

102de Beretning

fra

Forsøgslaboratoriet.

**Fortsatte Undersøgelser over Fremstillingen af
Syrevækkere.**

Ved

Prof. V. Storch.

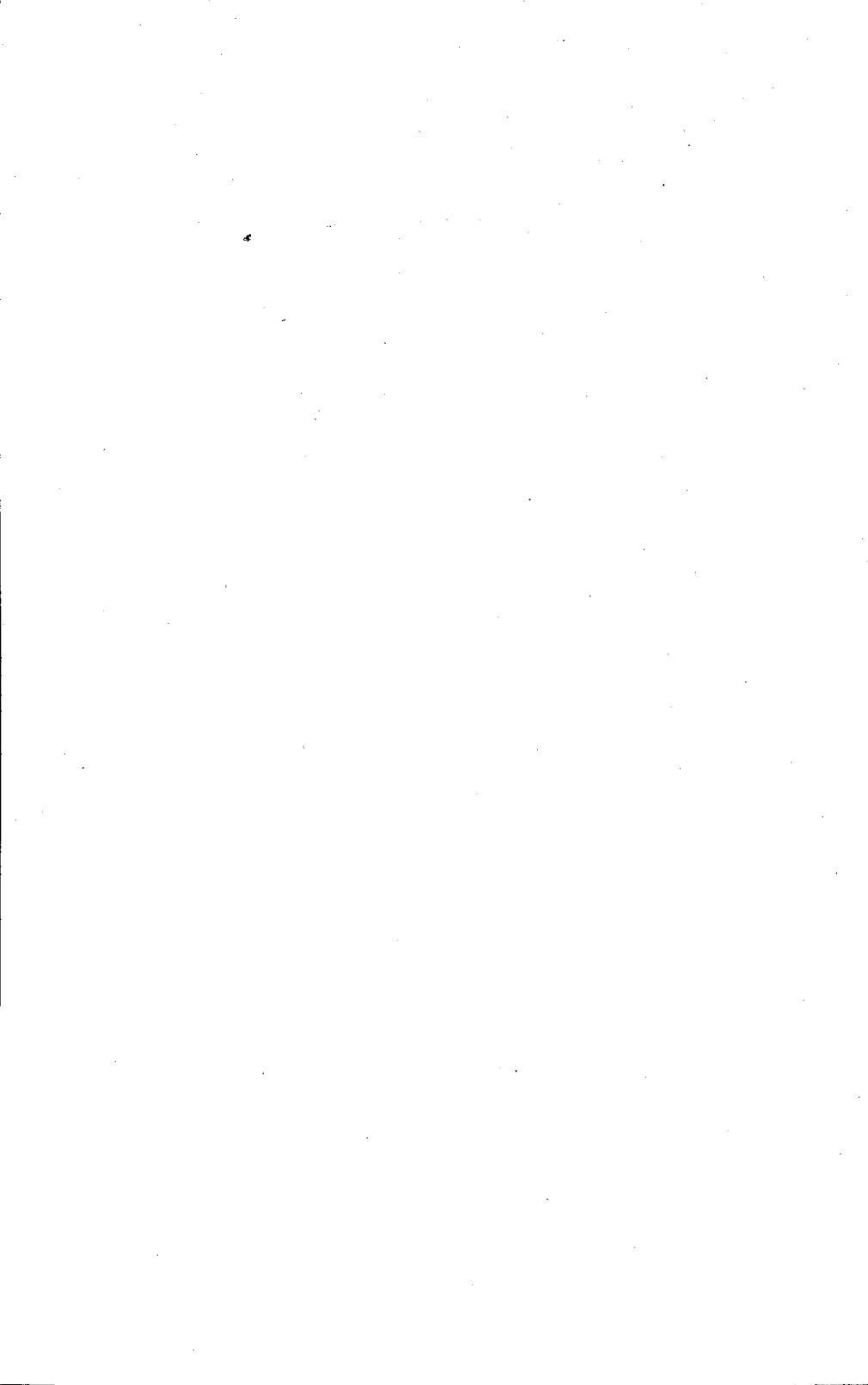
Udgivet af den Kgl. Veterinær- og Landbohøjskoles
Laboratorium for landøkonomiske Forsøg.

København.

I Kommission hos Aug. Bang.

Trykt hos J. H. Schultz A/S.

1919.



Indhold.

	Side
Forord	5
Indledning'.....	7
Eldre Forsøg:	
I. Forsøg med Blandingskulturer af rendyrkede Mælkesyre- bakterier.....	11
II. Bakteriologiske Undersøgelser af en god, naturlig Syrevækker	14
III. Undersøgelser over Bakterielivet i Mælk under dens Selvsyrning	24
IV. Forsøg med Anvendelse af anaërob Dyrkning til Rensning af Syrevækkere	27
V. Forsøg med Fremstilling af Syrevækkere ved Mælkens Selv- syrning under anaërobe Forhold.....	34
VI. Kærningsforsøg med Fløde, syrnnet med Syrevækkere, frem- stillet ved Mælkens Selvsyrning i Krarups Kulturapparat...	45
Nye Forsøg over Syrevækkerspørgsmaalets rationelle Løsning:	
1. Fundet af x-Bakterierne og Forsøg med disse	49
2. Er Syrevækkerens Godhed uafhængig af, hvilke Sorter x-Bakterier der benyttes.....	53
3. Forskellige Forhold af Betydning for Dyrkningen af x-Bak- terier sammen med Mælkesyrebakterier	59
4. Forholdet mellem Antallet af x-Bakterier og Mælkesyre- bakterier i gode Blandingskulturer af disse.....	67
5. Indeholder Mejerisyrene altid x-Bakterier?.....	70
6. Nærmere Beskrivelse af x-Bakterierne og deres Syreproduktion	74
7. Fremgangsmaaden ved de anvendte kemiske Metoder.....	91
8. Forsøg i Mejerierne med Anvendelsen af Syrer, indehol- dende x-Bakterier.....	94
Resumé	115

Forord.

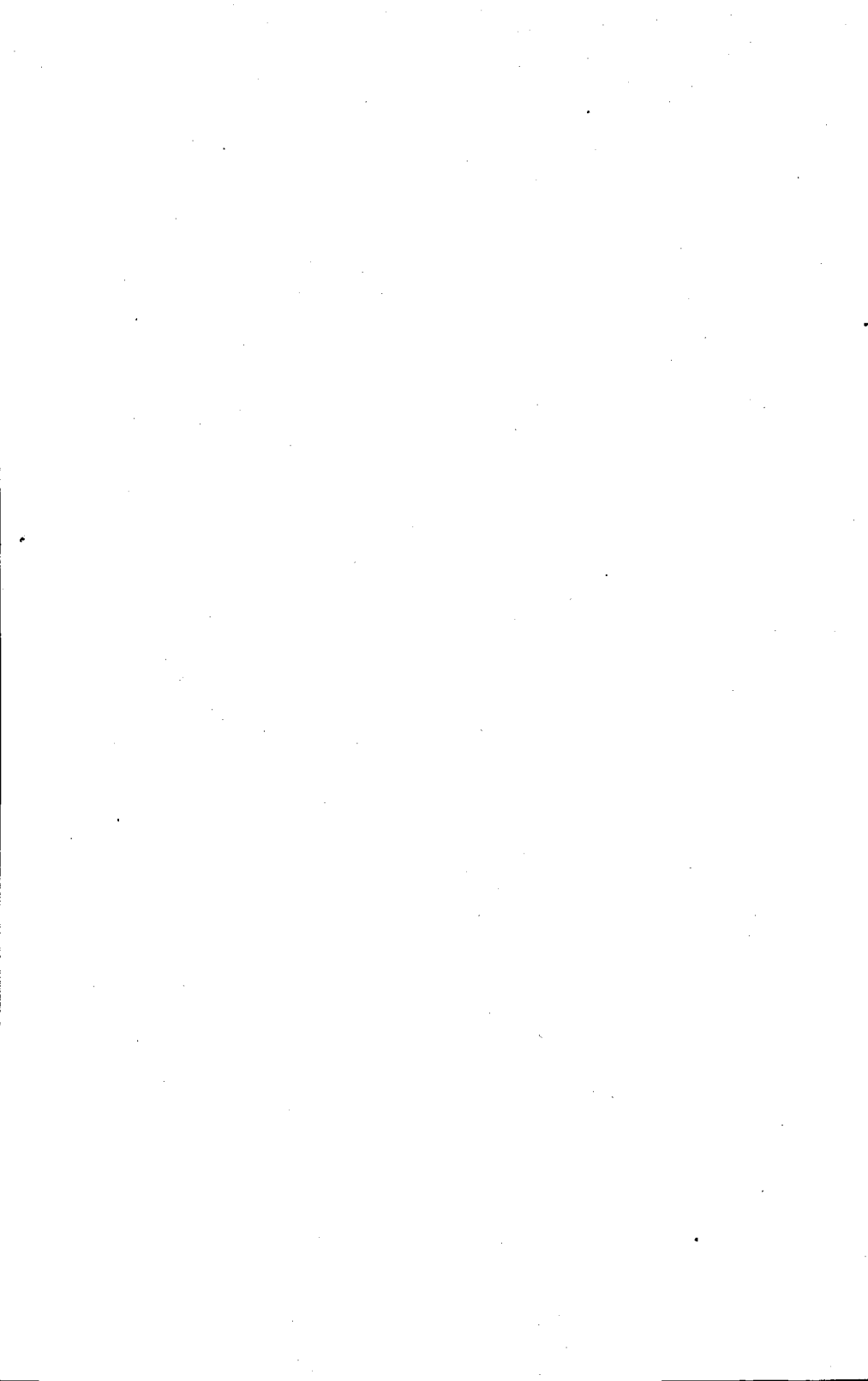
Hermed udsendes Laboratoriets 102 Beretning, omfattende en Redegørelse for de vigtigste af Professor M. V. S. Storchs Arbejder og Undersøgelser over Syrevækkerspørgsmaalet, saaledes som disse i det væsentligste forelaa ved hans Død, der indtraf 1. August 1918. Manuskriptet til Beretningen var for en stor Del færdigt fra Prof. Storchs Haand; hvor dette ikke var Tilfældet, er det efter et af Prof. Storch udtalt Ønske bleven udarbejdet færdigt af Assistent A. V. Krarup og undertegnede; dog maa bemærkes, at det reelle Indhold og Beretningens hele Form er bleven bibeholdt. Det er i alt væsentlig kun en redaktionel Bearbejdelse, der har fundet Sted, idet Formaalet selvfølgelig har været i videst mulig Grad at lade Beretningen fremtræde i den Skikkelse, Prof. Storch havde tiltænkt den.

Arbejderne ude i Mejerierne er udført af Assistent Ibsen og forhenværende Assistent, nuværende Mejeribestyrer R. Rasmussen, og de har fundet Sted paa Mejerierne Hedelykke, Fuglede og Stubbekjøbing, hvis Bestyrere eller Ejere S. Pedersen, N. Christoffersen og R. Nielsen Laboratoriet herved bringer sin Tak for den Støtte, de har været for Forsøgene.

Forsøgslaboratoriet.

Oktober 1919.

N. O. Hofman-Bang.



Indledning.

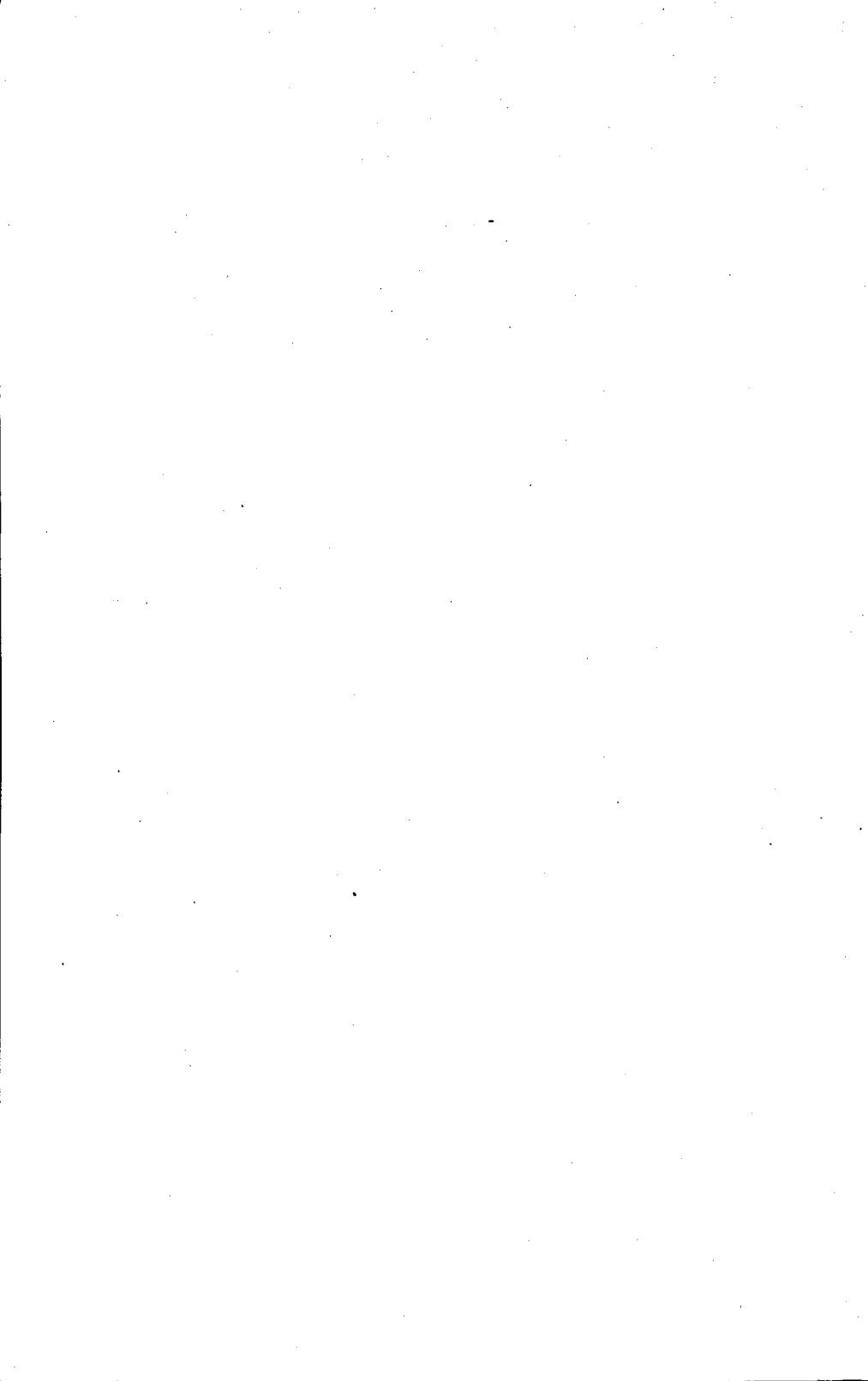
De Forsøg og Undersøgelser, denne Beretning omhandler, maa nærmest betragtes som en Fortsættelse af de i Forsøgs-laboratoriets 18. Beretning (fra 1890) beskrevne Undersøgelser over Flødens Syrning, der gik ud paa at skaffe Oplysning dels om de i denne Syrningsproces virksomme Bakterier, dels om Kilden til visse Fejl ved Smørrets Lugt og Smag og endelig, om det var muligt, ved Hjælp af Kulturer af udvalgte og rendyrkede Mælkesyrebakterier i Forbindelse med en forudgaaende Pasteurisering af Fløden at faa denne syrnet saa fuldstændig og godt, at Smørret, der blev fremstillet af saadan Fløde, besad en ligesaa god Beskaffenhed som det bedste Smør, Mejerierne paa den Tid formaaede at fremstille.

Som det vil erindres, lykkedes det ved nævnte Forsøg at isolere navnlig fra velsyrnet Fløde visse Mælkesyrebakterier, hvis Renkulturer besad Evne til at syrne og sammenløbe Mælk og Fløde ligesaa hurtigt og fuldkomment, som det i Mejerierne opnaaedes ved Hjælp af sur Kærnemælk eller selvsyrnet Mælk; og mellem de isolerede og rendyrkede Mælkesyrebakterier fandtes tilmed én, der desuden besad Evne til at give Fløden en aromatisk Lugt af lignende Beskaffenhed som den, velsyrnet Fløde kan have, og som under dens Kærning gaar over i Smørret. At denne Mælkesyrebakterie, som jeg betegnede med N r. 18, maatte være en af Kilderne til den saa meget efterspurgte Smøraroma, blev godtgjort ved Forsøg; det viste sig nemlig, at Smørret fra pasteuriseret Fløde, der var bleven syrnet ved Hjælp af en Renkultur af denne Bakterie, baade med Hensyn til Aroma og Smag stod ret nær paa Højde med det bedste Smør, der blev lavet paa den Tid.

Af Resultaterne fra disse Undersøgelser over Flødens Syrning ansaa jeg det for berettiget at drage den Slutning, at der

i velsyrnet Fløde altid maa findes visse Mælkesyrebakterier, hvis Renkulturer besidder Evne til at syrne og sammenløbe Fløden paa en ligesaa tilfredsstillende Maade som de til Flødens Syrning ude i Mejerierne benyttede bedste Syrevækkere, samt at den behagelige, rene og aromatiske Lugt, velsyrnet Fløde og det deraf kærnedes Smør kan have, for en Del skyldes visse Mælkesyrebakterier, af hvilke det var lykkedes mig at finde og rendyrke én. I ovennævnte Beretning udtalte jeg endvidere, at ifølge min Overbevisning maatte Anvendelsen af visse udvalgte Mælkesyrebakterier til Flødens Syrning ikke blot betragtes som mulig, men jeg ansaa det ogsaa for sandsynligt, at der ad denne Vej kunde findes en mere sikker Løsning af Spørgsmaalet om Flødens rette Syrning end ad den hidtil fulgte Vej. Hvad jeg derimod paa ingen Maade turde fastholde, var, om Renkulturspørgsmaalet paa daværende Tidspunkt var tilstrækkelig modent til at føres ud i Praksis. Jeg betragtede nemlig Resultaterne fra mine dengang offentliggjorte Undersøgelser kun som et første Skridt, der ved at føres videre rimeligvis vilde kunne gøre det muligt for Mejerierne at blive Herre over Flødens Syrningsproces. Det var da ogsaa min Agt at fortsætte disse Undersøgelser over Flødens Syrning, saasnart der blev Tid og Lejlighed dertil, og det er disse fortsatte Forsøg, der findes omhandlede i det følgende. De paabegyndtes i første Halvdel af Halvfemserne, og Grunden til, at de først i den nyeste Tid maa betragtes som afsluttede, er af noget forskellig Art. Det har nemlig i den forløbne lange Aarrække ofte været nødvendigt for mig at afbryde Undersøgelserne, naar min Tid blev beslaglagt af andre Arbejder, som nødvendigvis maatte tages op; men ogsaa andre Omstændigheder har virket hemmende paa Undersøgelsernes Gang. Det har saaledes gentagne Gange vist sig, at den Vej, jeg ved disse Undersøgelser oprindeligt var kommen ind paa og i lang Tid fulgte, ikke førte til det Maal, jeg stilede efter, saa at jeg maatte slaa ind paa nye Veje, som tilfældige Iagttagelser under Arbejdets Udvikling havde aabnet Blikket for. Men selv om der paa denne Maade er bleven anvendt meget Arbejde, som ikke førte til en Løsning af den Opgave, jeg havde stillet mig, er der derved dog indvunden ikke blot større Indsigt, end der hidtil havde, i den bakteriologiske Side af Spørgsmaalet, men ogsaa værdifulde Erfaringer, som er kommen de paafølgende Undersøgelser til ikke ringe Nytte.

Jeg har derfor anset det for rigtigst i det følgende at omtale de fleste af de foretagne Undersøgelser og Forsøg i den indbyrdes Rækkefølge, hvori de er bleven udførte, selv om jeg derved dels kommer til at fremføre Kendsgerninger, der nu (i 1918) maaske nok er vel kendte, og dels skulde fremsætte Anskuelser og Meninger, der allerede maa anses som fastslaaede. Det meget omfattende Laboratoriearbejde — saavel i bakteriologisk som kemisk Henseende — der ligger til Grund for de i denne Beretning omtalte Undersøgelser, er for den allerstørste Parts Vedkommende udført af Assistent cand. pharm. A. V. Krarup, hvem jeg da ogsaa herved bringer min Tak for hans gode og trofaste Medarbejde.



Ældre Forsøg.

I. Forsøg med Blandingskulturer af rendyrkede Mælkesyrebakterier.

Under Forsøg med Kulturer af de af mig isolerede Mælkesyrebakterier, der var omtalt i Laboratoriets 18de Beretning, viste det sig, at nogle af disse Bakterier, selv om de hyppigt blev omsaaet i steriliseret Mælk, efterhaanden tabte saa meget af deres Evne til at koagulere og syrne Mælk, at de efter længere Tids Dyrkning ikke mere egnede sig som Syrevækkere. Dette saa ogsaa ud til at skulle blive Tilfældet med den i ovenfor nævnte Beretning meget omtalte Mælkesyrebakterie Nr. 18. Da denne Bakterie paa Grund af sin Evne til at producere Smøraroma var af stor Interesse, fortsatte jeg Undersøgelserne med den.

Det vil maaske erindres, at Mælkesyrebakterien Nr. 18. for tilstrækkelig hurtigt at kunne udvikle sig i Mælk, krævede en ret betydelig højere Varmegrad (26° — 28° C) end den, der paa den Tid sædvanligst brugtes i Mejerierne til Flødens Syrning. I Modsætning til de andre Mælkesyrebakterier, jeg havde isoleret fra den samme Prøve syrnede Fløde, hvorfra Nr. 18 stammede, udviklede denne sig altid til lange Kæder, medens de andre enten slet ikke dannede Kæder eller i alt Fald kun forholdsvis korte. Mellem disse fandtes én: Nr. 8, som besad stor Evne til hurtigt at sammenløbe Mælk ved almindelig Stuetemperatur, og som tillige formaaede at give Tykmælken baade en rén Smag og en behagelig, men ikke ret stærk Aroma, der tilmed var meget forskellig fra den, der blev dannet af Nr. 18. Jeg besluttede derfor at dyrke dem sammen i det Haab, at det paa denne Maade vilde lykkes mig at danne en god Syrevækker, som besad baade Nr. 18's og Nr. 8's gode Egenskaber. Allerede det første Forsøg af denne Art viste, at disse to Bakterier trivedes godt sammen. Sammenløbningen af Mælken foregik

ved Stuetemperatur meget nær i samme Tid, i hvilken Bakterien Nr. 8 alene formaaede at sammenløbe den, Mælkekoagulet var fuldstændig ensartet og af god Konsistens, og Lugten stod ligesom ogsaa Smagen fuldt paa Højde med, hvad der opnaaedes ved at benytte Bakterien Nr. 18 alene. Ved den mikroskopiske Undersøgelse af den sammenløbne Mælk paavistes da ogsaa store Mængder saavel af Nr. 18's lange Kæder som af den ikke kædedannende Nr. 8.

Da et af Hovedkravene, der maa stilles til en god Syrevækker, er, at den er i Besiddelse af en rén og god kraftig Lugt og Smag, skal jeg først nærmere forklare, hvorledes vi her i Laboratoriet altid har prøvet, om de af os fremstillede Bakteriekulturer har opfyldt dette Krav. Den i steriliseret Mælk dyrkede Kultur blev straks efter Mælkens Sammenløbning anvendt til Syrning af frisk Sødsmælk, der kort forud var bleven pasteuriseret ved 85° C og derefter hurtigt afkølet. Portioner af saadan Mælk paa ca. 250 cm^3 i forud steriliserede brune Glasskaale med løst overfaldende Glaslaag fik hver tilsat ca. 20 cm^3 Mælkekultur. Skaalene henstod derefter i Thermostat ved ca. 20° C til næste Dag, og efter Mælkens fuldstændige Sammenløbning foretoges saa af to af Laboratoriets Assistenters i Forening med mig Bedømmelsen af Tykmælkens Lugt og Smag. Ved Bedømmelsen anvendtes Forsøgslaboratoriets Pointsystem med en Skala fra 0 til 15. I Reglen var de tre Bedømmelser godt overensstemmende. Erfaringen har godtgjort, at Tykmælkens Renhed med Hensyn til Lugt og Smag med stor Skarphed lader sig bedømme paa denne Maade. Denne Undersøgelsesmetode, som i det følgende hyppigt vil blive omtalt, kalder jeg for Kortheds Skyld »Tykmælksprøven«. Da det ude i Mejeridriften hovedsageligt er Lugten og Smagen, en Syre bedømmes efter, idet dens Syrnings- og Koagulationsevne er afhængig af den anvendte Temperatur og Mængden af Syren, saa maa det anses som givet, at Tykmælksprøven er tilstrækkelig til, at man kan danne sig et i alt Fald foreløbigt Skøn over, hvorledes den paagældende Syrevækker vilde stille sig i Praksis.

Ved nu at undersøge Blandingskulturen af Mælkesyrebakterierne Nr. 18 og Nr. 8 ved Hjælp af Tykmælksprøven viste det sig, at denne Bakterieblandning for det første gav en bedre Lugt og Smag end Nr. 18 og Nr. 8 hver for sig og dernæst, at den i saa Henseende forbedrede sig ret betydeligt under fortsat

Dyrkning i steriliseret Mælk, saa at den efter 6 Ugers Dyrkning under daglig Omplantning var bleven endog ualmindelig fin. Da denne Blandingskultur tillige var i Besiddelse af Evnen til i forholdsvis kort Tid at sammenløbe Mælken ved Varmegrader meget lig den, der anvendes i Mejeribruget, var der **altsaa** stor Sandsynlighed for, at den med Fordel maatte kunne anvendes som Syrevækker til Flødens Syrning i Mejerierne. For nu at prøve dette blev der her i Laboratoriet gjort nogle foreløbige Forsøg med at lave Smør af pasteuriseret Fløde, syrnnet med denne Blandingskultur; men disse Forsøg gav ikke noget tilfredsstillende Resultat.

Vi besluttede derfor at søge efter andre Mælkesyrebakterier, der med godt Resultat lod sig dyrke i Fællesskab med Nr. 18. Ifølge tidligere indvundne Erfaringer maatte saadanne Bakterier lettest og sikrest kunne findes i frisksyrnet Fløde fra et Mejeri, der lavede fint og holdbart Smør. Mellem de Mejerier, der paa den Tid, disse Undersøgelser foretoges, sendte Smør til Bedømmelse ved Forsøgslaboratoriets sammenhængende Rækker af Smørudstillinger, var der to Herregaardsmejerier i Vendsyssel — *Lengsholm* og *Knivholt* —, hvis Smør altid var noget af det bedste. I disse to Mejerier udtog da en af Laboratoriets Assistenters Prøver af Fløden paa det Tidspunkt, den var moden til Kærning. De udtagne Prøver afkøledes til 4 à 5° C, og indsendtes dernæst i isafkølede Kasser til Laboratoriet. Her foretoges Spredninger paa Kødpeptongelatine og isoleredes et større Antal Mælkesyrebakterier, af hvilke de 5 bedste benyttedes til en lang Række Tykmælksprøver dels i Renkultur og dels i indbyrdes forskellige Blandingskulturer uden eller med Tilsætning af de ovenfor omtalte Bakterier Nr. 18 og Nr. 8.

Denne Række Undersøgelser skal vi dog ikke komme nærmere ind paa at omtale, men kun fremhæve, at Lugten og Smagen af Tykmælken gennemgaaende var bedre, hvor der anvendtes Blandingskulturer, end hvor der blev anvendt enkelt Bakterieart, samt at den i høj Grad varierede med de forskellige Bakterieblandinger, af hvilke nogle kun gav middelmaadige Resultater, medens andre og da særlig de, hvori Bakterierne Nr. 18 og Nr. 8 var repræsenterede, gav nogenlunde gode Resultater. Med de Erfaringer for Øje, vi havde gjort ved Kærningsforsøg med Fløde, der var syrnnet med en

Blanding af Bakterierne Nr. 18 og Nr. 8, besluttede vi imidlertid at lade foretage Kærningsforsøg med to af de Bakterieblandinger, som ifølge Tykmælksprøven havde vist sig bedst.

Ved Bedømmelsen af Smørret, som blev foretaget 1ste Gang faa Dage efter dets Tilvirkning og 2den Gang 14 Dage senere for saaledes at faa Oplysning om dets Holdbarhed, viste det sig imidlertid, at Blandingskulturerne ved alle de 4 Forsøgsrækker, som blev udført, gav noget daarligere Resultater end de, der blev opnaaet ved at anvende Mejeriernes egen Syre; og videre Forsøg med disse Blandinger blev derfor opgivet.

Da det endvidere ved at arbejde med syrnet Fløde og Kærnemælk fra endnu tre Mejerier, der var bekendt for at lave fint Smør, heller ikke lykkedes at erholde Mælkesyrebakterier med bedre Egenskaber end de tidligere omtalte, maatte Grunden hertil vistnok søges i, at den bakteriologiske Analyse af det Materiale, vi havde valgt som Udgangspunkt, ikke havde været tilstrækkelig udtømmende, hvad enten dette nu skyldtes Næringssubstratet, vi havde benyttet til Spredningerne, eller andre Aarsager. Vi besluttede derfor at foretage nogle mere omfattende Undersøgelser, som skulde gaa ud paa at faa isoleret og rendyrket om ikke alle saa dog et ret betydeligt Antal af de i en god Syrevækker til Stede værende forskellige Arter af Mælkesyrebakterier og derpaa undersøge, om det var muligt enten af nogle af disse eller af dem alle at fremstille Blandingskulturer med samme gode Egenskaber som den oprindelige Syrevækker.

Det er disse bakteriologiske Undersøgelser, jeg nu skal gaa over til at omtale.

II. Bakteriologiske Undersøgelser af en god, naturlig Syrevækker.

Til Udgangspunkt for vort Arbejde med Isoleringen af saa vidt muligt alle i en Syrevækker levende Arter eller Typer af Mælkesyrebakterier valgte vi en Syrevækker fra et Mejeri, der var bekendt for at lave særlig godt Smør. Paa Grund af denne Syrevækkers gode Egenskaber blev den anvendt i flere andre Mejerier, hvor den ogsaa havde givet gode Resultater. Fra denne Syrevækker foretoges Spredninger paa Mælkegela-

tine, og fra den tyndeste af disse, der kun indeholdt 25 Kolonier, blev alle saaet paa lakmustilsat Mælk.

Disse 25 Mælkekulturer blev undersøgt, og alle de, hvor der enten ingen Syredannelse havde fundet Sted, eller ved hvis Lugt og Smag der var Fejl, blev skudt ud. Resultatet var, at vi tilsidst stod med Kulturer af de 16 Mælkesyrebakterier, som nu skal omtales i det følgende.

Det Spørgsmaal, som det først drejede sig om at faa besvaret, var, om disse 16 Kulturer indeholdt 16 forskellige Arter eller Varieteter af Bakterier, eller om flere af dem repræsenterede en og samme Art eller Varietet. Til Besvarelsen heraf blev der udført en lang Række Undersøgelser, hvis Resultater findes sammenstillet i hosstaaende Tabel 1.

Til denne Tabel skal nu knyttes følgende Bemærkninger.

Undersøgelsen af Bakteriernes Størrelse foretoges paa følgende Maade. Dækglaspræparater af hver Bakteriekultur, farvede efter Gram's Metode, fotograferedes ved nøjagtig 1000 Gange lineær Forstørrelse, og de fotografiske Billeder maalttes dernæst ved Hjælp af en Maalestok paa Glas, inddelt i halve Millimeter. Paa denne Maade blev det muligt ved Hjælp af en Lupe at jugere $\frac{1}{4}$ mm med ret stor Nøjagtighed, og ved denne Fremgangsmaade har det ifølge mine Erfaringer vist sig muligt at maale Bakteriernes Størrelse med betydelig større Nøjagtighed end ved direkte Maalinger under Mikroskopet. Bakteriernes Rumfang er beregnet ved Hjælp af Formlen $\frac{1}{6}\pi ab^2$, idet Bakteriernes Form er betragtet som en Omdrejningsellipsoide, hvis Omdrejningsakse (a) var Bakteriens Længde, og korte Akse (b) Bakteriens Tykkelse.

Bakteriernes Evne til at danne Syre blev bestemt ved Titring af deres Mælkekultur et Par Uger efter Mælkens Sammenløbning. I Tabel I findes opført den Mængde n_{10} Natronlud, der med Phenolphtalein som Indikator krævedes til Nevtralisation af 100 cm³ Mælkekultur, og af disse Tal er, efter Fradrag af det Antal cm³ n_{10} Natronlud, som Mælken i usyrnet Tilstand brugte til Nevtralisation (nemlig 18 cm³ til 100 cm³ Mælk), beregnet den af Bakterierne producerede Mælkesyremængde, som findes opført i Tabellen.

Bakteriernes Voksemaade i Mælk blev konstateret ved direkte Undersøgelse under Mikroskopet.

Ved nøjere at gennemgaa Tabel I, hvori Bakterierne er sam-

Tabel I. Resultaterne fra Undersøgelserne af de rendyrkede Bakterier fra Syrevækkeren.

Gruppe	Bakterie Nr.	Voksemaade i Mælk	Cellens Størrelse			Evnen til at koagulere Mælk	Maksimum af Syre i 100 cm ³ Tykmælk		Tykmælksprøven		
			Længde mm	Tykkelse mm	Rumfang mm ³		Brugt til Neutralisation n/10	Produceret Mælkesyre pCt.	Lugt	Smag	Tykmælkskonsistens
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
I.	1	Sædvanligst som Enkelt- eller Dobbelteeller	1.50	1.00	0.78	stærk	98.4	0.72	ret ren og stærk	ret ren og stærk	god
	3		1.25	0.75	0.37	stærk	94.8	0.69	ren og stærk	ren og stærk	god
	4		1.25	0.75	0.37	stærk	105.2	0.78	ren og stærk	ren og stærk	god
	6		1.25	1.00	0.65	svag	99.2	0.73	svag	svag	blød
	7		1.50	1.10	0.95	svag	100.0	0.74	svag	noget svag	noget blød
	11		1.25	0.75	0.37	stærk	108.0	0.81	meget uren	Roesmag	god
	12		1.25	1.00	0.65	svag	102.8	0.76	svag	svag	blød
	13		1.50	1.20	1.13	stærk	99.2	0.73	svag	svag	god
	14		1.25	0.80	0.42	stærk	100.8	0.75	meget svag	svag	noget blød
	19		1.10	0.80	0.37	svag	103.6	0.77	svag	svag	noget blød
	25		1.00	0.85	0.38	stærk	98.8	0.73	svag	svag	god
II.	9	Ofte i korte Kæder	1.20	0.80	0.40	svag	97.6	0.72	lidt uren	svag	blød
	15		1.20	0.75	0.35	svag	102.4	0.76	meget svag	svag	blød
	20		1.00	0.75	0.29	stærk	105.2	0.78	svag	svag	god
III.	5	Altid i lange Kæder	1.25	1.00	0.65	svag	101.2	0.75	svag Turnipslugt	svag uren	blød god
	8		1.25	1.00	0.65	stærk	106.0	0.79			

menstillet i 3 Grupper efter deres Voksemaade, vil det vise sig, at det nærmest maa være berettiget at drage den Slutning, at ingen af de 16 Mælkesyrebakterier, som var bleven rendyrket, var saa ens i Størrelse og øvrige Egenskaber, at de kunde betragtes som hørende til samme Art, og kun faa af dem stod hinanden saa nær, at de maaske kunde betragtes som hinanden ret nærstaaende Varieteter. Denne Opfattelse blev yderligere bestyrket ved en Række Undersøgelser, som nu skal omtales.

Med Undtagelse af de Mælkekulturer, hvori den dannede Syremængde skulde bestemmes ved Titring, blev vore Kulturer af Mælkesyrebakterier sædvanligt dyrkede i Mælk, hvortil der før dens Sterilisering var sat en Opløsning af *Lakmus* for derved lettere at kunne iagttage Syredannelsen. Besaas en saadan lakmusfarvet Mælk med Mælkesyrebakterier, vil Mælken under Henstand affarves, og naar Sammenløbningen er foregaaet, vil Mælken være omdannet til et ensartet Koagulum af et rent, mælkehvidt Udseende, paa hvis Overflade en begyndende Rødfarvning hurtigt vil vise sig. Under fortsat Henstand vil Rødfarvningen trænge længere og længere ned i Mælkekoagulet, men saaledes, at Grænsen mellem den rødfarvede og den endnu ufarvede Del af dette stadig vil være temmelig skarp. Lader man Mælken henstaa tilstrækkelig længe, vil Rødfarvningen efterhaanden trænge helt ned til Glassets Bund.

At den lakmusfarvede Mælk først affarves og senere bliver rød i Stedet for under den dannede Mælkesyres Paavirkning at blive rød lige fra Begyndelsen, maa forklares paa følgende Maade. Lakmusfarvestoffet kan som saa mange andre Farvestoffer afilteres (reduceres), hvorved det taber sin Farve, som det dog genvinder ved atter at blive iltet. Mælkesyrebakterierne danner et reducerende Enzym (Reduktase), som afilter, altsaa affarver Lakmusfarvestoffet. Ved Hjælp af den Ilt, som stadig trænger ned i Mælken fra Atmosfæren, vilde Lakmussen snart iltes igen og derved antage rød Farve, men saa længe Reduktasen virker, sker dette ikke, og først naar Bakterierne er saa vidt afsvækkede eller døde, at Reduktasedannelsen ikke er kraftig nok til at modvirke Lakmussens Iltning, vil Mælken blive farvet rød.

At dette virkelig forholder sig saaledes fremgaar af følgende Forsøg. Udsaa i et Reagensglas med steriliseret, lakmus-

farvet Mælk en rendyrket Mælkesyrebakterie, og tilsmeltes derefter Glasset kort over Mælkens Overflade for derved at forhindre enhver Tilgang af atmosfærisk Ilt, vil Mælkesyrebakterien formere sig som sædvanligt, og Mælken vil koagulere fuldstændig og affarves; men der vil ingen Rødfarvning finde Sted, selv om Glasset henstaar nok saa længe. Aabnes derimod Glasset efter nogle Dages Henstand, vil Mælken ret hurtigt farves rød, og havde man ladet Glasset henstaa nogle Uger, før det aabnedes, vilde Mælken hurtigt blive farvet rød lige til Bunden.

Tilsmeltes et Reagensglas, hvori der befinder sig et lakmustilsat, affarvet Mælkekoagulum, hvori dog Rødfarvningen er trængt et lille Stykke ned, eller hindres paa anden Maade Tilgangen af Atmosfærens Ilt, vil Rødfarvningen igen forsvinde. Aabner man saa efter nogen Tids Forløb Glasset igen, saa Ilten atter faar Adgang til Mælken, farves den ret hurtigt rød igen. Undersøger man Bakterieantallet i den røde og i den endnu ufarvede Del af et lakmustilsat Koagulum, vil man finde et meget mindre Tal i det første end i det sidste, dersom man da ikke finder, at Bakterierne er døde i den rødfarvede Del. Henstilles to lakmusfarvetilsatte Mælkesyre kulturer ved forskellige Temperaturer, vil Bakterierne dø, og Rødfarvningen ske hurtigere ved den højere end ved den lavere Temperatur. Det er altsaa den fra Atmosfæren indtrængende Ilt, som er Skyld i, at det affarvede, lakmustilsatte Mælkekoagulum atter farves rødt, og det er Bakterierne, som modarbejder Ilteus Virkning. Hvorledes det nu end skal forklares, at nogle Mælkesyrebakterier er i Stand til at modarbejde Indvirkningen af Atmosfærens Ilt i længere Tid end andre, saa er det et Faktum, at naar man saar en Række af forskellige Mælkesyrebakterier paa Glas af ens Vidde og fyldt til samme Højde med lakmusfarvet Mælk, saa kan Rødfarvningen tage meget forskellig Tid om at trænge til Bunds i de forskellige Glas. Rødfarvningens forskellige Nedtrængning maa altsaa være Tegn paa visse biologiske Forskeligheder, og vi har derfor ogsaa benyttet Rødfarvningens Nedtrængning som Middel til at differentiere de Mælkesyrebakterier, vi havde til Undersøgelse.

Hver af de 16 Mælkesyre kulturer blev saaet paa Reagensglas af samme Vidde, fyldt med samme Mængde lakmusfarvet, steriliseret Mælk og hensat ved en Temperatur af 20° C. Nogle Dage efter Mælkens Affarvning og Koagulation paabegyndtes

Maalingen af Rødfarvningens Nedtrængning i Glassene, og disse Maalinger gentoges med visse Dages Mellemrum under hele Henstandstiden. De herved erholdte Resultater er sammenstillet i hosstaaende Tabel II. Angaaende denne Tabel, som

Tabel II. Rødfarvningens Forløb i de forskellige Mælkekulturer.

Mælkesyre- bakterie Nr.	Bakteri- ernes Evne til at koa- gulere Mælk	Maxi- mums produk- tion af Mælke- syre pCt.	Længden af den rødfarvede Del af Mælke- kulturerne efter at disse have henstaaet i:				
			6 Dage m. m.	11 Dage m. m.	15 Dage m. m.	20 Dage m. m.	25 Dage m. m.
A	1	3	4	5	6	7	8
	3	0,69	—	43	55	65	—
	11	0,81	—	43	54	61	64
	8	0,79	—	43	53	59	61
	1	0,72	13	42	57	66	—
	4	0,78	16	40	51	58	—
	I Gennemsnit	0,76	—	42	54	62	—
B	5	0,75	—	33	45	53	61
	12	0,76	16	31	38	46	55
	7	0,74	12	30	37	43	47
	9	0,72	—	25	32	38	42
	6	0,73	15	22	28	35	43
	19	0,77	—	21	34	43	48
	15	0,76	—	16	26	41	—
	I Gennemsnit	0,75	—	25	34	43	—
C	14	0,75	11	25	39	47	54
	13	0,73	—	20	27	36	—
	25	0,73	—	16	31	43	—
	20	0,78	3	8	13	19	—
	I Gennemsnit	0,75	—	17	28	36	—

ikke trænger til nogen nærmere Forklaring, skal bemærkes, at der ved Bakteriernes Sammenstilling i de tre Grupper, A, B og C, hvori Tabellen er delt, er taget Hensyn baade til den større eller mindre Hurtighed, hvormed Rødfarvningen er trængt ned i de paagældende Mælkekulturer, og til Bakteriernes Evne til at koagulere Mælk. Ved at læse Tallene i samme Linie

fra venstre til højre faas Oplysning om Rødfarvningens Forløb i de paagældende Mælkekulturer under deres Henstand i indtil 20 à 25 Dage; men læses Tallene fra oven nedad inden for samme Kolonne, faas Oplysning om Rødfarvningens Nedtrængning i de forskellige Mælkekulturer under ens Henstandstid, og det er disse Tal, der særlig har Interesse for vore Undersøgelser her. Vi vil derfor begynde med at betragte Tallene i Kolonne 5 noget nøjere, der, som det vil ses, angiver Længden af den rødfarvede Del af Mælkesøjlen efter Kulturernes Henstand i 11 Dage. Sammenholdes først Tallene for de øverste 5 Mælkekulturer (Gruppe A) indbyrdes, vil det ses, at Forskellen imellem disse Tal ikke er ret stor, de veksler nemlig kun fra 40 til 43, og er ganske ens for 3 af Kulturerne. Derimod er Forskellen mellem Tallene for de følgende 7 Kulturer (Gruppe B) betydelig større; det øverste Tal i denne Gruppe er over dobbelt saa stort som det nederste, og kun mellem faa af de øvrige Tal er Forskellen ringe. Sammenholdes endelig Tallene i Gruppe A med Tallene i Gruppe B, vil det ses, at Forskellen mellem disse to Grupper er stærkt iøjnefaldende; Tallene i Gruppe B er nemlig gennemgaaende langt mindre end Tallene i Gruppe A. Foruden denne Forskel mellem Kulturerne i disse to Grupper er det værd at lægge Mærke til, at medens Kulturerne i Gruppe A alle besad stor Evne til at koagulere Mælk, var det modsatte Tilfældet med Kulturerne i Gruppe B. Deres Evne til at producere Mælkesyre var derimod ikke synderlig forskellig. Hvad endelig Tallene for Kulturerne i Gruppe C angaar, vil det ses, at Forskellen mellem disse indbyrdes ogsaa er ret betydelig; men medens Tallene for 3 af disse Kulturer stemmer overens med Tallene for nogle af Kulturerne i Gruppe B, er Tallet for den fjerde Kultur (Nr. 20) ret enestaaende som det laveste af dem alle. Naar disse 4 Kulturer ikke desto mindre er bleven sammenstillet i en Gruppe for sig, var Grunden hertil fornemmelig den, at de i Modsætning til Kulturerne i Gruppe B alle besad stor Evne til at koagulere Mælk. Derimod var Evnen til at producere Mælkesyre ikke større hos dem end hos Kulturerne i Gruppe B.

Tallene i de følgende Kolonner 6, 7 og 8 viser, at Rødfarvningens Nedtrængning i samtlige Mælkekulturer er tiltaget stærkt med den forlængede Henstandstid; men det vil ogsaa ses, at den paaviste Forskel i saa Henseende mellem Grupperne vedblivende er tilstede.

Ved nu at kombinere Tabellerne I og II vil vi lettere end ved at se paa hver af dem blive i Stand til at afgøre, om de 16 Mælkesyrebakterier, vi har til Undersøgelse, alle er forskellige Arter og Varieteter eller ikke. Denne Kombinering er foretaget i Tabel III saaledes, at de hver med sit Nummer angivne Bakterier, som findes opført i samme vandrette Linie, har den Egenskab tilfælles, der er anført i samme Linie længst til venstre i Tabellen, medens de i hver af Tabellens lodrette Kolonner sammenstillede Bakterier har samme eller meget nær samme Størrelse, og denne (angivet ved μ^3) findes opført i Kolonnens Hoved.

Opsøger vi nu i Tabel III de Mælkesyrebakterier, der i Størrelse og Voksemaade var ens eller meget nær ens, vil vi finde, at dette var Tilfældet henholdsvis med Nr. 6 og 12 og med Nr. 3, 4, 11, 19 og 25. Om de førstnævnte to oplyser Tabellen endvidere, at de havde flere andre Egenskaber tilfælles, men derimod var forskellige i Evnen til at producere Syre. Nr. 5, der havde samme Størrelse, stod dem nær i flere Henseender, men ikke i Syreproduktion og Voksemaade. Undersøger vi dernæst ved Tabellens Hjælp de sidstnævnte fem Bakterier, vil det vise sig, at disse kun havde Størrelse og Voksemaade helt tilfælles. Fire af dem besad stor Evne til at koagulere Mælk; tre af dem forholdt sig ens med Hensyn til Rødfarvningen, og kun to af dem gav Mælken en ren og stærk Lugt og Smag. I Evnen til at producere Syre var de derimod alle indbyrdes forskellige. Af de øvrige Bakterier var der ingen, der med Hensyn til Størrelse og undersøgte Egenskaber var ens.

Dette Resultat, at de 16 fra Syrevækkeren isolerede Bakterier maatte betragtes som indbyrdes forskellige, var jo ikke lidt overraskende.

Det staar endelig tilbage at omtale de Undersøgelser, vi har foretaget over Brugbarheden af disse Renkulturer, anvendte hver for sig som Syrevækkere, samt over, om det var muligt ved Hjælp af Blandingskulturer af disse Bakterier at fremstille Syrevækkere med lignende gode Egenskaber som den originale Syrevækker. Ifølge de Oplysninger, vi havde erholdt fra Undersøgelserne over hver enkelt af disse Bakteri-ers Indvirkning paa Mælk, fandtes der mellem dem kun 3, hvis Evne til at syrne og sammenløbe Mælk var stor, og som desuden formaaede at give Mælken en ren og ret stærk Lugt

Tabel III. Tabellarisk Oversigt over de fra Syrevækkeren isolerede 16 Mælkesyrebakterier, sammenstillede efter Størrelse og øvrige undersøgte Egenskaber.

De undersøgte forskellige Egenskaber hos Bakterierne.		Bakteriestørrelse = μ^3								
		1,13	0,95	0,78	0,65	0,42	0,40	0,37—0,38	0,35	0,29
		Bakterie Nr.								
Voksemaade i Mælk	Lange Kæder	—	—	—	5, 8	—	—	—	—	—
	Korte Kæder	—	—	—	—	—	9	—	15	20
	En ell. to Celler	13	7	1	6, 12	14	—	3, 4, 11, 19, 25	—	—
Evne til at koagulere Mælk	Stærk	13	—	1	8	14	—	3, 4, 11, 25	—	20
	Svag	—	7	—	5, 6, 12	—	9	19	15	—
Rødfarvnings Forløb i Kulturerne i lakmusfarvet Mælk	Hurtigt	—	—	1	8	—	—	3, 4, 11	—	—
	Mindre hurtigt	—	7	—	5, 6, 12	—	9	19	15	—
	Langsomt	13	—	—	—	14	—	25	—	20
Lugten og Smagen af Tykmælken, fremstillet ved Bakteriekulturerne	Ren og stærk	—	—	1	—	—	—	3, 4	—	—
	Ren men svag Uren	13	7	—	5, 6, 12	14	—	19, 25	15	20
		—	—	—	8	—	9	11	—	—
Maximum Syregrad (cm ³ n/10 Natronlud til Neutralisation af 100 cm ³ Mælk)	108	—	—	—	—	—	—	11	—	—
	105—106	—	—	—	8	—	—	4	—	20
	103—104	—	—	—	12	—	—	19	—	—
	101—102	—	—	—	5	14	—	—	15	—
	99—100	13	7	—	6	—	—	25	—	—
	98	—	—	1	—	—	9	—	—	—
	95	—	—	—	—	—	—	3	—	—

og Smag, nemlig Bakterierne Nr. 1, 3 og 4 (se Tabel I). At disse tre maatte være mellem de mest virksomme under Syrevækkerens Anvendelse til Flødens Syrning, kunde der næppe være Tvivl om, hvorfor de ogsaa enkeltvis eller alle blev anvendte i de Blandingskulturer, hvormed vi foretog Forsøg. Til Sammenligning med disse Kulturer blev selve Syrevækkeren anvendt. De benyttede Renkulturer og Blandingskulturer var følgende:

1. Renkulturer:	Mælkesyrebakterie Nr. 1.		
	do.	-	3.
	do.	-	4.
2. Blandingskulturer:	A	Mælkesyrebakterierne Nr. 4 + 5.	
	B	do.	- 1 + 4 + 5.
	C	do.	- 3 + 4 + 5.
	D	do.	- 4 + 5 + 12.
	E	do.	- 1 + 4 + 5 + 12.
	F	do.	- 3 + 4 + 5 + 12.
	G	do.	- 1 + 3 + 4 + 5 + 12.
	H	do.	- 1 + 3 + 4 + 5 + 6 + 7 + 8 + 9 + 11 + 12 + 13 + 14 + 15 + 19.

Denne Række af Blandingskulturer blev nu dyrket videre i flere Maaneder, idet der fra Tid til anden blev foretaget Tykmælksbedømmelse med dem for at se, hvorledes de udviklede sig. Resultaterne var ikke opmuntrende, idet det viste sig, at de fleste af Blandingerne ikke alene var den oprindelige Syrevækker underlegne med Hensyn til den Lugt og Smag, de gav Tykmælken, men at de efter kortere eller lænere Tid degenererede: tabte Evnen til at syrne eller sammenløbe Mælken indenfor den krævede Tid. Renkulturerne og en enkelt af Blandingskulturerne gav i og for sig Tykmælken en ren Lugt og Smag og degenererede ikke, men dels mente vi, belært af tidligere Erfaringer, ikke at burde arbejde videre med Renkulturer, og dels formaaede ingen af dem at give Tykmælken den behagelige mildt-syrlige Smag, som selve Syrevækkeren gav den.

Om Grunden til dette Resultat skulde være, at det ikke var lykkedes os at træffe den rette Sammensætning af Blandingskulturerne eller, om det skulde ligge i, at der var Bakterier, der er nødvendige i en god Syrevækker, og som var undgaaet vore Undersøgelser, kunde vi paa den Tid ikke afgøre. Den bakteriologiske Analyse af Syrevækkeren havde altsaa ikke ført os nærmere til Maalet, vi maatte nu søge at naa det ad andre Veje. Da den Maade, hvorpaa man i Praksis fremstiller Syrevækkere, var, at lade Mælken blive sur af sig selv, besluttede vi at foretage en Undersøgelse over, hvad der foregaar i Mælken under dens Selvsyrning, for om muligt derved at ledes ind paa den rette Vej.

III. Undersøgelser over Bakterielivet i Mælk under dens Selvsyrning.

Lader man frisk og god Mælk henstaa ved almindelig Stuetemperatur, vil den miste sin Friskhed, idet dens Lugt og Smag bliver syrlig, mere eller mindre uren og ret ubehagelig. Naar denne frivillige Syrningsproces har naaet et vist Punkt, kan Mælken ikke længere opvarmes til Kogning uden at løbe sammen. I Prakseis kaldes dette, at Mælken er bleven *blaa sur*. Ved yderligere Henstand tiltager Mælken i Surhed og vil tilsidst løbe sammen (*Tykmælk*). Paa dette Tidspunkt har den sammenløbne Mælk i Reglen en ret behagelig syrlig Smag og en mere eller mindre aromatisk Lugt. Er den friske Mælk bleven opvarmet til 80° C eller derover, vil den under Henstand ved almindelig Stuetemperatur som oftest ikke syrne og løbe sammen paa den ovenfor beskrevne Maade, den vil derimod erholde en højst ubehagelig Lugt, og Kaseinet vil enten udskilles som et osteagtigt, klumpet Bundfald eller opløses (peptoniseres). Hvis der til frisk pasteuriseret Mælk sættes en Kultur af rendyrkede, gode og kraftige Mælkesyrebakterier, vil den ved almindelig Stuetemperatur syrne og løbe sammen uden paa noget Tidspunkt at erholde den ovenfor omtalte »blaasure« Lugt og Smag.

Ifølge disse Iagttagelser syntes der at være Grund til at antage, at den blaasure Tilstand, upasteuriseret, frisk Mælk ved Henstand efterhaanden gaar over i, maa skyldes visse i Mælken forekommende Bakterier af noget anden Art end de almindeligt bekendte Mælkesyrebakterier. For om muligt at

skaffe Oplysning om, hvorvidt denne Opfattelse var rigtig, besluttede vi at foretage bakteriologiske Undersøgelser af Mælk baade paa det Tidspunkt, den var bleven »blaasur«, og efter dens fuldstændige Sammenløbning. Til at begynde med henstilledes ved almindelig Stuetemperatur et større Antal steriliserede Glas med 25 cm³ frisk Mælk, og ved Hjælp af disse søgte vi at finde det Tidspunkt, da Mælken havde naaet en saadan Surhedsgrad, at den ikke længere kunde koges uden at koagulere. Skønt denne Fremgangsmaade frembød en Del Vanskeligheder blandt andet med Hensyn til nøjagtigt at finde det Tidspunkt, hvor Mælkens Surhedsgrad netop var naaet til det Punkt, hvor fuldstændig Sammenløbning fandt Sted ved Kogning, viste det sig dog, at nævnte Punkt var naaet uden at være synderlig overskredet, naar der til Nevtralisationen af 100 cm³ af Mælken med Phenolphthalein som Indikator krævedes 38 cm³ n/10 Natronlud. Paa dette Tidspunkt foretoges Spredninger i Mælkegelatine. Efter at Mælkens fuldstændige Sammenløbning havde fundet Sted, var dens Surhedsgrad forøget saa meget, at der til Nevtralisation af 100 cm³ krævedes 92 cm³ n/10 Natronlud; ogsaa paa dette Tidspunkt foretoges Spredninger af den paa Mælkegelatine.

Vi skal ikke komme nærmere ind paa Omtalen af de Renkulturer, som blev Resultatet af disse Undersøgelser, kun maa dog anføres, at største Delen af Bakterierne fra den blaasure Mælk kun besad ringe Evne til at koagulere Mælk tiltrods for, at en Del af dem kunde producere omtrent lige saa megen Syre som de Bakterier, der blev fundet i den fuldstændigt sammenløbne Mælk, og som for den langt overvejende Parts Vedkommende besad stærk Koaguleringssevne. Dernæst maa nævnes, at Bakterierne fra den blaasure Mælk som oftest gav den Mælk, de blev podet paa, en ret uren Lugt, og endelig maa anføres, at de fleste af Bakterierne fra den blaasure Mælk var betydeligt mindre end Bakterierne fra den fuldstændigt koagulerede Mælk.

Derimod maa meget stærkt fremhæves den Kendsgerning, at ingen af Bakterierne, der var isolerede fra den blaasure Mælk, blev genfundet mellem de fra den fuldstændig sammenløbne Mælk isolerede; da de altsaa maatte være fortrængte af de sidstnævnte — de egentlige Mælkesyre bakterier —, kunde der ikke godt være Tale om, at der mellem Bakterierne, som

forefindes i Mælken i Begyndelsen af dens frivillige Syrning, skulde findes nogle, der var tjenlige til Fremstillingen af en god Syrevækker.

Vore Undersøgelser over Bakterielivet i Mælk under dens Selvsyrning havde altsaa ikke bragt os nærmere Maalet, og da det trods mange Bestræbelser ikke var lykkedes os ved Blandinger af de fra fuldsyrnet Fløde eller Kærnemælk isolerede Bakterier at erholde gode Syrevækkere, fandt vi det rigtigst at forlade, i alt Fald indtil videre, den hidtil fulgte Vej til Fremstillingen af Syrevækkere, og saa at slaa ind paa en mere praktisk, nemlig at lede Syrningsprocessen paa en saadan Maade, at de Bakterier, der muligvis kunde have en skadelig Indflydelse, blev hindrede i at komme til Udvikling. Grunden til, at vi slog ind paa denne Vej, og at vi greb til netop de Midler, vi benyttede, skyldtes en Række Iagttagelser, vi havde gjort i Tidens Løb. At Mælk ved Selvsyrning ikke altid giver god Tykmælk, er en velkendt Sag fra Praksis, og Aarsagen hertil er, at der mellem de ved Selvsyrningen virksomme Bakterier maa findes nogle, som giver Tykmælken en daarlig Lugt og Smag. Ved vore Undersøgelser af gode Syrevækkere havde vi somme Tider fundet nogle Mælkesyrebakterier, som udmærkede sig ved at give Tykmælken en daarlig Lugt eller Smag, saasom: Roesmag, Turnipslugt, »branket« Lugt og Smag. Da disse Syrevækkere ikke desto mindre havde vist sig gode i Praksis, maatte de uheldige Bakterier være bleven hemmede i deres Udvikling af de andre tilstedeværende gode og kraftigere Mælkesyrebakterier. Endvidere havde vore Undersøgelser af selvsyrenet Mælk vist, at Mælkesyrebakterierne fra den fuldstændig sammenløbne Mælk kunde undertrykke de Bakterier, som forefandtes i Mælken paa dens blaasure Stadium; og endeligt havde vi ofte haft Lejlighed til at faa konstateret, at Mælkesyrebakterier, der blev dyrket sammen med Bakterier af helt anden Art, efter nogle faa Omsaaninger i steriliseret Mælk fuldstændig havde undertrykt disse. Det var derfor ikke usandsynligt, at det kunde lade sig gøre at fremstille ret rene Kulturer af Mælkesyrebakterier, naar disse under Mælkens Selvsyrning blev støttet i deres Kamp mod andre muligvis ogsaa skadelige Bakterier. Som Middel til at støtte Mælkesyrebakterierne valgte vi den anaerobe Dyrkning, altsaa med andre Ord en Dyrkning under saadanne Forhold, at Atmosfærens Ilt var ude-

lukket. Grunden til, at vi netop valgte dette Middel, var, at de fleste Mælkesyrebakterier trivedes godt under anaërobe Forhold, medens et stort Antal af de i Mælk forekommende forurenende Bakterier dræbes eller hemmes stærkt i deres Udvikling ved denne Behandling.

De Undersøgelser, som nu skal omtales, gik derfor ogsaa ud paa følgende:

1. Forsøg paa at befri Syrevækkere for de Bakterier, der indvirker skadeligt paa deres Lugt og Smag, ved at dyrke Syrevækkerne under anaërobe Forhold.
2. Forsøg paa at fremstille Syrevækkere ved at lade Mælkens Selvsyrning foregaa under anaërobe Forhold.

Ved begge disse Fremgangsmaader vilde Bakteriekulturerne først og fremmest blive befriede for de strængt aërobe (iltkrævende) Bakterier; hvorvidt Anaërobiosens gavnlige Indflydelse vilde strække sig endnu videre, lod sig derimod paa Forhaand ikke afgøre.

IV. Forsøg med Anvendelsen af anaërob Dyrkning til Rensning af Syrevækkere.

De første Forsøg med anaërob Dyrkning af Syrevækkere, som vi har foretaget, blev udført med tre Prøver fra et Mejeri, hvor der daglig blev fremstillet en ny Syrevækker ved at lade frisk Mælk henstaa til Selvsyrning. Syrevækkerprøverne blev straks efter Modtagelsen henstillet i Isvand, indtil deres Omplantning i flere Portioner steriliseret Mælk blev foretaget. Nogle af disse med Syrevækkeren podede Mælkeportioner blev dernæst anvendte til anaërob Dyrkning, medens de øvrige benyttedes til aërob Dyrkning. Til den anaërobe Dyrkning anvendtes den af *Stribolt* angivne Fremgangsmaade i følgende lidt ændrede Skikkelse. Efter Afsvidning af den øverste Ende af Vatproppen, hvormed Reagensglasset med den podede Mælk var lukket, førtes denne Prop ned i Glasset nær til Mælkens Overflade. Oven paa Vatproppen anbragtes et lille, cylindrisk Præparatglas, hvori fandtes 10 cm³ af en frisk tilberedt alkalisk Opløsning af Pyrogallussyre, hvorefter Reagensglasset hurtigt lukkedes med en steriliseret Vatprop, der trykkes saa langt ned i Glasset, at der oven paa Proppen blev Plads til et tykt Lag Vaselin, hvormed Reagensglasset endelig lukkedes lufttæt.

Paa denne Maade vilde den i Reagensglasset indesluttet Ilt hurtigt og fuldstændig blive absorberet af Pyrogallol-Opløsningen, saa at Udviklingen af Bakterierne maatte foregaa i Mælken under anaërobe Forhold. De til aërob Dyrkning benyttede Reagensglas med podet Mælk var kun lukkede med Vatprop, der jo tilstedede Luften uhindret Adgang. Alle Glassene henstod dernæst ved ca. 20° C i 5 Dage, skønt Mælken i dem allerede var fuldstændig sammenløben efter knap et Døgn's Forløb. Denne Henstandstid var ganske vilkaarligt valgt, da vi manglede Erfaring for, hvor længe Bakteriekulturer fra Syrevækkere skulde underkastes anaërob Dyrkning for at opnaa en god Beskaffenhed. Efter 5 Dages Henstand blev Kulturerne i samtlige Reagensglas — altsaa baade de anaërobt og de aërobt dyrkede — omplantet i nye Glas med steriliseret Mælk for derefter kun at dyrkes aërobt, og efter at være omplantede gentagne Gange under vedblivende aërob Dyrkning blev Kulturerne bedømt ved Hjælp af Tykmælksprøven. Paa denne Maade fortsattes Forsøgene i 2 à 3 Maaneder for at erholde Oplysning om Kulturernes Holdbarhed.

I hosstaaende Tabel IV, hvori Resultaterne fra Tykmælksbedømmelserne fra Forsøgene med disse Syrevækkere findes sammenstillede, er de tre Syrevækkere betegnede med henholdsvis Nr. I, II og III.

Vi vil begynde med at omtale Resultaterne fra Syrevækkeren Nr. I. Denne var i Mejeriet bleven betegnet som god og kraftig virkende, hvad vore Forsøg med den ogsaa bekræftede. Det vil nemlig fremgaa af Tallene for Tykmælks Beskaffenhed, at denne Syrevækker holdt sig under aërob Dyrkning nogenlunde uforandret i de første 10—12 Dage; men derefter blev den saa uren, at den maatte betragtes som ubrugelig. Ved anaërob Dyrkning i de første 5 Dage havde den derimod vundet noget i Renhed, men den gik efterhaanden ogsaa tilbage i Godhed, dog langt fra saa stærkt som dens stadig aërob dyrkede Kultur.

Syrevækkeren Nr. II var ligesom den foregaaende en kraftig virkende Syrevækker, men den var i langt højere Grad end hin forurenset med aërobe Bakterier. Dyrket aërobt i steriliseret Mælk var den efter 5 Dages Henstand saa stærkt degenereret, at den var ganske ubrugelig som Syrevækker. Efter at være dyrket anaërobt i 5 Dage var den derimod bleven

renset saa godt for ærober Bakterier, at den under den paa følgende ærober Dyrkning i steriliseret Mælk holdt sig næsten uforandret i de to Maaneder, Forsøgene med den blev fortsat.

Syrevækkeren Nr. III var af Mejeriet betegnet som særdeles god. Ikke desto mindre degenererede den under ærober Dyrkning i steriliseret Mælk saa stærkt, at den efter 5 Dages Henstand var bleven fuldstændig ubrugelig som Syre-

Tabel IV. Points ved Tykmælksbedømmelserne.

Syrevækker Nr.	Prøverne mod- tagne Dato	Forsøg udført Dato	Syrevækkerne dyrkede stadig ærobt			Syrevækkerne i de første 5 Dage anaërobt		
			Lugt	Smag	Points i alt	Lugt	Smag	Points i alt
I.	6/1	16/1	11	13	24	13	12	25
		28/1	11	11	22	13	13	26
		28/1	10	11	21	13	9	22
		7/2	9	9	18	11	11	22
		19/2	7	8	15	10	10	20
II.	9/1	16/1	3	3	3	12	11	23
		28/1	3	6	9	10	11	21
		7/2	—	—	—	11	11	22
		17/2	—	—	—	11	12	23
		1/3	—	—	—	12	10	22
		21/3	—	—	—	12	11	23
III.	31/1	7/2	—	—	—	12	14	26
		17/2	—	—	—	14	15	29
		1/3	—	—	—	12	11	23
		21/3	—	—	—	13	12	25
		31/3	—	—	—	12	13	25
		5/4	—	—	—	12	13	25

vækker. Ved 5 Dages anaërob Dyrkning i steriliseret Mælk beholdtes derimod en saa godt renset Kultur af denne Syrevækker, at den nu maatte betragtes som endog særdeles god og meget holdbar.

Resultaterne fra disse første Forsøg paa at rense Syrevækkere for ærober Bakterier ved at dyrke dem anaërobt i steriliseret Mælk i den forholdsvis korte Tid af 5 Dage havde altsaa vist sig ret lovende; der var derfor Grund til ved fortsatte

Forsøg med forskellige Slags Syrevækkere at faa nærmere Oplysning om Fremgangsmaadens Brugbarhed. Ved de følgende Forsøg var Fremgangsmaaden omtrent den samme som den, der blev fulgt ved den nys beskrevne, kun blev Henstanden under den anaërobe Dyrkning forlænget til 10 à 15 Dage.

Ved disse Forsøg, som blev foretaget med Udgangspunkt i selvsyrnet Sødsmælk fra Københavns Mælkeforsyning, en Prøve Kærnemælk, indsendt til Mælkekontrollen, en Mejerisyrevækker og en Handelssyrevækker, altsaa 4 højst forskellige Produkter, viste det sig, at Dyrkning i Anaërobiøse i 10—15 Dage med efterfølgende Dyrkning under aërobe Forhold gav bedre og stabilere Resultater end Dyrkning kun i Aërobiøse.

Da disse Resultater stod i god Overensstemmelse med de første Forsøg af denne Slags, var det altsaa godtgjort, at den anaërobe Dyrkning i indtil 10 à 15 Dage havde haft en meget gunstig Virkning paa alle de anvendte Syrevækkerkulturer. Af hvor lang Varighed den anaërobe Dyrkning helst bør være for ad denne Vej at opnaa det bedste Resultat, derom havde disse Forsøg derimod ikke givet og heller ikke kunnet give nogen bestemt Oplysning. Vi maatte derfor foretage nye Forsøg for at faa dette Spørgsmaal nøjere belyst.

De Forsøg, som nu skal omtales, gik ud paa at faa besvaret følgende Spørgsmaal:

1. I hvor lang Tid bør en Bakteriekultur fra selvsyrnet Mælk dyrkes anaërobt for at opnaa det bedst mulige Resultat?
2. Hvilken Indflydelse paa en Syrevækkerkulturs Lugt og Smag har den hyppige Omplantning i Modsætning til den sjældnere, hvad enten Kulturen i Begyndelsen er bleven dyrket anaërobt eller ikke?

Grunden til, at vi ikke blot i disse Forsøg, men ogsaa i dem, der findes omtalte i det følgende Afsnit, kom ind paa Anvendelsen af en hyppig eller sjældnere udført Omplantning af Syrevækkerkulturer, var alene den, at det havde vist sig ret nødvendigt for vore Forsøg over Fremstillingen af Syrevækkere af selvsyrnet Mælk at faa Oplysning om, hvad Indflydelse forskellige Omplantningstider kunde have paa Syrevækkernes Lugt og Smag. Men hermed var det selvfølgelig slet ikke vor Tanke, at den daglige Omplantning af Syrevækkere, selv om Resultaterne fra vore Forsøg skulde falde til Ugunst for den, skulde kunne forlades i den praktiske Mejeridrift.

Forsøgene blev udført paa følgende Maade: En større Portion frisk Sødmælk henstilledes ved alm. Stuetemperatur til Selvsyrning. Saasnart Mælken var fuldstændig sammenløben, blev fra den podet paa flere Reagensglas, der hver indeholdt 25 cm³ steriliseret, lakmusfarvet Mælk. Nogle af disse Glas anvendtes til ærob Dyrkning, de øvrige til anaërob Dyrkning paa den tidligere beskrevne Maade. Efter Mælkens fuldstændige Koagulation i de til ærob Dyrkning henstillede Glas blev Kulturen i et af Glassene omplantet i en ny Portion steriliseret Mælk til fortsat ærob Dyrkning, og paa denne Maade foretoges Kulturens Omplantning daglig i de første 5 Dage. Reagensglassene med den anaërobt dyrkede Kultur henstod derimod urørte, nogle i 5 Dage, andre i 10 Dage og atter andre i 15 Dage, før de blev omplantede til ærob Dyrkning i steriliseret Mælk. Al Dyrkning, der fulgte efter disse »forberedende« Dyrkninger, blev foretaget i Aërobiose med Omsaaning dels hver Dag og dels hver femte Dag.

Til Slut blev alle Kulturerne bedømt ved Tykmælksforsøg. Resultaterne fra samtlige Tykmælksbedømmelser findes sammenstillet i hosstaaende Tabel V.

Vi vil begynde med at betragte Resultaterne fra de Tykmælksforsøg, hvortil den stadig aërobt dyrkede Kultur blev anvendt. Som det vil ses, viste allerede det første af disse Forsøg, at den daglig omplantede Kultur efter 5 Dages Forløb var af meget tarvelig Beskaffenhed; ved fortsat daglig Omplantning degenererede den stærkt og var i Løbet af de følgende 5 Dage bleven fuldstændig fordærvet, hvad den ogsaa vedblev at være derefter. Det vil endvidere ses, at den stadig aërobt dyrkede Kultur ved kun at omplantes hver 5te Dag ogsaa var af yderst tarvelig Beskaffenhed i de to første Forsøg, men at det mærkeligt nok senere blev betydelig forbedret, saa at den efter en Maanedes Forløb var nogenlunde god.

Resultaterne fra Tykmælksforsøgene med de i Begyndelsen anaërobt dyrkede Kulturer var derimod alle betydelig bedre. Allerede Kulturen fra 5 Dages anaërob Dyrkning var, som det vil ses, bleven saa godt rensat, at den ved paafølgende Omplantninger hver 5te Dag i steriliseret Mælk holdt sig under ærob Dyrkning uforandret god i hele Forsøgstiden og stadig gav Tykmælken en fortrinlig Lugt og Smag. Ved daglig Omplantning og ærob Dyrkning var den derimod efter 5 Dages

Tabel V. Points ved Tykmælksbedømmelsen.

Kulturerne dyrkede i Antal Dage	Syrevækkerkulturen dyrket:																							
	Stadig aërobt.						De første 5 Dage anaërobt derefter aërobt.						De første 10 Dage anaërobt derefter aërobt.						De første 15 Dage anaërobt derefter aërobt.					
	Omplantningen skete:						Omplantningen under den aërobe Dyrkning skete:																	
	hver 5. Dag			hver Dag			hver 5. Dag			hver Dag			hver 5. Dag			hver Dag			hver 5. Dag			hver Dag		
	Lugt	Smag	Points i alt	Lugt	Smag	Points i alt	Lugt	Smag	Points i alt	Lugt	Smag	Points i alt	Lugt	Smag	Points i alt	Lugt	Smag	Points i alt	Lugt	Smag	Points i alt	Lugt	Smag	Points i alt
5	—	—	—	10	5	15	13	13	26	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
10	5	•	5	3	•	3	13	14	27	9	9	18	10	10	20	—	—	—	—	—	—	—	—	
15	6	•	6	5	•	5	14	14	28	8	5	13	10	12	22	12	12	24	10	11	21	—	—	
20	—	—	—	—	•	•	14	14	28	5	5	10	13	14	27	13	13	26	11	11	22***)	12	12	
31	11	11	22	•	•	—	13	14	27	13	13	26	12	12	24	12	13	25*)	11	12	23**)	13	13	

*) Kulturerne svækkede, blødt Koagulum.

**) Kulturen gav Mælken Spor af branket Lugt og Smag.

***) Kulturen gav Mælken branket Lugt og Smag.

Forløb bleven ret tarvelig, og den forringedes endnu mere i de næste 5 Dage; men efter at være dyrket ærobt i 3 Uger var den saa betydelig forbedret, at den ikke stod meget tilbage for den hver 5te Dag omplantede Kultur. Forlængedes Henstandstiden under den anaërobe Dyrkning fra 5 til 10 Dage blev Resultaterne fra Omplantningen hver 5te Dag noget mindre gode end de tilsvarende fra 5 Dages anaërob Dyrkning, medens det omvendte var Tilfældet med de daglig omplantede Kulturer. Det samme var ogsaa Tilfældet med Kulturerne fra den 15 Dages anaërobe Dyrkning, men her var »branket Mælk« Bakterierne begyndt at give sig tilkende.

Af Resultaterne fra denne Forsøgsrække var det altsaa fremgaaet, at den anvendte Bakteriekultur fra selvsyrnet Mælk ikke lod sig dyrke stadig ærobt uden hurtigt at degenerere, hvad der, som det vil erindres, ogsaa var Tilfældet med de i Tabel IV omhandlede Kulturer af lignende Oprindelse, samt endvidere, at den 15 Dages anaërobe Dyrkning ikke havde vist sig heldig. Tilbage staar altsaa kun Spørgsmaalet, om 5 eller 10 Dages Henstand i Anaërobiose bør foretrækkes. Forsøgsresultaterne syntes at tale noget til Gunst for den 10 Dages anaërobe Dyrkning, idet den daglig omplantede Kultur gav noget bedre Resultater end den tilsvarende fra 5 Dages Anaërobiose, hvad der kunde tyde paa, at sidstnævnte Behandlingsmaade ikke havde undertrykt de ærobe Bakterier fuldstændig, saa at disse ved Kulturens daglige Omplantning var kommen til Udvikling. Forsøgene med den 10 Dages Anaërobiose havde imidlertid ogsaa givet en Antydning af, at Kulturen ved denne Behandling var bleven noget svækket i Evnen til at koagulere Mælk, og om dette ret vigtige Forhold maatte der skaffes nærmere Oplysning ved nye Forsøg. Til den Forsøgsrække, vi i denne Anledning har foretaget, blev der ligesom i de nys beskrevne Forsøg anvendt en Bakteriekultur fra selvsyrnet Mælk. Forsøgene udførtes paa samme Maade som de foregaaende kun med den Forskel, at Omplantningen af Kulturerne skete hver 5te Dag. Resultaterne fra de foretagne Tykmælksforsøg findes sammenstillet i hosstaaende T a b e l VI.

Da Forsøgene blev udført med Dobbeltkulturer, er Tallene i Tabel VI Middeltal fra to samtidige Forsøg. Som det vil fremgaa af Tabellen, viste Resultatet, at den 5 Dages og den

10 Dages anaërobe Dyrkning af Bakteriekulturen havde givet meget nær lige gode Resultater.

Tabel VI. Points ved Tykmælksbedømmelsen.

Forsøgs- række	Forsøgs- dato	Bakteriekultur fra selvsyrnet Mælk					
		Dyrket anaërobt i 5 Dage derefter aërobt			Dyrket anaërobt i 10 Dage derefter aërobt.		
		Lugt	Smag	Points i alt	Lugt	Smag	Points i alt
1	31/8	12	11	23	—	—	—
2	6/9	13	13	26	12	13	25
3	15/9	12	13	25	12	13	25
4	17/10	13	13	26	14	14	28
I Gennemsnit...		12.5	12.5	25	12.7	13.3	26

V. Forsøg med Fremstillingen af Syrevækkere ved Mælkens Selvsyrning under anaërobe Forhold.

Resultaterne fra de i forrige Afsnit beskrevne Forsøg havde vist, at Bakteriekulturer, der var udviklet i Mælk ved dens Selvsyrning under Luftens Adgang, lod sig rense for de tilstedeværende aërobe Bakterier, naar saadanne Kulturer straks efter Omplantningen i steriliseret Mælk blev dyrket flere Dage under anaërobe Forhold, og endvidere, at de paa denne Maade rensede Kulturer i Reglen havde vist sig at være baade gode og ret holdbare. Hvorvidt et lignende gunstigt Resultat umiddelbart kunde opnaas ved at lade Mælkens Selvsyrning foregaa under anaërobe Forhold, hvorved de i Mælken forekommende Kim af aërobe Bakterier ikke vilde kunne formere sig, var imidlertid et Spørgsmaal, der ikke med Sikkerhed lod sig besvare uden gennem direkte Forsøg. Da det ikke usandsynligt kunde have praktisk Betydning at faa dette Spørgsmaal nøje belyst, har vi udført en stor Mængde Forsøg desangaaende, og det er Resultaterne fra disse, der her skal omtales.

Den Stribolt'ske Metode, vi hidtil havde benyttet til anaërob Dyrkning, var, som det vil erindres, noget omstændelig i Udførelsen og derfor ogsaa ret besværlig at anvende, naar det

drejede sig om Dyrkningen af mange Bakteriekulturer. Assistent A. V. Krarup fik da den Tanke at forsøge, om det ikke vilde være tilstrækkeligt at lade Mælken selvsyrne under Forhold, hvor der blev givet Mælkesøjlen en forholdsvis stor Højde, men kun en lille Overflade, og saa at foretage Saaningerne fra Mælkesøjlenes nederste Del. Det var nemlig en kendt Sag, at selv udpræget anaërobe Bakterier lod sig dyrke i Næringsgelatine, uden at man paa anden Maade behøvede at forhindre Luftens Adgang, end ved blot at give Gelatinen en tilstrækkelig stor Højde, da i saa Fald de anaërobe Bakterier vilde formere sig og danne Kolonier i den underste Del af Gelatinen, hvortil Atmosfærens Ilt ikke kunde trænge ned.

Assistent Krarup konstruerede da et Apparat, bestaaende af en Glaskolbe paa c. 100 cm³ med tilsleben, aftagelig Hals, der var fremstillet af et Glasrør paa 25 cm Længde og c. 1,5 cm Lysning. Hosstaaende Fig. 1 viser Apparatet i c. $\frac{1}{2}$ naturlig Størrelse. Efter Sterilisation fyldtes Apparatet med frisk Mælk indtil et lille Stykke fra Glasrørets øverste Ende og henstilledes ved passende Temperatur. Efter Mælkens Sammenløbning fjærnedes den aftagelige Hals med sit Indhold af Tykmælk. Den øverste Del af Kolbens Indhold bortskaffedes yderligere for Forsigtigheds Skyld ved at ryste denne med

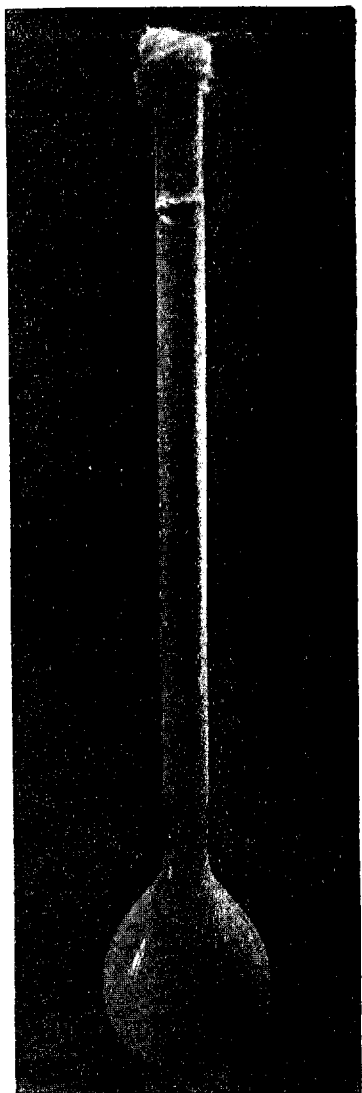


Fig. 1. Krarups Kulturapparat.

Halsen nedadvendt, hvorefter Omplantningen af Bakteriekulturen fra den resterende Del af Tykmælken foretoges i steriliseret Mælk. Denne Fremgangsmaade maatte sandsynligvis kunne give mindst lige saa gode Resultater som den Stribolt'ske, og den var i alt Fald betydelig lettere at arbejde med. Ved denne »Krarups Kulturmetode« var det ikke usandsynligt, at den ved Mælkens Selvsyrning dannede Bakteriekultur vilde saa godt som blive befriet for ærober Bakterier, idet disse fornemmelig vilde søge op mod Mælkens Overflade i det høje Glasrør, saa at de kunde fjærnes ved at aftage dette Rør med sit Indhold; medens disse Bakterier ved den Stribolt'ske Metode som oftest kun vilde blive hemmede i deres Udvikling. Den mikroskopiske Under-søgelse af Tykmælken i det lange Glasrørs øverste Del godtgjorde, at denne var forurennet med en talrig Mængde forskelligartede ærober Mikroorganismer, medens disse slet ikke forefandtes i Tykmælken fra Apparatets Kolbe.

Ogsaa Spredninger fra den øverste Del af Rørets og fra Kolbens Indhold viste, hvorledes Forureningerne havde samlet sig i Rørets øverste Del. Medens nemlig Spredningerne fra Rørets øverste Del indeholdt en ofte meget righoldig Samling af meget forskelligartede Kolonier, mellem hvilke der endda ofte var gelatinesmeltende Former, viste Spredningerne fra Kolbens Indhold kun rene Mælkesyrekolonier. I hosstaaende Figur 2 er gengivet Fotografier af to saadanne Spredninger.



Fig. 2. Bakteriekolonier paa Spredninger fra Mælk, selvsyrnet i Krarups Kulturapparat. *a* fra Apparatets Kolbe. *b* fra øverste Del af Mælken i Apparatets Hals.

Vi gik nu over til sammenlignende Forsøg med Krarups Kulturapparat og med den af os hidtil anvendte Stribolt'ske Metode. Forsøgene foretoges paa følgende Maade:

Til det første Forsøg anvendtes Børnemælk fra et københavnsk Mejeri. Mælken blev fordelt dels i to Kulturapparater og dels i 4 steriliserede Reagensglas, af hvilke sidste de to benyttedes til aërob — de andre to til anaërob Dyrkning. Kulturapparaterne og Reagensglassene henstod dernæst i Termostat ved 20° C i 5 Dage, hvorefter de blev omplantet fra Apparaterne Kolber og fra Reagensglassene over i andre Glas med steriliseret Mælk til aërob Dyrkning. Efter at alle Kulturerne paany havde været aërobt omplantet gentagne Gange i steriliseret Mælk, blev de underkastet Tykmælksprøven, og denne gentoges endnu et Par Gange med de stadigt omplantede og aërobt dyrkede Kulturer. Resultaterne fra disse Tykmælksforsøg er sammenstillede i hosstaaende Tabel VII.

Tabel VII. Points ved Tykmælksbedømmelsen.

Kultur Nr.	Forsøg	Bakteriekulturer fra Mælkens Selvsyrning:								
		behandlet aërobt			behandlet anaërobt					
					efter Stribolt			i Krarups Kulturapparat		
		Lugt	Smag	Points i alt	Lugt	Smag	Points i alt	Lugt	Smag	Points i alt
1 2	I	5 2	— —	5 2	12 11	10 10	22 21	13 12	12 11	25 23
1 2	II	— —	— —	— —	5 10	— 11*)	5 21	13 12	13 11	26 23
1 2	III	12 —	11 —	23 —	13 10	10 11**)	23 21	13 13	12 13	25 26

Af Tallene i Tabel VII vil det for det første fremgaa, at begge Kulturerne fra Mælkens Selvsyrning under aërobe Forhold fra Begyndelsen af var i høj Grad urene og vedblev at være det indtil det tredie Forsøg, i hvilket den ene af dem viste sig at være meget forbedret, den anden derimod ikke. De to Kulturer fra Mælkens Selvsyrning under anaërobe Forhold (Stri-

*) Lidt blanket.

**) Lidt blanket.

bolt) var derimod nogenlunde rene og brugbare i det første Tykmælksforsøg; men medens den ene af dem viste sig ret uforandret i det næste Forsøg, hvor den dog havde givet Tykmælken en lidt »branket« Smag, var den anden stærkt degenereret. Efter et Par Omplantninger i steriliseret Mælk og fortsat aërob Dyrkning var sidstnævnte Kultur imidlertid atter bleven bedre, saa at den ved det sidste Forsøg gav et nogenlunde godt Resultat, hvorimod den førstnævnte Kultur vedblivende gav Tykmælken en lidt »branket« Smag. Det absolut bedste Resultat erholdtes ved Mælkens Selvsyrning i Krarups Kulturapparat; begge Kulturerne fra dette maatte nemlig betragtes som baade gode og holdbare.

Angaaende Henstandstiden under den anaërobe Dyrkning drejede det sig ogsaa her, ligesom ved den anaërobe Dyrkning af Syrevækkere, om at skaffe belyst, hvor lang Tid vi skulde lade de ved Mælkens Selvsyrning under anaërobe Forhold eller i Kulturapparatet dannede Kulturer henstaa for at opnaa gode Resultater. Som det vil erindres, fandt vi ved de i forrige Afsnit omhandlede Forsøg, at en Syrevækker lod sig rense ved Henstand under anaërobe Forhold i 5 à 10 Dage; denne ret lange Henstand var nemlig nødvendig, da det gjaldt om helt at undertrykke de aërobe Bakterier, efter at de allerede havde formeret sig stærkt i den under aërobe Forhold tiltrukne Syrevækkerkultur. Lod man derimod Mælken selvsyrne under anaërobe Forhold, blev de aërobe Bakterier i den lige fra Begyndelsen af udelukkede fra at komme til Udvikling, og det var derfor ikke usandsynligt, at en kortere Henstandstid under anaërobe Forhold vilde være at foretrække, og det saa meget mere, som det ved tidligere Forsøg havde vist sig gentagne Gange, at de »brankede« Bakterier kunde komme frem, naar Henstandstiden under anaërobe Forhold blev for lang.

Endvidere vilde vi ogsaa undersøge, hvilken Indflydelse det havde, om de ved Mælkens Selvsyrning under anaërobe Forhold erholdte Kulturer blev omsaaet hver Dag eller kun hver 5te Dag.

De Forsøg, som nu skal omtales, blev altsaa anlagt paa at faa disse Spørgsmaal besvaret.

Af frisk Sødsmælk fordeltes Portioner paa 25 cm³ i 3 steriliserede Reagensglas, og desuden fyldtes 2 Kulturapparater dermed. I et af Reagensglassene lod vi Mælken selvsyrne under

Luftens Adgang (aërobt), medens Selvsyrningen af Mælken i de to andre Reagensglas fandt Sted under fuldstændig anaërobe Forhold paa følgende Maade. Reagensglassene anbragtes i hver sin Exsiccator (à 3 Liters Rumfang), af hvilken Luften straks derefter blev udpumpet ved Hjælp af en kraftig Vandstraalepumpe, hvornæst den i Exsiccatoren resterende Ilt bortskaffedes ved en alkalisk Pyrogallol-Opløsning*), der blev fremstillet inde i Exsiccatoren derved, at et lille, aabent Præparatglas med Pyrogallussyre, der var anbragt løst i Exsiccatoren, blev bragt til at vælte i den Natronlud, hvormed Exsiccatorens Bund var dækket. Efter at have henstaaet et Døgn var Mælken fuldstændig sammenløben, og nu aabnedes den ene af Exsiccatorerne, medens den anden først blev aabnet efter 5 Dages Henstand. Da Pyrogallol-Opløsningen i Exsiccatorerne under Henstanden kun var bleven svagt farvet, var hermed godtgjort, at Mælkens Selvsyrning maatte være foregaaet under fuldstændig anaërobe Forhold. Mælkens Selvsyrning i samtlige Reagensglas og Apparater lod vi foregaa i en Termostat ved 23° C. Af de to Kulturapparater henstod det ene i ca. et Døgn, indtil Mælken i det var fuldstændig sammenløben, hvorimod det andet henstod urørt i 5 Dage. De ved Mælkens Selvsyrning under ovennævnte 5 forskelligartede Forhold udviklede Bakteriekulturer blev hver for sig omplantet i to Reagensglas med steriliseret Mælk til Dyrkning under aërobe Forhold, men saaledes, at den ene af disse Dobbeltkulturer daglig omplantedes paany i steriliseret Mælk, den anden derimod kun hver 5te Dag.

De paa denne Maade erholdte 10 Bakteriekulturer blev efter at være omplantet gentagne Gange i steriliseret Mælk under aërob Dyrkning underkastet Tykmælksprøven, og denne blev derefter foretaget paany med kortere eller længere Tids Mellemrum med de jævnlig i steriliseret Mælk omplantede Kulturer for derved at faa Oplysning om disses Holdbarhed. Resultaterne fra samtlige Tykmælksforsøg er sammenstillet i hosstaaende Tabel VIII, hvor Tallene angiver det Antal Points, Tykmælksprøverne erholdt ved Bedømmelsen.

*) Den anvendte Pyrogallol-Opløsning bestod af 80 cm³ Natronlud (Vgfid 1,₀₀) og 2 Gr. Pyrogallussyre hvilket Blandingsforhold ifølge Weyl & Goth's Undersøgelser skal absorbere Ilt bedst. (A. Ladenburg: Handwörterbuch der Chemie, VIII, B 1890, Side 662).

Tabel VIII. Resultaterne fra Tykmælksforsøgene med Bakteriekulturerne.

Forsøgsrække. Nr.	Tykmælksforsøgene udført. Dato	Antal Dage efter Bakteriekulturenes Udvikling	Mælkens Selvsyrning under almindelige Forhold (aërobt)						Mælkens Selvsyrning under fuldstændig anaërobe Forhold										Mælkens Selvsyrning i Kulturapparatet														
			Henstand i 1 Døgn. Derefter aërob Dyrkning						Henstand i 1 Døgn. Derefter aërob Dyrkning					Henstand i 5 Døgn. Derefter aërob Dyrkning					Henstand i 1 Døgn. Derefter aërob Dyrkning					Henstand i 5 Døgn. Derefter aërob Dyrkning									
			Kulturen omplantet:						Kulturen omplantet:					Kulturen omplantet:					Kulturen omplantet:					Kulturen omplantet:									
			hver Dag			hver 5. Dag			hver Dag			hver 5. Dag		hver Dag			hver 5. Dag		hver Dag			hver 5. Dag		hver Dag			hver 5. Dag		hver Dag			hver 5. Dag	
			Lugt	Smag	Points i alt	Lugt	Smag	Points i alt	Lugt	Smag	Points i alt	Lugt	Smag	Points i alt	Lugt	Smag	Points i alt	Lugt	Smag	Points i alt	Lugt	Smag	Points i alt	Lugt	Smag	Points i alt	Lugt	Smag	Points i alt	Lugt	Smag	Points i alt	
1	25/8	5	9	9	18	—	—	—	8	8	16	—	—	—	—	—	—	—	10	10	20	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		
2	30/8	10	6	7	13	—	—	—	8	9	17	—	—	—	11	10	21	—	—	—	11	12	23	—	—	—	10	11	21	—	—		
3	1/9	12	7	8	15	6	5	11	10	9	19	6	6	12	10	9	19	9	10	19	11	12	23	13	12	25	10	10	20	12	13	25	
4	6/9	17	8	9	17	3	—	3	8	8	16	7	8	15	13	14	27	12	12	24	14	14	28	10	11	21	14	14	28	10	10	20	
5	20/9	31	—	—	—	2	—	2	—	—	—	13	13	26	14	14	28	13	13	26	12	12	24	12	12	24	14	14	28	12	12	24	
6	19/10	60	—	—	—	—	—	—	—	—	—	14	13	27	14	13	27	10	10	20	14	14	28	13	14	27	13	13	26	14	14	28	
7	25/10	67	—	—	—	—	—	—	—	—	—	14	14	28	14	12	26	13	14	27	13	14	27	13	12	25	14	14	28	14	13	27	
8	7/11	109	—	—	—	—	—	—	—	—	—	12	8	20	—	—	—	—	—	—	13	14	27	—	—	—	12	12	24	—	—	—	
9	23/12	124	—	—	—	—	—	—	—	—	—	12	11	23	—	—	—	—	—	—	12	12	24	—	—	—	12	12	24	11	11	22	
10	30/12	132	—	—	—	—	—	—	—	—	—	11	11	22	—	—	—	—	—	—	11	13	24	—	—	—	—	—	—	14	14	28	
11	12/1	145	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	12	13	25	—	—	—	—	—	—	—	—	—	

Sammenholdes først de Tal i Tabel VIII, der angaar Bakteriekulturen fra Mælkens Selvsyrning under alm. ærobe Forhold, vil det ses, at denne Kultur var af en meget daarlig Beskaffenhed, samt at den degenererede hurtigere ved Omplantning hver 5te Dag end ved daglig Omplantning. Som det vil erindres, fandt vi, at det omvendte var Tilfældet med en i forrige Afsnit omtalt ærobt dyrket Kultur af lignende Oprindelse som denne, men denne Uoverensstemmelse maa nærmest forklares ved, at ærobt tiltrukne Kulturer i Virkeligheden bestaar af en Blanding af saa mange forskelligartede Bakterier, at den Maade, hvorpaa en saadan Kultur vil forholde sig, ganske kommer til at afhænge af de Bakterier eller Arter af Bakterier, der under de givne Forhold bliver de dominerende.

Sammenholdes dernæst de Tal, der giver Oplysning om Beskaffenheden af Bakteriekulturerne fra Mælkens Selvsyrning under fuldstændig anaærobe Forhold, vil det for det første ses, at den Kultur, der var dannet i Mælken under 1 Døgn Henstand og derefter daglig omplantet i steriliseret Mælk under ærobt Dyrkning, var vedblivende af meget tarvelig Beskaffenhed. Ogsaa ved Omplantning hver 5te Dag var Kulturen til at begynde med ret tarvelig; men under dens fortsatte Omplantning og ærobe Dyrkning i steriliseret Mælk blev den meget forbedret, saa at den efter en Maanedes Forløb viste sig at være endog særdeles god; senere tabte Forbedringen sig dog noget. Det vil endvidere ses, at den Kultur, der var dannet under Mælkens Henstand i 5 Dage, viste sig at være ret god efter at have været omplantet nogle Gange i steriliseret Mælk og dyrket ærobt. Ved daglig Omplantning forbedredes Kulturen ret hurtigt og saa betydeligt, at den maatte betragtes som en fortrinlig Syrevækkerkultur, der gav Tykmælken en ren aromatisk Lugt. Ikke fuldt saa god en Syrevækkerkultur erholdtes ved kun at omplante Kulturen hver 5te Dag.

Resultaterne fra disse Forsøg stod i god Overensstemmelse med de fra de tilsvarende i forrige Afsnit omtalte Forsøg.

Betragtes endelig de Tal, der omhandler Bakteriekulturerne fra Mælkens Selvsyrning i Kulturapparatet, vil det ses, at allerede den Bakteriekultur, der var dannet i Mælken under dens Selvsyrning i Løbet af et Døgn, gav en ret god Syrevækker, som hurtig forbedredes saa meget ved et Par Ganges Omplantning i steriliseret Mælk, at den maatte kaldes en god og holdbar

Syrevækkerkultur. Ogsaa denne Kultur gav lidt bedre Resultater ved daglig Omplantning end ved kun at omplantes hver 5te Dag. Af lignende god Beskaffenhed som denne var den ved Mæl-
kens Henstand i 5 Dage i Kulturapparatet erholdte Kultur, der ligeledes holdt sig ret uforandret i de ca. 4 Maaneder, Forsøgene med den foretoges, og den gav ogsaa lidt bedre Resultater ved at omplantes daglig end ved Omplantning hver 5te Dag.

Ifølge Resultaterne fra disse Forsøg havde Dyrkningen i Kulturapparatet vist sig Dyrkning under fuldstændig anaërobe Forhold overlegen derved, at den i kortere Tid end sidstnævnte har kunnet give gode Resultater, hvad der ogsaa stod i Overensstemmelse med disse to Dyrkningsmetoders indbyrdes forskellige Virkemaader.

Ved disse sammenlignende Forsøg er det altsaa godtgjort, at det i Virkeligheden lader sig gøre at fremstille baade gode og holdbare Syrevækkere ved at lade frisk og god Mælk selvsyrne under anaërobe Forhold, hvad enten dette sker ved at bortskaffe Ilten fuldstændig fra det Apparat, hvori Mælkens Selvsyrning skal foregaa, eller ved at benytte Kulturapparatet. Hvor Talen drejer sig om at anvende denne Fremgangsmaade i Praksis, vil Kulturapparatet selvfølgelig være langt at foretrække. Forsøgene har vist, at Mælkens Henstandstid under anaërobe Forhold, naar Kulturapparatet benyttes, ikke behøver at være længere end til det Tidspunkt, hvor Mælkens fuldstændige Sammenløbning har fundet Sted, men den kan dog meget godt forlænges indtil 5 Dage uden skadelige Følger. Ved en endnu længere Henstandstid risikeres Fremkomsten af »branket Mælks« Bakterier.

Til de hidtil omtalte Forsøg over Fremstillingen af Syrevækkere ved at lade frisk og god Mælk selvsyrne under anaërobe Forhold havde vi kun anvendt sammenblandet Mælk fra mange og store Kobesætninger, nemlig den Sødælk, der leveres fra de store Mælkeforsyninger i København. Hvorvidt imidlertid lignende gode Resultater, som de hidtil erholdte, ogsaa vilde faas, naar der til Fremstillingen af Syrevækkere paa den nys beskrevne Maade blev benyttet Mælk fra smaa Kohold, var et Spørgsmaal, som paa Forhaand ikke lod sig besvare. Vi besluttede derfor at tage dette Spørgsmaal op til Undersøgelse, og for at fremskaffe det ønskede Materiale til

nye Forsøg rettede vi en Forespørgsel til Mejeribestyrer S. Pedersen i Andelsmejeriet »Hedelykke« ved Hedehusene, om han vilde give os Tilladelse til ret jævnlig at udtage Prøver af den til Mejeriet fra dets forskellige Andelshavere leverede Mælk straks efter dens Ankomst til Mejeriet, hvad Mejeribestyrer Pedersen med sin sædvanlige store Imødekommenhed tillod os. Mælkeprøverne blev udtagne i steriliserede Flasker og straks efter Ankomsten til Laboratoriet fyldte paa Kulturapparater. Efter 5 Dages Henstand ved alm. Stuetemperatur blev Bakteriekulturen fra hvert Apparat omplantet i steriliseret Mælk til ærøb Dyrkning, og efter at alle Kulturerne havde været omplantede flere Gange med fortsat ærøb Dyrkning, blev de undekastet Tykmælksprøven. Der udførtes paa denne Maade i alt 102 Forsøg med Mælk fra 65 Andelshavere, og med Mælken fra 21 af disse gentoges Forsøgene flere Gange.

Dersom samtlige af Mælken fra de forskellige Leverandører fremstillede Syrevækkere fordeles i Grupper efter deres ved »Tykmælksprøven« fundne Beskaffenhed, faas følgende Resultat:

- 30.4 pCt. af de fremstillede Syrevækkere gav Tykmælken en god og ren Lugt og Smag.
- 22.6 — af de fremstillede Syrevækkere gav Tykmælken en tvivlsom ren Lugt og Smag.
- 34.3 — af de fremstillede Syrevækkere gav Tykmælken en »branket« Lugt og Smag.
- 12.7 — af de fremstillede Syrevækkere gav Tykmælken en uren Lugt og Smag.

Flere af de her omhandlede Syrevækkere blev dyrket (ærøbt) i længere Tid under jævnlig Omplantning i steriliseret Mælk for at faa Oplysning om deres Holdbarhed. To af de gode Syrevækkere blev saaledes dyrket i 11 Maaneder, og i Løbet af den Tid underkastet Tykmælksprøven 7 à 8 Gange; de var begge fremstillet i Maj Maaned, den ene af Mælk fra Leverandør Nr. 67, den anden af Mælk fra Leverandør Nr. 68, og de holdt sig uforandret gode hele Forsøgstiden igennem. Af Mælken fra sidstnævnte Leverandør blev der paany fremstillet Syrevækker baade i Slutningen af August samme Aar og sidst i September næste Aar, begge Gange med meget godt Resultat. Derimod gav Mælken fra førstnævnte Leverandør (Nr. 67)

mindre gode Syrevækkere i de tre Forsøg, der blev foretaget med den henholdsvis i Begyndelsen og i Slutningen af September samt sidst i Oktober det følgende Aar. Endvidere blev 4 andre af de gode Syrevækkere dyrket ærobt i 4 à 5 Maaneder under jævnlig Omplantning i steriliseret Mælk, og først i Slutningen af denne Tid var de gaaet lidt tilbage i Godhed. I et enkelt Tilfælde hændte det, at en oprindelig god Syrevækker blev »branket« efter at være dyrket i steriliseret Mælk under jævnlig Omplantning i lidt over en Maaned.

Af de »tvivlsomme« Syrevækkere blev flere ligeledes dyrket (ærobt) i steriliseret Mælk under hyppig Omplantning i over en Maaned; men kun én af dem blev derved saa betydelig forbedret, at den maatte betragtes som meget god; de øvrige derimod blev alle under Dyrkningen mere og mere tarvelige og endte med at blive »urene« eller »brankede«.

De Syrevækkere, som oprindelig var »brankede«, vedblev at være det under fortsat Dyrkning med jævnlig Omplantning i steriliseret Mælk. Vore Forsøg med en og samme Leverandørs Mælk, der havde givet »branket« Syrevækker, viste, at ofte med et Aars Mellemlum, gav Mælken fra paagældende Leverandør vedblivende »brankede« Syrevækkere. Det var f. Eks. Tilfældet med Mælken fra Leverandør Nr. 12, der to Gange i det første Aar gav »brankede« Syrevækkere, nemlig baade den 11. April og den 23. Maj; men ogsaa den 28. August i det følgende Aar var det samme Tilfældet. Ligeledes gav Mælken fra Leverandør Nr. 157 to Gange i det første Aar »brankede« Syrevækkere, nemlig den 4. September og den 8. November. I det følgende Aar gav Mælken den ene Gang en tarvelig Syrevækker og næste Gang en »uren«; men Aaret derefter gav Mælken atter en »branket« Syrevækker. I et Par Tilfælde hændte det dog, at Mælken fra to Leverandører gav »brankede« Syrevækkere det første Aar, men derimod gode Syrevækkere to Aar senere. De mange Tilfælde af »brankede« Syrevækkere, vore Forsøg har at opvise, tyder paa, at »branket Mælk« Bakterierne maa findes ret almindelig udbredte.

For noget nærmere at undersøge Fejlen »branket« blev der gjort følgende Undersøgelser. Fra en af de ovenfor nævnte udpræget brankede Syrevækkere blev der podet paa 3 Portioner steriliseret Mælk, som hensattes ved 15°, 20° og 30° C. De saaledes fremstillede Kulturer blev underkastet Tykmælksbe-

dømmelsen, og denne viste, at Branketheden havde holdt sig baade i den ved 15° og den ved 20° tiltrukne Kultur, medens den Kultur, der var trukket til ved 30°, gav Tykmælken en i høj Grad fordærvet Lugt og Smag.

Fra den ene af disse stærkt »brankede« Syrevækkere foretoges dernæst Spredning i Mælkegelatine, og af de deri udviklede Kolonier omplantedes 5 i hver sit Glas med steriliseret Mælk. Efter Mælkens Sammenløbning blev hver af disse Kulturer omplantet i to Reagensglas med steriliseret Mælk, hvoraf det ene dernæst henstod i 7 Dage under anaërobe Forhold, det andet derimod aërobt. Alle Kulturerne besad en meget ringe Evne til at koagulere Mælk, saa at de Tykmælksforsøg, der blev foretaget med dem ved alm. Stuetemperatur, alle mislykkedes. Ved at foretage Tykmælksprøven ved 25° C gav baade de anaërobt dyrkede og de aërobt dyrkede Kulturer i Løbet af et Døgn en ufuldkommen Sammenløbning af Mælken, der imidlertid i alle Tilfælde erholdt en stærk »branket« Lugt. De »brankede« Bakterier, med hvilke disse Undersøgelser blev foretaget, havde altsaa under den anaërobe Dyrkning slet ikke forandret sig hverken m. H. t. Evnen til at koagulere Mælk eller til at give denne en »branket« Lugt og Smag. Skønt de her omhandlede 5 Renkulturer af »branket Mælks« Bakterier ikke besad nogen videre stor Evne til at koagulere Mælk, var deres syredannende Evne ret stor; det viste sig nemlig, at 25 cm³ Mælkekultur af disse Bakterier efter 23 Dages Henstand krævede fra 24.0 til 24.6 cm³ n/10 Natronlud til Nevtralisation, hvad der meget nær svarer til den Maksimums-Surhedsgrad, mange af de almindelige Mælkesyrebakterier formaar at producere i Mælk.

VI. Kærningsforsøg med Fløde, syrnet med Syrevækkere, fremstillet ved Mælkens Selvsyrning i Krarups Apparat.

For nu at undersøge, hvilken Indflydelse de ved Hjælp af Krarups Kulturapparat fremstillede Syrer havde paa Smørkvaliteten, blev der ude i 2 Mejerier udført en Række Forsøg af Overassistent *Lunde* paa den Maade, at en større Mængde af Mejeriets pasteuriserede Fløde deltes i 3 lige store Portioner, af hvilke den ene syrnedes med Mejeriets egen Syre eller med

en særlig god Syre fra et andet Mejeri, de to andre Portioner derimod med to af vore Syrevækkere. Hver Portion Fløde blev efter endt Syrning kærnet for sig, og Smørret fra dem alle tre behandlet ganske ens. Forsøgene med de samme Syrevækkere gentoges i de paafølgende to Dage, hvorefter Smørret fra alle 9 Kærningsforsøg blev pakket i hver sin Fustage og indsendt til Bedømmelse i Forsøgslaboratoriet. Bedømmelsen, som foretoges af 3 Smørhandlere, skete dels faa Dage efter Smørrets Ankomst til Laboratoriet og dels 14 Dage senere for at faa Oplysning om dets Holdbarhed. Der blev i alt udført 6 saadanne Serier af Kærningsforsøg, hvoraf hver af de 5 omfattede 3 Rækker Forsøg med 3 Kærningsforsøg i hver, den 6te derimod 5 Forsøgsrækker ligeledes med 3 Kærningsforsøg i hver. Af disse i alt 60 Kærningsforsøg blev 27 udførte i Sønderby Mejeri paa Fyn, de øvrige 33 derimod i Andelsmejeriet Kildedyb i Nørre Bjert ved Kolding. Til Flødens Syrning blev benyttet 8 forskellige af vore Syrevækkerkulturer og til Sammenligning hermed Syren fra de to Mejerier, hvor Forsøgene udførtes.

Et Overblik over Resultaterne fra disse Kærningsforsøg faas ved at sammenholde Tallene i hosstaaende Tabel IX, der angiver det Antal Points, Smørret fra alle Forsøgene med hver af de benyttede Syrevækkere i Gennemsnit erholdt.

I denne Tabel er tillige opført Resultaterne fra den i Laboratoriet foretagne Tykmælksprøve med de anvendte Syrevækkere, for derved at paavise, hvorvidt der var Overensstemmelse mellem denne og de paagældende Smørbedømmelser.

Ser man bort fra Tallene fra det første Forsøg paa Sønderby Mejeri (Syrevækker Nr. 2), fremgaar det af Tabellen, at der næppe kan siges at være nogen Forskel mellem Kvaliteten af det Smør, der var fremstillet med Mejeriernes Syre, og det, der var fremstillet med Syrerne, som var tiltrukket i Krarups Apparat. Endelig fremgaar det af Tabellen, at ved Tykmælksbedømmelserne havde alle Syrerne vist sig omtrent lige gode.

Vi ønskede imidlertid ogsaa paa anden Maade at faa skaffet Oplysning om, hvorvidt de af os fremstillede Syrevækkere vilde vise sig brugbare i den praktiske Mejeridrift, og sendte derfor Portioner paa $\frac{1}{2}$ l af nogle af vore Syrevækkere til tre veldrevne Andelsmejerier med en Anmodning til de paa-

Tabel IX. Points for Smørrets Bedømmelse.

Forsøgene udført i Mejeri:	Syrevækker mrk.	Antal Forsøg	Det Antal Points, som Smørret erholdt i Gennemsnit			Syrevækkerne var fremstillet ved Selvsyrning i Kultur-apparatet af Sødsmælk fra:	Dato	Antal Points ved „Tykmælksprøven“		
			ved 1. Bedøm.	ved 2. Bedøm.	Forskel i Points mellem 1. og 2. Bed.			for Lugt	for Smag	Points i alt
Sønderby	Nr 2	6	9.8	7.0	2.8	Københavns Mælkeforsyning	15/6	13	13	26
do	- 1	9	10.2	7.9	2.3	do do	3/5	13	13	26
do	Sønderbys „Syre“	6	10.5	6.8	3.7	—	—	—	—	—
do og Kildedyb	Nr. 3	6	11.0	9.0	2.0	„Hedelykke“, Leverandør 25	14/9	13	14	27
Kildedyb	- 29	3	11.0	8.7	2.3	do do 67	30/5	13	13	26
do	- 43	5	11.2	9.0	2.2	do do 48	17/1	13	13	26
do	- 46	5	11.4	8.4	3.0	do do 49	17/1	13	14	27
do	Kildedybs „Syre“	14	11.6	9.4	2.2	— — —	—	12	13	25
do	Nr. 41	3	11.7	9.0	2.7	do do 68	12/9	13	14	27
do	- 12	3	12.0	9.7	2.3	do do 155	20/2	13	14	27

gældende Mejeribestyrere om at prøve dem i Mejerierne og derefter at give os en Udtalelse om deres Brugbarhed. Resultatet var følgende: I et af Mejerierne var man meget tilfreds med den tilsendte Syrevækker, som derfor ogsaa blev benyttet dér til Flødens Syrning med meget godt Resultat. I de to andre Mejerier var man ogsaa straks tilfreds med de tilsendte Syrevækkere, men i det ene af dem svækkedes Syrevækkeren under Omplantning og Dyrkning ved en for lav Varmegrad, og i det andet Mejeri blev den først tilsendte Syrevækker forurennet under Omplantningen; medens den næste vedblev at holde sig god.

Nye Forsøg over Syrevækker-spørgsmaalets rationelle Løsning.

1. Fundet af x-Bakterierne og Forsøg med disse.

Af Resultaterne fra de Forsøg og Undersøgelser, som hidtil er omtalte, vil det være fremgaaet, at det ikke var lykkedes os ved Renkulturer af Mælkesyrebakterier eller ved Hjælp af Blandinger af to eller flere af disse at fremstille tilfredsstillende Syrevækkerkulturer, og at vore Forsøg paa ad mere praktiske Veje $\circ$: ved at tage Anaërobiosen til Hjælp for at naa til Maalet for saa vidt heller ikke var kronedes med Held, som de paa denne Maade fremstillede Syrevækkere ikke altid var gode. Selv om vi altsaa havde opnaaet en Gang imellem at fremstille en Syrevækker, som stod fuldt paa Højde med en fin Mejerisyre, var vi i og for sig lige langt fra Spørgsmaalets endelige Løsning, og frem for alt var det ikke lykkedes os i ringeste Grad at kaste Lys over, hvad det var for Faktorer, som betingede en første Klasses Syre.

Det stod os derfor mere og mere klart, at en fuldt ud tilfredsstillende Løsning af Syrevækkerspørgsmaalet ikke lod sig finde ad anden Vej end den mest rationelle, altsaa ved Hjælp af rendyrkede Bakterier. Ifølge vore tidligere indvundne Erfaringer frembød Renkultur-Spørgsmaalet ikke nogen særlig Vanskelighed, for saa vidt det kun gjaldt om at finde gode og livskraftige Mælkesyrebakterier, der kunde give Tykmælken ren Lugt og Smag, men det svage Punkt i vort Arbejde var stadig, at vore Kulturer, sammensat af rendyrkede Mælkesyrebakterier, aldrig besad den aromatiske, mildt syrlige Lugt og Smag, der findes i gode naturlige Syrevækkere.

Sandsynligheden talte da meget for, at der i Syrevækkerne maatte findes foruden de egentlige Mælkesyrebakterier visse andre Bakterier, der paa en eller anden Maade spillede en

betydningsfuld Rolle, og som hidtil var undgaaet vor Opmærksomhed. Denne Tankegang havde vi, som det vil erindres, allerede været inde paa ved de Undersøgelser, som er omtalt i Afsnit III. Den Gang, ligesom ogsaa senere, havde vi imidlertid stillet os afvisende til Tanken om, at Syrens Aroma kunde hidrøre fra andet end Bakterier af Mælkesyretypen, og derfor havde vi ogsaa ved vore mange Forsøg med Sammensætning af Syrevækkere kun arbejdet med saadanne og helst endda med de mest udprægede af dem.

Da det imidlertid stadig ikke var lykkedes os at fremstille en god, aromatisk Syrevækker ved Hjælp af Mælkesyrebakterier alene, maatte vi efterhaanden ændre vore Anskuelser, og det blev os klart, at vi maatte gaa ud fra, at der i en aromatisk Syrevækker maatte findes andre Bakterier end Mælkesyrebakterier. Vi maatte altsaa ind paa en nøjere Undersøgelse af, hvilke Bakterier der ved Siden af Mælkesyrebakterierne findes i en god, naturlig Syrevækker; og naar det var gjort, maatte vi til at prøve, hvilke Resultater Sammendyrkningen af disse Bakterier med Mælkesyrebakterier vilde give.

Disse Undersøgelser omfattede ogsaa de Bakterier, som findes i en god Mejerisyrevækker, naar den uden at være bleven forurennet havde henstaaet i saa lang Tid, at alle egentlige Mælkesyrebakterier var døde. Ved at arbejde med denne Overlevelseshæst viste det sig, at den bestod af Bakterier, som hverken formaaede at koagulere Mælk eller at danne nævneværdige Mængder af Syre, men som ved Dyrkning sammen med Mælkesyrenkulturer i forbavsende høj Grad forbedrede den Lugt og Smag, disse gav Tykmælken. Det viste sig nemlig, at medens Tykmælksprøver, fremstillet med Renkulturer af Mælkesyrebakterier, alle havde den for saadanne Kulturer karakteristiske skarpe, sure Lugt og Smag, saa havde Tykmælk, fremstillet ved Hjælp af de samme Renkulturer, tilsat Bakterieblandingen fra ovennævnte Overlevelseshæst, den behagelige, mildt syrlige Smag og den friske, rene og fyldige aromatiske Lugt, som udmærker de gode Mejerisyrevækkere. Den fundne Forskel maatte altsaa skyldes nogle af de tilsyneladende temmelig indifferente Bakterier, der findes i Overlevelseshæsten, og vi gik derfor straks i Gang med gennem Spredninger paa Pepton-Mælkegelatine at isolere de forskellige Former af disse Bakterier og prøve deres Forhold overfor Renkulturer af Mælkesyrebakterier.

I de Forsøg og Undersøgelser, som det følgende omhandler, har vi betegnet de aromagivende Bakterier, vi havde fundet i Overlevelsesresten, som x -Bakterier.

I vore første Undersøgelser i Foraaret 1911 arbejdede vi med 3 Renkulturer af disse x -Bakterier x_0 , x_1 , x_2 samt med Blandingskulturen x , fremkommet som Resultat af Podning fra selve Overlevelsesresten, og med disse har vi foretaget en Mængde Tykmælksforsøg, ved hvilke de hver for sig blev dyrket i steriliseret Mælk sammen enten med en Blanding af fire forskellige, rendyrkede Mælkesyrebakterier eller med en enkelt af disse. Saavel Blandingen af de 4 Mælkesyrebakterier, der nedenfor er betegnet ved Bogstaverne $(a+b+c+d)$, som Renkulturen af den ene af dem a blev dels for sig alene og dels med en Til sætning af en eller anden af ovennævnte Kulturer af x -Bakterier dyrket i ca. 1 Aar under jævnlig Omplantning i nye Portioner steriliseret Mælk; og i Aarets Løb foretoges en Mængde Tykmælksforsøg. I hosstaaende Tabel X er angivet det Antal Points, som de respektive Kulturer i Gennemsnit fik for Lugt og Smag.

Af Tabellen vil det fremgaa, at Bakterierne x_0 og x_1 fuldt ud besad en ligesaa stor Evne som selve Blandingen af x -Bakterier til sammen med a at give Tykmælken en fortrinlig Lugt og Smag, medens Bakterien x_2 helt syntes at mangle denne Evne. Betragtes dernæst Resultaterne fra de følgende Forsøgsrækker, hvortil var anvendt Kulturer, hvori Bakterierne x , x_1 og x_2 hver for sig var dyrket sammen med en Blanding af fire forskellige Mælkesyrebakterier $(a+b+c+d)$, vil det ses, at ogsaa i disse Forsøg havde Bakterien x_1 givet et ligesaa godt Resultat som selve Blandingen af x -Bakterier, samt at Bakterien x_2 havde udøvet en Virkning i samme Retning som de andre x -Bakterier, men i ringere Grad end disse. Det maa dog her bemærkes, at de i Tabellen opførte Tal for Blandingskulturen $(a+b+c+d)+x_2$ var Gennemsnitsresultatet fra 3 Forsøg, af hvilke det ene ikke havde givet nogen Virkning af Bakterien x_2 , hvorimod de to andre havde givet ret gode Resultater, der ikke var synderlig ringere end de, der var erholdt for de tilsvarende Blandingskulturer med Bakterien x_1 eller med Blandingskulturen x . Bakterien x_2 maatte derfor henregnes til de virkelige x -Bakterier, og Grunden til, at den i flere Tilfælde ikke havde vist nogen Virkning, maatte da nærmest være

den, at den ikke havde formeret sig tilstrækkeligt under Dyrkingen sammen med de anvendte Mælkesyrebakterier.

De Blandingskulturer af Mælkesyrebakterier og x-Bakterier, med hvilke disse Forsøg blev foretaget, var alle fremstillet paa den Maade, at disse to Slags Bakterier blev udsaaet samtidig

Tabel X. Points ved Tykmælksbedømmelsen.

Kultur mrk.	Antal Forsøg	Points ved Bedømmelsen af:		
		Lugt	Smag	Points i alt
$\begin{matrix} a \\ a + x \end{matrix}$	$\left. \begin{matrix} \\ \end{matrix} \right\} 10 \left\{ \begin{matrix} \\ \end{matrix} \right.$	$\begin{matrix} 11 \\ 13 \end{matrix}$	$\begin{matrix} 11 \\ 13 \end{matrix}$	$\begin{matrix} 22 \\ 26 \end{matrix}$
$\begin{matrix} a \\ a + x_0 \end{matrix}$	$\left. \begin{matrix} \\ \end{matrix} \right\} 4 \left\{ \begin{matrix} \\ \end{matrix} \right.$	$\begin{matrix} 11 \\ 13 \end{matrix}$	$\begin{matrix} 10 \\ 14 \end{matrix}$	$\begin{matrix} 21 \\ 27 \end{matrix}$
$\begin{matrix} a \\ a + x_1 \end{matrix}$	$\left. \begin{matrix} \\ \end{matrix} \right\} 7 \left\{ \begin{matrix} \\ \end{matrix} \right.$	$\begin{matrix} 11 \\ 13 \end{matrix}$	$\begin{matrix} 10 \\ 13 \end{matrix}$	$\begin{matrix} 21 \\ 26 \end{matrix}$
$\begin{matrix} a \\ a + x_2 \end{matrix}$	$\left. \begin{matrix} \\ \end{matrix} \right\} 2 \left\{ \begin{matrix} \\ \end{matrix} \right.$	$\begin{matrix} 11 \\ 10 \end{matrix}$	$\begin{matrix} 10 \\ 10 \end{matrix}$	$\begin{matrix} 21 \\ 20 \end{matrix}$
$\begin{matrix} (a + b + c + d) \\ (a + b + c + d) + x \end{matrix}$	$\left. \begin{matrix} \\ \end{matrix} \right\} 8 \left\{ \begin{matrix} \\ \end{matrix} \right.$	$\begin{matrix} 11 \\ 13 \end{matrix}$	$\begin{matrix} 10 \\ 13 \end{matrix}$	$\begin{matrix} 21 \\ 26 \end{matrix}$
$\begin{matrix} (a + b + c + d) \\ (a + b + c + d) + x_1 \end{matrix}$	$\left. \begin{matrix} \\ \end{matrix} \right\} 7 \left\{ \begin{matrix} \\ \end{matrix} \right.$	$\begin{matrix} 11 \\ 13 \end{matrix}$	$\begin{matrix} 10 \\ 13 \end{matrix}$	$\begin{matrix} 21 \\ 26 \end{matrix}$
$\begin{matrix} (a + b + c + d) \\ (a + b + c + d) + x_2 \end{matrix}$	$\left. \begin{matrix} \\ \end{matrix} \right\} 3 \left\{ \begin{matrix} \\ \end{matrix} \right.$	$\begin{matrix} 11 \\ 12 \end{matrix}$	$\begin{matrix} 11 \\ 12 \end{matrix}$	$\begin{matrix} 22 \\ 24 \end{matrix}$

1 de Portioner steriliseret Mælk, hvori de skulde dyrkes sammen. Efter Mælkens fuldstændige Sammenløbning omplantedes Blandingskulturerne to Gange i steriliseret Mælk, hvorefter Tykmælksprøven blev foretaget. Skønt allerede det første Tykmælksforsøg i Regelen viste et tydeligt Udslag af x-Bakteriens Virkning, var det dog ikke altid Tilfældet; i saa Fald kom denne Virkning først rigtig frem efter nogen Tids fortsat Dyrk-

ning og jævnlig Omplantning af Blandingskulturen. Saa godt som alle ovenfor omtalte Forsøg viste, at de forskellige Kulturer med x-Bakterier blev ret betydelig forbedrede under deres fortsatte Dyrkning med jævnlig Omplantning i steriliseret Mælk, og at der hengik ca. 14 Dage, før Kulturerne var bleven helt gode. Efter at dette var opnaaet, holdt de sig saa godt som uforandret gennem de ca. 10 Maaneder, hvori de under jævnlig Omplantning blev dyrket og prøvet. Ved vore senere Forsøg med Blandingskulturer af x-Bakterier og Mælkesyrebakterier opnaaede vi oftest straks den fulde Virkning af x-Bakterierne, naar vi lod Kulturen af x-Bakterien i steriliseret Mælk henstaa i mindst 24 Timer, før Mælkesyrebakterien blev tilsat.

2. Er Syrevækkerens Godhed uafhængig af, hvilke Sorter x-Bakterier der benyttes?

De i det foregaaende omtalte Forsøg havde altsaa vist, at Blandingskulturer af x-Bakterier og Mælkesyrebakterier i Mod-sætning til Mælkesyrebakterier alene gav Tykmælk en fin og mild aromatisk Lugt og Smag, der i paafaldende Grad stemte overens med den Lugt og Smag, som karakteriserede Tykmælk, der var fremstillet ved Hjælp af en god Mejerisyre, men tillige, at Virkningen af de benyttede x-Bakterier ingenlunde var ens. Det havde da for vore Undersøgelser stor Betydning at faa oplyst noget om de forskellige x-Bakteriers forskellige Virkning, og tillige i hvor høj Grad en og samme x-Bakteries Virkning afhang af, hvilke Mælkesyrebakterier den dyrkedes sammen med. Vi gik da først i Gang med at isolere et større Antal x-Bakterier fra en anden god Mejerisyre. Dette skete paa sædvanlig Maade ved at lade Syrevækkeren henstaa ved 20° C, indtil dens Koagulationsevne ved Ompodning paa Mælk viste sig at være gaaet tabt, og ved efter passende Omsaaning paa Mælk af de Bakterier, der havde vist sig at have overlevet Henstandstiden, at foretage Spredninger paa Pepton-Mælkegelatine. Pladekulturerne henlagdes i 10 Dage ved 20° C, hvorefter 9 af Kolo-nierne udsaaedes paa steril Mælk.

Med disse 9 nye x-Bakterier blev der foretaget flere Forsøg, hvor de hver især blev dyrket sammen med Renkulturer af 4 forskellige Mælkesyrebakterier, for paa denne Maade at faa

Oplysning om, hvorvidt de lod sig dyrke lige godt med den ene eller anden af disse Bakterier.

Resultaterne af alle disse Forsøg findes sammenstillede i hosstaaende Tabel XI, som angiver det Antal Points for Lugt og Smag, som de forskellige Bakterieblandinger fik ved Tykmælksbedømmelsen, og hvor hver af de 9 nye x-Bakterier er betegnet ved Indexnumre 1—9, medens Mælkesyrebakterierne er betegnet ved Numre. Af disse Mælkesyrebakterier skrev Nr. 126 sig fra en Prøve særlig fint Smør, Nr. 13 fra en Prøve

Tabel XI. Points ved

I				II			
Blandings- kultur af:	Points			Blandings- kultur af:	Points		
	for Lugt	for Smag	i alt		for Lugt	for Smag	i alt
Nr.				Nr.			
$x_1 + 126$	14	14	28	$x_1 + 13$	13	13	26
$x_2 + 126$	14	14	28	$x_2 + 13$	—	—	—
$x_3 + 126$	12	13	25	$x_3 + 13$	14	14	28
$x_4 + 126$	14	14	28	$x_4 + 13$	12	12	24
$x_5 + 126$	13	13	26	$x_5 + 13$	13	14	27
$x_6 + 126$	13	13	26	$x_6 + 13$	13	13	26
$x_7 + 126$	13	13	26	$x_7 + 13$	14	14	28
$x_8 + 126$	12	13	25	$x_8 + 13$	14	14	28
$x_9 + 126$	13	13	26	$x_9 + 13$	11	11	22
Renkultur 126	11	11	22	Renkultur 13	11	11	22

Kærnemælk og Nr. 19 samt Nr. 1 fra Mælk, der var selvsysrnet i Krarups Kulturapparat.

Af Tabellen fremgaar det, at alle 9 nye x-Bakterier var i Besiddelse af den samme karakteristiske Evne som de tidligere af os fundne x-Bakterier, men at denne Evne kunde udvikles noget forskelligt og undertiden slet ikke komme frem, eftersom de var bleven dyrket sammen med den ene eller den anden af de Mælkesyrebakterier, der var anvendt til Forsøgene.

For at belyse dette Punkt noget nærmere og for muligvis samtidig at faa Oplysning om, hvorvidt man i Bakteriernes Syreproduktionsevne skulde kunne finde Holdepunkt med Hensyn til Afgørelsen af, hvilke Mælkesyrebakterier der bedst eg-

nede sig til at dyrkes sammen med x-Bakterierne, bestemte vi os til at udføre følgende Undersøgelser.

Fra en selvsyrnet Mælk blev der foretaget en Række Spredninger, som resulterede i 20 Mælkesyrenenkulturer. For først at søge disse Renkulturers syredannende Evne belyst blev de dyrket dels paa Mælk og dels paa Næringssubstrater, der indeholdt en af de 2 Sukkerarter Dextrose eller Mannit.*) Resultaterne af disse Undersøgelser er opført i hosstaaende Tabel XII, hvor Syreproduktionen er angivet ved det Antal cm^3 $\text{n}/_{10}$ Natron,

Tykmælksbedømmelsen.

III				IV			
Blandings- kultur af:	Points			Blandings- kultur af:	Points		
	for Lugt	for Smag	i alt		for Lugt	for Smag	i alt
Nr.				Nr.			
$x_1 + 1$	14	14	28	$x_1 + 1$	Mælken ikke koaguleret		
$x_2 + 19$	Mælken ikke koaguleret			$x_2 + 1$	Mælken ikke koaguleret		
$x_3 + 19$	13	14	27	$x_3 + 1$	14	14	28
$x_4 + 19$	Mælken ikke koaguleret			$x_4 + 1$	14	14	28
$x_5 + 19$	14	14	28	$x_5 + 1$	13	14	27
$x_6 + 19$	Mælken ikke koaguleret			$x_6 + 1$	Mælken ikke koaguleret		
$x_7 + 19$	Mælken ikke koaguleret			$x_7 + 1$	Mælken ikke koaguleret		
$x_8 + 19$	13	14	27	$x_8 + 1$	13	14	27
$x_9 + 19$	11	11	22	$x_9 + 1$	13	14	27
Renkultur 19	11	11	22	Renkultur 1	12	13	25

der er medgaaet til Neutralisering af 100 cm^3 af Kulturerne, og hvor disse er opstillet i Grupper i Henhold til den Mængde Syre, de dannede i Mælk.

Med disse Bakterier blev der derpaa foretaget en Række Tykmælksbedømmelser, idet de benyttedes enten enkeltvis eller i Blandinger. I hosstaaende Tabel XIII findes opført Hovedresultatet af disse Tykmælksbedømmelser, og den giver tillige Oplysninger om, hvilke af de 20 Bakterier, der er benyttet i de

*) Næringsvædsken, hvortil var sat enten 1% Dextrose eller 1% Mannit, havde iøvrigt følgende Sammensætning: 2% Wittes Pepton, 0,15% Natriumchlorid, 0,10% Monocalciumfosfat, 0,30% Kaliumcitrat, 0,10% Magnesiumcitrat, 0,04 Kaliumchlorid og 0,20% Calciumchlorid.

Tabel XII.

Gruppe	Mælkesyre- bakterie Nr.	Titringstal		
		i Mælk	i Vædske med Dextrose	i Vædske med Mannit
A	1	87.9	62	28
	2	88.7	64	27
	14	88.3	63	17
	Gennemsnit...	88.3		
B	3	84.7	64	23
	6	85.9	60	16
	15	85.5	65	17
	Gennemsnit...	85.4		
C	5	79.1	66	28
	8	79.9	67	29
	11	77.1	66	28
	12	82.3	65	29
	13	79.5	64	29
	16	81.1	67	29
	Gennemsnit...	79.8		
D	17	69.1	47	32
	20	69.9	51	29
	Gennemsnit...	69.5		
E	4	62.3	58	35
	9	61.1	60	35
	Gennemsnit...	61.7		
G	7	30.3	37	17
	18	26.3	21	17
	Gennemsnit...	28.3		

10 Kulturer, der blev dannet, samt til hvilken af de i Tabel XII anførte Grupper vedkommende Bakterier hørte.

de 8 Kulturer, denne Bedømmelse altsaa kom til at omfatte, blev Undersøgelserne kun fortsat med de 5 bedste, som derefter blev bedømt $\frac{3}{2}$. Ved denne Bedømmelse viste VII + x_1 sig ikke mere at kunne sammenløbe Mælken, og de 4 øvrige var gaaet ret betydeligt tilbage i Kvalitet. De 3 af disse førtes imidlertid videre og bedømtes igen $\frac{12}{2}$, ved hvilken Løjlighed Kvaliteten dog viste sig igen at være bleven ikke saa lidt bedre for 2 af Kulturernes Vedkommende. Disse 2 Kulturer bedømtes igen $\frac{1}{3}$. Resultatet var, at den ene igen var gaaet noget tilbage i Kvalitet, og med den sidste udførtes saa endnu en Bedømmelse $\frac{27}{5}$ med det Resultat, at den igen var bleven saa god, som den kunde blive. -

Resultatet af Undersøgelserne var altsaa, at der af samtlige Kulturer egentlig kun var én, som med Fordel kunde dyrkes sammen med den af os valgte x-Bakterie, og som formaaede at faa den fremstillede Blandingskultur til at bibeholde sine gode Egenskaber i det lange Løb. Denne Kultur V indeholdt 2 Bakterier fra Gruppe A og en fra Gruppe B; de hørte altsaa til de Bakterier, der, podet paa Mælk, producerede de største Mængder Syre. Imidlertid maa det ikke overses, at omtrent lige saa gode Resultater blev opnaaet med Kulturen IX + x_1 , der ganske vist indeholdt de samme 2 stærkt syrnende Bakterier, men som desforuden ogsaa indholdt 2 Bakterier fra Gruppen D, altsaa Bakterier med en forholdsvis svag Syreproduktion.

Naar saa dertil kommer, dels at den stærkt syreproducerende Bakterie 2 (Kultur II) gav utilfredsstillende Resultater, og at dels andre svagt syreproducerende Bakterier end de, der indgik i Kulturen IX, gav temmelig utilfredsstillende Resultater, selv om de blev dyrket sammen med de stærkt syrnende Former 1 og 14, vil deraf fremgaa, at man i Bakteriernes Syreproduktion næppe kan have noget sikkert Middel til at afgøre, hvorvidt de vil egne sig til med godt Resultat at dyrkes sammen med x-Bakterierne.

Noget helt andet er, at man af Hensyn til Forholdene i det praktiske Mejeribrug sandsynligvis vil staa sig ved fortrinsvis at søge mellem de stærkest syrnende Mælkesyre bakterier efter de Former, man vil prøve at dyrke sammen med x-Bakterierne.

Et lige saa tydeligt Indtryk af Variationerne i de Resultater, der naas ved at dyrke forskellige x-Bakterier sammen med forskellige Mælkesyrenkulturer, vil man faa ved at gen-

nemgaa Beskrivelsen (Side 107) af det Arbejde, der blev gjort for at fremstille Syrer, der vilde vise sig holdbare ved Brug i Praksis.

3. Forskellige Forhold af Betydning for Dyrkningen af x-Bakterier sammen med Mælkesyrebakterier.

Ved Fremstillingen af de Blandingskulturer af rendyrkede Mælkesyrebakterier og x-Bakterier, hvormed vi havde foretaget disse Forsøg, var de to Slags Bakterier bleven udsaaet samtidig i den steriliserede Mælk. Da de første Tykmælksforsøg med saadanne Blandingskulturer imidlertid havde vist, at x-Bakterierne i enkelte Tilfælde slet ikke havde udøvet nogen Virkning, og at deres Virkning i andre Tilfælde havde været betydelig ringere end den, de faktisk formaaede at yde, men at den fulde Virkning opnaaedes, efter at Blandingskulturen havde været dyrket i længere Tid med hyppig Omsaaning i nye Portioner steriliseret Mælk, saa kunde dette tyde paa, at x-Bakterierne, naar de var udsaaet samtidig med Mælkesyrebakterierne, ikke altid havde formaaet at fornere sig hurtigt nok, saa at Mælken ved Mælkesyrebakteriernes hurtige Vækst var løben sammen, uden at x-Bakterierne havde faaet Tid til at udøve nogen synderlig stor Virkning. Hvis nu dette virkelig forholdt sig saaledes, maatte der kunne ventes bedre Resultater, naar x-Bakterierne blev udsaaet i den steriliserede Mælk saa længe før Mælkesyrebakterierne, at de var kommen i yppig Vækst, før disse tilsattes. De Forsøg, vi har foretaget for at faa Bekræftelse paa, om vor Formodning var rigtig, udførtes paa følgende Maade med en og samme x-Bakterie og 3 forskellige Mælkesyrebakterier. Bakterien x_3 udsaaedes i 3 Glas med steriliseret Mælk, og efter at disse havde henstaaet i Termostaten ved 25° C i 24 Timer, blev Glassene podet med hver sin Renkultur af Mælkesyrebakterierne Nr. 4, Nr. 19 og Nr. 20. Samtidig hermed blev 3 andre Glas med steriliseret Mælk podet med Bakterien x_3 og umiddelbart derefter desuden med hver sin af de nævnte Mælkesyrebakterier, og endelig blev disse tre Mælkesyrebakterier udsaaet alene i hver sit Glas med steriliseret Mælk. De paa denne Maade fremstillede 9 forskellige Kulturer underkastedes derpaa Tykmælksprøven. Resultaterne fra Bedømmelsen af Tykmælksprøverne findes sammenstillet i hosstaaende T a b e l XV, af hvilken det

Tabel XV.

Forsøgs-Række	Kultur nrk.	x-Bakteriekulturens Alder, da Mælke- syrebakterien til- sattes.			Points for			Kultur nrk.	x-Bakteriekulturens Alder, da Mælke- syrebakterien til- sattes.			Points for			Kultur nrk.	x-Bakteriekulturens Alder, da Mælke- syrebakterien til- sattes.			Points for		
		Timer	Lugt	Smag	Points i alt	Timer	Lugt		Smag	Points i alt	Timer	Lugt	Smag	Points i alt		Timer	Lugt	Smag	Points i alt		
I	Renkultur Nr. 4	{	11	11	22	{	Renkultur Nr. 20	{	11	11	22	{	Renkultur Nr. 19	{	11	11	22	{	11	11	22
	Blandings- kultur $x_3 + 4$																				
	do.																				
II	Renkultur Nr. 4	{	11	11	22	{	do.	{	11	11	22	{	Blandings- kultur $x_3 + 19$	{	11	11	22	{	11	11	22
	Blandings- kultur $x_3 + 4$																				
	do.																				

vil fremgaa, at der blev udført 2 Rækker Tykmælksforsøg. I de Forsøg, hvor x-Bakteriekulturens Alder er angivet til 0 Timer, da Mælkesyrebakterien blev tilsat, er disse to Slags Bakterier blevet udsaaet samtidig. Ved at sammenholde Tallene, der angiver det Antal Points, de respektive Kulturer fik ved Tykmælksprøven, vil det ses, at i Forsøgsrække I havde alle tre Blandingskulturer, hvor x-Bakterien og Mælkesyrebakterierne var udsaaet samtidig, altsaa Kulturerne: $x_3 + 4$, $x_3 + 20$, $x_3 + 19$, ikke faaet et større Antal Points for Lugt og Smag end de respektive Renkulturer af Mælkesyrebakterierne alene. Dette vil med andre Ord sige, at x-Bakterien i disse Blandingskulturer slet ikke havde ydet nogen Virkning. Hver af de tilsvarende Blandingskulturer, hvor x-Bakterien var bleven udsaaet 24 Timer forud for Mælkesyrebakterierne, havde derimod faaet i alt 6 Points mere end de respektive Renkulturer af Mælkesyrebakterier, saa at x-Bakterien her havde ydet god Virkning.

Da det imidlertid vilde have sin Interesse at undersøge, om et Forspring paa mere end 24 Timer ogsaa vilde øve god Virkning, foretog vi den Række Forsøg, hvis Resultater er fremsat i Tabel XV Forsøgsrække II, og hvor Blandingskulturerne af Bakterierne x_3 og Mælkesyrebakterierne blev fremstillet paa følgende Maade. Bakterien x_3 blev i 3 paa hinanden følgende Dage udsaaet i to Glas med steriliseret Mælk, saa at der den 4de Dag havdes 6 Mælkekulturer, af hvilke 2 var 24 Timer, 2 andre 48 Timer og de 2 øvrige 72 Timer gamle; til den ene af disse x-Bakteriekulturer af samme Alder tilsattes nu Mælkesyrebakterien Nr. 4 og til den anden Mælkesyrebakterien Nr. 20, hvorefter alle saaledes fremstillede Blandingskulturer blev henstillet i Termostaten ved 25° C. Efter Kulturernes fuldstændige Koagulation, der fandt Sted meget nær samtidig, blev de benyttet til Tykmælksprøven. Resultaterne fra denne Prøve viser, at de Kulturer, hvor x-Bakterien var udsaaet henholdsvis 48 og 72 Timer forud for Mælkesyrebakterierne, ikke havde givet bedre Resultater end de Kulturer, hvor x-Bakteriekulturen kun var 24 Timer gammel, da Mælkesyrebakterierne blev tilsat; alle Kulturerne havde givet udmærket gode Resultater.

Skønt det ogsaa ved vore senere foretagne Forsøg med Blandingskulturer af x-Bakterier og Mælkesyrebakterier stadig viste

sig, at de Kulturer, hvor x-Bakterien var bleven udsaaet 24 Timer forud for Mælkesyre bakterien, i Regelen gav særdeles gode Resultater, saa er det dog af og til hændet, at x-Bakteriens Virkning enten var helt udebleven eller havde været ringe, og det særlig, naar Kulturen var bleven dyrket ved 25° C. Dette kunde tyde paa, at en Varmegrad af 25° C rimeligvis ikke var heldig for slige Blandingskulturer, idet den maaske var mere gunstig for Mælkesyrebakterierne end for x-Bakterierne. Vi foretog derfor nogle Forsøg med Dyrkningen af Blandingskulturer af x-Bakterier og Mælkesyrebakterier ved 25° C, 20° C og 16° C. Forsøgene udførtes paa følgende Maade: 3 Blandingskulturer af en og samme Mælkesyrebakterie og hver sin Varietet af x-Bakterier blev hver for sig omplantet i steriliseret Mælk og hensat ved 25° C, 20° C og 16° C. Forsøgene blev gentaget et Par Gange, den ene ved henholdsvis 25° og 16° C, den anden ved henholdsvis 20° og 16° C. Efter at Koagulation var indtraadt, blev alle Kulturerne benyttede til Tykmælksprøven; de herved erholdte Resultater er sammenstillet i hosstaaende Tabel XVI. Af Tallene i denne Tabel vil det fremgaa, at de bedste Resultater erholdtes uden Undta-

Tabel XVI.

Blandings- kultur mrk.	Blandingskulturer af x-Bakterier og Mælkesyrebakterier, dyrket ved C°								
	25			20			16		
	Points ved Bedømmelsen af:								
	Lugt	Smag	Points i alt	Lugt	Smag	Points i alt	Lugt	Smag	Points i alt
x ₃ + 13	12	12	24	—	—	—	13	14	27
do.	12	12	24	—	—	—	13	14	27
do.	—	—	—	11	12	23	13	13	26
x ₇ + 13	14	13	27	—	—	—	14	14	28
do.	12	12	24	—	—	—	13	14	27
do.	—	—	—	12	12	24	13	13	26
x ₈ + 13	11	12	23	—	—	—	14	14	28
do.	11	11	22	—	—	—	14	14	28
do.	12	12	24	—	—	—	14	14	28
do.	—	—	—	13	14	27	14	14	28
Gennemsn.	12	12	24	12	13	25	13	14	27

gelse for Kulturerne, der var bleven dyrket ved 16° C, og at x-Bakterierne her havde udøvet deres fulde Virkning i 8 af de 10 foretagne Forsøg, men ogsaa i de 2 øvrige Forsøg havde deres Virkning været tilfredsstillende. Af de ved 25° C dyrkede Kulturer havde kun én, nemlig x_7+13 , i det ene af de to Forsøg givet omtrent ligesaa gode Resultater som de, der var erholdt ved 16° C. For alle de øvrige Kulturer var Resultaterne fra Dyrkningen ved 25° C betydelig ringere end de, der var opnaaet ved Dyrkningen ved 16° C. Der blev kun foretaget 3 Forsøg med Kulturerne Dyrkning ved 20° C, men heraf fremgik, at de 3 Blandingskulturer havde givet indbyrdes afvigende Resultater; kun den ene af dem, nemlig x_8+13 , havde givet et meget godt Resultat, der omtrent var ligesaa godt som det, denne Blandingskultur havde givet ved at dyrkes ved 16° C.

Endnu skal her omtales nogle Forsøg, hvor vi ved en hel anden Fremgangsmaade straks har opnaaet god Virkning af x-Bakterierne, nemlig ved at kultivere x-Bakterierne og Mælkesyrebakterierne hver for sig som Renkulturer, og saa først blande begge Slags Kulturer sammen i den pasteuriserede Mælk, der skulde anvendes til Tykmælksprøven. Resultaterne fra de sammenlignende Forsøg, vi har foretaget for at prøve denne Fremgangsmaade, hvor der tillige for Sammenlignings Skyld blev anvendt de sædvanlige af os fremstillede Blandingskulturer af x-Bakterier og Mælkesyrebakterier samt Renkulturer af Mælkesyrebakterierne alene, findes sammenstillet i hosstaaende Tabel XVII. I denne Tabel er Kulturerne af henholdsvis x-Bakterier og Mælkesyrebakterier, der blev dyrket hver for sig, indtil de blev anvendte til Tykmælksprøven, betegnet ved Parenteser baade om Bogstavet x og om Tallet, altsaa f. Eks. $(x_3)+(2)$, medens der ved Betegnelsen uden Parenteser, altsaa ved x_3+2 , er at forstaa, at de to Slags Bakterier fra Begyndelsen af var dyrket sammen. De til disse Forsøg benyttede Kulturer, altsaa baade Renkulturerne og Blandingskulturerne, var alle kultiverede ved 20° C.

Det vil af Tallene i Tabel XVII fremgaa, at i de Forsøg, hvor Renkulturer af x-Bakterier og af Mælkesyrebakterier først blev blandet sammen i Mælken til Tykmælksprøven, der havde Tykmælken ved Bedømmelsen erholdt i alt 5 Points mere

end den Tykmælk, der var fremstillet ved Hjælp af den paa-gældende Renkultur af Mælkesyrebakterien. I Forsøgene, hvor der var anvendt Blandingskulturer af sammendyrkede x-Bakterier og Mælkesyrebakterier, havde Tykmælken derimod kun i ét Tilfælde erholdt 3 Points over og i de øvrige Tilfælde kun 1 Point over Tykmælken, hvortil Mælkesyrebakterien var anvendt alene.

Det vil endvidere ses, at Tykmælken, hvortil var anvendt $(x_3) + (2)$, ved Bedømmelsen erholdt 28 Points i alt, medens Tykmælken, fremstillet ved $(x_3) + (5)$, kun havde opnaaet 25 Points i alt. Denne Forskel maa vistnok alene skyldes den

Tabel XVII

Kultur mrk.	Bemærkninger om Kulturerne.	Points ved Bedømmelsen af:		
		Lugt	Smag	Points i alt
$x_3 + 2 \dots \dots 1 \}$	Ny Blandingskultur	12	12	24
$ 2 \}$		12	12	24
$x_3 + 2 \dots \dots 1 \}$	Ældre Blandingskultur	13	13	26
$ 2 \}$		12	12	24
$(x_3) + (2) \dots 1 \}$	Kulturerne blandede, da de benyttedes	14	14	28
$ 2 \}$		14	14	28
$2 \dots \dots 1$	Renkultur af Mælkesyrebakt.	12	11	23
$(x_3) + (5) \dots 2$	Kulturerne blandede, da de benyttedes	13	12	25
$5 \dots \dots 2$	Renkultur af Mælkesyrebakt.	10	20	20

Omstændighed, at Renkulturen af Mælkesyrebakterien Nr. 5 ifølge Tykmælksprøven havde vist sig at være betydelig ringere m. H. t. Lugt og Smag end Renkulturen af Mælkesyrebakterien Nr. 2, idet denne sidste ved Bedømmelsen erholdt 3 Points i alt mere end førstnævnte.

I de Forsøg, vi hidtil har omtalt, havde vi dyrket baade vore Renkulturer af Mælkesyrebakterier og x-Bakterier og vore Blandingskulturer af disse to Slags Bakterier i steriliseret Mælk, der ofte havde henstaaet lang Tid, før den blev anvendt og følgelig havde kunnet optage saa megen atmosfærisk Luft, at den maatte betragtes som luftmættet, medens Mælken i de Glas, der straks blev anvendte, maatte have været saa godt som luftfri. Om dette Forhold

imidlertid kunde have Indflydelse paa x-Bakteriernes Trivsel lod sig paa Forhaand ikke afgøre. For at faa dette Spørgsmaal nærmere belyst, foretog vi en Række sammenlignende Forsøg, hvor en og samme Blandingskultur af rendyrkede x-Bakterier og Mælkesyrebakterier blev dyrket baade i Glas med steriliseret Mælk, der kort Tid forud var bleven befriet for sit Indhold af atmosfærisk Luft ved Udkogning, og i Glas med steriliseret Mælk, der ved ret lang Tids Henstand var bleven luftmættet.

Resultaterne fra disse Forsøg findes sammenstillede i hestaaende Tabel XVIII.

Det vil af Tabel XVIII fremgaa, at der til disse Forsøg blev anvendt 4 forskellige Kulturer, af hvilke henholdsvis to og to indeholdt de samme Mælkesyrebakterier, men derimod hver sin Varietet af x-Bakterier. Den til Dyrkningen af disse Bakterieblandinger benyttede luftfri Mælk henstod efter Udkogningen i 2 à 3 Timer, før den anvendtes. Efter at Bakterieblandingerne var bleven omplantet i den, henstod den ved 25° C til Koagulation, der indtraadte efter 17 Timers Henstand, og saadanne Omplantninger blev foretaget daglig i Løbet af en Uge, hvorefter Kulturerne blev underkastet Tykmælksbedømmelse. Det vil af Tabel XVIII endvidere ses, at der med hver af de 4 Bakterieblandinger er foretaget tre Rækker Tykmælksforsøg. I Tabel XVIII er der endelig opført baade Resultaterne fra Tykmælksbedømmelserne og fra Syretitreringerne af de i nogle Dage henstaaede Kulturer, saa at disse sidstnævnte Tal angiver Maksimum-Syredannelsen i de forskellige Kulturer.

Sammenholdes Resultaterne fra Tykmælksprøven for de i luftfri (udkogt) Mælk dyrkede Kulturer med de tilsvarende Resultater fra Tykmælksprøven for de i luftmættet Mælk dyrkede, vil det ses, at Forskellen mellem dem er gennemgaaende meget ringe, samt at den i de tre Tykmælksforsøg, der udførtes med hver Bakterieblanding, snart faldt ud til Gunst for den luftfri Mælk og snart til Gunst for den luftmættede Mælk; men i flere Tilfælde var Resultaterne ganske ens for begge. For hver enkelt Blandingskultur var Gennemsnitsresultaterne ogsaa meget nær ens for luftfri og luftmættet Mælk, og det samme var Tilfældet med Gennemsnitsresultaterne fra alle Forsøgene. Sammenholdes Tallene i Tabel XVIII, der angiver Kulturernes Syreindhold, vil det vise sig, at skønt

Tabel XVIII.

Kultur mrk.	Dato	Dyrkning i luftfri (udkogt) Mælk				Dyrkning i luftmættet Mælk			
		Points ved Bedømmelsen			Titre- ringstal	Points ved Bedømmelsen			Titre- ringstal
		Lugt	Smag	Points i alt		Lugt	Smag	Points i alt	
$x_1 + III$	$\left\{ \begin{array}{l} 14/3 \\ 1/4 \\ 22/4 \end{array} \right.$	12	13	25	110.0	13	13	26	114.8
		13	14	27	116.0	13	14	27	116.0
		14	14	28	117.2	13	13	26	114.8
Gennemsnit.		13.0	13.7	26.7	114.4	13.0	13.3	26.3	115.2
$x_4 + III$	$\left\{ \begin{array}{l} 14/3 \\ 1/4 \\ 22/4 \end{array} \right.$	13	13	26	112.4	14	14	28	112.2
		14	15	29	120.0	13	14	27	116.4
		13	13	26	118.0	{ Mælken var ikke koaguleret }			120.8
Gennemsnit.		13.3	13.7	27.0	116.8	13.5	14.0	27.5	116.5
$x_3 + V$	$\left\{ \begin{array}{l} 14/3 \\ 1/4 \\ 22/4 \end{array} \right.$	13	13	26	111.2	13	14	27	113.2
		13	14	27	116.8	13	14	27	120.8
		13	14	27	115.6	13	13	26	119.6
Gennemsnit.		13.0	13.7	26.7	114.5	13.0	13.7	26.7	117.9
$x_4 + V$	$\left\{ \begin{array}{l} 14/3 \\ 1/4 \\ 22/4 \end{array} \right.$	13	14	27	113.6	13	13	26	113.2
		13	14	27	116.0	13	14	27	115.2
		13	14	27	115.2	13	13	26	120.8
Gennemsnit.		13.0	14.0	27.0	114.9	13.0	13.3	26.3	116.4
Total Gsn..		13.1	13.8	26.9	115.2	13.1	13.7	26.8	116.4

Kultur mrk.	Dato	Anaërob Dyrkning				Aërob Dyrkning			
		Points ved Bedømmelsen			Titre- ringstal	Points ved Bedømmelsen			Titre- ringstal
		Lugt	Smag	Points i alt		Lugt	Smag	Points i alt	
$x_4 + III$	$\left\{ \begin{array}{l} 4/4 \\ 23/4 \\ 4/4 \end{array} \right.$	13	14	27	—	13	14	27	—
		13	13	26	—	13	13	26	—
		13	14	27	—	14	15	29	—
$x_4 + V$	$\left\{ \begin{array}{l} 4/4 \\ 23/4 \end{array} \right.$	13	14	27	—	{ Mælken var ikke koaguleret }			—
		13	14	27	—				—
		13	14	27	—				—
Gennemsnit.		13.0	13.8	26.8	—	13.3	14.0	27.3	—

dette i de fleste Tilfælde stemmer ret godt overens med Resultaterne fra Tykmælksbedømmelserne, saa viser Tallene, at Syreindholdet, særligt i Kulturerne X_3+V og X_4+V , i nogle af Forsøgene var noget større, hvor Kulturerne var bleven dyrkede i luftmættet Mælk, end hvor de var bleven dyrket i luftfri Mælk.

Nederst i Tabel XVIII er sammenstillet Resultaterne fra nogle Forsøg, hvor de dertil anvendte to Blandingskulturer var bleven dyrkede under fuldstændig anaerobe Forhold til Sammenligning med de samme to Kulturer, dyrkede paa sædvanlig Vis, altsaa under Luftens uhindrede Tilgang (aerob Dyrkning). Sammenholdes Resultaterne fra Tykmælksprøven med Kulturen X_4+III , vil det ses, at der ikke var nogensomhelst Forskel mellem den anaerobt dyrkede Kultur og den aerobt dyrkede. I det ene af Forsøgene med Kulturen x_4+V havde derimod den aerobe Dyrkning givet et noget bedre Resultat end den anaerobe Dyrkning; men om dette ogsaa vilde være bleven Tilfældet i det andet Forsøg, stod hen i det uvisse, da Mælken, hvortil den aerobt dyrkede Kultur var benyttet, ikke var koaguleret, da Bedømmelsen af de dermed sammenhørende Tykmælksprøver blev foretaget. Som Gennemsnit af de foreliggende Resultater havde de aerobt dyrkede Kulturer givet et lidt bedre Resultat end de anaerobt dyrkede.

4. Forholdet mellem Antallet af Mælkesyrebakterier og x-Bakterier i Mælkekulturer af Blandinger af disse.

Som det vil erindres fra de i det foregaaende omtalte Forsøg med Mælkekulturer af Blandinger af rendyrkede x-Bakterier og Mælkesyrebakterier, var det ikke helt sjældent hændt, at x-Bakteriernes karakteristiske Indvirkning paa Mælkekulturerne Lugt og Smag enten var meget lidt fremtrædende eller var helt udebleven. Grunden hertil maatte nærmest forklares ved, at x-Bakterierne af en eller anden Aarsag var bleven hemmet i deres Formering. Hvorvidt imidlertid denne Forklaring var rigtig eller ikke, lod sig kun afgøre, hvis det var muligt at finde Blandingsforholdet mellem x-Bakterierne og Mælkesyrebakterierne i slige Mælkekulturer. Da det havde vist sig, at de ved saadanne Mælkekulturers Spredning i Pepton-Mælke-

gelatine beholdte Kolonier af x-Bakterier makroskopisk ikke lod sig sondre fra Kolonierne af Mælkesyrebakterier, var det altsaa ikke gørligt ad denne Vej at bestemme Blandingsforholdet mellem disse to Slags Bakterier. Det har derimod vist sig, at dette Forhold lod sig finde ad en anden Vej, nemlig ved under Mikroskopet at tælle x-Bakterierne og Mælkesyrebakterierne hver for sig indenfor smaa Felter af tynde, stærkt farvede Dækglasspræparater af deres Blandingskulturer. Ved den mikroskopiske Undersøgelse af saadanne Dækglasspræparater havde det nemlig vist sig, at det ikke var forbunden med nogen Vanskelighed tydeligt at skelne x-Bakterierne fra Mælkesyrebakterierne, naar disse sidste var kendelig større end x-Bakterierne. Til vore Forsøg med direkte Tælling af x-Bakterierne og Mælkesyrebakterierne benyttede vi tynde Gram-farvede Dækglasspræparater af Blandingskulturer, hvor Mælkesyrebakterierne var 2—3 Gange større i Rumfang end x-Bakterierne, og i saadanne Præparater var det under en lineær*) Forstørrelse af 1500 Gange forholdsvis let med Sikkerhed at tælle Antallet af hver Slags Bakterier indenfor et 0.25 mm^2 stort mikroskopisk Felt. Ved dernæst at forskyde Objektglasset med det farvede Dækglasspræparat og gentage Bakterietællingen i andre Felter af Præparatet blev det muligt at bestemme Antallet af hver Slags Bakterier i Dækglasspræparatet. Herved viste det sig, at medens Forholdet mellem Antallet af Mælkesyrebakterier og x-Bakterier langt fra var ens i de forskellige mikroskopiske Felter, hvori Tællingen var foretaget, saa blev det, naar Bakterietællingen var udført i et tilstrækkelig stort Antal Felter, tilsidst konstant, det vil sige, det forandredes ikke ved, at Bakterietællingen blev fortsat i et endnu større Antal Felter. Det paa denne Maade fundne konstante Forhold kunde altsaa betragtes som et paalideligt Udtryk for det Blandingsforhold, hvori Mælkesyrebakterierne og x-Bakterierne forefandtes i den til Undersøgelsen benyttede Mælkekultur. I hvor stort et Antal mikroskopiske Felter (å 0.25 mm^2) Bakterietællingen maatte foretages for at opnaa, at Forholdet mellem Antallet af Mælkesyrebakterierne og x-Bak-

*) Til disse mikroskopiske Undersøgelser benyttede vi: Apochromat (homogen Immersion) med en ækvivalent Brændvidde af 2 mm og numerisk Apertur = 1.30 i Forbindelse med Kompensations-Okular 12, inde i hvilket var anbragt paa Blænderen et Netmikrometer delt i Kvadrater med 0,5 mm Sider. (Alt fra Carl Zeiss i Jena).

terierne blev konstant, viste sig at være noget forskellig for de forskellige Mælkekulturer. For enkelte af Mælkekulturerne opnaaedes det allerede ved Bakterietællingerne i 25 mikroskopiske Felter, andre af Kulturerne krævede dertil 35—40 Felter, og en enkelt Kultur endog 60—65 Felter. I ikke faa Tilfælde har vi foretaget Bakterietællingen i to forskellige Dækglasspræparater af en og samme Mælkekultur, og her viste det sig, at det konstante Forholdstal, der blev fundet ved Bakterietællingen i

Tabel XIX. Resultaterne fra Bakterietællingerne i Dækglasspræparater af frisk sammenløbne Mælkekulturer af Blandinger af Mælkesyrebakterier og x-Bakterier.

Mælkekulturer		Bakterietællingen udført i Antal mikroskopiske Felter à 0 25 mm ²	Ved Bakterietællingen fundet				Antal x-Bakterier i pCt af det talte hele Antal Bakterier i		Kulturerne erholdt ved Tykmælksprøven Antal Points for			
			Antal Mælkesyrebakterier i		Antal x-Bakterier i		Præparat I	Præparat II	Lugt	Smag	Points i alt	
mrk.	Nr.		Præparat I	Præparat II	Præparat I	Præparat II						
a ₁ + x	{	3	40	1330	1080	179	147	11.9	12.0	13	14	27
		1	35	1155	1521	115	160	9.0	9.5	13	13	26
		13	35	1511	—	156	—	9.4	—	13	13	26
		16	65	2872	4352	96	157	3.2	3.5	12	12	24
c + x	{	23	25	1093	—	101	—	8.5	—	13	13	26
		24	25	746	1212	32	51	4.1	4.0	12	12	24
		21	25	1734	—	108	—	5.9	—	12	12	24
(a ₁ + b ₁ + c ₁ + d ₁) + x		28	25—50	1247	1416	154	168	11.0	10.6	13	13	26

det ene af Præparaterne i Regelen stemte godt overens med det, som blev fundet i det andet. I hosstaaende Tabel XIX findes sammenstillet Resultaterne fra vore Bakterietællinger i frisk sammenløbne Mælkekulturer dels af to forskellige Blandinger af en enkelt rendyrket Mælkesyrebakterie og én x-Bakterie og dels af en Blanding af 4 forskellige Mælkesyrebakterier og én x-Bakterie. I Kulturerne mrk. $a_1 + x$ og $c + x$ betegner a_1 og c to forskellige rendyrkede Mælkesyrebakterier. Disse to Mælkekulturer havde hver især været dyrket under jævnlig Omplantning i nye Portioner steriliseret Mælk i kortere

eller længere Tid. I den tredje Blandingskultur betegner Bogstaverne a_1 , b_1 , c_1 og d_1 fire indbyrdes forskellige rendyrkede Mælkesyrebakterier.

I Tabel XIX er Nummeret angivet for hver Kultur, som er bleven undersøgt; dernæst er anført det Antal mikroskopiske Felter, hvori Bakterietællingen blev foretaget for at erholde et konstant Forhold mellem det fundne Antal af Mælkesyrebakterier og af x-Bakterier. Under de næstfølgende to Rubrikker er opført det fundne Antal Mælkesyrebakterier, og, hvor Bakterietællingen er foretaget i to forskellige Dækglaspræparater (mrk. I og II) af en og samme Mælkekultur, er det i hver af disse Præparater talte Antal Mælkesyrebakterier opført hver for sig. Det samme gælder ogsaa for de derefter følgende to Rubrikker, under hvilke de tilsvarende fundne Antal x-Bakterier er opført. Endvidere er opført i Tabellen, hvor mange Procent x-Bakterierne udgjorde af det hele Antal talte Bakterier. Og endelig findes opført i Tabellen det Antal Points, hver enkelt af de undersøgte Mælkekulturer opnaaede ved de forud foretagne Tykmælksprøver. Det vil af Tabellen for det første fremgaa, at hvor Tællingen af Mælkesyrebakterierne og af x-Bakterierne er foretagne i to Dækglaspræparater af en og samme Mælkekultur, stemmer x-Bakteriernes Procentantal godt overens, men dernæst vil det ses, at x-Bakteriernes Procenttal svingede ret betydeligt fra Kultur til Kultur. Sammenholdes saa disse Procenttal med de Antal Points, de paagældende Kulturer fik ved Tykmælksbedømmelsen, vil man finde en ret udpræget Relation mellem dem.

Det vil nemlig ses, at hvor x-Bakterierne kun udgjorde 3—5 pCt. af Bakterieantallet, dér havde deres Indvirkning paa Tykmælksens Lugt og Smag været ringe, medens i de Mælkekulturer, hvor x-Bakterierne udgjorde 8—10 pCt. af Bakterieantallet, dér havde deres Indvirkning paa Tykmælksens Lugt og Smag været ret stor. Den absolut bedste Tykmælk havde den Mælkekultur givet, hvori der fandtes det relativt største Antal af x-Bakterier.

5. Indeholder Mejerisyre altid x-Bakterier?

Af vore Forsøg er fremgaaet med Tydelighed den fremtrædende Rolle, x-Bakterierne spiller. Det vilde derfor være af

stor Betydning at faa undersøgt, om disse Bakterier almindeligvis forekommer i gode Mejerisyrrer.

Af saadanne Undersøgelser er der blevet foretaget et ret betydeligt Antal. For at belyse Maaden, hvorpaa disse Undersøgelser blev gjort, skal her dog kun omtales Resultaterne fra de tre første Mejerier, hvor saadanne Undersøgelser blev foretaget.

De tre forskellige Mejerisyrrer blev hver især omplantet i 2 Reagensglas med steriliseret Mælk, hvorefter de 6 Glas henstilledes i Termostat ved 20° C, hvor Mælkens Koagulation foregik i dem alle i Løbet af ca. 20 Timer. Efter 40 Dages Henstand blev den ene af hver af disse Kulturer omplantet i nye Glas med steril Mælk, medens de andre henstod 20 Dage længere, saa at de var 60 Dage gamle, før de omplantedes. Da ingen af de saaledes henstaaede Kulturer formaaede at koagulere Mælken, maatte de altsaa betragtes som fuldstændig befriede for Mælkesyrebakterier, og vore Undersøgelser over, om de indeholdt x-Bakterier, gik da alene ud paa at paavise, om de ved Dyrkning sammen med en tilsat Renkultur af en Mælkesyrebakterie formaaede at give Tykmælken den for x-Bakterierne karakteristiske Lugt og Smag. Der blev derfor til hver af de henstaaede og omplantede 6 Kulturer sat lidt Mælkekultur af en og samme rendyrkede Mælkesyrebakterie, og de derved erholdte Blandingskulturer blev endelig efter Omplantning i nye Portioner steriliseret Mælk anvendte til Tykmælksprøven. Resultaterne fra denne Prøve findes sammenstillede i hosstaaende Tabel XX.

I den øverste Del af Tabel XX er sammenstillet Resultaterne fra Tykmælksprøven med de 3 Mejerisyrrer. Det vil af Tallene fra Bedømmelsen fremgaa, at disse Blandingskulturer paa én nær havde erholdt 27—28 Points i alt, eller 4—5 Points mere end Renkulturen af Mælkesyrebakterien Nr. 13, og altsaa var fortræffelige Syrevækkerkulturer, der i udpræget Grad besad den karakteristiske Lugt og Smag, der udmærker Blandinger af x-Bakterier og Mælkesyrebakterier.

Kun én af Blandingskulturerne havde ikke givet bedre Resultater end Renkulturen, og da denne Blandingskultur var fremgaaet af Podning fra Syren fra Vissing efter 60 Dages Henstand, medens Podningen fra samme Syre efter kun 40 Dages Henstand havde givet samme gode Resultat som alle de andre

Blandingskulturer, kan dette kun forklares ved, at x-Bakterierne i Syren fra Vissing var død ud efter 60 Dages Henstand, medens dette endnu ikke var Tilfældet efter 40 Dages Henstand.

Foruden Tykmælksprøven havde vi ogsaa foretaget Titring af Syreindholdet i Mælkekulturerne. Det havde nemlig vist sig, at Indholdet af titrerbar Syre i Mælkekulturer af x-Bakterier + Mælkesyrebakterier altid var ret betydeligt større end Syreindholdet i Mælkekulturer af rene Mælkesyrebakterier, naar saadanne Kulturer havde henstaaet i nogen Tid, og naar

Tabel XX.

Kulturernes Art	Kulturerne mrk.	Kulturerne henstaaet i Antal Dage	Blandinger af de henstaaede Kulturer og Mælkesyrebakterien Nr. 13 mrk.	Points ved Bedømmelsen			Kulturernes Titrerings-tal
				Lagt	Smag	Points i alt	
„Mejerisyre“	Flemming	40	Flemming + Nr. 13	14	14	28	104.8
		60	Flemming + Nr. 13	14	14	28	106.8
	Hedelykke	40	Hedelykke + Nr. 13	14	14	28	102.8
		60	Hedelykke + Nr. 13	14	14	28	106.4
	Vissing	40	Vissing + Nr. 13	13	14	27	104.8
		60	Vissing + Nr. 13	11	11	22	95.2
Renkultur	Mælkesyre bakterie Nr. 13	—	Nr. 13	11	12	23	94.8
Blandingskultur af rendyrkede x-Bakterier og Mælkesyrebakterier	$x_3 + 4$	92	$(x_3 + 4) + \text{Nr. 13}$	11	11	22	96.0
	$x_3 + 20$	92	$(x_3 + 20) + \text{Nr. 13}$	13	13	26	104.0

x-Bakterierne i Blanding med Mælkesyrebakterier havde formet sig normalt. Da denne Kendsgerning vil blive nøjere omhandlet senere, skal vi her indskrænke os til at omtale Resultaterne fra Syretitreringen i de paagældende Kulturer, som findes sammenstillede i Tabel XX. Som det vil fremgaa af Tabellen, er det ved Titring fundne Syreindhold angivet ved det Antal $\text{cm}^3 \text{ n}_{10}$ Natronlud, som 100 g af de forskellige Kulturer krævede til Nevtralisation.

Det vil da ses, at alle de Blandingskulturer af henstaaede Mejerisyrer og Mælkesyrebakterien Nr. 13, som ifølge Tykmælksprøven viste sig at være særlig gode, havde krævet 8—12 $\text{cm}^3 \text{ n}_{10}$ Natronlud mere end Renkulturen Nr. 13 til Nevtra-

lisation af 100 g Kultur, medens den eneste af samme Slags Blandingskulturer, som ved Tykmælksprøven havde givet et tarveligt Resultat, kun havde krævet $0.4 \text{ cm}^3 \text{ n}/_{10}$ Natronlud mere end Renkultur Nr. 13. Resultaterne fra Syretitreringen bekræftede saaledes yderligere, at de tre her omhandlede Mejerisyre-Kulturer havde indeholdt x-Bakterier.

I Tabel XX er endvidere opført Resultaterne fra lignende Forsøg med to Blandingskulturer af rendyrkede x-Bakterier og Mælkesyrebakterier; Mælkekulturerne af disse to Bakterieblandinger havde henstaaet i 92 Dage, før de blev omplantede i nye Portioner steriliseret Mælk og derefter podede med samme rendyrkede Mælkesyrebakterie. Af de paagældende Tal i Tabellen vil det fremgaa, at x-Bakterierne i den ene af Kulturerne, nemlig den, der er mrk. $x_3 + 4$, maatte være gaaet til Grunde til lige med Mælkesyrebakterierne under den lange Henstandstid; thi ved Tilsætningen af den rendyrkede Mælkesyrebakterie Nr. 13 opnaaedes ikke et bedre Resultat fra Tykmælksprøven end det, der erholdtes for Renkulturen af Mælkesyrebakterien Nr. 13. I den anden henstaaede Kultur, mrk. $x_3 + 20$, var x-Bakterierne derimod levedygtige efter Kulturens Henstand i 92 Dage, idet den ved Sammendyrkning med Mælkesyrebakterien Nr. 13 formaaede at give Tykmælken den karakteristiske gode Lugt og Smag, som x-Bakterierne i Forening med Mælkesyrebakterierne evner at give. Resultaterne fra Tykmælksprøven blev bekræftede ved disse to Blandingskulturers Syreindhold. Af de paagældende Tal i Tabel XX vil det nemlig ses, at Kulturen mrk. $(x_3 + 4) + \text{Nr. 13}$ ikke havde et nævneværdig større Syreindhold end Renkulturen Nr. 13, medens Kulturen mrk. $(x_3 + 20) + \text{Nr. 13}$ derimod havde brugt til Nevtralisation $9.2 \text{ cm}^3 \text{ n}/_{10}$ Natronlud mere, end Renkulturen Nr. 13 brugte.

Medens der ved de første 3 Forsøg maaske endnu kunde rejses Tvivl om, hvorvidt den Forbedring i Lugt og Smag og den Forøgelse af Syremængden, som hidførtes ved Dyrkningen af renkultiverede Mælkesyrebakterier sammen med Overlevelsesresten fra Mejerisyrerne, virkelig skyldtes x-Bakterier, er ved det sidste Forsøg denne Tvivl ganske udelukket, thi her, hvor ganske tilsvarende Virkning opnaaedes som ved de første 3 Forsøg, véd vi, at der i Overlevelsesresten var, og tilmed ikke var andet, end de x-Bakterier, som vi selv havde tilsat. At i dette sidste Forsøg den samme x-Bakterie har kunnet overleve en Hen-

standstid paa 92 Dage ved at leve sammen med én Mælkesyrebakterie, medens den ikke har kunnet det ved at leve sammen med en anden, skal kun her paa peges som Eksempel paa, hvor forskellige Virkningerne er af Samlivet mellem x-Bakterierne og de forskellige Mælkesyrebakterier.

Ved saadanne Undersøgelser, som de her anførte, konstatere vi, at x-Bakterier fandtes i en lang Række af Mejerisyre, og desuden viste det sig, at ved at pøde paa Mælk fra Kærnemælk og stundom ogsaa fra Smør fra gode Mejerier og ved derefter at undersøge den koagulerede Mælk paa samme Maade som ovenfor angivet, at ogsaa disse Mejeriprodukter indeholdt x-Bakterier. Der er altsaa ikke Tvivl om, at x-Bakterierne er ganske almindeligt forekommende i de gode danske Mejerisyre.

6. Nærmere Beskrivelse af x-Bakterierne og af deres Syreproduktion.

I morfologisk Henseende ligner x-Bakterierne ret meget de almindelige Mælkesyrebakterier. Paa Spredninger i Pepton-Mælkegelatine danner de smaa, runde, helkantede, hvide, uigennemsigtige Kolonier, som ikke lader sig skelne fra Kolonierne af de almindelige Mælkesyrebakterier. x-Bakteriernes Kolonier voksede dog som oftest en hel Del langsommere til end Mælkesyrebakteriernes, og i de fleste Tilfælde er de ikke saa lidt mindre end disse sidste. Medens vi ganske vist har fundet enkelte x-Bakterier, hvis Kolonier har kunnet naa samme Størrelse som Flertallet af de af os undersøgte Mælkesyrebakterier, har Kolonierne af det overvejende Antal x-Bakterier været ganske smaa, ja, ikke saa faa har været saa smaa, at vi ved Arbejdet med dem har maattet betjene os af en Lupe.

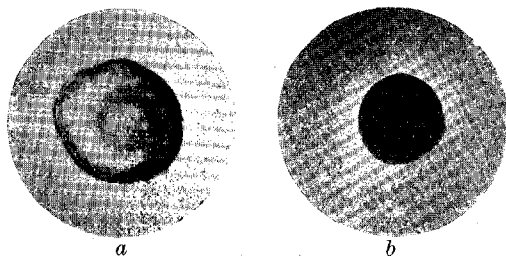


Fig. 3. Kolonier af x-Bakterier. 50 Gange forst.
a Koloni ovenpaa Gelatinen. b Koloni i Gelatinen.

x-Bakteriernes Form er noget aflangrund, og kun lige efter stedfunden Celledeling maa den nærmest betegnes som kuglerund; men derefter vokser Cellen noget i Længde uden at forandres i Tykkelse. Ved Maalinger af den Cellestørrelse, x-Bakterierne sædvanlig erholder ved at dyrkes i Mælk, har vi fundet, at den som Regel var $1.00\ \mu$ lang og $0.75\ \mu$ tyk, saa at Rumfanget, naar Cellen betragtes som en Omdrejnings-Ellipsoide med Celledøgden som Akse, vilde blive $= 0.29\ \mu^3$. I hosstaaende Tabel XXI findes for Sammenlignings Skyld sammen-

Tabel XXI.

Bakterieart	Gruppering efter Celle- størrelse	Cellestørrelse		
		Længde μ	Tykkelse μ	Rumfang μ^3
Mælkesyrebakterier	Største	1.50	1.07	0.90
	Næststørste	1.25	1.00	0.65
	Mellemstore	1.21	0.78	0.39
	Mindste	1.00	0.75	0.29
x-Bakterier	--	1.00	0.75	0.29

stillet de forskelligartede Mælkesyrebakterier fra selvsyrnet Mælk og Mejerisyre, som vi har haft Lejlighed til at undersøge og maale, sondrede i fire Grupper efter deres indbyrdes forskellige Celledøgden.

Som man vil se, er x-Bakteriernes Størrelse den samme som de mindste Mælkesyrebakteriers.

x-Bakterierne lader sig let farve efter de almindelige Farvningsmetoder, ogsaa efter Grams Metode.

Ligesom mange Mælkesyrebakterier vokser de fleste x-Bakterier, naar de dyrkes i Mælk, i Kæder, der ikke sjælden kan

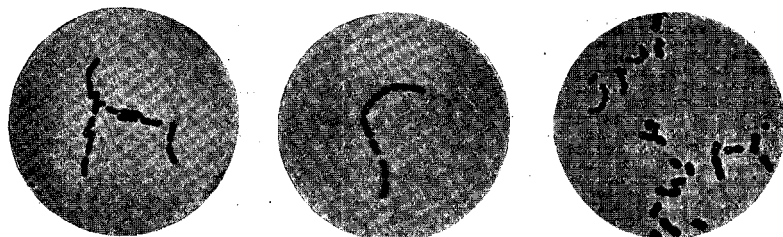


Fig. 4. Forskellige x-Bakterier. Gramfarvede Præparater. 1000 Gange forst.

bestaa af 12—16 Bakterieceiler, men i Regelen kun indeholder omtrent det halve Antal. I Mælkekulturer af x-Bakterier forefindes desuden ikke faa enkelte eller to og to sammenhængende Celler af disse Bakterier.

Med Hensyn til x-Bakteriernes biologiske Forhold skal anføres, at saas de i Stikkultur i Pepton-Mælkegelatine, fremkommer langs hele Stikket en ret svag Vegetation, der danner en i Regelen usammenhængende Række af meget smaa Kolonier, og det samme er tildels ogsaa Tilfældet med Stikkulturer af Mælkesyrebakterierne. I Valle, saavel i frisk som i syrnet Tilstand, formerer x-Bakterierne sig ret livligt, men de kommer heri ikke til en saa stærk Vegetation som den, Mælkesyrebakterierne opnaar. Efter nogen Tids Dyrkning i Valle synker de dannede x-Bakterier til Bunds og danner dér et hvidt Bundfald, medens Vallen over dette bliver vandklar. Det samme er tildels ogsaa Tilfældet med Vallekulturer af Mælkesyrebakterier, men Vallen holder sig her længere uklar.

Mælk er for x-Bakterierne ligesom for Mælkesyrebakterierne et fortrinligt Næringssubstrat, og de formerer sig heri hurtigt og stærkt; men indenfor samme Tidsrum bliver Antallet af x-Bakterier dog langt fra saa stort som det, Mælkesyrebakterierne formaar at udvikle sig til. Medens Mælkesyrebakterierne, dyrkede i Mælk og ved 20—25° C, gerne naar deres største Antal i Løbet af ca. et Døgn, vedbliver x-Bakterierne, dyrkede i Mælk ligeledes ved 20—25° C, at formere sig i mange Døgn. Til Belysning af dette Spørgsmaal skal vi, uden at vi derfor mener dermed at have angivet hverken x-Bakteriernes Maksimumsantal eller den Tid, de bruger om at naa dette, anføre Resultaterne af nogle Tællinger, udført til forskellig Tid i en Mælkekultur, tiltrukket ved 25° C.

Efter Mælkekulturernes Henstand i:	var x-Bakterieantallet i 1 Cm ³ af Kulturerne:
20 Timer	2 Millioner.
3 Døgn	18 —
4 —	22 —

Med Hensyn til x-Bakteriernes Formering i Mælk syntes der at være nogen Forskel mellem de forskellige Varieteter af disse Bakterier. Vi fandt nemlig, at der i Mælkekulturerne af 4 forskellige x-Bakterier, der var dyrket i 3 Døgn ved 25° C og

derefter spredte i Pepton-Mælkegelatine, fandtes pr. cm^3 Mælkekultur fra 16 til 32 Millioner x-Bakterier.

I foregaaende Afsnit fandt vi, at i gode, kraftige Blandingskulturer af Mælkesyrebakterier og x-Bakterier udgjorde disse sidste ca. 10 pCt. af det samlede Bakterieantal (Tabel XIX). Gaar vi nu ud fra, at Bakterieantallet i en saadan kraftig Kultur efter ca. 20 Timers Forløb er ca. 1 Milliard pr. cm^3 , skulde der i en saadan Kultur være 100 Millioner x-Bakterier pr. cm^3 , altsaa meget mere end ovenfor fundet. Det synes altsaa, som om x-Bakterierne formerer sig betydelig hurtigere, naar de dyrkes sammen med Mælkesyrebakterier, end naar de dyrkes alene.

I fysiologisk Henseende afviger x-Bakterierne i meget høj Grad fra Mælkesyrebakterierne. Ganske vist formaar x-Bakterierne ligesom Mælkesyrebakterierne at producere Syre, men baade i Henseende til Mængden og til Beskaffenheden af de producerede Syrer er der en meget karakteristisk Forskel mellem dem.

Et første Indtryk af denne Forskel faar man, naar man saar rendyrkede Mælkesyrebakterier og x-Bakterier hver paa sit Glas med steril, lakmustilsat Mælk. Medens Mælken, der blev besaaet med Mælkesyrebakterier, efter ca. et Døgn's Henstand ved 20°C forvandlede til et hvidt, fast Koagulum, foregaar der tilsyneladende slet ingen Omdannelse i den Mælk, der bliver besaaet med x-Bakterierne; først efter længere Tids Henstand faar den et svagt, rødt Skær.

Medens Mælkesyrebakterierne hovedsageligst producerer Mælkesyre og kun for en meget ringe Del flygtige Syrer, kom vi hurtigt under Vejr med, at nærmest det omvendte var Tilfældet med x-Bakterierne. I det følgende skal vi nu noget nærmere belyse de herhen hørende Forhold og skal da begynde med at omtale nogle Undersøgelser over de Syremængder, der er fundet ved Titration umiddelbart af selve Mælkekulturerne.

Disse Resultater findes sammenstillet i hosstaaende Tabel XXII.

Som det fremgaar af Tabellen blev Syremængden undersøgt ikke alene i Kulturer af Mælkesyrebakterier og x-Bakterier, men ogsaa i Kulturer besaaet med en Blanding af disse. Der blev foretaget 3 Forsøg ved 3 forskellige Temperaturer, og i alle Forsøgene blev Syremængden undersøgt hver Dag i Løbet af 4 Dage. Syremængderne er angivet ved det Antal $\text{cm}^3 \text{ n}/_{10}$ Natron, som medgik til Neutralisering af 100 cm^3 af Kulturen.

Af Tallene fremgaar det, at x-Bakterierne i alle Forsøgene har produceret ganske betydeligt mindre Syre end baade Mælkesyrebakterierne og Blandingskulturerne, og at disse sidste, saaledes som vi allerede har paavist i et foregaaende Afsnit, producerer mere Syre, end de rendyrkede Mælkesyrebakterier.

Med Hensyn til Temperaturen's Indflydelse ses, at medens Mælkesyre- og Blandingskulturerne producerede den største

Tabel XXII.

Mælke- kulturer		Mælkens oprinde- lige Surheds- grad	Renkulturer af				Blandingskultur af	
Alder i Døgn	Dyrknings- temperaturen C°		x-Bakterier		Mælkesyre- bakterier		x-Bakterier og Mælkesyre- bakterier	
			Kulturens Surhedsgrad Cm³ n/10 NaOH	Foregølse af Surhedsgraden Cm³ n/10 NaOH	Kulturens Surhedsgrad Cm³ n/10 NaOH	Foregølse af Surhedsgraden Cm³ n/10 NaOH	Kulturens Surhedsgrad Cm³ n/10 NaOH	Foregølse af Surhedsgraden Cm³ n/10 NaOH
1 2 3 4	16—17	17,6	17.6 22.0 24.8 28.4	— 4.4 7.2 10.8	48.0 92.0 99.2 101.6	30.4 74.4 81.6 84.0	42.8 97.2 104.4 104.8	25.2 79.6 86.8 87.2
1 2 3 4	20	17.6	20.0 22.4 22.8 23.2	2.4 4.8 5.2 5.6	86.8 103.2 105.2 104.4	69.2 85.6 87.6 86.8	91.2 107.6 114.4 114.0	73.6 90.0 96.8 96.4
1 2 3 4	25	16.4	19.6 20.8 20.8 20.8	3.2 4.4 4.4 4.4	95.2 104.8 104.8 104.4	78.8 88.4 88.4 88.0	101.6 114.4 114.0 113.6	85.2 98.0 97.6 97.2

Mængde ved 20° og 25°C , producerede x-Bakterierne den største Mængde ved $16—17^{\circ}$, og for disses Vedkommende var Syremængderne aftagende med de tiltagende Temperaturer.

Med Hensyn til den Tid, der medgik, før Syremængden naaede sit Maksimum, ses, at ved $16—17^{\circ}$ kan Tallene ikke afgøre, hvorvidt Maksimumsmængden er naaet efter 4 Døgn's Forløb, medens Resultaterne for 20° og 25° 's Vedkommende vil fremgaa af hosstaaende Sammenstilling.

Syreproduktionen standsede i
Mælkekulturer af:

Kulturerne dyrket ved	x-Bakterien	Mælkesyre- bakterien	Blandings- kulturen
20 C° 25 —	efter 4 Døgn — 2 —	efter 3 Døgn — 2 —	efter 3 Døgn — 2 —
Produceret titrerbar Syre	5.0	88.0	97.4

Medens vi i det foregaaende har belyst Forskellen mellem Mælkesyrebakteriernes og x-Bakteriernes Syreproduktion ved at vise, hvor stor Forskel der var mellem de af disse Kulturer producerede Syrer, som kunde maales ved direkte Titring, skal vi nu i det følgende noget nærmere belyse Forskellen mellem de Mængder flygtige Syrer, som de producerer.

Angaaende Fremgangsmaaden til Bestemmelsen af de flygtige Syrers Mængde i Mælkekulturerne skal her henvises til næste Afsnit af denne Beretning: Fremgangsmaaden ved de anvendte kemiske Metoder, hvor en nøjere Redegørelse desangaaende forefindes. Vi kan derfor her straks gaa over til at omtale Resultaterne fra disse Bestemmelser, der er sammenstillede i hosstaaende Tabel XXIII.

Som det ses af Tabellen, har vi søgt at bestemme Mængden af flygtige Syrer i Kulturerne paa to Maader, uden at dog i noget Tilfælde den samme Kultur har været undersøgt paa begge Maader. Dette Forhold skyldes, at vi under Arbejdet paa Grund af gjorte Iagttagelser fandt Anledning til at gaa fra den direkte Bestemmelse (Afsnit A) til den beregnede (Afsnit B).

Vi vil begynde med at se paa Afsnit A. Her er, som det fremgaar af Overskriften, Indholdet af flygtige Syrer bestemt direkte ved Welde-Destillation; men medens Welde ved Tilsætning af Vand under Destillationen undgaar, at Vædsken i Destillationskolben koncentrerer stærkt, søgte vi at fremme Afdestillationen ved at undlade denne Vandtilsætning og fortsætte, til Destillationskolbens Indhold var inddampet til en grødagtig Masse.

Destillatets Størrelse var da oftest ca. 3 Gange større end Kulturen, der behandledes. Denne Fremgangsmaade giver sik-

kert i alt væsentligt Totalindholdet af flygtige Syrer; maaske bortset fra Myresyreindholdet. Men Metoden er behæftet med den Fejl, at Destillatet i ikke ringe Grad er forurenat med Mælkesyre, naar denne Syre, saaledes som i Kulturer af Mælkesyrebakterier i Mælk, findes i ret rigelige Mængder.

Mælkesyre forflygtiges som bekendt altid med Vanddamp, men medens det kun drejer sig om ubetydelige Mængder, saa-

Tabel XXIII. Flygtige Syrer i Mælkekulturer af rendyrkede x Bakterier, Mælkesyrebakterier og Blandinger af disse to Slags Bakterier.

A. Direkte bestemt ved Welde-Destillation.

	x-Bakterier			Mælkesyre-bakterier		Blanding af begge		
	x_8	x_8	x_2	a_{10}	13	$x_8 + a_{10}$	$x_8 + 13$	$x_2 + 13$
Bakterie mrk.	x_8	x_8	x_2	a_{10}	13	$x_8 + a_{10}$	$x_8 + 13$	$x_2 + 13$
Kulturens Alder i Timer	20	240	240	20	240	20	240	240
Dyrkningstemperatur C°	25	25	25	25	25	25	25	25
Flygtige Syrer af 100 cm ³ Kultur.....	7.5	16.4	16.9	2.5	3.2	12.8	14.4	14.8

B. Fundet ved Beregning paa Grundlag af Welde-Destillation.

	x-Bakterier						Mælkesyre-bakterier	Blanding af begge
	x_3	x_3	x_3	x_3	x_3	x_3	2	$x_3 + 2$
Bakterie mrk.	x_3	x_3	x_3	x_3	x_3	x_3	2	$x_3 + 2$
Kulturens Alder i Timer	24	72	120	24	144	240	24	24
Dyrkningstemperatur C°	25	25	25	20	20	20	20	20
Flygtige Syrer af 100 cm ³ Kultur.....	9.8	10.7	14.5	5.8	10.1	13.1	2.2	11.9

længe Welde-Destillation foretages i stærkt fortyndede Opløsninger, stiger Mængden betydeligt, naar Opløsningen koncentrerer, og da en saadan Koncentration jo som nævnt foregik ved disse Destillationer, undgik vi altsaa ikke, at vore Destillater forurenedes af Mælkesyre.

Da vi under Arbejdet blev klar over dette Forhold, gik vi bort fra den stærke Inddampning og over til at tilsætte Vand

under Destillationen saaledes, at der stadig var omtrent samme Vædskemængde i Destillationskolben; men da en Afdestillation af de flygtige Syrer under disse Betingelser ikke lader sig gennemføre i en rimelig Tid, valgte vi at afbryde Destillationen, naar en vis Mængde var indvunden, og paa dette Grundlag foretage en Beregning af Totalindholdet.

Der toges et passende Antal Destillater à 200 cm³ (i Reglen 6 à 7). Hvert enkelt Destillat titreredes, og Tallene for Indhold af cm³ n/10 Syre opførtes i Rækkefølge.

Det viste sig nu, at Forholdet mellem Syreindholdet i to paa hinanden følgende Destillater var ret konstant; følgelig maatte Rækken kunne betragtes tilnærmelsesvis som en Kvotientrække, og Totalmængden af flygtige Syrer beregnes efter Formlen

$$S = \frac{a}{1 \div q}$$

hvor q er Middelkvotienten og a et beregnet Udtryk for Værdien af Syreindholdet i det første Destillat. Værdien af a beregnes af Summen af alle Destillater:

$$a = s \frac{1 \div q}{1 \div q^n}$$

hvor s er den fundne Sum af alle Destillaterne og n Antallet af samme. Nu findes

$$S = \frac{s}{1 \div q^n}$$

Til Eksempel paa Beregningen skal anføres, hvorledes Syreindholdet 10.7 er fundet for x₃ efter 72 Timer ved 25° C. (Tabel XXIII, nederste Linie).

Observeret cm ³ Syre	Beregnet Kvotient	Beregnet cm ³ Syre	
		r ₁	r ₂
6.40	—	6.49	6.69
5.95	0.930	5.66	5.76
5.15	0.865	4.94	4.96
4.15	0.806	4.31	4.26
3.60	0.867	3.76	3.67
3.25	0.903	3.28	3.16
2.80	0.861	2.86	2.72
31.30	0.872	31.30	31.22
s	q	s	s

Det ses, at den beregnede Kvotient (q) er ret konstant og i Gennemsnit lig 0.872.

Ved Hjælp af denne Kvotient og Størrelsen $s = 31.30$ beregnes nu den Række Tal, som er opført under r_1 , og naar denne Række udjævnes efter de mindste Kvadraters Metode, opstaar Række r_2 , medens samtidig q bliver $= 0.861$.

Af disse Tal beregnes nu:

$$S = \frac{31.22}{1 \div 0.861^7} = \frac{31.22}{0.651} = 48.0$$

og heraf findes atter pr. 100 cm³: 10.7 cm³ Syre.

Paa denne Maade er alle de 8 Tal nederst i Afdeling B af Tabel XXIII fundne.

Af Tallene for »flygtige Syrer af 100 cm³ Kultur« i begge Afsnit af Tabel XXIII fremgaar det, at x -Bakterier i Modsætning til Mælkesyrenkultur producerer en ret betydelig Mængde flygtige Syrer, og at x -Bakterier ved Dyrkning sammen med Mælkesyrebakterier fuldtud kan bevare denne Produktionsevne i friske Kulturer, medens der synes at være nogen Hemning i 10 Dage gamle Blandingskulturer (Afsnit A). Desuden ses, hvad der tidligere er bemærket, at x -Bakterier i Modsætning til Mælkesyrebakterier ved Dyrkning i Mælk fortsætter deres Syreproduktion i længere Tid (Afsnit B).

Efter vore Undersøgelser at dømme ligger det nær at antage, at den rigelige Tilstedeværelse af disse flygtige Syrer er den Faktor, der paa en eller anden Maade bevirker den milde og aromatiske Lugt og Smag, der udmærker den virkelig fine Syrevækker i Modsætning til den Syrevækker, der er fremstillet af Renkulturer af Mælkesyrebakterier, og som aldeles overvejende kun indeholder Mælkesyre.

Der er ved Omtalen af de flygtige Syrer i Mælkekulturer af de her omhandlede Bakterier ogsaa Grund til at bemærke, at disse Syrer i Renkulturer af x -Bakterier i betydelig Grad maa være bundne paa en eller anden Maade, idet man ved Welde-Destillation først efter Tilsætning af en passende Mængde ikke flygtig Syre (Fosforsyre) erholder det relativt fulde Udbytte. Til Belysning heraf skal anføres følgende Eksempel. 350 cm³ af en x -Bakteriekultur blev delt i 2 lige store Dele, der begge blev underkastede Welde-Destillation, men henholdsvis uden Syretilsætning og tilsat 5 pCt. af en 10 pCt. Fosforsyre.

Herved indvandt i 800 cm³ Destillat af Kulturen uden Syretilsætning 2.15 cm³ n₁₀ og i 300 cm³ Destillat af Kulturen tilsat Fosforsyre 17.50 cm³ n₁₀ flygtige Syrer. Welde omtaler et Forhold, der for en Del kan forklare Sagen, idet han har fundet, at 100 cm³ Mælk binder indtil ca. 4 cm³ n₁₀ tilsatte flygtige Syrer saaledes, at Syren først kan afdestilleres efter Tilsætning af f. Eks. Fosforsyre. I Blandingskulturer af x-Bakterier og Mælkesyrebakterier kan de flygtige Syrer derimod i det væsentlige afdestilleres uden Tilsætning af Fosforsyre paa Grund af det ret betydelige Mælkesyreindhold.

Endelig skal det bemærkes, at centrifugeret Mælk af god Beskaffenhed, saaledes som der er benyttet til de her omtalte Mælkekulturer, ved at underkastes Welde-Destillation efter Tilsætning af Fosforsyre giver en ringe Mængde flygtige Syrer: ca. 0.3—0.6 cm³ n₁₀ pr. 100 cm³ Mælk, medens Destillatet uden Syretilsætning er af svag alkalisk Reaktion. Da de i Tabel XXIII opførte Tal for Indhold af flygtige Syrer i Kulturerne ikke gør Fordring paa at være eksakte, har vi imidlertid ikke funden Anledning til at indføre nogen Korrektion i Tallene paa Grund af dette Forhold.

Den næste Opgave, der paatrængte sig, var at belyse Spørgsmaalet om Sammensætningen og Arten af de ved Welde-Destillationen indvundne flygtige Syrer. Ved disse Undersøgelser valgte vi at benytte den af Duclaux angivne Fremgangsmaade til Bestemmelse af flygtige Fedtsyrer.

Da en foreløbig kvalitativ Undersøgelse havde vist, at de flygtige Syrer indeholdt nogen Myresyre, blev denne Syre, der let lader sig bestemme kvantitativt, altid bestemt i de samlede Destillater fra Duclaux-Destillationen, og Totalindholdet beregnet af de fundne Tal ved Multiplikation med $\frac{100}{59}$, som Følge af, at der kun gaar 59 pCt. af det samlede Myresyreindhold over ved denne Destillation.

Den følgende Tabel indeholder Tallene fra disse Undersøgelser, der i det væsentlige er udført fra det i Tabel XXIII opførte Materiale, kun i Afsnit B suppleret med et Par Analyser, der ikke kunde opføres i Tabellen paa Grund af nogen Uregelmæssighed under Welde-Destillationen.

Det vil erindres, at de flygtige Syrer i Tabel XXIII, Afsnit A, var vundne ved Destillation, fortsat, til Kulturen var blevet

Tabel XXIV. Forholdstal for Duclaux-Destillation af de flygtige Fedtsyrer udvundne ved Welde-Destillation af Mælkekulturerne, samt de tilsvarende Tal for nogle rene flygtige Fedtsyrer.

Kulturen			Forholdstallene for de respektive Destillatmængder i cm ³										cm ³ n/10 Myr. syre i 100 cm ³ n/10 Totalsyre
	Alder Timer	Dyrk- nings- temp. C°	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	
x-Bakterier mrk.	$\begin{cases} x_8 \\ x_8 \\ x_2 \\ x_2 \end{cases}$	$\begin{cases} 25 \\ 25 \\ 25 \\ 25 \end{cases}$	7.9	16.3	25.0	33.8	42.8	52.3	62.2	73.1	85.2	100	12.0
	$\begin{cases} x_8 \\ x_8 \\ x_2 \\ x_2 \end{cases}$	$\begin{cases} 24 \\ 24 \\ 24 \\ 24 \end{cases}$	7.7	15.8	24.3	33.2	42.2	51.7	61.9	73.0	85.3	100	3.4
	$\begin{cases} x_8 \\ x_8 \\ x_2 \\ x_2 \end{cases}$	$\begin{cases} 25 \\ 25 \\ 25 \\ 25 \end{cases}$	8.1	16.2	24.4	33.0	42.1	51.6	61.6	73.7	85.0	100	3.2
Mælkesyrebakterie mrk.	$\begin{cases} a_{10} \\ 13 \end{cases}$	$\begin{cases} 25 \\ 25 \end{cases}$	9.0	17.4	25.7	33.7	42.3	51.1	60.6	70.8	83.1	100	19.8
	$\begin{cases} a_{10} \\ 13 \end{cases}$	$\begin{cases} 25 \\ 25 \end{cases}$	10.2	19.0	27.2	36.2	45.2	53.8	63.0	73.3	85.2	100	27.3
Blandinger af x-Bakt. og Mælkesyrebakt mrk. .	$\begin{cases} x_8 + a_{10} \\ x_8 + 13 \\ x_2 + 13 \end{cases}$	$\begin{cases} 25 \\ 25 \\ 25 \end{cases}$	8.3	16.7	25.2	34.0	43.0	52.3	62.3	73.3	85.6	100	7.6
	$\begin{cases} x_8 + 13 \\ x_2 + 13 \end{cases}$	$\begin{cases} 24 \\ 24 \end{cases}$	7.6	15.4	23.5	32.0	40.8	50.3	60.5	71.7	84.6	100	4.2
	$\begin{cases} x_2 + 13 \end{cases}$	$\begin{cases} 25 \\ 25 \end{cases}$	7.4	15.3	23.5	32.1	41.0	50.6	60.9	72.2	84.5	100	4.9
x-Bakterier mrk.	$\begin{cases} x_3 \\ x_3 \end{cases}$	$\begin{cases} 25 \\ 25 \end{cases}$	8.3	16.8	25.6	34.6	43.8	53.3	63.2	74.2	86.0	100	9.6
	$\begin{cases} x_3 \\ x_3 \end{cases}$	$\begin{cases} 25 \\ 25 \end{cases}$	8.1	16.5	25.1	33.8	42.9	52.5	62.6	73.6	85.9	100	2.4
	$\begin{cases} x_3 \\ x_3 \end{cases}$	$\begin{cases} 25 \\ 25 \end{cases}$	8.3	16.7	25.2	33.8	43.0	52.5	62.6	73.5	85.7	100	3.2
	$\begin{cases} x_3 \\ x_3 \end{cases}$	$\begin{cases} 24 \\ 24 \end{cases}$	8.4	17.2	26.2	35.2	44.5	54.1	64.0	74.4	86.1	100	6.4
Mælkesyrebakterie mrk.	$\begin{cases} 8 \\ 2 \end{cases}$	$\begin{cases} 25 \\ 25 \end{cases}$	8.6	17.6	26.6	35.7	44.8	54.0	63.5	73.9	85.5	100	31.5
Blandinger af x-Bakt og Mælkesyrebakt mrk.	$\begin{cases} x_3 + 8 \\ x_3 + 1 \end{cases}$	$\begin{cases} 24 \\ 25 \end{cases}$	10.5	20.0	29.1	38.1	46.6	55.5	64.8	75.0	85.9	100	22.1
	$\begin{cases} x_3 + 8 \\ x_3 + 1 \end{cases}$	$\begin{cases} 17 \\ 24 \end{cases}$	8.4	16.5	24.9	33.6	43.0	52.6	62.7	73.6	85.7	100	5.9
	$\begin{cases} x_3 + 1 \end{cases}$	$\begin{cases} 24 \\ 20 \end{cases}$	8.0	16.0	24.3	32.9	41.8	51.2	61.4	72.6	85.0	100	4.9
Flygtige Fedtsyrer:													
Myresyre			5.9	12.2	19.0	26.4	34.4	43.2	52.8	64.6	79.6	100	—
Edikesyre			7.6	15.7	24.1	32.8	42.0	51.6	61.9	73.0	85.4	100	—
Propionsyre			12.1	24.0	35.3	46.2	56.8	66.7	76.6	85.0	93.0	100	—
Smørsyre			17.6	33.6	47.5	60.0	70.6	79.5	86.5	92.5	97.0	100	—
Valeriansyre, normal			23.4	42.8	58.5	71.1	80.8	88.2	93.4	96.9	99.0	100	—
—, iso			30.5	53.0	69.5	81.0	88.5	93.5	96.5	98.3	99.5	100	—

en grødagtig Masse, medens Syrerne i Afsnit B var afdestillerede, idet man ved passende Vandtilsætning holdt Destillationskolbens Indhold konstant. Dette Forhold skulde formodes at bewirke et lidt større Myresyreindhold i Gruppe A's end i Gruppe B's flygtige Syrer, men de fundne Duclaux-Tal er saa lidt forskellige for de to Grupper, at vi har behandlet Materialet under et ved Beregning af Gennemsnitstallene.

NB. De opførte Tal for Myresyre, Propionsyre, Smørsyre og Iso-Valeriansyre er de af Duclaux fundne*). Tallene for Eddikesyre er derimod bestemte her i Laboratoriet, da en Undersøgelse viste, at Duclaux's Tal for denne Syre var behæftede med Fejl (se nærmere herom Side 93). Endelig er Tallene for normal Valeriansyre ogsaa bestemte her, da de af Duclaux for denne Syre angivne Tal, som paavist af Professor Orla Jensen**), refererer sig til Iso-Valeriansyre.

De i Tabel XXIV opførte »Forholdstal« angiver, hvor stor en Procentdel af de ved Duclaux-Destillationen ialt overdestillerede Mængder af flygtige Syrer, der var udvundne i henholdsvis 10, 20, 30 o. s. v. cm^3 Destillat.

Til Forstaaelse af disse Tals Betydning for vore Undersøgelser vil det være nødvendigt her først at oplyse om følgende. Ved Destillation af hver enkelt af de flygtige Fedtsyrer efter Duclaux's Metode har det vist sig, at de derved for de respektive flygtige Fedtsyrer fundne Forholdstal er karakteristiske for de paagældende Syrer (se Tabel XXIV forneden), samt, at den indbyrdes Forskel mellem disse Syrers Forholdstal er tydelig allerede i de første Destillater. Dette beror paa, at de flygtige Fedtsyrer i fortyndet Opløsning overdestillerer desto hurtigere, jo større deres Molekylvægt er, hvorfor man ogsaa ved Destillation af Blandinger vil finde, at de enkelte Syrer destillerer over, som om de var alene til Stede. Opstilles de kendte Forholdstal for de forskellige flygtige Fedtsyrer som Ordinatorer i det almindelige Koordinatsystem, hvori de tilsvarende Destillationsmængder er afsat som Abscisser, faas Kurver af indbyrdes forskellig Form og Beliggenhed i Koordinatsystemet, saaledes som hosstaaende grafiske Fig. 5 viser.

*) E. Duclaux: „Traité de Microbiologie“ III — 388 — (1900).

**) Landwirtschaftliche Jahrbücher d. Schweiz 1905.

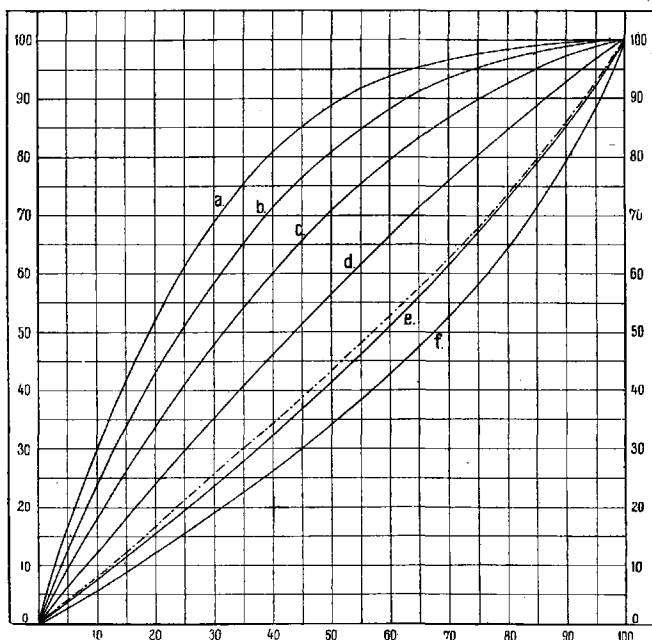


Fig. 5. Kurver fra flygtige Syrer. a Iso-Valeriansyre. b Normal Valeriansyre. c Smørsyre. d Propionsyre. e Eddikesyre. f Myresyre. Stiplet Linie: Flygtige Syrer fra x-Kulturer.

Til Sammenligning er nu paa samme Tavle ogsaa afsat Kurven for de fundne Forholdstal for de flygtige Fedtsyrer fra vore x-Bakterie-Kulturer, idet der er taget Gennemsnit af de respektive Forholdstal for de i Tabel XXIV opførte indtil 24 Timer gamle Kulturer. Det ses nu paa Tavlen, at denne Kurve ligger imellem Eddikesyrens og Propionsyrens Kurver; men dog nærmest Eddikesyrens, som den til Dels helt falder sammen med, og da, som det fremgaar af Tabel XXIV, Myresyren udgør en mere eller mindre betydende Del af de flygtige Syrer fra Kulturerne, angiver Kurvernes Beliggenhed, at der foruden Eddikesyre — der i hvert Fald for x-Bakteriernes Vedkommende maa udgøre Hovedbestanddelen af de flygtige Syrer — ogsaa i Syreblandingen maa findes højere Led af de fede Syrers Række (Propionsyre, Smørsyre etc.).

Det er forsøgt ved Hjælp af brudt Destillation at isolere et Produkt, hvor disse højere Led fandtes i saa rigelige Mængder,

at man gennem Dannelse af de tungtopløselige Sølvsalte kunde naa til at fastslaa Tilstedeværelse af bestemte Syrer; men Arbejdet førte ikke til Maalet, dels fordi Mængderne af disse højere Led var ret smaa, og dels paa Grund af den forholdsvis ringe Forskel, der er for Destillationsbetingelserne for to paa hinanden følgende Led i de fede Syrers Række.

Rent beregningsmæssigt kan man naturligvis godt konstruere Blandinger af disse Syrer, der ved at destilleres efter Duclaux's Metode giver lignende Tal, som de fra Kulturerne indvundne flygtige Syrer; men da man, naar der er mere end 2 Syrer, altid vil kunne danne flere saadanne Blandinger, kan Spørgsmaalet om den virkelige Sammensætning ikke besvares paa denne Maade. Vi kan da om Spørgsmaalet: Sammensætningen af de fra vore Kulturer indvundne flygtige Syrer kun udtale, at de bestaar af Eddikesyre og Myresyre og et eller flere af de følgende Led af de fede Syrers Række.

Det kan i denne Forbindelse nævnes som et karakteristisk Forhold, at Myresyreindholdet procentisk set er meget betydeligt i de flygtige Syrer fra Mælkesyrerenkulturer.

Det staar endelig tilbage at omtale nogle Undersøgelser over en ejendommelig Evne hos x-Bakterierne til at bevare Reduktionsevnen hos de Mælkesyrebakterier, hvormed de dyrkes sammen i Mælk. Ved en Del af de Undersøgelser, der er omtalt i det foregaaende, havde vi ofte haft Lejlighed til at iagttage, at den Rødfarvning, der ved Henstand foregaar i lakmustilsatte Mælkesyrekulturer, foregik langsommere i de Kulturer, hvor der foruden Mælkesyrebakterier ogsaa var udsaaet x-Bakterier, end i de Kulturer, der kun indeholdt Mælkesyrebakterier. Rødfarvningens forskellige Forløb maatte altsaa være Udtryk for visse ejendommelige Virkninger, som x-Bakterierne havde paa Mælkesyrebakteriernes Funktioner, og vi bestemte os da til at undersøge dette Punkt noget nøjere.

Med Hensyn til de Forhold, der ligger til Grund for disse Undersøgelser, maa henvises til Side 17—21, men for at lette Forstaaelsen skal dog her i al Korthed omtales følgende.

Under Dyrkningen af en Renkultur af en Mælkesyrebakterie i steriliseret, lakmusfarvet Mælk vil Mælken, naar dens Syrning er skreden passende fremad, begynde at affarves, og paa det Tidspunkt, hvor dens fuldstændige Sammenløbning er ind-

traadt, vil Mælken være omdannet til et hvidt, ensartet Koagulum, paa hvis Overflade i Regelen en svag Rødfarvning lige er synlig. Denne Rødfarvning vil under Mælkens rolige Hensstand efterhaanden trænge dybere og dybere ned i Koagulet, men saaledes, at Grænsen mellem den rødfarvede og den hvide Del af dette stadig vil være ret skarp og jævn. Denne Af-farvningsproces skyldes Mælkesyrebakteriernes Evne til ved Hjælp af et Enzym: Reduktase, at reducere (afilte) Lakmusfarvestoffet til en ufarvet Forbindelse, som dernæst, naar Bakteriernes Reduktionsevne svækkes eller standses, ved at optage Ilt fra Atmosfæren atter omdannes til det oprindelige Farvestof, der paa Grund af Mælkekoagulets sure Beskaffenhed farves rødt.

Ved de Forsøg og Undersøgelser, som her skal omtales, var Fremgangsmaaden ganske den samme som ved de i foregaaende Afsnit omtalte Undersøgelser af lignende Art, kun henstod ved disse Undersøgelser Kulturerne ved 20° C, og Maalingerne blev kun foretaget hver femte Dag.

Til Undersøgelserne blev anvendt dels Renkulturer og dels Blandingskulturer af Mælkesyrebakterier, medens x-Bakterierne bestod henholdsvis af en Blandingskultur: x eller 2 Renkulturer herfra, mærkede x_0 og x_1 .

Resultaterne fra disse Undersøgelser findes sammenstillet i hosstaaende Tabel XXV.

Som man vil se, indeholder Tabellens fire øverste Afsnit Resultaterne fra Undersøgelser med Mælkesyrenrenkulturerne c og a_1 samt 2 Rækker Mælkesyreblandingskulturer, alle kombinerede med Blandingskulturerne x. Tabellens nederste Afsnit indeholder derimod Resultaterne fra samme Mælkesyrenrenkultur a_1 , kombineret med de 2 Renkulturer x_0 og x_1 , samt fra denne sidste kombineret med en af de ovennævnte Mælkesyreblandingskulturer. Foruden de direkte Maalinger og disse omregnede, saa man deraf kan se, hvor mange mm Rødfarvningen er vokset ved hver Maaling, indeholder Tabellen dels Tal for Forskellen mellem Størrelsen af de rødfarvede Dele af Mælkesyrenkulturerne og de Kulturer, der indeholdt baade Mælkesyre- og x-Bakterier, og dels Tal, der angiver Forholdet mellem Antallet af Mælkesyrebakterier og x-Bakterier i de respektive Kulturer. Disse Forholdstal er fundet ved Tællinger, foretaget under Mikroskopet, saaledes som omtalt Side 68.

Tabel XXV. Rødfarvningens Førløb i Mælkekulturer af Mælkesyrebakterier med eller uden Tilsætning af x-Bakterier.

Mælkekulturer af Bakterier mrk.	Dybden i mm. af den rød- farvede Del af Mælkekultu- rerne, efter deres Henstand i				Rødfarvningens Fremgang i hver af de 5 Dages Perioder af Hen- standstiden			
	5 Dage	10 Dage	15 Dage	20 Dage	De første 5 Dage	De næste 5 Dage	De der- efter flg. 5 Dage	De sidste 5 Dage
	mm	mm	mm	mm	mm	mm	mm	mm
1. c	10	35	53	64	10	25	18	11
2. c + x	6	12	19	27	6	6	7	8
Forhold mellem Antal Mælkesyre- og x- Bakterier	1 : 11	1 : 11	1 : 12	1 : 12	—	—	—	—
Forskel, $1 \div 2$	4	23	34	37	4	19	11	3
1. (a+b+c+d)	7	22	39	54	7	15	17	15
2. (a+b+c+d) + x	5	12	22	34	5	7	10	12
Forhold mellem Antal Mælkesyre- og x- Bakterier	1 : 19	1 : 21	1 : 22	1 : 21	—	—	—	—
Forskel, $1 \div 2$	2	10	17	20	2	8	7	3
1. a ₁	9	35	54	64	9	26	19	10
2. a ₁ + x	5	16	33	47	5	11	17	14
Forhold mellem Antal Mælkesyre- og x- Bakterier	1 : 10	1 : 16	1 : 32	1 : 40	—	—	—	—
Forhold, $1 \div 2$	4	19	21	17	4	15	2	$\div 4$
1. (a ₁ +b ₁ +c ₁ +d ₁) ..	12	38	54	64	12	26	16	10
2. a ₁ +b ₁ +c ₁ +d ₁ +x ..	8	19	31	46	8	11	12	15
Forhold mellem Antal Mælkesyre- og x- Bakterier	1 : 8	1 : 26	1 : 38	1 : 49	—	—	—	—
Forskel, $1 \div 2$	4	19	23	18	4	15	4	$\div 5$
a ₁ + x ₀	6	16	36	49	6	10	20	13
a ₁ + x ₁	5	19	35	48	5	14	16	13
(a ₁ +b ₁ +c ₁ +d ₁)+x ₁ ..	8	21	35	53	8	13	14	18

Ved nu at gennemgaa denne Tabel vil man se, at i alle de Kulturer, hvor x-Bakterier har været dyrket sammen med Mælkesyrebakterier, er Rødfarvningen skredet langsommere frem end i de Kulturer, der kun indeholdt Mælkesyrebakterier. Der er altsaa ingen Tvivl om, at x-Bakterierne har formaaet at hjælpe Mælkesyrebakterierne til at bevare deres Reduktionsevne. Dette Forhold træder tydeligst frem, naar man betragter de Tal, der angiver Forskellen mellem Størrelsen af den rødfarvede Del i de respektive Kulturer. Ser man nu noget nærmere paa disse Tal, vil man se følgende.

I de 2 øverste Dele af Tabellen er der en ret betydelig Forskel mellem Størrelsen af disse Tal; de største Tal er fundet for de Kulturers Vedkommende, hvor der var flest x-Bakterier i Forhold til Mælkesyrebakterier.

Sammenholdes dernæst Forskelstallene i de 2 øverste og de 2 næste Afsnit af Tabellen, vil det ses, at medens Forskelstallene i de 2 øverste er tiltagende med Henstandstiden, er de aftagende i de 2 næste Afsnit. Men i de 2 øverste Afsnit er Forholdet mellem Antallet af x-Bakterier og Mælkesyrebakterier meget nær konstant, medens Forholdstallet i de 2 næste Afsnit viser, at x-Bakterierne er taget relativt af.

Den sidste Del af Tabellen viser, at Renkulturerne af x-Bakterierne meget nær har forholdt sig ligesom den oprindelige Blandingskultur, naar de blev dyrket sammen med en rendyrket Mælkesyrebakterie, medens deres Virkning var en noget anden, naar de blev dyrket sammen med en Mælkesyreblandingskultur.

Der er altsaa ikke Tvivl om, at x-Bakterierne hjælper Mælkesyrebakterierne til at bevare deres Reduktionsevne, og da, som tidligere omtalt, Bakterieantallet i Almindelighed er saa ulige meget større i den endnu ufarvede end i den rødfarvede Del af en lakmustilsat Mælkesyrekultur, kunde dette tyde paa, at x-Bakterierne er i Besiddelse af en Evne til ligefrem at forbedre Mælkesyrebakteriernes Eksistensbetingelser. Denne Evne synes, hvad jo iøvrigt ikke er urimeligt, at staa i Forbindelse med de Eksistensbetingelser, x-Bakterierne selv møder i Mælkesyrekulturerne, i alt Fald er det givet, at x-Bakteriernes Indvirkning paa Mælkesyrebakteriernes Reduktionsevne i høj Grad afhænger af, hvilke x-Bakterier der dyrkes sammen med hvilke Mælkesyrebakterier.

7. Fremgangsmaade ved de kemiske Undersøgelser.

a. Afdestilleringen af de flygtige Fedtsyrer i Mælkekulturerne.

Ved Afdestilleringen af de flygtige Fedtsyrer, der var produceret i Kulturerne, var det nødvendigt at sørge for, at Mælakens Bestanddele blev saa lidt som muligt udsat for nogensomhelst Sønderdelingsproces. Dette opnaaedes efter vort Skøn bedst ved Benyttelsen af den af Ernst Welde*) foreslaaede Vacuum-Damp-Destillationsmetode. Det af os anvendte Apparat, der var en noget ændret Form af det af Welde angivne, bestod af en 4 l rummende Glaskolbe, hvori den til Destillation afvejede Mængde — i Reglen ca. 500 g — af Mælkekulturen anbragtes. Kolbens Hals var lukket med en Kautsjukprop, forsynet med 3 Gennemboringer. Gennem den ene af disse var anbragt et Glasrør, der førte ned til nær Kolbens Bund, og gennem dette blev Vanddampe fra en lille Kobberkedel ledet ind i Mælkekulturen. I den anden Gennemboring var anbragt en lille Skilletragt, hvorfra der kunde tilføres Kolben Vand, naar man ønskede at holde Kulturens Rumfang nogenlunde uforandret under Destillationen. Endelig var der gennem den 3die Gennemboring ført et Glasrør, der endte et kort Stykke under Proppen; dette var forsynet med en Draabefanger og tjente til at lede Dampene fra Kolben til et Svaleapparat med Forlag, hvilket gennem en Vaskeflaske var forbundet med en kraftigt virkende Vandluftpumpe, der havde til Opgave at holde hele Apparatet saa vidt muligt lufttomt under Destillationsprocessen. Kolben med Mælkekulturen var anbragt paa et Vandbad, hvis Varmegrad holdtes konstant ved 60° C, ved hvilken Varmegrad Kulturen kom i stærk Kog, der under Destillationen reguleredes gennem Damptilførslen.

b. Bestemmelse af de flygtige Fedtsyrers »Forholdstal« efter Duclaux's Metode.

Denne Metode bestaar i, at man ved fraktioneret Destillation af 110 cm³ af en foreliggende Blanding af en passende fortyndet Opløsning — højst 2 pCt. — af flygtige Fedtsyrer indvinder 10×10 cm³ Destillat, hvilke Destillater hver for sig

*) Ernst Welde: Eine neue Methode zur quantitative Bestimmung flüchtige Fettsäuren. Biochemische Zeitschrift 28 B. Side 504.

i Rækkefølge titreres med $n/10$ Natronlud. De hermed fundne Tal opsummeres saaledes, at man faar Udtryk for Mængden af flygtige Syrer i henholdsvis 20—30—40 o. s. v. cm^3 Destillat.

Disse Tal, omregnet procentisk i Forhold til den ialt i 100 cm^3 Destillat fundne Syremængde, benævnes »Duclaux'ske Forholdstal«. Om fornødent frigøres Syrerne før Destillationen med en passende Tilsætning af Fosforsyre. Destillationen indstilles saaledes, at der medgaar 40—45 Minutter til Destillation af de $10 \times 10 \text{ cm}^3$.

c. Undersøgelser over de »Duclaux'ske Forholdstal« for Eddikesyre.

Under Arbejdet med Duclaux-Destillationerne fremkom der Forhold, der førte os ind paa en almindelig Undersøgelse af de af Duclaux angivne Forholdstal for de lavere Led af de fede Syrers Række. Det viste sig herved, at Tallene for Eddikesyre var behæftede med væsentlige Fejl. Som Grundlag for Undersøgelsen benyttedes 3 Prøver ren Eddikesyre, hvoraf de to Prøver var fra Fabriken Kahlbaum. — Efter at det var konstateret, at Syrerne ikke indeholdt Myesyre, blev de alle underkastede Duclaux-Destillation, hvorved der fandtes saa godt som fuldstændig overensstemmende Tal. Syrerne var følgende af samme Renhedsgrad, og vi valgte til de følgende Undersøgelser en af Syrerne fra Kahlbaum. 25 cm^3 af en hertil fremstillet n Opløsning neutraliseredes med Natron, tilsattes 6 cm^3 n Svovlsyre, og efter Fortynding med Vand til 120 cm^3 afdestilleredes heraf 100 cm^3 (1ste Fraktion). Til Destillationsresten sattes paany 6 cm^3 n Svovlsyre og Vand til 120 cm^3 og afdestilleredes 100 cm^3 , og dette gentoges 3 Gange, hvorved indvandt Fraktionerne 2—3 og 4. Hver af disse Fraktioner blev nu underkastede Destillation efter Duclaux's Metode. Sammenholdes de herved fundne Forholdstal for hver Fraktion, der findes sammenstillede i hosstaaende Tabel XXVI, indbyrdes, vil det ses, at Tallene stemmer saa godt overens, at det maatte anses for godtgjort, at Eddikesyren var fri for højere Homologer. Da endvidere disse Forholdstal for Kahlbaums Eddikesyre, som det vil fremgaa af Tabellen, var i særdeles god Overensstemmelse med dem, der var fundne for Laboratoriets rene Eddikesyre, og altsaa ligesom disse ret betydelig større end de af Duclaux angivne Tal, kunde der ikke være Tvivl om, at Duclaux's Tal maatte være for lave.

Ved Konstruktionen af den i Fig. 5 optrukne Kurve for Eddikesyre har vi derfor benyttet de i nedenstaaende Tabel opførte Forholdstal for denne Syre.

Tabel XXVI. Undersøgelser over Eddikesyrens „Forholdstal“.

Duclaux-Destillationen af	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100
1. Fraktion af Eddikesyren „Kahlbaum“	7.6	15.6	24.1	32.9	42.0	51.6	61.9	72.9	85.3	100
2. — — — — —	7.5	15.5	23.9	32.7	41.8	51.5	61.6	72.9	85.4	100
3. — — — — —	7.6	15.7	24.1	32.9	42.0	51.7	61.9	73.1	85.5	100
4. — — — — —	7.6	15.7	24.1	32.8	41.9	51.5	61.8	72.9	85.4	100
Gennemsnit...	7.6	15.6	24.1	32.8	41.9	51.6	61.8	73.0	85.4	100
Gennemsnit af Resultaterne fra 6 Destillationer af Laboratoriets Eddikesyre.	7.6	15.7	24.1	32.8	42.0	51.6	61.9	73.0	85.4	100
Duclaux's „Forholdstal“ for Eddikesyre	7.4	15.2	23.4	32.0	40.9	50.5	60.6	71.9	84.4	100

d. Kvantitativ Bestemmelse af Myresyre.

Hertil er anvendt en oprindelig af H. Franzen og G. Greve*) udarbejdet, men senere af H. Franzen og F. Egge**) forbedret Metode, der er baseret paa Myresyrens Reduktionsevne overfor Mercuroklorid. Fremgangsmaaden er følgende: Til en fortyndet vandig Opløsning af Myresyre eller Salte heraf sættes en passende Mængde af en Opløsning, bestaaende af 200 g Sublimat, 300 g Natriumacetat og 80 g Natriumklorid i 1 l Vand. Blandingen hensættes i kogende Vandbad i 3 à 3½ Time, hvorefter det udskilte Mercuroklorid samles i en Goochdigel og tørres til konstant Vægt ved 95—100° C. Myresyremængden beregnes ved Multiplikation af den fundne Mængde Mercuroklorid med 0.09773. Opløsningen maa ikke være stærkere end 0.5 g Myresyre i 1 l, og denne Mængde fældes af ca. 50 cm³ af Sublimatopløsningen.

Metoden giver tilfredsstillende Resultater, idet Tallene højest er fundne 5 pCt. for lave.

*) H. Franzen og G. Greve: Journal f. practich. Chemie. 80—368.

**) H. Franzen og F. Egge: (Ref. i Zeitsch. f. anal. Chemie. 51—581.

8. Forsøg i Mejerier med Anvendelsen af Syrer indeholdende x-Bakterier.

I de foregaaende Afsnit er der gjort Rede for, hvorledes det var lykkedes os ved Hjælp af de fundne x-Bakterier at tilføre Mælkesyrerenkulturer den Lugt og Smag, som karakteriserer en virkelig fin Mejerisyre. Da det imidlertid udelukkende var Laboratoriets Medarbejdere, som havde bedømt Syrerne, var der endnu Mulighed for, at praktiske Mejerister ikke vilde dele vor Mening om dem. Udelukket var det jo nemlig ikke, at vi under vort Arbejde saa at sige havde »forset os« paa visse Sider af Syrernes Karakter, og at vi f. Eks. havde tillagt Kravet om den milde Lugt og Smag, som x-Bakterierne gav Syrerne, større Betydning, end praktiske Mejerister vilde.

For at faa denne Sag oplyst har vi anmodet en Del af de Mejerister, der som Dommere blev tilkaldt til Laboratoriets Smørbedømmelser, om at bedømme en Række af vore Tykmælksprøver for os. Af saadanne Tykmælksbedømmelser blev der afholdt 5, og hver Bedømmelse blev udført af to Mejerister, saa Syrerne er altsaa i det hele blevne bedømt af ti forskellige praktiske Mejerister. Hver Bedømmelse spændte over en hel Række af Tykmælksprøver, af hvilke nogle var fremstillet med en eller flere Mælkesyrerenkulturer, andre med Blandinger af disse og x-Bakterier.

Det viste sig nu, at Mejeristerne ligesom vi uden Tøven skilte den Mælk, der var syrnet med Mælkesyrerenkulturer fra den, der ogsaa indeholdt x-Bakterier. Med Hensyn til de Karakterer, Mejeristerne gav, henvises til hosstaaende Tabel, der indeholder Gennemsnittet af Karaktererne ved hver Bedømmelse.

	Blandingskulturer	Renkulturer
1ste Bedømmelse	11.0	10.5
2den —	10.8	8.0
3die —	10.5	9.0
4de —	10.8	9.0
5te —	10.8	9.5
Gennemsnit	10.8	9.2

Der var altsaa ingen Tvivl om, at vore Syrer i Henseende til Lugt og Smag ogsaa efter praktiske Mejeristers Mening var

bedre end de, der kun var fremstillet med Mælkesyrerenkulturer, og tilbage stod nu at undersøge, om disse Syrer, som vi i det følgende for Kortheds Skyld vil kalde Aromasyrer, ogsaa kunde staa deres Prøve med Hensyn til at medvirke til et fint Smørprodukt. For at faa dette undersøgt, er der udført adskillige Mejeriforsøg, og det skal straks bemærkes, at Opgaven har frembudt mange Vanskeligheder, og at Arbejdet ofte er glippet, men at det dog efter vort Skøn er lykkedes os at overvinde Vanskelighederne og føre Bevis for, at x-Bakteriernes Tilstedeværelse i en Syre betyder et afgørende Plus, hvor det drejer sig om at fremstille godt Smør. De Vanskeligheder, man har at kæmpe med ved Kærningsforsøg i det praktiske Mejeribrug med forskellige Syrer, fremstillede af Renkulturer, tiltrukne i Laboratorier, er af forskellig Art. Vi skal her nævne de vigtigste:

- 1) En Syre, sammensat af forskellige Bakterier, taber ofte sin karakteristiske Lugt og Smag ved forandrede Vækstbetingelser, idet visse Former herved hemmes, andre fremmes.
- 2) Forandrede Vækstbetingelser medfører ofte en forbigaaende ganske betydelig Nedsættelse i Bakteriernes Syredannelses- og Koagulationsevne, selv om den Temperatur, Dyrkningen foretages ved, er den samme i Mejeriet som i Laboratoriet. Disse Perioder, hvor Bakteriernes Virksomhed saaledes bliver forringet, skal vi i det følgende beskæftige os en Del med, og for Kortheds Skyld vil vi kalde dem »Svækkelsesperioder«, og Bakteriernes Tilstand i disse Perioder vil vi kalde for »Svækkelse«.
- 3) Selv ved meget omhyggeligt Arbejde kan Forureninger med andre Bakterier meget let finde Sted; særligt mener vi at have lagt Mærke til, at Syrerne nemt forurenes under de Perioder af »Svækkelse«, som er omtalt under Punkt 2.

Disse Forhold har bevirket, at vore Mejeriforsøg i mange Tilfælde er lykkedes mindre godt, idet dels Aromasyrerne ved Dyrkning i Mejerierne i større eller mindre Grad har tabt deres aromatiske Karakter og herved faaet Lighed med Mælkesyrerenkulturer, og dels vore Mælkesyrerenkulturer i flere Tilfælde er blevet forurenede, blandt andet ogsaa med x-Bakterier, og derved faaet Karakter af Aromasyrer.

De nævnte Vanskeligheders Tilstedeværelse saavel som Midlerne, hvormed de bedst kunde overvindes, stod os i lang Tid ikke klart og naaedes først igennem en Række mere eller mindre ufuldkomne Forsøg. Naar vi af Forsøgene ogsaa omtaler ret mange af de mislykkede, er det dels for at vise, hvilken Vej vi er gaaet for at naa til Resultatet, dels fordi der ofte læres fuldt saa meget af et mislykket Forsøg som af et Forsøg, der er faldet heldigt ud.

De første Mejeriforsøg var planlagt saaledes, at vore Aromasyrer skulde sammenlignes med de Syrer, der anvendtes paa Mejerierne. Det første Forsøg af denne Art blev foretaget paa Stubbekøbing Fællesmejeri.

Der toges 2 Aromasyrer i Arbejde, der indeholdt samme Mælkesyrenenkultur, men hver sin Varietet af x-Bakterier, og som gennem længere Tids Dyrkning her paa Laboratoriet havde givet gode Resultater ved Tykmælksbedømmelserne.

Syrerne omplantedes i udsøgt Morgenmælk, der blev skummet for sig og derpaa opvarmet i $\frac{3}{4}$ Time til 85° med paafølgende hurtig Afkøling til Syrningstemperatur. Der foretoges daglig Omplantning, og den 7ende Dag benyttedes den bedste af Syrerne til Syrning af Fløden ved 15° C, idet der tilsattes 5 pCt. Syre. Samtidigt benyttedes Mejeriets Syre til den anden Flødetønde. Syrningen forløb normalt; Lugt og Smag var god for begge Partier Fløde, men dog kraftigst i den Fløde, der var syrnnet med Mejeriets Syre. Smørret var godt og ret ens. Dette Kærningsforsøg gentoges den 9ende Dag med lignende Resultat. De ved Forsøget fremstillede 4 Foustager Smør blev efter 14 Dages Henstand bedømt ved Laboratoriets Smørbedømmelser med følgende Resultat.

		Smør fra Fløde syrnnet med	
		Laboratoriets Syre	Mejeriets Syre
1ste Forsøg		10.7 Points	10.5 Points
2det	—	10.2 —	9.9 —
Middel		10.5 Points	10.2 Points

Til Sammenligning kan anføres, at af de 145 Mærker, Bedømmelsen omfattede, fik kun 12 en Karakter, der laa højere end 10.5, og at de tre bedste af disse fik 11.0 Points.

Dette Forsøg led under, at Laboratoriets Syrer den 3die Dag, de anvendtes i Mejeriet, blev svækkede, og skønt Svækkelsestilstanden hurtigt overvandt, lykkedes det ikke at faa Syrernes Aroma fuldt paa Højde med, hvad de havde været før Svækkelsen.

For nu saa hurtigt som muligt at skaffe yderligere Oplysning om, dels hvorledes vore Syrer indvirkede paa Smørkvaliteten, sammenlignet med Mejeriernes Syrer, og dels hvorvidt der skulde være særlige Vanskeligheder ved Anvendelsen i Praksis af de af os fremstillede Syrer, blev vore Syrer sendt til 8 gode Mejerier, som velvilligst havde lovet at benytte dem samtidig med Mejeriets egen Syre.

Paa 3 af disse Mejerier viste der sig Vanskeligheder med at faa vore Syrer til at arbejde tilfredsstillende, hvorfor det blev opgivet at bruge dem. Paa de øvrige 5 Mejerier arbejdede vore Syrer tilfredsstillende, selv om der ogsaa paa enkelte af disse særlig i Begyndelsen havde været nogle Vanskeligheder med Svækkelse. Fra disse 5 Mejerier var der saa til Laboratoriets Bedømmelse indsendt Smør, som dels var fremstillet med Laboratoriets Syre, dels med Mejeriernes egen Syre. Resultatet af Bedømmelserne findes opført hosstaaende.

Mejeri	Smør fremstillet med	
	Aromasyrer	Mejeriets Syrer
A	9.7 Points	10.0 Points
B	10.4 —	9.2 —
C	9.9 —	10.3 —
D	7.7 —	7.1 —
E	10.6 —	10.6 —
Gennemsnit	9.7 Points	9.4 Points

Det opnaaede Resultat var jo ikke særlig opmuntrende.

Vi besluttede os dog til at fortsætte Forsøgene, men da vore Syrer aabenbart var noget vanskelige at arbejde med, bestemte vi os til ikke foreløbig at sende Syrer til Mejerierne for at lade disse prøve dem, men selv at udføre Forsøgene.

Vore egne Forsøg blev derefter flyttet til Hedelykke Mejeri, som laa betydelig bekvemmere for os end Stubbekøbing.

Ved det første Forsøg paa Hedelykke blev Syrerne ligesom i Stubbekøbing-Forsøgene omplantet en passende Tid (5 Dage)

paa Mejeriet, inden de blev anvendt til Kærningsforsøg. Skønt Forplantningen fandt Sted ved 23° C, blev ogsaa denne Gang Syren svækket den 3die Dag.

Da Kærningsforsøget paabegyndtes den 5te Dag, var Svækkelsen vel overstaaet, men Syren var bleven noget skarp i Lugt og Smag, og i det hele taget knap paa Højde med Mejeriets Syre. Der var under Svækkelsen øjensynligt foregaaet en mindre heldig Forskydning i Syrens Sammensætning; og Resultatet af Kærningsforsøget blev da heller ikke godt. Der blev kærnet 3 Dage i Træk, og Smørret blev, 14 Dage gammelt, bedømt ved Laboratoriets Smørbedømmelser med følgende Resultat.

Løbe Nr.	Smør fra Fløde syrnnet med		Mejeriets Syre
	Laboratoriets Syre	Løbe Nr.	
18	9.8 Points	17	9.7 Points
20	10.1 —	19	10.4 —
22	9.9 —	21	10.7 —
Gennemsnit 9.9 Points			10.3 Points

Ogsaa dette Forsøg gav et mindre heldigt Resultat for vore Syrer. Vi havde imidlertid faaet Blikket op for, at Sammenligninger mellem Aromasyrerne og Mejeriernes Syrer ikke egnede sig til Besvarelse af Spørgsmaalet om, hvilken Betydning for Smørkvaliteten, der maatte tillægges x-Bakteriernes Tilstedeværelse i Syrerne.

Dels udviskedes nemlig Forsøgsresultaterne ved Aromasyrernes Mangel paa Stabilitet, men fremfor alt havde vi ved andre Undersøgelser (Side 70) erfaret, at alt talte for, at Mejerisyrerne saa godt som uden Undtagelse indeholdt x-Bakterier, saaledes at der ikke med Rette kunde ventes noget væsentligt Udslag ved Sammenligning mellem Mejeri- og vore Aromasyrer.

Forsøgsplanen blev da ændret saaledes, at vi ved nye Kærningsforsøg vilde drage Sammenligning mellem Indflydelsen paa Smørkvaliteten af Aromasyrer og Syrer, der kun indeholdt rendyrkede Mælkesyrebakterier. Det første af disse Forsøg blev udført paa Hødelykke Mejeri, og der blev anvendt dels en Syre, indeholdende én rendyrket Mælkesyrebakterie, og dels en Aromasyre, indeholdende den samme Mælkesyrebakterie og én rendyrket x-Bakterie. Begge

disse Syrer havde ved længere Tids Dyrkning i Laboratoriet vist sig som stabile, stærkt syrnende og koagulerende Syrer.

Tredie Dagen efter, at Syrerne var bragt til Anvendelse i Mejeriet, gennemgik de begge en Svækkelsesperiode, under hvilken Aromasyren imidlertid mistede sin Karakter og ganske kom til at lugte og smage som en Mælkesyrenenkultur.

Der kunde næppe være Tvivl om, at x-Bakterierne var bleven hemmet i deres Udvikling. Alligevel blev Kærningsforsøget udført, men Resultatet blev, som det var at vente, at der ingen Forskel var paa Smørret.

Da vi paa dette Tidspunkt endnu ikke var klare over, hvorledes vi skulde forebygge Svækkelsen af vore Syrer, og det var iagttaget, at der som Regel forløb 3 Dage, før Svækkelsen indtraf, gik vi over til at paabegynde Kærningsforsøget snarest muligt efter Syrernes Ankomst til Mejeriet.

Denne Fremgangsmaade blev anvendt ved et nyt Forsøg paa Hedelykke Mejeri, idet Kærningsforsøget paabegyndtes, efter at Laboratoriets Syrer var bleven omplantet kun én Gang. Der opnaaedes ogsaa, at der de to første Dage arbejdedes med fuldt ud karakteristiske Syrer, og at af det producerede Smør det, der var fremstillet med Aromasyrerne, fik et Points mere i Karakter ved Bedømmelsen end det, der var fremstillet med Mælkesyrenenkulturen.

Tredie Dags Kærningsforsøg gav derimod intet Udslag, men det viste sig ogsaa, at Mælkesyrenenkulturen var bleven inficeret, saa den i paafaldende Grad var kommen til at ligne Aromasyren.

Der blev foretaget bakteriologisk Undersøgelse af begge Syrerne, efter at Kærningsforsøget var afsluttet, og det viste sig, at begge Syrerne indeholdt rigelige Mængder af x-Bakterier, men de, der havde inficeret Mælkesyrenenkulturen, adskilte sig en Del fra dem, Laboratoriet hidtil havde arbejdet med, idet de var i Besiddelse af en betydelig kraftigere Vækst paa Pepton-Mælkegelatine baade i Spredninger og i Stikkultur end disse sidste.

Da dette Forsøg imidlertid for saa vidt var lykkedes, som der derved var ført Bevis for, at Aromasyrerne gav bedre Smør end Mælkesyrenenkulturen, vel at mærke, naar det lykkedes at gennemføre Syrningen med Syrerne i god Stand, blev Forsøget gentaget nogle Gange, stadig med Anvendelse af Syrerne hur-

tigst muligt efter deres Ankomst til Mejeriet. Ligesom ved første Forsøg var ogsaa ved disse Forsøg det Smør, der var fremstillet med Aromasyrerne, bedre end det, der var fremstillet med Mælkesyrerrenkulturene, men ret regelmæssigt mistede vore Syrer deres Karakter, som oftest ved at Aromasyrerne antog Karakter af Mælkesyrerrenkulturer.

At Blandingskulturer af x-Bakterier og Mælkesyrebakterier under Omplantning i steril Mælk ikke sjældent kan miste deres karakteristiske Egenskaber og antage samme Karakter som Mælkesyrerrenkulturer, var et Forhold, som vi var godt kendt med, og da Grunden hertil maatte være en Hemning af x-Bakteriernes Vækst, havde vi, som omtalt Side 63, forsøgt at dyrke hver Bakterieart for sig og først blande dem lige før Brugen. Hvor det drejede sig om at bibringe Tykmælken god Lugt og Smag, havde denne Fremgangsmaade, som det vil erindres, givet gode Resultater, og det laa da nær at prøve den samme Fremgangsmaade for at hindre, at Aromasyrerne mistede deres Karakter under Anvendelsen i Mejerierne.

Saadanne Forsøg blev udført paa Fuglede Mejeri, og begge Renkulturene blev paa almindelig Vis forplantet i meget omhyggeligt pasteuriseret Mælk.

Til Forplantningen brugtes 1 pCt. af Mælkesyrerrenkulturen og 4 pCt. af x-Bakteriekulturen. Til Syrningen af Fløden anvendtes 6 pCt. af Mælkesyrekulturen og 4 pCt. af x-Bakteriekulturen.

Det fremstillede Smør blev indsendt til og bedømt ved Laboratoriets Smørbedømmelser, men gennemgaaende var Smøret, der var fremstillet ved Syrning med x-Bakterier, daarligere end det, der var fremstillet ved Syrning uden disse. Det med x-Bakterierne fremstillede Smør fik ret jævnligt Bemærkningen »for surt«, selv om Surheden ikke nøje svarede til den Surhed, der almindeligvis findes i Smør, som faar denne Bemærkning.

Disse Forsøg blev opgivet, mindre paa Grund af Surheden, som vi højst sandsynligt havde kunnet undgaa ved at bruge mindre Mængder af x-Bakteriekulturen til Syrningen af Fløden, end fordi det trods al anvendt Omhu og Forsigtighed ikke lykkedes os under praktiske Forhold at gennemføre Forplantningen ff x-Bakterierne uden Forureninger f andre Bakterier.

Da nu ogsaa denne Forsøgsanordning var mislykkedes for os, og vi ikke mente ved nogen Ændring i Anvendelsen af Syrerne paa Mejeriet at kunne opnaa bedre Re-

sultater, var der intet andet at gøre end ved en ændret Behandling af Syrerne i Laboratoriet, inden de sendtes ud til Mejerierne, og maaske ved et omhyggeligere Udvalg af de Bakterier, der skulde arbejdes med, at søge at gøre vore Syrer saa modstandsdygtige, at de kunde taale Overflytningen fra Laboratorium til Mejeri. Vi maatte med andre Ord bestræbe os for allerede i Laboratoriet at behandle vore Syrer saaledes, at den Forandring i Vækstbetingelser, Syrerne undergik ved at flyttes fra Laboratorium til Mejeri, blev saa lille som muligt. Gennemgaar man saa de Punkter, paa hvilke der er Forskel med Hensyn til Syrernes Vækstbetingelser i Laboratorium og paa Mejeri, vil man se, at den væsentligste Forskel skyldes den Mælk, hvorpaa Syrerne dyrkes. Medens nemlig Syrerne i Laboratoriet dyrkes i steriliseret Mælk, der som Regel har faaet Lov til at henstaa saa lang Tid mellem Sterilisering og Brug, at den er bleven luftmættet, dyrkes Syrerne i Mejerierne i omhyggelig pasteuriseret Mælk, der pasteuriseres umiddelbart, før den bruges, og som derfor maa være om ikke luftfri saa dog i høj Grad luftfattig.

For nu at undersøge, om den Svækkelse, der saa ofte var indtraadt i vore Syrer, skulde skyldes Overgang fra Dyrkning i luftmættet Mælk til Dyrkning paa luftfattig Mælk, blev der her i Laboratoriet gjort følgende Forsøg.

Fem Syrer, tre Mælkesyrerenkulturer, I, II og III, og to Aromasyrer, IV og V, som i længere Tid havde været dyrket her i Laboratoriet paa luftmættet Mælk, blev pludselig dyrket paa Mælk, der, fordelt paa smaa Glaskolber, blev omhyggeligt pasteuriseret og hurtigst muligt afkølet umiddelbart før Besaanningen. Syrerne omsaaedes hver Dag og dyrkedes ved 20° C, og hver Dag blev Syreindholdet i de 24 Timer gamle Kulturer titreret med følgende Resultat.

Tabel XXVII. Cm³ n/10 Natron til 100 cm³ Mælk.

Syre	4/5	5/5	6/5	7/5	8/5	9/5	10/5
I	88.8	85.6	78.4*)	78.0*)	89.2	85.2	87.2
II	103.6	103.2	62.8*)	40.0*)	97.6	96.4	92.4
III	101.6	100.4	96.8	98.8	99.6	96.8	95.2
IV	103.6	103.2	103.6	107.6	42.8*)	72.0*)	103.2
V	100.8	107.6	103.2	104.0	108.0	106.0	102.0

*) Ikke koaguleret.

Det vil ses, at medens Syreproduktionen og Koaguleringen forløb uforandret ved Syrerne III og V, blev Syreproduktionen og Koaguleringssevnen i Syrerne I, II og IV stærkt nedsat i nogle Dage. Samtidigt med, at Syrerne dyrkedes paa denne luftfattige Mælk, blev de fortsat dyrket paa almindelig steriliseret, luftmættet Mælk, uden at Syredannelsen eller Koaguleringssevnen i ringeste Maade blev forandret.

Der kunde altsaa næppe være Tvivl om, at det bl. a. var Overgangen fra Dyrkning paa luftmættet til Dyrkning paa luftfattig Mælk, der i de tre af Syrerne havde fremkaldt en Svækkelsestilstand, der tilsyneladende ganske svarede til den, vore laboratoriumsdrvne Syrer saa jævnlgt gennemgik ved at bringes til Anvendelse i Mejerierne. Da det var Overgangen til Dyrkning paa luftfattig Mælk, der altsaa var farlig for Laboratoriumssyrerne, og da disse som oftest genvandt deres Syrnings- og Koagulationsevne efter nogle Dages Forløb, laa den Tanke nær at prøve, om det ikke skulde være muligt ved i nogen Tid at dyrke Syrerne i Laboratoriet paa frisk udkogt Mælk allerede i Laboratoriet at vænne dem saaledes til denne Dyrkningsmaade, at de uden at maatte gennemgaa nogen Svækkelsesperiode skulde kunne overføres til Mejerierne.

Da det af Hensyn til Arbejdet i Laboratorierne absolut er at foretrække at benytte steriliseret Mælk, fordelt paa Reagensglas, hvoraf man kan tilberede ret store Partier og saaledes have Mælk rede til øjeblikkelig Brug, bestemte vi os til at prøve, om en ganske simpel Udkogning af en i Forvejen steriliseret Mælk paa Reagensglas og Dyrkning paa en saadan Mælk i en Uge skulde være nok til at vænne Bakterierne til Dyrkning paa udkogt Mælk. Der blev da udført følgende Forsøg.

Af en Mælkesyrerenkultur anlagdes to Rækker Kulturer, en, mærket I, paa almindelig luftmættet, steril Mælk i Reagensglas og en, mærket III, paa en tilsvarende Mælk, som umiddelbart før Brugen havde faaet Opvarmning til ca. 95° C med derefter følgende hurtig Afkøling. Af en Aromasyre blev der dannet to ganske lignende Rækker Kulturer, en, mærket II, paa luftmættet, og en, mærket IV, paa luftfattig Mælk. Efter at disse fire Kulturer var bleven dagligt omsaet i en Uge, henholdsvis paa luftmættet og luftfattig Mælk, skulde det prøves, om denne Dyrkning paa luftfattig Mælk havde kunnet beskytte dem mod »Svækkelse«. Denne Prøve fandt Sted baade i La-

boratoriet og paa Hedelykke Mejeri. For at forme Prøven paa Laboratoriet saaledes, at den i videst mulig Grad kom til at svare til den Prøve, Kulturerne kom til at gennemgaa i Mejeriet, foretoges den daglige Omsaaning i Laboratoriet paa pasteuriseret Skummetmælk, som dagligt blev bragt ind fra Hedelykke Mejeri, og som efter Ankomsten til Laboratoriet endnu en Gang blev pasteuriseret og afkølet for derpaa at hældes op i ca. 40 cm høje steriliserede Cylinderglas, hvorpaa Besaanningen fandt Sted. Spillede Mælkens Luftholdighed en Rolle, maatte nemlig ogsaa Højden af den Mælkesøjle, hvori Dyrkningen fore-

Tabel XXVIII. Antal Cm^3 $n/_{10}$ Natron til 100 Cm^3 Mælk.

Dato	Forud dyrket paa luftmættet Mælk		Forud dyrket paa luftfattig Mælk	
	I	II	III	IV
15/6	92.8	98.4	89.2	98.0
16/6	91.2	98.8	87.2	98.4
17/6	40.8*)	99.2	88.0	98.8
18/6	64.4*)	99.6	90.8	100.0
19/6	87.6	101.6	88.0	98.4
20/6	92.0	33.2*)	88.8	97.2
21/6	96.0	25.6*)	88.0	98.4
22/6	96.0	35.2*)	90.8	96.8
23/6	96.8	98.4	94.4	102.0
24/6	97.6	100.8	94.8	99.2
25/6	96.0	97.6	98.8	98.0

*) Ikke koaguleret.

toges, være af Betydning, og i Mejerierne er Mælkesøjlen i Syrespandene vel ca. 50 cm.

Hver Dag foretoges Titrering af de 24 Timer gamle Kulturer. Resultaterne af Forsøget findes hosstaaende i Tabel XXVIII.

Det vil ses, at Kulturerne I og II, som forud havde været dyrket paa luftmættet Mælk gik ned i Syredannelses- og Koaguleringssevne, medens de to tilsvarende Kulturer III og IV, der havde været dyrket i luftfattig Mælk, ikke undergik nogen Svækkelse. For en Fuldstændigheds Skyld maa anføres, at samtidigt med, at Kulturerne I og II gik over fra Dyrkning paa luftmættet til Dyrkning paa luftfattig Mælk, anlagdes der

en Række Kulturer til fortsat Dyrkning paa luftmættet Mælk, og i disse Kulturer indtraadte ikke nogen Svækkelse. Efter dette Laboratoriumsforsøg at dømme, saa det jo ud, som om nogen Tids Dyrkning paa udkogt, steril Mælk i Reagensglas (altsaa lave Mælkesøjler) skulde være tilstrækkelig til at beskytte Syrerne mod Svækkelse; men det forholdt sig dog anderledes. Samtidigt med Laboratoriumsforsøget blev der som omtalt foretaget et Mejeriforsøg, ved hvilket alle fire Syrer blev forplantede paa almindelig Vis, og i dette Forsøg svækkedes alle Syrerne, men de, der forud havde været dyrket paa luftfattig Mælk, blev angrebet noget senere og delvis svagere end de andre. Vi drog deraf den Slutning, at Dyrkningen paa luftfattig Mælk i Reagensglas vel havde formaaet at beskytte Syrerne mod den Svækkelse, vi kunde fremkalde ved Dyrkning her i Laboratoriet, men at denne Behandlingsmaade ikke var saa skrap, at Syrerne derved var bleven modstandsdygtige nok til uden at svækkes at kunne taale Dyrkningen i Mejeriet. Vi bestemte os da til at udstrække Dyrkningen i udkogt Mælk til i det mindste to Uger og foretage den i vore Glas cylindre, altsaa i Mækelag paa ca. 40 cm's Højde. Naar vi behandlede Syrerne paa denne Maade, viste det sig, at Syrerne ikke blev svækkede ved at overføres til Mejerierne.

Selv om vi saaledes var kommen ud over Vanskeligheden med Svækkelsen, saa var vi ikke dermed sikre paa at være kommen ud over Vanskelighederne med de Forandringer i Syrernes Karakter, der saa ofte indtraf ved Dyrkningen i Mejeriet og som oftest fulgte umiddelbart efter en Svækkelsesperiode. Disse Forandringer bestod i, at Aromasyrerne kom til at smage som Renkulturer og Renkulturerne som Aromasyrer. Samtidigt med disse Forandringer i Smag og Lugt indtraadte ogsaa en Forandring i Syreproduktionen, idet Aromasyren, der ved Dyrkning i 24 Timer ved 20° C almindeligvis titrerede 106—110 pr. 100 cm³ Mælk, gik ned til 96—100, d. v. s. Renkulturerne almindelige Titer, og omvendt med Renkulturerne. Samtidigt med vore ovenfor nævnte Undersøgelser over Svækkelsen havde vi ogsaa taget dette Spørgsmaal om Syrernes Forandring op til Undersøgelse og gjort det ved paa det omhyggeligste at følge de Forandringer i Lugt og Smag, som foregik i de Syrer, der samtidigt dyrkedes i Mejeriet og i Laboratoriet paa udkogt Mælk i høje

Lag. Var vi nemlig udsatte for at faa Syrerne inficerede ved Dyrkning i Mejeriet, gik vi ud fra, at vi maatte kunne arbejde uden Forureninger i Laboratoriet. Naar saa der indtraadte Forandringer i Syrernes Karakter, og f. Eks. en Mælkesyrerrenkultur var kommen til at smage som en Aromasyre, undersøgtes det, om den var kommen til at indeholde x-Bakterier, og omvendt undersøgtes det, naar en Aromasyre havde mistet sin Karakter, om x-Bakterierne i den var gaaet til Grunde.

Resultatet af Undersøgelserne blev følgende. Hændte det, at en Mælkesyrerrenkultur under Arbejdet kom til at ligne en Aromasyre, skyldtes dette udelukkende Forureninger med x-Bakterier.

Disse Bakterier findes, som allerede omtalt i tidligere Afsnit, i de fleste Mejeriprodukter og maa aabenbart være meget almindeligt udbredt i Mejerierne. Skønt vi nemlig arbejdede saa omhyggeligt, som det var os muligt, var det dog et ikke ringe Antal af vore Forsøg, der mislykkedes ved, at disse Bakterier fik Indpas i vore Mælkesyrerrenkulturer.

I hvor høj Grad end disse Forureninger med x-Bakterier vanskeliggjorde os vort Arbejde, saa fik vi dog gennem disse Forsøg yderligere Bekræftelse paa, at det er x-Bakterierne, som bevirker Forskellen mellem Mejerisyrene og Mælkesyrerrenkulturerne, og naar vi, hvad en enkelt Gang hændte, sendte ud til Mejeriet en skarpt smagende Syre, der kun indeholdt Mælkesyre kulturer og fik tilbage en ganske fortræffelig Syre, som udmærkede sig ved en endda ganske ualmindelig fin og mild Smag, og vi saa fandt, at den var kommen til at indeholde x-Bakterier, ja, saa mente vi deri at se en Forklaring paa, hvorledes det maaske i Virkeligheden er gaaet til, naar man hidtil har ment at have opnaaet gode Resultater i Mejerierne ved Anvendelsen af Mælkesyrerrenkulturer som Syrevækkere.

Med Hensyn til den anden Side af Spørgsmaalet: Aromasyrernes Overgang til at smage ligesom Renkulturer, forholdt det sig paa følgende Maade.

Ogsaa denne Overgang fandt som oftest Sted samtidigt med, at Syrerne gennemgik Svækkelsesperioden, men saavel i Mejeri som i Laboratorium kunde Syrens Karakter forandre sig, uden at Syren nødvendigvis først maatte svækkes. Forklare i Enkelthederne, hvorfor og hvorledes en Aromasyre antager Karakter

af en Renkultur, ser vi os ikke i Stand til. At Forandringen skyldes, at x-Bakterierne af en eller anden Grund hemmes og holdes nede, er givet, thi de forsvinder ikke af Syren. Undersøger man nemlig en saadan forandret Aromasyre, finder man x-Bakterierne i den trods Forandringen, og overføres de paa anden Mælk sammen med andre Mælkesyrebakterier, giver de sig tydeligt tilkende ved i høj Grad at give Syren Karakter af Aromasyre, men vi staar uforstaaende overfor Spørgsmaalet om, hvorfor x-Bakterierne paa et Mejeri inficerer en Mælkesyrerenkultur samtidig med, at de ikke — eller tilsyneladende ikke — inficerer en Aromasyre, hvis egne x-Bakterier endda hemmes og holdes nede.

Et Faktum var det imidlertid, at Aromasyrerne kunde forandre Karakter, og selv om det ogsaa oftest var Svækkelsestilstanden, der direkte eller indirekte syntes at være Aarsag til, at x-Bakterierne blev hemmede, og vi ved at have fundet Midler til med nogenlunde Sikkerhed at kunne undgaa Svækkelsen, var det ogsaa hændet, at Aromasyrerne skiftede Karakter uden forudgaaende Svækkelse, og vi maatte altsaa se at finde Midler til at undgaa Karakterforandringen, d. v. s., vi maatte se at finde saadanne Kombinationer af Mælkesyrerenkulturer og x-Bakterier, som i Mejerierne lod sig dyrke, uden at x-Bakterierne hemmedes.

Ved alle de Forsøg, vi hidtil har omtalt, bestod Aromasyrerne af én Sort x-Bakterier, dyrket sammen med en eller flere Mælkesyrerenkulturer. Da nu Resultaterne var blevet, at Aromasyrerne i saa mange Tilfælde var mislykkedes for os, besluttede vi os til at prøve paa at sammensætte vore Aromasyrer af to eller flere Sorter x-Bakterier, dyrket sammen med to eller flere Mælkesyrerenkulturer, og dernæst under Arbejdet med Udvalget af de Stammer, der skulde bruges, at være særligt agtpaagivende med Hensyn til mindste Antydninger af Ændringer i Karakteren.

For at gøre Udvalget saa strengt som muligt, skulde Undersøgelserne af de forskellige Bakteriekombinationers Egenskaber strække sig over et længere Tidsrum, og der skulde gøres flittigt Brug af Dyrkning i udkøbt Mælk i høje Lag, idet vi gik ud fra, at en saadan Dyrkning, der kom Dyrkningen i Mejerierne saa nær som muligt, lettest vilde røbe mulige Tilbøjeligheder hos Syrerne til at forandre sig.

I det følgende skal vi give en Fremstilling af den Fremgangsmaade, som blev benyttet for at fremstille en af de Aromasyrer, der med Held blev anvendt som Syrevækker ved vore Mejeriforsøg.

Femten Stammer af rendyrkede x-Bakterier (mærkede x_b 0—15), isolerede fra en Syre fra Mejeriet Hamlet, tre andre Stammer (mærkede x_a 1—3), isolerede fra fint Smør, og endelig to Stammer, isolerede fra en Syre fra Mejeriet Hedelykke, blev

Tabel XXIV.

Gruppe mrk.	Antal Sorter x-Bakte- rier i Grup- perne	Gruppernes Blandingskulturer med Mælkesyrebakterie Nr. 2			
		Points ved Tykmælksprøven for		Syreindhold Cm ³ n/10	Syreforøgelse Cm ³ n/10
		Lugt	Smag	i 100 Cm. ³ Kult	i 100 Cm. ³ Kult.
a	1	14	14	117.2	14.8
b	2	14+	14+	116.8	14.4
c	2	14÷	14÷	114.0	11.6
d	2	14	14	108.0	5.6
e	2	14.5	14.5	110.8	8.4
f	3	14	14+	116.4	14.0
g	3	14	14	115.2	12.8
h	3	14	14	110.0	7.6
i	3	14	14÷	112.0	9.6
j	9	14	14	109.2	6.8
k	2	14.5	14.5	114.8	12.4
l	4	14+	14+	109.6	7.2
m	7	14	14.5	108.8	6.4
n	3	14	14	108.8	6.4
Bakt. Nr. 2	—	—	—	102.4	—

med færre eller flere Stammer i hver fordelt i 14 Grupper, der hver blev saaet i hver sin Portion sterile Mælk sammen med en rendyrket, stærkt syrnende Mælkesyrebakterie (mærket Nr. 2). Disse 14 Blandingskulturer blev underkastet Tykmælksbedømmelsen, og deres Syreproduktion blev undersøgt.

Resultaterne fra disse Undersøgelser findes i hosstaaende Tabel XXIV, hvor de 14 Blandingskulturer er betegnede med Bogstaverne a, b, c o. s. v.; og hvor der i sidste Kolonne er angivet, hvor megen Syre Blandingskulturerne har produceret mere end Mælkesyre-kulturen Nr. 2, som de er dyrket sammen med. Det

vil af Oversigten fremgaa, at alle Kulturerne har givet gode Resultater ved Tykmælksbedømmelserne, men at der baade i Mængden af produceret Syre og i Syreforøgelsen var ikke lidt Forskel mellem Grupperne.

Af det saaledes foreliggende Materiale maatte der imidlertid gøres et passende Udvalg, hvormed der kunde arbejdes videre. Til fortsat Undersøgelse valgte vi følgende Kulturer af x-Bakterier:

Gruppe	Indhold af x-Bakterier
e.....	$x_{h_0} + x_{a_2}$
f.....	$x_{h_5} + x_{h_{11}} + x_{h_3}$
k.....	$x_{h_5} + x_{h_2}$
m.....	$x_{h_1} + x_{h_7} + x_{h_6} + x_{h_8} + x_{h_{13}} + x_{a_1} + x_{f_1}$

hvilke 4 Kulturer ifølge Resultaterne fra Tykmælksprøven maatte betragtes som de bedste af de foreliggende Blandinger af x-Bakterier. De blev under deres Sammendyrkning med Mælkesyrebakterien Nr. 2, jævnsidig med »Hamlets« Syre, daglig omplantede i nye Portioner steriliseret Mælk, hvorefter deres Syreproduktion bestemtes ved Titring af deres 3 Dage gamle Kulturer for at faa Oplysning om Kulturerne's Stabilitet med Hensyn til Syredannelsen. Resultaterne fra Syretitreringen var følgende:

Tabel XXX. Syreindhold i Gennemsnit i 100 Cm³ Mælekultur af:

Dato	e + 2	f + 2	k + 2	m + 2	„Hamlet“ Syre
18/1—21/1 18	108.8 n/10	110.0 n/10	109.2 n/10	108.4 n/10	105.2
22/1—25/1 —	102.2 —	109.2 —	108.4 —	106.8 —	105.6
26/1—29/1 —	99.2 —	106.4 —	107.2 —	100.4 —	105.2
30/1—2/2 —	98.8 —	106.4 —	106.4 —	98.4 —	106.4
3/2—6/2 —	—	104.0 —	108.0 —	—	107.2
9/2—10/2 —	—	107.6 —	106.4 —	—	108.4
Gennemsnit.	—	107.3	107.6	—	106.3

Af Tallene i hosstaaende Tabel fremgik, at Kulturerne nrk. e+2 og m+2 ved daglig Omplantning mere og mere var bleven svækkede i deres syredannende Evne, og da de tilmed ved Tykmælksprøven den 2/2 18 viste sig at have mistet Evnen

til at give Tykmælken den for x-Blandingskulturerne karakteristiske Lugt og Smag og i saa Henseende nærmest lignede Renkulturer af Mælkesyre bakterier, blev de kasserede. Kulturerne nrk. f+2 og k+2 havde derimod ved daglig Omplantning bevaret deres syredannende Evne ret uforandret om end knap saa godt som »Hamlets« Syre, og Resultatet fra Tykmælksprøven var for dem begge uforandret godt.

Den til disse Undersøgelser anvendte Mælkesyrebakterie Nr. 2, der besad en stor syredannende Evne, egnede sig maaske ikke lige godt til Sammen dyrkning med enhver af de fra »Hamlets« Syre isolerede x-Bakterier eller forskellige Blandinger af disse. I ethvert Fald var der Mulighed for, at der mellem de i »Hamlets« Syre tilstedeværende Mælkesyrebakterier maatte findes nogle, der egnede sig endnu bedre til Sammen dyrkning med de x-Bakterier, der var isolerede fra denne Syre. Af de ved Spredning i Pepton-Mælkegelatine af »Hamlets« Syre erholdte Kolonier af Mælkesyrebakterier udsaaede vi derfor i steriliseret Mælk, og i de derved erholdte Mælkekulturer bestemtes Syreindholdet ved Titring. I 15 af de 3 Dage gamle Kulturer fandtes et Syreindhold svarende til 76.4—97.2 n/10 Natron, medens dette i to af Kulturerne kun var 38.4 og 44.8. Af disse 15 Mælkesyrebakterie-Kulturer dannedes fire Grupper, og foruden disse medtoges Mælkesyrebakterien Nr. 2 som en Gruppe for sig. Mælkekulturerne af disse 5 Grupper (dyrkede ved 20° C) indeholdt efter 4 Dages Forløb følgende Syremængder i 100 cm³ af Kulturerne:

Gruppe	Sammensætning	Syreindhold
I.	Mælkesyrebakterien Nr. 2	98.0 n/10
II.	4 af de stærkest syrnende Bakterier fra »Hamlets« Syre	93.2 -
III.	3 af de stærkest syrnende + 1 svagtsyrnende Bakterie fra »Hamlets« Syre ..	92.0 -
IV.	4 af de svagere syrnende + 1 svagtsyrnende Bakterie fra »Hamlets« Syre ..	65.2 -
V.	3 af de svagest syrnende Bakterier fra »Hamlets« Syre	72.0 -

Ved Kombination af disse 5 Grupper af Mælkesyrebakterier dannedes endelig 9 nye Grupper, der i hosstaaende Tabel er betegnet med Bogstaverne fra A til I, og i de 3 Dage gamle

Mælkekulturer af disse Grupper bestemtes Syreindholdet. Til lige blev alle disse Mælkekulturer underkastede Tykmælksprøven for at faa Oplysning om deres Beskaffenhed. Til Mælkekulturerne af hver Gruppe blev endelig sat Kulturen af en og samme x-Bakterieblending, nemlig den tidligere omtalte mrk. k, der var sammensat af x-Bakterierne mrk. $x_{h_5} + x_{h_2}$, og med Mælkekulturerne af disse x-Blandingskulturer foretoges Tykmælksprøver. Resultatet fra alle disse Undersøgelser findes opført i hosstaaende Tabel XXXI.

Tabel XXXI.

Mælkesyrebakterie- Blanding mrk.	Blanding af Grupperne	Syreindhold i 100 Cm ³ Kultur Cm ³ n/10	Ved Tyk- mælks- prøven Points for		Bemærkninger	Blandingskultur af Grupperne med x-Bak- teriekulturmrk. erholdt ved Tykmælksprøven Points for		
			Lugt	Smag		Lugt	Smag	Koagulets Konsistens
A	I	100.8	11	11+	Ret velsmagende	14	14+	Stift
B	II	95.2	11	11	Kraftig Syre	14	14÷	Lidt blødt
C	I+III	99.2	11	11	Udpr. Renkultursmag	14	14÷	do.
D	I+IV	100.0	12	12	Mild Smag	14	14+	Stift
E	I+V	100.0	12	12	do.	14	14+	do.
F	II+III	95.6	11+	11+	do.	14	14+	do.
G	II+IV	96.0	11	11	Udpr. Renkultursmag	14	14÷	Lidt blødt
H	II+V	95.2	11	11	Kraftig Syre	13+	13+	Blødt
I	I+II+III+IV+V	96.0	11	12	Mild Syre	14	14+	Stift

Af det saaledes undersøgte Materiale valgtes de Blandingskulturer til fortsat Undersøgelse, der havde givet de bedste Resultater ved Tykmælksprøven, nemlig Kulturerne A+k, D+k, E+k, F+k og I+k, og foruden disse 5 Kulturer medtoges til fortsat Dyrkning 3 af de ældre, ovenfor omtalte Kulturer mrk. 2+f, 2+k og »Hamlets« Syre. Disse 8 Kulturer blev daglig omplantede i nye Portioner steriliseret Mælk og dyrkede ved 20° C, hvorefter de paany blev underkastet Tykmælksprøven efter at have været dyrket under daglig Omplantning i længere Tid ved 20° C, og deres Maksimums-Syreindhold jævnlig bestemt ved Titration. Resultaterne fra Tykmælksprøven og Syre-titreringerne var følgende:

Tabel XXXII.

Kultur mrk.	Syreindhold i 100 Cm ³ Kultur Cm ³ 10/n			Resultat fra Tykmælksprøven Points for		
	17/2	26/2	Nedgang	Lugt	Smag	Bemærkning
2 + f	108.8	104.0	4.8	13	14	—
2 + k	108.4	106.0	2.4	13	14	—
„Hamlet“s Syre	107.2	104.8	2.4	13	14 ÷	—
A + k	109.6	104.8	4.8	13	14 ÷	Blødt Koagulum
D + k	110.4	98.4	12.0	11	12	Smag som Mælkesyrebak. Renkult.
E + k	110.8	106.0	4.8	14	14 +	—
F + k	108.0	105.2	2.8	11	12	Smag som Mælkesyrebak. Renkult.
I + k	108.0	101.2	6.8	11	12	do. do.

Af disse 8 Kulturer udvalgte de to bedste, nemlig: 2+k og E+k, samt »Hamlets« Syre til fortsatte Forsøg, hvori desuden Mælkesyrebakterierne Nr. 2 medtoges. Disse 4 Kulturer blev daglig implantede i Sødsmælk fra Københavns Mælkeforsyning, der forud var bleven pasteuriseret $\frac{1}{2}$ Time ved 90° C og derefter afkølet. Den blev umiddelbart før Brugen opvarmet til 20° C, ved hvilken Varmegrad Kulturerne blev dyrkede. Dyrkningen foretoges i høje Cylinderglas med 400 cm³ af den pasteuriserede Sødsmælk i hvert Glas, hvortil der blev sat 2 pCt. af Mælkekulturerne. Efter 24 Timers Henstand blev den koagulerede Mælk i hvert Cylinderglas omhyggelig omrystet, og der udtoges af Mælken i hvert Glas 8 g til Brug ved Syrningen af de næste Portioner Mælk, hvormed de blev blandet, før Mælken fyldtes i Cylinderglassene. Dernæst afvejedes til Titring 25.75 g = 25 cm³ af Mælkekoagulet i hvert.

Hver Dag titreredes Syreindholdet og foretoges Bedømmelse af Lugt og Smag. Denne Behandling fortsattes i 14 Dage, og i Gennemsnit var Resultatet følgende:

Kultur mrk.	Syreindhold i 100 gr Kultur	Points for Smag
E+k	94.7 cm ³ n/10	14
2+k	93.2 —	13.5
Hamlets Syre	95.3 —	13.5
Mælkesyrebakterie Nr. 2	87.8 —	11

Man vil se, at den ene Aromasyre, E+k, med Hensyn til Syreproduktion meget nær stod paa Højde med og, hvad Smagen angaar, overtraf Hamletsyren, hvorfra de Bakterier, den var sammensat af, skrev sig, og at den anden Aromasyre, 2+k, i begge Henseender overgik Renkulturen Nr. 2, som indgik i Blandingen. Begge Aromasyrerne viste sig holdbare ved at bruges i Mejeriet.

Naar det først lykkedes os at fremstille gode og i Praksis umiddelbart anvendelige Kulturer ved at dyrke flere Stammer x-Bakterier sammen med flere Stammer Mælkesyrebakterier, vil vi ikke derfor hævde, at det skulde være umuligt at opnaa det samme Resultat ved kun at benytte én Stamme x-Bakterier og én Stamme Mælkesyrebakterier. Vi er tværtimod mest tilbøjelige til at mene, at vi vilde kunne have opnaaet de samme Resultater med de faa Stammer, som vi opnaaede med de flere, forudsat, at vi under Arbejdet med Udvalget af dem havde benyttet de samme skrappe Undersøgelsesmidler, som vi nu anvendte overfor Syrerne, sammensat af de mange Stammer.

Det første Forsøg, som blev foretaget med vore nye Aromasyrer, blev udført paa Hedelykke Mejeri. Syrerne blev paa almindelig Maade dyrket paa Mejeriet i nogle Dage før selve Kærningsforsøget fandt Sted, og foregik ved 20° C med en Omsaamningsmængde af 2 pCt. Da der i Løbet af en Uge ingen Svækkelse havde fundet Sted, benyttedes Syrerne til Syrning af Fløden.

Denne foregik ved 15—16° C, og der anvendtes 7—8 pCt. Syre. Der kærnedes Smør i 4 Dage, og dette blev tillige med en Prøve af Mejeriets eget Smør indsendt til Bedømmelse ved Laboratoriet, hvor det i frisk Tilstand og efter 14 Dages Henstand fik følgende Points.

	1. Bedømmelse			2. Bedømmelse		
	Smør fra Fløde, syrnede med Aromasyre	Renkultur	Mejerisyre	Smør fra Fløde, syrnede med Aromasyre	Renkultur	Mejerisyre
I.	11.0	8.5	9.5	10.5	8.7	9.0
II.	10.5	9.5		9.9	9.4	
III.	9.8	10.0		9.8	9.8	
IV.	10.8	10.0		10.3	9.8	
Gennemsn.	10.5	9.5	9.5	10.1	9.4	9.0

Grunden til, at den ret store Forskel af 1.8 Points, der den første Dag var mellem de 2 Slags Smør, efterhaanden blev mindre, ligger jo dels i den forbigaaende Forringelse af Kvaliteten af Smørret fra Aromasyren, en Forringelse, som vi ikke kan forklare, men væsentligst i, at Smørret, syrnnet med Mælkesyrerenkulturen, stadig gik frem i Kvalitet. Aarsagen til denne Fremgang maa sikkert søges i, at denne Syre ret hurtigt begyndte at skifte Karakter og i Smag stærkt nærmede sig Aromasyren. Dens Syretitreringstal steg stadigt og naaede 6.4 cm n_{10}^D Natron højere end til at begynde med, og ved Undersøgelse viste det sig da ogsaa, at der havde fundet Forurening med x-Bakterier Sted.

De to sidste Forsøg blev gjort paa Fuglede Mejeri; ogsaa ved disse kærnedes der i 4 Dage, og baade Forsøgssmørret og en Prøve af Mejeriets Smør blev bedømt friskt og 14 Dage gammelt og fik følgende Points.

	1. Bedømmelse			2. Bedømmelse		
	Smør fra Aroma-syre	Fløde, syrnnet med Ren-kultur	Mejeri-syre	Smør fra Aroma-syre	Fløde, syrnnet med Ren-kultur	Mejeri-syre
I.	12.0	10.0	10.5	9.9	8.3	9.8
II.	11.0	10.0		9.8	8.4	
III.	11.0	10.5		9.6	8.3	
IV.	12.0	10.5		9.6	8.9	
Gsn.	11.5	10.3	10.5	9.7	8.5	9.8
I.	10.9	10.1	10.7	9.6	9.7	9.9
II.	10.7	9.0		11.0	10.1	
III.	10.4	8.7		10.9	10.3	
IV.	10.8	9.7		10.6	10.1	
Gsn.	10.7	9.4	10.7	10.5	10.1	9.9

Ved alle disse tre Forsøg har det altsaa vist sig, at baade i frisk Tilstand og 14 Dage gammelt har det Smør, der var fremstillet med Syrer, der indeholdt x-Bakterier, været bedre end det Smør, der var fremstillet med Syrer, hvori de manglede. Der synes altsaa næppe at kunne være Tvivl

om x-Bakteriernes gode Indvirkning paa Smørrets Kvalitet.

Naar vi nu har ført ogsaa praktisk Bevis for, at en Syre, som indeholder baade x-Bakterier og Mælkesyrebakterier, giver bedre Smør end den Syre, som kun indeholder Mælkesyrebakterier, og at man altsaa, naar man vil fremstille en god Syre, maa sammensætte den af begge disse Bakteriearter, saa er det os samtidig klart, at der, saavidt vi da kan se nu, er Mulighed for, at vore Forsøg ikke fuldt ud vil faa den praktiske Betydning, som vi havde tilstræbt.

Det er lykkedes for os at paapege de Bakterier, der er Grunden til Forskellen mellem en fin Mejerisyre og en Syre, der kun indeholder Mælkesyrebakterier; det er lykkedes for os rationelt at fremstille en Syre, der fuldt ud staar paa Højde med de gode Mejerisyre, men samtidig har vi faaet at se, at de Bakterier, som det drejer sig om, er saa almindeligt udbredte, at de højst sandsynligt findes i ethvert Mejeri, og saaledes af sig selv vil tilføres de Mælkesyrenkulturer, der som Syrevækkere kommer ud til Mejerierne. I alt Fald er det som alt anført ofte hændt os, at vore Mælkesyrenkulturer ved paa almindelig Maade at forplantes i Mejerierne er gaaet over til at blive endda meget fine Syrer, og paa samme Maade er det sikkert ogsaa gaaet, hvor Handelssyrevækkere, naar disse kun har indeholdt Mælkesyrenkulturer, har udviklet sig til fortræffelige Mejerisyre.

Selv om man nu maaske derfor vilde være tilbøjelig til at mene, at man vilde kunne nøjes med at sende Mælkesyrenkulturer ud til Mejerierne og saa stole paa, at just de x-Bakterier, der skulde til for at danne en god og stabil Syre, nok skulde indfinde sig af sig selv, saa tør vi ikke paa nogen Maade bestride, at en saadan Fremgangsmaade vil kunne lykkes, men man maa være klar over, at man vilde give sig Tilfældet i Vold. Man vilde nemlig ofte kunne faa fortræffelige, stabile Syrer, men man vil sikkert ogsaa ofte kun opnaa middelmaadige Resultater.

Efter vor Formening har vore Undersøgelser vist, ad hvilke Veje man højst sandsynligt bør gaa for paa rationel Maade at

kunne fremstille en Syre, der vil være fuldt færdig til at tages i øjeblikkelig Brug paa Mejerierne.

Endelig maa vi udtale, at det jo kun er en Del af de Spørgsmaal, der staar i Forbindelse med Sammensætningen af en god Syre og med den Rolle, x-Bakterierne i saa Henseende spiller, samt kun en Del af Spørgsmaalene om x-Bakteriernes Natur, som det er lykkedes os at belyse. Nu er imidlertid Begyndelsen gjort, og saa maa andre fortsætte.

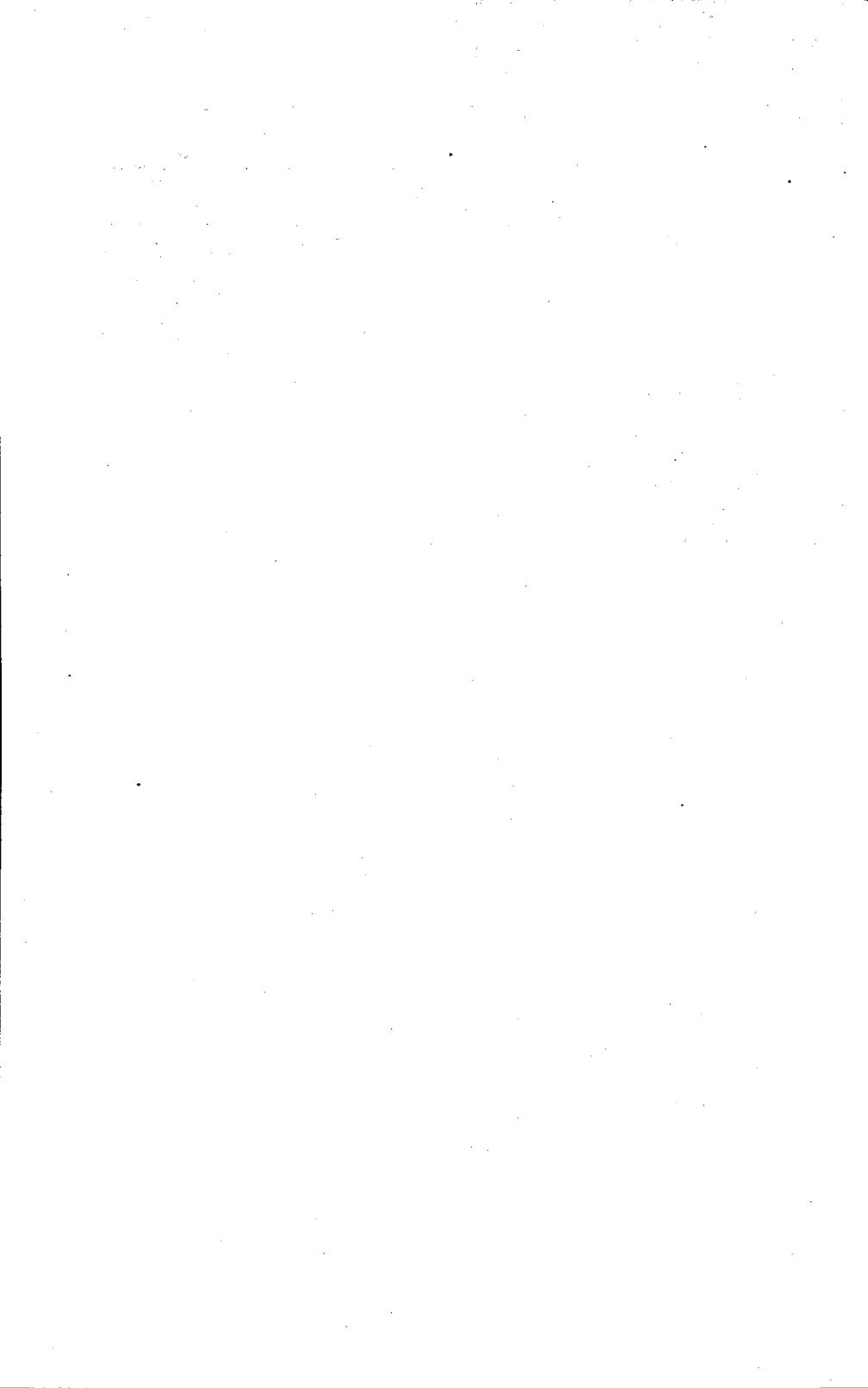
Resumé.

Den karakteristiske Forskel, der i Henseende til Lugt og Smag er imellem en god Mejerisyre og en Syre, sammensat kun af Mælkesyrebakterier, skyldes en Bakterieart, som, sammenlignet med Mælkesyrebakterierne, kun producerer smaa Syremængder, der væsentligst bestaar af flygtige Syrer.

Denne Bakterieart findes almindeligt udbredt i Mejerierne og kan, da den i Syrerne har en længere Levetid end Mælkesyrebakterierne, let isoleres ved at foretage Spredninger fra gode Mejerisyrer, som, beskyttet mod Forureninger, har staaet saa længe hen, at Mælkesyrebakterierne er døde.

Der fremstilles bedre Smør med en Syre, som indeholder baade Mælkesyrebakterier og disse nye Bakterier, end med en Syre, som kun indeholder Mælkesyrebakterier.

Ved dertil egnede Fremgangsmaader kan man i Laboratorierne fremstille Syrer, der indeholder begge Bakteriearter, og som vil vise sig stabile ved Brugen i Mejerierne.



Oversigt

over

de fra den kgl. Veterinær- og Landbohøjskoles Laboratorium for landøkonomiske Forsøg udgaaede Beretninger.

1. (18de fra N. J. Fjord). 1883. a. Maaling af Kraftforbrug ved Burmeister & Wains lille og de Lavals Centrifuger. b. Skunningsforsøg med de samme Centrifuger (Konkurrenceforsøg i Vestervig). c. Almindelige Bemærkninger om Centrifuger. d. Anvendelse af skummet Mælk til Foder for Kalve og Svin. (50 Øre.)
- Tillæg hertil.*) 1883. a. Kemisk Sammensætning af nymalket Mælk og skummet Mælk, Kærnemælk og Valle fra danske Mejerigaarde. b. Vanskelighed med at faa Mælk. c. Mælks Næringsværdi (af Panum).
2. (19de fra N. J. Fjord). 1883. a. Fodring af Kalve og Grise med skummet Mælk fra Centrifuge og Bøtter. b. Holdbarhed af centrifugeret og ikke-centrifugeret Mælk. c. Forøgelse af centrifugeret Mælks Holdbarhed ved Opvarmning. (50 Øre.)
3. (20de fra N. J. Fjord). 1885. Is, Bøtter og Centrifuge. Forsøgene udførte paa Tanderup, Ravnholt (med Ryslinge), Lustrupholm og Ladelundgaard. (50 Øre.)
- 4*) 1885. Om tuberkuløs Mælk. a. Undersøgelser angaaende Mælk og Mejeriprodukter af tuberkuløse Køer (af Prof., Dr. med. Bang). b. Kemisk Undersøgelse af Mælken fra Køer med Yverbetændelse (af Prof. V. Storch). (50 Øre.)
5. (21de fra N. J. Fjord). 1885. a. Udtørring af Laboratoriet under dets Opførelse. b. Afkølingsforsøg med Kød af nylig slagtede Kreaturer. (50 Øre.)
- 6*) (22de fra N. J. Fjord). 1885. Foreløbige Forsøg over Fedmen af og Kontrol med den til Fællesmejerier leverede Mælk.
7. 1886. To Osteudstillingsforsøg med Ost af skummet Mælk fra Is- og Centrifugemejerier (af Prof. V. Storch). (50 Øre.)
8. (23de fra N. J. Fjord). 1886. Afkøling af Smør under dets Henstand i Mejerier og dets Forsendelse med Jærnbane og Dampskibe. (50 Øre.)
- 9*) (24de fra N. J. Fjord). 1887. Betaling af sød Mælk i Fællesmejerier efter „Forskel i pCt. Fløde“ (Differensberegning) (1 Kr.), hvortil slutter sig Tillæg. 1887. Tabelværk (5 Kr.) med Tavle (2 Kr. 35 Øre) til Brug i Fællesmejerier, særlig hvor man ønsker at betale Mælken efter dens Fedme.
10. (25de fra N. J. Fjord). 1887. Fodringsforsøg med Svin, navnlig over Forholdet mellem Foderværdien af skummet Mælk og Valle samt mellem Korn, Mælk og Valle. (50 Øre.)
11. 1888. Undersøgelser af Hvede og Hvedemel fra Dyrkningsforsøg, iværksatte af det kgl. danske Landhusholdningsselskabs Hvedeudvalg (af Docent E. Gottlieb). (50 Øre.)
- 12*) 1888. Undersøgelser over Aarsagen til Kværke (af Prof. G. Sand og Lektor C. O. Jønsen). (50 Øre.)

13. (26de fra N. J. Fjord). 1888. Bevægelige Forsøgsstationer i Danmark. a. Almindelig Oversigt over Forsøgene 1872—87. b. Fodringsforsøg med Malkekøer i Vinteren 1887—88. (50 Øre.)
- 14*) 1889. Aarsagerne til Yverbetændelse hos Kvæget (af Prof. Dr. med. Bang). (50 Øre.)
15. (27de fra N. J. Fjord). 1889. Fodringsforsøg med Svin. a. Sammenligning mellem Korn og Oljekager og b. mellem Svin af forskellige Racer. (50 Øre.)
16. 1889. Om tuberkuløs Mælk. a. Undersøgelser over Smitteevnen af Mælk af tuberkuløse Køer og over Varmens Indvirkning paa Tuberkelbaciller i Mælk (af Prof. Dr. med. Bang). b. Undersøgelser over Mælkens Omdannelse ved Yvertuberkulose (af Prof. V. Storch). (50 Øre.)
17. (28de fra N. J. Fjord). 1889. 2det Aars Fodringsforsøg med Malkekøer: Sammenligning mellem Kraftfoder og Roer. (50 Øre.)
- 18*) 1890. Nogle Undersøgelser over Flødens Syrning (af Prof. V. Storch). (50 Øre.)
19. (29de fra N. J. Fjord). 1890. Fodringsforsøg med Svin. a. Korn, Majs og Rugklid. b. Korn, Roer og Kartofler. c. Svin af forskellige Racer. (50 Øre.)
20. (30te fra N. J. Fjord). 1890. 3die Aars Fodringsforsøg med Malkekøer. Fortsat Sammenligning mellem Kraftfoder og Roer. (50 Øre.)
- 21*) 1891. Den Koch'ske Lymfe som diagnostisk Mittel over for Kvægets Tuberkulose (af Prof. Dr. med. Bang).
22. 1891. Pasteuriseringsforsøgene. a. Bakteriologiske Undersøgelser over visse Mælke- og Smørfejl (af Lektor C. O. Jensen). b. Forsøg med Pasteurisering af sød Mælk og Fløde samt Anvendelse af god Syre som Mittel til Bekæmpelse af forskellige Mælke- og Smørfejl og c. Holdbarhedsforsøg med pasteuriseret Mælk (af Overassistent H. P. Lunde). (1 Kr.)
23. 1891. Forsøg med Brødbagning af Rugmel og Hvedemel samt Blandinger af disse. (50 Øre.)
- 24*) 1891. Fortsatte Forsøg med Tuberkulin (af Prof. Dr. med. Bang).
- 25*) 1892. Undersøgelse af nogle Former af Rødsyge hos Svinet. a. Om Endokarditis hos Svinet (af Prof. Dr. med. Bang). b. Om Knuderosen, tør Hudbrand og Rødsyge (af Lektor C. O. Jensen). (50 Øre.)
26. 1892. Fodringsforsøg med Svin i Aarene 1890—92. a. Korn og Hvedeklid. b. Korn, Runkelroer (og Sukkerroer) samt kemiske Undersøgelser af de til Forsøgene benyttede Foderstoffer (af Prof. V. Storch). (50 Øre.)
27. 1892. 4de og 5te Aars Fodringsforsøg med Malkekøer (1891 og 1892). Sammenligning mellem Korn og Oljekager. (50 Øre.)
- 28*) 1893. Samlet Beretning om de „sammenhængende Rækker af Smørudstillinger“ 1889—1892. (Fortsættes i 33te). (2 Kr.)
29. 1894. 6te og 7de Aars Fodringsforsøg med Malkekøer (1893 og 1894). Sammenligning mellem Korn og Hvedeklid. (50 Øre.)
30. 1895. Fodringsforsøg med Svin i Aarene 1891—94. a. Sammenligning mellem Korn — Roer — Gulerødder (og Turnips). Korn — Oljekager — Roer. Byg og Majs. Dansk og russisk Byg. b. Slagtningsforsøg. c. Kornforbrug til 1 Pd. Tilvæxt, ved svagere og stærkere Fodring, ved Vinter- og Sommerforsøg. d. Fodringsforsøg med store Svin. e. Sammenligning mellem Galt og So. (1 Kr.)
31. 1895. Forsøg med Apparater til hurtig Fedtbestemmelse i Mælk (Babcock's, Gerber's og Lindstrøm's). (50 Øre.)
32. 1895. Syrningsforsøg (Sammenligning mellem Handelssyreækkere og Kærnemælk fra gode Mejerier). (50 Øre.)
33. 1895. Anden samlede Beretning om de „sammenhængende Rækker af Smørudstillinger“ (Fortsættelse af 28de). (50 Øre.)
34. 1895. Samlet Oversigt over Fodringsforsøgene med Malkekøer 1887—1895. (75 Øre.)

35. 1896. Forsøg med et selvregulerende Pasteuriseringsapparat (af Prof. Dr. med. V. Henriques og Docent V. Strøbolt). (50 Øre.)
- 36*) 1896. Undersøgelser over Konsistensfejl hos Smørret samt over Smørrets og Mælkekuglernes Bygning (af Prof. V. Storch). (2 Kr.)
37. 1897. Forsøg over Foderets Indflydelse paa Smørrets Kvalitet. 1892—96. (1 Kr.)
38. 1897. I. Seruminjektioner som Forebyggelsesmiddel mod Lungesygdom hos Hesten, II. Oversigt over den bakteriologiske Afdelings Virksomhed indtil Marts 1897 (af Lektor C. O. Jensen). (50 Øre.)
39. 1897. 8de og 9de Aars Fodringsforsøg med Malkekøer. Sammenligning mellem Blandsæd og Hvæde (1895) og mellem Blandsæd og Melassefoder (1896). (1 Kr.)
- 40*) 1898. En kemisk Prøve til at afgøre, om Mælk eller Fløde har været opvarmet til mindst 80° C eller ikke (af Prof. V. Storch). (50 Øre.)
41. 1898. Sammenlignende Undersøgelser af forskellige Apparaters Anvendelighed til Kontrollering af Mælkens Fedme. (1 Kr.)
42. 1899. Fodringsforsøg med Svin i Aarene 1895—98. Foderværdien af Kaalrabi og Turnips, Sammenligning mellem Hvæde og Byg. Foderværdien af forskellige Slags Melassefoder samt Palmekager og Majs med Hensyn til Flæskets Kvalitet. (1 Kr.)
43. 1899. Forsøg med Pasteuriseringsapparater. (1 Kr.)
44. 1899. Undersøgelser over Fedtdannelse i Organismen ved intensiv Fedtfodring (af Prof., Dr. med. V. Henriques og Docent C. H. Hansen). (50 Øre.)
45. 1899. 11te og 12te Aars Fodringsforsøg med Malkekøer (1898—99). Sammenligning mellem Blandsæd og Majs. (1 Kr.)
46. 1900. Undersøgelser over Smørfedts Lysbrydningssevne, Jodtal og Indhold af flygtige Syrer (1 Kr.)
47. 1900. Forsøg med Pasteuriseringsapparater (Fortsættelse af 43de Beretning) (1 Kr.)
48. 1901. A. Forsøg over Smørudbyttet ved Fremstilling af vasket fersk Smør i Sammenligning med almindelig salt Smør, samt B. Forsøg over, hvilken Indflydelse Udluftning af den søde Mælk har paa Smørrets Finhed og Holdbarhed. (50 Øre)
49. 1901. Forsøg med forskellige Saltningsmaader for Flæsk. (50 Øre.)
50. 1901. Sammenlignende Forsøg med Afkøling af Jærnbancvogne ved Hjælp af Is eller Ammoniak. (50 Øre.)
51. 1902. Fortsatte Forsøg med forskellige Saltningsmaader for Flæsk. (1 Kr.)
52. 1902. Om Rødsygebacillens Forekomst paa slimhinderne hos sunde Svin. (1 Kr.)
53. 1902. Kort Meddelelse om Fodringsforsøgene med Malkekøer 1900—01 samt Redegørelse for Laboratoriets Standpunkt til forskellige omdebatterede Spørgsmaal Forsøgene vedrørende. (50 Øre.)
54. 1902. Forsøg med Lysanlæg i Mejerier. (1 Kr.)
- Extra. 1903. Nogle Undersøgelser over Nedarvning og Variabilitet hos Havre af Assistent A. V. Krarup. (50 Øre.)
55. 1904. 13de og 14de Aars Fodringsforsøg med Malkekøer. Forsøg over Roetørstoffets Foderværdi for Malkekøer. (1 Kr. 50 Øre.)
56. 1905. Undersøgelser over forskellige Metoder til Fedtbestemmelser i Mælk samt om Mælkens Renskunng ved forskellige Temperaturer. (50 Øre.)
57. 1905. Forsøg med Udluftning af Fløde med Ulanders Mælkerenser og med Disbrowkjærnen. (50 Øre.)
58. 1905. Den kemiske Analyse af Foderstoffer og dens Forhold til Fodringsforsøgene (af Prof. V. Storch). (2 Kr.)
59. 1905. Indberetning til Landbrugsministeriet om Laboratoriets Fodringsforsøg med Malkekøer. (2 Kr.)
60. 1906. Forsøg med at bestemme Æggehvideminimum i Malkekøernes Foder. (Fortsættes i 63de Beretning). (3 Kr.)

61. 1907. A. Forsøg med Ostning af pasteuriseret Mælk og B. Fortsatte Undersøgelser over Metoder til Fedtbestemmelser i Mælk. (1 Kr.)
- 62*) 1907. Bestemmelse af Vandindholdet i Smør. (50 Øre.)
63. 1907. Fortsatte Forsøg over Æggehvideminimum i Malkekøernes Foder (Fortsættelse af 60de Beretning). (2 Kr.)
64. 1908. Sammenlignende Forsøg med Svin af forskellig Afstamning. (2 Kr.)
- Ekstra 1908. Redegørelse for Forsøg over Forhold vedrørende Svinets Stivsyge af Prof. Carl H. Hansen (50 Øre.)
65. 1909. Fodrings- og Nedkulingsforsøg med Sukkerroeaffald. (50 Øre.)
66. 1909. 1) Kvægets smitsomme kroniske Tarmbetændelse (af Professor B. Bang). 2) Om Anvendelse af Tuberkulin af Fjerkrætuberkelbaciller som diagnostisk Middel mod Kvægets kroniske smitsomme Tarmbetændelse (af Assistent O. Bang). (1 Kr.)
67. 1909. 1ste Beretning om sammenlignende Forsøg med Svin fra forskellige Avlscentre. (1 Kr.)
A. Paa Elsesminde ved Odense med Svin fra fynske Centre.
B. Paa Rodstenseje ved Odder med Svin fra jydsk Centre.
68. 1910. Forsøg med Malkemaskiner (Lawrence-Kennedy-Gillie). (1 Kr.)
69. 1910. Forsøg med Paraffinering af Ost. (50 Øre.)
70. 1910. Sammenlignende Forsøg med Centrifuger. (2 Kr.)
71. 1910. A. Forsøg med Opvarmning af sød Mælk og Fløde til 120 à 130° C. B. Forsøg med Aktieselskabet Titans nye Centrifuge. (50 Øre.)
72. 1910. Fodringsforsøg med Heste. (75 Øre.)
73. 1911. Forsøg over Vandindholdet i Svinefedt fra Svinelagterierne, Undersøgelser over Grevekagerens Fedtindhold samt Forsøg med Afsmeltning af Sæbefedt. (50 Øre.)
74. 1911. Fodringsforsøg med Malkekøer, I. Forsøg med Mask, II. Forsøg med Soyakager. (75 Øre.)
75. 1911. 2den Beretning om sammenlignende Forsøg med Svin fra forskellige Avlscentre paa Bjørnedegaard, Elsesminde og Rodstenseje. (1 Kr.)
76. 1911. Fodringsforsøg med Malkekøer. Forsøg med Hø. (1 Kr.)
77. 1912. Forskellige Slagteriforsøg: 1) Forsendelse af Flæsk i almindelige Godsvogne, 2) Stablingforsøg, 3) Saltning af fast og blødt Flæsk. (50 Øre.)
78. 1912. Forsøg med Malkekøer: 2 eller 3 Gange Malkning daglig. (50 Øre.)
79. 1912. 3die Beretning om sammenlignende Forsøg med Svin fra statsunderstøttede Avlscentre. (1 Kr. 50 Øre.)
80. 1912. 4de Beretning om sammenlignende Forsøg med Svin fra statsunderstøttede Avlscentre. (50 Øre.)
81. 1913. A. Forsøg med Malkemaskinen „Gandil—Gjetting“. B. Forsøg med Mælkekøleren „Rimula“. (50 Øre.)
82. 1913. Undersøgelser over Vægten af Svin med tilhørende „Plucks“. (50 Øre.)
83. 1913. Om Kød- og Benmelfodringens Indflydelse paa Knoglesystemets kemiske Beskaffenhed (af J. K. Gjaldsbæk). (50 Øre.)
84. 1913. Forsøg med Høns samt Temperaturmaaling i Bistader. (50 Øre.)
85. 1914. 5te Beretning om sammenlignende Forsøg med Svin fra statsunderstøttede Avlscentre. (50 Øre.)
86. 1914. A. Forsøg med Ostning af Mælk af forskellig Fedme. B. Oversigt over Ostesagens Udvikling i Danmark. C. Forsøg med „Universalpasteuren“. D. Tabeller over Smørudbyttet af Mælk og Fløde. (50 Øre.)
87. 1914. 6te Beretning om sammenlignende Forsøg med Svin fra statsunderstøttede Avlscentre. (50 Øre.)
88. 1915. Om Svinetukerkulosen og Muligheden for dens Bekæmpelse ved praktiske Midler. (50 Øre.)
89. 1915. Fodringsforsøg med Malkekøer: Runkelroer og Kaalroer. Kakao-kager. (50 Øre.)

90. 1915. 7de Beretning om sammenlignende Forsøg med Svin fra stats-understøttede Avlscentre. (50 Øre.)
91. 1915. Forsøg med Malkemaskinen „Heureka“. (50 Øre.)
92. 1916. Arbejdsprøver med Rugemaskiner. (50 Øre.)
93. 1917. 8de Beretning om sammenlignende Forsøg med Svin fra stats-understøttede Avlscentre. (50 Øre.)
94. 1917. Respirationsapparatet, dets Betydning og Anvendelse ved rationelle Forsøg over Hornkvægets Mælkeydelser (1 Kr.)
95. 1917. Fodringsforsøg med Hø fra forskellige Slættider. (50 Øre.)
96. 1917. A. Forsøg med Erstatning af Oljekager med Lucernehø i Malkke-køernes Foder. B. Forsøg med flydende Melasse til Heste. C. For-søg med nedkulet Roetop til Malkekøer. (50 Øre.)
97. 1917. Undersøgelser over raa Valle som Aarsag til Tuberkulose blandt Svinene. (25 Øre.)
98. 1918. 9de Beretning om sammenlignende Forsøg med Svin fra stats-understøttede Avlscentre (50 Øre.)
99. 1918. Undersøgelser over den intrakutane Tuberkulinprøves Anvende-lighed ved Tuberkulose hos Kvæget (50 Øre).
100. (se „Forordet“ i 101te Beretning).
101. 1918. Første Beretning om Forsøg med kombinerede Kærner. (50 Øre.)
102. 1919. Nærværende Beretning. (1 Kr.)

Desuden foreligger 12 Aargange (1905—17) af Beretninger om Sammenlig-nig mellem rødt dansk Malkekviæg og Jerseykviæg paa Tranekjær. Ligeledes foreligger 24 Aarsberetninger om Smørustillingerne („de lovbeftalede Smørbedømmelser“) ved Forsøgslaboratoriet.

Forud for de ovenfor nævnte Beretninger fra Laboratoriet gaar følgende 17 Forsøgsberetninger fra N. J. Fjord, hvilke findes trykte i Tidsskrift for Landøkonomi i de Aargange der nedenfor er angivne:

- 1*) (1867). Varnegrad i det indre af store Stykker Kød under dets Kogning.
2. (1868). Kogning i Hø (50 Øre).
- 3*) (1870). Kogning i Dampkokekedler.
- 4*) (1870). Kogning i store indmurede Kedler.
- 5*) (1872). Vanddampe som Opvarmningsmiddel i Mejerier.
- 6*) (1875). Regnmaaleres Konstruktion og Opstilling.
- 7*) (1875). Opbevaring af Is og Sne.
- 8*) (1876). do. do. (særlig Sneforsøg).
- 9*) (1877). Forskellige Svalekummer; Afkølingens Hurtighed i forskellige
- 10*) Spande; de første Kærningsforsøg.
(1877). Smørudbytte ved forskellig Skumningstid og i forskellige Spande samt ved forskellig Afkøling med Is og Vand.
11. (1878). Opbevaring og Anvendelse af Is og Sne til Mejeribrug (50 Øre.)
- 12*) (1879). Spredte Vinterforsøg over Smørudbytte ved Centrifuger.
- 13*) (1880). Loven for Svind i Ishuse. Temperaturforandringer i Smør. Varme i Jernbanevogne. Varme i Dampskibsrums.
- 14.*) (1881). Centrifugeforsøg (Lefeldt og Nielsen & Petersen). Centrifuge af Is — Bøtter (Rosenfeldt). Kørsel, Henstand, Afkøling, Opvarmning — den søde Mælk (50 Øre).
- 15*) (1881). Centrifuge, Is, Bøtter og Kærning af Mælk. Centrifuger (Nielsen & Petersen's og de Lavals) drevne ved Dampkraft og Hestekraft. Centrifugens sidste Indhold (Nielsen & Petersen's og Lefeldts) Sugning af Fløde og Mælk.

- 16.*) (1881). Smørudbytte ved forskellige Mejerisystemer af Mælk fra Køer af forskellige Racer: A. Angelsk og jysk Race. B. Korthorns og jysk Race (50 Øre).
- 17*) (1882). Centrifuge, Is, Vand, Bøtter, Kærning af Mælk (Ourupgaard). Sammenlignende Centrifugeforsøg (Burmeister & Wain's, Nielsen & Petersen's og de Laval's). Forskellige Forsøg med Centrifugedele: Tilstrømningstragt, Stigerør; Kraftmaalinger m. m. Afkølingsapparat for Fløde.
- Extra-Nr.: (1883). Cooley's Undervandssystem.

De foran med * mærkede Beretninger er udsolgte. Alle de øvrige kan faas i Boghandelen. (I Kommission hos August Bang, København).