92
5,45	42
4,78	18

pH 6,6	
°C.	Spaltnings-%
4	30
20	85
30	100
37	78
45	45

Enkelte forgjærer med forkjærighet glyserin, og da de samtidig tåler temmelig meget salt, gir dette forklaring på at de hyppig forekommer i ost. Likeledes tåler de høye konsentrasjoner av sukker, derfor kan de også holde seg i live i kondensert sukret melk.

Av de mange arter skal her særlig fremheves:

Tetracoccus liquefaciens som kan utgjøre en ganske betydelig del av mikrofloraen i kvegjødsel og derfor gjenfinnes i melk og i visse ostesorter. Celleforbundene er vekslende fra diplo- til sarcina-former. Den viser også variabilitet i kolonienes utseende og farge (hvit til gul). Den smelter gelatin. Ved temperaturer under 15° vokser den hurtigere enn andre melkesyre-

bakterier og utvikler seg bl.a. hurtig i melk som henstilles til langsom avkjøling. Vokser forøvrig best ved ca. 30°.

Den forgjærer foruten de alminnelige sukkerarter også kalklaktater og glyserin (men ikke pentoser) og danner d-melkesyre og eddiksyre, men ikke gass. Syreproduksjonen er liten, sjelden over 0,3 %. Når den allikevel koagulerer melk, skyldes dette et trypsinlignende ektoenzym. Kaseinspaltningen er derfor stor, opptil 75 % av kvelstoffet kan gå i oppløsning, og det dannes 16-20 % aminokvelstoff. Det er derfor forklarlig at den forekommer i ost, og i enkelte ostesorter - særlig de bløte - spiller en betydningsfull rolle som ostemodner (Tilsitter- og Limburgerost).

Som allerede nevnt finnes i alle fall en del av tetrakokkene regelmessig i juret. Her forekommer under tiden også kokker som kan forårsake betendelser, og som morfologisk skiller seg lite fra *Tc. liquef.* Orla-Jensen mener dog at de må stilles i en klasse for seg. Mest kjent av disse er: Tetracoccus mastitidis, som antagelig er årsaken til den såkalte stafylokokk-mastitt.

Mikrobakteriene (Mbm).

Dette slektsnavn har Orla-Jensen gitt en gruppe stavbakterier som forekommer i melk og som er påfallende små, kun 0,3-1 μ lange. Allerede i 1903 ble Burri oppmerksom på dem ved sine undersøkelser av pasteurisert melk og kalte dem "varmeresistente kortstaver". Både i overflatevekst og fysiologiske egenskaper står de tetrakokkene nær. Flere sorter hvorav her kun skal nevnes:

Microbacterium lacticum som forekommer i kugjødse, om enn i underordnet mengde.

I platekulturer danner den ytterst små hvite til grønnlig-gule kolonier (pin-point). Vokser mellom 5 og 37°, best ved 28-30° og er karakteristiske ved å tåle en oppvarming til 80-85°, like til 20 min. Den forgjærer nær sagt alle kullhydrater, men er en svak syredanner. I melk dannes ikke mer enn høyst 0,4 % d-melkesyre, og koagulerer den ved 30° først etter flere døgn. Sammen med de alminnelige streptokokker blir den hurtig undertrykt, da den ikke vokser ved lavere pH enn 6,6. På grunn av sin varmeresistens forekommer den i frisk høypasteurisert melk. Kaseinspaltningssevnen er ganske betydelig, men spaltningen går ikke dypt. Det er å legge merke til at den ikke reduserer metylenblått.

2. gruppe.

Denne gruppe omfatter flere slekter og innen disse en mangfoldighet av arter og varieteter. Bergey oppstiller følgende slekter: 1. *Bscherichia*

(Kolibakterier), 2. *Aerobacter* (*Aerogenes*bakterier), 3. *Salmonella* og 4. *Eberthella*. De to første er saprofyter og forekommer nær sagt alltid i melk og er således av meieriteknisk interesse, de to siste omfatter de patogene paratyfus- og tyfusbakterier, som kun ved smitte fra syke personer leilighetsvis kan finnes i melk og melkeprodukter. Imidlertid forekommer det overgangsformer så det blant kolibakteriene kan finnes stammer som kan bli patogene og forårsake sykdommer av epidemilignende karakter.

Koli-aerogenesbakteriene er overordentlig sterkt utbredte i naturen, hvor de deltar i nedbrytningen av vegetabiliske materialer. Men det er karakteristisk for dem at de også kan dekke sitt kvelstoffbehov med uorganiske forbindelser, ammoniaksalter og nitrater, og er uavhengig av tilgang på laktose og bios. De kan mer eller mindre lett utnytte de forskjelligste kullhydrater, pentoser dog i begrenset utvalg. De er sporeløse, gramnegative stavformer, som slett ikke eller kun meget langsomt smelter gelatin.

Det er videre karakteristisk at de har en merkelig evne til å produsere nye enzymer når de blir henvist til energikilder hvis utnyttelse forutsetter dannelsen av sådanne.

Kolibakteriene.

Den art som regnes som den mest typiske er

Bacterium coli commune som ble funnet av Escherich 1886, og som utgjør hovedmassen av bakteriene så vel i menneskers som dyrs tarmkanal, og det er da også ved gjødselsmitte den kommer i melken. Celleformen varierer etter næringsbunden og alderen, fra oval til kortstav, mest det siste. Sjelden vokser den i kjeder, hyppigst enkeltvis eller parvis. Cellene er utstyrt med peritriche cilier i varierende antall, men bevegelseevnen er kun utpreget i ganske friske kulturer, ikke i 24-48 timer gamle. De vokser godt i de vanlige kunstige næringssubstrater og best ved rikelig lufttilgang. Under anaerobe forhold krever de sukkerarter eller andre forbindelser som lett avgir surstoff. På buljongagar og -gelatin varierer kolonienes utseende både i størrelse og form, men er hyppigst flate med lappet rand.

Veksten er langsom ved 10°, livligst ved 37°, opphører ved 45-50° og de tåler i alminnelighet neppe 60°, selv om det nok også er påvist stammer som kan tåle en kortvarig oppvarming til høyere temperaturer.

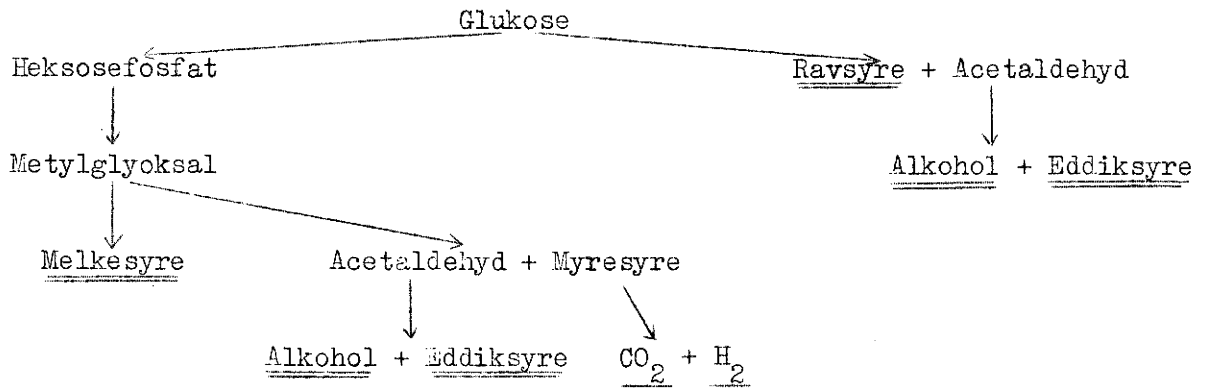
I de mangfoldige varieteter hvori kolibakteriene opptrer, er det ganske rimelig at de også i sine fysiologiske egenskaper kan vise store uregelmessigheter, og dette gjør seg ikke minst gjeldende med hensyn til deres forgjæring av sukkerartene. Mens alle typer med letthet forgjærer glykose, kan enkelte vanskelig utnytte sakkrose, ja under tiden også laktose. Det

dannes l-melkesyre.

Avbyggingen av suktermolekylet kan være meget komplisert. I flere henseender minner den om den heterofermentative melkesyregjæring hos betabakteriene, men ved siden av melkesyre og eddiksyre dannes betydelige mengder andre lavere fettsyrer, alkohol og spesielt meget CO_2 og H_2 . De første undersøkelser over gjæringen ledet til at den ble sidestillet med alkoholgjæringen, men etter hvert ble det bragt på det rene at gjæringen ikke er så enkel, idet det ble påvist at det blant gjæringsproduktene også forekom både ravsyre og myresyre, og at ikke alene gassmengden, men også forholdet $\text{CO}_2:\text{H}_2$ kunne være meget vekslende. Forskjellige oppfatninger av gjæringsmekanismen har derfor gjort seg gjeldende, men det ser ut som en har med 4 typer av gjæringer å gjøre, nemlig:

1. Ravsyregjæring av ikke fosforylert sukker.
2. Melkesyregjæring.
3. Alkoholgjæring.
4. Myresyregjæring med delvis spaltning i kullsyre og vannstoff.

Virtanen oppetiller følgende skjema:



Som eksempel på en koligjæring angir Kluyver: Av den forgjærte glukose dannes:

Melkesyre	42,4 %	Etylalkohol	11,0 %
Ravsyre	20,2 %	CO_2	10,7 %
Eddiksyre	14,3 %	H_2	<u>0,5 %</u>
Myresyre	0,6 %		<u>99,7 %</u>

Imidlertid har både Virtanen og Sjøstrøm vist at kolibakteriene under aerobe forhold også forgjærer (oksyderer) melkesyre (laktater) under dannelse av eddiksyre og kullsyre. Da kolibakteriene er fakultativt aerobe, vil derfor gjæringsforløpet stille seg forskjellig alt etter tilgangen på luft. Følgen herav er at under aerobe forhold dannes mindre melkesyre og mer eddiksyre samtidig som mengdene av CO_2 og H_2 også blir andre enn under anaerobe for-

hold. Forøvrig forgjæres sukkeret hurtigst ved rikelig lufttilgang, og ved lave temperaturer dannes mer melkesyre enn ved bakterienes optimaltemperatur. Som regel dannes det mer H_2 enn CO_2 .

I betraktning av at kolitypene er mange, at deres evne til å forgjære kullhydrater er vekslende og gjæringsforløpet avhenger av temperatur, lufttilgang, H-ionekonsentrasjon og N-næring, er det forklarlig at det innbyrdes mengdeforhold hvori gjæringsproduktene dannes, kan by på store variasjoner.

Enkelte saprofyte former som hører hjemme i den livløse natur (græskoli) utvikler seg dårlig i melken, og selv blant de normale tarmkoli er det typer som ikke formår å koagulere melken, da allerede 0,1-0,2 % beregnet melkesyre begynner å virke hemmende på deres utvikling, og selv typer som er mindre ømfintlige, danner kun 0,4-0,5 %, høyst 0,7 % syre, og pH synker sjelden under 4,8.

Gassproduksjonen kan da også være høyst forskjellig. Hvis syredannelsen ikke fører til melkens koagulasjon kan den ofte slett ikke merkes, så meget mer som kullsyren jo er noe oppløselig i vann og adsorberes til kolloidale partikler, og vannstoffet kan tenkes å bindes ved intramolekylære reaksjoner. Hvis det derimot inntreffer koagulasjon, kan koagulet bli blæret, under tiden meget sterkt opprevet.

Gassproduksjonen er forøvrig bundet til veksten og ytrer seg sterkest når denne er på det livligste.

Det har i alminnelighet vært hevdet at kolibakteriene ikke fremkaller noen proteolyse i melk, idet denne kun inntreffer ved alkalisk eller i alle fall svakt sur reaksjon. Staffe har imidlertid påvist at de typer som er svake syredannende kan proteolysere melken, om enn meget langsomt. I melkens utseende kan den ikke merkes, men nok i lukt og smak. I løpet av lengere tid blir smaken motbydelig bitter og rått. Den kvalme smak som ellers ledsager enhver koligjæring i melk skriver seg dog vel så meget fra ravsyren. I sukkerfritt substrat er proteolysen meget dyptgående, idet det kan dannes indol, skatol og merkaptaner. I den såkalte "indolprøve" har man et middel til å identifisere kolibakteriene.

Som foran nevnt forekommer det avarter av kolibakteriene som kan gi årsak til forskjellige tarmsykdommer og som må antas å være overgangsformer til de patogene paratyfus- og tyfus-bakterier. Disse blir nærmere behandlet i forelesningene om melkehygiene.

Aerogenesbakteriene.

Disse er sterkt utbredt i naturen i jord, på planter og i overflatevann. Selv om de som regel ikke savnes i gjødsel floraen, så inntar de her en tilbake trukket stilling i forhold til kolibakteriene, og deres forekomst i

melken skyldes overveiende infeksjon fra dårlig drikkevann i fjøset eller hyppigst mangelfull rengjøring av melkeredskapene. Også av disse bakteriene finnes det flere arter. Den mest alminnelige er

Bacterium lactis aerogenes en stavform 0,5-1 my bred og 1-2 my lang. Den er ubevegelig, danner på faste næringssubstrater dråpelignende ofte halvkuleformete, hvite, glinsende kolonier, og smelter ikke gelatin. Den er sterkt luftelskende, men kan også vokse under anaerobe forhold. Fysiologisk skiller den seg lite fra kolibakteriene, forgjærer de samme kullhydrater, men tillike både glyserin og citronsyre. Gjæringsmekanismen er meget uklar, men foruten melkesyre, eddiksyre, alkohol, CO_2 og H_2 dannes også acetylmetylkarbinol ($\text{CH}_3\text{COCHOHCH}_3$), og dettes oksidasjonsprodukt diacetyl ($\text{CH}_3\text{COCOCH}_3$) og reduksjonsprodukt butylenglykol ($\text{CH}_3\text{CHOHCHOHCH}_3$). Derimot er det tvilsomt om den som kolibakteriene danner ravsyre.

Temperaturgrensen for vekst er litt rommeligere enn hos koli, vokser således ved litt lavere temperaturer og klarer også litt høyere, men optimaltemperaturen er $37-38^\circ$.

Man kan forøvrig skille mellom to typer. Den førstes overflatekolonier er sterkt trådtrekkende og kan gjøre melkens fløtelag slimet, og hvis melken tilsettes kritt, blir hele melken slimet. Denne type produserer som regel ikke så pass syre at melken koagulerer.

Den annen type har mindre opphøyete kolonier, er lite eller ikke slimdannende og gir opptil 0,5 % syre, så melken koagulerer, og på grunn av den samtidige sterke gassdannelse, blir koagulet voldsomt opprevet og blæret.

Ingen av typene spalter kasein.

En annen aerogenesart er Bacterium cloacæ, en tarmbakterie som infiserer melken ved dennes tilblending av vann forurenset av fæces. Den er bevegelig. Koloniene på gelatin er ikke særlig karakteristiske, men smelter langsomt gelatinen. Heldigvis forekommer den sjelden i melken, og da laktosen er den en måtelig kullstoffkilde er syredannelsen så langsom at koagulasjonen først inntreffer etter mer enn en ukes forløp, likesom det dannes lite gass. Koagulet oppløses etter hånden og det dannes rene forråtnelsesprodukter som lukter ille.

Til denne gruppe hører antagelig den av Gerda Troili Petterson beskrevne Bacterium glycerini som skal forekomme i svensk herregårdsost, og som ved glyserinforgjæring danner gass.

En stilling mellom koli- og aerogenesbakteriene inntar Hueppes Bacterium acidi lactici som alltid finnes i de øvre lag av selvsyrnet melk og lenge var ansett som den alminnelige surmelksbakterie.

Det vil meget ofte være helt ugjørlig uten inngående undersøkelser

å identifisere en koli- eller aerogenesbakterie. En veiledning vil en få ved i kulturen å forsøke visse reaksjoner, således "indolprøven" som er bygget på kolibakterienes evne til i peptonbuljong å danne indol, "citratprøven" som er bygget på aerogenesbakterienes evne til å forgjære citronsyre, Voges - Proskauers reaksjon på acetylmetylkarbinol.

	Indolprøven	Kosers citratprøve	Voges-Proskauers prøve	Gelatin-smelting
Bact. coli	+	-	-	-
Bact. aerogenes	-	+	+	-
Bact. cloacae	-	+	+	+

Som foran nevnt reduserer de uekte melkesyrebakterier nitater til nitritter. Tilsettes en kultur salpeter, 0,05 % er tilstrekkelig, produseres det ikke gass. Forklaring herav er det delte meninger om, men antagelig må metylglyksalets delvise omdannelse i acetaldehyd og myresyre elimineres. Det er også mulighet for at gjæringsvannstoffet reagerer med det ved salpeterets reduksjon intermediært dannede surstoff Henneberg har festet oppmerksomheten ved at nitritt virker giftig på bakteriene, men da gassdannelsen uteblir ved langt mindre nitratkonsentrasjoner enn de som virker giftig, er denne forklaring ikke tilfredsstillende.

Den store variabilitet hos koli-aerogenesbakteriene ytrer seg også ved de mange slags smaks- og luktstoffer som de kan fremkalle i melk. I begynnelsen er lukten og smaken helt forskjellig fra den som kommer senere, så en kan nære tvil om hvor vidt det er de samme bakterier en har å gjøre med. Melken blir først lett syrlig med en eiendommelig forfriskende smak, slett ikke ubehagelig, tvert om aromatisk, men etter hånden blir melken kvalm, vammel, søtaktig med all slags bismak, som fjøssmak, harsk, besk, smak av kål, kløver, surkål etc.

Årsaken antas å ligge i forandring av voksestedet, fra det ene til det annet fører bakteriene med seg evnen til å kunne danne karakteristiske lukte- og smaksstoffer. Weigmann, som særlig har studert disse forhold og hans iakttagelser er bekreftet av andre, mener å ha bevis herfor, deri at visse bakteriearter med utpreget smaks- og luktseiendommeligheter, mister disse ved omplantning på kunstige substrater, men atter antar dem så snart de føres tilbake på naturlige. Når det nå erindres at koli-aerogenesbakteriene er tarmbakterier er det klart at de egenskaper de antar i høy grad kommer til å avhenge av fôrets art, og de omsetninger som skjer i fordøyelseskanalen. Enzymdannelsen er jo delvis avhengig både av den forutgående dyrking av kulturen og av næringssubstratets sammensetning. Karström inndeler en celle-

arts artseiendommelige enzymer i to grupper: 1. konstruktive, som cellene alltid danner uavhengig av næringssubstratets sammensetning og 2. adaptive, som kun produseres av cellen ved behov, dvs. enzyddannelsen i cellen blir betinget av tilvenningen (adapsjonen) til vedkommende substrater.

II. Ekte smørsyre bakterier.

Smørsyre dannes hyppig ved organiske forbindelsers mikrobielle nedbrytning, både kullhydrater og eggehvitestoffer kan gå i smørsyregjæring. De bakterier som utnytter kullhydrater eller salter av lavere fettsyrer som energikilde og ikke angriper kasein, betegnes som ekte smørsyrebakterier i motsetning til de uekte som anvender kvelstoffnæringen både til energiproduksjon og vekst, og som derfor må henregnes til de proteolytiske bakterier.

Bakteriene er meget utbredt i naturen, særlig i jord hvori det er påvist fra 0-5000 pr. gram. De forekommer da også på planter og i silofôr under tiden i store mengder, og derved også i gjødsel. Melken infiseres hovedsakelig fra jord og gjødsepartikler som har festet seg på juret og dets omgivelser. De mange undersøkelser som foreligger, viser dog temmelig overensstemmende at under vanlige forhold er antallet ubetydelig, ofte kun et par, høyst 100 bakterier pr. cm³. Ved fôring med silofôr har man dog kunnet konstatere større mengder.

De gjør seg da i alminnelighet lite gjeldende, ikke minst fordi de er strengt anaerobe. De er sporebærende og sporene viser en usedvanlig varme-resistens, tåler til dels inntil 1 1/2 times koking. I sur melk spirer ikke sporene. De er alle grampositive stavformer ca. 1 my brede og 3-4 opptil 6-8 my lange. Vokser meget godt ved blodvarme, derimot ikke under 10° eller over 40°. Deres vekstoptimum ligger iflg. Dorner ved pH 6,9-7,3, men vekst er også mulig ved pH 5,7.

De kan leve av uorganiske kvelstoffforbindelser og i forening med aerobe bakterier endog assimilere luftens kvelstoff. Som energikilde kan de utnytte de fleste kullhydrater, enkelte også melkesyre og laktater.

Smørsyregjæringens mekanisme er ennå ikke klarlagt, men sukkerets spaltning går over metylglyoksal. Dettets nedbrytning synes å kunne gå i flere retninger. Som endeprodukter forekommer foruten smørsyre, melkesyre, eddiksyre, kulldioksyd og vannstoff samt under tiden butylalkohol. Den dannede melkesyre er en blanding av inaktiv og høyredreie. Mengdene av de enkelte gjæringsprodukter er meget vekslende, men smørsyren med sin sterke lukt gjør seg særlig gjeldende selv om det ikke alltid er mest av den. Syremengden er

tilstrekkelig til å koagulere melken, og kaseinet utskilles som en svampet, gassfylt masse som svømmer på overflaten. Kaseinet spaltes ikke.

Smørsyrebakteriene ble først isolert og beskrevet av Pasteur, og etter ham har tallrike forskere gjort dem til gjenstand for nærmere undersøkelser. Schattenfroh og Grasberger brakte noen klarhet i deres systematikk, idet de stilte dem i to grupper: en ubevegelig smeltende *Bac. saccharobutyricus immobilis*, og en bevegelig, ikke smeltende, *Bac. saccharobutyricus mobilis*, og av disse ble den første ansett for å være sterkere representert i melken enn den siste. På grunn av begge grupperes gassdannelse, kan de i melkebruket volde store ulemper både ved fremstillingen av hermetisk melk og fløte, da sporene er så seiglivet, og i ostelagningen fordi de kan fremkalle æsing av osten. Men nettopp i siste henseende har det hersket megen uklarhet. Det forekommer at selv om bakterienes antall i melken er ubetydelig, kan de bevirke en voldsom æsing, og samtidig har en funnet at melken kan inneholde et meget stort antall uten å gjøre skade. van Beynum og Pette har imidlertid gitt en plausibel forklaring herpå, idet de har vist at denne ulikhet beror på bakterienes forskjellige evne til å forgjære laktater. De har nærmere kunnet spesifisere de i meieriteknisk henseende betydningsfulle arter (Bergeys systematikk):

I. Bakteriene er ubevegelige og smelter gelatin:

Disse forgjærer laktose, men ikke laktater. Den alminnelige form er *Clostridium saccharobutyricum liquefaciens*.

II. Bakteriene er bevegelige, men smelter ikke gelatin:

a. *Clostridium tyrobutyricum* forgjærer ikke laktose, men laktater. Den gir 0,3-0,6 % smørsyre og inntil 0,1 % eddiksyre.

b. *Clostridium saccharobutyricum* forgjærer laktose, men ikke laktater og leverer 0,05-0,5 % smørsyre og inntil 0,2 % eddiksyre.

Mens alle kan bevirke gassdannelse i melk, er det kun *Clostridium tyrobutyricum* som fremkaller æsing i ost idet det kun er den som forgjærer laktater. De to øvrige kommer ikke til utvikling i osten fordi melkesukkeret er forbrukt av melkesyrebakteriene.

Da smørsyrebakteriene er obligat anaerobe, vil deres virksomhet bli sterkt hemmet av oksydasjonsmidler. Jørgensen har vist at bromater i så henseende er meget virksomme i svakt sure eller nøytrale oppløsninger. En tilsetning av 28 mg kaliumbromat til 100 cm³ melk sterkt infisert med smørsyrebakterier hindrer enhver gassdannelse ved 37°.

III. Propionsyre bakterier.

Disse ble i 1906 av von Freudenreich og Orla-Jensen påvist i emmentalerost, og noen år senere konstaterte Burri at de regelmessig finnes i gjød-

sel, hvorfra de kommer i melken. Dorner og Thöni fant i 500 prøver leverandørmelk gjennomsnittlig ca. 30 pr.cm³, sjelden over 500.

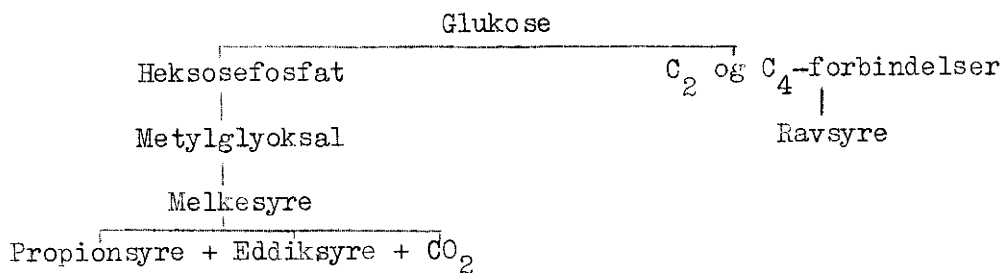
Når de først sent ble oppdaget som melkebakterier skriver det seg fra at de vokser langsomt på de alminnelige næringssubstrater, og at koloniene lite skiller seg ut fra streptokokkene.

De er grampositive, ubevegelige, sporeløse, korte staver som kan opptre i diploform og da skuffene ligner *St. lactis*, men under visse vekstbetingelser kan de anta langstavform, ofte med kølleformete utposninger, under tiden også grenet. Særlig gjør dette seg gjeldende i surt miljø og under aerobe forhold. De er nemlig anaerobe. Dybdekoloniene i agar antar eiendommelige linse eller krystallignende former. De smelter ikke gelatin, enkelte spalter vannstoffperoksyd.

Propionsyrebakteriene utgjør en vel avgrenset slekt som imidlertid omfatter flere varieteter som vesentlig atskiller seg i evnen til å utnytte de vanlige kullstoffkilder. Alle forgjærer glyserin og heksosor, de fleste laktose og laktater, enkelte til like sakkarose, arabinose og polysakkarider.

De krever komplekse organiske N-forbindelser og nærvær av de vanlige aktivatorer, særlig stimulerende virker gjærekstrakt.

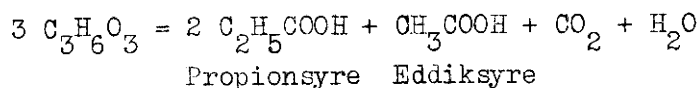
For sukkerforgjæringen har Virtanen oppstilt skjemaet:



I likhet med kolibakteriene forgjærer propionsyrebakteriene en del av glukosen uten fosforylering til ravsyre. Som eksempel fant Kluyver at av den forgjærte glykose dannes:

Propionsyre	51,8 %
Eddiksyre	23,2 %
Ravsyre	9,0 %
CO ₂	16,8 %

Ved laktatforgjæringen dannes ikke ravsyre, idet gjæringen nær kvantitativt følger ligningen:



I melk forrykkes på grunn av melkesukkerets nærvær forholdet 2 propionsyre: 1 eddiksyre, idet det i alminnelighet dannes mer eddiksyre.

Propionsyrebakteriene er gjennomgående langsomt voksende, selv ved

deres optimaltemperatur som ligger mellom 22-30^o, kan det ta mange dager innen melken koagulerer. Vokser ikke under 17^o eller over 45^o. De overstår 60^o i 30 min., men forøvrig er varmeresistensen avhengig av kulturens alder og den forutgående dyrkingstemperatur, jo yngre og jo lavere temperatur desto mindre resistens.

De vokser mellom pH 4,6-8,5, men først ved pH 5,0-5,5 kommer gjæringen i gang, og den er livligst ved pH 6,8-7,0. De vokser godt ved saltkonsentrasjoner inntil 3 %, svekkes sterkt ved 4 %. Forøvrig har saltkonsentrasjonen mindre å si ved lave pH-verdier, fordi veksten i det hele tatt da er liten, ved høyere pH er bakteriene mer saltømfintlige. Salpeter virker svekkende.

Mens bakteriene under alminnelige forhold ikke gjør seg gjeldende i melk, spiller de en så meget mer viktig rolle som ostebakterier. De er påvist i nær sagt alle slags oster, hvor smaken påvirkes av de dannede flyktige syrer, men ved siden herav har produksjonen av kulldioksyd en eminent betydning for den hulldannelse som karakteriserer de "åpne" oster, og da spesielt oster av emmentalertypen.

De spalter ikke kasein, men peptoner, og ved nedbrytningen av disse dannes utvilsomt forbindelser som bidrar til dannelsen av den søtlige, pikante smak som gamle oster har. I følge Orla-Jensen skal det dog her være andre former enn de som danner hullene, for disse er fortrinsvis kuleformer, mens de andre er plumpe, uregelmessige staver.

Som allerede nevnt omfatter slekten mange arter som har fått fellesnavnet Propionibacterium med tilføyelse av navnet på den forsker som først har påvist dem (Freudenreichii, Thonii, Jenseni, Shermanii, van Niel etc.). Enkelte av disse er karakteristiske ved å danne orange, røde, brune fargestoffer.

IV. Eggehvitespaltende bakterier.

De foran omhandlede grupper av melkebakterier er karakteristisk ved å anvende melkens laktose og avledningsprodukter av denne som energikilde idet det dannes syrer. I melken forekommer også bakterier som fortrinsvis anvender eggehvitestoffene som energikilde, og derved nedbryter dem til lavere kvelstofforbindelser. Da proteolysen for manges vedkommende går meget dypt idet det dannes produkter som både har en motbydelig smak og lukt og også kan være sunnhetsfarlige, er de hyppig betegnet som forråtnelsesbakterier.

Noen skarp grense mellom de to bakteriegrupper er det for så vidt

ikke som de selvfølgelig begge utnytter eggehvitestoffene i vekstøymed, men flere så vel av de ekte som uekte melkesyrebakterier kan nedbryte eggehviten når kullhydratene er oppbrukt eller reaksjonen er svak sur eller nøytral, og de proteolytiske bakterier kan for en dels vedkommende også angripe laktosen. Men for så vidt er det et bestemt skille, som de proteolytiske bakterier i regelen kun utfolder sin virksomhet ved ytterst svak sur, nøytral eller fortrinnsvis alkalisk reaksjon. Det er i alle fall kun ved alkalisk reaksjon at det dannes typiske forråtnelsesprodukter.

Nedbrytningen av eggehviten skjer ved de mange slags enzymer som disse bakterier er over måte rikt utstyrt med.

I melken innledes som regel deres virksomhet med en koagulasjon ved løpeliggende sekresjonsenzymer som i følge Maschmann inntar en stilling mellom papain og tryptase. Den første lette spaltning av kaseinet etterfølges av en trinvis hydrolytisk avbygging til peptoner, peptider og aminosyrer. Denne hydrolyse er for den levende celledens vedkommende et resultat av det intracellulære stoffskifte, men ved cellens død og autolyse vil de frigjorte endoenzymer, i alle fall for en del kunne være aktive deltagere i spaltningen.

Imidlertid stanser ikke avbyggingen med dannelsen av aminosyrer, da også disse vil kunne være underkastet en dypere spaltning ved intracellulære amidaser og redoxaser som leder til dannelsen av ammoniakk, kullsyre, mettede og umettede lavere fettsyrer, oksysyrer, alkoholer, merkaptaner, indol, skatol, av hvilke de siste er karakteristiske forråtnelsesprodukter. Hvor omfattende eller hvor dypt spaltningen går, beror på bakterieartens evne til under de forhånden værende forhold å angripe og av bygge de mange forskjellige aminosyrer som inngår i proteinmolekylet.

De proteolytiske bakterier inneholder rikelig katalase, de omfatter både aerobe og anaerobe, sporedannende og sporeløse arter og etter disse siste egenskaper vil de i det følgende bli systematisert, idet kun de hyppigst forekommende og mest typiske former vil bli omtalt.

1. A e r o b e o g s p o r e l ø s e p r o t e o l y t i s k e b a k t e r i e r .

a. Fluorescentene

er alminnelige jordbakterier og forekommer i ofte stor mengde i vann. Med foret, navnlig med rotfrukter, og drikkevann i fjøset går de over i gjødselen og dermed i melken, som forevrig langt hyppigere blir infisert fra melkekjørelere når disse er mangelfullt rengjort.

Navnet skriver seg fra at mange arter produserer i mer eller mindre sterk grad et grønt fluorescerende fargestoff. De fleste smelter gelatin, enkelte er fakultativt anaerobe. En felles egenskap er den at de trives og utvikles ved lave temperaturer, like ned til 0°. Optimaltemperaturen er 25-30°. De drepes ved momentan oppvarming til 60-65°. Deres enzymer er derimot overordentlig varmeresistente.

Deres evne til å koagulere melken er noe forskjellig, de fleste koagulerer den ikke ved værelsestemperatur og derunder, men vel ved høyere temperaturer. Derimot "oppløser" de melken, dvs. proteolyserer kaseinet, og oppløsningen begynner i melkens overflate og fortsetter nedover, så i gamle kulturer kan melken til slutt omdannes i en grønnlig, gjennomsiktig væske.

Fluorescentene angriper sjelden laktose, men vel glukose. En del er sterke fettspaltere.

Bacterium fluorescens liquefaciens, en liten under tiden slank, under tiden plump stav, hvorav flere kan henge sammen og danne korte kjeder. Den er utstyrt med polare cilier, er gramnegativ og strengt aerob. Til tross for sin proteolytiske natur kan den trives godt i mineralsk næringsvæske som kun inneholder glyserin som C-kilde. Ved spredning på gelatinplater røper den seg tidligere enn alle andre bakterier ved at den hurtig smelter gelatinen. Smeltingen griper hurtig om seg, det dannes skålformete fordypninger fylt av den oppløste, bakteriemettete, grågrumsete gelatin, og samtidig blir substratet mer eller mindre fluorescerende. Virtanen og Tarnanen har vist at dens proteolytiske enzymesystem består av proteinaser, polypeptidaser og dipeptidaser, og de gjorde den interessante iakttagelse, at hvis bakterien blir kultivert i pepton- og kjøttekstrakt, og bakteriene blir skilt fra næringsoppløsningen ved centrifugering og filtrering, så inneholder det bakteriefri filtrat av ganske unge kulturer praktisk talt hele proteinasevirkningen. Bakteriemassen kan ikke mer eller høyst kun som spor, oppløse kasein og gelatin og inneholder kun peptidasene, som ikke secernerer. De levende celler utsondrer altså restløst proteinasen til bearbeidelse av kvelstoffnæringen, og deltar ikke i det intracellulære stoffskifte. Ved cellens død frigjøres naturligvis også endoenzymene.

Ved værelsestemperatur oppløser den melken uten forutgående koagulasjon, ved høyere temperatur kan dette inntre. På det første utviklingsstadium gir enkelte varieteter en aromatisk lukt, men snart slår den helt om, melken blir kvalm og ammoniakalsk ("gammel smak") og reaksjonen blir alkalisk uten at det dog dannes dypere forråtnelsesprodukter.

Den vokser best ved 20-30°, men helt ned til 1-2°. Drepes ved mo-

mentan oppvarming til 60-65°. Ved lave temperaturer produserer den et intensivt grønt fargestoff.

Den vokser best ved pH 7-8, men veksten opphører ved pH 5,0 og fargestoffdannelsen ved pH 6,0. Ved melkens spontane syring utvikler den seg ved siden av melkesyrebakteriene, og det dannede fluorescin aktiverer de sistes vekst. Et eksempel herpå: Sterilisert melk ble delt i to porsjoner, den ene ble podet med *Sc. lactis*, den annen også med fluorescent, og surhetsgraden etter hvert kontrollert. Prøvene henstod ved 12-14° C.

Etter dager	I	II
1	6,4 S-H	6,9 S-H
2	13,4	15,0
3	26,4	31,8 koag.
4	40,0 koag.	41,6

Står melken hen ved lavere temperaturer har fluorescenten fritt still da melkesyrebakteriene er uvirksomme.

Mens bakteriene selv er lite varmeresistente, gjelder dette ikke deres proteinase, som i følge Virtanen og Tarnanen i melkekulturer med pH 7,0 først inaktiveres ved oppvarming til 115°. Imidlertid spiller surhetsgraden her en rolle, for ved pH 4,9 fant de at inaktiveringingen var fullstendig allerede ved 90°. Videre fant de at ødeleggelsen av enzymet var betydelig større ved 60° enn ved 80°.

Da varmeresistensen i eggehvitefri næringsoppløsning er betydelig mindre, har en her et eksempel på den beskyttelse som melkens eggehvitestoffer yter enzymvirkningen.

Bact. fluorescens liquefaciens er også en kraftig fettspalter og i følge Tamisto inaktiveres ikke dens lipaser selv ved 10 min. oppvarming til 95°.

Bacterium pyoceaneum står *Bact. fluor. liquef.* så nær at det kan være vanskelig å skille dem, men den produserer foruten det grønne også et blått fargestoff, så melken blir blågrønn.

Bacterium punctatum har sitt navn fordi dens klare kolonier på gelatin har spredte punktlignende fortettinger. Den leverer ikke grønt fargestoff, men koagulerer og oppløser melk med sterk alkalisk reaksjon og råttelukt av svovelvannstoff. Den er en sterk fettspalter.

Til samme gruppe hører antagelig også en bakterie F₃ som Nestaas fant alminnelig utbredt i vann på Østlandet. Den produserer heller ikke grønt fargestoff og koagulerer melken ved syre- og løpedannelse. Farges dårlig etter Skars metode og avfarger metylenblått meget langsomt.

Bacterium putidum skiller seg i flere henseender fra de foran nevnte. For det første smelter den ikke gelatin. Melken forandres ikke mikroskopisk,

ingen koagulasjon eller synlig oppløsning, men reaksjonen blir sterkt alkalisk og det dannes trimetylamin. Den mangler fettspaltningsevne, har større varme-, salt- og syretolerans enn de øvrige fluorescenter. Den opptrer forøvrig stadig sammen med dem i vann og det forekommer tallrike mellomformer. En av- art er antagelig

Bacterium herbicola som meget alminnelig finnes på alle friske planter. Den produserer et gull-gult fargestoff, vokser på melkens overflate, men dog så langsomt at den først merkes når melken har stått hen i lengere tid. Den gir en svak sur reaksjon og koagulerer melken ved et løpelignende enzym, og oppløser den senere langsomt, og reaksjonen blir til slutt alkalisk.

b. Proteusbakteriene.

Under dette navn sammenfattes noen proteolytiske bakterier som kan opptre i morfologisk sterkt vekslende former. Alminneligst er de slanke, tynne staver forenet til lange tråder som under tiden kan være tvunnet på mange slags måter. De er også eiendommelige ved at de snart farges, snart ikke farges etter Gram. De er rikt utstyrt med peritriche cilier og beveger seg ytterst livlig. I likhet med fluorescentene kan de klare seg med uorganiske kvelstofforbindelser, og vokser ved lave temperaturer.

Bacterium vulgare forekommer hyppig i dårlig vann og i kugjødsel når det er fôret med bedervete rotfrukter og kraftfôrstoffer, særlig animalske. Den vil derfor ikke så sjelden finnes i melken hvor den utvikler seg ved lav temperatur. Den sesernerer et koagulasjonsenzym som skiller seg fra kalveløpens ved å være mer termostabilt. De mange varieteter hvori den opptrer viser stor ulikhet med hensyn til koagulasjonshastighet og kaseinspaltning. På den ene side stammer som tilsynelatende ikke forandrer melken, men en ubehagelig smak og lukt røper eggehvitespaltningen. På den annen side stammer som hurtig koagulerer og oppløser melken under dannelse av de typiske forråtnelsesprodukter og giftige toksiner og derfor regnes som patogene former. Den forgjærer ikke melkesukker, men vel heksoser, og er sådanne tilstede kan reaksjonen holde seg sur og eggehvitespaltningen er da ikke ledsaget av noen særlig stank.

Bacterium prodigiosum er en liten kort stav som er livlig bevegelig og smelter gelatin. Den vegeterer ved svak sur reaksjon og koagulerer melken og spalter eggehviten om enn meget langsomt. Henstår melk i lengere tid, til rolig fløteavsetning, danner den på fløtelaget sterkt rødfargete kolonier. Det blodrøde fargestoff (prodigiosin) er et vitamin som produseres ved mangel på bios. Er tilstrekkelig bios til stede, dannes det ikke prodigiosin og koloniene er fargeløse. Som eggehvitespalter i melken er den nærmest betydningsløs, men desto større rolle spiller den som fettspalter, hvilket lenger fram vil bli nærmere omtalt. Når den således ikke sjelden opptrer som røde pletter på rømmekoller, ligger dette nettopp i at den tilgodegjør seg i fett.

c. Tetrakokkene.

Det er tidligere påpekt at grensen mellom de sukkerspaltende og proteolytiske bakterier er temmelig flytende. Et mellomledd danner tetrakokkene. De produserer som tidligere omtalt noe melkesyre, men til like et proteolytisk enzym som bevirker en koagulasjon av melken, og etterpå en oppløsning av koagulet. Gorini tillia dem derfor navnet "acidoproteolytter". Den meieriteknisk viktigste art er som før omtalt Tetracoccus liquefaciens. Ved 35° koagulerer den melken i løpet av 1 døgn, ved lavere temperaturer foreløper peptoniseringen hurtigere og uten koagulasjon. Ved oppløsningen av kaseinet dannes rikelige mengder peptoner, men lite aminosyrer og ammoniak, og spaltningen skjer antagelig ved et trypsinlignende enzym. I melken gjør den seg mindre gjeldende, derimot er den en viktig faktor ved enkelte osters modprosess.

2. A e r o b e s p o r e d a n n e n d e p r o t e o l y t i s k e b a k t e r i e r .

Disse utgjør den store masse av alminnelige jordbakterier som hovedsakelig ved støv kommer i melken. De er for det meste store, kraftige stavformer med meget varmeresistente sporer. Nesten uten unntakelse smelter de mer eller mindre hurtig gelatin. Deres virkning i melken er koagulerende og oppløsende. Noen danner et fast koagulum som etter hvert oppløses, andre gir et løst som hurtig går i oppløsning, men alltid dannes en sterk alkalisk reaksjon på grunn av den dype spaltning av eggehviten. Deres temperaturkrav er forskjellige, noen vokser i melk, allerede ved 10°, de fleste ved 35-45°, og atter andre er termofile. Selv om enkelte arter kan tåle en ikke ubetydelig sur reaksjon, så gjør de seg i alminnelighet lite gjeldende i melk hvor melkesyrebakteriene er de herskende. Det er kun når de siste er satt ut av konkurransen at de finner betingelser for vekst og utvikling, og derfor vil det i hovedsaken være i pasteurisert eller utilstrekkelig sterilisert melk og fløte at de på grunn av sine varmeresistente sporer kan vinne overhånd.

Av de mange arter skal her kun nevnes:

Bacillus subtilis en kraftig langstav som kan vokse i lange tråder. Sporene ligger midt i cellen som ikke derved forandrer sin form. Sporene tåler ca. 1 times koking uten å miste sin spireevne, og drepes først ved 15 min. ved 115°. På gelatin vokser bakteriene først som hvite prikker, som i mikroskopet viser seg som en kjerne med trådaktig periferi. På potet danner den et tykt, fløtelignende belegg. Melken blir svakt koagulert og oppløses langsomt til en mørk buljonglignende væske uten motbydelig stank.

Bacillus mesenterius er noe mindre og sporene er overordentlig seiglivet. Koloniene på gelatin har ikke noen trådaktig periferi og på potet er belegget hvitt eller gullig, tørt og krympet. Den koagulerer melken løst, den blir nærmest slimet og oppløses hurtig. Så lenge reaksjonen er sur, dannes det primære spaltningsprodukter, men når miljøet blir alkalisk, dannes

forråtnelsesprodukter indol og svovelvannstoff. Den forgjærer laktater til smørsyre, og det forklarer at den ikke er så syreømfintlig som *Bact. subtilis*. Den spalter også fett.

Bacillus mycoides forekommer også meget i vann og gjødsel. På gelatin har koloniene rotlignende utløpere. Melken blir først svakt syrnet, ofte endog koagulert med syre, men koagulet oppløses snart og væsken blir alkalisk. Sammen med *Bact. fluorescens* og *Bact. vulgare* fremkaller den den råtne lukt av vannrester som kan bli stående igjen i dårlig rengjorte spann.

Mens sporedannelsen i de her nevnte arter ikke medfører noen formforandring av cellen, forekommer også arter som under sporedannelsen antar clostridiumform, og som i likhet med *Bact. mesentericus* forgjærer laktater til smørsyre. De tilhører for så vidt smørsyrebakteriene, men kalles ofte uekte, idet de skiller seg fra de ekte ved å være aerobe, smelter gelatin, og etter å ha syrekoagulert melken oppløser koagulet. Da det ved lektatgjæringen dannes gass, er dette svampet. To arter Bacillus butyricus og Clostridium polymyxa vil en hyppig finne i eldre pasteurisert melk.

3. Anaerobe proteolytiske bakterier.

Disse er de mest energiske forråtnelsesbakterier som kjennes. Mange arter er blitt identifisert. Så utbredt som de er i naturen, er det forståelig at de også kan forekomme i melk, hovedsakelig ved infeksjon av fækalier og strømidler. Her skal kun en enkelt art nevnes, nemlig:

Bacillus putrificus som imidlertid også er helt karakteristisk for gruppen. Den er en kraftig, bevegelig stav, strengt anaerob og sporedannende. Sporen dannes i enden på staven som derved sveller ut og antar plectridiumform. Sporene er meget varmeresistente, skal tåle inntil 1 times koking. Til tross for sin store utbredelse forekommer den dog normalt kun sparsomt i melken. Barthel fant et par, høyst 20 pr. cm³ og dette bekreftes av andre, kun under særlige uheldige forhold kan antallet stige. Den vokser ikke under pH 5,0, kommer dog først til nevneverdig utvikling ved pH 6,0. Melken koagulerer ikke, men oppløses raskt og kascinspaltningen går meget dypt under dannelse av lavere fete syrer, aminbaser, ammoniakalske produkter og svovelvannstofforbindelser med en stinkende lukt.

I melken gjør den seg under alminnelige forhold ikke gjeldende, derimot i pasteurisert eller ufullstendig sterilisert hermetisk melk, likesom den også kan gi anledning til stinkende gjæringer i ost.

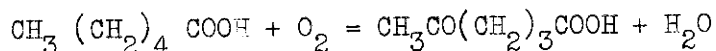
V. Fettspaltende bakterier.

Blant de hittil omhandlede bakteriegrupper har det ofte forekommet former som er fettspaltende. Når de her oppføres i et eget kapittel, så er det av praktiske grunner for å få en samlet oversikt over dem.

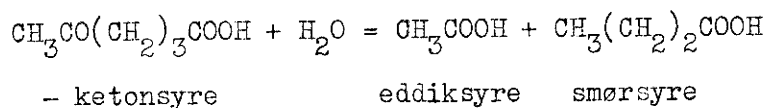
De første iakttagelser over den enzymatiske spalning av fett skriver seg fra 1850-årene, og det ble snart fastslått at fettspaltende enzymer - lipaser - spilte en betydningsfull rolle så vel i dyre- som i planteriket, og omkring århundreskiftet konstatertes at også muggsopper og bakterier var lipaseførende.

Fettspalningen kan være mer eller mindre omfattende. En kan oppstille følgende omsetninger:

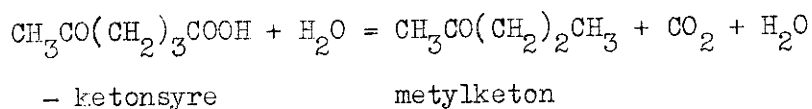
1. Hydrolisering av glyceridene til frie fettsyrer og glycerin.
2. Videre avbygging av fettsyrene ved oksydasjon til α -ketonsyrer.



Ketonsyren kan videre avbygges enten a. ved en hydrolyse som setter inn ved α -C-atomet hvorved dannes den 2 C-atomer lavere fettsyre samt eddiksyre.



eller b. ved en hydrolyse ved COOH-gruppens nabo-C-atom, hvorved dannes et metylketon med et C-atom mindre enn syren samt kullsyre og vann.



3. Videre avbygging av glycerinet til aldehyder og syrer eller fullstendig oksydasjon.

I alminnelighet vil fettspalningen ved bakteriene skje etter de under 1 og 2a og 3 skjematiskerte reaksjoner (for muggsopper derimot også etter 2 b).

De ekte melkesyrebakterier og smørsyrebakteriene spalter ikke fett, hos enkelte kolistammer skal dette være påvist, men det er fortrinnsvis de proteolytiske og alkalidannende bakterier som opptrer som fettspaltere, og det for så vidt forklarlig som lipasene har sin optimale virkning på den alkaliske side, ved pH 7-9. Det er imidlertid å merke at fettspalningen sjelden gjør seg gjeldende i melken, både fordi denne i nåtidens melkebruk hurtig kommer i anvendelse, og fordi melkesyrebakteriene normalt tar ledelsen og skaper et miljø som er for surt for en aktiv innsats av lipasene. Kun under særegne for-

hold, da melkesyrebakteriene er satt ut av spillet til fordel for de proteolytiske bakterier, vil en lipasevirkning kunne utfoldes.

Blant fettspastene kommer fluorescentene og proteusartene i første rekke, og som representant for disse underkastet Tamisto Bact. fluorescens liquefaciens og Bact. prodigiosum en nærmere undersøkelse og kom her til meget viktige resultater.

Så lenge bakteriene er i live, finnes lipasene inne i cellen, kun en mindre del sesernerer, men ved cellens autolyse blir de frigjort. Disse bakteriers lipaser danner en unntagelse fra det alminnelige ved at de er virksomme selv ved relativt lave pH verdier, først ved pH 5,0 er de inaktive. Følgende tabell illustrerer den relative spaltningshastighet av tributyrin ved 32°.

pH	5,2	5,8	6,2	7,2	8,3	8,8	9,6
Bact. fluorescens liquefaciens	0	45	61	80	100	107	139
Bact. prodigiosum	0	40	62	82	100	110	131

Temperaturoptimum for spaltningen var for Bact. fluorescens 32-37°, men selv ved 5° var den ennå 20 % av det maksimale og ved 47° ennå 40 %.

Mens lipasene er i cellene er de overordentlig motstandsdyktige mot varme. Den relative spaltningshastighet var:

	Bact. fluor.	Bact. prod.
Ikke oppvarmet	100	100
Oppvarmet 10 min. 75°	73	75
" 10 " 85°	69	71
" 10 " 95°	67	70

I de døde celler er lipasene ikke så varmeresistente, for da var ved 10 min. oppvarming til 80° fullstendig ødelagt. Ennå mer varmeømfintlige er de sesernerte, de var da ødelagt ved 60° i 10 min.

Selv om Tamisto fant at fettspaltningssevnen var ulik hos forskjellige stammer og avhengig av næringssubstratets art, og særlig utpreget når bakteriene var vesentlig henvist til å leve av fett, så har disse undersøkelser fått en overordentlig stor praktisk betydning, idet de avgir bevis for nødvendigheten av å anvende en høyest mulig temperatur ved fløtens pasteurisering.

VI. Alkalidannende bakterier.

De proteolytiske bakterier vil som regel før eller senere gjøre melkens reaksjon alkalisk ved de ammoniakalske produkter som oppstår ved eggehvitenedbrytningen. Men i melken forekommer rett hyppig andre bakterier

som ved sin virksomhet fremkaller en alkalisk reaksjon uten synbar peptonisering av melken. Denne reaksjonsforandring skyldes imidlertid en oksydasjon av organiske syrer til alkalikarbonater.

Gruppen omfatter en del mikrokokker, men vesentlig staver som for en del nærmer seg de fluorescenter som ikke smelter gelatin. De forekommer i store mengder i jord og vann, selv i dype brønner og kilder. Også i gjødsel, men ikke i mengder av betydning. Infeksjonen av melken skjer helt overveiende gjennom støv og dårlig rengjorte melkeredskaper.

Den typiske form for disse "alkalidannende kortstaver" er Bacterium faecalis alcaligenes. Den er en sporeløs, bevegelig, som regel Gramnegativ, aerob stav kun 0,7-1,2 μ lang som ofte danner kortere kjeder. Koloniene på agar er fuktige, gjennomskinnelige, irriserende og hyppig slimet. Den vokser godt ved 6-8 $^{\circ}$, best ved 25-30 $^{\circ}$, dårlig over 35 $^{\circ}$ og drepes ved 60-65 $^{\circ}$ i 30 min. Den forgjærer ikke laktose, vokser i melken uten at denne synbart forandres, men en svak eggehvitespaltning finner sted, også fett spaltes. Melken blir alkalisk og får en uren, ofte bitter, råttent, søtlig smak og lukt.

Alcaligenes gruppen omfatter forøvrig flere arter, men det er karakteristisk at de som kvælstoffnæring kan nøye seg med uorganiske forbindelser f.eks. natriumammoniumfosfat, men i melken er det eggehviten og restkvælstoffene som de utnytter. Som energikilde anvender de citratene, men også laktater så fremt det er dannet melkesyre. Enkelte stammer kan nemlig forgjære laktose, om enn dårlig.

Ved forgjæringen av de organiske salter dannes alkalikarbonater, en blanding av Na_2CO_3 og NaHCO_3 . Ayers og medarbeidere undersøkte reaksjonsforandringen ved 68 bakterier og fant at mer enn halvparten i løpet av 7 døgner ved 30 $^{\circ}$ senket surhetsgraden under 2 S-H.

VII. Luftbakterier.

Foruten de foran nevnte bakterier forekommer alltid i melken en del bakterier som stammer fra jord, gjødsel og grønne blader og med vinden hvirvles opp i luften. Ved luftanalyser kommer de ofte i rikelige mengder til utvikling på overflaten av næringsgeleen. De benevnes derfor gjerne "luftbakterier", skjønt selvfølgelig en masse andre bakterier med nær samme berettigelse kan kalles det samme.

De er gjerne mikrokokker, hyppig sarcinaformer som utmerker seg ved å danne fargete kolonier. Micrococcus candidans danner f.eks. karakteristiske porselenshvite, Micrococcus luteus, Sarcina aurantiacum og mange andre gullgule svovelgule kolonier. De er alle sterkt aerobe, men ellers er deres fysiologiske egen-

skaper lite undersøkt. De langt fleste smelter ikke gelatin, og i melk forholder de seg nærmest indifferente, noen synlig forandring av den merkes i alle fall først etter meget lang tid, men en uren smak kan de nok fremkalle. De spiller i virkeligheten ingen praktisk rolle som melkebakterier, da melken i vår tid kommer hurtig til konsum.

I de gamle fløteavsetningssystemer derimot kunne de ikke unngå oppmerksomheten, ikke minst ved sin fargestoffdannelse. I den eldre meierilitteratur blir "gullig", "rød" og "blå" melk ofte ofret stort spalterom.

VIII. Trådbakterier.

Disse er alminnelige og forekommende i jord og stillestående vann som er rikt på organiske stoffer.

Crenothrix polyspora opptrer særlig i jernholdig brønnvann hvor den bringer jernet til utskilling og gjør vannet brunt eller gult. Fra vannet kommer den i melken, som får en ubehagelig smak, i ost kan den frembringe sorte pletter.

På overgangen til soppene står strålesoppene

Actinomyces hvorav der finnes tallrike arter i jord og vann og på høy og halm særlig etter uheldige innhøstingsforhold. Ved luftanalyser trefter en gjerne på dem og under tiden også i melken. Den art som her skal være alminneligst er Actinomyces odorifera som hyppig sammen med fluorescenter utvikler seg i vannskvetter som kan bli stående i melkespann som ikke tørres etter rengjøringen. Den vokser langsomt i melken så den fortrenkes av andre melkebakterier, men formår dog å gi den en muggen avsmak og jordlukt.

Alle trådbakterier ødelegges ved lavpasteurisering ved 70°.

B. GJÆR.

I. Saccharomyceter.

Mens saccharomycetene eller de ekte gjærsopper ved sin forgjæring av forskjellige sukkerarter til alkohol og kullsyre spiller en overordentlig viktig rolle i ølbryggingen og vinleggingen, er de av liten betydning i melkebruket. Kun sporadisk kan de forekomme i alminnelig melk, og selv da gjør de seg lite eller slett ikke gjeldende. Årsaken er ganske enkelt den at saccharomycetene sjelden kan forgjære laktose. Melken er således ikke noe gunstig

substrat. Selv om de ikke angriper laktosen kan de naturligvis til en viss grad utnytte andre bestanddeler av melken, men deres livsvirksomhet vil i tilfelle kun innskrenke seg til å meddele melken en mer eller mindre merkbar usmak.

I virkeligheten er det bare i visse surmelksdrikker at de gjør seg gjeldende i symbiose med ekte melkesyrebakterier, idet de forgjærer de av disse intermediært dannede komponenter av laktosen, glukosen og galaktosen. Da imidlertid melkesyrebakteriene selv hurtigere legger beslag på heksosene, blir det kun en liten del som levnes gjæren, og av denne grum blir også dens gjæringsprodukter alkohol og kullsyre, kun dannet i relativt små mengder, sjelden mer enn 0,5 høyst 1 % alkohol.

I følge Sopp forekommer i tette melk to arter, en større Saccharomyces major taette med 2-4 sporer i hver celle, og en mindre Saccharomyces minor taette som mindre lett danner sporer.

Også i kefir og yoghurt opptrer gjærarter. Dårlige, brusende, syrevekkere kan være forurennet av ekte gjær.

II. Torulaceer.

I mange henseender står de uekte gjær (Pseudosaccharomyces) de ekte nær, men de danner ikke sporer og er sjelden alkoholdannere. De deles i to klasser, Hyalotorula eller kort Torula (Torulopsis) og Mycotorula. De første er typiske ved sine runde, eliptiske eller citronformede knoppceller i hvilke der hyppig ligger en fettdråpe, de siste har langstrakte knoppceller.

Begge er overordentlig utbredt i naturen, i jord, på planter, i gjødsel og med støvet kommer de i melken, hvor de er hyppigere om sommeren enn om vinteren.

Torulaartene kommer hurtig til utvikling på de alminnelige faste næringssubstrater, og danner gjerne yppige, runde, skarprandede, hvite, grå eller rødfargete kolonier (de siste går under navn av "rosagjær"). De vokser selv ved 2-5°, best ved 30-40°, drepes ved 55-60°. De foretrekker gjerne sur reaksjon, kan under tiden tåle inntil 2,5 % melkesyre, men vokser også i alkalisk miljø, riktignok med sterk nedsatt vitalitet. De er sterkt luftelskende, men kan også utvikle seg uten lufttilgang. Vekstformene i stikk-kulturer i sukkerholdig og sukkerfri næringssubstrater kan for mange arter være meget karakteristiske. De tåler ofte meget store saltkonsentrasjoner, like opp til 20 %.

Kun en mindre del av dem forgjærer laktose overveiende til melkesyre, enkelte til alkohol og kullsyre, men ingen så meget melkesyre at den fremkal-

ler koagulasjon av melken, selv om de kan tåle inntil 2-2,5 % melkesyre. De spalter også kasein, men meget langsomt og ikke dypt, og som følge herav kan melken til slutt koagulere ved en kombinert syre- og løpevirkning. Mange, men slett ikke alle, er også i besittelse av en fettspaltningsevne, og særlig utpreget er denne hos de arter som ikke forgjærer laktose, og da utnyttes fett som kullstoffkilde. Når unntas de gjærete surmelksdrikker vil deres vegetasjon i melken kun medføre dannelselse av stoffer som påvirker dens smak og lukt uten at melken undergår synlig forandring. Imidlertid er de alt annet enn betydningsløse når det gjelder deres forekomst i syrevekkere, smør og ost. Sammen med melkesyrebakterier accelereres fett- og eggehvitespaltningen som kan føre til alvorlige smørfeil. I bløte oster opptrer de i store mengder på skorpen, således som nærmere vil bli behandlet i smørets og ostens bakteriologi.

III. Mycoderma

eller hinnegjør utmerker seg ved at cellene er langstrakte og inneholder 3-4 vakuoler og 1-3 lysbrytende korn. De vokser i forbandt og omtrent annen hver celle er luftfylt, så gjæren lett flyter på næringsvæsken, hvilket passer den godt, da den er sterkt aerob, og danner en rynket hinne. Mycodermaartene er ikke alkoholdannere, tvert om fortærer de alkohol og organiske syrer, deri blant melkesyre.

De spalter kasein meget sterkt og dypt. Det er mulig at de også deltar i fettspaltningen, meningene herom er delte, det er tenkelig at de bare gjør seg til gode med det glycerin som andre mikroorganismer har avspaltet fett, og derfor taler den omstendighet at de trives ganske usedvanlig godt på et næringssubstrat som inneholder glycerin.

I melken gjør den seg lite gjeldende, først når denne er blitt gammel og sur. Mest kjennes de ved at de hurtig kommer til utvikling på sur myse, hvor de danner en sterk hinne på overflaten. Således også på "naturløpe" hvor de skaffer fortrinlige vekstbetingelser for de mer anaerobe, stavformete melkesyrebakterier.

De kan forekomme på gammelt smør og meget ofte på bløte surmelksoster.

IV. Monilia

danner overgangsformer mellom gjærsoppene og de høyere hyfedannende muggsop-

per. De er ikke alminnelige i melk, og når de tas med her er det kun fordi de temmelig konstant forekommer i tettemelk og ved sin forgjøring av laktosen muligens kan være opphavet til en del av den alkohol og kullsyre som finnes i tettemelk.

C. MUGGSOPPER.

Stort sett kan ikke muggsoppene sies å spille noen større rolle ved de omdannelser som finner sted i melken under normale forhold. Selv om melken kan være vel så meget utsatt for å bli infisert av dem som av mange av de bakteriearter som er omtalt foran, utvikler de seg så langsomt at melken er tatt i bruk lenge før de kan gjøre seg gjeldende, og dette så meget mer som de helst vokser på mer bastante næringssubstrater, og stiller fordringer til rikelig tilgang på luft. Det er derfor først etter at melken har stått så lenge hen at den er blitt sur og tykk at de viser seg på overflaten. Men helt anderledes stiller forholdet seg når det gjelder melkeproduktene, i dem vil de finne en hensiktsmessig grobunn, og utfolde en virksomhet som kan være både ønskelig og skadelig. Den ubetinget hyppigste art er:

Oospora (Oidium) lactis. Den danner på fast næringssubstrat et hvitt, støvaktig mycel hvis hyfer ofte er gaffeldelt. Når veksten har nådd et visst trin, tverrdeler de som ligger i overflaten seg i oidier som løsner seg fra hverandre, og hver især vokser ut til et nytt mycel. Det er antagelig med støv og gjødselpartikler de kommer i melken, og kommer først etter at melken har stått rolig hen i flere dager til syne på fløten, hvor den til å begynne med danner små, hvite, fløyelsaktige pletter, som etter hvert brer seg utover. Den vokser selv ved $1/2^{\circ}$, men trives best ved 20° , men slett ikke over 37° . Som de andre muggsopper trives den best i surt miljø.

I renkultur i melk forgjærer den laktosen, men den dannede melkesyre blir etter hvert fortært og samtidig angripes kaseinet meget sterkt, idet det avbygges til aminosyrer, ammoniakk og lavere fettsyrer.

Den trives godt sammen med melkesyrebakteriene idet den utnytter den dannede melkesyre, og inntil laktosen er forgjæret og reaksjonen er sur, er ikke eggehvitespaltningen av særlig omfang, men når laktosen er oppbrukt setter den kraftig inn.

Den er også en kraftig fettspalter, fettet blir hydrolisert, men de frigjorte syrer oksyderes ikke, og da de for en vesentlig del bindes av den ved kaseinspaltningen dannede ammoniakk, blir ikke den harske smak særlig

sterk.

Oospora lactis forekommer i mange varieteter.

Visse fysiologiske egenskaper er mer eller mindre fremtredende hos de enkelte varieteter, og har særlig betydning ved soppens virksomhet i smør og ost.

Cladosporium danner også et mycel av hvilket det vokser ut formeringshyfer med konidier, som kan være hvite, brune, sorte eller grønne. Cladosporium herbarum er alminnelig på mugget høy og halm, og finnes ikke så sjelden på vegger og loft i fuktige meierilokaler. Den er først olivengrønn, senere brun, til slutt sort. Cladosporium butyri danner på mysepeptongelatin kolonier som lenge er hvite, men senere gulgrønne og til slutt brungrønne. Begge disse arter smelter gelatin, fortærer laktosen og spalter kaseinet til aminosyrer og ammoniakk, spalter også fettene den første i mindre, den siste i større grad. De vokser best ved lave temperaturer og drepes ved 60°. I melken kommer de ikke til synderlig utvikling, derimot så meget hurtigere på smør og ost, og gjør da bare skade.

Penicillium er en overmåte sterkt utbredt muggsopp som omfatter mange arter, som skiller seg ut dels i konidiebærernes, størigmenes og konidienes form og farge. De finnes ofte i melk, men fremkaller først etter lengere tid noen forandring av den.

De angriper i større eller mindre grad alle melkens bestanddeler, men det er kun i meieriproduktene at dette gjør seg gjeldende, og her dels som skadelige, dels som nyttige mikroorganismer.

Den ubetinget alminneligste art er Penicillium glaucum (grønnmugg). Den finnes over alt i støv og på mange førstoffer, og er karakteristisk ved sine glatte, kulerunde, mørkegrønne konidier. Den er i alle deler skadelig, ikke minst ved at den hærskner fettene meget sterkt. Penicillium roqueforti er på langt nær ikke så utbredt, og når den opptrer, er det som regel gjennom en bevisst eller tilfeldig rendyrking. Den skiller seg fra *Pen. glaucum* ved at konidiebærerne er mindre grenet og konidiene blågrønne (benevnes derfor ofte som blåmugg). Den leverer ved kaseinspaltningen større mengder aminosyrer, men er en lett fettspalter. Lignende fysiologiske egenskaper har Penicillium camemberti som på gelatinplater danner smukke fløyelslignende snehvite kolonier, som når konidiedannelsen inntreffer i midten, blir svakt blågrønne. På undersiden av koloniene blir gelatinen lysegul.

De to sist nevnte arter forekommer i flere varieteter, og spiller en viktig rolle ved forskjellige ostesorters modning.

Mucorartene er ikke mindre utbredt enn penicillierne. Det encelle-

de mycelium er hvitt eller grønnlig, mens sporehusene er hvite, grø eller sorte. De er meget sterke både kasein- og fettspaltere og volder kun skade på smør og ost. En særstilling inntar imidlertid noen arter som opptrer som nødvendig modningsfaktor i gammelost, nemlig Chlamydomucor casei og en Mucor mucedo type.

En nærmere omtale av de i meieribruket nyttige sopper hører hjemme i avnsittet, "ostens kjemi og bakteriologi".

MELKENES INFEBKSJONSKILDER.

I all melk, slik som den brukes i det daglige liv, er det rikelig av mikroorganismer som er kommet i melken på de forskjelligste måter, men en kan dog i denne henseende stille dem i to grupper: de primære og de sekundære melkebakterier. De første, er jurbakterier som har vært tilstede i melken allerede mens denne befant seg i juret, de siste er bakterier som er kommet til under og etter melkingen.

1. B a k t e r i e r i j u r e t .

Selv om det like inn i dette århundrede av forskjellige forskere er blitt hevdet at melken i et sunt jur er steril, må det nå ansees som fastslått at den i det øyeblikk den utmelkes er infisert.

Spørsmålet er nå hvorfra disse bakterier skriver seg, og hvorledes de har funnet vei inn i juret. Hvorfra de egentlig stammer, vet en ennå ikke, men det synes som ku smittes fra ku og da antagelig hyppigst gjennom melkeren eller strøet i båsen. Da spennenes lukkemekanisme ikke er absolutt fullkommen, er det vel tenkelig at bakterier etter hånden kan arbeide seg innover i melkecisterne og videre gjennom de fine melkekanaler. I alle fall er den først utmelkete melk alltid bakterierikere enn den sist utmelkete, som i mange tilfeller viser seg helt bakteriefri. Imidlertid kan det ikke annet enn virke overraskende at bakteriene slett ikke er de samme som alminnelig finnes i i strø, jord eller gjødsel, hvorfra en smitte mest naturlig synes å måtte fin-

ne sted. Bakterieflooraen er til og med meget fattig, og begrenser seg kun til noen ganske få vel karakteriserte former, som en sjelden eller aldri tref-fer på utenfor juret, og det er derfor ikke uten grunn at man har kalt dem "jurbakterier".

Er denne exogene (galaktogene) infeksjon den mest sannsynlige, så har det dog også vært hevdet at en hæmotogen infeksjon gjennom blodbanene ikke er utelukket. Herfor taler ikke bare dens spesifitet, men også den kjenns-gjerning at man ved undersøkelser av jur av nyslaktete dyr, dissekert under aseptiske kauteler, har ment å gjenfinne disse bakterier i kjertelsystemet. Det kan tenkes at de er rester etter en eller annen infeksjon som stammer fra tidligere sykdommer. Men hvorom a. er, så kan den hæmotogene infeksjon ikke tillegges den betydning som den exogene.

Det foreligger mangfoldige undersøkelser som viser at antallet av bakterier synker under melkingen. De første strå-ler kan inneholde tusener, ja millioner bakterier pr. cm^3 , kan de siste være bakteriefri. Ser en imidlertid bort fra de første, vil normalt antallet kun dreie seg om 500-600 pr. cm^3 . Det er dog å bemerke at infeksjonen i de enkelte jurfjerdedeler kan stille seg forskjellig.

Som allerede nevnt er bakterieflooraen sparsom også i kvalitativ henseende. Mest fremtredende er mikrokokker (tetrakokker) med hvite, gule, orange fargete kolonier, som til dels smelter gelatin om enn ulike hurtig. Overfor melken forholder de fleste seg nærmest indifferent, andre syrner den svakt uten koagulasjon, og atter andre er syre- og løpedannende, og etter kor-tere eller lengere tid kan fremkalle en koagulasjon og delvis oppløsning av kaseinet. Ikke sjelden meddeler de melken en dårlig smak. Deres regelmes-sige forekomst har ledet til å benevne dem "jurkokker". I flere henseender ligner de de alminnelige betændelsesbakterier, og flere forskere betrakter dem som avirulente former av pyogene stafylokokker, andre har holdt dem iden-tiske med de alminnelige hud- og luftmikrokokker.

Streptokokker forekommer også jevnlig i aseptisk melket melk. Mor-fologisk ligner de den kjente *Sc. mastitidis* og holdes for å være avirulente stammer av den. *Sc. liquefaciens* er gjentatte ganger påvist som jurbakterie. Den gir melken en bitter smak. De andre vanlige ekte melkesyrebakterier vil en som regel ikke finne representert.

Abortusbakterier forekommer rett ofte og kuer som har kastet kan ut-skille dem med melken og de kan holde seg i denne ofte i lange tider.

Vi skal forevrig ikke her komme nærmere inn på disse forhold som mer inngående er behandlet i forelesningene om melkehygiene, men kun poeng-tere at "jurbakteriene" ikke bare kan betraktes som en banal forurensing av

jurets indre, derimot taler den omstendighet at det ikke lykkes varig å kunne kultivere hvilke som helst andre bakterier i det. Man har innført i juret en rekke av de normale melkebakterier, men aldri har man fått dem til å bli varige beboere av juret, selv om det nok kan gå noen dager innen de helt forsvinner. Og årsaken må ligge i melkens naturlige baktericiditet, som kun visse bakterier formår å motstå i lengere tid.

Svekkes på en eller annen måte organismens evne til å utskille tilstrekkelig av de baktericide stoffer, øker bakteriemengden, og betendelse kan eventuelt inntre. En sådan svekkelse oppstår lett ved forkjølelse eller febersykdommer, eller når juret ikke tømmes fullstendig ved hver melking. Men som allerede foran nevnt under vanlige forhold er jurfloraens innvirkning på melken i juret neppe påviselig, aseptisk melket melk kan derfor holde seg uforandret i lange tider når den ikke utsettes for ytre infeksjon, dog mangler der ikke eksempler på at syre- og løpedannende tetrakokker i løpet av få dager kan fremkalle en koagulasjon, en fettspaltnng og dårlig smak i melken.

Under melkingen begynner den sterkere infeksjon av melken, og denne skriver seg dels fra støv, dels fra løsrevne gjødselpartikler, hudskjell og hår fra kuas kropp.

2 . Støvet .

Foruten den banale luftinfeksjon kommer ved melkingen også i betraktning den spesielle mikrobielle flora som følger med det støv som alltid hvirvles opp under fjøsstellet. Mens mengden av mikrober i fri luft hovedsakelig avhenger av værlaget, beror den i fjøsluften vesentlig av den ro som hersker i fjøset under melkingen, og på den orden hvori fjøsarbeidene foregår. Det foreligger en masse undersøkelser herover, men det sier seg selv at det er umulig å oppstille noen almenyldige tall. Kimantallet i luften bestemmes på to måter, enten ved det antall kim som pr. minutt faller ned og kommer til utvikling på en næringsagar pr. 100 cm² flate, eller ved det antall kim som finnes i en liter, idet luften i så fall ved prøven suges gjennom en steril væske eller filter som senere spredes i næringsgelatin. Det er innlysende at de funne verdier kun er tilnærmelsesvis riktige, da ikke alle mikroorganismer kan forutsettes å komme til utvikling på eller i næringssubstratet.

For å gi noen eksempler på luftens kiminnhold under forskjellige forhold fant

<u>Bolley</u> i fri luft	10 kim pr. 100 cm ² pr. min.
under føring i fjøset	800 " " " " "
<u>Koning</u> i forskj. fjøs	160-1047 " " " " "

<u>Burri</u> om formiddagen under fjøsstellet	637	kim pr.	100	cm ²	pr. min
i middagspausen	64	" "	" "	" "	" "
<u>Ruehle</u> i tomt fjøs	41	kim pr.	1	liter	luft
under melkingen	50-100	" "	1	" "	" "
under fôringen	1000-2000	" "	1	" "	" "

Infeksjonen fra luften består som allerede nevnt i et tidligere kapittel (luftbakteriene) overveiende av mer eller mindre indifferente mikrokokker og torulagjær, hvortil slutter seg jordbakterier og muggsopper. Som det fremgår av ovenstående, spiller den en relativt underordnet rolle i forhold til den infeksjon som under melkingen er uunngåelig ved at partikler fra kuas hårlag faller ned i melkebøttene. Hårlaget huser alltid betydelige mengder av hudbakterier vesentlig mikrokokker. Hvilken praktisk betydning disse kan ha i kvantitativ og kvalitativ henseende for melken, savnes det nærmere undersøkelser over, derimot har den infeksjon som skraver seg fra fôrmidler, gjødsel og størtikler som er heftet til hårlaget vært gjenstand for inngående studium.

3 . F o r e t .

Det er selvsagt at det er mikroorganismer på plantedekket. Kim som svever i luften vil før eller senere falle ned ved egen vekt eller med nedbør, og ved regn sprøytes også jordpartikler med sine mikroorganismer opp på plantene. Alle undersøkelser viser at plantedekket er sete for en bestemt bakterieflora, og likesom man kan tale om "jordbakterier" og "vannbakterier" kan man også tale om "plantebakterier". Undersøkes f.eks. gress, så finner en pr. g plantesubstans noen tusen til millioner kim, og disse utgjøres overveiende av bestemte arter som leverer og formerer seg på plantenes ytre. De finnes her under hele vegetasjonsperioden, så vel etter tørke som regn. Etter tørke øyensynlig i en hviletilstand beskyttet ved et slimhylster.

I følge Burri og Düggeli er *Bacterium herbicola* den hyppigste bakterie, men som før nevnt har denne liten innflytelse på melken. I annen rekke kommer andre fluorescenter, i tredje rekke aerogenesbakterier, aerobe sporedannere, smørsyrebakterier, gjær og muggsopper. Er det gjødslet med husdyrgjødsel (ved beiting) vil koli- og melkesyrebakterier kunne innta en fremtredende plass.

På rotfruktens blader og selvfølgelig på røtter og knoller er jordbakteriene dominerende, og er rotfruktene skadet, huser de en masse aerogenes- og proteus bakterier samt slimdannere.

På løv finnes store mengder gjær og sopp.

Det er rimelig at årstiden har innflytelse på plantedekkets flora.

Gruber fant således i mai flest koli-aerogenesbakterier, i juni mest torula og fluorescenter, i juli Bact. herbicola og rosagjær, i september fluorescenter.

Selvfølgelig er disse funn ikke representative, andre forskere er kommet til avvikende resultater, bakteriefloraen kan også veksle fra den ene eng eller beitemark til den annen, og dessuten har værslaget stor betydning. I råkalt vær er de psykrotolerante fluorescenter, aerogenesarter alltid til stede i ofte store mengder.

Ved gressets tørring går en masse av bakteriene til grunne, eller de henses i en dvale- eller sporetilstand. Under denne tørring foregår der visse omsetninger i plantematerialet som har stor innflytelse på førets kvalitet, spesielt på dets aroma. Disse omsetninger består i glukosidspaltninger ved enzymer i plantecellene, og de opphører når vanninnholdet synker under ca. 40 %. Tørres gresset kunstig, uteblir aromadannelsen fullstendig. Hvis ugunstige innhøstingsforhold hindrer en normal inntørring, vil høyet mugne.

Ved ensilering nedlegges plantematerialet i fersk og fuktig tilstand, plantecellene er fullt vitale, og ved åndingen utvikles varme. Hvor lenge åndingen vil vare og hvilken temperatur som nås, beror på hvor meget luft det er i massen. Løs pakking, dårlig dekking vil dessuten betinge utvikling av de aerobe eggehvitespaltende bakterier. En lett pakking og rikelig fuktighet derimot veksten av melkesyrebakterier som snart setter en stopper for enhver proteolyse. Ved pH 4,5-4,0 vil både koli-aerogenes og proteolytene være slått ut og ingen sporer evner å spire. Melkesyregjæringen opphører først ved pH 3,5. Det er å merke at det er betabakteriene som her er i virksomhet, og da disse ikke trives synderlig godt i melken er de nærmest betydningsløse selv om de senere måtte komme i melken.

Smørsyrebakterienes utvikling er av særlig interesse. Alminnelig er det ikke så mange av dem på gresset at de er farlige for melken, selv om sporene kan tåle den sure reaksjon. Anderledes stiller forholdet seg hvis surhetsgraden av en eller annen grunn lar tilbake og ønske. Når en ved analyse av ensilage ofte vil finne at antallet av smørsyrebakterier veksler i forskjellige deler av siloen, så ligger årsaken dels i at plantematerialet har vært ulikt smittet, dels i en mangelfull pakking. Men når man til like kan gjøre den erfaring at et silofôr som kun inneholder få smørsyrebakterier kan gi anledning til en så sterk infeksjon av melken at denne f.eks. ikke egner seg til schweitzerostysting, mens en annen ensilage kan inneholde kolossale mengder uten skadelige følger, så må det erindres at det er to grupper av anaerobe smørsyrebakterier, og at det er den laktatforgjærende som er far-

lig for osten, mens den annen gruppe nærmest kun er uglesett ved konservering av melk.

En hver ensilering ved spontan syring innebærer som det forstås muligheter for en utvikling av smørsyrebakterier, men faren herfor er desto mindre jo hurtigere surhetsgraden kan bringes opp i en høyde da all mikrobiell utvikling stanser. Det er dette som oppnås ved A.I.V.-fôret, hvor surhetsgraden straks bringes ned til en pH 4,0. Her stopper ikke alene all gjæring, men da det brukes uorganiske syrer, blir det heller ikke tale om dannelse av laktater. Når en til tross herfor kan være utsatt for de skadelige smørsyrebakterier, må årsaken søkes i at silomaterialet har vært usedvanlig smittet av disse, eller syren er blitt ujevnt fordelt.

I de fleste kraftfôrstoffer varierer mikrofloraen innen vide grenser både m.h.t. antall og arter. Det beror selvfølgelig på råmaterialenes art, og de prosesser som de har gjennomgått og på deres oppbevaring. Forøvrig savnes det for en stor del systematiske undersøkelser. Wigger fant i kli 0,5-15 mill. kim pr. g og isolerte 23 forskjellige arter, hvorav 18 lot seg identifisere. Sterkest representert var *Bact. herbicola*, dernest uekte melkesyrebakterier av de forskjelligste varieteter, fluorescenter og potetbaciller, men ikke smørsyrebakterier. I jordnøtt- og sesammel var antallet mindre, kun fra noen tusen til et par mill. pr. g, men til gjengjeld mer broket som det isolertes nær 50 forskjellige arter, hyppigst aerobe sporedannere og uekte melkesyrebakterier av samme slags som i kli. Fluorescenter derimot kun i beskjedent antall.

Når vanninnholdet i kraftfôrstoffene ikke stiger over 12-14 % skjer det neppe noen utvikling av bakteriene, men er det høyere, er det uunngåelig at de går i gjæring, og da er det de uekte melkesyrebakterier og mugg som blir dominerende.

Infeksjonen av melken ved mikroorganismer i fôret skjer dels gjennom støv, dels ved at kua slikker seg på kroppen og forrester derved blir heftende til hårlaget, men infeksjonen skjer sikkerlig i høyere grad indirekte gjennom gjødselen.

4 . G j ø d s e l e n .

I forsk kugjødsel kan bakterieantallet variere innen meget vide grenser. Eksempelvis fant Allen 20-500 millioner pr. g, men det kan være både større og mindre. Etter at gjødselen er kastet, øker antallet, og helt eller delvis inntørkede gjødselpartikler inneholder mangfoldig ganger flere - milliarder. I sin alminnelighet er således den direkte forurensing av melken med

fersk gjødsel av langt mindre betydning enn av de inntørkede partikler som hefter ved kuas hårlag eller svever omkring som luftstøv.

Enskjønt gjødselens bakterieflora er allsidig, så er det allikevel relativt få bakteriegrupper som danner den store masse, og disse er da slike som er tilpasset forholdene i tarmkanalen og her har sitt naturlige oppholdssted. De betegnes derfor som den obligate eller endemiske gjødsel flora. Hos kua er vommen å betrakte som det rene drivhus, bakterieformeringen er her enorm, særlig gjelder dette de celluloseförgjærende bakterier, som dog har liten eller ingen betydning som melkebakterier. Formeringen synes ikke å stanse hverken i nettmagen eller bladmagen, først i løpemagen hvor reaksjonen er temmelig sur, pH 5,3, begynner en desimering særlig av celluloseförgjærende og proteolytiske bakterier, og denne fortsetter i tynntarmen. Reaksjonen er her nær nøytral, pH 6,3-7,0, så tilbakegangen skyldes den baktericide virkning av de tarmsekreter som blandes i føden. Antallet av bakterieceller i den utskilte gjødsel er enorm, men bare en brøkdel av dem er levende.

Som infeksjonskilde for melken har kvantitativt sett gjødselens betydning til dels vært aldeles overvurdert. Under eksepsjonelt ugunstige produktjonsforhold kan naturligvis infeksjonen være sterk, men ved alminnelig pent fjøsstell vil den lett kunne holdes under 5000 km pr. cm³ melk. Men i kvalitativ henseende er selv en ubetydelig infeksjon meget viktig, for fra denne kilde stammer de ernæringsfysiologisk og meieriteknisk så betydningsfulle normale melkebakterier.

Av de mange undersøkelser som foreligger om den endemiske flora skal vesentlig omtales de meget både omfattende og grundige som i 1934 er foretatt av schweitzeren Baumann. Han fant at den største gruppe utgjøres av gassdannende Gram-negative staver tilhørende koliaerogenesbakteriene. I gjødselen fra kalver som vesentlig lever på melk, vekslet antallet av disse fra 100 millioner til 1 milliard pr. g, og dette var omtrent utelukkende koliformer. Etter hvert som melkefôringen opphørte, sank kolititeren, og i eldre kuers gjødsel svinget innholdet av gassdannere mellom 10.000 og 100.000 pr. g. Dette bekrefter helt tidligere undersøkelser av Dorner. Det store flertall er fremdeles kolibakterier i mange varianter, og hva der er viktig, de har alle til felles at de er svake gassdannere og derfor ikke så farlige for melkens anvendelse som man tidligere holdt disse "ku-koli" for å være. Imidlertid er det en gammel erfaring som også i disse undersøkelser ble bekreftet, at ved fordøyelsesforstyrrelser, ved fôring med gjærete eller bedervete fôrstoffer eller ved magesyke, skjer det en forskyving i bakterienes fysiologiske egenskaper i retning av en ofte voldsom gassproduksjon, og hos enkelte kuer kan

disse variasjonsformer sette seg fast for lenger tid.

Med magesyke følger en flytende og stinkende gjødsel og en tilsvining av kua. Mulighetene for en infeksjon av melken med de uheldige kolibakterier er da for hånden. Imidlertid må en ikke herav trekke som alminnelig gjeldende den slutning at en løs avføring er faretruende, i mange tilfeller, og især på beite, skriver den seg fra en lakserende virkning av fôret, gjødselen er i bakteriologisk henseende normal.

Aerogenesbakteriene hører slett ikke til den obligate tarmflora, men periodevis kan de opptre i betydelige mengder, navnlig ved fôring med jordbestenkte, skadete rotfrukter eller grønnfôr. Med dårlig drikkevann i fjøset følger også ofte disse bakterier, som er meget kraftige gassdannere.

De ekte melkesyrebakterier er den neste store gruppe av gjødselbakteriene, ja under tiden kan det være flere av dem enn av koli. Det er streptokokkene som absolutt trer i forgrunnen. Baumann fant at av 70 isolerte utgjorde:

Sc. bovis.....	ca. 60	%
Sc. faecium	25	%
Sc. inulinaceus	9	%
Sc. lactis	5	%
Sc. glycerinaceus	1	%

Sc. bovis og Sc. faecium regnes derfor som endemiske gjødselbakterier. Det er ganske påtagelig at de andre streptokokker, selv om de er opp tatt i store mengder med fôret, ikke unngår den sterke desimering som finner sted i løpemagen og tynntarmen. Det samme gjelder også betakokkene, det lykkes således ikke Baumann å isolere disse fra gjødsel.

Tetrakokkene hører også til den endemiske mikroflora, og er så tallrikt representert at de i antall ligger nær opp til streptokokkene. Det er forskjellige former av Tc. liquefaciens som er de dominerende.

Stavformer mangler selvfølgelig ikke, men det er alene de heterofermentative Bbm. breve og Bbm. longum som forekommer regelmessig i større antall. Streptobakteriene er langt sjeldnere, og termobakteriene kan det ofte være vanskelig å finne, i alle fall i gjødsel fra voksne dyr. Derimot er de regelmessig i kalvegjødselen så lenge kalvene får melk. Dette er forklarlig når det erindres at disse bakterier med hensyn til kvelstoffnæringen stiller usedvanlig store krav. De må derfor nærmest betraktes som tilfeldige passanter av tarmkanalen. Når de til tross for den beskjedne stilling de inntar i infeksjonen av melken, spiller en så overordentlig stor rolle som ostebakterier, ligger dette i at man i ystingsteknikken favoriserer deres utvikling.

Propionsyrebakterier forekommer også mer tilfeldig i kugjødselen, men i meget vokslende mengder. Baumann fant disse kun i 3 av 29 gjødselprøver,

og i disse 200 til 50.000 pr. g.

Smørsyrebakterier og anaerobe putrificusarter må henregnes til den fakultative gjødselflora, hvis betydning dog ikke må undervurderes.

5 . S t r ø m i d l e n e .

For renholdet av dyrene er bruken av strøelse meget viktig, men ikke alle strømidler er gode, sett fra meieristandpunkt. De mest anvendte er torvstrø, sagmugg, halm, løv og jord. Mikrofloraen i disse er nokså forskjellig, men den beror umåtelig meget av selve strømidlets kvalitet. De mest omfattende undersøkelser herover er gjort av Kürsteiner, og resultatene kan resymeres derhen at torvstrø ubetinget er å foretrekke fremfor noen andre strømidler, da det kun inneholder mikroorganismer som dårlig eller slett ikke vokser i melk. Sagmugg er også ganske bra, mens derimot halm og løv er nokså tvilsomme. Jord er forkastelig som strømiddel på grunn av sitt store innhold av alle slags aerobe og anaerobe eggehvitespalttere.

Man har flere eksempler på at slemme melkefeil, f.eks. seig-melk, som det kan være meget vanskelig å bli fri, har skrevet seg fra en infeksjon av "fremmede" bakterier fra dårlig strø.

6 . M e l k i n g e n .

En infeksjon av melken fra de her omtalte kilder er uunngåelig under alminnelige forhold, men infeksjonsgraden vil bero på fjøsstellet, på arbeidsordningen i fjøset og på den omhu som ofres dyrenes røkt og pleie, samt den properhet ved melkingen som vises fra fjøspersonlaets side. Mangfoldige er de undersøkelser som i årenes løp er utført til påvisning herav. Så ulike de forhold er hvorunder melken produseres, er det hensiktsløst å gå nærmere inn på resultatene av de foretatte bakterietellingene, men det er å merke at den vesentlige infeksjon finner sted under melkingen ved den "regn" av partikler av forskjellig art som løsner fra kuas hårlag. En begrensning av denne forurening vil oppnås ved at dyrene holdes omhyggelig pusset, og at juret og dets omgivelser før melkingen strukes over med en tørr klut.

En forminskelse av denne infeksjon, og den som kan være en følge av manglende properhet hos melkeren, skulle a priori ventes ved maskinmelkingen, men praktisk erfaring, som også vitenskapelig funderte forsøk, har vist at den bakteriologiske kvalitet av den maskinmelkete melk på ingen som helst måte stiller seg bedre enn den ved alminnelig properhet håndmelkete. I høyden kan den måle seg med denne, i alminnelighet er den dårligere. Årsaken hertil lig-

ger ikke i selve melkingens mekanikk, men i de ulemper som står i forbindelse med manglende påpasselighet ved selve melkearbeidets utførelse (pattekoppene faller av under melkingen og suger strøelse) og en utilfredsstillende rengjøring av maskinen og dens enkelte deler. Foruten at den etter hver melking må foretas en gjennomskylling med kaldt, rent vann, børsting av pattekoppene innvendig, må pattekopper og melkeslange inntill mellom melkingene stå fylt med desinfeksjonsvæske (klorvann) og denne før neste melking skylles ut med kaldt vann. Hver 14. dag må det foretas en hovedrengjøring, idet alle maskiners deler tas fra hverandre, børstes og desinfiseres.

Ved de meget omfattende undersøkelser som i 1939 ble foretatt av det danske forsøksmeieri med en Manus melkemaske, viste det seg at mens bakterieinnholdet i den håndmelkete melk dreiet seg om 10-20.000 pr. cm³, var det i den maskinmelkete etter alminnelig rengjøring av maskinen nærmere det 10-dobbelte, men at det ved en gjennomført desinfeksjon lot seg gjøre å tvinge antallet ned i nærheten av den håndmelkete.

Ved sammenlignende forsøk med 9 forskjellige maskiner kunne det ikke konstateres noen forskjell i hygienisk henseende.

7 . K a r o g r e d s k a p e r i m e l k e s t e l l e t .

Selv om disse ikke er noe naturlig voksested for mikroorganismer, så er det et faktum at tallrike bakterier finnes på og i alle kar, redskaper og apparater som melken kommer i berøring med, og utvikler seg i en utrolig grad selv i de minste rester av melk som måtte hefte til dem. Kontaktinfeksjonen vil derfor bero på den omhu som er blitt ofret rengjøringen, og de forhold hvorunder vedkommende redskaper er stillet med hensyn på muligheter for nyinfeksjon.

Vannets bakteriologiske kvalitet kommer da først i betraktning. På gårdene når vannet brukes som drikkevann i fjøset og til rengjøring av melkekjørel, i meieriet til rengjøring, til kjøling, til skylling av smøret og som tilsetning under ystingen. Bakterieinnholdet beror på vannets opprinnelse og på reservoarenes beskaffenhet. Som regel er jordbunnen bakteriefri allerede i få meters dybde, og derfor er vann fra oppkomme og dype brønner bakteriefattig. Overflatevann kan derimot være av høyst forskjellig kvalitet. I større sjøer er det som regel renest, i elver og bekkefar som regel tvilsomt, og i åpne dammer med tilsig fra eng og åpen åker, ofte med et rikt både dyre- og planteliv, er bakterieinnholdet enormt.

Vannforsyningen på de enkelte gårder later gjennomgående meget tilbake å ønske, men også i mange meierier er vannet utilfredsstillende, og volder

ulemper som har krevet anskaffelse av kostbar renseanlegg.

De bakterier som forekommer i vannet tilhører overveiende for det meste harmløse, luftmikrokokker, men ellers vesentlig aerobe proteolytiske bakterier, særlig fluorecenter, og koli-aerozenesbakterier. / Hvilke farlige bakterier disse er sett fra meieristandpunkt, er tidligere utførlig forklart. Kun skal nevnes at man til et godt vann stiller det krav at det ikke bør inneholde over 100 kim pr. cm³, og herav ikke mer enn høyst 1/2 % gelatinsmeltere og ingen kolibakterie i 0,1 cm³.

Kontaktinfeksjonen er hovedkilden til det store bakterieinnhold som melken kan oppvise ved mottagelsen på meieriet, og årsaken ligger i en mangelfull rengjøring av melkebøtter, siler og transportspann.

Til belysning av dette forhold utførte Prucha og medarbeidere ved New York Exp. St. en rekke bakteriologiske analyser. Gjennom fire måneder ble melken daglig kontrollert i tre fjøs, som med hensyn til innredning, stell, melking etc. måtte betegnes som sjelden propert, jevnt pent og mer enn alminnelig mangelfult. Melken ble melket i sterile bøtter og den ble kontrollert etter hvert som en ku var melket. Infe sjonen hitrørte altså fra selve fjøset og melkingen.

Fjøs	Antall		Antall prøver med kim pr. cm ³					Gjennomsnitt kim pr. cm ³
	kuer	prøver	1000	1000-5000	5000-10000	10000-50000	50000	
1	72	860	472	297	56	29	6	2639
2	47	567	405	153	4	5	0	920
3	19	238	19	127	57	34	1	5777
Sum	138	1665	896	577	117	68	7	2428
		%	54	35	7	4	0,4	

Det fremgår herav at den infeksjon som altså utelukkende hitrørte fra selve fjøset og melkingen er forbausende lav, men det var også overaskende at det var så liten forskjell i bakterieinnholdet i melken fra de forskjellige fjøs, til tross for at betingelsene for infeksjon skulle synes å være ulike, og videre at melken fra det fineste fjøs var sterkere infisert enn melken fra fjøs nr. 2. Forklaringen herpå var imidlertid den at i det fine fjøs, og forøvrig også i det dårlige, stod det flere kyr hvis melk allerede i juret var sterkt bakteriesmittet. En kontroll av jurinfeksjonen ga nemlig følgende resultat:

Fjøs	Antall kuer	Antall kuer med melk med kim pr. cm ³			
		1000	1000-5000	5000-10000	10000
1	72	30	35	5	2
2	47	30	17	0	0
3	19	0	11	6	1

Resultatet var altså at selv under de ulike omstendigheter var det

vel mulig å produsere en melk med et bakterieinnhold under 6000 pr. cm³ når melkebøttene var propert preparert.

For nå å få et innblikk i hva melkebøtter, siler og transportspann kunne bidra til melkens infeksjon, ble det på tre gårder foretatt bakterietelling i melken straks etter at den var silt på transportspannene. I en serie av undersøkelser ble redskapene vasket i sodavann, skyllet i rent vann og så hengt opp til tørring på en rekke, i en annen serie ble alle redskapene etter vaskingen dampet forsvarlig.

Det gjennomsnittlige bakterieinnhold i melken i de fylte spann var:

	Gård I	II	III
Kun vasking og skylling	301 000	326 880	218 930 pr. cm ³
Også damping	4 685	3 157	124 000 " "

Den gunstige virkning som dampingen har, skylles for en stor del at redskapene også hurtig tørrer, og for å oppnå dette, skal ikke lokkene legges på spannene, og disse skal hvelves.

Et eksempel på tørringens betydning er følgende: I et meieri ble etter dampingen spannene hvelvet uten påsatt lokk, en annen del straks lukket. Spannene henstod så i et rom ved 16-21^o i 30 timer og bakterieinnholdet i dem bestemt. I de første fantes gjennomsnittlig 255 800 kim, i de siste 54 988 000 kim. Hvis nå spannene ble fylt med melk, ville disse bakterier forøke melkens kiminnhold med 8, henholdsvis 1 816 kim pr. cm³.

Den omhu som vies rengjøringen av melkekar og melkeredskaper avspeiler seg utvetydig i melkens bakterieinnhold. Med hensyn til de tekniske foranstaltninger som må treffes for å redusere kontaktinfeksjonen til et minimum, så blir disse nærmere omtalt i forelesningene over maskinlæren under rengjøringsmidler og vaskemaskiner.

De bakterier som i større eller mindre grad hefter til de rengjorte redskaper, skriver seg selvfølgelig dels fra den melk som de har vært i berøring med, dels fra rester av vaskevann. I sin alminnelighet kan det sies, at jo bakterierikere melken har vært, desto vanskeligere er det å få et spann helt befridd for kim, men hovedinfeksjonen ligger dog i vaskevannet, og det er klart at dettes kimrikdom kan bli rett stor hvis melken har vært bakteriefyllt og spannene skitne, og hvis mange spann vaskes i samme porasjon vann.

Bakterieartene kan være mange, men hovedmassen er melkesyrebakterier og fluorescenter.

MELKENS BAKTERICIDE EGENSKAP.

Da melken allerede i juret inneholder bakterier, skulle man tro at forholdene her både m.h.t. næring og temperatur skulle ligge gunstig an for en livlig utvikling av disse bakterier, selv om juret regelmessig tømmes ved melkingen. Når imidlertid dette ikke er tilfellet, må årsaken hertil søkes i at melken inneholder visse substrater som virker enten hemmende på bakterienes vekst eller likefrem drepende - baktericide, og dette er så meget mer påtagelig som bakterieantallet avtar i de første timer etter at melken er melket.

At melken er i besittelse av en spesifikk baktericid evne er naturlig, da både blod, blodserum og legemssaft forøvrig har denne egenskap.

Når det blir spørsmål om hvilke substanser det her dreier seg om, da er oppfatningene meget delte. Melken inneholder en masse leukocyter, og disse kan tenkes å opptre bakterieødeleggende, dels ved å være fagocytter, dels ved de hemningsstoffer som de inneholder. En støtte for denne oppfatning avgir det faktum at råmelk har en kraftig baktericid virkning, men da melkeserum som er befridd for leukocyter også virker baktericid, er denne forklaring ikke tilstrekkelig, og man har herav trukket den slutning at det er de alminnelige i blodet forekommende beskyttelsesstoffer (aleksiner, agglutiner, bakteriolyser) eller oksyderende enzymer som er aktive.

Den baktericide egenskap er forskjellig utpreget, ikke alene i melk fra forskjellige individer, men også i melk fra de forskjellige jurfjerdedeler. Videre er den baktericide virkning høyst ulik og for forskjellige bakteriearter, ja stammer av samme art.

Denne variabilitet gjør seg også gjeldende med hensyn til intensitet og varighet. Som eksempel herpå skal anføres etter Meier. I alminnelig renlig melket melk var tilbakegangen eller økingen i kimantallet, uttrykt i prosent av det opprinnelige, følgende i melk fra 5 forskjellige kuer:

Ku	1	2	3	4	5
4 timer etter melkingen	- 70	- 25	- 33	- 10	- 14
7-8 " " "	- 86	- 17	- 54	+ 11	+ 72
12 " " "	+ 14	+ 108	- 6	+ 255	+ 835
15 " " "	+ 567	+ 983	+ 115	+ 1 189	+ 9 683
18 " " "	+ 3 186	+ 6 567	+ 750	+ 5 948	+ 32 509

Melken henstod ved 18-20°

Intensiteten og varigheten er forøvrig avhengig av forskjellige faktorer. For det første beror den på melkens opprinnelige kiminnhold, acceptisk melket melk viser således en sterkere baktericiditet enn melk melket under van-

lige forhold. For det annet beror den på den temperatur ved hvilken melken oppbevares, og hvor hurtig den avkjøles.

Med hensyn til den temperatur ved hvilken intensiteten er sterkest er iakttagelsene divergerende, enkelte forskere angir legemsvarme, andre temperaturer ned til 5°, men deri er de fleste enige at varigheten er størst ved lave temperaturer.

Meier fant den tid da der fant en bakterieforminskelse sted gjennomsnittlig:

	Alminnelig melking	Aseptisk
Melken oppbevart 13-14°	19 timer	36
16-18°	7,6 "	12,7
30°	2,3 "	5
37°	2 "	3

og den gjennomsnittlige maksimale tilbakegang uttrykt i prosent:

	Alminnelig melking	Aseptisk
Melken oppbevart 13-14°	55 %	63 %
16-18°	42 %	41 %
30°	19 %	30 %
37°	13 %	9 %

I flere av hans forsøk forekom visstnok ved de enkelte temperaturer store avvikelser, men i alle tilfeller var varigheten størst ved de lave temperaturer, og dette er i overensstemmelse med at enkelte forskere har funnet den "baktericide fase" ved 4-7° å kunne strekke seg over flere dager.

Dette lar seg også forklare. Ikke minst de alminnelige jurbakterier, men også bakteriene som utenfra er kommet i melken, har overveiende en optimaltemperatur omkring 30°. Ved de lave temperaturer opphører i alle fall enhver vekst for de første og for mange av de siste, og i den lite vitale tilstand hvori de befinner seg, må det antas at motstandskraften mot de baktericide stoffer er redusert og de derfor lett går til grunne. For de sistnevnte bakteriers vedkommende vil sannsynligvis også melken i flere tilfeller ikke tilfredsstillere deres næringskrav, og som følge herav, dør de hen.

Vitalitetens betydning belyses ganske utvetydig ved at en melks baktericide virkning er langt større overfor bakteriene når de befinner seg i den stasjonære enn i den positivt accelererende vekstfase.

Orla-Jensen og Jacobsen undersøkte virkningen av den baktericide kraft i melken fra 40 kuer. Morgenmelken var ved undersøkelsen 3-4 timer, aftenmelken 15-16 timer gammel. Melken oppbevartes ved 5° og etter 24 timer viste det seg i ca. 1/3 av prøvene en bakterieforminskelse, i 1/3 en formering og i 1/3 var antallet uforandret. Tilfeldigvis var forminskelsen hyppigere i af-

tenmelken, så melkens alder synes ikke alltid å ha noen avgjørende betydning for dens baktericide kraft. Hva det kommer an på, er om melken inneholder eller tilføres bakterier som kan vokse ved lav temperatur, og disses følsomhet overfor baktericiditeten, og her er det som foran nevnt ulikheter, noen f.eks. fluorescenter, synes slett ikke å påvirkes, andre kan slett ikke vokse i aseptisk melk.

Hva spesielt melkesyrebakteriene angår, er det ikke alltid lett å avgjøre om det er den baktericide kraft eller mangel på passende næring som gjør seg gjeldende. Eksempel herpå gir følgende forsøk hvor forskjellige stammer av streptokokker ble overført i forskjellig behandlet melk ved 23° og syredannelsen bestemt etter 1 døgn.

Stamme	Sc. lactis		Sc. cremoris	
	39	18	18	32
Aseptisk melk	5,0	0,2	4,7	0,0 ‰
" + gjærautolysat	4,5	1,9	4,8	5,1 melkesyre
"Ismelk" (avkjølet under melkingen)	5,1	1,4	4,8	2,6
" + gjærautolysat	5,2	4,1	5,2	6,1
Helmelk alminnelig behandlet	5,6	5,0	5,0	7,0
" + gjærautolysat	5,6	6,1	5,2	7,2

Som foran nevnt har det hersket delte meninger om ved hvilken temperatur den baktericide kraft ytrer seg sterkest, men von Freudenreichs iakttagelse fra 1891 at den var tapt hvis melken i 1 time var oppvarmet ved 55°, eller i 20 min. ved 70°, ledet til den alminnelige oppfatning at de baktericide stoffer helt blir ødelagt ved 80°, og at de overfor visse bakterier sviktet, selv om melken ikke var oppvarmet så sterkt. Under sine studier over langtidspasteureringen av melk kom imidlertid i 1915 Orla-Jensen til klarhet over at den baktericide kraft slett ikke er så forgjengelig, og i de ovenfor omtalte undersøkelser fant de to forskere bl.a. at hvis melk oppvarmes til 63° i 30 min. eller 68° i 5 min. gikk bakterieantallet tilbake til noen få promille av det opprinnelige, og kjøltes og oppbevartes melken ved 5°, sank antallet ytterligere, hvis da ikke melken ble nyinfisert av de kuldetålende fluorescenter. Ble den pasteuriserte melk stående ved 20° i 1 døgn eller ved 15° i 2 døgn så steg bakterieinnholdet, men hvis melken da kjøltes og oppbevartes ved 5°, gikk antallet atter ned.

Også i høypasteurisert melk er det en baktericid kraft. Visstnok minker ikke bakterieinnholdet selv om melken etterpå oppbevares 1 døgn ved 5°, men det er heller ikke noen formering, hvis det ikke skjer en nyinfeksjon.

Av særlig interesse er naturligvis hvorledes melkesyrebakteriene forholder seg overfor den baktericide kraft. De undersøkte derfor den syretilvekst som forskjellige av disse bakterier fremkalte i rå og oppvarmet aseptisk melk

i løpet av 1 døgn ved 23° og 38-40°. For at mulig mangel på vitaminer ikke skulle gjøre seg gjeldende, tilsattes melken gjærautolysat. I følgende tabell gis noen eksempler, idet syretilveksten er angitt i promille.

Melken oppvarmet i 30 min. til	23°				38-40°		
	Sc. lactis	Sc. Cremoris	Sc. mast.	Sc. liquefa.	Sc. therm.	Tbm. helv.	Tbm. bulg.
Rå	1,4	2,1	1,7	0,8	5,1	1,9	5,9
63	2,1	3,7	1,7	0,8	5,2	1,6	5,3
70	5,6	4,8	2,5	0,9	5,4	8,0	5,1
75	6,3	4,8	4,8	4,1	5,4	10,2	4,4
80	6,2	4,8	5,1	3,7	5,3	10,9	4,4
85	6,3	5,0	5,1	3,7	5,5	10,7	4,2
90	6,5	5,0	4,7	3,9	5,7	11,5	4,5
95	6,4	4,8	5,1	4,2	5,4	11,6	4,8
100	6,4	5,3	4,7	4,3	5,6	12,0	6,2
115	6,3	4,8	2,9	3,8	5,1	12,6	11,5

Det er påfallende hvor ulikt de forskjellige arter har forholdt seg. De tre streptokokker lactis, cremoris og mastitidis viser som regel en kjennelig stigning i syredannelsen når melken har vært oppvarmet til 70°, men maksimum først etter oppvarming til 75°. De baktericide stoffer ødelegges altså ikke plutselig, men litt etter litt. I motsetning til disse, synes Sc. thermophilus å være temmelig ufølsom overfor melkens baktericide stoffer. Tbm. helveticum viser voldsomme sprang i syremengden så snart melken har vært oppvarmet over 63° og ytterligere over 70°, og den viser således samme følsomhet overfor melkens termolabile baktericide stoffer som de tre førstnevnte streptokokker, men dessuten stiger syremengden atter når melken har vært oppvarmet over 100°. Tbm. bulgaricum derimot generes slett ikke av de termolabile stoffer, den ligner for så vidt Sc. thermophilus, men den avviker fra denne ved å danne betydelig mer syre så snart melken har vært oppvarmet over 95° og særlig over 100°.

De enkelte stammer av disse bakterier kan nok fremvise noen variasjoner, men undersøkelsene viser uten tvil at melken foruten visse termolabile, men for øvrig temmelig stabile baktericide stoffer, som i hovedsaken ødelegges allerede ved oppvarming i 30 min. til 70-75° (eller momentant til 80°) og så inneholder mer termostabile veksthemmende stoffer som først ødelegges fullstendig ved 115-120°. Mens de aller fleste melkesyrebakterier hemmes i sin syredannelse av de termolabile stoffer og kun påvirkes ytterst lite av de termostabile, så påvirkes termobakteriene enten av begge (d- og inaktiv syre) eller fortrinnsvis av de mer termostabile stoffer (l-syre).

BAKTERIOFAGER I MELK.

En rekke sykdommer hos mennesker, dyr og planter skyldes forskjellige virusarter eller "filtrerbare smittestoffer". I 1915 iakttok Twort at også bakterier kunne angripes av slike smittestoffer som av d'Herelle ble kalt bakteriofager eller kort fag. Det eiendommelige ved bakteriofagene er at deres livsvirksomhet er knyttet til de levende bakterier som etter hånden fullstendig oppløses. I kulturer hvor bakteriene er drept eller i sterilt medium formerer de seg ikke. Ved alminnelige temperaturer holder de seg virulente i år, trives best ved sine vertsorganismers optimumstemperatur og drepes ved 65-70°. I en kultur med bakterier og bakteriofag blir ikke alltid alle bakteriene oppløst, et lite antall motstår bakteriofagernes angrep, de er blitt immune og utvikler seg uhindret, det er oppstått en ny stamme, som både morfologisk og fysiologisk kan avvike fra den opprinnelige bakterie. En bakterie som er resistent overfor en spesiell bakteriofag kan imidlertid være ømfintlig overfor andre bakteriofager.

Det er en alminnelig oppfatning at bakterier ager fremfor noen andre steder forekommer i menneskers og dyrs tarmkanal, men de er også påvist i jord og elvevann og særlig i kloakkvann. Det kunne derfor ikke virke overaskende når Sonnenschein i 1927 påviste bakteriofager i melk, som han mente skrev seg fra gjødselsmitte. Dette er så meget mer sannsynlig som forekomst av kolibakteriofager er rett alminnelig og bl.a. konstaterte Dorner i myse kolibakterier som reagerte overfor en bestemt bakteriofag. Men også de ekte melkesyrebakterier kan angripes av bakteriofager. Dette ble først påvist av Whitehead og medarbeidere som i 1934 i fra en syrevækker isolerte en bakteriofag som oppløste *Sc. cremoris* og derfor gjorde syrevækkeren ubrukbar til ysting, da syrningen i ystekaret stoppet opp. Senere er lignende iakttagelser gjort av flere forskere, og fenomenet kan tenkes å være årsak til de uregelmessigheter som under tiden oppstår ved syrelagingen. Av denne grunn må blandingskulturer ansees som mer betryggende enn renkulturer, da de må kunne forutsettes også å inneholde bakteriesterammer som ikke angripes av mulig tilstedeværende fager.

Melkesyrebakterienes fag synes å kunne være temmelig varmeresistente, Whitehead og Cox angir at en sikker ødeleggelse i melk først oppnås ved 1 times oppvarming til 65-70°, Mazé angir 5 min. ved 65-75° og Jokowlew isolerte fra en *Sc. cremoris* en fag som først døde ved melkens oppvarming til 80-90°.

Når fag-fenomenet sjelden gjør seg gjeldende i moderne syrer, beror dette på den kraftige pasteurisering av syremelken og den omhyggelige damping av alle redskaper.

M E L K E N S A L M I N N E L I G E B A K T E R I E F L O R A .

Vi har tidligere sett at det er ad mange veier melken kan bli tilblandet bakterier, men vesentlig vil infeksjonen avhenge av jurets bakterieflora, fjøsstellet, melkingen og rengjøringen av alle de kar og redskaper melken kommer i berøring med.

Et karakteristisk eksempel på det bidrag som disse infeksjonskilder under ganske alminnelige forhold yter til melkens bakterieflora er følgende:

Fra juret stammet	400
" luften	20
" melkingen	5 400
" melkebøtter, siler og spann	<u>46 000</u>
	51 820 kim pr. cm ³

Som det lengere fram skal påvises, vil det ved en gjennomført renslighet ikke falle vanskelig å få bakterieantallet i melken, idet den forlater fjøset, redusert til 10 000-20 000 kim, ja til ennå mindre, hvis det ikke på fjøset står alt for mange kuer med et usedvanlig høyt bakterieantall i melken i juret.

I hvilken grad de bakterier som nå engang er kommet i melken vil formere seg, vil vesentlig bero på den temperatur ved hvilken melken oppbevares, dens baktericide kraft, det opprinnelige bakterieantall og de bakteriegrupper som er representert i melken.

En hurtig og kraftig avkjøling har, som noksom bekjent, overmåte meget å si. Hunziker fant i en melk med opprinnelig 5 000 kim pr. cm³ etter 24 timer ved:

5°	2 400
10	7 000
18,3	280 000
35	12 500 000

Et annet eksempel er følgende: En melk som straks etter melkingen inneholdt 80 000 bakterier pr. cm^3 ble delt i tre porsjoner og disse ble satt til avkjøling i vann av forskjellig temperatur. Etter 16 timer var antallet ved

0-1°.....	60 000
8.....	200 000
14.....	4 480 000

Den kraftige avkjøling har ikke alene kunnet hindre en bakterietilvekst, men endog bevirket en påtagelig tilbakegang.

Ved melkens frysepunkt eller lavere, er all bakterievekst utelukket, og bakterieantallet vil tillike minke, men så snart temperaturen kommer over frysepunktet, vil en utvikling gjøre seg gjeldende, og særlig fra 8-10° og oppover foregår det en accelererende tilvekst, og bakteriemengden blir i løpet av kort tid enorm. Ved 35° inntreer en viss stagnasjon og ved ca. 40° er tilveksten relativt langt mindre enn ved de lavere temperaturer. Bakterietilveksten ved de forskjellige temperaturer står selvfølgelig i forbindelse med de forskjellige bakteriegrupperes representasjon og de temperaturkrav som de stiller.

Ved 0-5° skjer det en utvikling av fluorescenter, alcaligenes- og proteusbakterier, som om de ikke alltid makroskopisk forandrer melken, i alle fall gir den en ubehagelig "gammel" smak, og for proteusbakterienes vedkommende kan deres toksiner tillike gjøre melken likefrem sunnhetsfarlig.

Oppbevares melken under 10°, vil den som regel først sent koagulere, og skjer dette, er det de acidoproteolytiske tetrakokker som er de virksomme. Ofte opptrer også de aerobe sporedannende eggehvitespalttere, slimdannende aerogenesbakterier og alcaligenesformer som gir melken såpesmak.

Ved 10-30° er det de ekte melkesyrebakterier, og fremfor alle andre *Sc. lactis*, som helt behersker terrenget, og melken koagulerer i løpet av kort tid. Til å begynne med kan også koliformer komme til utvikling, men taper helt i konkurransen. Henstilles derimot melken ved 37-38°, da vil koliformer gjøre seg gjeldende, selv om de opprinnelig var til stede i underordnet mengde, for her er vekstgrensen for de fleste betakokker og streptokokker nådd.

Ved 40-42° slæes kolibakteriene ut av de temotolerante melkesyrebakterier, tetrakokker og torula-arter.

Den temperatur ved hvilken melken henstilles, vil således være avgjørende for hvilke bakteriegrupper som vil komme til utvikling, og ved å benytte seg av dette forhold, lar det seg gjøre å påvise forekomsten av disse, selv om antallet i den ferske melk er underordnet. Ved systematisk å ompode

i steril melk, og henstille prøvene ved konstant temperatur, vil en oppnå en opphoping av angjeldende bakteriegruppe hvorfra de enkelte bakteriearter lett lar seg rendyrke.

Til tross for at det uten større vanskeligheter og oppofrelser lar seg gjøre å produsere en bakteriefattig melk, så leveres det på meieriet eller bringes i omsetning alt for ofte melk som inneholder hundre tusener av bakterier pr. cm³ og derfor har en utilstrekkelig holdbarhet. Søker en etter årsakene hertil, vil en i de langt overveiende tilfeller finne at enten er det mangler ved renholdet eller ved avkjølingen eller kanskje begge deler, og skyldes uforstand eller slurv. Så meget mer skjebnesvangre er følgene herav når melken skal transporteres over lengere strekninger, eller først etter lengere tid kommer til omsetning som konsummelk.

Fra den utenlandske litteratur kan det hentes utallige eksempler på hvor enormt mange bakterier det kan forekomme i den alminnelige rå konsummelk. Mange byer har i sine sunnhetsvedtekter bestemmelser for det maksimale bakterieinnhold som kan tillates. Her til lands har en ikke sådanne bestemmelser, men i Oslo og andre byers offentlige melkekontroll regnes for rå melk dog et innhold på mer enn 100000 for å være utilfretsstillende, for barnemelk 20 000. Et innblikk i de variasjoner som kan forekomme, gir resultatene av undersøkelser i Oslo i 1941.

Antall bakterier pr. cm³ etter platetellingsmetoden.

	Meierier og samle- stasjoner		Direkte leverandører			
			Rå melk		Barnemelk	
	Antall	%	Antall	%	Antall	%
Under 10 000	39	4,3	482	18,1	109	38,9
11- 20 000	104	11,4	570	21,4	90	32,2
21- 30 000	146	16,0	406	15,2	23	8,2
31- 40 000	83	9,1	242	9,0	17	6,1
41- 50 000	104	11,4	164	6,1	11	3,9
51-100 000	172	18,8	362	13,2	18	6,4
101-500 000	191	20,8	334	12,5	11	3,9
0,5- 1 mill.	43	4,7	83	3,1	1	1,4
1,1-10 "	30	3,3	25	0,95		
Over 10 mill.	2	0,03	4	0,15		
S u m	914		2672		280	

Når melken fra meieriene og samlestasjonene viste en mindre tilfredsstillende kvalitet enn melk fra enkeltleverandører, er dette naturlig, da den første ikke er så fersk som den siste som kan være over ett døgn gammel.

Det sees at ca. 80 % av den rå melk og 70 % av barnemelken er av tilfredsstillende kvalitet.

Sammenlignet med de oppgaver som foreligger i litteraturen, må Oslo-melken karakteriseres som meget god, men at det ennå er rom for reformer i melkebehandlingen, særlig er dette innlysende når en betrakter de betydelige vekslinger i melkens bakterieinnhold som finner sted fra måned til måned, ja uke til uke etter som værslaget veksler.

Natvig fant at mens praktisk talt alle prøver (99,1 %) hadde ferre enn 100 000 kim pr. cm³ i januar og februar, var det bare tilfelle med ca. 70 % i mai-oktober.

Som et kriterium på melkens forurensing med faste ekskrementer angis ofte dens kolititer. Natvig fant i 3488 prøver rå melk at vel 80 % ingen koliforme bakterier inneholdt i 0,1 cm³, men antallet veksler også her med årstiden, det er lavt i januar-april, men høyt i beitetiden.

De foran nevnte prøver er tatt ved dens ankomst til Oslo. Av en undersøkelse fra oktober-november 1937 illustreres den kvalitetsforringelse som melken lider ved distribusjonen:

Melken inneholdt ₃ Bakterier pr. cm ³	Prøver fra melkevogn		Prøver fra melkebutikk			
	Antall	%	Kl. 8-9		Kl. 11-12	
			Antall	%	Antall	%
Under 100 000	195	73,0	217	64,0	159	53,7
100 000-500 000	40	15,0	44	13,0	58	19,6
0,5 -1 mill.	14	5,3	19	5,6	22	7,4
1,1-10 "	16	5,9	42	12,4	27	8,2
Over 10 mill.	2	0,8	17	5,0	30	10,1

Det fremgår av tabellen at det er en betydelig nedgang i kvaliteten, som i første instans må motarbeides ved en mer omsorgsfull behandling av melken på produksjonsstedet.

Ved melkens spontane syring ved alminnelig stuetemperatur skjelner Orla-Jensen mellom tre stadier:

1. Livlig formering av den opprinnelige flora. Da denne er fattig på ekte melkesyrebakterier, fremkommer ved den som regel en mindre behagelig lukt og smak som betegnes som "blåsur".
2. Litt etter litt vinner *Sc. lactis* overhånd og melken vil koagulere samtidig som melkesyren for en del dekker over den blåsure smak.
3. Melkesyrestavene som sterkere syredannere, tar ledelsen, men samtidig utvikler seg også *torula*-arter og *Oospora lactis*. Mellom disse oppstår et samvirke, idet syren til dels fortæres av de sistnevnte, dels nøytraliseres av de basiske eggehvitespaltingsprodukter. Ved at melkesyren forsvinner, henfaller til slutt melken til forråtnelse, men det kan ta meget lang tid.

BAKTERIEFLORAEN I VARMEBEHANDLET
MELK.

I følge næringsmiddelslovens forskrifter for melk og fløte, forstås ved "varmebehandlet melk" melk som har vært opphetet over 46° . Betegnelsen omfatter således pasteurisering, koking og sterilisering.

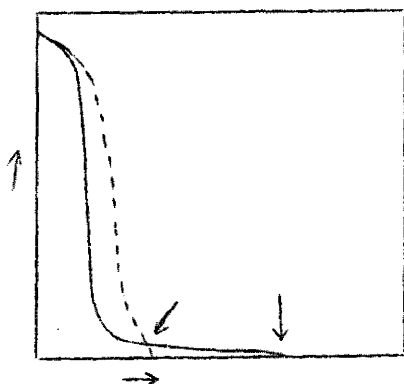
For pasteuriseringens vedkommende skjelnes mellom høypasteurisering som er en opphetning til over 80° , lavpasteurisering til $70-72^{\circ}$ i minst 15 min. og langtidspasteurisering til $62-63^{\circ}$ i minst 30 min.

Pasteuriseringens hensikt er i første rekke å drepe de for mennesker og dyr patogene bakterier som melken kan huse, men i meieridriften tillike å uskadeliggjøre de saprofyte bakterier som kan forringe melkens eller melkeproduktenes holdbarhet og kvalitet.

De temperaturer og tidslengder som finnes i definisjonen av de forskjellige pasteuriseringsformer er fastslått med sikte på en fullstendig uskadeliggjørelse av tuberkelbakteriene, og da disse er de mest varmeresistente av de patogene bakterier, sikrer de også ødeleggelsen av de andre, således som nærmere er omhandlet i "forelesninger over melkehygiene", hvortil henvises.

Selv om den store masse av de saprofyte bakterier også drepes like lett som de patogene, inneholder dog melken skadelige former som er mer varmeresistente og som derfor til dels overstår en pasteurisering. Varmedøden skyldes fysiske forandringer i protoplasmaet, en koagulasjon av eggehvitestoffene. Men koagulasjonen beror både på eggehvitestoffenes art og på deres innblanding av andre stoffer, hvor navnlig varmeinnholdet får en avgjørende betydning, for jo større dette er, desto større fare er det for livet. De mer varmeresistente former, og for også å nevne sporene, så har disse i denne henseende antagelig en ganske særegen plasmastruktur, og når de kan tåle høyere varme, kan dette forklares dels ut fra cellens opprinnelige store vannfattigdom, dels ut fra det faktum at dens cellevegger kun langsomt tillater vann å trenge inn utenfra.

Den følsomhet som en bakterie viser overfor en viss høyere temperatur manifesterer seg i tre perioder. En første ganske kort, i hvilken varmen ikke har noen nevneverdig svekkende innflytelse, en neste i hvilken bakteriene dør i massevis, og en tredje periode i hvilken resten går til grunne - det "absolutte dødspunkt" er nådd. Disse perioder er av ulike lengder, alt etter bakterieart og stammer, deres dødskurver forløper forskjellig. Et an-



net viktig forhold kommer også i betraktning, nemlig den ulike varmeømfintlighet som ytrer seg hos bakteriene i de forskjellige faser i vekstforløpet. I vekstfasene befinner de seg i en fysiologisk tilstand i hvilken de er mest varmeømfintlige. I en melk som like fra melkingen har vært sterkt avkjølet, vil bakteriene, da de ikke har hatt anledning til å utvikle seg, vise en større resistens overfor varmen enn bakteriene i en melk som har vært dårlig avkjølet og hvor de er i full vekst.

Men herav må ikke trekkes den slutning at opprinnelig kimrik melk etter varmebehandlingen vil vise seg å inneholde færre bakterier enn en kimfattig. Tvert om, en kimrik melk vil under forøvrig like forhold etter varmebehandlingen som regel vise seg mindre holdbar enn den kimfattige, selv om drapsprosenten erfaringsmessig viser seg større i den kimrike enn i den kimfattige melk. Men denne regel har mange unntagelser, da pasteuriseringseffekten i høyeste grad avhenger av melkens innhold av termofile arter, og melkens kolloider yter bakteriene en viss beskyttelse. Dette fremgår bl.a. derav at under ellers like forhold er det lettere å få bukt med bakteriene når de dyrkes i vann eller buljong enn i melk.

På den annen side er det hevdet at melkens peroksydase til en viss grad kan nedsette enkelte bakteriers motstandskraft, men dette forhold kan imidlertid kun ha betydning ved langtidspasteurisering.

Ved de temperaturer som det her dreier seg om, kan differenser på 1° medføre en betydelig forskjell i den pasteuriserte melks kiminnhold. Et eksempel herpå gir en dansk undersøkelse av et A.P.V.-apparat.

Bakterier pr. cm³

Rå	70°	71°	72°	73°	74°	75°
195 000	25 000	12 800	7 700	4 400	3 800	2 900

Under forutsetning av at det ikke er mangler i pasteuriseringsapparatens konstruksjon og manøvrering, og de foreskrevne temperaturer overholdes, kan det gjøres regning med ved lav- og langtids-pasteurisingen å få drept 98-99,5 %, ved høypasteurisingen 99-99,9 % av bakteriene i den rå melk, men selv om denne "relative pasteuriseringseffekt" tilsynelatende er meget stor, gir den ikke et tilfredsstillende uttrykk for pasteurisingens

fullkommenhet, for bedømmelsen av denne er det absolutte antall bakterier som overstår pasteuriseringen og disse bakteriers egenskaper som er av aktuell interesse.

Til belysning herav følgende eksempler på bakterieinnholdet i forskjellig melk i rå og lavpasteurisert tilstand.

Melk	1	2	3	4	5	6
Rå	26 000	56 000	93 000	124 000	196 000	873 000
Lavpast.	340	920	4 300	1 580	5 800	9 000
Relativ effekt	98,7	98,4	95,4	98,7	97,1	99,0

Det kan være delte meninger om hvilket høyeste kiminnhold som bør tales i den pasteuriserte melk. I de land hvor det foreligger bestemmelser herom er grensene for konsummelkens vedkommende satt fra 10 000 til 30 000 kim pr. cm³. Sunnhetsmyndighetene i Oslo regner med det siste tall, og konstaterte i 1941 at ca. 75 % av den pasteuriserte helmelk og vel 50 % av skummetmelken holdt dette mål. Under hensyn til den uunngåelige øking i kiminnholdet som finner sted i melken etter at den har forlatt pasteuriseringsapparatet, bør derfor pasteuriseringen ikke ansees for tilfredsstillende med mindre kiminnholdet er under 5 000 pr. cm³. Etter de mangfoldige undersøkelser som foreligger over forskjellige apparater, så vel for langtids- som lavpasteurisering, kan dette krav oppfylles uten vanskelighet selv om den rå melk har et kiminnhold langt over hva det er normalt ved dens mottagelse i meieriet. For den høypasteuriserte melks vedkommende, vil kiminnholdet kun dreie seg om noen hundrede.

Disse tallangivelser refererer seg til de resultater som erholdes ved bruk av de konvensjonelle analysemetoder. En må imidlertid være oppmerksom på at hvor uteksperimenterte disse enn er, med sikte på å gi et så fullkomment bilde som mulig av melkens alminnelige bakteriologiske tilstand, så er dette bilde ikke helt klart, det vil alltid være visse av bakteriene i melken som unndrar seg oppmerksomheten ved at deres vekstkrav ikke tilfredsstilles, hverken med hensyn til næring, reaksjon eller temperatur. Dette forhold gjør seg gjeldende ved bakterietellinger i pasteurisert melk. I den er nettopp den store masse av melkens normale bakterier drept, og en har kun med de varmeresistente, termotolerante og termofile bakteriegrupper å gjøre, som under alminnelige dyrkingsforhold slett ikke kommer til utvikling eller danner så små kolonier (pin-points) at de lett oversees. Selv temperaturvariasjoner på et par grader i termostatene kan gi helt forskjellige analyseresultater.

Over bakteriefloraen i pasteurisert melk foreligger det overordnet-

lig mange undersøkelser, ikke minst fra U.S.A. hvor pasteuriseringen først kom i større anvendelse i konsummelkomsetningen. Mange av dem skriver seg dog fra en tid da apparaturen i flere henseender var beheftet med konstruksjonsmangler som førte med seg at melkepartikler forlot apparatet uten å være oppvarmet til den forutsatte temperatur, eller påvirket av denne i tilstrekkelig lang tid. De forskjellige forskeres resultater kunne derfor vise atskillig differenser.

Med den fullkommenhet som apparatene nå har nådd, og den sikkerhet hvormed oppvarmingen kan kontrolleres, er man kommet til full klarhet i dette spørsmål.

De av melkens normale bakterier som gjenfinnes i den pasteuriserte melk beror på pasteuriseringsformen. Ved langtidspasteuriseringen vil ikke bare de varmeresistente bakterier, hvis vekst-temperatur ligger under $45-50^{\circ}$, men også de termofile bakterier som har en så høy vekst-temperatur at de også kan formere seg ved $55-65^{\circ}$ i løpet av de 30 min., komme i betraktning. For lav- og høypasteuriseringen kommer en formering ikke i betraktning, og for så vidt vil alle de bakterier som overstår oppvarmingen måtte betegnes som varmeresistente.

I den pasteuriserte melk vil i første rekke syredannende bakterier gjøre seg mest gjeldende, og da helt overveiende ekte melkesyrebakterier. Av streptokokkene går *Sc. lactis* og *cremoris* til grunne, men en ikke ubetydelig del av de øvrige, også av termobakteriene og betabakteriene kan overleve både en langtids- og lavpasteurisering. Betakokkene er mer varmeømfintlige, og kun unntagelsesvis er de påvist å ha klart oppvarmingen.

Blant de uekte melkesyrebakterier inntar tetrakokkene omtrent den samme stilling som de varmeresistente streptokokker, derimot er mikrobakteriene overmåte seiglivete, og tåler en oppvarming til $80-85^{\circ}$ i inntil 20 min., og forekommer derfor i selv høypasteurisert melk. Som i så mange andre henseender viser kolibakteriene stor variabilitet, men det er dog kun meget sjelden de overlever en langpasteurisering. Aerogenesbakteriene er ennå mer varmeømfintlige, så de går til grunne.

De proteolytiske bakteriers og smørsyrebakterienes vegetative celler er ikke varmeresistente, derimot vil sporene selvfølgelig overleve en hvilken som helst pasteurisering. Gjennomgående er sporene hos de aerobe bakterier mer motstandsdyktige enn hos de anaerobe.

En ikke helt ubetydelig del av de mer indifferente luftmikrokokker og alkalidannende staver kan overleve $70-80^{\circ}$ i flere minutter.

Gjær- og muggsopper overstår ikke pasteuriseringen.

Hvilke bakteriearter og i hvilket antall disse vil forekomme i den

pasteuriserte melk avhenger selvfølgelig først og fremst av den rå melks infeksjon, men som resultat av et stort antall undersøkelser fant Demeter og Mossel følgende prosentiske fordeling.

	Langtidspast.	Lavpast.	Høypast.
<u>Melkesyrebakterier:</u>			
Svake syredannere	55	42	36
Sterke "	40	48	45
Indifferente bakterier	2	5	10
Alkalibakterier	+	1	2
Proteolytiske bakterier	3	4	7

Fra lavpasteurisert melk isolertes ved danske undersøkelser 23 arter av melkesyrebakterier, og derav identifisertes 10 som *Sc. thermophilus*, 7 som *Sc. faecium*, 2 som *Tbm. lactis* og 4 tetracoccus.

Kvaliteten av de bakterier som forekommer i den pasteuriserte melk viser klart hvor de egentlige hører hjemme, de er typiske gjødsel og hudbakterier som fortrinsvis er kommet i melken under melkingen, men som nok også skriver seg fra en mangelfull rengjøring av bøtter, siler og spann. Riktigheten av denne oppfatning bekreftes også av danske undersøkelser av melk fra enkelte gårder.

Det er melkesyrebakterier som behersker den pasteuriserte melks flora, og de arter som er sterkest representert har sin optimale vekst ved 30-45°, og vokser med få unntagelser meget langsomt ved temperaturer under 8-10°. Enerådende som de nå er i den pasteuriserte melk, vil de selv om antallet er relativt lite, hurtig komme til utvikling hvis ikke melken umiddelbart etter pasteuriseringen dypkjøles. Men skjer dette og oppbevares den kjølig, og blir den ikke på ny infisert, kan den vise en stor holdbarhet. Kjøles den ikke tilstrekkelig, vil den snart syrne og koagulere, men tykkmelken har ikke den friske, behagelige, sure smak som er karakteristisk for en vellykket surmelk, hva enten denne er fremstillet ved spontan syrning eller er en kulturmelk.

BAKTERIELLE MELKEFEIL.

Når melkens egenskaper avviker fra det normale, betegnes dette som melkefeil. Disse kan være primære eller sekundære.

Primære er de feil som melken er beheftet med allerede som nymelket. De skriver seg enten fra anomalia i selve melkedannelsen, fra visse stoffer i fôret som gjennom blodet er gått over i melken, eller fra bakterievirksomhet i juret.

Sekundære er de feil som utvikler seg i melken etter melkingen, og som skyldes ytre faktorer - oksydasjonsprosesser eller mikroorganismer.

Her skal kun behandles melkefeil som skyldes microbiell infeksjon.

Avvikelser fra det normale kan manifestere seg i melkens utseende, smak og konsistens.

Feil i utseende og farge av primær art skyldes jurbetendelsesbakterier og er utførlig behandlet i forelesningene i melkehygiene. De sekundære ytrer seg vesentlig i fargen. Det foreligger særlig i eldre litteratur, et utall av beretninger om fargefeil og beskrivelse av bakterier som har fremkalt dem. Disse iakttagelser og undersøkelser refererer seg helt overveien- de til melk som har stått hen i kortere eller lengere tid. I nåtidens melke- bruk kommer melken så hurtig til behandling og forbruk at de sjelden utvik- ler seg i en sådan grad at de vekker oppmerksomhet. Som regel vil en used- vanlig farge vise seg i melkens overflate mest som fargepletter av større el- ler mindre omfang og skyldes da kolonidannelse av aerobe bakterier. Meget sjelden blir melken farget helt igjennom. Fargene kan forekomme i mange ny- anser, blå med overgang i grønn, rød med overganger til brun, gul fra svo- vel- til citrongul osv.

Den blå eller blågrønne farge skyldes gjerne fluorescenter, den røde proteusbakterier, mikrokokker og torulagjær, den gule og brune mest mikrokokker og gjær. Det er ikke noen grunn til her å komme inn på en nær- mere omtale av de mange bakterier som er blitt beskrevet.

Meget viktig er derimot smaksfeil da smaksorganene reagerer på de fineste avvikelser fra den normale melkesmak.

Fôrsmak er utvilsomt den hyppigste. Den kan dels være av primær art, og skyldes i så fall substanser i fôret eller spaltningsprodukter av dis- se som er gått over i melken, dels av sekundær art, for så vidt som stoffer som skriver seg fra fôret eller fordøyelsesprosessen og som i og for seg er uten merkbar smak, omsettes i smaksstoffer av normale melkebakterier. Det er da forurensning av melken ved gjødselepartikler som her gir seg til kjenne,

idet tarmbakteriene som er heftet til dem fortsetter sin nedbrytende virksomhet og derved fremkaller dannelsen av karakteristiske smaksstoffer. Turnips-, roe- og kløversmak er velkjente eksempler herpå. De bakterier som her i første rekke kommer i betraktning er kolibakterier, og når hensyn tas til de mange varieteter disse frembyr, er det forklarlig at det kan være mange nyanser i fôrsmaken, som umulig lar seg bestemt definere. Fjøs smak er en form av fôrsmak fordi den skrives fra gjødselpartikler, og alltid følger med dårlig puss av dyrene og malproper melking.

Fôr- og fjøs smaken kan ofte slett ikke merkes i den ferske melk, men først etter at melken har stått hen, og etter at bakteriene har fått leilighet til å utvikle seg. Dette gjelder forøvrig de fleste bakterielle smaksfeil, og selv om melken står i avkjøling. Det er da spesielt fluorescenter, aerogenes- og alkalidannende bakterier som spiller opp.

Det er eiendommelig at til å begynne med fremkaller fluorescentene slett ingen egentlig usmak, tvert om smaken og lukten er likefrem behagelig, og bringer tanken hen på frukter av forskjellig slag, pærer, ananas, jordbær, men mer eller mindre hurtig går smaken over i en "gammel", "vammel", "råtten" smak som skyldes en nedbryting av eggehvitestoffene i melken. Aero- genesbakteriene bevirker at melken blir mer kvalm av de stoffer som dannes ved den uekte melkesyregjæring. De alkalidannende kortstaver leverer ammoniakalske produkter som med melkens frie fettsyrer danner forbindelser med utpreget såpesmak.

Andre proteolytiske bakterier, ikke minst de sporedannende, fremkaller en bitter smak, som sannsynligvis stammer fra peptoner og peptider. Høypasteurisert eller ufullstendig sterilisert melk blir av samme grunn bitter. Men bitterstoffer produseres også av forskjellige mikrokokker og torula-arter.

Harsk smak skrives seg visstnok i de fleste tilfeller fra forekomst av originære lipaser (overløpere), men også fra fettspaltende bakterier (fluorescenter) og torula.

Syrlig smak skyldes naturligvis fortrinnsvis ekte, men også uekte melkesyrebakterier, og enkelte stammer kan samtidig bibringe melken en viss bismak. Vel kjent er således en varietet av *Sc. cremoris* som gir maltsmak.

Under tiden har en sett at visse melkesyrebakterier ikke kommer til riktig utvikling, uten at det har vært mulig å påvise den direkte årsak her til. Av flere forskere er fremholdt at den må ligge i melkens sammensetning, i en forskyvning i base-syreballansen som medfører en forhøyelse av puffer- evnen. Denne holder utviklingen av de syredannende bakterier tilbake i det

første syrningsstadium, til beste for ikke syrnende eller alkalidannende bakterier som derved kan få satt et visst stempel på smaken.

Feil i konsistensen ytrer seg omtrent utelukket ved at melken blir seig eller slimet. Seigheten merkes i enkelte tilfeller kun som en ubetydelig viskositetsforøkelse, i andre tilfeller ved at melken er trådtrekkende eller uappetittelig slimet. Feilen kan være av primær art (jurbetendelse), men hyppigst skyldes den en sekundær kontakt infeksjon.

Seigheten ytrer seg enten i melkens overflate, spesielt i fløten, eller melken blir seig i hele sin masse, og de direkte årsaker kan være:

1. En masseoppopping av aerobe bakterieceller. Dette er særlig tilfelle når kun fløten blir seig.
2. Bakteriene danner usedvanlig lange kjeder, hvor forbindelsen mellom de enkelte celler er meget fast.
3. Bakterier med en sterkt utviklet og oppsvullet kapseldannelse og
4. Bakteriene danner ved spaltning av laktosen og proteiner gummiarter (galaktan og dekstran) og musiner.

I årenes løp er en mangfoldighet av slimdannere beskrevet og blitt navngitt, men ganske sikkert er mange av dem å henføre til en og samme art, i alle fall de som forekommer mer alment. Et felles trekk med kun få avvikelser er det at evnen til slimdannelse ikke er en konstant egenskap, den kommer kun til utvikling under særlige livsvilkår, som lav temperatur, rikelig lufttilgang og liten aciditet.

Av slimdannende ekte melkesyrebakterier må først og fremst nevnes tettemelksbakterien som må oppfattes som en varietet av *Sc. cremoris*. Det eiendommelige for den er det at slimdannelsen er en konstant egenskap som beholdes selv ved stadige omplantinger. Slimdannelsen synes å være knyttet til en sterk kapselutvikling som leder til en slimet innhylling av de lange kjeder hvori den opptrer. Da tettemelk ikke dannes spontant, men må vedlikeholdes ved forplantning, kan den ikke henregnes til de vanlige melkefeil.

Imidlertid forekommer det ikke så sjeldent at kulturer av *Sc. cremoris* som anvendes i fløtesyrningen leilighetsvis kan bli slimdannere uten at årsaken til denne karakterforandring er helt oppklart. Den er oppfattet som et tegn på degenerasjon som følge av en systematisk dyrking ved lave temperaturer, hvilket imidlertid ikke forhindrer at det i en sådan slimet syre også forekommer tallrike helt normale celler. Karakteristisk er dog en svak syredannelse.

Også hos *Sc. lactis* kan det samme fenomener undertiden gjøre seg gjeldende og unntagelsesvis også for *Sc. thermophilus*.

Stavformene kan også bli slimdannere, men i motsetning til hva tilfellet er hos streptokokkene, er ikke slimdannelsen ledsaget av noen svek-

kelse av syrningsevnen. Dette er påvist både for *Tbm. lactis*, *Tbm. helveticum* og *Tbm. bulgaricum*.

Den hyppigste årsak til seig melk, i alle fall her til lands, er aerogenesbakterier. Det vil erindres at det blant disse forekommer en type som er karakteristisk ved at overflatekoloniene er trådtrekkende og danner lite syre og gass. Deres forekomst i helmelken merkes når melken har stått hen ved lav temperatur ved at fløten blir seig og uappetittelig, mens melken under ikke er makroskopisk forandret. Bakteriene er nemlig sterkt aerobe og finner derfor de beste utviklingsmuligheter i fløten. Da det er iaktatt at kulturer av den ikke slimdannende type kan bli slimdannende, må det antas at man her står overfor et dissosiasjonsfenomen. Den anskuelse er også gjort gjeldende at omslaget skyldes en bakteriofagvirkning, som imidlertid ikke fører til fullstendig lysis, men kun til en forandring i livsytringene. Infeksjonskilden er i de langt fleste tilfeller dårlig vann i fjøset eller rengjøringen som har vært mangelfull. Melkefeilen er meget smittsom og kan utvikle seg rent epidemisk fra en enkelt gård til meieriet, og fra dette igjen spredes i leverandørkretsen. Det kan volde store vanskeligheter å få den utryddet, en gjennomgripende desinfeksjon i fjøs og meieri er det eneste middel til å stanse dens utbredelse.

Av andre slimdannere må nevnes *Bact. lactis viscosum* som tilhører alkaligenesbakterienes gruppe. Den er karakteristisk ved at melken blir seig helt igjennom, men dog mest utpreget i fløten. I motsetning til de foran nevnte bakterier er den alkalidanner og oppløser litt etter litt kaseinet. Den trives ved temperaturer under 10° , ved høyere temperatur vil den hurtig undertrykkes i konkurransen med melkesyrebakteriene. Også den stammer fra dårlig vann.

Blant jord- og plantebakterier forekommer i det hele tatt mange slimdannende arter, og det er vel kjent at en ved å sile melken på f.eks. soldugg eller tettegress kan lykkes å få en seig melk, men det er som regel bakterier som står fluorescentene nærmest som gir denne "falske tette".

Under tiden kan melk stå hen i lengere tid og allikevel ikke bli sur, selv om temperaturen ikke er så lav, men varmes den opp, løper den sammen. Det er jurkokker, tetrakokker og peptoniserende stavformer som ved sine koagulasjonsenzymmer, her har vært melkesyrebakteriene overlegne, enten nå disse har vært få i antall eller melkens pufferevne har vært usedvanlig stor, så det er dannet lite fri syre.