

KATARZYNA KYCIA, MAŁGORZATA ZIARNO

WZROST I PRZEŻYWALNOŚĆ BAKTERII JOGURTOWYCH W RETENTATACH UF MLEKA

Streszczenie

Celem pracy było określenie możliwości rozwoju bakterii jogurtowych w retentatach UF mleka oraz określenie przeżywalności tych bakterii w ukwaszonych retentatach przechowywanych w temp. 6 i -18°C przez 22 miesiące.

Retentaty o współczynniku zagęszczenia mleka wynoszącym między 4,0 – 4,5 i 5,0 – 5,3 otrzymywano z mleka spożywczego pasteryzowanego (3,2% tłuszczu), które zagęszczano metodą ultrafiltracji. Retentaty po pasteryzacji (72°C/15s) ukwaszono w temp. $44 \pm 1^\circ\text{C}$ do pH 5,1–5,2, stosując szczepionki jogurtowe YC-X11 i YC-180. W czasie fermentacji porównywano szybkość ukwaszania retentatu z szybkością ukwaszania mleka pasteryzowanego, dokonując pomiaru pH i kwasowości miareczkowej. Po 24 godz. od wytworzenia w ukwaszonych do pH 5,1–5,2 retentatach oznaczano liczbę *Streptococcus thermophilus* i *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*. Przeżywalność bakterii jogurtowych w ukwaszonych retentatach badano, oznaczając w nich liczbę ww. bakterii po 1, 2, 3, 4, 5, 6, 16 i 22 miesiącach przechowywania w temp. 6 i -18°C.

Stwierdzono, że wysoka buforowość retentatów wpływała na odmienną kinetykę ich ukwaszania w porównaniu z mlekiem niezagęszczonym. Bakterie jogurtowe wykazały dobry wzrost w silnie zagęszczonych retentatach. W retentatach ukwaszonych do pH 5,1–5,2 liczba *S. thermophilus* była wysoka ($2,8 \times 10^9$ jtk/g). Liczba *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* zależała od rodzaju stosowanej do ukwaszania retentatu szczepionki jogurtowej. Retentaty ukwaszone dodatkiem szczepionki YC-X11 zawierały niższą liczbę *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* (średnio $2,6 \times 10^5$ jtk/g) niż retentaty ukwaszone dodatkiem szczepionki YC-180 (średnio $2,7 \times 10^8$ jtk/g). Stwierdzono wyższą przeżywalność bakterii jogurtowych w ukwaszonych retentatach przechowywanych w temp. -18°C niż przechowywanych w temp. 6°C.

Słowa kluczowe: ultrafiltracja, retentat, bakterie jogurtowe

Wprowadzenie

Zagęszczanie mleka metodą ultrafiltracji umożliwia skoncentrowanie tłuszczu mlekowego oraz wszystkich białek mleka we frakcji zatrzymanej przez membranę ultrafiltracyjną, zwanej retentatem. Stopień zagęszczenia składników mleka z zastosowaniem UF jest ograniczony ze względu na znaczny spadek szybkości filtracji, spowodowany głównie wzrostem oporów przepływu retentatu przez membranę w miarę zwiększania się współczynnika koncentracji [9]. Z tego względu UF znalazła zastosowanie w produkcji serów o dość niskiej zawartości suchej substancji, tak jak ma to miejsce w przypadku sera typu feta, camembert, cottage cheese i twarogów. W produkcji serów twardych UF może być stosowana jedynie do wstępnego zagęszczania mleka serowarskiego (zwykle 2-krotna koncentracja), lub jak często ma to miejsce, do normalizacji zawartości białka w tym mleku [2].

Wykorzystanie retentatów UF mleka jako surowców do produkcji różnego typu serów może wymagać modyfikacji tradycyjnych technologii ich produkcji, bowiem skład i właściwości fizykochemiczne retentatu UF różnią się od składu i właściwości zwykłego mleka. Zatrzymanie w retentacie wszystkich białek mleka i związanych z nimi nierozpuszczalnych związków mineralnych, głównie fosforanu wapnia związanego z kazeiną, prowadzi do wzrostu zdolności buforujących retentatu [5, 19]. W rezultacie ulega zmianie przebieg procesu ukwaszania pod wpływem dodatku bakterii fermentacji mlekowej. Wyniki badań wielu autorów [8, 15, 16, 17] wskazują na trudności w obniżeniu pH do poziomu umożliwiającego koagulację kwasową retentatów ukwaszanych dodatkiem różnych kultur bakterii. W celu właściwego dla danej technologii ukwaszenia retentatu bakterie powinny wytworzyć więcej kwasu z laktozy, co z kolei może wymagać wprowadzenia ich do retentatu w większej liczbie lub, jeśli to możliwe, przedłużenia czasu fermentacji [5, 21]. Zmiana składu mleka zagęszczonego metodą UF w różny sposób wpływa również na wzrost i aktywność bakterii wprowadzanych z zakwasem. Z tego względu niezbędny staje się właściwy dobór rodzaju kultur starterowych stosowanych do fermentacji retentatów [12, 17]. Meijer [13] w mleku zagęszczonym metodą ultrafiltracji stwierdza o 25% słabszy niż w mleku wzrost *Lactococcus lactis ssp. cremoris*. Z kolei inni badacze nie zaobserwowali słabszego wzrostu bakterii zakwasu, bądź też odnotowali niewielkie różnice w liczbie i aktywności bakterii w retentacie w porównaniu z mlekiem niezagęszczonym [3, 8].

Celem pracy była ocena możliwości rozwoju bakterii jogurtowych w retentatach UF mleka oraz określenie przeżywalności tych bakterii w ukwaszonych retentatach przechowywanych w temp. 6 i -18°C przez 22 miesiące.

Materiał i metody badań

Surowiec do produkcji retentatów stanowiło mleko spożywcze pasteryzowane o zawartości tłuszczu 3,2% pochodzące ze Spółdzielni Mleczarskiej „Mazowsze” w Chorzelach. Mleko podgrzewano do temp. 50°C i poddawano zagęszczaniu metodą ultrafiltracji w temp. $52 \pm 1^\circ\text{C}$ do momentu usunięcia takiej ilości permeatu, aby uzyskać retentat o współczynniku zagęszczenia mleka (CF) równym od 4,0 do 5,3 w stosunku do surowca wyjściowego. Ultrafiltrację prowadzono w laboratoryjnym module ultrafiltracyjnym, stosując ceramiczną membranę firmy Tami o powierzchni filtracyjnej $0,35\text{ m}^2$ i granicy odcięcia równej $50 \cdot 10^3\text{ Da}$. Uzyskany retentat poddawano niezwłocznie pasteryzacji ($72^\circ\text{C}/15\text{ s}$), a następnie schłodzeniu w wodzie lodowej do temp. $46 \pm 1^\circ\text{C}$, przy której dodawano zakwas bakterii jogurtowych w postaci liofilizowanej kultury YC-X11 lub YC-180 firmy Chr. Hansen, zawierającej *Streptococcus thermophilus* i *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*. Dodatek szczepionki wynosił 0,3 g na 1 litr uzyskanego retentatu. W celu łatwiejszego rozprowadzenia kultury w silnie zagęszczonym retentacie szczepionkę (tuż przed wprowadzeniem do retentatu) regenerowano w 100 cm^3 jałowego, wolnego od substancji hamujących mleka. Dopiero w tej postaci kulturę wprowadzano do retentatu, mieszano, pakowano w termozgrzewalne woreczki foliowe i inkubowano w cieplarni w temp. $44 \pm 1^\circ\text{C}$ do momentu uzyskania skrzepu o pH w granicach 5,1–5,2. Ukwaszony retentat chłodzono w wodzie lodowej do temp. 6°C , a po schłodzeniu przechowywano w tej temp. w chłodziarce do momentu wykonania posiewów mikrobiologicznych.

Zakres pracy obejmował:

- porównanie szybkości ukwaszania retentatu o CF = 5,3 z szybkością ukwaszania mleka spożywczego pasteryzowanego (surowca do UF) za pomocą kultury jogurtowej YC-X11;
- oznaczenie liczby bakterii jogurtowych w retentatach o CF = 4,0 – 4,5 i CF = 5,0 – 5,3 ukwaszonych do pH 5,1-5,2 z wykorzystaniem kultur YC-X11 i YC-180;
- określenie przeżywalności bakterii jogurtowych w ukwaszonym retentacie o CF = 5,3 w czasie jego przechowywania w temp. 6 i -18°C przez 22 miesiące.

Szybkość ukwaszania retentatu i mleka pasteryzowanego badano dokonując pomiaru pH i kwasowości miareczkowej ww. mediów w czasie ich sześciogodzinnej fermentacji w temp. $44 \pm 1^\circ\text{C}$. Pomiarów dokonywano co godzinę od momentu rozpoczęcia ukwaszania. Pomiar pH wykonywano metodą elektrometryczną, zanurzając kilkakrotnie elektrodę pehametru bezpośrednio w ukwaszanych mediach i odczytując wynik z dokładnością do 0,01 jednostki pH [24]. Oznaczenie kwasowości miareczkowej wykonywano, miareczkując próbkę mleka lub retentatu 0,25 N roztworem NaOH wobec fenoloftaleiny jako wskaźnika [24]. Wynik kwasowości

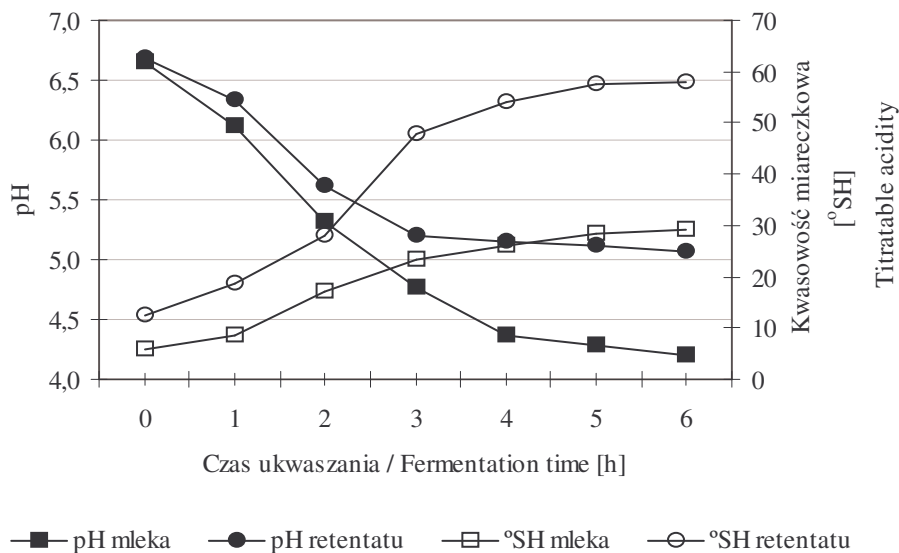
miareczkowej podawano w stopniach Soxhleta – Henkla, czyli w przeliczeniu na 100 g próbki.

Liczbę bakterii jogurtowych w ukwaszonych do pH 5,1-5,2 retentatach oznaczano metodą płytkową po 24 godz. od ich wyrobu. Oznaczenia wykonywano stosując posiew wgłębny według PN-A-86034-15 [18]. Liczbę *S. thermophilus* oznaczano w podłożu M-17, stosując inkubację płytek z posiewami w temp. 37°C przez 48 godz. Liczbę *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* oznaczano w podłożu MRS o pH 5,4, stosując inkubację płytek z posiewami w warunkach beztlenowych (w anaerostatach firmy Merck) w temp. 37°C przez 72 godz. Beztlenową atmosferę w anaerostatach uzyskiwano, stosując wkłady „anaerocult” firmy Merck wytwarzające w zamkniętych słojach 20% CO₂. Wyniki posiewów podawano jako liczbę jednostek tworzących kolonie (jtk) w 1 g retentatu.

Przeżywalność bakterii jogurtowych w ukwaszonym dodatkiem szczepionki YC-X11 retencie o CF= 5,3 badano, oznaczając w nim liczbę ww. bakterii (według PN-A-86034-15 [18]) po: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 16 i 22 miesiącach przechowywania w temp. 6 i -18°C.

Wyniki i dyskusja

Przebieg ukwaszania mleka spożywczego pasteryzowanego i retentatu UF o współczynniku zagęszczenia mleka CF równym 5,3 przy użyciu kultury jogurtowej YC-X11 przedstawiono na rys. 1.



Rys. 1. Szybkość ukwaszania mleka spożywczego pasteryzowanego i retentatu UF przy użyciu kultury jogurtowej YC - X11.

Fig. 1. Pasteurized milk and UF retentate fermentation speed by YC - X11 yogurt culture.

W czasie ukwaszania mleka spożywczego następował w nim stopniowy spadek pH (z wartości początkowej 6,65 do końcowej 4,20) oraz wzrost kwasowości miareczkowej z 6,80 do 29,20°SH. Z kolei w retentacie stwierdzono przyrost kwasowości miareczkowej z 12,5°SH (przed dodaniem zakwasu) do 58°SH po 6 godz. ukwaszania, podczas gdy pH retentatu obniżyło się jedynie do wartości 5,06. Wykazano, że założony w pracy poziom ukwaszenia retentatu do wartości pH 5,1–5,2 został osiągnięty w czasie znacznie dłuższym niż miało to miejsce w przypadku mleka niezagęszczonego. Z kolei szybkość ukwaszania mierzona przyrostem kwasowości miareczkowej była znacznie większa w retentacie, przy jednoczesnym bardzo wolnym obniżaniu się pH. Powolny spadek pH w retentacie w trakcie fermentacji wynika z wysokiej zdolności buforującej zagęszczonego metodą UF mleka, powodowanej dużą koncentracją białek i soli mineralnych [5, 10, 11, 14, 15, 21]. Mistry i Kosikowski [16] odnotowali największe działanie buforujące w czasie ukwaszania retentatów w zakresie pH 5,1–5,3. W niniejszej pracy, obniżanie pH retentatu od wartości 5,2 przebiegało również bardzo wolno, osiągając po trzech kolejnych godzinach fermentacji wartość 5,06.

Wyniki oznaczeń liczby bakterii jogurtowych w retentatach ukwaszonych do pH 5,1–5,2 przy użyciu szczepionek YC-X11 i YC-180 przedstawiono w tab. 1.

Tabela 1

Liczba *S. thermophilus* i *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* w retentatach ukwaszonych za pomocą szczepionek YC-X11 i YC-180.

Number of *S. thermophilus* and *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* in fermented retentates inoculated by YC-X11 and YC-180 culture.

Badana cecha Tested feature	Retentaty ukwaszone szczepionką / Retentates inoculated by culture										
	YC-X11							YC-180			
Współczynnik zagęszczenia Concentration factor (CF)	5,2	5,3	5,3	5,3	5,3	5,0	5,3	4,5	4,3	4,2	4,0
pH	5,15	5,10	5,20	5,22	5,20	5,20	5,20	5,11	5,12	5,09	5,03
Kwasowość miareczkowa Titratable acidity [°SH]	56,50	58,40	58,00	54,00	58,30	58,50	56,00	59,80	57,00	54,60	52,80
Liczba <i>S. thermophilus</i> [jtk/g] / [cfu/g]	3,1·10 ⁹	3,2·10 ⁹	2,0·10 ⁹	2,5·10 ⁹	2,9·10 ⁹	2,8·10 ⁹	2,3·10 ⁹	3,2·10 ⁹	2,5·10 ⁹	4,1·10 ⁹	1,7·10 ⁹

Liczba <i>L. delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i> [jtk/g] / [cfu/g]	5,2·10 ⁵	4,5·10 ⁵	3,3·10 ⁵	2,1·10 ⁵	8,4·10 ⁴	8,5·10 ⁴	1,6·10 ⁵	3,2·10 ⁸	1,9·10 ⁸	4,3·10 ⁸	1,5·10 ⁸
---	---------------------	---------------------	---------------------	---------------------	---------------------	---------------------	---------------------	---------------------	---------------------	---------------------	---------------------

We wszystkich ukwaszonych retentatach stwierdzono wysoką liczbę *S. thermophilus* kształtującą się w zakresie od $4,1 \times 10^9$ do $1,7 \times 10^9$ jtk/g (średnio $2,8 \times 10^9$ jtk/g), co wskazywało na bardzo dobry wzrost tych paciorkowców. Liczba *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* w ukwaszonych retentatach była zróżnicowana i wyraźnie zależała od rodzaju szczepionki stosowanej do ukwaszania mleka zagęszczonego. W doświadczeniach, w których stosowano szczepionkę YC-X11 zawartość pałeczek jogurtowych była zdecydowanie niższa (wahania $8,4 \times 10^4$ – $5,2 \times 10^5$ jtk/g) od zawartości tych bakterii w retentatach z doświadczeń, w których użyto szczepionkę YC-180 (wahania $1,5 \times 10^8$ – $4,3 \times 10^8$ jtk/g). Różnice te wynikały z innej zawartości pałeczek jogurtowych w użytych kulturach (zastosowanie obu kultur do fermentacji zwykłego mleka wykazało o około 3 rzędy wielkości niższą liczbę *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* w mleku ukwaszonym kulturą YC-X11 niż kulturą YC-180). W niniejszym doświadczeniu bez względu na rodzaj użytej szczepionki około 4–4,5-godzinna fermentacja retentatów prowadziła do otrzymania zwięzłych skrzepów kwasowych o ustalonym pH. Stwierdzono, że bakterie jogurtowe wykazały dobry wzrost w silnie zagęszczonych retentatach, których wysoka buforowość utrzymywała stabilne pH i chroniła je przed wysoką zawartością kwasu. Badania wielu autorów wskazują na dobry wzrost bakterii mlekowych w retentatach właśnie dzięki ich wysokiej buforowości chroniącej bakterie przed rosnącą zawartością kwasu mlekowego [15, 16, 22].

W tab. 2. przedstawiono liczbę bakterii jogurtowych oraz pH ukwaszonego retentatu o CF = 5,3 podczas jego przechowywania w temp. 6 i -18°C przez 22 miesiące. W czasie przechowywania retentatu w temp. 6°C przez trzy miesiące liczba *S. thermophilus* utrzymywała się na stałym poziomie równym $1,8 \times 10^9$ jtk/g (wahania $2,0 \times 10^9$ – $1,4 \times 10^9$ jtk/g). W kolejnych miesiącach przechowywania liczba tych bakterii zaczęła zmniejszać się, tak że w 4., 5. i 6. miesiącu zmalała odpowiednio do $4,5 \times 10^8$, $2,5 \times 10^8$ i $8,5 \times 10^6$ jtk/g. Po 16 i 22 miesiącach przechowywania nie stwierdzono już obecności *S. thermophilus* w 0,1 g produktu. Z kolei w retentacie przechowywanym w temp. -18°C *S. thermophilus* zachował bardzo dużą przeżywalność, jego liczba po 22 miesiącach przechowywania wynosiła $3,4 \times 10^8$ jtk/g i była niższa od liczby początkowej tych bakterii tylko o jeden rząd wielkości. Przypuszcza się, że oporność *S. thermophilus* na zamrażanie i przechowywanie w stanie zamrożenia wynika ze specyficznego składu kwasów tłuszczowych błony komórkowej tych bakterii [1].

Liczba *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* w świeżo ukwaszonym retentacie wynosiła $3,5 \times 10^5$ jtk/g i była już na samym początku o 4 rzędy wielkości niższa od liczby *S.*

thermophilus. Jak stwierdzono, fakt ten wynikał z mniejszej liczebności pałeczek w stosunku do paciorkowców w stosowanej do ukwaszania retentatu liofilizowanej szczepionce YC-X11. W retentatach przechowywanych w temp. 6°C i -18°C stwierdzono znacznie szybszy spadek liczby tych bakterii w porównaniu z liczbą *S. thermophilus*. W retentacie przechowywanym w temp. 6°C nastąpił spadek liczby *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* o jeden rząd wielkości po pierwszym miesiącu przechowywania i o cztery rzędy wielkości po sześciu miesiącach. W retentacie badanym po 16 miesiącach przechowywania nie stwierdzono już obecności pałeczek jogurtowych w 0,1g badanego produktu. Zmniejszenie liczby *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* następowało również w retentacie przechowywanym w temp. -18°C. Było ono wolniejsze niż w ukwaszonym retentacie przechowywanym w temp. 6°C, bowiem po 16 miesiącach przechowywania stwierdzono w nim jeszcze obecność pałeczek jogurtowych w liczbie $3,2 \times 10^2$ jtk/g.

Tabela 2

Liczba *S. thermophilus* i *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* oraz pH ukwaszonego dodatkiem kultury YC-X11 retentatu o CF = 5,3 w czasie jego przechowywania w temp. 6°C i -18°C.

Number of *S. thermophilus* and *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* and pH of retentate (CF = 5.3) acidified by YC-X11 culture during storage at 6°C and at -18°C.

Badana cecha Tested feature	Czas przechowywania [miesiące] w temperaturze [°C] / Time of storage [months] at temperature[°C]														
	6°C									-18°C					
	0	1	2	3	4	5	6	16	22	0	2	4	6	16	22
pH	5,20	4,89	4,70	4,67	4,64	4,62	4,60	4,61	4,63	5,20	5,22	5,21	5,20	5,23	5,26
Liczba <i>S. thermophilus</i> [jtk/g] / [cfu/g]	2,0·10 ⁹	1,9·10 ⁹	1,7·10 ⁹	1,4·10 ⁹	4,5·10 ⁸	2,5·10 ⁸	8,5·10 ⁶	nb w 0,1g	nb w 0,1g	2,0·10 ⁹	1,3·10 ⁹	8,5·10 ⁸	7,3·10 ⁸	8,7·10 ⁸	3,4·10 ⁸
Liczba <i>L. delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i> [jtk/g] / [cfu/g]	3,3·10 ⁵	8,6·10 ⁴	3,1·10 ³	2,8·10 ³	1,1·10 ³	9,1·10 ²	1,2·10 ¹	nb w 0,1g	nb w 0,1g	3,3·10 ⁵	1,0·10 ⁴	5,0·10 ²	9,7·10 ²	3,2·10 ²	nb w 0,1g

Warto podkreślić, że w ciągu 22-miesięcznego okresu przechowywania ukwaszonych retentatów w temp. 6°C nie odnotowano w nich zmniejszenia pH poniżej wartości 4,6 (tab. 2). Badania innych autorów [6, 7, 20] potwierdzają, że sery produkowane z retentatów UF mleka charakteryzują się wyższą stabilnością pH w czasie przechowywania niż sery wyprodukowane z mleka niezagęszczonego. Voutsinas i wsp. [23], w serach z silnie zagęszczonego mleka owczego, wykazali brak obniżenia się pH poniżej wartości 4,6 podczas ich dojrzewania (kwasowość czynna serów wynosiła 5,15, 4,80 i 4,90 odpowiednio po 1, 20 i 60 dniach od produkcji). Dużą stabilność pH ukwaszonych retentatów, nieco powyżej wartości 4,6 podczas długotrwałego przechowywania w 6°C tłumaczyć można między innymi wysoką jego buforowością w tym zakresie wynikającą z wiązania protonów przez grupy karboksylowe łańcuchów bocznych białek mleka (pK grupy γ -karboksylowej kwasu glutaminowego wynosi 4,07 zaś grupy β -karboksylowej kwasu asparaginowego wynosi 3,90) [4]. Buforowość ta systematycznie rosła w miarę wydłużania okresu przechowywania ukwaszonego retentatu w temp. 6°C z powodu stopniowej proteolizy zachodzącej w tej temperaturze. Drugim czynnikiem wysokiej stabilności pH ukwaszonych retentatów może być ich dość wysokie ciśnienie osmotyczne wynikające ze znacznego stężenia molarne kwasu mlekowego. Masa cząsteczkowa kwasu mlekowego jest bowiem 4 razy niższa niż laktozy, a ponadto przy pH 4,6 jest on w około 70% zdysocjowany, ponieważ jego pK = 3,86. Z badań innych autorów [25] wynika, że wysokie ciśnienie osmotyczne produktu o nazwie superjogurt otrzymanego z mleka zagęszczonego na wyparce silnie hamuje rozwój bakterii jogurtowych i stabilizuje pH tego produktu. W niniejszej pracy wysoka stabilność pH ukwaszonych retentatów w czasie przechowywania może również wynikać z faktu, że produkowane obecnie kultury jogurtowe zawierają wyselekcjonowane szczepy *S. thermophilus* i *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, co ma zapobiegać przekwaszeniu produktu podczas przechowywania.

Wnioski

1. Mleko zagęszczone metodą UF (współczynnik zagęszczenia mleka 4,0–4,5 i 5,0–5,3) stanowi dobre medium do rozwoju bakterii jogurtowych, o czym świadczy wysoka dynamika przyrostów kwasowości miareczkowej, znacznie wyższa niż w mleku niezagęszczonym.
2. Wysoki stopień zbuforowania retentatu UF (około 2-krotnie wyższy niż zwykłego mleka) powoduje, że założony w pracy poziom jego ukwaszenia mierzony wartością pH 5,1–5,2 osiąga się przy użyciu kultury jogurtowej w czasie dłuższym niż mleka niezagęszczonego.

3. *S. thermophilus* i *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* wykazały wyższą przeżywalność w ukwaszonych retentatach przechowywanych w temp. -18°C (odpowiednio 22 i 16 miesięcy) niż w temp. 6°C (6 miesięcy).

Praca była prezentowana na XI Sesji Sekcji Młodej Kadry Naukowej PTTŻ, Warszawa, 24–25 maja 2006.

Literatura

- [1] Beal C., Fonseca F., Corrieu G.: Resistance to freezing and frozen storage of *Streptococcus thermophilus* is related to membrane fatty acid composition. *J. Dairy Sci.*, 2001, **84**, 2347-2356.
- [2] Cheryan M. (red.): *Ultrafiltration Handbook*. Technomic Publishing Company Inc. 1986, pp. 235-245.
- [3] Christopherson A.T., Zottola E.A.: Growth and activity of mesophilic lactic acid streptococci in ultrafiltered skim milk and in reconstituted nonfat dry milk of differing total solids content. *J. Dairy Sci.*, 1989, **72**, 2856.
- [4] Copeland R.A.: Introduction to protein structure. In: *Methods for protein analysis. A practical guide to laboratory protocols* – ed. Copeland R.A., Chapman & Hall, London 1994, p. 3.
- [5] Covacevich H.R., Kosikowski, F.V.: Buffer, lactic fermentation and rennet coagulation properties of skim milk retentates produced by ultrafiltration. *J. Dairy Sci.*, 1979, **62**, 204.
- [6] El-Zayat A.I., Omar M.M.: Kareish cheese prepared from ultrafiltered milk. *J. Dairy Res.*, 1987, **54**, 545-550.
- [7] Green M.L., Glover F.A., Scurlock E.M.W., Marshall R.J., Hatfield D.S.: Effect of use of milk concentrated by ultrafiltration on manufacture and ripening of Cheddar cheese. *J. Dairy Res.*, 1981, **48**, 333-341
- [8] Hickey M.W., Roginski H., Broom M.C.: Growth and acid production of group N streptococci in ultrafiltered milk. *Aust. J. Dairy Technol.*, 1983, **38**, 138.
- [9] Kelly P.M.: Membrane separation. In: *Encyclopedia of Dairy Sciences* - eds.: H. Rogiński, J. Fuquay, P. Fox. Academic Press, Amsterdam, 2002, vol. 3, pp. 1777-1785.
- [10] Lucey J.A., Fox P.F.: Importance of calcium and phosphate in cheese manufacture: a review. *J. Dairy Sci.*, 1993, **76**, 1714-1724.
- [11] Lucey J.B., Hauth C.G., Fox P.F.: The acid-base buffering properties of milk. *Milchwissenschaft*, 1993, **48**, 268-272.
- [12] McMahon D.J., Orme B.J., Ernstrom C.A.: Improving fermentation and fat retention when making cheese from ultrafiltered milk. *Aust. J. Dairy Technol.*, 1997, **52**, 53-57.
- [13] Meijer W.C., Tacken M., Noomen A., Hugenholtz J.: Determination of growth parameters of *lactococci* in milk and ultrafiltered milk. *J. Dairy Sci.*, 1995, **78**, 17-23.
- [14] Mistry V.V., Kosikowski F.V.: A naturally buffered milk retentate starter from ultrafiltered milk. *J. Dairy Sci.*, 1986, **69**, 945.
- [15] Mistry V.V., Kosikowski F.V.: Fermentation of ultrafiltered skim milk retentates with mesophilic lactic cheese starters. *J. Dairy Sci.*, 1985, **68**, 1613.
- [16] Mistry V.V., Kosikowski F.V.: Growth of lactic acid bacteria in highly concentrated ultrafiltered skim milk retentates. *J. Dairy Sci.*, 1985, **68**, 2536-2543.
- [17] Orme B.J., McMahon D.J., Thunell R.K.: Variable growth and acid production of *lactococci* in whole milk concentrated by ultrafiltration and diafiltration. *J. Dairy Sci.*, 1994, **77**, 3454-3459.

- [18] PN-A-86034-15:1998. Mleko i przetwory mleczarskie. Badania mikrobiologiczne. Jogurt. Oznaczenie liczby charakterystycznych drobnoustrojów
- [19] Salaün F., Mietton B., Gaucheron F.: Buffering capacity of dairy products. *Int. Dairy J.*, 2005, **15**, 95-109.
- [20] Sharma S.K., Ferrier L.K., Hill A.R.: Effect of modified manufacturing parameters on the quality of Cheddar cheese made from ultrafiltered (UF) milk. *J. Food Sci.*, 1989, **54**, 573-577.
- [21] Srilaorkul S., Ozimek L., Stiles M.E.: Growth activity of *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris* in ultrafiltered skim milk. *J. Dairy Sci.*, 1989, **72**, 2435-2443.
- [22] Tineke, H.J., Ozimek L., Stiles M.E.: Comparative evaluation of bulk starter substrates on activity and storage of two commercial starter strains. *J. Dairy Sci.*, 1990, **73**, 1166-1172.
- [23] Voutsinas L.P., Katsiari M.C., Pappas C.P., Mallatou H.: Production of brined soft cheese from frozen ultrafiltered sheep's milk. Part 2. Compositional, physicochemical, microbiological and organoleptic properties of cheese. *Food Chem.*, 1995, **52**, 235-247.
- [24] Zmarlicki S. (red.): *Ćwiczenia z analizy mleka i produktów mlecznych*. Wyd. SGGW. Warszawa 1981.
- [25] Zmarlicki S., Gawel J., Pijanowski E., Molska I.: Superjogurt – nowy produkt mleczny. *Przegl. Mlecz. - dodatek naukowy*, 1973, **3**, 1-3.

GROWTH AND SURVIVAL OF YOGURT BACTERIA IN UF MILK RETENTATES

Summary

The aim of the study was to define the growth of yogurt bacteria in UF milk retentates as well as examination their survival in acidified retentates during their storage at 6°C and -18°C for the period of 22 months.

Retentates (concentration factor between 4.0–4.5 and 5.0–5.3) were obtained from pasteurized milk (3.2% fat) by its concentration using ultrafiltration. Retentates after pasteurization (72°C/15s) were fermented (temp. 44 ± 1°C) to the pH 5.1–5.2 by yogurt cultures: YC-X11 and YC-180. During the fermentation process the acidification rate of retentate and pasteurized milk by measuring the pH and titratable acidity were investigated. After 24 hours from processing in retentates acidified to pH 5.1–5.2 the plate count of *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* were determined. The survival of yogurt bacteria in acidified retentates were determined by measuring their counts in retentates after 1, 2, 3, 4, 5, 6, 16 and 22 months of storage at 6° and -18°C.

It was found out that retentates showed different rates of acidification compared with milk because of their higher buffer capacity. In general yogurt cultures showed good growth in milk highly concentrated by UF. In retentates acidified to pH 5.1–5.2 the mean plate count of *S. thermophilus* was really high (2.8×10^9 cfu/g). *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* counts were depended from yogurt's culture type used for fermentation and was lower for retentates acidified with YC-X11 culture (2.6×10^5 cfu/g) than for retentates in which YC-180 culture was used (2.7×10^8 cfu/g). Finally both yogurt bacteria showed much better survival in acidified retentates stored at -18°C than stored at 6°C.

Key words: ultrafiltration, retentate, yogurt culture ☒