

Przeżywalność bakterii jogurtowych i probiotycznych w układach modelowych mleka niefermentowanego i fermentowanego

DOROTA ZARĘBA, MAŁGORZATA ZIARNO, MIECZYŚLAW OBIEDZIŃSKI

Katedra Biotechnologii, Mikrobiologii i Oceny Żywności Wydziału Technologii Żywności SGGW,
ul. Nowoursynowska 159c, 02-787 Warszawa

Zaręba D., Ziarno M., Obiedziński M.

Viability of yoghurt bacteria and probiotic strains in models of fermented and non-fermented milk

Summary

The objective of the study was the qualification of the viability of chosen yoghurt bacteria and probiotic strains in controlled milk models. The aim of this research was to check the predisposition of each culture to meet the requirements of FAO/WHO concerning the therapeutic minimum, and the requirements of FID/IDF concerning the least number of the bacteria throughout the period of product consumption. The controlled milk models were produced with three freeze-dried starter cultures (YC-180, Bb-12, La-5) and one isolate (*Lb. casei*). The viability of each culture was studied during cold storage (6°C for 4 weeks) of fermented and non-fermented milk samples. The results showed univocally that the viability of LAB in fermented or non-fermented milk samples in cold storage depended on the genus, species and strain of bacteria used, as well on such factors as the acid and oxygen content of the product. During cold storage the yoghurt culture and probiotic strains, except *Lb. acidophilus*, fulfilled the requirement of the therapeutic minimum in the fermented and non-fermented milk samples. Only the probiotic strain *Lb. acidophilus* La-5 showed low viability: in the non-fermented milk its population decreased below the required 10^6 cfu/cm³ already in the 2nd week of cold storage. In the fermented milk, however, the population of *Lb. acidophilus* decreased below the required 10^6 cfu/cm³ only between the 2nd and 4th week of cold storage. This study showed the essential influence of storage conditions (time, acid and oxygen content) and the genus, species and strain of bacteria used on their viability.

Keywords: lactic acid bacteria, probiotic strains, viability, therapeutic minimum

Na przeżywalność bakterii w produkcji ma wpływ wiele czynników, do których zaliczyć można, między innymi: obecność mikroflory towarzyszącej w przypadku mieszanek, dostęp do składników odżywczych, czas i temperaturę inkubacji, czas i temperaturę przechowywania, zabiegi technologiczne, pH środowiska oraz obecność substancji bakteriostatycznych (18). Produkcja artykułów mleczarskich zawierających żywe komórki bakterii mlekowych, szczególnie probiotyków, wymaga kontroli i badań modelowych pozwalających na prognozowanie przeżywalności i biologicznej aktywności warunkujących stałą jakość produktów w całym okresie ich przydatności do spożycia.

Liczba żywych komórek mikroflory technicznej w mlecznych napojach fermentowanych powinna wynosić co najmniej 10^6 jtk/cm³. Wymóg ten, podany w wytycznych FIL/IDF i FAO/WHO, dotyczy zarówno mikroflory podstawowej (np. bakterii jogurtowych), jak i dodatkowej (mikroflory probiotycznej). Kryterium liczebności musi być spełnione w całym okresie przydatności do spożycia i jest określone mianem mi-

nimum terapeutycznego. Warunek ten zapewnia spełnienie przez bakterie probiotyczne pozytywnego działania, potwierdzonego badaniami klinicznymi. Wyjątkiem niewymagającym takich badań mogą być typowe bakterie jogurtowe, do których zalicza się *Str. salivarius* subsp. *thermophilus* i *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (5, 9).

Celem niniejszych badań było określenie przeżywalności bakterii jogurtowych i probiotycznych w mleku niefermentowanym i fermentowanym w warunkach laboratoryjnych.

Materiał i metody

Badania przeprowadzono w układzie modelowym, w którego skład wchodziło 11 próbek. Pierwsza próbka było to mleko UHT o zawartości 3,2% tłuszczu. W kolejnych próbkach do mleka dodano odpowiednie kultury bakterii mlekowych jogurtowych i probiotycznych. W badaniach wykorzystano gotowe liofilizowane szczepionki: wielogatunkową YC-180 (Chr. Hansen, zawierającą typowo jogurtowe szczepy bakterii *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* i *Str. salivarius* subsp. *thermophilus*) oraz trzy monokul-

tury probiotyczne: Bb-12 (Chr. Hansen, zawierającą *Bif. lactis*), LA-5 (Chr. Hansen, zawierającą *Lb. acidophilus*) oraz szczep *Lb. casei*. Każdej z tych kultur użyto do otrzymania następujących próbek mleka fermentowanego i niefermentowanego: mleko – mleko jałowe, YC – mleko niefermentowane zawierające kulturę YC-180, YC' – mleko fermentowane kulturą YC-180, Bb – mleko niefermentowane zawierające kulturę Bb-12, Bb' – mleko fermentowane kulturą Bb-12, casei – mleko niefermentowane zawierające szczep *Lb. casei*, casei' – mleko fermentowane szczepem *Lb. casei*, La – mleko niefermentowane zawierające kulturę La-5, La' – mleko fermentowane kulturą La-5, mix – mleko niefermentowane zawierające mieszankę wszystkich wymienionych kultur, mix' – mleko fermentowane mieszanką wszystkich wymienionych kultur. Butelki z próbkami mleka przetrzymywano przez 4 tygodnie w temperaturze 6°C. Wersja fermentowana mleka przed umieszczeniem w lodówce została poddana inkubacji w temperaturze 37°C przez 18 h. Bezpośrednio po otrzymaniu próbek mleka fermentowanego i niefermentowanego oraz po 2 i 4 tygodniach chłodniczego przechowywania wykonywano analizę mikrobiologiczną.

Ponadto przeprowadzono dodatkowe doświadczenie w celu potwierdzenia niskiej przeżywalności *Lb. acidophi-*

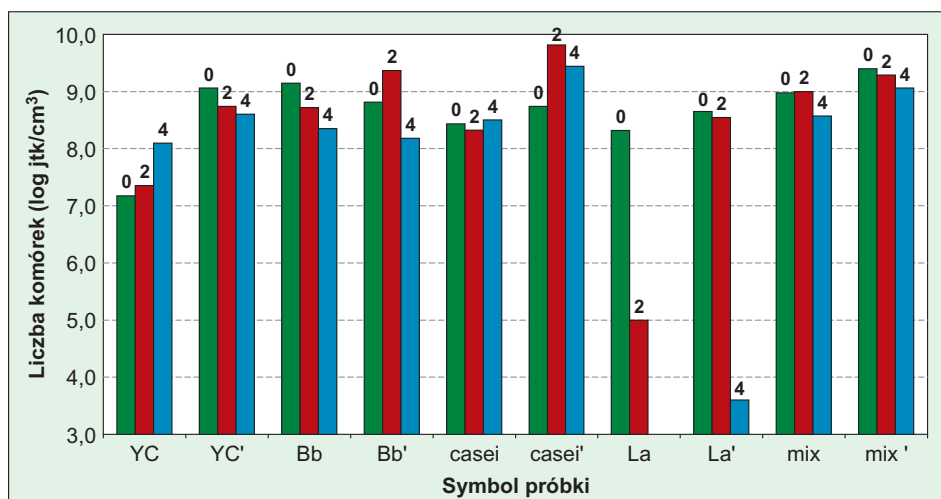
lus obserwowanej w pierwszym doświadczeniu oraz określenia najbardziej prawdopodobnych jej przyczyn. W doświadczeniu tym posłużono się dwoma modelami: stałym, na wzór produkcji jogurtów metodą termostatową i modelem mieszanym, na wzór metody zbiornikowej. Analogicznie do pierwszego doświadczenia, przygotowano dwie wersje mleka: fermentowaną i niefermentowaną. Próbkę mleka modelu mieszanego były przechowywane przez 4 tygodnie i wstrząsane co tydzień. Przy oznaczaniu przeżywalności wykorzystano tę samą metodę, co w pierwszym doświadczeniu. Oznaczanie liczebności żywych komórek zastosowanych kultur wykonano metodą płytkową kropelkową, z wykorzystaniem podłoży agarowych M17 i MRS (Merck) (8). Płytki z posiewami *Str. salivarius* subsp. *thermophilus* inkubowano tlenowo w temperaturze 37°C przez 48 h. Płytki z posiewami bakterii beztlenowych (*Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lb. acidophilus*, *Bif. lactis*, *Lb. casei*) inkubowano w anaerostatach zapewniających warunki beztlenowe, w temperaturze 37°C przez 48 h.

Wyniki i omówienie

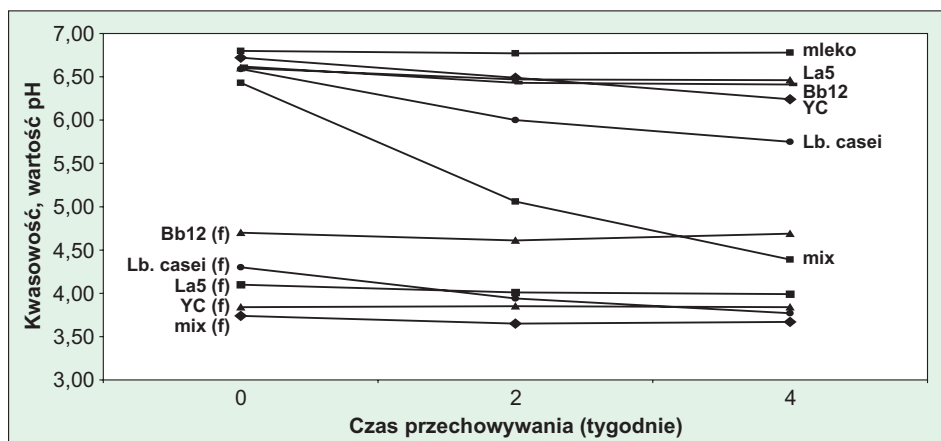
Przeprowadzone badania nad przeżywalnością bakterii jogurtowych i probiotycznych w układach modelowych wskazały, że wykorzystane kultury bakteryjne,

poza jednym przypadkiem, pozwalają na otrzymanie produktów spełniających wymagane kryterium minimum terapeutycznego. Jedynie szczep *Lb. acidophilus* La-5 wykazał słabą przeżywalność zarówno w mleku fermentowanym, jak i niefermentowanym (ryc. 1). Początkowa liczba żywych komórek w próbkach była na poziomie od 7,2 log jtk/cm³ dla kultury YC-180 do 9,2 log jtk/cm³ dla szczepu Bb-12. Stwierdzona różnica w początkowej liczbie żywych komórek wynikała z jakości użytych liofilizatów kultur i jest zgodna z oczekiwaniami. Zwykle liofilizowane kultury zawierają więcej niż 10¹¹ jtk/g (12, 20).

Fermentacja mleka w temperaturze 37°C przez 18 h spowodowała wzrost liczby bakterii w stosunku do ich populacji w próbkach mleka niefermentowanego. Zmiany liczby bakterii w czasie przechowywania nie są jednoznaczne z intensywnością procesu fermentacji mleka, co można zauważyć, śledząc wartości pH badanych próbek (ryc. 2). Największy przyrost biomasy miał miejsce w próbce fermentowanej przez kulturę jogurtową YC-180 (ryc. 1). Jedynie w przypadku monokultury *Bif. lactis* zauważono niewielkie obniże-



Ryc. 1. Liczba żywych komórek bakteryjnych w 0., 2. i 4. tygodniu przechowywania próbek mleka fermentowanego i niefermentowanego



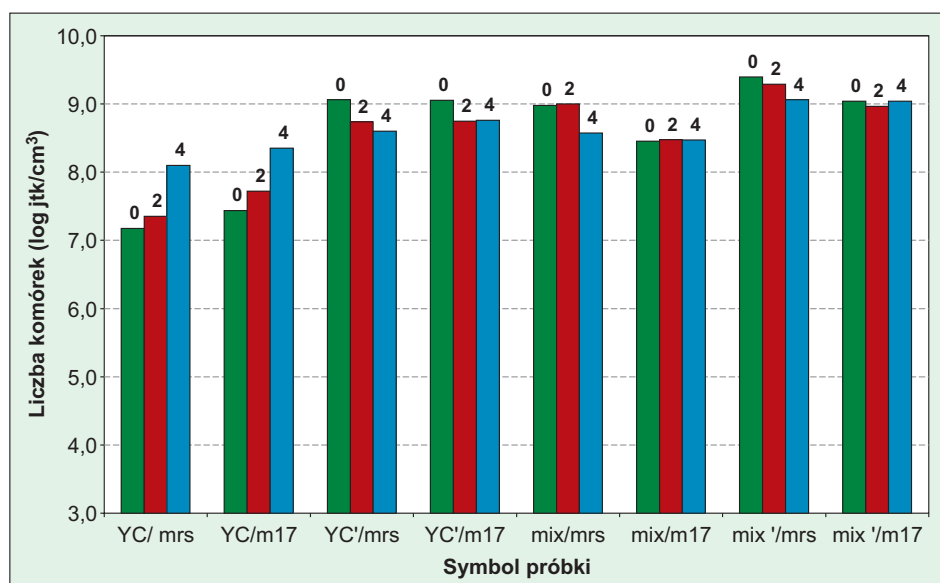
Ryc. 2. Zmiany wartości pH w badanych próbkach mleka fermentowanego (f) i niefermentowanego w czasie 0, 2 i 4 tygodni przechowywania

nie się liczby komórek bakteryjnych po zakończeniu fermentacji mleka. Różnice w dynamice rozwoju użytych bakterii wynikać mogą z pochodzenia badanej mikroflory i jej szybkości adaptacji do środowiska mleka, co potwierdza w swoich badaniach Shihata (15), twierdząc, że bakterie probiotyczne powoli rosną w mleku m.in. ze względu na słabszą aktywność proteolityczną. Ziajka i wsp. (19) twierdzą, że dodatkowe źródła aminokwasów pomogą stymulować wzrost probiotyków, szczególnie w obecności kultur starterowych niezawierających *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. Cytowani badacze wykazali wzrost właściwości fermentacyjnych i proteolitycznych bifidobakterii w wyniku wzbogacenia mleka w hydrolizat kazeiny. Również inni autorzy obserwowali lepszą przeżywalność bifidobakterii, ale na skutek dodatku fruktooligosacharydów (1).

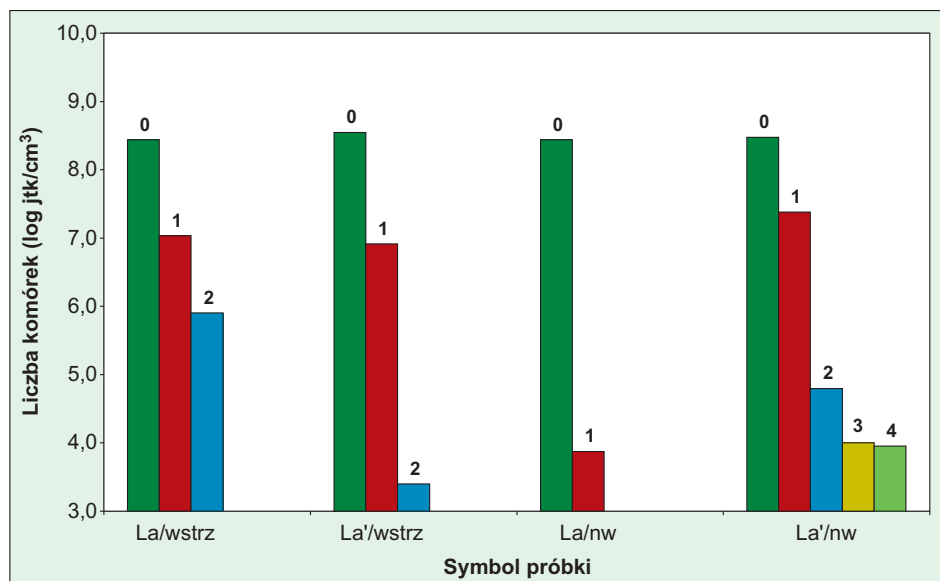
Warto zwrócić uwagę na istotny przyrost liczby komórek w czasie pierwszych dwóch tygodni chłodniczego przechowywania próbek fermentowanych przez bakterie probiotyczne. Największe zwiększenie liczby bakterii probiotycznych zaobserwowano w przypadku *Lb. casei* oraz *Bif. lactis* (ryc. 1). W tym czasie liczba żywych komórek w próbkach YC' oraz mix' obniżyła się i obniżała się stopniowo w dalszym okresie przechowywania. Po czterech tygodniach przechowywania próbek casei' i Bb', zaobserwowano zmniejszenie populacji bakterii, o około 0,5 cyklu logarytmicznego w przypadku *Lb. casei* i o jeden cykl log w przypadku *Bif. lactis*. Interesujących obserwacji dokonano w przypadku *Lb. acidophilus*. Szczep ten wykazał niewielki wzrost w czasie procesu fermentacji, zaś podczas przechowywania zaobserwowano szybkie obniżanie się liczby żywych komórek tych bakterii. Po czwartym tygodniu przechowywania populacja tych bakterii zmalała do poziomu 3,6 log jtk/cm³.

W próbkach mleka niefermentowanego większość użytych monokultur bakterii wykazała się stopniowym spadkiem liczebności, od chwili ich dodania aż do końca okresu przechowywania (ryc. 1). W przypadku próbki z udziałem *Lb. casei* liczba żywych komórek nie zmieniała się w całym okresie chłodniczego

przechowywania. Natomiast zaobserwowany spadek przeżywalności bakterii w próbkach Bb i mix był stopniowy i wynosił najwyżej jeden cykl logarytmiczny. Inaczej było w przypadku *Lb. acidophilus*, które odznaczały się słabą przeżywalnością. Po 2. tygodniu przechowywania liczba żywych komórek tych bakterii obniżyła się do poziomu 5,0 log jtk/cm³, zaś w 4. tygodniu przechowywania nie stwierdzono już żywych komórek *Lb. acidophilus*. Z kolei kultura jogurtowa YC-180 w czasie całego okresu przechowywania próbki niefermentowanej zwiększyła swoją populację o 2 cykle logarytmiczne. Nie zaobserwowano różnic w przeżywalności pomiędzy *Str. salivarius* subsp. *thermophilus* i *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (ryc. 3). Wyniki wskazują na brak różnic w przeżywalności *Str. salivarius* subsp. *thermophilus* i *Lb.*



Ryc. 3. Liczba żywych komórek *Str. salivarius* subsp. *thermophilus* (M17) i pałeczek mlekowych (MRS) w próbkach w 0, 2. i 4. tygodniu przechowywania



Ryc. 4. Liczba żywych komórek bakteryjnych w próbkach z udziałem *Lactobacillus acidophilus* w 0, 1., 2., 3. i 4. tygodniu przechowywania, w modelu wstrząsanym (wstrz) i niewstrząsanym (nw)

delbrueckii subsp. *bulgaricus*. Jak wykazał Żbikowski (21), na proporcję liczby *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* i liczby *Str. salivarius* subsp. *thermophilus* ma wpływ czas inkubacji. Autor ten obserwował trzykrotnie większy udział paciorkowców niż pałeczek po 3,5 h inkubacji, zaś po kolejnych 3 h proporcje obu populacji zrównały się, a po upływie następnej 0,5 h pałeczek było więcej niż paciorkowców. Z kolei badania przeprowadzone przez innych autorów potwierdzają wysoką przeżywalność bakterii jogurtowych przez 45 dni w jogurtach pitnych, a nawet 60 dni w jogurtach stałych (3).

Ze względu na nietypowe wyniki uzyskane dla *Lb. acidophilus* przeprowadzono odrębne doświadczenie (ryc. 4). Uzyskane wyniki tego doświadczenia potwierdzają niską przeżywalność użytej monokultury *Lb. acidophilus*, równocześnie wykazano istotny wpływ procesu mieszania na przeżywalność tych bakterii. Można wnioskować, że istotny wpływ na populację tych bakterii mają czas i temperatura przechowywania, obecność tlenu oraz, w mniejszym stopniu, kwasowość środowiska. Wielu badaczy potwierdza słabszą oporność *Lb. acidophilus* na wiele czynników środowiskowych i tym samym słabszą przeżywalność, w porównaniu do innych bakterii probiotycznych (18). W badaniach przeprowadzonych przez Nighswongera i wsp. (10) nad 5 szczepami *Lb. acidophilus*, szczep La-5 wykazywał najniższą przeżywalność w czasie 28 dni przechowywania w temperaturze 5°C lub 7°C. Jak wykazały niniejsze badania, jednym z ważniejszych czynników wpływających na przeżywalność szczepu La-5 jest obecność tlenu. Metoda zbiornikowa produkcji jogurtów powoduje natlenianie środowiska, bowiem jogurt jest mieszany, zaś dostęp tlenu sprzyja nadprodukcji nadtlenu wodoru przez *Lb. acidophilus*. Jak wiadomo, nadtlenek wodoru jest powszechnie znanym związkiem bakteriostatycznym, więc aby uniknąć jego negatywnego działania na mikroflorę produktów fermentowanych, niektórzy badacze sugerują łączenie szczepów probiotycznych z kulturami jogurtowymi, głównie *Str. salivarius* subsp. *thermophilus*, które wiążąc tlen, mogą zmniejszyć ilość wytwarzanego H₂O₂ (4). Obecność *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* nie daje podobnego efektu, bowiem bakterie tego gatunku też wytwarzają nadtlenek wodoru. Innym sposobem na poprawę przeżywalności *Lb. acidophilus* jest dodatek uszkodzonych komórek bakterii jogurtowych. Badania potwierdzają, że jogurt z takim dodatkiem zawiera mniej nadtlenu wodoru, a dodatkowo z uszkodzonych komórek bakteryjnych uwalniana jest β-galaktozydaza, co w efekcie wpływa korzystnie na liczebność bakterii probiotycznych i nie zmienia smaku produktu (14).

Kolejnym czynnikiem istotnym dla przeżywalności *Lb. acidophilus* jest czas inkubacji. Ostlie i wsp. (11) wykazali, że hodowla w temperaturze 45°C przez 24-48 h ma negatywny wpływ na liczbę żywych komórek *Lb. acidophilus* La-5, zmniejszając ją o około

0,9-1,3 log jtk/cm³. Innym czynnikiem wpływającym na spadek liczby bakterii probiotycznych jest obniżające się pH środowiska. W celu zapewnienia przeżywalności *Lb. acidophilus* przez cały okres przydatności produktu do spożycia, należy zakończyć proces fermentacji przy pH 4,9-5,0 (4). W niniejszych badaniach, w przypadku próbek fermentowanych przez *Lb. acidophilus*, w których obserwowano znaczny spadek przeżywalności tych bakterii, pH obniżyło się do wartości około 4,0 (ryc. 2). Osiągnięta wartość pH była efektem obecności kwasów organicznych, w tym kwasu octowego. Jak wykazały badania Samona i wsp. (13), kwas octowy ma hamujący wpływ na bakterie mlekowe.

Poziom zakwaszenia ma istotny wpływ na przeżywalność szczepów probiotycznych i utrzymania przez nie minimum terapeutycznego. Ma także istotny wpływ na procesy metaboliczne i związaną z tym produkcję składników wpływających na aromat i smak produktu, jak np. na poziom acetaldehydu (16, 17). Bolin i wsp. (4) sugerują, by proces fermentacji kończyć przy pH 4,9-5,0, co zapewnia prawidłową przeżywalność bakterii oraz prawidłowe procesy metaboliczne, gwarantujące odpowiednią pożądalność smakowo-zapachową gotowego produktu (4). Zatrzymanie procesu fermentacji przy wartości pH 5,0 zabezpiecza przed przekwaszeniem (obniżeniem pH poniżej 4,5) w czasie przechowywania i, tym samym, pozwala uniknąć synerezy serwatki z produktu (2, 18). W przypadku bakterii charakteryzujących się dużą aktywnością fermentacyjną można wykorzystać inne zabiegi zmniejszające aktywność kwaszącą, jak np. mikrokapsułkowanie, które spowalnia proces fermentacji i jednocześnie sprzyja przeżywalności bakterii na wymaganym poziomie powyżej minimum terapeutycznego (7). Ponadto większość szczepów probiotycznych należy do grupy bakterii beztlenowych, dlatego ważnym czynnikiem zapewniającym dobrą przeżywalność jest zapewnienie beztlenowych warunków albo przez dobry dobór mieszanki bakteryjnej, wykazującej wzajemną aktywność synergistyczną, albo przez dobór opakowania stanowiącego dużą barierowość dla tlenu, jak to wykazał Jayamanne (6). Liczne badania jednoznacznie potwierdzają spadek liczby bakterii podczas chłodniczego magazynowania mlecznych napojów fermentowanych. Spadek liczebności jest zróżnicowany w zależności od gatunków, a także szczepów. W niniejszych badaniach potwierdzono, że warunki przechowywania mogą być jednym z czynników sprzyjających zmniejszeniu przeżywalności, ale nie jedynym czynnikiem decydującym o przeżywalności mikroflory technicznej, w tym szczepów probiotycznych. Wyniki niniejszej pracy dowodzą, że wpływ warunków chłodniczych na liczbę żywych komórek zależy od szczepu i gatunku użytych bakterii oraz dodatkowych czynników zewnętrznych i nie jest możliwy do przewidzenia bez wstępnych badań. W przypadku niektórych mlecznych napojów fermentowanych jedynym sposo-

bem na utrzymanie pożądanej populacji szczepów probiotycznych jest ich dodatek po fermentacji lub przed fermentacją, w ilości zapewniającej odpowiednią ich liczebność do końca okresu przydatności produktu do spożycia, gdyż w takich produktach, jak mleko niefermentowane, komórki bakterii probiotycznych nie namnażają się, tylko pozostają żywe.

Podsumowanie

Przeżywalność bakterii fermentacji mlekowej w mleku fermentowanym lub niefermentowanym, chłodniczo przechowywanym, zależy od rodzaju, gatunku i szczepu użytych bakterii oraz kwasowości i natlenienia produktu.

W mleku niefermentowanym liczba *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Str. salivarius* subsp. *thermophilus*, *Lb. casei* i *Bif. lactis* utrzymuje się na wymaganym poziomie ($> 10^6$ jtk/cm³) przez cały okres 4-tygodniowego przechowywania w temperaturze 6°C, gwarantując minimum terapeutyczne produktu. Wyjątkiem jest *Lb. acidophilus*, którego populacja maleje poniżej wymaganego 10^6 jtk/cm³ już w 2. tygodniu chłodniczego przechowywania.

W mleku fermentowanym liczba *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Str. salivarius* subsp. *thermophilus*, *Lb. casei* i *Bif. lactis* utrzymuje się na wymaganym poziomie ($> 10^6$ jtk/cm³) przez cały okres 4-tygodniowego przechowywania w temperaturze 6°C. Wyjątkiem jest *Lb. acidophilus*, którego populacja maleje między 2 i 4 tygodniami przechowywania poniżej wymaganej liczby 10^6 jtk/cm³.

Piśmiennictwo

1. Akalin S. A., Fenderya S., Acbulut N.: Viability and activity of bifidobacteria in yoghurt containing fructooligosaccharide during refrigerated storage. J. Food Sci. Technol. 2004, 39, 613-621.
2. Baranowska M.: The content of volatile free fatty acids in milk cultured with yoghurt bacteria. Pol. J. Natur. Sci. 2004, 13-21.

3. Birollo G. A., Reinheimer J. A., Vinderola C. G.: Viability of lactic acid microflora in different types of yoghurt. Food Res. Int. 2000, 33, 799-805.
4. Bolin Z., Libudzisz Z., Moneta J.: Viability of *Lactobacillus acidophilus* in fermented milk products during refrigerated storage. Pol. J. Food. Nutr. Sci. 1998, 3, 466-471.
5. Gajda J.: Żywność probiotyczna jako przykład żywności funkcjonalnej – wymagania i przepisy prawne. Przegl. Mlecz. 2007, 56 (3), 26-28.
6. Jayamanne V. S., Adams M. R.: Survival of probiotic bifidobacteria in buffalo curd and their effect on sensory properties. Int. J. Food Sci. Technol. 2004, 39, 719-725.
7. Kailasapathy K.: Survival of free and encapsulated probiotic bacteria and their effect on the sensory properties of yoghurt. LWT – Food Sci. Technol. 2006, 39, 1221-1227.
8. Libudzisz Z., Kowal K.: Mikrobiologia techniczna. T. 1, Politechnika Łódzka, Łódź 2000, 421-422.
9. Moneta J.: Fermentowane produkty mleczne suplementowane bakteriami probiotycznymi. Przegl. Mlecz. 2006, 55 (1), 4-8.
10. Nighswonger B. D., Brashears M. M., Gilliland S. E.: Viability of *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei* in fermented milk products during refrigerated storage. J. Dairy Sci. 1996, 79, 212-219.
11. Ostlie H. M., Treimo J., Narvhus J. A.: Effect of temperature on growth and metabolism of probiotic bacteria in milk. Int. Dairy J. 2005, 15, 989-997.
12. Saarela M., Gunnar M.: Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties. Dziennik Biotechnologii 2000, 84, 197-215.
13. Samona A., Robinson R. K., Marakis S.: Acid production by bifidobacteria and yoghurt bacteria during fermentation and storage of milk. Food Microbiol. 1996, 13, 275-280.
14. Shah N. P., Lankaputhra W. E. V.: Improving Viability of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium* spp. in yogurt. Int. Dairy J. 1997, 7, 349-356.
15. Shihata A., Shah N. P.: Proteolytic profiles of yogurt and probiotic bacteria. Int. Dairy J. 2000, 10, 401-408.
16. Tamime A. Y., Robinson R. K.: Yoghurt – Science and Technology. Woodhead Publishing Limited, Cambridge 1999.
17. Varnam H. A.: Milk and Milk Products. Technology, Chemistry and Microbiology. Aspen Publishers Inc., Gaithersburg, Maryland 2001, 372-374.
18. Vinderola C. G., Bailo N., Reinheimer J. A.: Survival of probiotic microflora in argentinian yoghurts during refrigerated storage. Food Res. Int. 2000, 33, 97-102.
19. Ziajka S. (red.): Mleczarstwo, zagadnienia wybrane. Wyd. ART, Olsztyn 1997, t. 1, 77-108, t. 2, 62-93.
20. Ziarno M.: Charakterystyka komercyjnych kultur starterowych stosowanych w przemyśle mleczarskim. Medycyna Wet. 2007, 63, 909-913.
21. Żbikowski Z.: Nowoczesne trendy w technologii produkcji jogurtu. Przegl. Mlecz. 1997, 46 (2), 66-69.

Adres autora: mgr inż. Dorota Zaręba, ul. Nowoursynowska 159c, 02-667 Warszawa; e-mail: xdorotaz@wp.pl