

OVRSIKTSKURS

MIKB 2

FORELESINGER I MEIERIBRUKETS MIKROBIOLOGI

ved

Peter Solberg og Reidar Bredholt

Innholdsfortegnelse

Bakterier

Prokaryotaeriket

	Side
Systematisk oversikt	1
Generelle drag ved bakteriene	4
Faktorer som påverker mikrobenes vokster	6
Mikrobenes vokster	7
Vatn og mikrober	9
Næringskrav	12
pH	17
Familien Streptococcaceae Deibel et Seeley Jr.	21
Genus I: Streptococcus Rosenbach	22
Genus II: Leuconostoc van Tieghem	41
Genus III: Pediococcus Balcke	50
Genus IV: Aerococcus Williams, Hirsch et Cowan ...	51
Genus V: Gemella Berger	51
Familien Lactobacillaceae Winslow, Broadhurst, Buchanan, Krumwiede, Rogers et Smith	51
Genus I: Lactobacillus Beijerinck	52
Uekte mjølkesyrebakterier	64
Familien Micrococcaceae Pribram	65
Genus I: Micrococcus Cohn	65
Genus II: Staphylococcus Rosenbach	70
Familien Enterobacteriaceae Rahn	72
Genus I: Escherichia Castellani et Chalmers	74

Genus III: <i>Citrobacter</i> Werkman et Gillen	74
Genus VI: <i>Klebsiella</i> Trevisan	75
Genus VII: <i>Enterobacter</i> Hormaeche et Edwards	75
Genus IX: <i>Serratia</i> Bizio	81
Genus X: <i>Proteus</i> Hausen	82
Gram-negative aerobe staver og kokker	84
1. familie: <i>Pseudomonadaceae</i> Winslow et al.	84
Genus I: <i>Pseudomonas</i> Migula	86
Genus II: <i>Xanthomonas</i> Dowson	91
Endosporedannende staver og kokker	92
1. familie <i>Bacillaceae</i> Fisher	92
Genus I: <i>Bacillus</i> Cohn	92
Genus III: <i>Clostridium</i> Prazmowski	97
Actinomycetes og nærstående organismer	105
Genus I: <i>Corynebacterium</i>	105
Genus II: <i>Arthrobacter</i> Conn et Dimmick	106
Genus <i>Brevibacterium</i> Breed	106
Genus <i>Microbacterium</i> Orla-Jensen	108
Familien <i>Propionibacteriaceae</i> Delwiche	109
Genus I: <i>Propionibacterium</i> Orla-Jensen	110
Ordenen <i>Actinomycetales</i> Buchanan	119
Familien <i>Actinomycetaceae</i> Buchanan	119
Genus I: <i>Actinomyces</i> Harz	119
Genus III: <i>Bifidobacterium</i> Orla-Jensen	119
Familien <i>Mycobacteriaceae</i> Chester	120
Genus I: <i>Mycobacterium</i> Lehmann et Neumann	120

B A K T E R I E R

PROCARYOTAE-RIKET

Systematisk oversikt.

I siste (8.) utgåve av Bergey's Manual of Determinative Bacteriology er det til dels fleire større endringer i bakterienes systematiske inndeling - når det sammenliknes med den føregående utgåve. Tidlegere var bakteriene sett på som ein del av planteriket, men er nå samla i den sjølvstendige gruppa Procaryotae-riket (pro = før, karyon gr. = kjerne, her: cellekjerne) d.v.s. ei samling organismer med ufullstendig utvikla cellekjerne. Innen Procaryotae-riket er det ikke noko fast oppbygd system og markert rangordning eller med andre ord ikke noko fullstendig hierarki. Det deles i to avdelinger:

- I Cyano-bakteriene (eller blågrøne alger)
- II Bakteriene (andre enn blågrøne alger)

Her er det dei sistnemnde som er av interesse. Bakteriene er inndelt i 19 Deler (Parts) som kvar har namn etter dei viktigste kjenneteikna for bakteriene i vedkomende Del. Elles ser det ut til å ha bydd på visse vansker med å få plassert visse bakterie-slekter eller -genera i dette systemet av Deler. Såleis er dei fleste knoppskytende bakteriene samla i Del 4. Likevel er der tri slike genera i Del 1 (Fototrofe bakterier), og Genus Nitrobacter går inn

i Del 12.

I Del 3 og 4 er det ingen Familier. I andre Deler er der foruten Familier ei eiga samling av "Genera med usikker tilknyting" fordi det ikkje har vore grunnlag for ei innordning i Familier ut frå tilgjengelige karakteristiske kjenneteikn.

I den siste utgåva av Bergey's Manual går forsøket på systematiske grupperinger meir eller mindre etter følgende skjema:

Procaryotae-riket (Kingdom Procaryotae)

Avdeling (Division)

Del (Part)

Klasse (Class)

Orden (Order)

Familie (Family)

Tribus (slechtsgruppe) (Tribe)

Slekt (Genus)

Art (Species)

Dei ymse bakterienamna i Bergey's Manual er latinske eller latiniserte greske eller nye ord - avleidde frå latin eller gresk -; eller dei kan vere avleidde frå andre språk. Men i alle tilfelle blir det den latinske ortografiens som dominerer.

For Klasse, Orden, Familie, Tribus og Slekt (Genus) er det eitt namn mens kvar Art har to namn, nemleg først Slektsnamnet (skrives med stor forbokstav) og dertil eit adjektiv eller eit substantiv i genitiv-form. Klasse-namna ender alltid på -tes, Ordensnamna på -ales, Familienamna på -aceae og Tribusnamna på -eae. Slekts- og Årts-namna har noko meir varierte endinger.

Dei 19 Delene for bakterieinndeling etter Bergey's er:

- Del 1 Fototrofe bakterier
- Del 2 Dei glidende bakteriene
- Del 3 Bakterier med hylster
- Del 4 Knoppskytende bakterier og/eller bakterier som heng sammen
- Del 5 Spirochetes
- Del 6 Spiral- eller kurveforma bakterier
- Del 7 Gram-negative, aerobe staver og kokker
- Del 8 Gram-negative, fakultativt anaerobe bakterier
- Del 9 Gram-negative, anaerobe bakterier
- Del 10 Gram-negative kokker og kokkobaciller
- Del 11 Gram-negative anaerobe kokker
- Del 12 Gram-negative, kjemolitotrofe bakterier
- Del 13 Metanproduserende bakterier
- Del 14 Gram-positive kokker
- Del 15 Endosporedannende staver og kokker
- Del 16 Gram-positive, asporogene stavforma bakterier
- Del 17 Actinomycetes og nærskyldde organismer
- Del 18 Rickettsiaene
- Del 19 Mycoplasmaene

Dei delene som er av størst interesse for meieribakteriologien er:

- Del 7 Gram-negative, aerobe staver og kokker
(med Pseudomonas-artene)
- Del 8 Gram-negative, fakultativt anaerobe staver
(med dei koliforme bakteriene)
- Del 14 Gram-positive kokker
(med Micrococcus-artene og mjølkesyrestreptokokkene)
- Del 15 Endosporedannende staver og kokker
(med Bacillus- og Clostridium-artene)
- Del 16 Gram-positive, asporogene stavforma bakterier
(med Lactobacillus-artene)
- Del 17 Actinomycetes og nærskyldde organismer
(med Brevibacterium, Microbacterium og Propionibacterium)

Generelle drag ved bakteriene.

Det første grunnlag for ei god forståing av kor viktige bakteriene er, er kjennskap til morfologi, formeiring og særleg til biokjemiske aktiviteter.

Storleiken på cellene måles i mikrometer eller μm .

Dei fleste stavbakteriene er fra 1 til 5 μm lange og fra 0,5 til 1 μm breie. Diameteren på kuleforma bakterier ligg også oftest i intervallet 0,5 - 1,0 μm .

En karakteristisk eigenskap ved bakteriene er evna til rask formeiring. Ein slik formeiringstakt vil ikkje halde fram

i det uendelege. I eit gitt medium vil den avta av årsaker som minskende mengder av næringsstoff, opphoping av stoffskifteprodukt og til slutt også plassmangel. Med bakterienes formeiring følgjer alltid endringer m.o.t. dei stoff som utgjer bakterienes karbon- og nitrogenkjelder. Mengdene av substrat som bakteriene omset eller bryt ned er oftest store når dei vurderes ut fra den aktive bakteriemassen. Såleis er det eksempel på at visse mjølkesyrebakterier kan omsetje 2 gonger si eiga vekt av karbohydrat pr. time.

Desse raske biokjemiske omsetjingene er enzymatiske prosesser. Sjølv den enkleste bakteriecella har ei rad av ulike enzym, kvart med ein spesiell biokjemisk funksjon. Enzyma inaktivieres relativt lett av varme og av visse kjemikalier. Dei er bare aktive innenfor visse temperatur- og pH-område og viser elles optimale aktiviteter ved høvelege substratkonsentrasjoner.

Nokre enzym skiljes ut (secernereres) av den levende bakteriecella; dei er ekstracellulære eller ekto-enzym. Dei kan då endre på mediet omkring cellene. Intracellulære eller endo-enzym er vanlegvis ikkje aktive utenfor den intakte cella.

Dei fleste av bakterienes livsprosesser er enzymatiske. Her inngår bl.a. omdanning av næringsstoff til slike former som kan nyttas av bakteriene til oppbyggjing, syntese,

av bakteriecellas eigne spesifikke substanser, av sjølve protoplasmaet. Enzyma er og ein del av det komplekse system som skaffer energi til bakteriecellene. - Nokre enzym synes å vere felles for store grupper av bakterier, mens andre enzym er meir spesifikke. F.eks. har både Streptococcus lactis og Escherichia coli enzymet laktase og kan såleis begge hydrolysere laktose. Men mens den førstnemnde mikroben deretter stort sett omset karbohydrata til mjølkesyre som sluttprodukt, vil Escherichia coli gi m.a. karbondioksyd, hydrogen, eddiksyre og mjølkesyre som sluttprodukt.

Faktorar som påverker mikrobenes vokster

For høgre organismer vil omgrepet vokster mest gå på det einskilde individet med tanke på høgde, lengde, auke i vekt av samla protoplasmamasse o.a. I mikrobiologien går voksteren vel så ofte på auke i talet på organismer (reproduksjon), sjølv om auken i samla protoplasmamasse går parallelt.

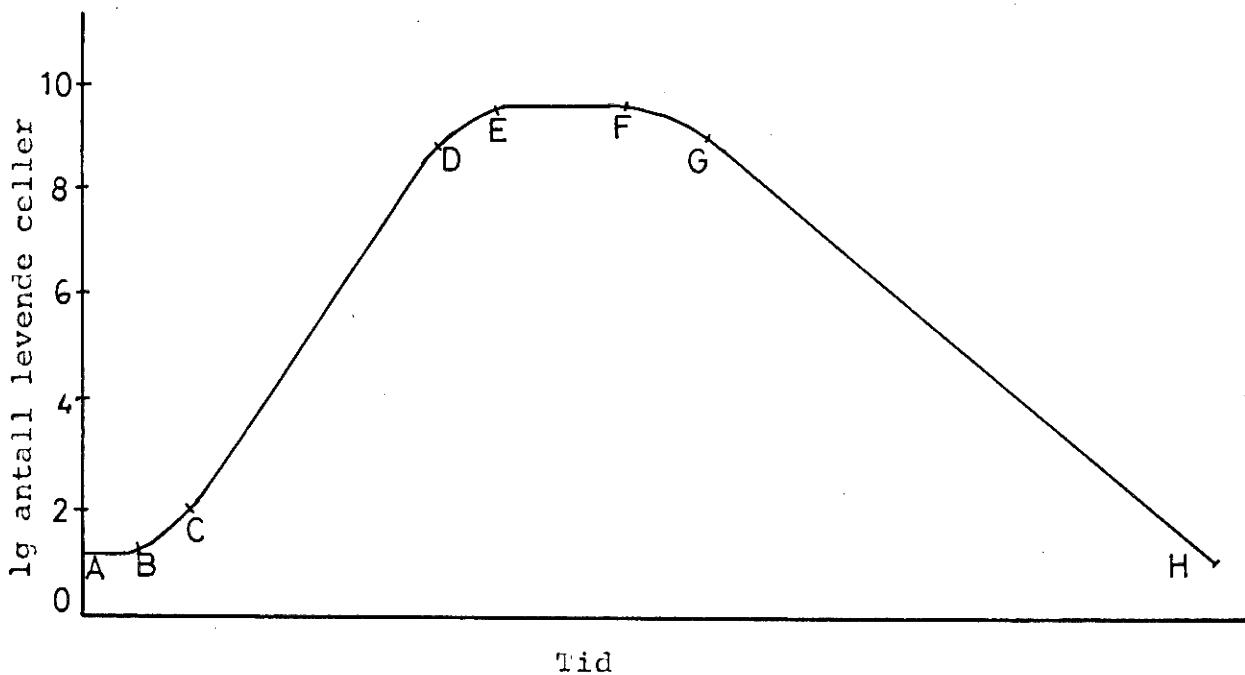
Talet på mikrober kan finnes på ulike måter som f.eks. ved direkte mikroskopisk teljing eller ved å måle kor optisk tett ein suspensjon av mikrobene er. Dersom det spesifikt er aktuelt med registrering av talet på levende celler, nyttes ofte platespreiing, på høveleg(e) medium, inkubering og teljing av dei koloniene som veks fram. Ein auke i

enzymaktivitet (f.eks. syreproduksjon) kan under gitte vilkår være eit mål for vokster. Men det segjer seg sjølv at alle såkalla indirekte metoder for måling av celletalet må nyttes med kritikk i høve til dei aktuelle formål. Svært ofte er der mindre god parallelitet mellom to indirekte metoder.

Mikrobenes vokster

Bakteriene auker i tal gjennom ein enkel to-delingsprosess. Bakteriecella veks seg større og deler seg i to liknende celler. Kvar av dei nye cellene vil kunne dele seg slik at det frå den første cella (2^0) etter kvart utvikler seg $2^1, 2^2, 2^3, 2^4$ osv. celler - i ei logaritmisk rekke.

Det fins bakterier som under dei aller beste vilkår kan få fram ein ny generasjon på 15 min. Dersom dei ytre vilkåra er mindre bra, kan det ta både 24 timer og meir før den nye generasjonen kjem fram. Bakterier frå ein gammal kultur som blir poda over til eit høveleg medium og inkubert ved optimal temperatur for vokster vil ikkje alltid starte celledelinga umiddelbart. Dei treng ei viss nøletid, nølefase (eller "lag phase") før dei veks ut. Denne fasen er representert ved stykket A-B på den idealiserte voksterkurva som er vist i figur 1. Ordinaten viser logaritmene til bakterie-tala. Når bakteriedelinga (voksteren) etterkvart kjem igang, går den raskere og raskere (gjennom "den aksellererende fasen" B-C) og over



i den logaritmiske eller eksponensielle fasen, C-D, der celletalet tiltar etter ein geometrisk (logaritmisk) progresjon. Dette er den "normale" voksteren.

Deretter kjem den "retarderende fasen", D-E, der celletalet framleis stig, men mindre raskt enn i føregående fase. Vilkåra i mediet er nå blitt mindre gode for nye generasjoner. Så kjem den maksimale, stasjonære fasen, E-F, der det er jamvekt mellom nye og døyende celler. Etter ei tid går kulturen p.g.a. enda mindre tilgang på næringsstoff, opphoping av stoffskifteprodukt o.a., over i den aksellererende dødsfasen, F-G. Talet på levende celler avtar med alt større fart til dei går inn i den logaritmiske, letale fasen, G-H, der cellene døyr ut etter ein nesten

konstant progresjon (rettlinja kurve). Dersom kulturen ikkje overføres til eit nytt medium (eller det ikkje blir tilført nye mengder næringsstoff, pH blir justert o.a.), vil cellene døy ut og kulturen gå tapt.

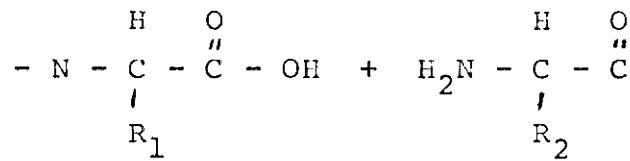
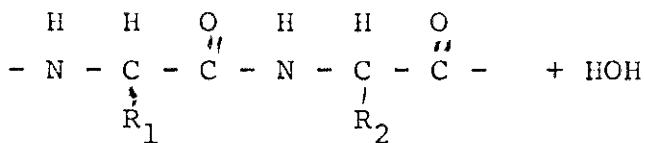
Det må understrekkes at kurva i figur 1 bare er eit tenkt tilfelle og at dei fleste kurvene som blir sette opp på grunnlag av direkte forsøk vil vise individuelle særdrag. Bakteriene kan i så måte skilje seg sterkt frå kvarandre. Ytre vilkår som er optimale for vokster for ein art kan faktisk gi stagnasjon for ein annen art.

Av faktorer som kan influere sterkt på vokster-kurva nemnes mediets samensetjing, symbiotiske organismer, tilgang på vatn, temperatur, oksygen-tilførsel og pH. Effektiv regulering og kontroll av ein eller fleire av desse faktorer kan enten hindre utviklinga av ikkje ønskjelege mikrober eller fremje voksteren av den eller dei arter ein vil ha fram.

Vatn og mikrober

Stoffskifte skjer bare der det er vatn. Det er tilfellet enten det gjeld menneske og dyr, planter eller bakterier. Vatnet tener som løysingsmedium for organismens næringsstoff. Dersom næringsstoffs ikkje fins i lagleg løysing når dei ikkje fram til og passerer inn i cellene der dei nyttes til enten energiproduksjon eller til protoplasmasyntese. Vatnet er også transportmiddel for bortføring av avfallsstoff frå cellenes stoffskifte.

I det heile deltar vatnet direkte i mange av dei kjemiske reaksjonene som er nødvendige for livsprosessene. Såleis nevnes hydrolyse av komplekse karbohydrat, av feittstoff og av proteiner. I sistnemnde tilfelle løyses peptidbindinger som illustreres slik:



Ved ein serie av slike hydrolytiske spalter blir det til slutt frigjort individuelle aminosyrer som blir tilgjengelege for mikrobene.

Vatnet trengs også ved dei oksydativ nedbrytingene av monosakkarid og andre stoff som skaffer energi til organismenes stoffskiftefunksjoner. Vatn går videre inn i mange hydratiseringsprosesser i mikroorganismenes nødvendige næringssubstrat.

På den andre sida kan bakterier og andre mikroorganismer halde seg levende i lengre tider dersom dei tørkes forsiktig og under visse, eksperimentelt utprøvde vilkår. Sjølv fleire av dei mest følsomme bakterier kan halde seg levende i årevise om dei først fryses og så tørkes ved same låge temperatur under vakuum, altså uten opptining! For å få det beste resultat må kulturen som skal tørkes vere i god

kondisjon og vere i det medium som passer best. Såleis er f.eks. mjølk eit ypperleg medium ved tørking av mjølkesyrebakterier. Etter frysetørkinga (sublimasjon) må luftoksygenet haldes borte frå bakteriemassen. Det kan skje ved gjensmelting av glastube eller ampulle.

Det minste-innhald av vatn som må finnes i mediet for at ein mikroorganisme skal kunne vekse vil variere med mange faktorer: dei ibuende eigenskapene til sjølve organismen, mediets osmotiske trykk, dei oppløyste stoffs kjemiske eigenskaper, i det heile kor nær mediet elles, totalt sett, ligg opp til mikrobens optimale krav. Det er derfor ikkje råd å oppgi eksakte verdi for det nemnde minimum av vatn i mediet, men det er kjent at dette minimum ligg over den mengd vatn som trengs for å hydratisere protein og andre hydrofile komponenter i mediet og for å løyse opp dei stoff som lar seg løyse.

Det osmotiske trykket i mediet må vere avstemt etter organismens krav i så måte. Bakteriene er her dei mest følsomme, generelt sett, deretter kjem gjær og så mugg. Ellers vil naturleg nok sakkarofile gjær- og muggarter og halofile bakterier vere relativt robuste m.o.t. osmotisk trykk i mediet.

Vanleg mjølk inneholder nok vatn for utvikling av alle typer av mikroorganismer. Det same er tilfellet med dei aller fleste meieriprodukt, men med unntak som sukker,

kondensert mjølk og tørka produkt av mjølk og myse. Det er likevel slik at osmofile gjær-arter og ikkje så få mugg-arter vil kunne vekse på overflata av sukra, kondensert mjølk dersom det er lufttilgang.

Lilles må det aktes vel på råme eller rester av vatn på mjølke- og meieriutstyr og -reiskaper. Dersom det f.eks. etter reingjering kan gjennomføres ei rask tørking (NB! unioner og andre liknende lommer), vil det vere vanskeleg for overlevende mikrober å kunne vekse. Trass dette er det i seinere års granskinger (KÄSTLI) funne visse tendenser til vokster på tilsynelatende reine og tørre metallflater. Det er hevda at det kan vere så sterk affinitet mellom dei damp (vatn)-molekyl som alltid fins i lufta og sjølve metallflata at det i nokon mun gir grunnlag for vokster.

Næringskrav

- Dei substrat som mikroorganismene skal vekse i eller på må innehalde:
1. Ei energikjelde (unntak: fotosyntetiske bakterier som skaffer seg energi frå lyset, men som har lite å segje for meieribruket).
 2. Stoff eller førebod av stoff ("precursors") som kan omsetjes og gå inn som byggjematerial for cellenes protoplasma.
 3. Mineral og mogelege andre stoff i løysing

som er essensielle for normal funksjon
av enzyma og som i nokre tilfelle trengs
for vedlikehald av cellens fysisk-kjemiske
tilstand.

Mellan dei ulike mikroorganismene er det markerte skilnader
når det gjeld stoff som fremjer voksteren. Såleis krev
mange mugg-arter og visse Gram-negative bakterier frå jord
og vatn bare eit medium som inneheld eit ammoniumsalt,
glukose og spor av eit fleirtal uorganiske ioner. Energien
kjem først og fremst frå glukosens oksydasjon (ofte til
 CO_2 og H_2O). Nitrogen for syntesen av protoplasma-protein
og nærtstående stoff kjem frå ammoniakken og blir bunde til
karbon frå glukosen. Samen med uorganiske ioner i mediet
blir det bygd opp eit komplisert system av protein, karbo-
hydrat, feitt, enzym, vitamin, nukleinsyrer og andre stoff
som til sammen gjer det mogeleg å få fram livsytring.

Når organismene ikkje sjølve er i stand til å syntetisere
eitt eller fleire av dei stoff som trengs i stoffskifte-
eller vokster-prosesser, blir det større krav til nærings-
mediet. Visse bakterier, gjær- og mugg-arter er i stand
til å nytte enkle sambindinger til dei fleste syntesene,
men kan ikkje sjølve syntetisere vitamina i B-komplekset.
Desse må derfor tilføres ved dyrking i enklere kunstige
medier.

Nokre bakterier kan syntetisere bare ein del av eit vitamin-
molekyl og må ha resten tilførd. Eit eksempel på dette er
at visse patogene mikrokokker syntetiserer thiazol-delen

av thiamin mens pyrimidin-delen må tilføres mediet.

Dei fleste av B-vitamina ser ut til å vere nødvendige for mikrobene ved syntese av dei enzym som trengs i stoff-skifteprosessene.

Sjølv om mange bakterier kan vekse i medier med bare ammoniakk eller nitrat som nitrogenkjelde, vil dei vekse mykje betre dersom mediet tilføres aminosyrer. I eit enkelt medium er syntesen av aminosyrer tilsynelatende ein avgrensende faktor for rask vokster.

Andre mikroorganismer må ha ei eller fleire aminosyrer i mediet for å kunne vekse. Endå kresnere mikroorganismer må ha ei heil rad av aminosyrer pluss fleire purin- og pyrimidinbaser og vitamin for å få voksteren i gang. For at visse mjølkesyrebakterier skal kunne vekse krev dei asparagin, glutamin, umetta feittsyrer, eddiksyre, visse amin og karbondioksyd.

Eit interessant fenomen er at ein organismes absolutte næringskrav kan endres f.eks. med inkubasjonstemperaturen. Dette må tas med i vurderinga når ein slik bakterie skal nyttas til påvisning av aminosyrer og vitamin.

Noko av det mest vidtgående kresne krav til næring kan dei bakteriofagene vise, som går på mjølkesyrestraptokokker. Bakteriofagene kan ikkje formeire seg i noko slag medium bortsett frå protoplasmaet til levende, mottakelege celler.

Mjølk og mjølkeprodukt danner med alle sine varierte komponenter det naturlige næringsgrunnlaget for alle viktige mikroorganismene i meieribruket. Likevel fins det visse stoff som faktisk kan forbetrae mjølk og mjølkeprodukt som substrat for typiske "meierimikrober".

Nitrogenkjeldene i mjølk vil oftest strekkje til for dei fleste mikroorganismene. Mange av deim som veks i mjølk reknes som ikkje, eller bare svake, proteinspalterer. Nokre av desse organismene kan nytte visse enklere non-proteinsambindingar som ammoniakk-nitrogen, små mengder aminosyrer, enklere peptid og nitrogenbaser som er normale komponenter i mjølk som ikkje har vore utsett for mikrobiell proteolyse. Vokster i mjølk av bakterier som Streptococcus lactis hever innhaldet av non-protein-nitrogen og amino-nitrogen - jamvel på eit tidleg stadium. Men tilsetjinger av peptoner eller visse aminosyrer vil føre til at Streptococcus lactis, Streptococcus cremoris, Lactobacillus-arter og mange andre mikrober veks mykje betre. Tilførslar av lett tilgjengelege proteinspaltingskomponenter gjer at desse mikroorganismene ikkje lenger er så bundne av si eigen evne til mild proteolytisk aktivitet med m.a. fric aminosyrer som resultat.

I ein blandingskultur av to eller fleire organismer kan den sterkeste proteolytten stimulere voksteren til dei andre. Eit eksempel her er visse ostesorter der mildt proteolyserende Streptococcus-stammer (ved sida av løype) ser ut til å stimulere voksteren av Lactobacillus-stammer under

mogningsforløpet.

Sjølv om mjølka innehold nesten alle representanter for B-vitamingruppa, vil tilsetjing av gjærekstrakt eller grønsaksuft auke voksteren til fleire av dei meir kresne artene innen familiene Streptococcaceae og Lactobacillaceae.

Vitamin som produseres av ein organisme kan stimulere ein samtidig eller etterfølgjende vokster av ein annen organisme. Liknende effekter har ein ved utnytting av intermediære produkt frå nedbrytinga av protein, karbohydrat og feitt.

Nokre av mjølkesyrestreptokokkene og laktobasillene stimuleres spesifikt av oleinsyre.

Det relativt allsidige mineralinnhaldet i mjølk ser stort sett ut til å strekkje til for dei fleste mikroorganismene, men det er vist at tilsetjing av visse ioner kan verke stimulerende i visse tilfelle. På den andre sida kan nokre ioner, i større mengder, hemme voksteren til visse organismer.

Eit område, som ennå så lenge er mindre utforska, er verknadene av visse ioner (mengde - og balanse mellom ioner) på stoffskiftemønsteret i meieriprodukt. Kontroll med ionene i andre industrielle fermenteringsprodukt har faktisk vist seg å ha mykje å segje.

pH

I eit medium er det lett å måle pH-verdet (kolorimetrisk med indikatorer eller på elektrometrisk måte). Men det er ennå så lenge vanskeleg å gjere rutine-målinger av pH-verdet i ei levende celles protoplasma. Ettersom cella er omgitt av ein semipermeabel membran som inneslutter protein og andre kompleks som influerer på den ioniske jamvekta, kan det synes nesten heilt klart at pH inne i cella skil seg frå mediets pH-verde.

Mediets pH er ein viktig faktor for cellas vokster, for fysiologisk aktivitet og for mikrobens død. Dei fleste av dei vanlege mikroorganismene veks godt i pH-intervallet 5,6 til 7,5. Mange vil også vekse godt ved lågere verdi.

Thiobacillus thiooxidans, ein svoveloksyderende bakterie, veks best (optimalt pH-område) ved pH 3-4, men den kan overleve etter å ha produsert nok syre til å senke pH-verdet til under 1. Eit av kriteriene som er brukt for å differensiere nokre av Streptococcus-artene er "enterokokkenes" evne til å vekse ved pH 9,6. Dei fleste stammer av mjølkesyrestreptokokker vil ikkje ta til å vekse i medier med lågere pH-verde enn 4,8. Men er voksteren først kommet godt i gang, ved eit noko høgre pH-verde, kan dei vel produsere nok mjølkesyre til å føre pH-verdet ned til 4,3 og derunder. Sannsynlegvis er dette eit tilfelle der enzymaktiviteten gjer seg gjeldende etterat sjølvve formeiringa (voksteren) stanser på grunn av ulagleg pH-nivå. Dei meir syretolerante Lactobacillus-artene kan faktisk ta til å vekse ved pH-nivå som

stanser syreproduksjonen hos Streptococcus lactis. Nokre stammer av Lactobacillus bulgaricus kan få pH-verdet i mediet godt under 4.0.

Mange av dei proteolytiske og lipolytiske bakteriene vil få hemming av voksteren ved dei pH-nivå som mjølkesyre-streptokokkene kan skape. Dette har særleg mykje å segje for kontroll med framvokster av eventuelle skadelege mikrober i produksjonen av ymse mjølkesyreprodukt der ein faktisk ønskjer ei mjølkesyregjæring. Den hemmende (eller antibiotiske) effekten av mjølkesyre er ofte overvurdert. Det kan nemleg hende at framvokster av ikkje ønskte organismer kan gå parallelt med voksteren av syreproduserende organismer i same medium.

Gjær og mugg vil vanlegvis kunne utvikle seg ved relativt låge pH-verde. Når talet på slike organismer skal fastslås, dyrkes dei gjerne på elles laglege medier ved pH 3,5. Det sure miljøet hemmer nesten alle bakteriearter.

Dersom det nyttes antibiotika i staden for lågt pH-verde for å hindre at bakteriene veks ut, ser det ut til at det i nokre tilfelle registreres eit høgre tal av gjær og mugg. Dette kan tyde på at også desse organismene blir noko hemma ved låge pH-verde.

Når ein skal gå nærrere inn på dei einskilde familiene og dei slekter (genera) og arter innen kvar familie som har størst interesse for meieribruket, er det naturleg å ta til med dei to familiene som omfatter m.a. fleire av dei største og viktigste bakteriegruppene som fins i mjølk og mjølkeprodukt, nemleg

Streptococcaceae Deibel et Seeley Jr.
og Lactobacillaceae Winslow et al.

Fleire av dei bakteriene som høyrer til desse familiene har vore kjende i lengre tid. PASTEUR kunne i 1857 påvise levende mjølkesyreforment ("levure lactique" - som likevel minner mest om ein Enterobacter-art), men det var FUCHS som i 1841 for første gong sette fram hypotesen om at mjølkesyregjæringa er ein biologisk prosess. I 1872 skreiv COHN om mjølkesyrebakterier. Ein meiner likevel at det var JOSLPH LISTER (1827-1912) som i 1878 fekk fram den første reinkulturen. Dei måtte den gongen stri med mange tekniske vansker som seinere er blitt eliminert.

LISTER gjekk fram på den måten at han fortynna surmjølka så sterkt at kvar væskedråpe ikkje skulle innehalde meir enn ein bakterie. Ved å pode steril mjølk med slike dråper, syrna mjølka. Den inneheldt då bare ein bakterieart som LISTER kalla Bacterium lactis. Etter den noko ufullstendige karakteristikken av denne mikroben ser det ut til å ha vore ein streptokokk.

Nv forskerar som ut gjennom åra har arbeidd med bakterier frå famileiene Streptococcaceae og Lactobacillaceae nemes frå siste delen av 1800-talet GROTFELT, STORCH, CONN og LEICHMANN. Frå første delen av 1900-talet kjennes VON FREUDENREICH, BEIJERINCK, WEIGMANN, EURRI, BARTHEL, VIRTANEN, HAMMER og KNUDSEN, men fram for alle kjem ORLA-JENSEN som har vore rekna som den største autoriteten på dette området heilt frå han i 1919 publiserte sin store monografi "The Lactic Acid Bacteria". I 1943 kom eit "Ergänzungsband" til den førstnemnde publikasjonen. Ut frå såvel morfologiske som fysiologiske eigenskaper gjorde ORLA-JENSEN framlegg om ei systematisk inndeling av mjølkesyrebakteriene som meir eller mindre er blitt følgt i nyere handbøker.

Mikrobene i dei to nemnde familiene lever enkeltvis, parvis eller i kjeder, nokre også i tetrader. Med unntak av nokre få kulturer er mikrobene ikkje rørlege. Dei er for det meste Gram-positive, pigmentproduksjon er sjeldan, men nokre få arter produserer gult, orange, rødt eller rustbrunt pigment. Overflatevoksteren er i regelen därleg på alle substrat (fakultativ anaerobi). Nokre arter av Lactobacillaceae er til og med strengt anaerobe. Visse karbohydrat er essensielle for god vokster. Dei blir fermentert til mjølkesyre, og i nokre tilfelle er det biproduksjon av flyktige syrer, etanol og CO₂. Mikrobene i desse familiene hydrolyserer sjeldan gelatin så denne blir flytende. Nitrat blir ikkje redusert til nitrit. Mikrobene fins regulært i munnen og tarmkanalen til menneske og pattedyr, i meieri-

produkt og i gjærende vegetabilske safter. Nokre få arter er i høg grad patogene.

Streptococcaceae Deibel et Seeley Jr.

Representantene for denne familien er fordelt på 5 genera:

Genus I: Streptococcus Rosenbach er ei slekt som omfatter både parasitter og saprofytter. Normalt veks dei parvis eller i kjeder, og dei forgjærer glukose til høgredreiende mjølkesyre uten nemnende mengder av andre syrer eller CO_2 (homofermentativ gjæring). Katalase-negative bakterier.

Genus II: Leuconostoc van Tieghem omfatter bare saprofytter. Dei fins parvis eller som kjeder av kokker (som kan vere noko langstrakte) i plantesafter og i mjølk. Glukose blir forgjært under produksjon av venstredreiende mjølkesyre, CO_2 , eddiksyre og/eller etanol. Frå fruktose kan mikrobene danne mannosyre. Typisk heterofermentative bakterier. Katalase-negative.

Genus III: Pediococcus Balcke representerer homofermentative mikrober som forgjærer glukose til inaktiv mjølkesyre. Cellene deler seg i to plan og viser seg både i par og i tetrader. Variabel katalase-aktivitet.

Genus IV: Aerococcus Williams et al. omfatter også bakterier som deler seg i to plan og gir par eller tetrader. Homofermentasjon av glukose til

høgredreiende mjølkesyre. Ingen eller bare svak katalaseaktivitet.

Genus V: Gemella Berger har usikker Gram-farging, men celleveggens struktur er av Gram-positiv type. Danner ikkje katalase.

Genus I: Streptococcus Rosenbach.

Cellene i denne slekta er sfæriske eller ovale, sjeldent langstrakte. I flytende substrat veks dei parvis eller som korte eller lange kjeder. Kapsler kan ein finne hjå nokre arter under visse vilkår. Unntaksvis fins kulturer (i gruppene B og D) som kan vise rustrød farge i djupe agarstaver eller gul eller orange farge i stivelsesbuljong. Voksteren på kunstige medier er svak og agarkoloniene er små (under 1 mm i diameter). Overflatekoloniene er gjennomskinlege. Overalt der det samler seg organisk materiale som inneholdt sukker vil det vere representanter for denne slekta.

Artene i slekta Streptococcus (Sc) deles i 4 hovedgrupper:

A. Ingen vokster ved 10° eller 45° (med visse unntak for Sc. sanguis). Veks ikkje i 6,5 % NaCl-buljong, ved pH 9,6 eller i mjølk med 0,1 % metylenblått:

1. Sc. pyogenes
2. Sc. equisimilis
3. Sc. zooepidemicus
4. Sc. equi
5. Sc. dysgalactiae
6. Sc. sanguis

7. Sc. pneumoniae
8. Sc. anginosus
9. Sc. agalactiae
10. Sc. acidominimus

B. Veks ikkje ved 10° , men ved 45° (unntak for Sc. mitis).
Veks ikkje i 6,5 % NaCl-buljong, ved pH 9,6 eller i
mjølk med 0,1 % metylenblått. Danner ikkje ammoniakk
frå arginin (unntak for Sc. mitis). Ikkje beta-
hemolyse:

11. Sc. salivarius
12. Sc. mitis
13. Sc. bovis
14. Sc. equinus
15. Sc. thermophilus

C. Veks ved 10° og 45° :

16. Sc. faecalis
17. Sc. faecium
18. Sc. avium
19. Sc. uberis

D. Veks ikkje ved 45° , men ved 10° . Veks ikkje i 6,5 %
NaCl-buljong eller ved pH 9,6. Veks i mjølk med 0,1%
metylenblått. Høyrer til LANCEFIELDs serologiske
gruppe N:

20. Sc. lactis
21. Sc. cremoris

I det følgjende tas med dei representantene for genus Streptococcus som er særleg viktige for meieribruket.

1. Streptococcus pyogenes Rosenbach

er ein typisk representant for pyogene streptokokker. Den utgjer gruppe A i LANCEFIELD's serologiske system for streptokokker. Den har optimal vokster ved omlag 37° og veks ikkje ved 10° og heller ikkje ved 45°. Den døyr ved oppvarming ved 60° i 30 min. Cellene er sfæriske til svakt ovale med diameter mellom 0,6 og 1 my. I lakmusmjølk produserer mikroben syre i regelen uten å koagulere mjølka. Dersom lakmus blir redusert, går iallfall avfargninga langsomt. Denne streptokokken kan vere årsak til mastitis hjå dyr, og infeksjoner gjennom mjølk frå slike dyr kan vere farlege.

(Andre namn på denne bakterien: Sc. epidemicus, Sc. hemolyticus og Sc. scarlatinae). Sc. pyogenes har særleg i tidlegere tider vore årsak til mange store "mjølkeepidemier". Det er gjort mange studier over denne mikrobens evne til å leve i ost, smør og andre mjølkeprodukt.

7. Streptococcus pneumoniae (Klein) Chester

var tidlegere registrert som eiga slekt. (Diplococcus pneumoniae). Den fins i dei øvre deler av andedrettsorgana hjå menneske og husdyr. Som mjølkebakterie speler den ingen rolle, men den er ofte årsak til lungebrand (lungebetennelse) og er såleis blitt ein av dei best studerte streptokokkene. På basis av serologiske reaksjoner på kapsulært polysakkharid er det hittil definert omlag 80 typer av denne arten.

9. Streptococcus agalactiae Lehmann et Neumann har særleg tidlegere vore den vanlegste årsaka til mastitis hjå kyr. I ku-juret kan den leve uten å bli påvist på klinisk måte. Den er ikkje menneskepatogen. Den kan vekse i både korte og lange kjeder (stakitt-former). Den høyrer til gruppe B etter LANCEFIELD. Diameteren på cellene kan variere mellom 0,4 og 1,2 my. Den veks ikkje under 15° og ikkje over 40° - helst ved 37°. Den overleverer ikkje låg-pasteurisering. I kaseinpepton-buljong forgjærer den sakkarose like godt som laktose. I mjølk produserer den maksimum 0,5 % syre, og lakmusmjølk blir rødfarga før den koagulerer for så etterpå å bli avfarga nedanfrå og oppover. Metylenblått blir redusert svært langsamt eller slett ikkje, innen eit døger. Evna til proteolyse (kaseinspalting) er svak.

13. Streptococcus bovis Orla-Jensen (gruppe D. LANCEFIELD) er ikkje bare den vanlegste streptokokken i kuggjødsel, men den er den mest typiske bakterien som fins der i det heile. I mjølk veks den i korte kjeder og danner tjukke kapsler. I lakmusmjølk danner den syre med koagulasjon etter 3-5 døger. Deretter blir det reduksjon av lakmus. Optimumstemperatur for vokster er 35°, og i ny-isolert tilstand har den maksimumstemperaturen 45°. Den veks ikkje under 20°. Den kan overleve 60° i 30 min., men ikkje 65°. Den forgjærer glukose, fruktose, mannose, galaktose, maltose, laktose, sukrose, raffinose og salicin. Av og til er det syreproduksjon frå mannitol, sorbitol, inulin, arabinose og trehalose. Mikroben er ein sterk kaseinspalter og står i så måte på høgd med representantene for lactis-gruppa. Elles er denne

mikroben den minst kresne av alle straptokokker m.o.t. næringskrav, og WOLIN et al. har vist at mange stammer kunne nytte NH_4^+ -salt som nitrogenkjelde.

15. Streptococcus thermophilus Orla-Jensen hører til den endemiske mikrofloraen hjå menneske og dyr, men den er ikkje så vanleg der som Sc. bovis. I mjølk veks Sc. thermophilus alt etter temperaturen som diplokokker eller som kortere eller lengre kjeder. Formene veksler meir på kunstige substrat. Cellene er sfæriske med diameter 0,7-0,9 my og med litt tilspissa ender. Den veks langsamt ved vanleg romstemperatur, raskest ved $40-45^\circ$ og etter langsamere ved 50° . For å drepe denne mikroben må ein utsetje den for kortvarig oppvarming til 80° . I lågpasteurisert, langtids-pasteurisert og i rå mjølk som får stå ved $40-45^\circ$ er Sc. thermophilus den vanlegste mjølkesyrebakterien. Den utgjer størstedelen av den syreproduserende flora i lågpasteurisert mjølk. Sc. thermophilus forgjærer korkje alkoholer eller polysakkarid. I mjølk produserer den 0,8 % syre. Den spalter ikkje kåsein. I lakkusmjølk farger den mjølka rød før koagulasjon og avfarger den etterpå. Bakterien klarer vanleg lågpasteurisering, men ikkje høgpasteurisering. Den speler ei viktig rolle ved framstilling av høgt ettervarma ostesorter, både surmjølk- og løypeoster, samt yoghurt der den inngår i syrekulturen sammen med Lactobacillus bulgaricus.

16. Streptococcus faecalis Andrews et Horder (gruppe D, LANCEFIELD), er den mjølkesyrestreptokokken som alltid dominerer mellom dei "enterokokker" som fins i faeces frå menneske.

Den fins i kugjødsel og, men særleg i kalvegjødsel. Morfologisk skil denne mikroben seg lite fra Streptococcus lactis. Cellene er sfæriske eller ovale og varierer noko i storleik. Dei fins parvis eller i kortere kjeder i flytende medier. I lakkusmjølk reduserer den ofte fargen før koagulasjon.

Eit særdrag ved denne mikroben er at den er relativt penicillin-resistant. Den tåler langt høgere konsentrasjoner av penicillin i mjølka enn dei fleste andre streptokokkene (veks ved nærvær av 0,5-1,0 int. ein. pr. ml). Den kan videre vekse ved ein NaCl-konsentrasjon på 6,5 %. Temperatur-intervallet for vokster er heller stort. Mikroben skal såleis kunne vekse ved 5° og jamvel derunder. Elles veks den godt ved både 10° og 45°, men ikkje ved 50°. Optimaltemperaturen for vokster er 37°. Det er vist at den i regelen overlever lågpasteurisering.

Sc. faecalis skil seg noko fra Sc. lactis når det gjeld å utnytte ymse karbonkjelder. I mjølk produserer den sjeldan meir enn 0,6 % syre.

Denne mikroben har i lange tider vore kjend som ein mindre sterke kasein-spalter. Likevel har det vore mogeleg å finne fram til stammer som har vist seg brukbare f.eks. ved framstilling av Cheddarost. Men det har også vore ei viss skepsis m.o.t. systematisk poding av denne mikroben i ystemjølka ettersom spesielle stammer av den er isolert frå sjuke organ (endokarditt).

Alle Sc. faecalis-kulturer fermenterer glyserol, men for ein

del stammer skjer det bare ved anaerobdyrkning.

Sc. faecalis underart liquefaciens (Sternberg, Orla-Jensen)

Mattick er vanleg i gjødsel. Den kan også finnes som "jur-kokk". Morfologisk likner den mykje på Sc. lactis. Men den er heilt ulik både Sc. faecalis og Sc. lactis ved at den både hydrolyserer gelatin så den blir flytende og peptoniserer mjølk. (I mjølk vil peptoniseringa oftest skje nedover på eine sida av mjølkesøyla inne i eit kulturglas). Eit eldre namn på denne mikroben er "smeltende Güntheri". På grunn av denne eigenskapen har bakterien ei særstilling mellom dei ekte mjølkesyrebakteriene. For så vidt kunne den føres over til ei heilt annen slekt i ein annen familie (Micrococcaceae), men Orla-Jensen plasserte den mellom streptokokkene fordi den ikkje har katalase. Denne mikroben veks ved relativt låge temperaturer, den kan overleve 60° i 30 min., men vil i regelen ikkje tåle lågpasteurisering. Mjølka vil koagulere straks syreprosenten kjem opp i 0,3 som ei følgje av kombinert syre- og løypeverknad, men syrninga held fram til mengda er omlag 0,7 %. Den avfarger (reduserer) lakmus før koagulering. Mikroben produserer fleire flyktige syrer. Kaseinspaltinga er heilt uvanleg sterk og blir gjerne følgt av ein bitter smak.

Sc. faecalis underart zymogenes (MacCallum et Hastings)

Mattick står svært nær dei andre Sc. faecalis-artene.

17. Streptococcus faecium Orla-Jensen (gruppe D, LANCEFIELD) har mange felles eigenskaper med Sc. faecalis, men skil seg fra sistnemnde bl.a. ved ikkje å vekse i medier med 0,04 % telluritt.

20. Streptococcus lactis (Lister) Löhnis utgjer, sammen med Sc. cremoris, gruppe N etter LANCEFIELD ("laktis"-gruppa). Sc. lactis er den bakterien som heilt dominerer i sjølsyrna mjølk på våre breiddegrader. Det er funne at gjennomsnittleg vel 60% av mjølkesyrebakteriene i rå mjølk er nettopp Sc. lactis. Den blei oppdaga i 1873 av den kjende britiske bakteriologen LISTER som ga den nemnet Bacterium lactis. Det har vore mange funderinger og diskusjoner om kvar denne mikroben kjem frå, den er nemleg funnen både på planter og i faeces. Det er likevel ikkje alltid lett å finne den i kugjødsel, men ein meiner i dag, stort sett, at den står dei vanlege tarmstreptokokkene så nær at ein må sjå på den som ein form av desse, ei form som i mjølka finn eit særskilt høveleg miljø. I mjølk som er mjølka under absolutt aseptiske tilhøve veks mikroben därleg. Dette kan ein betre på ved tilsettjing av små mengder kugjødsel (slik som tilfellet er for ein del andre mjølkesyrebakterier også).

Sc. lactis fins i mange varieteter med større eller mindre ulikskaper såvel i morfologi som i fysiologiske tilhøve. I mjølk vil Sc. lactis i regelen opptre som diplokokker med svakt tilspissa celler, av og til kan det vere korte kjeder. Diameteren ligg vanlegvis mellom 0,5 og 1 my. Medan koloniene på agar eller gelatin er små og kvite med glatte kanter, vil

dei nede i fast substrat ha ellipsoid form. Overflatekoloniene er ikkje viskøse. Den veks vanlegst mellom 10° og 37° , ja, opp til $40-41^{\circ}$, men helst ved omlag 30° . Den danner syre mellom 7° og 40° med optimum $30 - 35^{\circ}$. Den dør ved oppvarming til $60 - 65^{\circ}$, unntaksvist noko høgre.

Denne mikroben har ei særstilling mellom dei ekte mjølkesyrebakteriene idet den kan utvikle seg i pepton-buljong uten særskild karbonkjelde. Elles forgjærer den særleg lett alle heksoser, laktose, maltose og dekstrin, men som regel ikkje sakkarose. Under forgjæring av laktose i mjølk vil det maksimalt bli 0,8 % syre idet pH-verdet fell fra 6,6 til omlag 4,5. Av syra er 96 - 97% høgredreiende mjølkesyre, resten er eddiksyre, maursyre og CO_2 . Mengda av CO_2 er likevel ikkje større enn at mjølka i regelen absorberer gassen uten at det blir "stripes" i koaglet.

Lakmusmjølk blir avfarga nedanfrå før koagulasjonen og blir deretter rødfarga frå overflata. Den reduserer raskt metylenblått.

Kaseinspaltingsevna er ulik for dei einskilde stammene. Hjå nokre er det knapt mogeleg å påvise den, men i regelen vil 10-20 % av nitrogenet gå i oppløysing i ein mjølke-kritkultur når den får stå eit par månader ved $14 - 20^{\circ}$. Ved 36° er spaltinga mykje mindre. Det var BARTHEL som i 1914 for første gong påviste denne evna hjå Sc. lactis.

Ein varietet av Sc. lactis er Sc. saccharolactis Orla-Jensen et Hansen. Denne skil seg frå Sc. lactis ved at den forgjærer

sakkarose. Den fins i sjølsyrna mjølk, men i mindre mengd enn Sc. lactis. Den har og i visse tilfelle vore påvist i syrevekkjerer.

Ein annen varietet er Sc. lactis underart maltigenes Hammer et Cordes. Den er årsak til den spesielle maltsmaken som av og til kan merkes på syrevekkjerer og smør. Lukt og smak minner om brent malt.

Ein tredje varietet er Sc. diacetylactis Matuszewski, Pijancwski et Supinska som på sett og vis vitner om at genus Streptococcus ikkje er absolutt homofermentativ. Varieteten har dei same karakteristika som Sc. lactis med unntak av at den kan forgjære sitrat (samen med eit forgjærbart karbohydrat) til CO₂, acetoin og diacetyl.

Ein spesiell eigenskap hjå visse Sc.lactis-stammer er evne til å produsere eit antibiotisk stoff som har fått namnet nisin. MATTICK et al. ved The National Institute for Research in Dairying (NIRD) har forska mykje på dette området. Størst forventning til nisin har vore som eit agens til å hindre vokster hjå Clostridium-arter.

Sc. lactis speler ei sentral rolle innen meieribakteriologien og er av den grunn betre studert og utforska enn dei fleste andre bakteriearter. Frå relativt tidlege studier ved VIRTANEN over vokster og syreproduksjon og ved DIETHELM over proteolyse gjengis her relative verde som kan nyttas til grafiske framstillinger:

Variasjoner med pH-verdet

pH	Vokster		Syreproduksjon		Kaseinspalting	
	30°	pH	30°	pH	30°	
7,5	3	9,5	0	6,9		85
6,9	24	8,6	30	6,6		97
6,3	50	7,8	50	6,3		100
5,8	100	6,5	97	5,5		57
5,4	80	6,2	100	4,8		26
4,7	25	4,6	41			
4,1	1	3,4	25			
		2,9	14			

Variasjoner med temperaturen

Temp. °C	Vokster pH 5,8	Temp. °C	Syreproduk- sjon, pH 6,2	Temp. °C	Kaseinspalting pH 6,3
10	-	10	18	4	24
15	16	14	31	20	67
20	21	20	48	30	100
25	71	25	67	37	92
30	74	30	100	45	64
33	100	37	99		
36	57	48	61		
42	2	52	19		
45	-	55	0		

Variasjonene i vokster ved ulike pH-verde stemmer elles godt med dei første granskingene på dette området som SVANBERG gjorde i 1919. Han fann optimal vokster i pH-området 5,5 til 6,4 med eit sterkt tilbakefall i voksteren i pH-intervallet

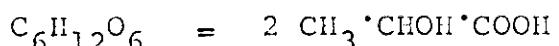
6,5 - 6,8. ORLA-JENSEN hevda at optimum for vokster hjå streptokokker vanlegvis ligg ved pH 6,5. Det vil oftest vise seg at både syreproduksjon og kaseinspalting har videre interval enn voksteren. Elles må ein vere sers merksam på at syremengda pr. tideining ved dei ymse temperaturer er analysert i unge kulturer (logaritmisk fase) og med ein konstant og favorabel hydrogenion-konsentrasjon. Sjølve den syra som blir produsert vil på si side vere årsak til at hydrogenion-konsentrasjonen stig. Det verker dempende på gjæringa, og den vil før eller seinere stanse. I ein kultur av Streptococcus lactis i mjølk observerte RAHN både vokster og syredanning gjennom 36 timer ved 21-24°. RAHN's observasjoner er gjengitt i tabellen nedanfor, og bakteriettalet og syremengda kan teiknes inn grafisk med tida som abscisse og logaritmen til bakteriettalet respektive syremengda som ordinat. I siste kolonne i tabellen er tatt med gjæringsevna til einskildcellene. Gjæringsevna vil seie den mengd av sit stoffskifteprodukt som cella kan produsere i ein time. Gjæringsevna vil variere både med hydrogenion-konsentrasjon og med temperatur og dessuten med det stadium for vokster som cella er i. I tillegg til dette vil sjølve bakteriekonsentrasjonen eller bakteriettalet pr. ml spele inn.

Tabell etter RAHN

Timer	Bakterietal			Gjæringsevne. mg syre	
	n	lg n	Aciditet (S-H)	pr. celle	pr. time
0	38.000	4,58	6,6		0
3	184.000	5,26	6,6		0
6	1.600.000	6,20	6,6		0
9	18.700.000	7,27	6,8		$46,2 \cdot 10^{-10}$
12	112.000.000	8,05	7,4		$10,0 \cdot "$
15	430.000.000	8,63	10,4		$13,8 \cdot "$
18	1.000.000.000	9,00	18,2		$11,7 \cdot "$
21	1.250.000.000	9,10	25,4		$6,6 \cdot "$
24	1.490.000.000	9,17	27,4		$2,0 \cdot "$
27	1.300 000.000	9,11	28,6		$0,5 \cdot "$
30	1.170.000.000	9,07	29,4		$0,5 \cdot "$
33	1.380.000.000	9,14	29,2		0
36	1.550.000.000	9,19	30,8		0

Først når bakteriettalet er kome over 1 million pr. ml blir det syredanning. Då er samstundes gjæringsevna maksimal. Ut gjennom den logaritmiske perioden blir gjæringsevna svekka, men då talet på celler går opp i milliarder, vil likevel syreprosenten auke til hydrogenion-konsentrasjonen og mengda av udisssosierete mjølkemolekyl er så stor at både vokster og gjæring stanser.

For sjølve mjølkesyregjæringa har vi bruttolikninga



når vi går ut frå ein heksose. Men til grunn for denne bruttolikninga ligg ei lang rad av enkeltreaksjoner og tilsvarende "mellom-likninger". Mjølkesyrningsprosessen viser stor likskap med alkoholgjæringa. Begge fører fram til pyrodruesyre (pyrovat). Ved alkoholgjæring katalyserer deretter pyrodruesyre-dekarboksylase ei spalting til acetaldehyd og karbondioksyd, og deretter går acetaldehyd over til etanol ved

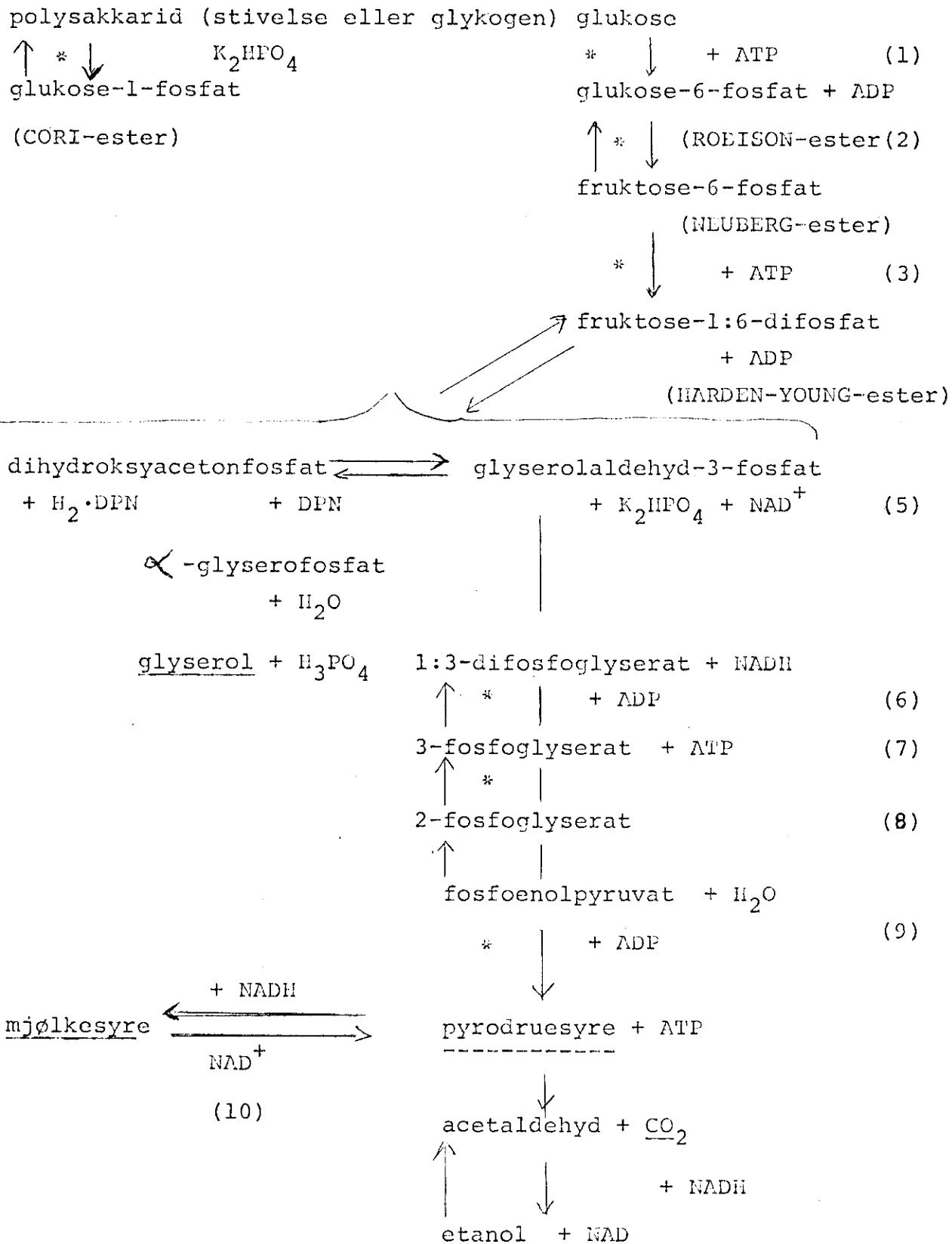
hjelp av alkohol-dehydrogenase. Ved mjølkesyregjæring blir pyrovatet (pyrodruesyre) redusert til laktat (mjølkesyre) i ein prosess som katalyseres av laktat-dehydrogenase.

Den totale glykolytiske sekvensen eller rekkjefølgje av reaksjoner fra heksoser fram til pyrodruesyre og etanol respektive mjølkesyre kalles ofte, etter forsker som har klarlagt mange av reaksjonene, for EMBDEN-MEYERHOF-sekvensen.

Den glykolytiske nedbrytinga av sukker til laktat katalyseres av ei rad ulike enzym. Dei første innleiende stega er at ymse heksoser (og pentoser) overføres til fruktose-1:6-difosfat som så deles i to C₃-stoff der glycerol-aldehyd-3-fosfat er av størst interesse.

I det gjengitte oversiktsskjemaet går f.eks. D-glukose inn i prosessen. Den første fosforyleringa (1) katalyseres av heksokinase som også er aktiv for visse andre heksoser som D-fruktose, D-mannose og D-glukosamin.

Overgangen fra glukose-6-fosfat til fruktose-6-fosfat (2) katalyseres av fosfoglukoisomerase som er eit spesifikt enzym for desse to stoffa. I det neste steget (3) er det fosfofruktokinase som katalyserer bindinga av fosfat i 1-stilling og gir dermed fruktose-1:6-difosfat. Nå er C₆-molekylet ferdig for deling (4) til to triose-fosfat-molekyl: glycerolaldehyd-3-fosfat og dihydroksyacetonfosfat. Dette skjer ved hjelp av aldolase. Her vil enzymet triose-fosfat-



* Går bare i nærvær av
Mg⁺⁺ eller Mn⁺⁺

Dialyserbare komponenter:

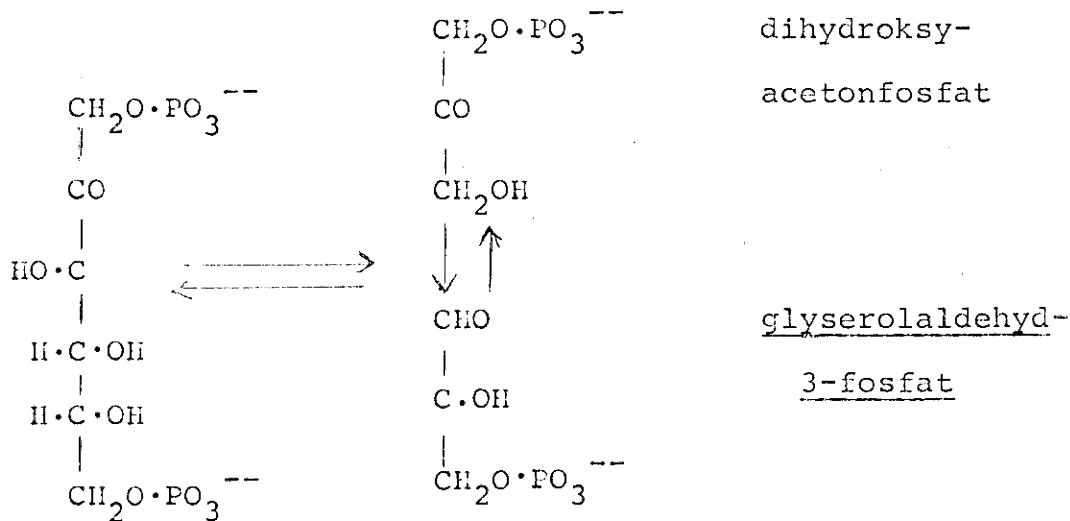
ATP: adenosintrifosfat

ADP: adenosindifosfat

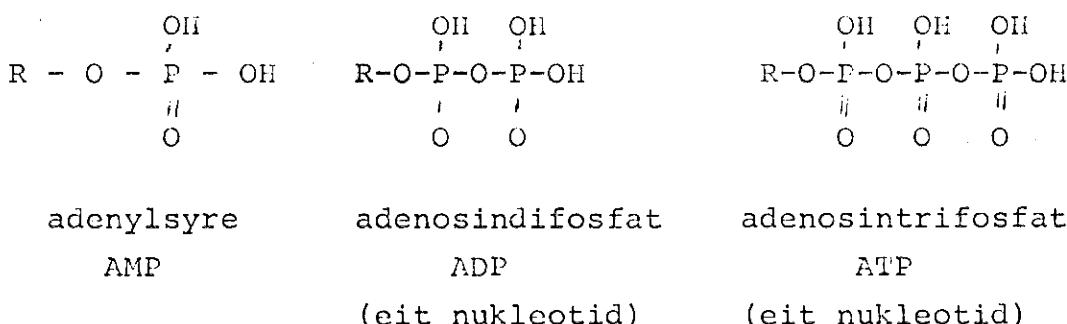
NAD⁺: nikotinamid-adenin-dinukleotid

NADH: redusert form av NAD⁺

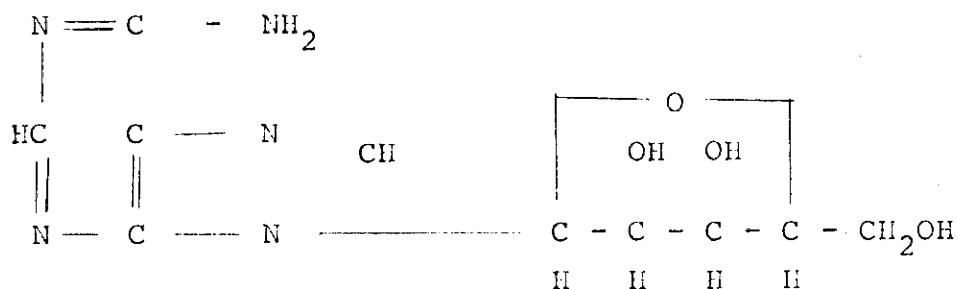
isomerase katalysere ein (reversibel) overgang frå dihydroksy-acetonfosfat til glyserolaldehyd-3-fosfat, som ligg til grunn for dei neste stega i glykolySEN:



I dei føregående reaksjonsstega er fosforyleringa skjedd ved at eit nukleotid, ATP eller adenosintrifosfat har gitt frå seg ei fosfatgruppe. ATP utgjer ein del av det viktigste nukleotidsystemet, nemleg det som byggjer på pyrinbasen adenin (6-aminopurin):



ROH:



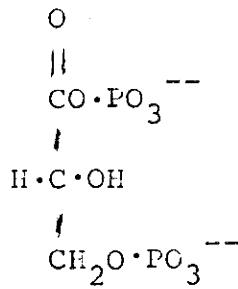
adenin
(ein pyrinbase)

ribose

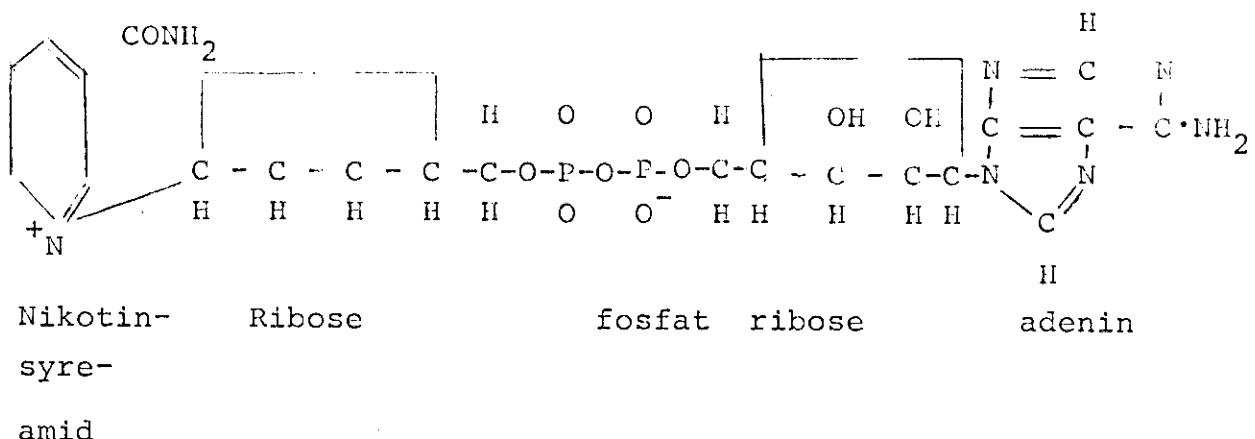
adenosin (eit nukleosid)

To av fosfatgruppene i adenosintrifosfatet kan suksessivt bli overførde til andre sambindinger, men for å gjøre det heile enklere, opererer vi bare med ei fosfatgruppe i gjæringskjemaet.

I den neste reaksjonen (5) oksyderes aldehydgruppa i glyserolaldehyd-3-fosfat til karboksylgruppe, men i staden for å framstå som ei fri karboksylgruppe danner den eit blanda anhydrid med fosforsyre, og resultatet blir 1:3-difosfoglyserat:



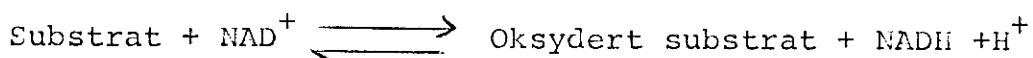
Det enzymet som katalyserer denne overgangen er glyserol-aldehyd-3-fosfat dehydrogenase. Ein annen viktig komponent her er CO-enzymet nikotinamid-adenin-dinukleotid (NAD):



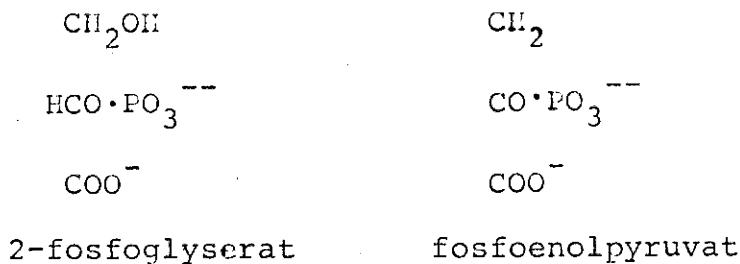
Nicotinamid-adenin-dinukleotid kan eksistere i ei oksydert og i ei redusert form etter som pyridinnitrogenet byter valens. I oksydert tilstand har nitrogenet valensen 5 og har ei positiv ladning som blir nøytralisert av ei negativ ladning hjå ei av fosfatgruppene. I redusert tilstand blir nitrogenet trivalent etter som det er tatt opp 2 hydrogenatom. Det eine av desse går nemleg til pyridinringen, og det andre danner ein fri hydrogenion ved fosfatgruppa. Det reduserte dinukleotidet blir seinere re-oksydert (10) og kan då atter gå inn i den nettopp nemnde reaksjonen.

Dei to formene av dette dinukleotidet blir ofte skrevne som NAD og NADH₂. Her nyttes formene NAD⁺ og NADH fordi:

Når NAD⁺ reduseres, overføres eit hydridion (:H⁺) frå substrat-molekylet til 4-stilling i nikotinsyreamidringen. Denne ringen blir då redusert i stillingene 1 og 4. Det andre hydrogenatomet frå substratet går ut i mediet som H⁺-ion. Slik blir det "balanse" i uttrykket for den enzymatiske reduksjonen av dinukleotidet:



I den neste omsetjinga (6) er det fosfoglyserat-kinase som katalyserer overgangen fra 1:3-difosfoglyserat til 3-fosfoglyserat. Deretter katalyses overgangen (7) fra 3-fosfoglyserat til 2 fosfoglyserat av enzymet fosfoglyseromutase. Det neste steg (8) over til fosfoenolpyruvat, katalyses av enolase:



Overføring av fosfatgruppa til ADP ved hjelp av enzymet pyruvat-kinase gir så pyruvat eller pyrodruesyre (9). I den siste reaksjonen fram til mjølkesyre (10) katalyses reduksjonen av laktat-dehydrogenase, og dei elektronene som gjekk over fra glyserol-aldehyd-3-fosfat til NAD^+ (5) kjem nå inn i reaksjonen med NADH .

21. Streptococcus cremoris Orla-Jensen. STORCH påviste denne streptokokken i 1890 i fine kvaliteter av syrevekkjerer (syrekulturer) og smør som var framstilt av syrna fløyte. Kulturer av denne bakterien tok dei etter kvart i bruk som "fløytesyrningsbakterie". Ein ser nærmest på Sc. cremoris som ei kulturform som i motsetning til Sc. lactis ikkje kan finnes kvar som helst i sjølsyrna mjølk. Den er i allfall til stades i langt mindre mengder enn Sc. lactis. Også av Sc. cremoris er det funne varieteter. Cellene er i regelen

sfæriske, og i mjølk fins dei dels som diplokokker, dels (og vanlegere) som lange kjeder. Cellene kan ofte vere litt større enn hjå Sc. lactis.

Under 10° veks Sc. cremoris langsamt og vil gjerne då bli slimproduserende. Slimet har proteinkarakter. Ved 15° er voksteren god, men optimumstemperaturen ligg mellom 25 og 30° . Den koagulerer ikkje mjølk ved 39° . Ei sammenlikning mellom Sc. lactis og Sc. cremoris viser at Sc. cremoris ikkje forgjærer maltose eller dekstrin. Dette blir nytta som eit godt differensialdiagnostisk kjenneteikn ved identifikasjon av bakterien. Medan Sc. lactis kan vekse ved 40° , er ikkje det tilfellet for Sc. cremoris. Den førstnemnde kan vekse i nærvær av 4 % NaCl, det kan ikkje den andre. Videre kan den førstnemnde vekse ved pH 9,2, men heller ikkje det kan Sc. cremoris. Sc. lactis spalter arginin og gir då positiv reaksjon på NH_3 med NESSLER's reagens.

Sc. cremoris forgjærer ikkje sakkarose.

Gjæringa til Sc. cremoris er temmeleg rein, men syremengda går sjeldan over 0,7 % i mjølk. I lakmusmjølk skil den seg lite frå Sc. lactis, men reduserer metylenblått noko langsommere. Evna til kaseinspalting varierer. Gjennomgående er den større enn hjå dei andre streptokokkene.

I tettemjølk fins ein varietet Sc. taette Olsen-Sopp. S OPP var den første som studerte slimdanning hjå denne mikroben. Den veks godt ved låge temperaturer der slimdanninga er størst. Ved høgre temperaturer kan slimdanninga utebli, særleg når syredanninga når sitt maksimum. Andre varieteter av denne arten er Sc. hollandicus Scholl og Sc. mannto-cremoris Jensen et Hansen.

Genus II: Leuconostoc van Tieghem

Normalt har cellene i denne genus sfærisk form, men under visse tilhøve som f.eks. i sure frukter og grønnsaker, kan cellene strekkje seg og bli spisse, ja, til og med avlange og danne overgang til stavformer. Visse typer veks med karakteristisk slimdanning i sukrosemedier. Leuconostoc (Lc)-artene veks på vanlege substrat, men voksteren blir betre ved tilsetjing av ekstrakt fra gjær, tomater og andre vegetabilier. Vanlegvis er syreproduksjonen moderat, og det blir ei blanding først og fremst av mjølke- og eddiksyre. Dessuten vil der vere ein del alkohol i blandinga, likevel slik at nokre stammer som har ein oksydativ mekanisme danner eddiksyre i staden for etanol. Omlag 1/4 av den fermenterte glukosen (rekna i vekt) vil finnes att som CO_2 . Bakteriene i denne genus vil alltid produsere venstredreiende mjølkesyre, men av og til vil denne vere blanda opp med høgredreiende. Ved ei slik heterofermentativ mjølkesyregjæring vil det ofte vere noko ravsyre og litt glyserol mellom sluttprodukta. Fruktose blir redusert til mannosyre.

For denne slekta nyttes her den amerikanske nomenklaturen slik som den er gitt i BERGEY's Manual of Determinative Bacteriology (8. utg.). Der var det professorene HUCKER og PEDERSON som først svarte for redigeringa av dette stoffet og det er etterpå revidert av ELLEN I. GARVIE.

ORLA-JENSEN polemiserte i si tid mot den amerikanske nomenklaturen, det var särlig slektsnamnet Leuconostoc han ville

til livs. Dei vanlege aromabakteriene i meieribrukets syrekulturer høyrer heime i denne slekta, og det er såleis rimeleg at det har vore mykje diskusjon om både slekta, slektsnamnet og dei einskilde bakterieartene. I den monografien som ORLA-JENSEN ga ut i 1919 over mjølkesyrebakteriene (The Lactic Acid Bacteria) nytta han slektsnamnet Betacoccus (Bc), og det er slett ikkje umogeleg at dette slektsnamnet med tida kan bli innførd i den generelle internasjonale nomenklaturen. Det har også lenge vore vanleg at europeiske og spesielt skandinaviske meieribakteriologer har følgt ORLA-JENSEN's nomenklatur reint generelt og spesielt når det gjeld denne slekta. Andre forskerer har til og med nytta Streptococcus-namnet på nokre av dei artene som slekta omfatter. I den skjematiske oppstillinga er dei ymse synonyma tatt med:

1. Leuconostoc mesenteroides (Tsenkovskii) van Tieghem

Synonym:

Betacoccus arabinosaceus Orla-Jensen

Lc. arabinosaceus Holland

2. Leuconostoc dextranicum (Beijerinck) Hucker et Pederson

Synonym:

Betacoccus bovis Orla-Jensen

Betacoccus cremoris (A-form) Knudsen et Sørensen

Lc. dextranicus Beijerinck

Lc. bovis Holland

Sc. paracitrovorus Hammer

Sc. kefir Migula

3. Leuconostoc paramesenteroides Garvie
4. Leuconostoc lactis Garvie (Sc. kefir Abd-el-Malek et Gibson)
5. Leuconostoc cremoris (Knudsen et Sørensen) Garvie

Synonym:

Betacoccus cremoris Orla-Jensen

Betacoccus cremoris (X-form) Knudsen et Sørensen

Lc. citrovorum (Hammer) Hucker et Pederson

Sc. citrovorus Hammer

6. Leuconostoc oenos Garvie

SÖNCKE KNUDSEN la ned eit stort arbeid på studier av desse bakteriene og sammen med A. SØRENSEN la han fram ei rekke resultat i 1929. Seinere (1944) summerte han resultata av arbeida til dei ymse forskerar på området slik:

BOEKHOUT og DE VRIES kalla bakteriene aromabakterier.

STORCH gjekk heller ikkje så langt at han ga mikrobene spesielt namn, han nytta arbeidsnamnet X-bakterier.

HAMMER introduserte namna Streptococcus paracitrovorus og Streptococcus citrovorus.

SÖNCKE KNUDSEN heldt fast ved namnet Betacoccus cremoris.

Desse sistnemnde forskerne var omrent samtidige (1920).

SÖNCKE KNUDSEN peika på at før nokon annan var STORCH klar over den rolla betakokkene (Leuconostoc) spelte i meieri-bruket. Men STORCH kunne aldri kome seg til å publisere resultata av sine granskinger fordi han fann at der alltid var noko som sto att for å få den fulle forståinga av alle tilhøve. Hans skrift om X-bakteriene kom derfor først ut

etter hans død og då på grunnlag av eit manuskriptutkast han let etter seg.

1. Leuconostoc mesenteroides (Tsenkovskii) van Tieghem.

Denne mikroben er vanlegst i syrnende plantedeler, men det har vore hevda at dei betakkene (Leuconostoc-stammene) som fins i kefirmsjølk i regelen er Leuconostoc (Lc.) mesenteroides. Temperaturintervallet for vokster er $10-37^{\circ}$ med optimalområde $20-30^{\circ}$.

I motsetnad til dei andre artene i slekta forgjærer Lc. mesenteroides arabinose, og det er grunnen til ORLA-JENSEN's namn på mikroben. Elles har den det særdraget at den er ein aktiv slimprodusent i sukroseoppløysinger, og det har vore vanleg å isolere den frå slim i sukkerfabrikkene.

2. Leuconostoc dextranicum (Beijerinck) Hucker og Pederson.

Som alt nemnt kalla HAMMER denne mikroben for Streptococcus paracitrovorus medan ORLA-JENSEN ga den namnet Betacoccus bovis. I sin store monografi over mjølkesyrebakteriene i 1919 hadde nok ikkje ORLA-JENSEN nådd så langt at han hadde fått utarbeidd ei tilstrekkeleg god og grundig oversikt over den slekta han kalla Betacoccus (Leuconostoc).

ORLA-JENSEN var då ikkje komen lenger enn at han heldt det sannsynleg at slekta hadde i allfall to ulike arter. Han la då særleg vekt på morfologiske ulikskaper ved sida av at han peike på arabinoseforgjæringa hjå den eine. Så stort stoff som ORLA-JENSEN hadde å arbeide med er det urett å

undre seg over at han ikkje nådde å utarbeide denne slekta i den grad som visse spesialister kom fram til omtrent samtidig, men ORLA-JENSEN hadde ein sikker intuisjon då han i 1919 skreiv til slutt i kapitlet om Betacoccus: "It is possible that the betacocci should be divided into more than the two mentioned species" og han heldt fram: "With all experiments in this direction, however, I have felt that I was working on treacherous ground as these bacteria exhibit such great variability in almost all respects". ORLA-JENSEN arbeidde likevel videre for å klarleggje systematikken til desse bakteriene. Ved granskning av VICTOR STORCH's smøraromaprodusenter (STORCH's X-bakterier) fann ORLA-JENSEN at desse bakteriene var ekte mjølkesyrebakterier som høyrdheime i genus Betacoccus. Seinere gjorde SÖNCKE KNUDSEN inngående studier over eit større materiale av X-bakterierstammer og kom fram til namnet Betacoccus cremoris.

Leuconostoc dextranicum som ORLA-JENSEN kalla Betacoccus bovis, er kuleforma med ein diameter mellom 0,6 og 1 my, eller avlange, $0,5-0,7 \times 0,7-1,2$. Den veks parvis eller i korte kjeder. Lakmusmjølk blir syrekoagulert, og nederst i kulturglasset er det ofte ein svak reduksjon av lakmus. Veks over temperaturområdet $10-37^\circ$ med optimum mellom 20 og 30° . Den fins i syrekulturer og høyrer naturleg heime i såvel mjølkeprodukt som i plantemateriale. Mikroben er fakultativt aerob og har som særskilt kjenneteikn mellom anna at den danner moderate mengder slim i sukroseoppløysinger.

3. Leuconostoc paramesenteroides Garvie var tidlegere sett på som ein varietet av Lc. mesenteroides uten evne til å danne dekstran. Den er funnen på urter og gras, i gjærende grønsaker og i mjølk og mjølkeprodukt. Celleform og -storleik som for Lc. dextranicum. Det same gjeld temperatur for vokster. Lc. paramesenteroides er fakultativt anaerob, men nokre stammer veks best i reduserende miljø. Slike stammer har ein lägere optimumstemperatur for vokster, $18 - 24^{\circ}$.

4. Leuconostoc lactis Garvie har celleform og -storleik som føregående art. Den er meir varmeresistent enn andre Lc.-arter og vil normalt kunne overleve 60° i 30 min. Temperaturområde for vokster er $10 - 40^{\circ}$ med optimum mellom 25 og 30° . Denne bakterien er funnen i mjølk og mjølkeprodukt, men er elles ikkje funnen så ofte.

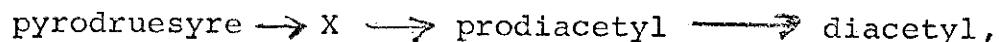
5. Leuconostoc cremoris (Knudsen et Sørensen) Garvie speler ei viktig rolle som aromaprodusent ved syrning av mjølk og fløyte. Morfologisk sett skil den seg lite fra Lc. dextranicum. Lc. cremoris veks i intervallet $10-30^{\circ}$ med optimumsområde $18-25^{\circ}$.

Ein finn fleire former av denne mikroben. Den er eit faktum som ikkje minst ORLA-JLONSEN var merksom på. På same måten som han i monografien av 1919 streka under at det var usikre faktorer når det gjaldt den systematiske inndelinga av betakkene i det heile, så kom han i 1943 tilbake til sjølve Leuconostoc citrovorum, som han kalla Betacoccus cremoris,

og peika på at den var variabel med omsyn til forgjæring av sukkerarter. SØNCKE KNUDSEN la stor vekt på at mannose-forgjæring var typisk for Lc. dextranicum, men ikkje for Lc. citrovorum. Lc. citrovorum er ein svakere syreproduusent i lakkusmjølk enn Lc. dextranicum, men det blir også her ein partiell reduksjon av fargestoffet. Gjæringsoptimum for mikroben er pH 5,8. Medan syremengda i mjølk vil være for liten til å koagulere mjølka, vil bare ei lita tilsetjing av gjærautolysat føre syremengda opp mot 1 %.

Det er hevdat at Lc. cremoris bryt ned sitrat ved nærvær av eit forgjærbart karbohydrat. Det dannes då acetat, pyruvat og CO₂. Pyruvat overføres til acetoinsyre og diacetyl. Men elles må det hevdes at heilt til det siste (1976) er der forskerar som er i tvil om mekanismen for diacetylproduksjonen i syrekulturer og smør. VAN BEYNUM og PETTE, og andre med deiim, fann at diacetyl bare blir dannna under aerobe vilkår og i nærvær av sitronsyre. VAN BEYNUM og PETTE tenkte seg derfor at diacetyl skriv seg frå sitronsyre. Men VIRTANEN og m.a. COPPENS har halde fram at sitronsyra bare tener som hydrogen-akseptor medan diacetyl blir dannna frå laktose. Alle forskerne er likevel samnde om at diacetyl blir dannna med pyrodruesyre som eit intermediært produkt (som prova av VAN BEYNUM og PETTE). Derimot er det ikkje semje om reaksjonsmekanismen når det gjeld overgangen frå pyrodruesyre til diacetyl. Av og til blir det hevdat at diacetyl dannes ved oksydasjon av acetylmetylkarbinol, men PETTE viste at dette er tvilsomt. Han postulerte eit intermediært stoff, X, som kom frå pyrodruesyre. Frå dette stoffet skulle det

kunne dannes såvel acetyl-metylkarbinol som diacetyl
(når stoffet blir oksydert):



acetylmetyl-

karbinol

+ 2 H

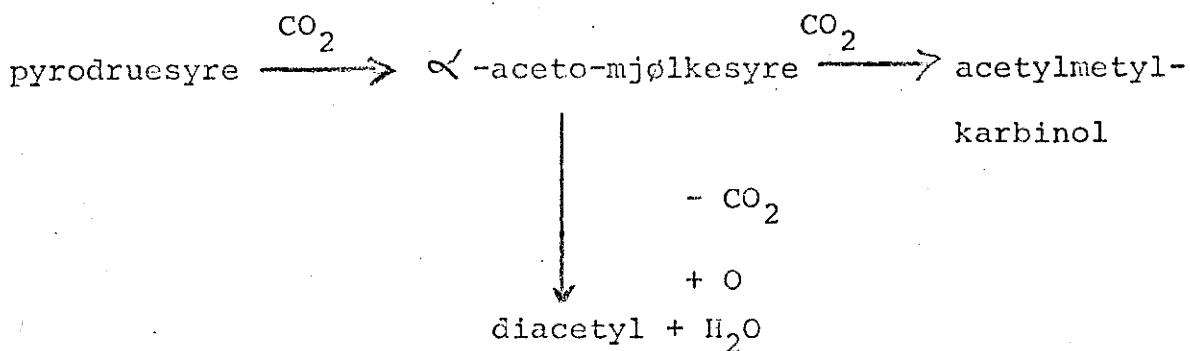
(Prodiacetyl er tatt med i skjemaet for å forklare den langsomme produksjonen av diacetyl i smør - ein prosess som ein meinte var anaerob. Men nå er det vist at det er eit høgt redoks-potensial i smør. Derfor ser ein nå bort frå "prodiacetyl".

Identiteten til substansen X blei lenge verende ukjend. Men så blei det oppdaga (WATT og KRAMPITZ) at når Staphylococcus aureus danner acetylmetylkarbinol frå pyrodruesyre, går det over eit intermediært stoff som er identifisert som

α -aceto-mjølkesyre



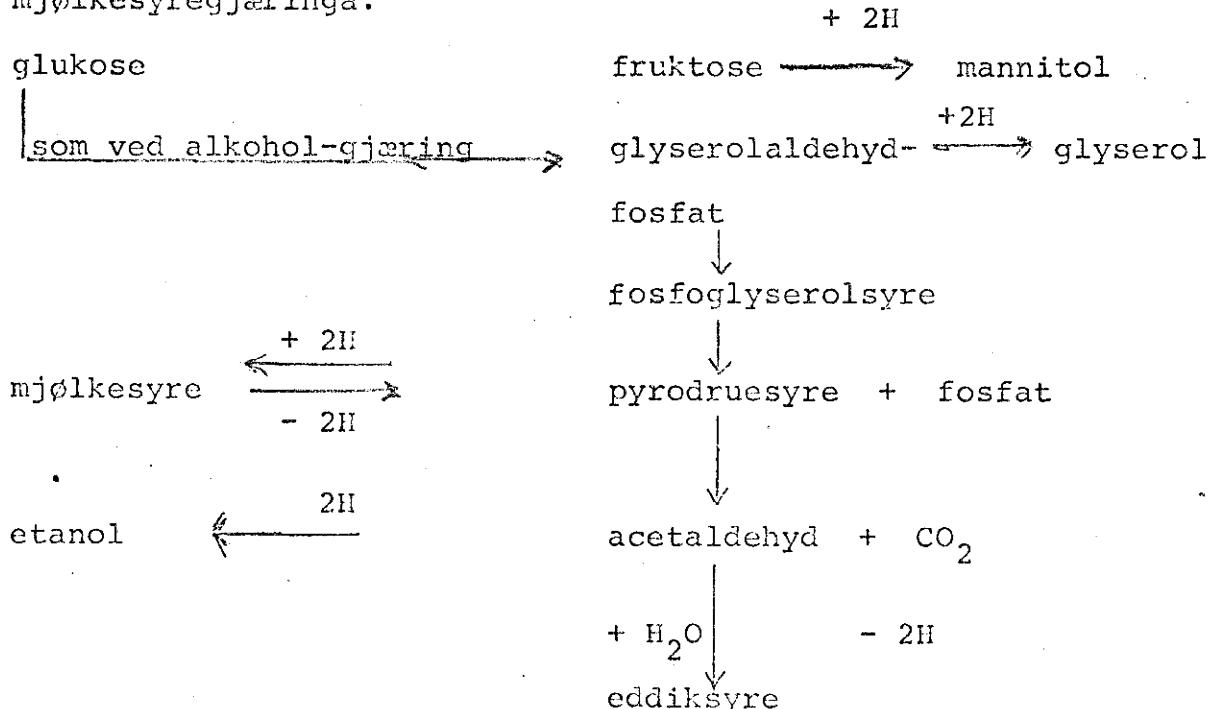
Dette stoffet blir også danna av andre bakterierter. I nyere arbeid har PETTE (saman med DE MAN) sett opp desse reaksjone ne ut frå pyrodruesyre:



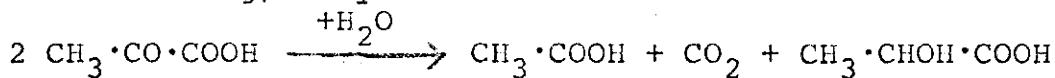
(EVENHUIS har funne metylglyoksal (som er pyrodruesyra aldehyd) i syrekulturer i omlag same mengd som diacetyl. Han foreslår denne reaksjonslikninga:



Når det gjeld den heterofermentative mjølkesyregjæringa som altså er typisk for genus Leuconostoc, vil det ved siden av mjølkesyre som nemnt bli produsert store mengder eddiksyre, etanol, glyserol og CO₂. Dessuten blir det ved reduksjon av fruktose danna mannitol. Ut frå eigne forsøk, under abaerobe tilhøve ved 30° i eit medium som inneholdt heksose, gjær-ekstrakt, pepton og fosforsure salt, fann NELSON og WERKMAN grunnlaget for følgjende skjema for den heterofermentative mjølkesyregjæringa:



Frå ymse hald har det alternativt vore peika på at ein dismutasjon av pyrodruesyre kan gi eddiksyre og karbondioksyd ved sida av mjølkesyra:



Det eine pyrodruesyre-molekylet oksyderes til eddiksyre og karbondioksyd medan det andre reduseres til mjølkesyre.

I visse tilfelle kan stammer av Leuconostoc produsere så mykje karbondioksyd f.eks. i fersk ostemaske at dei kan vere årsak til tidlig esing, slik som vist av GALESILOOT for hollandske ostetyper.

6. Leuconostoc oenus Garvi er, som artsnamnet tyder på, funnen i vin. Så langt det hittil er kjert speler den ingen rolle i mjølk og mjølkesprodukt.

Genus III: Pediococcus Balcke.

Denne slekta har oftest parvise kokker eller kokker i tetrader fordi det skjer ei vekselvis celledeling i perpendikulære plan. Dei produserer racemisk mjølkesyre med noko overvekt av L(+)syre. Representantene for denne slekta produserer ikkje gass, likvifiserer ikkje gelatin og reduserer ikkje nitrat til nitrit. Dei er mikroaerofile og oftest katalase negative. Bakteriene fins mest i gjærende planteprodukter, men slektas typiske art, Pediococcus cerevisiae Balcke skal også ein sjeldan gong ha vore isolert frå cheddarost.

Genus IV: Aerococcus Williams, Hirch et Cowan.

Denne slekta har bare ein art Aerococcus viridans Williams, Hirch et Cowan. Den har mange av dei same karakteristika som artene i føregående slekt. Men sjølv om Aerococcus viridans er ein relativt homogen art, har der vore (og er) ein del diskusjon om den eigentleg høyrer heime i ei eiga slekt eller om den like gjerne kunne registreres som ein Pediococcus-art. - Den hevdes å vere patogen for hummer. Den er blitt isolert frå urinveisinfeksjoner og frå tilfelle av endokarditt i menneske.

Genus V: Gemella Berger.

Her er der også bare ein art nemleg Gemella haemolysans (Thjøtta et Bøe) Berger. Denne bakterien som er funnen i sekret og slim frå luftvegene hos menneske hadde tidlegere det namnet som dei norske medisinerne Thjøtta og Bøe ga den, nemleg Neisseria haemolysans.

Familien Lactobacillaceae

Winslow, Broadhurst, Buchanan,

Krumwiede, Rogers et Smith.

Denne familien omfatter nå i første rekke slekta Lacobacillus, og dessuten med usikker plassering slektene Listeria, Erysipelothrix og Caryophanon. Men i denne sammenheng er det Lactobacillus-artene som er dei aktuelle.

Genus I: Lactobacillus Beijerinck.

Denne genus (Lb.) omfatter staver som kan variere fra kokkoide former til lange og relativt slanke, av og til trådforma celler (filament). Kjededanning av cellene vil ofte finnes, særleg i den seinere del av den logaritmiske fasen. Vanlegvis er dei ikkje rørlege, men dei artene som danner unntak har peritrichie cilier. Alle artene er Gram-positive, men kan bli Gram-negative når kulturen blir gammal og sur.

Bakteriene er mikroaerofile eller anaerobe. Dei strengt anaerobe artene kan likvifisere gelatin. Karbohydrat og polyalkoholer går enten ved homofermentativ forgjæring over til mjølkesyre eller ved heterofermentativ gjæring til mjølke-, maur-, eddik-, propion-, smør eller valeriansyre, etanol og CO_2 . Mikrobene veks ikkje eller eventuelt bare därleg på rå potet. Fleire arter veks ved relativt høge temperaturer.

Dei produserer ikkje katalase (katalase-negative), men unntaksvis og svært sjeldan er der stammer som produserer ein pseudokatalase.

Dei 27 registrerte og aksepterte arteane av Lactobacillus systematiseres etter følgjende oversyn:

I. Homofermentative arter.

A. Ikkje gass frå glukose eller glukonat, ribose forgjæres ikkje, thiamin krevs ikkje. Aldolaseaktivitet. D- eller L- eller racemisk mjølkesyre. Veks vanlegvis ved 45° og høgre, men svært sjeldan ved 20° , men ikkje ved 15° .

1. Produserer D(-)-mjølkesyre
 1. Lb. delbrueckii
 2. Lb. leichmannii
 3. Lb. jensenii
 4. Lb. lactis
 5. Lb. bulgaricus
2. Produserer DL-mjølkesyre
 6. Lb. helveticus
 7. Lb. acidophilus
3. Produserer for det meste L(+) -mjølkesyre
 8. Lb. salivarius

- B. Ikkje gass frå glukose, men gass frå glukonat.
Når ribose blir fermentert, dannes både mjølkesyre og eddiksyre. Thiamin krevs ikkje. Aldolaseaktivitet. Mikrobene har glukose-6-fosfat-dehydrogenase, og 6-fosfoglukonat-dehydrogenase kan induseres. Variabel vokster ved 45°, men kan vekse ved 15°.
1. Danner for det meste L(+) -mjølkesyre.
Ribose fermenteres.
 - 9a-9c. Lb. casei med underarter casei, rhamnosus, alactosus
 - 9d. Lb. casei underart tolerans
 10. Lb. xylosus
 2. Danner DL-mjølkesyre. Ribose forgjæres.
 - 9e. Lb. casei underart pseudoplantarum
 11. Lb. plantarum
 12. Lb. curvatus

3. Danner DL-mjølkesyre. Ribose-forgjæring usikker.
 - 13a. Lb. coryniformis underart corynioformis
4. Danner D(-)-mjølkesyre. Forgjærer ikke ribose. Favorabel pH omlag 5.
- 13b. Lb. coryniformis underart torquens
14. Lb. homohiochii

II. Heterofermentative arter der omlag 50 % av spaltingsprodukta er DL-mjølkesyre; dertil rikelege mengder CO₂, eddiksyre og etanol. Mannitol fra fruktose. Gass dannes ved forgjæring av glukose og glukonat; det er ikke tilfellet for ribose. Må ha tilførsel av thiamin.

1. Veks ved 45°, men ikke ved 15°.
15. Lb. fermentum
2. Vokster usikker ved 45° og 15°, men veks ikke ved 48°.
16. Lb. cellobiosus
3. Oftest vokster ved 15°, men ikke ved 45°.
17. Lb. brevis
18. Lb. buchneri
19. Lb. viridescens
20. Lb. coprophilus

I tillegg til desse 20 hovedartene rekner den hovedansvarlege for Lactobacillus-framstillinga i BERGEY's MANUAL (8.utg.), MORRISON ROGOSA, med fem arter til som han hevder er "Less well known organisms":

- (21. Lb. hilgardii)
- (22. Lb. trichodes)
- (23. Lb. fructivorans)
- 24. Lb. desidiosus
- (25. Lb. heterohiochii)

Ytterlegere to arter er komne til under trykkinga av 8. utgåve.

Det er dei to strengt anaerobe artene

- (26. Lb. ruminis)
- (27. Lb. vitulinus)

Av artene 21-27 er det ein som har særleg interesse for meieribruket, nemleg Lb. desidiosus.

Det er heller ikkje alle av dei 20 førstnemnde hovedartene som har like stor interesse i mjølkeforedlinga. I det følgjende er det derfor gjort eit utval:

4. Lactobacillus lactis (Orla-Jensen) Bergey et al.
er den vanlegste representanten for dei Lacto-
bacillus-artene som ORLA-JENSEN (i sin monografi
frå 1919) samla i underslekta, eller sub-genus
Thermobacterium. Desse artene har, som namnet
peiker på, ein heller høg optimumstemperatur for
vokster. Lb. lactis fins aldri i særleg store
mengder. Det er også rimeleg for det er rett så
lite av den i kugjødsel som vel er den opphavelege
kjelda. Men dersom mjølk får stå ved temperaturer
mellom 40 og 50°, vil den utvikle seg raskt etter
at dei termofile streptokokkene har syrna mjølka

til omlag pH 6,0 som er optimum for Lb. lactis. Ved gjentatte opodinger ved 40° blir bakterien etter kvart temmeleg aleine i kulturen. Den veks ikkje ved 15° og bare langsamt ved 20°, best ved 40-43°, og sjølv ved 51° (52°) kan det vere vokster. Den forgjærer glukose, mannose, galaktose og laktose til venstredreieende mjølkesyre. Sjeldnere forgjærer den fruktose, sukrose, maltose, dekstrin og salicin. Mengda av mjølkesyre i mjølk ved 38° vil kunne overstige 1,5 %, men ikkje 2 %. Kaseinspaltingsevna er sterkt. I kritmjølk ved 38° fann PJETURSON som gjennomsnitt for 5 stammer at etter 30 døger var 10-16 % av totalnitrogenet gått i oppløysing. Nesten alt var avbygt til aminosyrer. Dei proteolytiske enzyma har verknad sjølv ved 10-12°.

Med sin termotolerans, si sterke syredanning og den djupe proteolysen er det klart at denne mikroben speler ei sers viktig rolle ved ysting av høgt ettervarma oster som f.eks. sveitserost-typer. Bakterien er lett å isolere frå mysa og frå ferske oster. Dessuten fins den i mange syrekulturer for ysting. Lb. lactis fins i mange typer. Desse typene skil seg ofte frå kvarandre i forgjæringa av sukkerartene fruktose, sakkarose, maltose, dextrin og salicin eller i det ein kaller den inkonstante delen av forgjæringssymbolet.

5. Lactobacillus bulgaricus (Orla-Jensen) Rogosa et Hansen står Lb. lactis så nær at nokre bakteriologer har vurdert om den sistnemnde kan vere ein mutant av førstnemnde. Lb. bulgaricus skil seg mest frå Lb. lactis ved at den forgjærer færre sukkerarter. Namnet set den i samband med landa i Sør-Aust Europa der den særleg er kjend som ein viktig mikrobe i yoghurt. I Bulgaria og Tyrkia podes yoghurt ofte på saue- eller bøffelmjølk. Av og til nyttas kumjølk, men då blir den gjerne innkokt og konsentrert noko før poding. Utenom Lb. bulgaricus er der alltid Sc. thermophilus i original yoghurt. I dei nemnde landa lages den bl.a. i hushaldet ved at det podes med yoghurt frå tidlegere dager eller med inntørka rester av produktet. Slikt podemateriale er ureint, og slik yoghurt vil i regelen innehalde mange andre organismer enn dei to nemnde. Men ved meieri-produserte yoghurt-typer er det nettopp symbiotiske blandingskulturer av Sc. thermophilus og Lb. bulgaricus som utgjer podematerialet. Det hevdes at Lb. bulgaricus veks optimalt i intervallet 45-50°, men av omsyn til mengdefordelinga av kokker og staver i yoghurt, og til sjølve yoghurt-kvaliteten, inkuberes yoghurt ved temperaturer omkring 40° der den då syrner til koagulasjon på 2-3 timer.
6. Lactobacillus helveticus (Orla-Jensen) Bergey et al. står også Lb. lactis nær, men produserer DL-mjølke-

syre i mengder opp mot 3 % i mjølk. Begge artene vil gjerne danne R-kolonier på agar-substrat (R for rough (grove) i motsetnad til S-kolonier, S for smooth dvs. glatte, jamne kolonier). Sjølve cellene vil være noko breiere og kraftigere og vil variere meir i storleik og vil bryte lyset sterkere enn hjå Lb. lactis. Lb. helveticus for-gjærer dei same sukker-artene som Lb. lactis, bortsett frå sukrose og salicin.

Det ligg i namnet at Lb. helveticus fins i ekte sveitserost (Emmenthal- og Gruyére-ost). Den høyrer heime i kalvemagen så lenge kalven får mjølk. Derfor kan den isoleres frå kalvegjødsel, men ikkje i gjødsla frå eldre kyr. Ved bruk av naturløype er det derfor vanleg å finne den att iosten. Men den tas inn i dei spesielle bakteriekulturene og reknes for å vere ein noko sterkere ostemognér enn Sc. lactis. Det går også fram ved dyrking i kritmjølkkulturer. Lb. helveticus tykkjest vere ein art som høyrer naturleg heime i alpelanda.

7. Lactobacillus acidophilus (Moro) Hansen et Moquet er den bakterien som ORLA-JENSEN ga namnet Thermobacterium intestinale. Den høyrer til dei viktigste mjølkesyrebakteriene i tarmkanalen hjå mennesket og hjå varmblodige dyr. Det er såleis rikelege mengder av den i kalvegjødsel så lenge kalven får mjølk. Den står Lb. lactis så nær at

desse to artene lett kan bli ombytte, men den skil seg fra Lb. lactis ved å danne inaktiv mjølkesyre. Den står elles i nært slektskap til andre mjølkesyrestaver, m.a. dei odentologiske og vaginale. I mjølk finn vi den sjeldent eller aldri. Den må bli isolert fra faeces. Cellene er slanke staver som ofte er litt tilspissa i endene, 4-5 my lange, einskildceller eller i lange kjeder. Optimumstemperatur for vokster er omlag 37°. Koloniene er av typisk R-form.

Lc. acidophilus har relativt liten meieriteknisk interesse i vårt land, men den har vore brukt ikke så lite i ymse mjølkedieter, særleg i surmjølkspreparat som "acidophilus-mjølk". Dette har særleg vore tilfellet i U.S.A. Det har vore hevdet at den kan hemme og avgrense voksteren av forrotningsbakterier i tarmkanalen. Denne mikroben blir sterkt aktivert av tarmsekret og utvikler seg også godt i mjølka ved det naturlege pH-verdet i denne. ("Bioghurt").

9. Lactobacillus casei (Orla-Jensen) Hansen et Lessel.
Medrekna den eigentlege casei er der her i alt 5 underarter (casei, rhamnosus, alactosus, tolerans og pseudoplantarum). Bakteriene veks optimalt i området 28-32°. Minimumsgrensa kan variere noko, fra 10° og ned til 6° medan maksimum ofte går opp til 38-40° for Lb. casei underart rhamnosus opp til minst 45°. Desse mikrobene kan overleve oppvarming

til 65-75°. På fast næringssubstrat kan koloniene veksle noko i storleik. Koloniene har S-form. Cellene er gjerne 3-5 my lange og knapt 1 my breie, men under visse tilhøve kan dei vere sers korte og forveksles med kokker. Lb. casei er ikkje særleg kravstor til nitrogen-næring. Den klarer seg med ammoniakksalt og cystein, men kreatin og glutaminsyre kan vere nyttige. Den beste nitrogenkjelda er gjærekstrakt, og det er rimeleg då mikrobene krev både laktoflavin og pantotensyre. Evna til å spelte kasein er sterkt skiftende. Lb. casei fins alltid i mjølk dit den kjem frå kugjødsel som inneheld særleg store mengder ved føring med rotfrukter og surfór. Bakterien trivs godt i mjølk, men veks noko langsamt. Når mjølka sjølvsvrner, avløyser den streptokokkene og held fram med mjølkesyreproduksjonen. pH-verdet i slik mjølk vil ligge mellom 4,1 og 3,5. Elles kan Lb. casei forgjære laktat til eddiksyre og vil såleis kunne ha gode vilkår sjølv i ferdig ost. Den er ein kraftig kaseinspalter, og prosessen går heilt til aminosyrer. Sjølv ved låge temperaturer går denne prosessen godt, og bakterien kan i så måte hamle opp med termobakteriene. Dessuten tåler denne bakterien opptil 6 % koksaltkonsentrasjon, noko som også gjer sitt til at den er den viktigste protein-spalteren i ost, der den alltid fins og lett kan isoleres. Då den er mikroaerofil, er det mogeleg at den fins meir utbreidd i natura enn vi får inn-

trykk av etter dei kjeldene den blir isolert frå.

11. Lactobacillus plantarum(Orla-Jensen) Bergey et al. er ein typisk plantebakterie som med gjødsel kjem over i mjølka. Vanlegvis gjer den seg lite gjeldende. Mjølkeproteina er ei dårlig nitrogenkjelde, og den syrner mjølka bare langsamt. Den produserte syra er inaktiv mjølkesyre. Bakterien spalter ikkje kasein. Når det likevel blir lagt noko vekt på den her, er det fordi ein varietet Lactobacillus plantarum var. rudensis Breed et Pederson er ein kromogen varietet som under visse tilhøve kan produsere eit rødt pigment. Bakterien er fakultativt anaerob, men den produserer pigment bare under anaerobe tilhøve. I Sverige har dei hatt ein del bry med denne mikroben som årsak til røde til brunrøde prikker i det indre av Herrgårdsost. (Sjå Medd. nr. 31 från Statens Mejeriförsök: En aktuell orsak till röda prickar i ost, av THOMÉ og LINDGREN). Bakteriens dødstemperatur ligg under lågpasteuriseringsvilkåra.
15. Lactobacillus fermentum Beijerinck er heterofermentativ akkurat som dei følgjende arter av Lactobacillus. ORLA-JENSEN hadde eit anna slektsnamn på desse artene, nemleg Betabacterium som seinere til dels har vore nemnt som sub-genus Betabacterium. Den kan vekse like opp til 48-50° med optimum på 41-42°. Den er mikroaerofil. På agar er koloniene

gjennomsiktige og ligg som små vass-dråper. Den er ein svak syredanner i mjølk, og foruten frå ost og andre mjølkeprodukt er den isolert frå gjær, gjærdeig, poteter og grønsaker, tomatprodukt og vin.

17. Lactobacillus brevis (Orla-Jensen) Bergey et al. er ein annen av dei heterofermentative artene av Lactobacillus. Alle desse artene fins i mange varieteter, både som korte og lange staver. Dei klarer til dels oppvarming til 75°, men dei veks dårleg i mjølk. Det vil såleis gå relativt lang tid før bakteriene får produsert så mykje syre at mjølka koagulerer. Dei danner inaktiv mjølkesyre, ofte med overskott av den eine eller den andre av dei aktive syrene. På same måten som Leuconostoc-artene produserer betabakteriene aromastoffer. Når det gjeld forgjæring av kolhydrat, legg ein særleg merke til at betabakteriene kan nytte pentoser i høgre grad enn dei andre laktobacillene. Dette er forklarleg då dei er med i nedbryting av alle slag planterester. Dei spalter ikkje kasein. Lb. brevis er isolert frå mjølk, kefir, ost, faeces, gjærende surkål, ensilage, surdeig, skjemde tomatprodukter og andre kjelder. Lb. brevis har stavforma celler opptil 1 my breie og mellom 2. og 4 my lange. Ein kan finne cinskildceller, men også korte, sjeldnere lange, kjeder. I ny-isolert tilstand er evna til

å koagulere mjølk større enn når bakterien er dyrka ei tid i laboratoriet. Samen med Lb. fermenti har det vist seg at denne mikroben er i stand til å utvikle seg særleg sterkt i unge oster som av ein eller annen grunn har mindre god mjølkesyreproduksjon. Desse mikrobene har då vore årsak til sterk gassdanning på grunn av den heterofermentative mjølkesyregjæringa. Lb. brevis veks därleg under 15° og ikkje over 38° .

På same måten som hjå Lb. plantarum finn vi også her ein kromogen varietet, nemleg Lb. brevis var. rudensis Breed og Pederson. Også denne er isolert frå ost der den har vore årsak til "rustflekker".

24. Lactobacillus desidiosus Vaughn, Douglas et Fornachon har optimumstemperatur under 30° . Ennå ved 10° veks den godt, men den veks ikkje så høgt som ved $37-40^{\circ}$. Den er isolert frå kefir-korn, men sjølv når den veks åleine vil dei stavforma bakteriene klumpe seg sammen slik at dei minner om miniatyr-kefirkorn. Det var denne bakterien som ORLA-JENSEN i sin monografi frå 1919 ga namnet Betabacterium caucasicum. Den var også isolert frå kefir-korn. VAN FREUDENREICH karakteriserte i 1897 ein stavbakterie frå kefirkorn som han ga namnet Bacillus caucasicus. Om den er identisk med Lb. desidiosus er usikkert p.g.a. før få opplysninger.

Uekte mjølkesyrebakterier

Dei føregående bakteriene høyrer til familiene Streptococcaceae (i Del 14) og Lactobacillaceae (i Del 16).

ORLA-JENSEN hadde i si tid eit klart syn for dei praktiske formål med meieribakteriologien (han var ei tid ved århundreskiftet sjef for det sveitsiske meieriforskningsinstituttet før han vende heim til sitt eigentlege livsverk i Danmark).

Han karakteriserte dei nemnde bakteriene som dei ekte mjølkesyrebakteriene. To grunnkrav som ORLA-JENSEN la særleg vekt på var at desse bakteriene ikkje skulle kunne redusere nitrat til nitrit og heller ikkje vise katalaseaktivitet. Men der er andre grupper av mjølkesyreproduserende bakterier som ikkje oppfyller dei nemnde krava. Dei karakteriserte ORLA-JENSEN som uekte mjølkesyrebakterier.

Dei er stort sett representerte i familiene Micrococcaceae (i Del 14) og Enterobacteriaceae (i Del 8), men ORLA-JENSEN hadde også ein del andre mikrober mellom dei uekte mjølkesyrebakteriene. Dei skil seg frå hans "ekte" mjølkesyrebakterier både ved å ha katalase og ved å redusere nitrat til nitrit. Dertil er mjølkesyregjæringa svært urein, ofte blir det mykje eddiksyre og til dels store gassmengder. I naturen fins ofte dei uekte mjølkesyrebakteriene sammen med dei ekte. Dei uekte mjølkesyrebakteriene vegeterer alle på lett spaltbare, så vel vegetabilsk som animalsk materiale (på planter, i jord, i vatn og i faste ekskrementer frå menneske og dyr). Mellom dei uekte mjølkesyrebakteriene peiker ORLA-JENSEN på slike slekter som har liknende krav til næring som dei ekte mjølkesyrebakteriene, med andre ord slike

bakterier som i det heile står mykje nær dei ekte mjølke-syrebakteriene. Ved sida av visse korte stavbakterier som p.t. har ei noko usikker systematisk plassering (innen ei eller fleire av slektene Arthrobacter, Brevibacterium og Microbacterium i gruppa av coryneforma bakterier innen Del 17), er det først og fremst Micrococcaceae (Del 14) som har dei nemnde eigenskapene.

Micrococcaceae Pribram

Mikrokokkenes celler er sfæriske når dei veks fritt, men under delinga er dei noko elliptiske. Delinga kan gå for seg i to eller tri plan. Cellene fins som einskildceller, parvis, i tetrader, i pakkeform eller som irregulære hoper. Rørlege eller urørlege celler. Vanlegvis er mikrobene Gram-positive. Mange arter produserer gult, orange, lyserødt eller rødt pigment. Dei fleste artene er aerobe og veks godt på vanlege substrat, men dei er ofte i stand til å vekse anaerobt, sjøl om aktiviteten då er nedsett. Nokre få arter er strengt anaerobe. Karbohydrat blir fermentert til syre. Gelatin blir ofte gjort flytende, og mikrobene kan vere fakultative parasitter og saprofytter. Bakterier i denne familien lever ofte på hud og i hudkjertelsekret fra ryggradsdyr. Dei anaerobe artene lever først og fremst i rotnende organisk materiale. Familien har etter nå gjeldende systematiske inndelingsreglar tre genera eller slekter: Micrococcus, Staphylococcus og Planococcus. Dei meieritekniske interessene knyter seg først og fremst til:

Micrococcus Cohn.

Cellene i denne slekta deler seg i meir enn eitt plan, og dei fins av den grunn både som enkeltceller, i par, som tetrader og kubiske pakker (vareball-form) og som irregulære hoper (staphylo gr. = drueklase). Vanlegvis ikkje rørlege. Ofte er det pigmentering (gule, orange eller røde farger).

Dei mikrokokkene som er mest aktuelle i meieribruket skriv seg oftest frå kugjødsel. Dessuten fins dei i mjølka alt medan denne er i juret ("jur-kokker"). Elles er dei å finne mange stader m.a. i vatn. Desse bakteriene tåler inntørking. Derved blir dei lett førde omkring med støv og vind og blir spreidde gjennom lufta. Alt etter tilgangen på forgjærbart sukker veks mikrokokkene godt som djupkolonier, men er det ikkje sukker i substratet, er det overflatevoksteren som er den mest typiske. Mikrokokkene tåler oppvarming til 70-75°, optimaltemperaturen ligg på omlag 30°, men dei veks og viser sine livsfunksjoner heilt fra 15 til 40°, ja, nokre kan til og med vise aktivitet nedover mot 0°. Mikrokokkene produserer oftest høgredreiende mjølkesyre, men gjennomgående er dei svake syreprodusenter. Elles kan ein finne alle mogelege varieteter frå sterke og heilt ned til ikkje syreprodusenter. Dei førstnemnde er som regel Gram-positive og står mest nær dei ekte mjølkesyrebakteriene. Mikrokokkene kan ofte fermentere dei syrene som blir produsert frå karbohydrat. Denne prosessen går så langt at sluttprodukta blir karbonsyre og vatn, og dette kan mange gonger gi forklaringa på at syreprosenten ofte blir liten. Dersom mikrokokkene koagulerer mjølka, skjer dette ofte ovanfrå og nedover. Koagulasjonen

skriv seg ikkje bare frå syredannninga, men vel så mykje frå at desse mikrobene har proteolytiske enzym som både verker koagulerende og til dels slik at koaglet blir løyst opp idet det blir ei peptonisering. GORINI kalla deim derfor for "acid-proteolytiske" eller "syre-løypedannende" kokker. Han var den første som påviste desse mikrobene i mjølka inne i juret.

DIETHEIM har vist korleis kaseinspaltinga varierer med syregrad og temperatur for desse mikrobene:

30°		pH 6,6	
pH	Relativ spalting	°C	Relativ spalting
6,9	95	4	30
6,6	100	20	85
6,3	92	30	100
5,5	42	37	78
4,8	18	45	45

Nokre av mikrokikkene liker best glyserol som karbohydratkjelde, og då dei samstundes tåler nokså mykje salt, forklarer dette at vi så ofte finn bakteriene i ost. Likeeins tåler dei høge sukkerkonsentrasjoner, og dei organismene som av og til får sukra kondensert mjølk til å bli tjukk er nettopp Micrococcus-arter. (NB! Ein må her likevel ikkje sjå bort frå fysiske faktorer).

Pappemballasje for iskrem kan vere infisert med Micrococcus-arter som då er komne dit ved luft- eller støvinfeksjon. I gamle trekjerner var det ofte vanleg å finne Micrococcus-arter ved sida av representanter for slekta Bacillus.

Det må også nemnes at ymse Micrococcus-arter og -stammer har vore prøvde for å oppnå betring av smaken på visse oste-sorter. Dette har gitt utslag i begge retninger. Av 34 arter som var isolert fra Cheddarost viste tilsetjing til pasteurisert ystemjølk at 7 stammer verka därleg på oste-kvaliteten, 14 stammer hadde ingen effekt medan 13 stammer hadde god effekt.

Når desse mikrobene m.a. er kjende som jurbakterier, er det rimeleg at dei har ein markert plass i aseptisk mjølk (mjølk som er tatt ut under aseptiske kauteler). Fleire av dei vil i sine karakteristika svare til pyogene mikrokokker, men dei fleste kulturene er som oftest avirulente. Men der er også funne andre mikrokokker enn dei som minner om dei pyogene, som f.eks. Micrococcus luteus og Micrococcus caseolyticus.

I bakteriologien blir det ofte peika på at grensa mellom sakkarolytiske og proteolytiske bakterier er utflytende. Som eit mellomledd her kan det med rette nettopp peikes på mikrokokkene. Dei er som nemnt acido-proteolytter.

Den mest karakteristiske representanten for denne slekta er Micrococcus luteus (Schroeter) Cohn som har namnet etter den gullgule fargen på koloniene. Den er vanleg i jord, støv, vatn og på huda hos menneske og dyr. Derved infiserer den lett omgivnadene. Den har vore påvist i mjølk og mjølkeprodukt. BAIRD-PARKER som har skrive om mikrokokkene i 8. utgåve av BERGMY's MANUAL har avgrensa talet på Micrococcus (Mc.-)arter ganske sterkt fra 7. utgåve.

Såleis ser han på Mc. flavus Trevisan som synonym til Mc. luteus.

Micrococcus freudereichii Guillebeau, som også er funnen i mjølk - og på mjølkereiskaper, skulle også vere synonym til Mc. luteus ifølgje BAIRD-PARKER. Han har alt i alt redusert talet på arter i denne slekta frå 16 til 3 arter og har vel då meint at en meieriteknisk viktig art som Micrococcus caseolyticus Evans også må registreres som synonym til Mc. luteus. Det er likevel ofte at det på eit meir spesielt interesseområde, som f.eks. her i meieri-bakteriologien, arbeides med meir detaljerte oppdelinger av dei systematiske grupperinger enn det ein forfatter må gjere når han skal samle og ordne kunnskaper på bakteriologiens område frå all verdens faglitteratur.

Mc. caseolyticus er registrert i bl.a. mikrofloraen i kugjødsel, og av den grunn er den funnen i mjølk og mjølkeprodukt, spesielt ost. Celle-hopene kan veksle frå diplo- til sarcina-former. Bakterien kan også variere med omsyn til koloniform og -farge (kvit til gul). Den kan likvifisere gelatin. Ved temperaturer under 15° veks den raskere enn alle andre mjølkesyrebakterier og utvikler seg mellom anna særleg godt i mjølk som får stå til langsam avkjøling. I litteraturen fins det ymse optimumstemperaturer, såleis både 22 og 30°. Micrococcus caseolyticus forgjører både dei vanlege sukkerartene og kalklaktat og glyserol (men ikkje pentoser), og danner høgredreieende mjølkesyre og eddiksyre, men ikkje gass. Syreproduksjonen er jamt over liten, sjeldent

meir emm 0,3 %. Når den likevel koagulerer mjølk, kjem dette av eit trypsinliknende ektoenzym. Ved 35° koagulerer den mjølka på 1 døger, ved lågere temperaturer går peptoniseringa raskere og uten koagulasjon. Kaseinspaltinga er kraftig, opp til 75 % av nitrogenet kan gå i oppløysing, og mengda av amino-nitrogen kan gå opp i 16-20 %. Ved oppløysinga av kaseinet blir det rikelege mengder av pepton, men lite av aminosyrer og ammoniakk. Mikrobene gjer seg mindre gjeldende i mjølk, derimot er den ein viktig faktor i mogningsprosessen til ymse ostesorter (Tilsit- og Limburg-ost).

Micrococcus rcseus Flügge er ein relativt sjeldan art som er isolert frå støv, vatn og en del salte næringsmidler.

Micrococcus varians Migula har som eit av synonyma Staphylococcus lactis (der i allfall artsnamnet forsvarer sin plass ettersom denne bakterien først blei isolert frå mjølk).

Mc. varians er vanleg i mjølk og meieriprodukt, døde dyr, støv og jord. Ikkje patogen. Den gir gule, glatte kolonier. Hydrolyserer feitt, vanlegvis gelatin og noko sjeldnere kasein.

Staphylococcus Rosenbach

Denne slekte er sett opp med tri arter

Staphylococcus aureus Rosenbach

Staphylococcus epidermidis (Winslow

et Winslow) Evans

Staphylococcus saprophyticus (Fair-

brother) Shaw, Stitt et Cowan

Ein del av dei mikrokokkene som fins i kujuret kan vere årsak til verk og andre lidinger. Ein slik er Staphylococcus aureus. Dehne mikroben blir ofte funnen i sår både hjå dyr og menneske (byller, absesser, furunkler o.a.). Den er årsak til den såkalla stafylokokkmastitten.

Staphylococcus epidermidis er ein vanleg hud-bakterie hjå varmblodige dyr. Den produserer syre i mjølk.

Elles gjer mikrokokkene seg gjeldende på ymse måter i mjølk og mjølkeprodukt. Såleis konstaterete HUCKER at det ofte fins overlevende mikrokokker i pasteurisert mjølk, særleg Micrococcus luteus og Micrococcus varians samt Staphylococcus epidermidis. Det er nettopp desse mikrobene som er årsak til at ein ofte finn eit høgre bakterietal i HTST- eller lågpasteurisert mjølk enn i LTLT- eller langtidspasteurisert mjølk, som var vanleg før lågpasteuriseringa blei innførd.

(HTST: high temperature short time, $70-72^{\circ}$ i 15 sek.

LTLT: low temperature long time, 63° i 30 min.)

I litteraturen er nemnt Micrococcus pituitoparus som er isolert frå slimet mjølk, men etter HUCKER er denne sannsynlegvis identisk med Staphylococcus epidermidis. Det er særleg i vinter- og vårmånadene at denne mikroben har vore årsak til slimet mjølk. Under favorable vilkår tykkjes den å kunne "crowd out" og nesten hindre utvikling av den normale mjølkefloraen. Slimdauninga ser ikkje ut til å stå i samband med

kapseldanning, men er snarere knytt til den peptoniserende aktiviteten slik at det av mjølkeproteina blir danna mucin.

Visse mikrokokker kan også vere årsak til maltsmak i meieri-produkt. Denne smaksfeilen kan såleis skrive seg frå andre mikrober enn Streptococcus lactis var. maltigenes.

Familien Enterobacteriaceae Rahn

Medan den føregående familien (Micrococcaceae) har liknende næringskrav som dei ekte mjølkesyrebakteriene og i det heile står dei ekte mjølkesyrebakteriene mykje nærmere, omfatter familien Enterobacteriaceae slekter som er meir nøysomme i sine næringskrav. Dei kan ofte klare seg med NH_4 -salt som nitrogenkjelde, og dei produserer i regelen meir eller mindre CO_2 og H_2 . Dei bakteriene som er samla i denne familien er alle Gram-negative, små rette staver. Dei som er rørlege har peritrichie cilier. Bakteriene veks godt på kunstige medier. Alle artene forgjærer glukose til syre, ofte sammen med synleg gass. Med få unntak (nokre Erwinia-arter) reduseres nitrat til nitrit. Mange av bakteriene i denne familien er parasitter på dyr, nokre er planteparasitter og er då årsak til ymse plantesjukdommer. Ofte fins mikrobene som saprofytter, særleg der det gjeld å spalte plantematerial som inneheld karbohydrat.

Når det gjeld den systematiske inndelinga av familien, utføres det stadig studier av biokjemiske omsetjinger og ymse serologiske reaksjoner for om mogeleg å nå fram til eit

endeleg resultat, men førebels går inndelinga i tribae og genera etter denne oppstillinga:

Tribus I	<u>Escherichieae</u>	Genus I	<u>Escherichia</u>
"	II	" II	<u>Edwardsiella</u>
"	III	" III	<u>Citrobacter</u>
"	IV	" IV	<u>Salmonella</u>
"	V	" V	<u>Shigella</u>
"	II	" VI	<u>Klebsiella</u>
"		" VII	<u>Enterobacter</u>
"		" VIII	<u>Hafnia</u>
"		" IX	<u>Serratia</u>
"	III	" X	<u>Proteus</u>
"	IV	" XI	<u>Yersinia</u>
"	V	" XII	<u>Erwinia</u>

Tribus I Escherichieae omfatter både saprofytter og parasitter, og mellom desse siste er der mange patogene mikrober, patogene både mot menneske og dyr og mot planter. I denne tribus er det slektene Escherichia og Citrobacter som har den mest umiddelbare interesse for meieribruket, idet dei så å seie er konstant representerte i mjølk. Ei viss interesse knyter seg til slektene Salmonella (tyfus/paratyfus) og Shigella (dysenteri) ettersom desse slektenes menneskepatogene mikrober kan bli overførde via mjølk når det er svikt på det hygieniske området (mjølkeborne epidemier).

Genus I: Escherichia Castellani et Chalmers

Bakteriene i denne slekta fins enkeltvis eller parvis, og fleire typer er rørlege ved hjelp av peritriche svingtråder. Dei kan leve på enkle medier. Med få unntak forgjæres laktose og andre karbohydrat til pyruvat som deretter overføres til mjølkesyre, eddiksyre og maursyre. Ein del av maursyra spaltes v.hj.a. eit komplekst hydrogenlyase-system til like deler CO_2 og H_2 .

Escherichia coli (Migula) Castellani et Chalmers er nå den eineste arten av denne slekta. Den omfatter ei heil rad av biotyper. Den nyttigste inndelingsmåten for desse hevdes å vere den serologiske som i dette tilfellet grunner seg på eigenskapene til visse overflatestrukturer:

O: somatisk

K: kapsulært eller mikrokapsulært

H: svingtrådenes antigen

Escherischia coli utgjer hovedmengda av bakteriene i tarmkanalen både hjå menneske og dyr. Den kjem over i mjølka ved gjødselsmitte. Under anaerobe tilhøve krev cellene sukkerarter eller andre stoff som lett gir fra seg oksygen.

Genus III: Citrobacter Werkman et Gillen

Denne genus er sett opp for å omfatte dei "koliforme" bakteriene som kan nytte citrat og forgjære laktose. Slektet har to arter. Fins i vatn, matvarer, faeces og mange andre stader.

1. Citrobacter freundii (Braak) Werkman et Gillen.
(Denne har i lang tid vore velkjend som Escherichia freundii).
2. Citrobacter intermedius Werkman et Gillen (tidlegere Escherichia intermedia).

Tribus II Klebsielleae har namnet frå slekta:

Genus VI: Klebsiella Trevisan

som har tri arter: Klebsiella pneumoniae, ozaenae og rhinoscleromatis. Av desse er det bare den første som har interesse her:

Klebsiella pneumoniae (Schroeter) Trevisan.

Slekta Klebsiella har gjerne omfatta dei medlemene av familien som har kapseldanning, men nå er området noko utvida idet den mikroben som hittil har gått under namnet Aerobacter aerogenes (Kruse) Beijerinck er inkludert i Klebsiella pneumoniae. Denne mikroben fins vidt utover i naturen, i jord, vatn, korn og i tarmkanalen til menneske og dyr.

Genus VII: Enterobacter Hormaeche et Edwards

har to arter:

1. Enterobacter cloacae (Jordan) Hormaeche et Edwards
som motsvarer den tidlegere Aerobacter cloacae (Jordan)
Bergey et al. Den fins i faeces, avløp etc.
2. Enterobacter aerogenes Hormaeche et Edwards er funnen
i faeces hos menneske og dyr, avløpsvatn, jord, vatn
og ymse meieriprodukt.

Fleire av dei hittil nemnde artene fra Enterobacteriaceae kan vekse heilt ned til 5-6° i pasteurisert mjølk, men ennå ved 10° er voksteren langsam for dei fleste. Men straks det blir romstemperatur blir voksteren god, og betre blir den når temperaturen kjem opp til den optimale, nemleg 37°. Eit særleg interessant spørsmål er desse bakterienes pasteuriseringsresistens. På basis av omfattende forsøk må det slås fast at det hittil ikkje har vore råd å påvise slike bakterier i mjølk som tas ut umiddelbart etter låg-pasteurisering. Likevel er det frå ymse kjelder isolert spesielle koliforme bakteriestammer som ved ei meir omfattende gransking i laboratoriet har vist ein termoresistens som svarer til lågpasteuriseringsvilkåra.

Dei ymse koliforme artene viser fleire varieteter, og då er det rimeleg at dei viser uregelrette tilhøve når det gjeld fysiologiske eigenskaper. Dette gjer seg særleg sterkt gjeldende ved forgjæring av sukkerartene. Medan alle typer lett forgjærer glukose, kan det vere vanskeleg for nokre typer å nytte sukrose, ja, av og til også laktose. Nokre av dei stammene som er langsame laktosespalterer ser ut til å vere intermediære former mellom Escherichia coli og visse paratyfoide grupper av bakterier. Det blir produsert venstredreiende mjølkesyre.

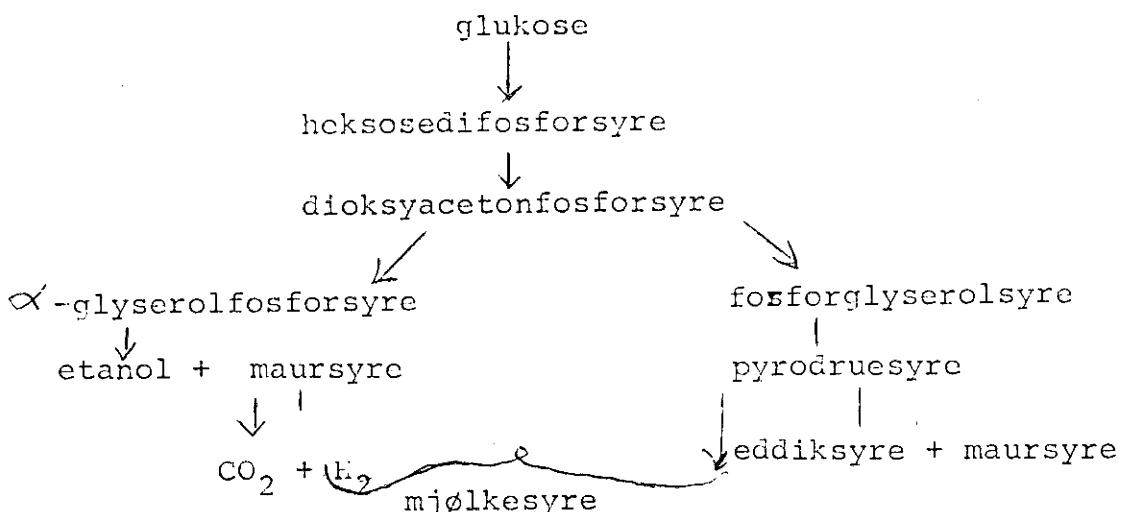
Avbyggjinga av sukker-molekylet kan vere sers komplisert. På fleire måter minner forgjæringa om den heterofermentative mjølkesyregjæringa hjå Leuconostoc og heterofermentative Lactobacillus-arter, men ved sida av mjølkesyre og eddiksyre finn ein andre produkt som ravsyre, maursyre, etanol,

karbondioksyd og hydrogen. KLUYVER har vist eit døme på kva den forgjærte glukose blir til:

Mjølkesyre	42,4 %	Etanol	11,0 %
Ravsyre	20,2 %	CO_2	10,7 %
Eddiksyre	14,3 %	H_2	0,5 %
Maursyre	0,6 %		

Elles har både VIRTANEN og SJÖSTRÖM vist at coli-bakteriene under aerobe tilhøve også forgjærer (oksyderer) mjølkesyre (laktat) til eddiksyre og karbonsyre. Då dei koliforme bakteriene er fakultativt aerobe, vil gjæringa bli ulik alt etter tilgangen på luft. Såleis vil det under acrobe tilhøve blir produsert mindre mjølkesyre og meir eddiksyre samtidig som mengdene av karbondioksyd og hydrogen blir andre enn under anaerobe tilhøve. Elles blir sukkeret forgjært raskest ved rikeleg lufttilgang. Ved låge temperaturer blir det produsert meir mjølkesyre enn ved optimaltemperaturen til bakteriene.

Når det gjeld sjølve gjæringsmekanismen, er det mange syn som har gjort seg gjeldende. Etter det arbeidet som VIRTANEN og medarbeiderer har gjort, har ein av VIRTANEN's elever, TIKKA, kome med framlegg om eit skjema for glukoseforgjæring i anaerobt forsøksmiljø:



I svakt surt miljø vil etter TIKKA det meste av pyrodruesyra bli redusert til mjølkesyre. Er det derimot svak alkalisk reaksjon vil pyrodruesyra spaltes til eddiksyre og maursyre, og maursyra atter til CO_2 og H_2 . TIKKA's skjema viser mjølkesyre, eddiksyre, maursyre, etanol, CO_2 og H_2 slik som KLUYVER har vist. For ravsyreproduksjonen er det av ymse forskerer sett opp fleire skjema. Etter WOOD og WERKMAN skal ravsya kome fram gjennom kobling mellom pyrodruesyre og karbondioksyd. Bakterieformene og -typene er mange. Derved veksler gjæringsmekanismen. Den varierer også med temperatur, lufttilgang, pH og nitrogennæring. Dette gjer at dei innbyrdes mengdetilhøva av gjæringsprodukta kan vise store variasjoner. Det fins og koliforme stammer som ikkje kan koagulere mjølka. Dette kjem særleg av at bare 0,1 - 0,2 % mjølkesyre vil hemme utviklinga deira, og til og med typer som ikkje er så varnære produserer bare 0,4 - 0,5%, høgst 0,7 % syre. pH går sjeldan under 4,8.

Gassproduksjonen kan variere mykje, og vil knapt merkes dersom syredanninga ikkje fører til koagulasjon av mjølka. Ved koagulasjon vil koaglet ofte bli sterkt opprive. Elles ytrer gassproduksjonen seg sterkest når voksteren er best.,

Det kan ofte sjå ut som coli-bakteriene ikkje kan vere årsak til proteolyse i mjølk, men STAFFE har vist at dei typene som er svake syreprodusenter kan proteolysere mjølka i eit lang-samt tempo. Det går så seint at ein ikkje merker det visuelt, men vel i lukt og smak. Etter lengre tid blir smaken bitter og byd imot. Den spesielt kvalme smaksnyansen som

ofte merkes skriv seg for ein stor del frå den ravsyra som dannes. I sukkerfritt substrat går proteolysen mykje djupere og resulterer i m.a. indol, skatol (beta-metylindol) og merkaptaner.

Det er karakteristisk for desse bakteriene at dei har ei merkeleg evne til å produsere nye enzym etter kva energikjelde dei må klare seg med.

Frå mellomkrigstida og fram til våre dager har det gjerne vore vanleg å gjere ei første registrering eller tilnærming, når ein ukjend koliform stamme skal karakteriseres, ved hjelp av det såkalla IMViC-skjemaet etter britene TOPLEY et WILSON. Bokstavene står for indol, methyl-rødt, VOGES-PROSKAUER og citrat.

Det følgjende skjema er ein freistnad på å overføre IMViC-skjemaet til dei bakterienamn som nyttas i 8. utgåve av BERGEY's MANUAL OF DETERMINATIVE BACTERIOLOGY:

Type		Gass					
		In-dol	Methyl-rødt	V-P	Ci-trat	Mac	Likv.
						44°	gelatin
L.coli	I	+	+	0	0	+	0
"	II	0	+	0	0	0	0
C.freundii	I	0	+	0	+	0	0
"	II	+	+	0	+	0	0
K.pneumoniae	I	0	0	+	+	0	0
"-	II	+	0	+	+	0	0
Enterobactersp.		0	0	+	+	0	+

Indolprøven byggjer på bakterienes evne til å danne indol i peptonbuljon. For at bakteriene skal kunne danne indol må der vere tryptofan i mediet (indolalanin). Metyl-rødt-prøven er karakteristisk for Escherichia- og Citrobacter-artene. Ved denne prøven får bakteriene vekse i glukose-pepton-buljong i 4 dager ved 37°. Det blir notert positivt utslag når pH-verdet kjem under 5. VOGES-PROSKAUER-prøven gir invers korrelasjon med methyl-rødt-prøven. VOGES-PROSKAUER's reaksjon er positiv ved nærvær av acetylmetylkarbinol (acetoin). Elles har KLIGLER påvist at forgjæring av glyserol korrelerer inverst med likvifisering av gelatin for dei 3 siste typene. KLIGLER mente at glyserol-forgjæringa var meir påliteleg enn gelatin-prøven. Som seinere stadfest av LEVINE kan evna til gelatinspalting ofte gå tapt.

I tribus Klebsielleae er dei to siste slektene Genus VIII: Hafnia og Genus IX: Serratia.

Hafnia Möller er uten kapsler, den har peritriche svingtråder og kan utnytte citrat og acetat som eineste karbonkjelde. Glukose forgjæres til syre og gas. Syre dannes ikkje frå citrat. Metyl-rødt-prøven er vanlegvis negativ ved 37°. VOGES-PROSKAUER-prøven er gjerne positiv ved 22°, men kan vere negativ ved 37°. Hafnia alvei Möller er slektas eineste art. Dei einskilde stammene fordeler seg på omlag 200 serotyper. Dei er funne i faeces frå menneske og dyr, avløpsvatn, jord, vatn og meieriprodukt.

Genus IX:

Serratia Bizio samler rørlege (peritriche svingtråder) staver. Nokre har kapsler. Citrat og acetat kan tene som eineste karbonkjelde. Mange stammer danner lyserødt, mellomrødt eller sterkt rødt, blodrødt, fargestoff, prodigiosin. Dette fargestoffet kjem best fram når det skorter på visse komponenter av vitamin B₂-komplekset. Er mediet derimot særleg rikt, kan fargen utebli. Pigmentet løyser seg i etanol, eter, kloroform og andre organiske løysingsmiddel, men ikke i vatn medmindre konsentrasjonen i cellene er særleg høg.

Serratia marsescens Bizio er den eineste art i denne slekta. Den fins vidt utbreidd i vatn, jord og matvarer. Populært kalles den ofte for "hostiebacillen" p.g.a. dei røde koloniene (Kristi blodsdråper) som særleg under eldre tiders hygiene, kunne vekse ut på hostien (alterbrødet). Serratia marsescens trivs best ved svak sur reaksjon og koagulerer mjølka. Får rå mjølk stå i lengre tid, utvikler bakteriene seg på fløytelaget og danner røde kolonier. Dette kjem nettopp av at bakterien kan nyttiggjere seg feittet. TAMISTO har granska feittspaltinga hjå Serratia marsescens (og andre typiske feittspalterer mellom mjølkebakteriene) og funne at så lenge bakteriene er i live, er det meste av lipasene innafor celleveggene, bare ein mindre del blir sesernert. Men når cellene døyr og blir autolysert, kjem lipasene ut i miljøet som omgir cellene. Desse lipasene er nokså aktive sjølv ved relativt låge pH-verde. Først ved pH-verde omkring 5,0 blir dei inaktivert. (Elles er dette

heilt ulikt for f.eks. magelipasene som har sitt optimum nettopp i dette pH-området). pH-optimum for lipasene hjå Serratia marscescens ligg ofte i området 8-9.

Så lenge lipasene er inne i cellene, er dei sers resistente mot varme. Om ein held mjølka i 10 min. ved 75°, vil omlag 25 % av aktiviteten gå tapt hjå Serratia marscescens. Om tida er 10 min. og temperaturen 95°, vil bare 30 % av lipasen gå tapt. Dei lipasene som blir sesernert blir øydelagde ved oppvarming til 60° i 10 minutt. Sjølv om TAMISTO fann at evna til feittspalting var ulik hjå ulike stammer og sto i relasjon til sjølve substratet (med særleg høg resistens når mikrobene levde på feitt), så har desse granskingene fått uvanleg stort verdi. Det fordres såleis høg pasteuriseringstemperatur for kjernefløyte.

I tribus Proteae er det bare ei slekt med rette, Gram-negative staver. Dei fermenterer glukose, men ikkje laktose, til syre og vanlegvis synlege gassmengder. Sleksnamnet Proteus Hauser er henta frå den klassiske mytologien og peiker på at bakteriene har sterkt varierende morfologi. Det same gjeld koloniene som ofte er amøboide og svermer utover på dei fleste substrat. Elles er dei pleomorfe eigenskapene mest karakteristiske for unge kulturer.

Proteus vulgaris Hauser er den typiske representanten for slekta der det i alt er 5 arter. Den fins ofte i därleg vatn. Dessuten er den vanleg i kugjødsel ved foring med

skjemde rotfrukter og kraftforstoff, særleg av animalsk opphav. Proteus vulgaris vil av den grunn ofte kunne finnes i mjølka der den utvikler seg ved låg temperatur. Den ~~sesernerer~~ eit koagulasjonsenzym som er meir stabilt enn chymasen i kalveløype. Bakterien har mange varieteter som viser store ulikskaper når det gjeld koagulasjon og kaseinspalting. På den eine sida kan det vere stammer som ikkje endrer mjølka visuelt, men ein kan likevel merke protein-spaltinga på vond lukt og smak. På den andre sida kan der vere stammer som raskt både koagulerer og løyser opp mjølka idet det blir produsert typiske forrotningsprodukt og toksin. Desse formene blir gjerne rekna som patogene former. Når Proteus veks i eit miljø der det er forgjærbare sukkerarter, vil reaksjonen halde seg sur, og det blir sjeldent nokon særleg stank i samband med protein-spaltinga.

Dei bakteriene som er ordnet inn i dei to tribae Yersinieae og Erwiniaeae er av perifer interesse i meieribruket.

Bakterier innen Del 7

Gram-negative aerobe staver og kokker.

Av interesse for meieribakteriologien er vel bare 1. familie:
Pseudomonadaceae Winslow et al. og innen denne familien
særleg Genus I: Pseudomonas Migula.

Pseudomonadaceae Winslow et al.

Gjennom bakterieslektene i Enterobacteriaceae var det ein gradvis overgang frå slike grupper av mjølkebakterier som best kunne karakteriseres ved at dei nytta laktose og spaltingsprodukt av laktose som energikjelde, idet mikrobene produserte syrer til slike slekter som mange gonger best kunne nytte protein som energikjelde idet dei spalta desse opp til enklere proteinsambindinger. Då proteolysen for mange bakterier går djupt og resulterer i produkt med därleg både smak og lukt og dessuten kan vere farlege for helsa, kan ein ofte her tale om forrotningsbakterier. Nokor skarp grense mellom sukkerforgjæringsmikrober og forrotningsmikrober er det strengt tatt ikkje når det gjeld bakterier etter som begge gruppene nytter protein til vokster. Dessuten kan fleire så vel av dei ekte som av dei uekte mjølkesyrebakteriene bryte ned eggekviten når der ikkje er meir karbohydrat att i mediet eller når reaksjonen er svakt sur eller nøytral. På den andre sida kan dei proteolytiske bakteriene delvis forgjære laktose i mjølka. Men ved å studere reaksjonen i mediet er det likevel råd å skilje mellom desse to bakteriegruppene. Dei proteolytiske bakteriene vil som nemnt syne den største aktiviteten ved svakt sur, nøytral eller

helst alkalisk reaksjon. Det er i alle fall bare ved alkalisk reaksjon at dei typiske forrotningsprodukta kjem fram. Nedbrytinga av proteina skjer ved mange slag enzym som forrotningsbakteriene er særleg rikt utstyrde med. I mjølka vil gjerne forrotningsbakteriene først vere årsak til ein koagulasjon ved hjelp av løypeliknende sekresjonsenzym. (MASCHIMANN meiner at desse enzyma har ei mellomstilling mellom papain og tryptase. Papain er eit enzym som fins i mjølkesafta frå melontreet og elles ofte i vanlege planteceller. Tryptase fins i blod). Etter den første lette spaltinga av kaseinet kjem ei hydrolytisk avbyggjing, steg for steg, til pepton, peptid og aminosyrer. Denne hydrolysen er eit resultat av det intracellulære stoffskiftet, men når bakteriecella dør og den blir autolysert, vil dei frigjorde endoenzyma for ein del gå inn som aktive katalysatorer av protein-spaltingsprosessen.

Men avbygginga stanser ikkje med aminosyrene. Også desse vil kunne gjennomgå ei spalting ved intracellulære amidaser og redoksaser som fører fram til ammoniakk, karbonsyre, metta og umetta lågere feittsyrer, hydroksysyrer, alkoholer, merkaptan, indol og skatol. Av desse er særleg dei siste karakteristiske forrotningsprodukt.

Dei proteolytiske bakteriene, som inneheld rikeleg katalase, kan omfatte både aerobe og anaerobe, sporedannende og sporelause arter. Dei første proteolytiske bakteriene som her skal nemnes er altså representanter for familien Pseudomonadaceae. I denne familien finn vi celler som ikkje danner

sporer. Dei danner rette stavformer, av og til kokkoide former. Vanlegvis vil bakteriene vere rørlege ved hjelp av polare cilier, enten einskildcilier eller små eller store kvaster av cilier. Nokre få arter innen familien er ikkje rørlege. Representantene for denne familien er Gram-negative og dei er helst aerobe. Av dei 4 slektene som utgjer familien Pseudomonadaceae, samler den første, nemleg Pseudomonas Migula, den største interesse. Til denne slekta høyrer dei bakteriene som i meieribruket ofte blir kalla fluorescentene. Dei er vanlege jordbakterier og fins ofte i store mengder i vatn. Med føret, særleg med rotfruktene og med drikkevatn i fjøset kjem dei over i gjødsla og dermed i mjølka. Elles blir mjølka oftere infisert frå mjølke-reidskapene når desse ikkje er ordentleg reingjorde.

Fluorescent-namnet skriv seg frå at mange arter produserer større eller mindre mengder fluorescerende fargestoff. Dette kan vere grønt, blått, fiolett, lilla, rosa eller gult. Av og til er det rein rødfarge. Dei fleste av desse bakteriene vil likvifisere gelatin. Ein sams eigenskap er at dei trivs og veks ved låge temperaturer, heilt ned til 0°. Optimaltemperaturen er 25° - 30°. Ved momentan oppvarming vil dei ikkje kunne klare høgre temperaturer enn 60-65°. Dei enzyma som desse mikrobene produserer er derimot uvanleg varmeresistente.

Evna til å koagulere mjølka varierer noko. Dei fleste vil ikkje koagulere ved romstemperatur og derunder, men vel ved høgre temperaturer. Derimot vil dei proteolysere kaseinet i mjølka, og denne opplysinga tar til i overflata og held fram

nedover. I gamle kulturer vil mjølka til slutt ha gått over i ei grøn, gjennomsiktig væske.

Fluorescentene forgjærer glukose lettere enn laktose. Ein del av fluorescentene er sers sterke feittspalterer.

Slekta Pseudomonas omfatter i alt 235 arter, men her nemnes bare nokre få som er særleg viktige for mjølkestellet.

Medan dei fleste Pseudomonas-artene ikkje er dyrepatogene vil i allfall ein art, Pseudomonas aeruginosa (Schroeter) Migula ofte vere årsak til infeksjoner hjå menneske og dyr. Men i relasjon til dei store mengder som fins av denne arten f.eks. i jord er det likevel meir tilfelleleg at den fins som patogen mikrobe. Utenom det grøne fargestoffet produserer Pseudomonas aeruginosa også eit blått fargestoff og vil, når den utvikler seg i mjølk, gi denne ein blågrøn farge. Elles står denne mikroben i mange av eigenskapene sine svært nær den neste arten som skal nemnes:

Pseudomonas fluorescens Migula. Medan Pseudomonas aeruginosa viser god vokster ved 37° , veks Pseudomonas fluorescens dårlig ved denne temperaturen. Pseudomonas fluorescens har sin optimumstemperatur i intervallet $20-25^{\circ}$. Den er ikkje patogen. Den er ein liten, ofte slank, men også mange gonger kraftig stav. Fleire celler kan henge sammen og danne korte kjeder. Den har polare cilier, er altså Gram-negativ og strengt aerob. Koloniene på buljongagar er grøne, og det grøne, fluorescerende fargestoffet går ut i substratet. Fargestoffet løyser seg i kloroform. ORLA-JENSEN har vist at det er eit laktoflavir

som kan aktiveres voksteren hjå mjølkesyrebakterier. Buljong-gelatin vil raskt bli likvifisert og farga grøn. Samstundes vil det lukte sterkt av trimetylamin. I stikk-kulturer i buljong-gelatin vil det raskt bli eit traktforma krater. Trass i den proteolytiske evna kan denne mikroben vekse godt i mineralsk næringsvæske som bare inneholder glyserol som karbonkjelde. Men når den får vegetere på gelatinagar, viser den seg tidlegare enn alle andre bakterier ved at den så raskt og effektivt likvifiserer gelatin. Det blir ei rad skålforma krater som er fylde av oppløyst, bakteriemetta, grågrumset gelatin. Samstundes blir heile substratet meir eller mindre fluorescerende.

VIRTANEN og TARNANEN har vist at det proteolytiske enzym-systemet er samensett av proteinaser, polypeptidaser og di-peptidaser. Dei fann at dersom bakterien blir dyrka i pepton- og kjøttekstrakt og bakteriene blir skilde frå næringsoppløysing ved sentrifugering og filtrering, inneholder det bakteriefrie filtratet av unge kulturer praktisk talt heile proteinase-verknaden. Bakteriemassen kan ikkje løyse opp større mengder kasein og gelatin. Bakteriene inneholder nå bare peptidasene som ikkje blir sesernert. Dei levende cellene skil altså ut all proteinase som bakteriene nytter til eit første åtak på nitrogennæringa. Proteinasene er alstår ikkje med i det intracellulære stoffskiftet. Når cellene dør og blir autolysert, blir også endoenzyma her som elles frigjorde.

Ved romtemperatur oppløyer Pseudomonas fluorescens mjølka uten at den er koagulert på førehand. Ved høgre temperaturer

vil bakterien likevel kunne koagulere mjølka først. På det første utviklingssteget i mjølk vil mange varieteter av Pseudomonas fluorescens gi ei aromatisk lukt, men snart etter slår den heilt om, mjølka blir kvalm og ammonialsk ("gamal smak"). Reaksjonen blir alkalisk uten at forrotningsprosesen går særleg djupt. I motsetnad til Pseudomonas aeruginosa produserer denne mikroben ikkje indol, men plent som den førstnemnde produserer den trimetylamin. Dessuten reduserer den nitrat til ammoniakk. Av glukose vil det bli danna ei lita mengd syre, men ikkje av andre sukkerarter.

Den veks best ved pH 7-8, og voksteren stanser ved pH 5. Fargestoffproduksjonen er mest intens ved låge temperaturer, men stanser ved pH 6,0.

Når mjølka syrner spontant, utvikler Pseudomonas fluorescens seg ved sida av mjølkesyrebakteriene, og kan som nemnt verke aktiverende på voksteren til desse. Ved vanleg romtemperatur vil mjølkesyrebakteriene hevde seg godt ved sida av Pseudomonas fluorescens, men dersom mjølka får stå ved lågere temperaturer, vil fluorescentene få fritt slag etter som mjølkesyrebakteriene då er mindre aktive.

Medan bakteriene sjølve er lite varmeresistente, gjeld dette ikkje for proteinasen som i fylgje VIRTANEN og TARNANEN først blir inaktivert ved oppvarming til 115° i mjølkekulturer ved pH 7. Men miljøet speler her ei stor rolle for ved pH 4,5 fann dei at inaktiveringa var fullførd alt ved 90°.

Pseudomonas fluorescens er framfor alt ein vanleg bakterie i

vatn, og med vatnet kjem den ofte inn på stader der den kan gjere skade, f.eks. i meieria. I vatn som blir nytta til å skylje smør, er den farleg då den kan vere ein sterk feittspalter og gi smøret ei vond, sildeliknende lukt og ein tilsvarende smak. Men mikroben tåler ikkje så mykje syre og heller ikkje mykje koksalt. Dessuten vil lipaseaktiviteten (målt av TAMISTO ved hjelp av tributyrin) bli inaktivert ved pH-verde mellom 5,2 og 5,5. Sterkeste lipaseaktiviteten er ved pH-verde mellom 8 og 10, men elles har det og vore målt stor aktivitet ennå ved pH 5,8. Temperaturoptimum for lipaseaktiviteten til Pseudomonas fluorescens ligg i intervallet 23-37°, men sjøl ved 5° er det observert omlag 20 % av maksimal spalting, og ved 47° var spaltinga ennå 40 % av den maksimale. På same måten som det blei nemnt for Serratia marsescens har lipasene til Pseudomonas fluorescens høg varmeresistens så lenge dei er inne i cellene.

Pseudomonas fluorescens kan utvikle seg på overflata av øster når saltkonsentrasjonen der er låg. (På kjølelager for egg har det hendt at den har infisert egg).

Pseudomonas putida (Trevisan) Migula skil seg på fleire måter frå dei to førstnemnde Pseudomonas-artene. For det første likvifiserer den ikkje gelatin, og mjølka endrer seg ikkje synleg. Det blir såleis ingen koagulasjon eller oppløysing, men ved målinger viser det seg at reaksjonen blir sterkt alkalisk under danning av m.a. trimetylamin. Denne mikroben har ikkje evne til feittspalting, men den har større varme-, salt- og syretoleranse enn dei andre fluorescentene. Elles fins den stadig sammen med dei andre fluorescentene i vatn der den har talrike mellomformer.

Pseudomonas taetrolens Heynes. Av og til kan mjølk og fløyte få ein smak som minner om poteter. I fleire tilfelle er dette ført tilbake til Pseudomonas-arter. Aseptisk uttatt mjølk som er poda med Pseudomonas taetrolens har fått tydeleg usmak når bakterietallet nådde opp mot 6000 pr. ml.

Pseudomonas fragi (Eichholz) Gruber.

Då denne bakterien har ein typisk psykrofil karakter, vil den vere særleg aktiv når det er spørsmål om lipolyse i mjølk og fløyte som lagres ved låge temperaturer ($5-10^{\circ}$).

Genus II: Xanthomonas Dowson.

Ein mikrobe som ofte har vore kalla Pseudomonas trifolii huss høyrer eigentleg heime i slekta Xanthomonas Dowson. Eit anna namn på denne mikroben har vore Bacterium herbicola. Den produserer eit gullgult fargestoff og veks på overflata av mjølk, men likevel så langsamt at ein først kan merke den når mjølka har stått i lengre tid. Den gir ein svak sur reaksjon og koagulerer mjølka ved hjelp av eit løypeliknende enzym. Seinere løyser den mjølka opp (langsamt), og reaksjonen blir til slutt alkalisk.

Bakterier innen Del 15.

Endosporedannende staver og kokker.

Det er her bare ein familie og den er delt i fem slekter (genera). I 8. utgåve av Eergey's MANUAL OF DETERMINATIVE BACTERIOLOGY er inndelinga som følger:

1. familie:	<u>Bacillaceae Fisher</u>
Genus I:	<u>Bacillus Cohn</u>
Genus II:	<u>Sporolactobacillus Kitahara et Suzuki</u>
Genus III:	<u>Clostridium Prazmowski</u>
Genus IV:	<u>Desulfotomaculum Campbell et Postgate</u>
Genus V:	<u>Sporosarcina Kluyver et van Niel</u>

I denne familien samles alle dei bakterier som kan danne sporer. Endosporene er sylindriske, ellipsoide eller sfæriske og kan vere plassert på ymse stader i cella, sentralt, asymmetrisk eller terminalt. Sporene vil ofte vere så små at det ikkje blir deformasjoner av cella, men når sporene er større enn cellediameteren, vil det bli utbulkingar. Slike sporangier er spindelforma når sporene sit sentralt eller dei har kile- eller trommestikke (plektridium)-form når sporene sit terminalt. Cellene i dei fire første slektene er stavforma, men dei i den femte (sporosarcina) er sfæriske. Nokre av bakteriene har peritrichie cilier (flageller) og er bevegelege og nokre er ikkje bevegelege. Dei fleste er Gram-positive.

I Genus I: Bacillus Cohn er bakteriene aerobe eller fakultativt aerobe og dei fleste er katalasepositive. I

Genus II: Sporobacillus Kitahara et Suzuki er cellene mikro-aerofile og katalasenegative. I Genus III: Clostridium er cellene anaerobe og katalsenegative. Dei reduserer ikkje sulfat til sulfid. Genus IV: Desulfotomaculum samler anaerobe, katalasenegative celler som reduserer sulfat til sulfid. Genus V: Sporosarcina samler aerobe sfæriske celler som opptrer i regulære tetrader eller pakker.

Nokre arter er termofile og vil i så fall kunne vekse ved 55°. Dei fleste mikrobene i denne familien er saprofytter og fins vanlegvis i jord. Nokre få er parasitter på dyr, spesielt på insekt, og det fins patogene arter.

Bacillus Cohn.

I slekta Bacillus fins det ei heil rad med arter, men her skal bare tas med dei som speler noko større rolle i mjølke-bruket. Då blir det praktisk talt bare proteinspalterer. Dei aerobe, sporedannende, proteolytiske bakteriene utgjer ei særleg stor gruppe av dei vanlege jordbakteriene som med støvet kjem inn i mjølka. Dei er for det meste store, kraftige stav-former med uvanleg varmeresistente sporer. Så å seie uten unntak likvifiserer dei meir eller mindre raskt gelatin. Verknaden i mjølka er koagulerende og oppløysende. Nokre vil lage eit fast koagel av mjølka som etter kvart blir oppløyst, andre gir eit laust koagel som straks går i oppløysing, men alltid blir det ein sterk alkalisk reaksjon på grunn av den djupe spaltinga av proteinet. Temperaturkrava er svært ulike, nokre veks i mjølk alt ved 10°, dei fleste er mesofile og liker best temperaturer mellom 35-45°, og atter andre er termofile med

optimal-temperaturer på 55° og oppover. (Mesofile bakterier har optimal temperatur i området $20-37^{\circ}$). Sjøl om nokre arter kan tåle ein ganske sur reaksjon så gjer dei seg lite gjeldende i mjølk der talet på mjølkesyrebakterier har nådd eit rimeleg nivå. Det er bare når mjølkesyrebakteriene mangler eller er inaktive at Bacillus-artene finn slike vilkår at dei kan vekse og utvikle seg. Som oftest vil det derfor vere i pasteurisert eller därleg "sterilisert" mjølk og fløyte at desse bakteriene kjem til utvikling og då på grunn av at dei har klart alle varmepåkjenninger ved hjelp av sine varmeresistente sporer.

Bacillus subtilis (Ehrenberg) Cohn er internasjonalt akseptert som særleg typisk for denne slekta. Det er ein kraftig langstav som kan vekse i lange tråder. Sporene ligg midt i cella og sporangiene har same form som cella. Sporene tåler ca. 1 times koking uten å tape spireevne, og dei blir øydelagde først ved oppvarming til 115° i 15 minutt. Sporene har såkalla ekvatorialspiring. På gelatin veks bakteriene først som kvite prikker. I mikrokopet viser desse seg som ei kjerne med trådet periferi. Ved vokster på potet blir det eit tjukt fløyteliknende lag som etter kvart får fargenyanser som går over i brunt. Bacillus subtilis er rørleg og stavene kan bli 2-3 my lange. Optimaltemperaturen ligg i området $30-37^{\circ}$, men mikroben vil vanlegvis også kunne vekse heilt opp til fleire og femti grader. Mjølka blir svakt koagulert og blir oppløyst etter kvart som tida går til ei mørk buljongliknende væske uten større lukt eller smak.

Bacillus subtilis er funnen i sors mange varieteter, og ein

del av desse har evna til å danne svarte kolonier. Såleis vil Bacillus subtilis var. aterrimus og Bacillus subtilis var. niger produsere svart pigment. For den første er det vist at pigmentasjonen bare er aktuell i nærvær av kolhydrat. Evna til å produsere pigment kan gå tapt gjennom serier av omprodninger. Slike varieteter har vist dei same kjenneteikn som Bacillus subtilis. For Bacillus subtilis var. niger er det også vist at det svarte pigmentet bare kjem fram i medier som inneholder tyrosin.

Bacillus pumilus Meyer et Gottheil (synonym: Bacillus mesentericus) er noko mindre enn Bacillus subtilis og sporene er særleg resistente. Koloniene på gelatin har som oftest ikkje nokon trådet periferi, og på potet er bakterielaget kvitt eller svakt gulfarga. Det blir gjerne tørt og skrumpet. Koagulasjonen i mjølka er svak, mjølka blir nærmest slimet og blir raskt oppløyst. Så lenge reaksjonen er sur, blir det ikkje produsert primære spaltungsprodukt, men når miljøet blir alkalisk, kjem det fram forrotningsprodukt som indol og hydrogensulfid. Den forgjører laktat til smørsyre, og det forklarer at den ikkje er så følsom mot syrer som Bacillus subtilis. Den spalter også feitt.

Bacillus cereus Frankland et Frankland har mange varieteter. Den fins særleg i vatn og gjødsel. På gelatin har koloniene rotliknende utvokster. Mjølka blir først svakt syrna, ofte til og med syrekoagulert, men koaglet blir snart oppløyst og væska blir alkalisk. Saman med Pseudomonas fluorescens og Proteus vulgaris er denne mikroben ansvarlig for den rotne lukta det ofte blir av vass-rester som blir stående i därleg reingjorde spann og andre mjølkereidskaper.

Bacillus cereus var. mycoides har samen med ein del av dei Bacillus subtilis-formene vore funnen i vanleg klordesinfeksjonsvæske for mjølkereidskaper, til dels med sterke klorkonsentrasjoner.

Elles har Bacillus cereus vore gjordt ansvarleg for fløytepropper med mikrobiell årsak. Den har då løyst opp det ytre laget rundt feittkulene slik at desse har gått tett sammen og dannet den proppen som ofte kan vere ein vanleg mjølkefeil, delvis på grunn av mikrobeaktivitet, delvis på grunn av spesielle fysiske tilhøve under konsummjølkhandsaminga.

Bacillus polymyxa (Prazmowski) Macé er med dårleg vatn koma inn i meieria der den har vore til stor skade i osteproduksjonen, ikkje minst gjennom den stygge lukta den framkaller. Bacillus polymyxa blei før nokre år sidan påvist i ost ved eit norsk meieri. Den kom inn i meieriet gjennom vatnet (nytt vassverk) og var årsak til sterk lukt og usmak i gaudaost, men ikkje i edamerost. Dette meiner ein heng sammen med grensa for mikrobens salttoleranse.

Bacillus coagulans Hammer er ein typisk mjølkesyreprodusent mellom Bacillus-artene. Den er særleg funnen i kondensert og "sterilisert mjølk". Den veks godt ved 37° og heilt opp til 55°, men det er tvil om voksteren ved 20°. Mjølkesyra som den produserer i kondensert mjølk er høgredreiende syre. Den produserer også flyktige syrer, nemleg eddiksyre og propionsyre. Den spalter mjølkeproteinene slik at det blir ei oppløysing og ein auke i amino-nitrogenet. Trass i at Bacillus coagulans er ein ganske sterk syreprodusent, vil den likevel koagulere mjølka før den har produsert så mykje syre at det skulle bli ein rein syrekoagulasjon. I kondenseringsfabrikker

der steriliseringa ikkje har vore heilt vellukka har nettopp denne mikroben vore årsak til feil på produkta.

Bacillus anthracis Cohn høyrer eigentleg heime i forelesningene over mjølkehygiene. Den kan vere til stades i mjølk frå kyr som har anthrax eller miltbrann. Risikoen for at slike mikrober skal kome inn i meierimjølk er likevel minimal ettersom bakterien ikkje fins i mjølka før akkurat straks før eller umiddelbart etter at kua døyr. På den andre sida er det meldt om at Bacillus anthracis har halde seg virulent i 10 år i mjølk som er tatt ut av juret straks etter at kua var død. Likevel vil det ut frå preventive omsyn vere galt å omsetje mjølka frå dei andre kyrne i buskapen før veterinær-en er komen på staden og har gitt sine direktiv.

Ein Bacillus-art som ikkje er tatt med i siste utgåve av EERGEY's "Manual" er Bacillus calidolactis Hüssong et Hammer. Den minner i sine eigenskaper mykje om Bacillus coagulans, men medan Bacillus calidolactis veks godt ved 55°, veks den ikkje ved 37°. Den produserer høgredreiende mjølkesyre, men mengda av flyktige syrer er liten. Denne bakterien er ein typisk representant for dei termofile organismene som kan vekse ved særleg høge temperaturer. Såleis isolerte HAMMLR og HÜSSONG ein stamme av bakterien som var årsak til koagulering av skummamjølka ved ca. 71° under kommersielle tilhøve. Mjølka som koagulerte skulle gå til tørking og var varmelagra på ein mellomtank rett etter pasteuriseringsseksjonen.

Genus III: Clostridium Prazmowski.

Bakteriene i denne slekta vil ofte bli større under sporula-

sjonsprosessen og formene blir enten clostridier eller plektridier. Artene i denne slekta er anaerobe eller mikro-aeroofile og cellene produserer ikke katalase. Biokjemisk sett er det sers aktive mikrober. Mange arter forgjærer karbohydrat til ymse syrer (ofte er smørsyre representert) og gass (CO_2 , H_2 og av og til CH_4). Andre arter er årsak til rask putrifisering av protein med illeluktende biprodukt. Vi kan altså med ein viss rett tale om ei sakkarolytisk og ei proteolytisk gruppe av bakteriene i denne slekta.

Dei vanlegste finnestadene for bakteriene er i jord og i human eller animal faeces. Nokre arter vil, når dei veks på saprofyttisk måte på vegetabilsk materiale (som spaltes) eller på dødt vev inni ein animalsk vert, danne ymse toksiske og lytiske substanser. (Sers sterke giftverknad).

Dei sakkarolytiske clostridiene blir ofte kalla ekte smørsyrebakterier idet dei nyttar karbohydrat eller salt av lage feittsyrer som energikjelde. I motsetnad til desse står dei uekte smørsyrebakteriene som nyttar nitrogen-næringa (mellom anna kasein) både til energiproduksjon og vokster. Desse siste er altså typiske proteolytter. Og dei er ikkje bare proteolytter, men dei er dei mest energiske forrotningsbakterier som fins. Mange arter er identifisert. Dei fins vidt utover i naturen, og det er såleis lett å skjøne at dei kan kome inn i mjølka, for det meste ved infeksjon av fækalier og strømidler.

Clostridium lentoputrescens Hartsell et Retger er ein sers karakteristisk mikrobe i den proteolytiske gruppa. Det er ein kraftig, rørleg stav, strengt anaerob og sporedannende.

Sporen fins i enden på staven som derved svel ut og får plektridiumform. Sporene er varmeresistente og skal tåle inntil 1 times koking. Trass i at bakterien fins så å seie overalt i jorda, vil ein normalt finne lite av den i mjølka. BARTHÉL fann eit par, høgst 20 pr. ml, og dette stemmer godt med det andre har funne. Bare under særlege tilhøve kan talet på desse bakteriene stige. Clostridium lentoputrescens veks ikkje under pH 5. Den vil først kome i sterke vokster ved pH-verd over 6. Mjølka koagulerer ikkje, men blir raskt oppløyst, og kaseinspaltinga går djupt under dannning av lågere feittsyrer, aminer, amonialske produkt og derivat av hydrogensulfid som stinker.

Clostridium lentoputrescens vil under vanlege tilhøve ikkje gjere seg verkbar i mjølka. Men i pasteurisert eller mislukt sterilisert mjølk kan den vel kome fram. Dessuten kan den også vere årsak til stinkende gjærlinger i ost.

Dei såkalla ekte smørtsyrebakteriene har vore kjende heilt sidan PASTEUR utførde dei første grunnleggjende granskingsene og la fram resultata i 1857 og i seinere publikasjoner. PASTEUR konstatererte alt då dei viktigste eigenskapene til bakteriene: dei produserer smørsyre frå sukker eller laktat, dei er strengt anaerobe og dei danner sporer.

Smørtsyrebakteriene er årsak til viktige bakteriologiske problem i meieribruket. Det er hevda at dei fleste meieri-institutt i land der meieribruket speler ei viss rolle enten har hatt eller har smørtsyrebakteriene på sitt forskningsprogram. Dei viktigste granskingene som kom etter PASTEUR

var utførde at SCHATTENFROH og GRASBERGER omkring siste århundreskiftet. Dei var klar over at mellom alle kjende Clostridium-arter var det særleg to slag smørsyrebakterier som gjorde seg gjeldende i mjølka. Det var ein urørleg, "gelatinsmeltende" Granulobacillus (-bacter) saccharobyricus immobilis liquefaciens og ein rørleg som ikkje likvifiserer gelatin Granulobacillus saccharobyricus mobilis non liquefaciens. SCHATTENFROH og GRASBERGER nytta ein spesiell teknikk for å isolere desse bakteriene fra jord, ost, vatn, ekskrementer, mjølk etc. Dei rørde ut prøver i steril skumma-mjølk, heldt denne i 10-20 minutt i strøymende H₂O-damp og heldt dei deretter ved 37°. Denne grove inndelinga til SCHATTENFROH og GRASBERGER har ein halde fast ved i seinere arbeid også, men namna har veksla. Den urørlege smørsyrebakterien er seinere kalla Bacillus sachharobyricus immobilis og den rørlege i mange tilfelle Bacillus amylobacter eller også Clostridium butyricum. Desse typene skil seg også når det gjeld varmeresistensen hjå sporene. Sporene hjå den urørlege kan tåle opptil 1½ times kokking, medan sporene hjå den andre knapt tåler 100°, men vel 80° i 5-10 minutt. Med den teknikk som SCHATTENFROH og GRASBERGER nytta får ein såleis bare i unntaksfall fram den rørlege bakterien.

I meieribruket er det kanskje viktigst at mange smørsyrebakterier er i stand til å forgjære laktat. Dette er i allfall viktig når det gjeld ost. Osten skifter karakter som bakteriologisk substrat når den i dei første dagene mister laktose som etter kvart går over til laktat (laktat-substrat). Omkring 1930 arbeidde hollandske forskerar: BOEKHOUT og VAN BEYNUM, seinere VAN BEYNUM og PETTE spesielt med smørsyre-

bakterier som var isolert frå smørsyregjært ost. Dei fann at smørsyrebakteriene frå slik ost likvifiserte gelatin, og dei meinte å kunne skilje mellom slike som forgjærte laktose, men ikkje laktat (Clostridium saccharobutyricum) og slike som forgjærte laktat, men ikkje laktose (Clostridium tyrobutyricum). Videre fann dei intermediære former mellom desse to typene.

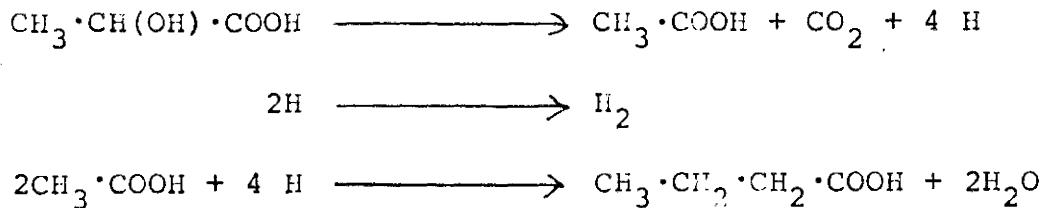
Nyere granskinger tyder på at det kan vere vanskeleg å halde oppe denne skarpe skilnaden mellom Clostridium saccharobutyricum og Clostridium tyrobutyricum. Särleg sveitseren RICHARD (1950) har utført kritiske granskinger av ulike smørsyrebakteriers eigenskaper og eigenskapenes konstans. Etter RICHARD går nå etterkvart alle dei kjende artene av rørlege smørsyrebakterier inn som ein hovedart, nemleg Clostridium butyricum Prazmowski. Denne er altså rørleg og ikkje proteolytisk, og den har varieteter som kan forgjære både laktose og laktat. På den andre sida har den urørlege, proteolytiske typen fått namnet Clostridium perfringens (Veillon et Zuber) Holland. Denne bakterien hadde ei tid namnet Clostridium Welchii. Enn så lenge veit ein lite om dei laktose- og laktat-forgjærende varietetenes konstans i ost og jord. Det har vist seg mogeleg å isolere laktatforgjærende blandingskulturer som heldt på sine laktatforgjærende eigenskaper i årevis når ein held deim i steril jord. Sjøl om det er laktatforgjæringa som er den viktigste sett frå ein meieri-syrstad, kan det likevel finnes slike tilfelle der laktose-forgjæring kan kome på tale f.eks. i konsentrat av mjølk og myse. I 1953 viste dansken LIND at Clostridium perfringens, som er proteinspalter, kan utvikle seg i ost. I osteemulsjon gir denne bakteriem smørsyre ved at den bryt ned proteinet.

Det same gjer den i kaseinlepton. Koliforme og mjølkesyre-bakterier kan ha ein stimulerende effekt. Andre forskerer (CARDON og BARKER) har i forsøk med aminosyrespaltende Clostridium-arter vist at dei ut frå treonin kan danne butyrat og propionat.

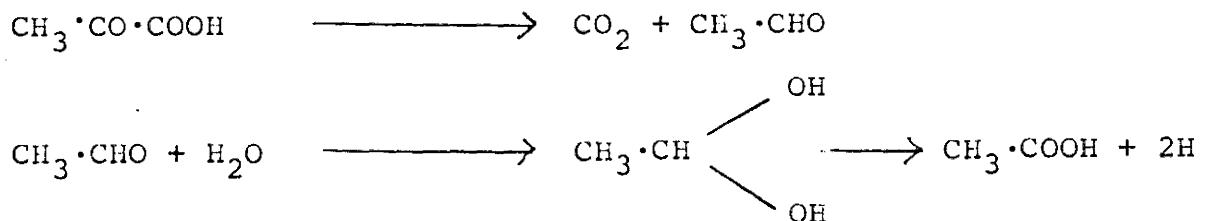
Med omsyn til dei biokjemiske reaksjonene under smørsyre-bakterienes forgjæring av sukker og laktat må ein seie at dette ennå ikkje er fullt oppklart. Som sluttprodukt av sukkergjæringa er det funne: karbondioksyd, hydrogengass, etanol, mjølkesyre, eddiksyre og smørsyre. Som mellomprodukt er det påvist triose og pyrodruesyre. Nærvar av kalsium har auka smørsyremengda. Det er også vist at fosforylering av heksosemolekylet danner ein innleidende reaksjon. M.o.t. produksjonen av karbondioksyd og hydrogen meiner ein at den skriv seg fra spalting av maursyre, altså analogt med spaltinga for coli-aerogenes-bakteriene. I 1950 viste FURUSAKA i Japan at smørsyrebakterier kan produsere hydrogen frå formiat.

Når det gjeld sukkerforgjæringa hjå smørsyrebakteriene, tykkjes mjølkesyra å vere eit stabilt sluttprodukt. Ved laktat-forgjæringa må derfor andre enzymsystem kome til. Dette treng ikkje vere det same som at heilt andre bakterievarteteter kjem til. Det kan faktisk, med dei mindre skarpe grensene mellom sukkerforgjærende og laktatforgjærende bakterier, vere tale om ein enzymatisk adapasjon hjå bakterier som opp-haveleg er sukkerforgjærende. SODE MOGENSEN har vist at nærvar av bromat kan føre til at smørsyrebakteriene endrer glukoseforgjæringa til ei rein mjølkesyreforgjæring.

Med omsyr til mekanismen for laktatforgjæring har det vore framkasta mange teorier. Det har vist seg at reinkulturer som bare viste svak forgjæring av laktat og glyserol kunne aktiveres sterkt ved nærvær av 0,8 % natriumacetat i mediet. Dei syrene som kom fram var mest smørtsyre og eddiksyre, og gassen var ei blanding av kolsyre og hydrogen. I kvantitative granskinger over laktatforgjæringa har det vist seg at smør-syremengda står i relasjon til acetatmengda i mediet. Ved små acetatmengder vil alt butyrat komme fra laktatet. Ved intermediære acetatmengder vil det stort sett gå med eit molekyl acetat for kvart molekyl butyrat som blir produsert. Når det er større acetatmengder i mediet, vil det gå meir acetat inn i reaksjonen enn ein finn att som smørtsyre. I slike tilfelle blir det truleg også produsert aceton. Eit tentativt reaksjonsskjema er følgjende:



Pyrodruesyre og likeeins glukose blir forgjært av dei laktat-forgjærende smørtsyrebakteriene, og dette hender sjølv om det ikkje er acetat i mediet. Truleg går denne prosessen over acetat og kolsyre:



Denne eddiksyra kan ein tenkje seg reagerer som ovanfor nemnt.

Pyrodruesyra ser ein på som eit første stadium for danning av eddiksyre og smørsyre ved sukkerforgjæring.

Det er også funne at Clostridium butyricum-arter gir smørsyre og eddiksyre av pyrodruesyre.

β -hydroksysmørsyre gir smørsyre og eddiksyre i mengdetilhøvet 1 : 1. Prosessen meiner ein går på følgjende måte:

Pyruvat \longrightarrow acetat \longrightarrow ukjent mellomprodukt \longrightarrow hydroksybutyrat \longrightarrow acetat + butyrat.

Det har vore drøfta om karbonsyra er eit stabilt endeprodukt eller om den reversibelt kan gå over i andre stoff. Mange har sett på karbondioksyd som ein hydrogenakseptor ved sukkerforgjæringa. Dette kan vere mogeleg i ost som gjennom andre forgjæringer inneheld karbondioksyd. Vi har tidlegere nemnt andre mikroorganismar som produserer lågmolekylære gjæringsprodukt ved at karbondioksyd har gått inn i syntese under forgjæringa. Elles er granskinger over gjæringsmekanismer hjå laktatforgjærende smørsyrebakterier frå ost lite kjende frå litteraturen. I Sverige har SJÖSTRÖM funne smørsyre, eddiksyre og/eller maursyre og dessuten karbondioksyd og hydrogengass. Mengdetilhøvet mellom karbondioksyd og hydrogengass var for det meste omlag 2.

Bakterier innen Del 17.

Actinomycetes og nærliggende organismer.

I 8. utgåve av BERGEY's Manual of Determinative Bacteriology er det, for bakteriene i Del 17 til dels ganske store skilnader fra inndelinger og grupperinger i dei 2 føregående utgåvene. Del 17 omfatter nå ei gruppe av bakterier, den coryneforme gruppa, dertil kjem den viktige familien Propionibacteriaceae, og dessuten heile 8 familier i ordenen Actinomycetales med ei heil rad av interessante bakterier. Av desse er der ein del som har ei viss interesse for meieribruket.

Den coryneforme gruppe av bakterier.

Dei ansvarlege forfatterne her, ROGOSA, CUMMING, LELLIOTT og KEDDIE, håndsamer eit vidt spektrum av mikrober. Dei tar med i gruppa ei rekke slekter:

Corynebacterium

Arthrobacter med nærliggende slekter

Brevibacterium og Microbacterium

som begge har usikker plassering,
genera incertae sedis.

Cellulomonas

Kurthia - tentativ plassering

Slekta Corynebacterium Lehmann et Neumann har som typeart Corynebacterium diphtheriae (Kruse) Lehmann et Neumann.

Som det går fram av artsnamnet er dette den mikrofloraen som er årsak til difteri, ein sjukdom som skriv seg frå det sterke toksinet som mikroben danner (Siste epidemi i Norge

under siste krig. - Difteriserum øydelegg det toksin som sirkulerer i blodet. - Vaksinering gir godt vern).

Corynebacterium bovis Bergey et al. er ein annen patogen art. Den er funnen i mjølk som er tatt ut av juret på aseptisk måte. Truleg kan den av og til vere årsak til bovin mastitt.

Fleire arter av slekta er typisk plantepatogene, og atter andre er non-patogene. For dei sistnemnde er ofte karakteristikken så ufullstendig at det med rette har rådd tvil om den systematiske plasseringa. Mellom alle dei slekter som har vore inne i biletet nevnes spesielt Brevibacterium og Microbacterium.

Slekta Arthrobacter Conn et Dimmick representerer arter som mest fins i jord. Dei er av mindre interesse for meieribruket. Større interesse har det derimot vore, og er, for Brevibacterium og Microbacterium.

Slekta Brevibacterium Breed føres p.t. opp med visse atterhald. Tidlegere var Brevibacterium linens (Weigmann) Breed den mest interessante arten. Nå har den autor-merket (Wolff) Breed og blir sett på som ein heller usikker Brevibacterium-art. Det hevdes m.a. at den, etter sine karakteristiske kjenneteikn, vel så gjerne kunne føres opp som ein Arthrobacter-art idet den står Arthrobacter globiformis (Conn) et Dimmick særleg nær.

Brevibacterium linens er ikkje rørleg. Den er Gram-positiv og reduserer nitrat til nitrit. Den er ein typisk osteorganisme

og blei først isolert frå overflatafloraen på ymse halvfaste og mjølke ostetyper, der den speler ei rolle når det gjeld nedbryting av protein og utvikling av smak. I mjølk framkaller den alkalisk reaksjon, deretter proteolyse med stigning i mengda av aminonitrogen. Mikroben er typisk salttolerant og klarer 15 % natriumklorid i buljong eller skummamjølk. Det har også vore påvist vokster i høgre konsentrasjoner. Det er nettopp denne høge salt-toleransen som set mikroben i stand til å vekse i kittfloraen på overflata på ymse oster. Den veks i pH-området 6,0 til 9,8. Den viser såleis ikkje vokster ved pH-verde frå 5 og nedover. Frå dei tilsvarende alkoholer produserer Brevibacterium linens ymse flyktige syrer som eddiksyre frå etanol. Den er katalase-positiv, men ikkje lipolytisk. Ved sida av at den fins på ost (og har vore funnen i smør, mjølk og fløyte) kan den påvises i ymse næringsmidler og i silofør, på grøne planter, høy og halm og i vatn og gjødselvatn. Den har også vore påvist i munnen på kyr og i lufta, men fins sjeldan i jord. Når den skal isoleres letter det arbeidet å nytte ein spesiell osteagar med 5 % salt og inkubering i oksygenatmosfære. Bakterien veks i temperaturintervallet 8-37° med optimum omkring 21°. Varmeresistensen er heller dårlig, og den døyr etter nokre minutt ved 63°.

I kittfloraen på mange oster som Limburg og Camembert vil Brevibacterium linens vere ein karakteristisk komponent. Den kjem tydeleg fram når andre mikrober har auka pH-verdet i overflata slik at Brevibacterium linens kan vekse. Det er Brevibacterium linens ein meiner er årsak til den svake rødfargen som ofte kjem fram på slike oster. Dette

kalles ofte for affincring. (NB! Brevibacterium linens er med visse påvist i kjeldevatn).

Slekta Microbacterium Orla-Jensen er ei samling små differoide, staver som er Gram-positive. Det er altså CRLA-JENSEN som har gitt namnet til denne slekta som representerer små stavbakterier, bare 0,3 - 1 my lange. Alt i 1905 bar BURRI merksam på desse mikrobene som han fann ved å granske pasteurisert mjølk. BURRI nytta namnet "varmeresistente kortstaver". Påde i overflatevokster og i fysiologiske eigenskaper står dei nær mikrokokkene. Dei produserer mjølkesyre, men ikkje gass frå karbohydrat. Overflatevoksteren er god. Dei produserer katalase, noko som gjorde at ORLA-JENSEN klassifiserte dei som "uekte mjølkesyrebakterier". Desse bakteriene fins vanlegvis i mjølkeprodukt og utensilier, faeces-rester og jord.

Artene er:

Microbacterium lacticum Orla-Jensen. Denne fins i kugjødsel, i human faeces, men først og fremst i ost og på mjølkereiskap. På platekulturer vil den danne små, kvite til grøngule kolonier (pin-point). Den veks mellom 5 og 37°, best ved 28-30°. Den er som nemnt uvanleg varmeresistent. Den forgjærer svært mange karbohydrat, men er ein svak syredanner. I mjølk når syremengda unntaksvis opp i 0,4 % (høgrendre) mjølkesyre, og ved inkubasjon ved 30° blir det koagulasjon først etter fleire døger. Når den veks sammen med vanlege streptokokker, har den vanskeleg for å klare seg idet den ikkje veks ved lågere pH-verdene enn 6,6. Den har ei ganske sterk kaseinspaltingsevne, men spaltinga går ikkje

djupt. Den reduserer ikkje metylenblått. Dersom den skal isoleres, bør ein gå ut frå høgpasteurisert mjølk.

Microbacterium liquefaciens Orla-Jensen er isolert frå mjølk, men oftere frå ost. Eit synonym er Bacterium caseolyticum.

Begge dei nettopp nemnde bakterieartene har visse felles eigenskaper med såvel Arthrobacter som med plantepatogene corynebakterier.

Microbacterium flavum Orla-Jensen viser på agar for det meste gule, viskøse kolonier (jfr. namnet). Elles likner den i sine eigenskaper mykje på Microbacterium lacticum. Minimumstemperatur for vokster ligg likevel høgre, nemleg ved 20°.

Microbacterium thermosphactum Mc Lean et Sulzbacher er ein bakterie som det er mykje tvil om når det gjeld plassering sammen med f.eks. Microbacterium lacticum og Microbacterium flavum. - Microbacterium thermosphactum er særleg funnen i samband med kjøtvarer. Den har elles eigenskaper som gjer det vanskeleg å plassere den i nokre av dei bakteriefamilier som er kjende i dag. Dette hevdes i eit arbeid frå 1972 av COLLINS-THOMPSON, SØRHAUG, WITTER og ORDAL (Int. J. Syst. Bact. 22 (2) 65-72).

Familien Propionibacteriaceae Delwiche.

Bakteriene her er samla i ein eigen familie etter framlegg frå professor DELWICHE ved Cornell University (Ithaca, N.Y.).

Familien omfatter Gram-positive, non-sporulerende, anaerobe til aerotolerante bakterier som er pleomorf, greinete eller regulære staver eller filamenter. Dei artene, som er sakkarolytiske, produserer som hovedprodukt m.a. CO_2 , propion- og eddiksyre, eller blandinger av organiske syrer deriblant ofte smørsyre, maursyre, mjølkesyre eller andre monokarboksylsyre. Nokre arter er non-sakkarolytiske.

Dei to genera i familien karakteriseres kort slik:

I. Ikkje rørlege.

Anaerobe til aerotolerante. Produserer propionsyre og eddiksyre og mindre mengder isovalerian-, maur-, rav- og mjølkesyre. Alle artene produserer syre fra glukose.

Genus I: Propionibacterium

II. Rørlege eller ikkje rørlege.

Obligat anaerobe.

Gjærende eller ikkje gjærende.

Dei artene som forgjærer sukker-arter spalter desse til organiske syrer, ofte rikeleg av smør-, eddik-, maur- og mjølkesyre eller andre monokarboksylsyrer.

Genus II: Eubacterium

Genus Propionibacterium Orla-Jensen. Det var von FREUDENREICH og ORLA-JENSEN som i 1906 påviste desse bakteriene i Emmentalost. Nokre år seinere viste BURRI at dei var vanlege i gjødsel og at dei derifrå kom over i mjølka. DORNER og THÖNI granska 500 prøver leverandørmjølk og fann gjennomsnittleg 30 propionsyrebakterier pr. ml. Når desse

mikrobene relativt seint blir oppdaget som mjølkesyrebakterier, kjem det av at dei veks langsamt på vanlege næringssubstrat og at koloniene skil seg lite fra streptokokkenes kolonier. Dei er urørlege, Gram-positive sporelause, korte staver som ofte, spesielt under anaerobe vilkår, veks i diploform. Då dei ofte kan vere svært korte, kan dei faktisk minne om Streptococcus lactis. Under aerobe tilhøve og ved høg podeprosent kan dei få langstavform og bli deformerte. Dei kan såleis ha kølleforma utposinger, ja, til og med greinete celler. Dette vil gjerne gjere seg sterkere gjeldende om miljøet er surt. Djupkolonier i agar får ofte linse- eller krystall-liknende former. Elles er desse bakteriene nærmest anaerobionter. Propionsyrebakteriene er ei vel avgrensa slekt der artene viser stor variasjon i evna til å utnytte dei ymse næringsstoffa. Dei veks best i gjær-ekstraktmedier som inneholder laktat eller simple karbohydrat. Mjølkesyre, karbohydrat og polyalkoholer blir forgjært til propionsyre, - eddiksyre og CO_2 . Dessuten vil ein alltid finne ein del ravsyre ved forgjæring av glukose, men derimot ikkje ved forgjæring av laktat eller mjølkesyre.

Propionsyrebakteriene kan ikkje løyse opp gelatin. I regelen er dei sterkt katalasepositive, men det fins unntak. Optimumstemperaturen for dei fleste artene ligg på omlag 30° . Når det gjeld dødstemperatur for desse mikrobene, har det vore av stor interesse å slå fast den aktuelle dødstemperaturen. Ost som er produsert frå upasteurisert mjølk inneholder vanlegvis propionsyrebakterier som då spelar ei viss rolle for dei eigenskapene osten får under mogninga. Nå har det vist seg

at ost frå pasteurisert mjølk også kan innehalde propionsyre-bakterier. I svenske forsök har THOMÉ og LINDGREN (Medd. nr. 23 från Statens Mejeriförsök) granska varmeresistensen hjå ei rad med propionsyrestammer delvis ved ein spesiell laboratorieteknikk og delvis ved pasteurisering i eit laboratoriepasteuriseringsapparat. Ved laboratoriemetoden kunne haldetida varieres, i pasteuriseringsapparatet var halde-tida 16 sek. Der viste det seg at dødstemperaturen for 10 ulike stammer låg mellom 70-78°. Av dette kan sluttas at då ystemjølka vanlegvis ikkje blir pasteurisert høgre enn omlag 72° (ofte noko lågere), vil der vere ein del overlende propionsyrebakterier i ystemjølka som derifrå kan gå over til å utvikle seg iosten. Alt i alt granska THOME og LINDGREN 25 stammer av propionsyrebakterier. Dei tok omsyn til mange faktorer og fann mellom anna at dødstemperaturen i buljong i medeltall var 7° lågere enn i mjølk. Ved å variere kulturenes alder viste det seg at skilnaden i døds-temperatur mellom ein 10 og ein 2 døger gammal kultur gjennomsnittleg var 1° og då slik at den eldste kulturen hadde høgste dødstemperaturen (største varmeresistensen). Propionsyre-bakteriene veks ikkje under 17° og ikkje over 45°. Dei kan vekse i pH-intervallet 4,6-8,5, men det er først når pH ligg i intervallet 5,0-5,5 at gjæringa kjem i gang, og den går best ved pH 6,8 - 7,0. Dei tåler godt saltkonsentrasjoner (NaCl) opp til 3 %, men blir sterkt svekka ved 4 %. Salpeter hemmer også voksteren.

Under vanlege tilhøve speler desse bakteriene ikkje nokor større rolle i mjølk, men for mange osteslag er dei viktige

komponenter i mogningsfloraen. Både ved produksjon av flyktige syrer og andre stoff, ikkje minst ved produksjon av karbondioksyd speler dei ei sers stor rolle for holsetjinga, spesielt for oster av Emmental-typen.

Propionsyrebakteriene spalter ikkje kasein, men pepton, og ved nedbrytinga av peptona vil det også bli produsert stoff som er med og gir den noko søte, særmerkte smaken som velmogna oster kan få.

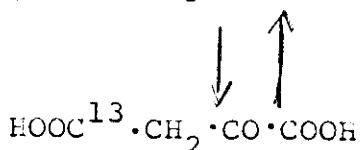
Med omsyn til mekanismen for propionsyregjæringa så er dei første fasene ved forgjæring av sukker dei same som ved den alkoholiske gjæringa. Det er dei same fosforyleringsprosesene og mange av dei same mellomprodukta. Eit vanleg mønster for propionsyregjæringa grunner seg m.a. på dei resultata WOOD, WLRKMAN et al. kom fram til ved hjelp av isotopforskning. Dei nytta C¹³-isotopen (elles har det også vore vanleg å nytte den radioaktive C¹⁴-isotopen), og fann at propionsyra sannsynlegvis kom fram etter dekarboksylering av "karbohydretisk" ravsyre. Dette stemmer godt med at DELWICHE i 1940 fann at stammer av ein Propionibacterium-art (acidi-propionici) har eit ravsyredekarboksylase-system.

CARLSSON og RUBEN studerte bakteriegjæring ved hjelp av C¹⁴-isotopen. Dei viste at ved glyserolforgjæring av propionsyrebakterier i nærvær av karbondioksyd C¹⁴ O₂, kom den radioaktive isotopen fram som eit av C-atoma, dels i den produserte ravsyra, dels i propionsyra.

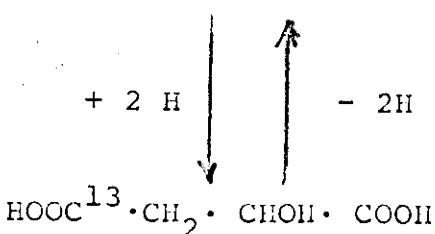
I 1933 gjorde WOOD og WERKMAN framlegg om følgjende skjema for binding av C^{13}O_2 :



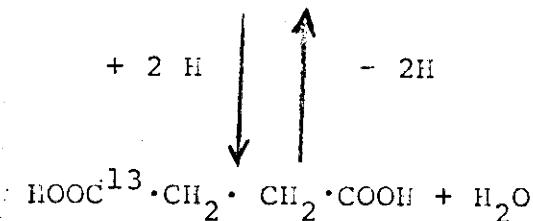
pyrodruesyre



oksalediiksyre

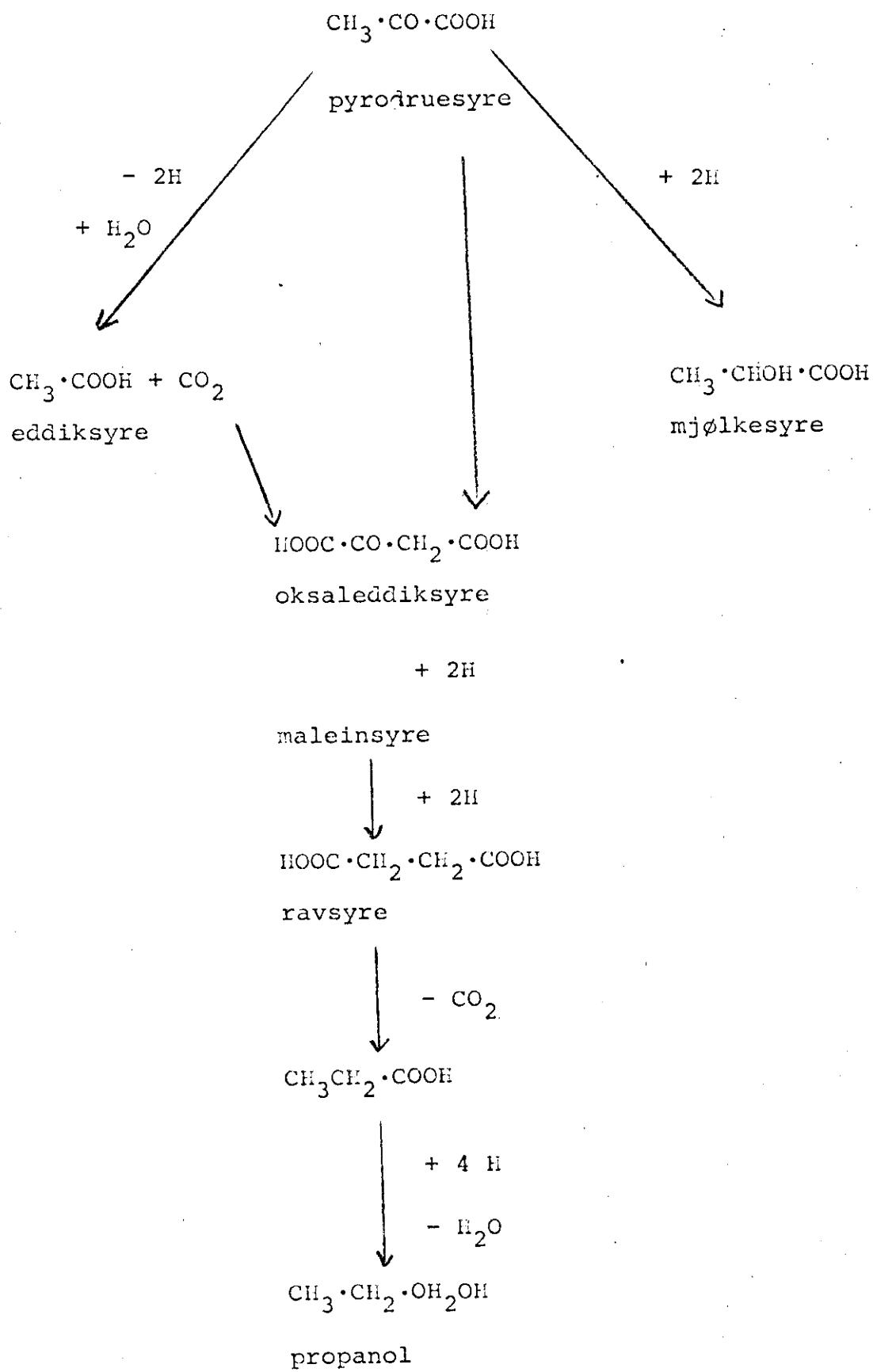


maleinsyre



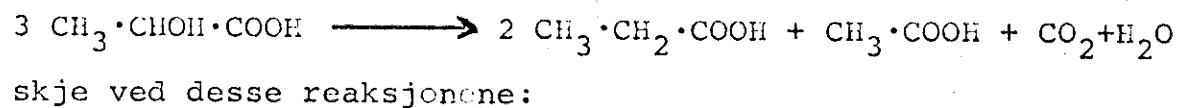
ravsyre

Meir fullstendig kan gjæringssystemet bli sett opp slik:

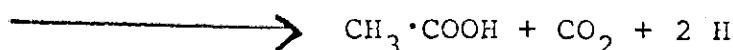
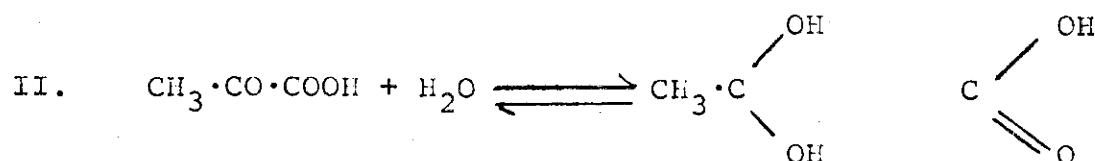
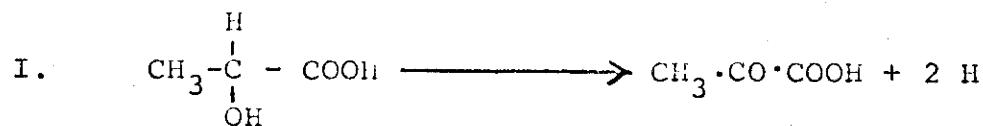


Skjemaet til WOOD og WERKMAN viser at det ved strengt heterotrofe livsformer kan bli assimilert CO_2 som går inn som C-C-bindinger i nye molekyl. WOOD og WERKMAN blei merksame på dette fenomenet då dei sette CaCO_3 til ein kultur for å nøytraliser den produserte syra. Ein del av karbonsyra forsvann i organisk bunden form. Derved var det klart at non-fotogene, syntetiske, typiske heterotrofe organismer kunne assimilere CO_2 .

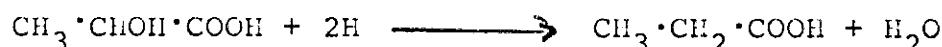
Etter KLUYVER vil propionsyrebakteriene forgjæring av mjølkesyre etter bruttoomsetjinga:



Dehydreringer:



Hydrogenering:



Propionsyra er eit direkte hydrogeneringsprodukt av mjølkesyre, andre mjølkesyremolekyl tener som hydrogen-donatorer og blir derved konverterte til eddiksyre og karbondioksyd. Nå har det vist seg gjennom eksperiment med fleire propionsyrebakteriestammer at høvet mellom produsert propion- og eddiksyre ikkje er 2, men omlag 1,8. Dette må bli tolka slik at det i mediet også fins andre stoff som, ved sida av mjølkesyre, kan tene som hydrogenakseptor.

ORLA-JENSEN's første hovedarbeid over propionsyrebakteriene kom i 1909. VAN NIËL var den første som samla propionsyrebakteriene til genus Propionibacterium Orla-Jensen i monografinen The Propionic Acid Bacteria, Haarlem, 1928.

I BERGEY's 8. utgåve er det MOORE og HOLDEMAN (begge fra Virginia, USA) som står for den systematiske framstillinga av arter og underarter (varieteter).

Oversyn over Propionibacterium-artene:

I. Hydrolyserer aeskulin

A. Ikkje fullstendig hydrolyse av gelatin

1. Forgjærer ikkje mannitol

a. Reduserer nitrat

i. Forgjærer ikkje laktose

1.a. Propionibacterium freudenreichii

underart freudenreichii

ii. Forgjærer laktose

1.b. Propionibacterium freudenreichii

underart globosum

b. Reduserer ikkje nitrat

i. Forgjærer ikkje trehalose

I c. Propionibacterium freudenreichii

underart shermanii

ii. Forgjærer trehalose

2. Propionibacterium thoenii

2. Forgjærer mannitol

a. Reduserer nitrat

3. Propionibacterium acidi-propionici

b. Reduserer ikke nitrat

4. Propionibacterium jensenii

B. Fullstendig hydrolyse av gelatin

5. Propionibacterium avidum

II. Hydrolyserer ikke aeskulin

A. Produserer indol

6. Propionibacterium acnes

1. Forgjærer adomitol, erytritol, maltose og ribose

7. Propionibacterium lymphophilum

2. Forgjærer ikke adomitol, erytritol, maltose

og ribose

a. Reduserer nitrat

6. Propionibacterium acnes

b. Reduserer ikke nitrat

8. Propionibacterium granulosum

Den mest aktuelle arten (underarten) for norske meieri-bakteriologer er Propionibacterium freudenreichii, underart shermanii van Niel. (Nomerklaturen er her bunden til 3 internasjonalt kjende vitskapsmenn på dette området.

Sveitseren EDOUARD VON FREUDENREICH og nederlenderen

VAN NIEL er alt nemnde. SHERMAN er amerikaner).

Det er ein stamme av denne mikroben som går inn i syre-kulturene som nyttas for framstilling av Jarlsberg-ost. Frå eldre forsøk i Sveits med tilsetjinger av propionsyrebakterier til kulturer av ostebruksyre gjekk det fram at propionsyrebakteriene måtte doseres med stor varsemd då det elles kunne bli ei altfor sterk utvikling av CO_2 i ostene. Men der er skilnader i så måte mellom arter og mellom stammer innen ein og same art. Bakteriologer utenfor meieribruket vil ofte sjå på underartene som mykje like kvarandre, men for osteteknologen kan sjølv små skilnader spele ei svært stor rolle. Dei tri underartene av Propionibacterium freudenreichii var før registrerte som 3 ulike arter på basis av nitrat-reduksjon og evne til laktoseforgjæring:

	Nitrat reduk-	Laktoseforgjæring og syrekoagulasjon	sjon av mjølk
la. <u>Propionibacterium freudenreichii</u>	+	-	-
lb. <u>Propionibacterium globasum</u>	+	+ +	
lc. <u>Propionibacterium shermanii</u>	-	- +	

Den andre slekta i familien Propionibacteriaceae er av mindre interesse for meieribruket.

Ordenen Actinomycetales Buchanan.

I nokre av familiene som høyrer inn under denne ordenen fins mikrober som kan ha eit visst samband med meieriinteresser.

I familien Actinomycetaceae Buchanan nevnes to av slektene Actinomyces Harz og Bifidobacterium Orla-Jensen.

Actinomyces bovis Harz er årsak til actinomykose hjå storfø. Ein annen art, Actinomyces israelii (Kruse) Lachner-Sanoval er årsak til same sjukdom hjå menneske.

Bifidobacterium-artene har ei uvanleg celleform, med avgreining i Y- og V-former og andre forgreiningsformer.

Fleire av artene, bifidum, adolescentis, infantis, breve og longum fins i tarmkanalen hjå menneske, delvis bare hjå brystbarn, men også hjå vaksne som dagleg drikker mjølk. Sjølv om desse artene sjeldent nyttes direkte i meieritekniske prosesser, er dei av interesse fordi dei på ein måte er knyttet til mjølkekonsum.

I familien Mycobacteriaceae Chester er der bare ei slekt, Mycobacterium Lehmann et Neumann.

Av dei ymse artene i slekta Mycobacterium er der ingen som er av direkte nytte i meieribruk, men det knyter seg ei viss interesse til den typiske representanten for artene Mycobacterium tuberculosis (Zopf) Lehmann et Neumann, Mycobacterium bovis Karlson et Lessel og visse intermediære og nærliggende arter. Den humane tuberkulose har vore i tilbakegang i vårt land, og tuberkulose på storfe er utrydda. Likevel tas Mycobacterium tuberculosis med i mjølkehigieniske vurderinger. Det er såleis vanleg å fastsetje temperatur/tid-kombinasjoner i pasteuriseringsteknikken i relasjon til varmeresistensen til denne mikroben.

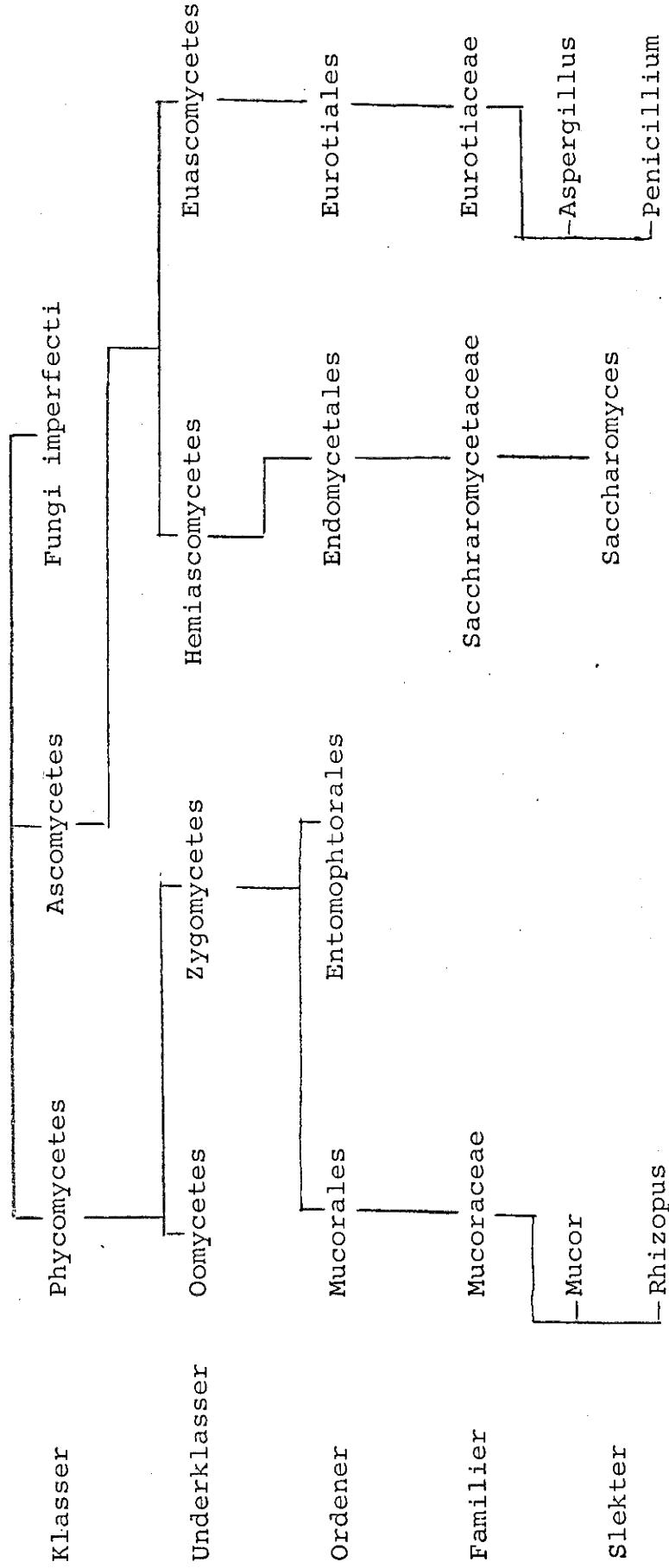
Mycobacterium leprae (Hansen) Lehmann et Neumann nemnes

fordi denne oppdaga ARMAUER HANSEN (i Bergen) før ROBERT KOCH oppdaga Mycobacterium tuberculosis. Dei to publikasjonene skriv seg frå respektive 1874 (Norsk Magasin for Lægevidenskab) og 1882. (Det hevdes til og med at lepramikrobene "were the first to be recognized as a cause of human disease (HANSEN, 1874)".

F U N G I

Innholdsfortegnelse

	side
Fungi	1
Klasse Phycomycetes	1
Klasse Ascomycetes	4
Klasse Fungi imperfecti	9



KLASSIFISERINGSSKJEMA FOR FUNGI.

FUNGI.

Av dei klassene vi skal ta med her representerer Phycomycetes det nedste steget i den fylogenetiske utviklinga. Phycomycetes samler algeliknende sopper som er eincella. Hyfevevet er altså samensett av ei eineste celle. Denne cella kan vere ugreina eller meir eller mindre sterkt forgreina.

Den videre systematiske ordninga av Phycomycetes skjer ved deling i underklassene Oomycetes og Zygomycetes.

Namnet Phycomycetes tyder algeliknende sopp. Dei første meir inngående studiene av Phycomycetes kom i siste halvdelen av 1800-talet. Forskerne fann då ut at nokre av dei kunne minne om visse grøne alger. Av den grunn fekk soppene i denne klassen namnet Phycomycetes. Det blei postulert ein teori om at desse soppene hadde utvikla seg frå grøne alger. Denne teorien fekk altfor stor popularitet i altfor lang tid. Det er ingen som verkeleg veit når eller på kva måte Phycomycetes har utvikla seg. I denne store gruppa er det omlag 1000 arter fordelt på 235 slekter. Omlag halvparten av denne slektene har bare ein art.

Som nemnt er Phycomycetes m.a. karakterisert ved at mycelet ikkje har delevegger. Heile tallus er den veksende planten er samensett av ei einskild celle. Det må likevel her reknes med nokre unntak. Der cellestrukturen er spesialisert for sporedanning blir det ofte nokre skiljevegger, og i gamal mycel vil det hjå nokre arter kunne finnes delevegger med uregelrette mellomrom. Eit anna kjenneteikn er at dei ukjønna sporene blir laga i sporangier (sporehus). Hjå dei fleste Phycomycetene vil det då vere spesielle hyfer som svell opp i enden. Dei kjerne-
ne som finst i denne del av hyfa, vil formeire seg, og det kjem fram ei mengd eincella sporer. Ein spore kan spire, danne eit heilt vev av mycel slik at det blir synleg for auga, og deretter produsere ein sverme av sporer, alt på under 48 timer.

Phycomycetes lever for det meste i vatn, i fuktig jord og på sukkulente (lat. adj.: saftige) plantedeler. Hjå dei Phycomycetene som lever i vatn har sporene cilier. Dei artene som lever på land, og som altså har sporangiene i fri luft

vil for det meste ha einskildsporer, ovale eller sfæriske celler, som spres gjennom lufta. Sporangiene hjå Phycomycetes er aldri samensette til komplekse frukter slik som tilfellet er med dei ukjønna sporedannende hysene hjå høgre sopper.

I den første underklassen, Oomycetes, der dei kjønna sporene er oosporer, kjem desse sporene fram ved fusjon av eit lite antheridium med eit stort oogonium. Etter frøsing kjem det fram frå ein til fleire oosporer inne i oogoniet. I underklassen Zygomycetes kjem dei kjønna sporene, zygosporene, fram ved fusjon av gametangier, som begge har same form og storleik. Kvar fusjon resulterer i ein einskild zyospore. Dei kjønna sporene er ikkje så lette å oppdage ute i natura, og i praksis vil dei fleste soppene i klassen Phycomycetes kjennes på dei sporangiene som blir danna aseksuelt, og på sporangiesporene.

Innen Zygomycetes er der to ordener, den eine er/ordenen Mucorales og den andre er ordenen Enteromophthorales. M.o.t. ordenen Mucorales kan det slås fast at ein sopp som har makroskopiske svarte sporangier på lange stilker, nesten alltid høyrer til ordenen Mucorales. Men der er mange avvik frå denne regelen når det gjeld standardmønstret for sporedanning. Det er eit spørsmål om fleire av dei soppene som nå blir kalla Mucorales verkeleg er Phycomycetes eller om dei heller skulle føres over til Fungi imperfecti.

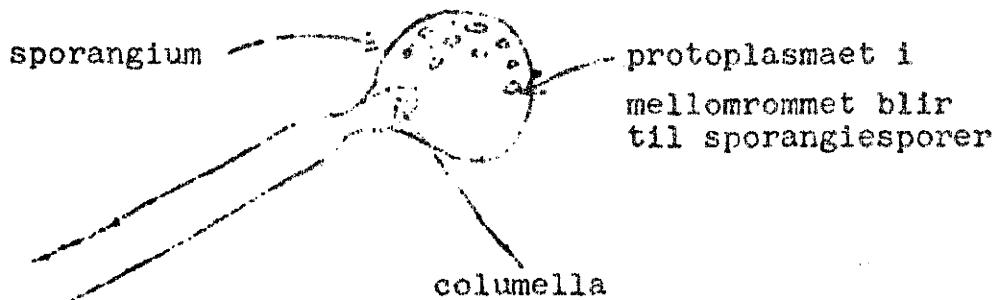
I ordenen Mucorales er der 5 familier som blir skilde frå kvarandre på grunnlag av sporangioforenes og sporangienes struktur. Den mest aktuelle familien er Mucoraceae, og dei vanlegste slekter i denne familien er Mucor og Rhizopus. Når representanter for desse to slektene blir dyrka i petriskåler, vil heile rommet under lokket på kort tid vere fyllt av sopp-hyfer. Rhizopus har utløperer som hefter seg til underlaget, til substratet, med rhizoider. Slike rotliknende organ finn vi ikkje hjå Mucor. Myceliet hjå Mucor er kvitt eller grønkvitt medan sporangiene er kvite, grå eller svarte.

Soppene i desse slektene er både sterke kasein- og sterke feitt-spalterer. Dei er jamnt over til skade både i smør og ost,

bortsett frå at fleire *Mucor*-arter speler ei rolle som mognings-sopp i gamalost og pultost. I desse ostene kan vi finne eit relativt stort innhald av aminosyrer, ammoniakk og valeriansyre. Dr. SØPP konstaterte ein *Mucor*-art i gamalost som han ga namnet *Chlamydomucor casei*. Denne skulle på mange måter stå *Mucor corticulus* nær.

I sitt arbeid over mikrofloraen i gamalost peiker FUNDER på at arter av *Mucor*-slekta (ved sida av *Penicillium*) er dei verkelege mogningsorganismene i denne ostesorten. FUNDER nemner *Mucor*-artene *Mucor racemosus* og *Mucor mucedo* ved sida av *Rhizopus nigricans*. Elles hevder DORNER at både *Mucor mucedo* og *Rhizopus nigricans* er årsak til ein spesiell feil i Mamembert-ost.

Det er nemnt at *Mucor racemosus* og *Mucor mucedo* ofte fins i gamalost, men ein finn også svært ofte at *Chlamydomucor casei* blir nemnt ved sida av *Mucor mucedo*. Elles er både *Mucor racemosus* og *Chlamydomucor casei* så nærstående at dei faktisk kan sjås på under eitt. Begge produserer rikelege mengder chlamydosporer (som altså er eit spesielt slag thallosporer). Men som alt nemnt er sporangiene verkeleg typiske for *Mucor mucedo* og forsåvidt også for *Rhizopus nigricans*.



Ved sida av dei nemnde tilhøva, som er typiske ved aerob dyrking, må det også nemnes at ved dyrking av sopp frå familien *Mucoraceae* under anaerobe tilhøve f.eks. på vørter, vil det ofte kome fram kulegjær idet hyfegreinene blir omdanpa til eit knoppmycel med korte ledd.

Samlenamnet på dei høgere soppene er Mycomycetes. Her er dei fleste av dei slektene som er viktige i meieribruket. Av dei tri klassene Ascomycetes, Basidiomycetes og Fungi imperfecti samler Basidiomycetes sørleg dei vanlege høgtstående hattsgoppene som vi kjenner frå natura. Mellom lågere Basidiomycetes fins også brann- og rustsopp. I det fylgjende blir det lagt vekt på slekter av klassene Ascomycetes og Fungi imperfecti - ufullstendigeopper. Denne siste klassen reknes av dei fleste soppforskerne som ei eiga undergruppe av Ascomycetes. Men då Fungi imperfecti i dei ulike system for sopklassifikasjon ofte føres opp som eigen klasse, blir det same gjort her.

Ascomycetes.

Alle Ascomycetes-artene lager ascosporer, og kvar eineste sopp som lager ascosporer er ein Ascomycetes-art. Med unntak av gjær og ein del nærskylde organismer har dei fleste soppene i klassen Ascomycetes eit vel utvikla og regulært oppdelt mycel. Men Ascomycetes kan ikkje kjennes att bare på myclet. Dei fleste Ascomycetes-artene produserer ukjønna sporer, konidiesporer, enten i avgrensa fruktlekamer eller på spesielle greiner som er spreidde utover myclet. Seksuell reproduksjon skjer ved hjelp av ascosporer i asci. Ein typisk ascus er ei lang sylinderisk eller klubbeforma celle som i mogen tilstand inneheld frå 1 til 8 ascosporer. Ascosporene varierer i form frå lange, trådliknende til ovale eller sfæriske celler. Mange av ascomycetane skyt ut eller haster ut ascosporene, ofte i synlege skyer. Dette letter luftspreiinga av sporene. Mange av dei ascomycetene som treng til insekt-spreiing har ikkje slike utskytingsmekanismer. Dei som blir spreidde ved hjelp av insekter vil ha ascosporene inne i eit avgrensa fruktorgan med åpning på toppen. Når frukta er mogen, vil veggene i asciene løyse seg opp eller bli dekomponert til ei seig, tjukk væske. Når denne væska absorberer vatn, svell den opp og sporene kjem nå ut, innballa i eit gelatinøst lag som lett fester seg til insekt og andre dyr. Hjå dei fleste Ascomycetes-artene er asciene og dei nærliggande cellene slutta sammen i strukturer som kalles fruktlekamer. Desse varierer i storleik frå mikroskopiske til fleire cm i diameter.

I litteraturen er det skreve og meldt om omlag 40 000 arter innen denne klassen. Men det er på langt nær så mange arter som er approbert i den systematiske mykologien. Då må vi redusere talet til omlag 12 000.

Ascomycetes er mest utbreidd på land. Ascomycetes deles i to underklasser:

Hemiascomycetes og
Euascomycetes

Hjå Hemiascomycetes ligg asciene einskildvis eller spreidde ut-over mycelet, altså ikkje som aggregasjonar i fruktlekamer. Euascomycetes (verkelege Ascomycetes) har alle sine ascis som aggregasjonar i fruktlekamer. Nokre av dei ascomycetene som heitt regelrett produserer konidier, men sjeldnere ascosporer, er ofte klassifisert under Fungi imperfecti. Ja, det hender til og med at slike Ascomycetes-arter klassifiseres både i Ascomycetes og i klassen Fungi imperfecti. Dette kan skape ugreie og rot, men det er eit uttrykk for dei uvisse og irregulære tilhøve som soppene sjølv viser. Når ein bare blir merksam på at visse sopper kan bli klassifisert enten i den eine eller i begge av to ulike klasser, så fell det ikkje så vanskeleg lenger.

Hemiascomycetes. I denne underklassen er ordenen Endomycetales av størst interesse. Det som er karakteristisk for denne ordenen er at asciene kjem fram direkte etter fusjon av to vegetative celler. I ordenen fins tri familier, og ein av desse er av særleg interesse: Saccharomycetaceae. Denne familien omfatter dei typiske gjærartene. Gjær veks ved knoppskyting. Nokre få av gjærcellene har eit lite mycel. Gjær er svært vanleg og fins så å seie overalt i jord, i råtnende plantedelar og på levende planter, i blomster, på frukter og frø, og både på og inne i ein del dyr.

Saccharomyces cerevisiae er den vanlege bake- og bryggegjæren, altså ein av dei viktigste økonomiske plantene i den siviliserte verda. Hjå slekta Saccharomyces finns frå ein til fire kuleforma eller glatte ascosporer. Samenlikna med mange andre

organismer er Saccharomyces mindre viktig i mjølkebruket. Dei fins bare sporadisk i vanleg mjølk, og sjølv då gjer dei seg lite eller slett ikkje gjeldende. Årsaka er heilt enkelt at saccharomycetene sjeldan kan forgjære laktose. Mjølka er såleis ikkje noko godt substrat. Sjølv om dei ikkje spalter laktosen, kan dei i ein viss mon utnytte andre deler av mjølka. Livsverksemnda vil i tilfelleinskrenke seg til å gi mjølka ein meir eller mindre merkbar usmak. I røynda er det bare i ymse surmjølkstyper at Saccharomyces-artene gjer seg gjeldende og då i symbiose med ekte mjølkesyrebakterier. Saccharomyces-artene forgjærer dei komponentene som mjølkesyrebakteriene spalter laktosen i, nemleg glukose og/eller galaktose. Men ofte er det slik at mjølkesyrebakteriene sjølve er raskare enn gjær-artene med å forgjære heksosene. Derfor blir det bare ein liten/attende til gjæren, og av den grunn blir også gjæringsprodukta etanol og kolsyre bare produsert i relativt små mengder, sjeldan meir enn ein halv, høgst ein prosent alkohol.

Ifylgje SOPP finns to Saccharomyces-arter i tettemjølk. Den eine er ein større type: Saccharomyces major tette og den andre ein mindre type Saccharomyces minor tette. Den førstnemnde lager 2-4 sporer i kvar celle, den andre er vanskelegere å få til å sporulere. Også i kefir (eller yoghurt) finns gjærarter. Ein därleg syrevekker som bruser, vil gjerne vere infisert med ekte gjær.

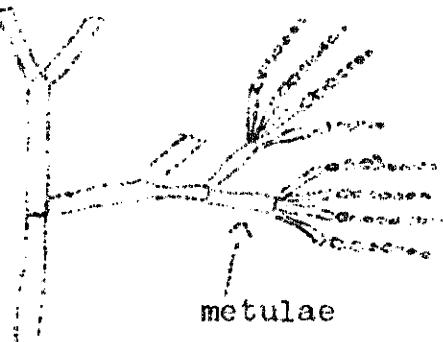
Idet det vises til det som er nemnt om at ein og same art faktisk kan bli førd opp under to heilt ulike hovedgrupper, to vidt forskjellige klasser, nemnes her Saccharomyces lactis som den perfekte forma av Torulopsis sphaerica. Saccharomyces lactis er isolert frå mjølk og mjølkeprodukt, mellom anna frå yoghurt. Frå ei granskning av 5 ulike stammer er det meldt om at 2 av stammene fra Saccharomyces lactis kunne danne ascosporer. Det blir ikkje rekna for å vere heilt lett å få denne arten til å produsere sporer. Av den grunn også namnet Torulopsis sphaerica som altså reknes til Fungi imperfecti.

Innenfor underklassen Euascomycetes finns ordenen Eurotiales. Frukta her er eit attlate peritheciumpsom varierer i storleik

frå mikroskopisk til 2-3 cm i diameter. Ascene står ikkje regulaert inne i fruktlekamen, men fyller ut rommet enten heilt eller som lause lommer. Familien Eurotiaceae omfatter både Aspergillus- og Penicillium-slektene.

Aspergillus har ugreina konidiebærer som kjem fram frå ei utsveit hyfecelle, den såkalla basalcella. På denne måten skil Aspergillus seg frå Penicillium idet Penicillium ikkje har slik basalcelle. Dei ymse Aspergillus-artene vil gi ulike farger slik at det tales om svarte, kvite, grøne, brune og gule arter. Ascene er samla i peritecium som etter ei viss mogningstid sprett opp slik at ascene blir frie. I sukra, kondensert mjølk er det av og til funne såkalla "knatter" og i fleire tilfelle har desse si årsak i vokster av Aspergillus repens eller Aspergillus glaucus repens. Elles må det merkes at mugg ^{veks}eller langsamt i bokser med sukra kondensert mjølk, sjølv ved favorable temperaturer. Årsaka er sannsynlegvis at oksygenmengda er avgrensa.

Penicillium er ei sopp slekt som er spreidd utover så å seie heile jorda. I denne slekta er det mange arter som skil seg frå kvarandre, dels i form og farge på konidiebærerne, på sterigmene og likeeins når det gjeld sjølve konidiene. Konidiebærerne, konidioforene, veks ut frå vanlege celler i mycelet. Dei har greinete spisser og kvar grain kan bære fleire metulae.



På kvar metula er det kranstilte sterigmar, og på desse vil det i basipetal rekkefylgje oppstå konidier i kortere eller lengre kjeder. Heile dette forgreiningssystemet kalles Penicilllus eller pensel.

Soppene fins ofte i mjølk, men det er først etter lengre tid at det kan bli noko endring i mjølka. Penicillium-artene vil i

større eller mindre grad influere på alle mjølkekompontene, men det er bare i meieriproducta at dei gjer seg gjeldende, dels som skadelege, dels som nyttige mikroorganismer.

Den absolutt vanlegste arten er Penicillium glaucum Link eller vanleg grønmugg. Den fins over alt i støv og på mange fôrstoff, og den er karakteristisk ved sine glatte, kulerunde og mørkegrøne konidier, 2,5-4 i diameter. Eit vokslag utenpå gjer at konidiene flyt på vatn. Dette har vore årsak til vansker ved pasteurisering i åpne kar. Den veks over eit stort temperatur-interval og har kraftig vokster ennå ved 0°. Den er i alle deler skadeleg ikkje minst ved at den er ein sterk feittspalter, og den vil alltid gi ei karakteristisk mugglukt. Penicillium glaucum er rikelig utstyrt med peoteolytiske enzym. Penicillium glaucum er eit samlenamn som omfatter ei heil rad av ulike former som f.eks. P. expansum

P. italicum

P. digitatum

Penicillium roqueforti er på ingen måte så utbreidd som Penicillium glaucum. Penicillium roqueforti er som regel kome fram gjennom ei medveten eller tilfelleg reindyrking. Den skil seg frå Penicillium glaucum ved at konidiebærerne er mindre greina, og konidiene er blågrøne på farge. Av den grunn blir den ofte kalla blåmugg. Konidiene er noko større en hjå P. glaucum. Ved kaseinspalting leverer den større mengder aminosyrer, men feittspaltinga er lett. Den likvifiserer ikkje gelatin og gir ikkje mugglukt. Den veks i pH-intervallet 2 - 8 og har optimum ved pH 4.

Penicillium camemberti har liknende fysiologiske eigenskaper som Penicillium roqueforti. På gelatinplater vil Penicillium camemberti danne vakre fløyelsliknende, snøkvite kolonier. Når konidiedanninga tar til midt i kolonien blir den svakt blågrøn. Konidiebærerne er ca 500-600 lange, septerte hyfer, som bare har få sterigmer. På desse deles det av lange kjeder av konidier. Konidiene er frå først av sylinderiske eller ellipsoide, seinare blir dei kuleforma. Konidiene har glatt overflate og synes blågrøne gjennom fallende lys (4,5 - 5,5-6 i diameter). På undersida av koloniene blir gelatinen lysegul. Penicillium candidum har kvitt mycel og kvite komidier (candidus = den strålende).

Penicillium camemberti og Penicillium candidum likvifiserer gelatinen langt og bryt også ned kaseinet. Dei blir i reinkulturer nytta til mogning av Camembert, Brie og Neuchâtel-ost. (Eit anna namn på Penicillium candidum er Penicillium caseicolum).

Elles er det ei heil rad av Penicillium-arter såleis m.a. Penicillium casei som skal kunne øydeleggje ost ved at den framkaller brune flekker. Den er observert på Emmentalost. Penicillium brevicaule er eit følsomt biologisk reagens på arsenikk. Denne blir då dyrka på potetmos sammen med det materialet som skal granskas på innhold av arsenikk. Ved nærvær av det minste spor av arsenikk vil soppen utvikle ei lukt av etylacodykoksyd som minner om kvitløk. Denne arten er m.a. funnen på Gruyère-ost der den har vore skadeleg med rødfargning av skorpa under mycelet. Den vil dessuten gi osten lukt og smak av kvitløk idet det fins spor av arsen i mjølka og dermed i ostene.

Penicillium notatum er særleg kjent avdi den produserer store mengder av eit bakteriostatisk stoff som vi må kaller penicillin. Penicillinet som verker på ei heil rad sjukdomsbakterier er funne etter at FLEMING i 1928 påviste denne eigenskapen hjå Penicillium notatum. Ei industriell framstilling av penicillin tok til i året 1940. Penicillium notatum blir framleis nytta til framstilling av penicillin, men det har vore utført eit stort arbeid for å prøve å få fram mutasjoner som kan gi særleg gode stammer. Penicillin og penicillin-liknende stoff kan også bli framstilt frå andre muggsopper som hører såvel til slekta Penicillium som til andre soppeslekter.

Fungi imperfecti.

Dei muggsoppene som er av interesse i samband med mjølk og mjølkeprodukt er representert i fleire undergrupper av klassen Fungi imperfecti.

Geotrichum candidum LINK er best kjend som mjølkemugg. Den danner eit kvitt filtliknende mycel som er samensett av temmeleg kraftige, 6-12 my breie, sppterte, greina eller ugreina hyfer.

Formeiringsorgana er vanlegvis oldier som kjem fram ved at hyfene fell frå kvarandre. Desse oldiene er sylinderiske eller eggforma med avrunda ender. Dei er 60-80 my lange og 4-6 my breie.

Spiring av oldiene skjer ved at det veks ut ein hyfedel nesten rettvinkla på oldiens lengdeakse. Det veks så ut eit mycel som på eit tidleg stadium tar til å danne nye oldier. Etter ei tid kjem det fram siksak-kjeder. Av denne grunn vil kolonier som kjem fram på vørter-gelatin danne radiære og konsentriske mønster. Geotrichum candidum kjem inn i mjølka med støv og gjødselpartikler og vil først vekse ut til kolonier når mjølka har stått i fleire dager. Soppen veks ved temperaturer ned til $\frac{1}{2}^{\circ}$, men trivs best ved 20° og vil vanskeleg vekse over 37° . Som andre muggsopper liker den best surt miljø.

Geotrichum candidum vil i reinkultur i mjølk forgjære laktose, men den mjølkesyra som produseres vil etter kvart fortærskes. Samtidig går det ut over kaseinet som blir avbyggt til aminosyrer, ammoniakk og lågere feittsyrer. Soppen trivs godt sammen med mjølkesyrebakteriene idet den utnytter mjølkesyra, og så lenge den forgjærer laktose og reaksjonen er sur vil ikkje proteinspaltinga få noko større omfang, det er først når all laktosen er oppbrukt at proteinpaltinga set inn. Geotrichum candidum er ein kraftig feittspalter, feittet blir hydrolysert, men dei frigjorde syrene blir ikkje oksydert. Dei vil stort sett bli bundne av den ammoniakken som kjem fram ved kaseinspalting, og den harske smaken som kunne ventes blir dermed avdempa.

Geotrichum candidum fins i mange varieteter. Desse varietetene kan vise ulikskaper når det gjeld fysiologiske verknader og vil vere særleg viktige når det gjeld soppens skadeverknader i smør og ost.

Det har vore peika på at Geotrichum candidum i ymse tilfelle kan kome inn og verke med ved mogning av blaute oster, f. eks. Camembert-ost.

Geotrichum aurantiacum vil, som namnet tyder, ha ein rustrød vegetasjon som av og til fins på ost, særleg på roquefortost.

Geotrichum crustacea likner sterkt på Geotrichum auranticum. Den veks i røde, mjølaktige lag på ostene.

Torulopsis Berlese er ei slekt som ofte blir kalla Torula. Torulus er latinsk for kjede. Ofte blir desse mikrobene kalla uekte gjær (Pseudosaccharomyces). Det er nært slektskap mellom ekte gjær og Torulopsis, men Turolopsis sporulerer ikkje og er sjeldent alkoholprodusent. Hjå Torulopsis finns ikkje mycel, bare ved ein skilde tilfelle kan det bli tale om eit primitivt pseudomycel. I eldre seller er det alltid ein eller fleire oljedraper. Celleveggen er ofte slimet, noko som har gitt fleire arter i denne slekta namnet slimgjær. Slimproduksjonen preger også koloniene som svelv opp over substratet som blanke, slimete kvelvinger. I slekta Torulopsis kan vi finne runde, eliptiske eller citronforma knoppceller eller knoppcellene kan vere meir avlange. Dei finns i jord, på planter og i gjødsel, og med støvet kjem dei over i mjølka, oftere om sommeren enn om vinteren.

Torulopsis-artene vil utvikle seg raskt på dei vanlege faste næringssubstrata. Dei veks sjøl ved $2-5^{\circ}$, best ved $30-40^{\circ}$ og tåler ikkje oppvarming til 55 til 60° . Dei vil gjerne ha sur reaksjon og kan tåle opptil 2,5 % mjølkesyre. Dei veks også i alkalisk miljø, rett nok med sterkt nedsett vitalitet. Sjølv om dei liker seg best ved sterke lufttilgang kan dei også utvikle seg når lufta er borte. Vekstformene i stikk-kulturer i næringssubstrat medog uten sukker kan vere karakteristiske for mange arter. Dei tåler ofte store saltkonsentrasjoner, heilt opp til 20 %.

Bare ein mindre del av Torulopsis-artene vil forgjære laktose og då særleg til mjølkesyre, men ein skilde arter også til alkohol og kolsyre. Ingen produserer så mykje mjølkesyre at det blir syrekoagulasjon av mjølka, sjøl om mikrobene i og for seg kan tåle ein høg mjølkesyrekoncentrasjon. Torulopsis-artene spalter også kasein, men det er ein langsam og ikkje særleg djuptgående prosess. Som ei følge av moderat proteolyse og syreproduksjon kan mjølka til slutt koagulere. Mange arter, men slett ikkje alle, har også evne til feittspalting, og denne

evna er særleg markant hjå dei artene som ikkje forgjører laktose. Dei utnytter då feittet som kolstoffkjelde. Bortsett frå surmjølksdrikker der det er gjæring vil desse mikrobene elles bare påverke mjølka ved å gi smak og luktnyanse uten at mjølka sjølv blir synleg endra. Men dei er slett ikkje velkomne korkje i syrevekkeler, i smør eller i ost. Samen med mjølkesyrebakteriene vil dei aksellerere lipolyse og proteolyse, og dette kan føre til alvorlege smørfeil. I blaute oster fins dei i store mengder på skorpa.

Torulopsis kephir (Beijerinck) Lodder , har ovale eller langstrakte celler som veks samen i korte kjeder. Desse kjedene ser ut til å kveile seg opp noko. Torulopsis kephir blei isolert av BEIJERINCK i 1898 frå kefirkorn. (BEIJERINCK ga den namnet Saccharomyces kefyr).

Torulopsis sphaerica (Hammer og Cordes) Lodder som også fins i mjølkeprodukt, har nesten kuleforma celler som fins áleine eller parvis.

Torulopsis globosa Olsen og Hammer har runde til ovale celler. Den er sakkarofil og kan såleis trives i sukra kondensmjølk. I bokser med denne vara kan den vere årsak til bulking (bombasje).

Torulopsis utilis (Henneberg) Lodder nemnes her fordi den blir nytta til framstilling av fôrgjær. Den får då vekse under kraftig utlufting på billeg sukkermaterial som melasse, sulfittut, sukker frå tre, myse o.l. som har fått tilsetjinger av ammoniumsulfat. Cellene til denne gjærtypen er gjennomgående små. Det gjer det vanskeleg å separere frå gjørcellene. Imidlertid blei det vist av BAUCH i 1942 at kamfer verka til å gi store celler på grunn av at kromosomtalet auka ved kamfer-påverknad. Med omsyn til næringsverdet av fôr-gjær er det hevda at den inneheld mange vitamin av B-komplekset (særleg nikotinamid) og dessuten visse mineralsalt og protein. Men i gjæren er det bare få aminosyrer som inneheld svovel, og dessuten har den høgt purininnhald. Det skulle derfor ikkje vere bra å nytte denne gjæren som eineste proteinkjelde, men som eit supplement av stort verde.

Rhodotorula Harrison er ei slekt av asporogene, gjør liknende organismer som bare formeirer seg ved knoppskyting. Organismene her har korkje mycel eller pseudomycel. Videre er det særlig karakteristisk for denne slekta at alle artene inneholder eit rødt eller gult karotinoid pigment som er uløyselig i vatn, men løyselig i kloroform og karbondisulfid. Pigmentet krystalliserer i vakre, røde krystaller som gir ein blå farge med konsentrert svovelsyre.

Ingen Rhodotorula-art kan vere årsak til gjæring. Glukose og dei andre sukkerartene blir likevel assimilert av dei fleste artene.

Representantene for Rhodotorula ("rosagjær") er vanlege i natura, og dei infiserer ofte næringsmidler og liknende. Dei røde koloniene vil omrent alltid vere representert i den floraen som veks fram på vørteragar-plater etter luftekspionering (luftanalyse).

Nokre av Rhodotorula-artene er patogene for menneske og dyr.

Fleire arter inneheld feitt. Av den grunn er det gjort forsøk på å utnytte Rhodotorula-arter til såkalla "biologisk feittsyntese".

Mycoderma Persson sann Leberle har den spesielle eigenskapen at alle artene vil danne ei tørr, matt luftfyld hinne på substrat som inneheld sukker eller litt alkohol. Cellene er sylinderiske eller ovale og inneheld 3-4 vakuoler og 1-3 lysbrytende korn. Cellene veks i små kjeder og kan av og til syne eit primitivt pseudomycel. Omlag annakvar celle er luftfyld. Dette gjer at organismene flyt lett på næringsvæska. Dette høver særleg godt for deim då dei er sterkt aerohe. Den hinna dei danner er rynket. Mycoderma-artene er ikkje i stand til å framkalte alkoholisk gjæring, og av sukkerartene kan den bare omsetje glukose, fruktose og mannose. Dei fortærer etanol og omset den til karbondicksyd og vatn eller eddiksyre. Dei kan også omsetje organiske syrer som f.eks. mjølkesyre.

Mycoderma-artene spalter kasein både sterkt og djupt, og det er mogeleg at dei også tar del i feittspaltinga. Det er ulike

meininger om dette, og det kan tenkjes at dei bare godgjer seg med den glyserolen som andre mikroorganismer har fått fram gjennom feittspalting. Mycoderma-artene trivs i allfall uvanleg godt på næringssubstrat som inneholder glyserol. I mjølka gjer dei seg lite gjeldende. Det er først når mjølka er blitt gammal og sur at dei kjem til utvikling. Dei kjennes igjen ved at dei på sur myse veks ut til ei sterk overflatehinne. Dei kjem fram på naturløype og hjelper dermed til å skaffe særleg gode vilkår for dei anaerobe stavforma mjølkesyrebakteriene. Dei artene vi finn i meieribruket er ikkje alt for vel karakteriserte, men går stort sett under namna Mycoderma casei og Mycoderma lactis. Nokre av desse formene inneholder i allfall lipase og kan såleis vere årsak til harsk smak i smør. Andre vegeterer på overflata av ost der dei omset mjølkesyra ytterst mot skorpa. På den måten stig pH-verdet i dei ytre laga avosten og det blir skapt livsvilkår for forråtningsbakterier. For dei fleste ostene vil Mycoderma-artene vere skadelege, men i visse tilfelle ser ein på Mycoderma-artenen som nyttige, særleg ved mogning frå skorpa og innover i visse såkalla "apetittoster".

Monilia-artene er overgangsformer mellom gjær og dei høgre hyfedannende muggsoppene. Dei er ikkje vanlege i mjølk, men er konstante komponenter i mikrofloraen i tettemjølk. Ved forgjæring av laktosen kan dei sannsynligvis vere opphavet til ein del av den alkohol og karbondioksyd som fins i tettemjølka.

Slekta Dematium står Monilia nær.

Cladosporium er ei sopp slekt som danner eit mycel der det veks ut formeiringshyfer med konidier. Desse kan vere kvite, brune, svarte eller grøne. Cladosporium herbarum er vanleg på høy og halm som mugner, dessuten fins den ikkje så sjeldan på veggjar og under taket i fuktige meierirom. Først blir den olivengrøn, seinare brun og til slutt heilt svart (Tøy kan bli jordslått). Dette har si årsak i ein Cladosporium-art.)

Cladosporium butyri vil på myse-pepton-gelatin gi kolonier som lenge er kvite, seinare gulgrøne og til slutt brungrøne. Begge dei nemnde artene vil likvifisere gelatin, fortære laktosen og spalte kaseinet til aminosyrer og ammoniakk. Cladosporium herbarum er ein heller moderat feittspalter, Cladosporium butyri

spalter feittet i høgre grad. Dei veks begge best ved låge temperaturer og tåler ikkje oppvarming til 60°. I mjølka kjem dei ikkje noko større fram, men på smør og ost kan dei utvikle seg raskt og gjer då bare skade.