

# Rast bakterija ABT-5 kulture u sirutki obogaćenoj koncentratom proteina sirutke

Bojan Matijević<sup>1\*</sup>, Rajka Božanić<sup>2</sup>, Ljubica Tratnik<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Veleučilište u Karlovcu, Trg J.J. Strossmayera 9, Karlovac

<sup>2</sup>Prehrambeno-biotehnološki fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Pierottijeva 9, Zagreb

Prispjelo - Received: 26.03.2010.

Prihvaćeno - Accepted: 18.08.2010.

## Sažetak

Cilj ovog istraživanja bio je skratiti trajanje fermentacije sirutke te ispitati utjecaj dodatka koncentrata proteina sirutke (KPS) na rast i aktivnost te preživljavanje bakterija združene ABT-5 kulture (*Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium* spp. i *Streptococcus thermophilus*) tijekom 28 dana hladnog čuvanja (5 °C) fermentirane sirutke. Praćena je fermentacija sirutke pri 37 °C bez i s dodatkom 1,5 i 3 % KPS. Fermentacija sirutke sa združenom ABT-5 bakterijskom kulturom trajala je oko 6,5 sati, a KPS nije utjecao na dinamiku fermentacije, bez obzira na dodanu količinu. Broj živih stanica *Lactobacillus acidophilus* bio je veći u fermentiranoj sirutki s KPS (oko 7,13 log CFU/mL) u odnosu na fermentiranu sirutku bez KPS (oko 6,63 log CFU/mL). Dodatak KPS nije utjecao na rast bakterija *Bifidobacterium* spp. i *Streptococcus thermophilus* kao ni na preživljavanje bakterija ABT-5 kulture u fermentiranoj sirutki tijekom 28 dana hladnog čuvanja (5 °C).

**Ključne riječi:** *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium* spp., *Streptococcus thermophilus*, koncentrat proteina sirutke, sirutka

## Uvod

Posljednjih dvadesetak godina u proizvodnji fermentiranog mlijeka sve se više primjenjuju probiotici. Tome su pridonijeli rezultati brojnih istraživanja u kojima je istaknuto da, osim prehrambene, fermentirano mlijeko koje sadržava probiotike ima izravni i/ili neizravni utjecaj na zdravstvenu vrijednost (Samardžija i sur., 2009.). Definicija probiotika glasi: "Probiotik je jedna ili više kultura živih stanica mikroorganizama koje, primijenjene u životinja ili ljudi, djeluju korisno na domaćina, poboljšavajući svojstva autohtone mikroflore" (FAO/WHO, 2001.). Od odabranih vrsta najčešće se koriste bakterije iz roda *Lactobacillus*, manje vrste iz roda *Bifidobacterium* (Gillian i sur., 2002.; Prado i sur., 2008.; Šušković, 2009.), ali se kao probiotici mogu primjenjivati i druge bakterije mlijecne kiseline te i neki kvasci. Blagovoran učinak bakterija iz roda *Lactobacillus* i *Bifidobacterium* na zdravlje ljudi ovisi o primjenjrenom probiotičkom soju, broju živih bakterijskih sta-

nica u probiotičkom proizvodu, i unesenoj dnevnoj dozi. Postoje različita mišljenja, ali smatra se da je za postizanje željenog učinka na zdravljje potrebno minimalno  $10^6$  probiotičkih bakterija CFU/mL ili g proizvoda, a dnevna bi doza trebala biti najmanje  $10^9$  CFU probiotičkih bakterija (Walstra i sur., 2006.; Lacroix i Yildirim, 2007.) kako bi se postigao zdravstveni boljšak (Tamime i sur., 2003.).

Najbrojniju skupinu proizvoda s probioticima čine fermentirana mlijeka (Walstra i sur., 2006.; Özer i Kirmaci, 2010.). Međutim, u posljednje vrijeme sve se više ispituje rast probiotičkih bakterija u sirutki (Özer i Kirmaci, 2010.). Sirutka se u pripremi fermentiranih mlijeka uglavnom koristila u obliku dodatka i to kao sirutka u prahu ili kao koncentrat proteina sirutke. Fermentacija tekuće sirutke ekonomičnija je alternativa budući su izbjegnuti troškovi koncentriranja (Gallardo-Escamilla i sur., 2005.). Fermentacijom s probiotičkim bakterijama dodatno se povećava nutritivna i zdravstvena vrijednost sirutke.

\*Dopisni autor/Corresponding author: E-mail: bojan.matijevic@vuka.hr

Probiotičke bakterije duže se prilagođavaju i sporije rastu u sirutki. Posljedica toga je dugo trajanje fermentacije sirutke, oko 15 sati i duže (Matijević i sur., 2008.a). Fermentaciju je moguće ubrzati da se uz probiotičke bakterije u sirutku dodaju bakterije jogurtne kulture (*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* i *Streptococcus thermophilus*) ili združena ABT bakterijska kultura (*Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium* spp. i *Streptococcus thermophilus*) te promotori rasta tih bakterija (Damin i sur., 2008.). *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* proizvodi veliku količinu D (-) mlječne kiseline i može nepovoljno utjecati na rast i preživljavanje probiotičkih bakterija. Bolji izbor je kombinacija *Streptococcus thermophilus* s probiotičkim bakterijama, jer ta bakterija proizvodi manje mlječne kiseline tijekom fermentacije i čuvanja fermentiranog mlijeka (Kearney i sur., 2008.). Istraživanja pokazuju da proteini sirutke potiču rast određenih bakterija mlječne kiseline i bifidobakterija te im služe kao izvor potrebnih peptida i aminokiselina (McComas i Gilliland, 2003.; Tratnik, 2003.; Antunes i sur., 2005.). Relativno jeftin i lako dostupan izvor proteina sirutke je komercijalni koncentrat proteina sirutke (KPS) dobiven postupkom ultrafiltracije ili dijafiltracije (Herceg i Režek, 2006.; Walstra i sur., 2006.). Dodatak KPS u sirutku ujedno povećava njezinu hranjivu vrijednost.

Stoga je cilj ovoga rada bio skratiti trajanje fermentacije sirutke uporabom združene kulture ABT-5 (*Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium* spp. i *Streptococcus thermophilus*), te istražiti utjecaj dodatka KPS u sirutku na rast, aktivnost i preživljavanje bakterija tijekom 28 dana čuvanja fermentiranih uzoraka pri 5 °C.

## Materijali i metode

### Priprema rekonstituirane sirutke

U radu je korištena slatka sirutka u prahu (Zdenka d.d., Veliki Zdenci) sljedećeg kemijskog sastava: laktoza (73-75 %), proteini (11-14 %), pepeo (7-10 %), voda (do 6 %), mlječna mast u suhoj tvari (do 1 %). Sirutka je rekonstituirana otapanjem 60 g sirutke u 1 L vode.

### Koncentrat proteina sirutke (KPS)

Kao dodatak sirutki korišten je koncentrat proteina sirutke (KPS) Milei 60 (Milei, Njemačka) sljedećeg kemijskog sastava: laktoza 25 %, proteini 60 %, pepeo 4 %, masti 5 % i voda 5 %.

### Probiotička kultura

U radu je korištena (DVS) ABT-5 kultura saставljena od sojeva bakterijskih vrsta *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium* spp. i *Streptococcus thermophilus* (Chr. Hansen's A/S, Danska). Inokulum je pripremljen tako da se 1 g bakterijske kulture suspendira u 100 mL pasterizirane i ohlađene sirutke te aktivira (30 min pri 37 °C).

### Uzorci fermentirane sirutke

Za praćenje fermentacije i utvrđivanja utjecaja KPS na rast združene ABT-5 bakterijske kulture pripremljena su tri uzorka rekonstituirane sirutke. Prvi uzorak je sadržavao sirutku bez KPS (kontrolni uzorak), drugi uzorak pripremljen je uz dodatak 1,5, a treći uz dodatak 3 % KPS (pokusne skupine). Nakon pasterizacije i hlađenja na temperaturu od 37 °C uzorci sirutke su inokulirani sa združenom ABT-5 bakterijskom kulturom.

U uzorke pripremljene sirutke inokulirano je 2,5 % (v/v) bakterijske kulture. Fermentacija svih uzoraka vođena je do približno pH 4,6. Uzorci fermentirane sirutke su ohlađeni i pohranjeni na temperaturi od 5 °C tijekom 28 dana

### Kemijske i mikrobiološke analize

Kiselost uzoraka sirutke analizirana je kao aktivna kiselost. Aktivna kiselost određena je pH metrom (Knick tip 647-1).

Broj živih stanica (CFU/mL) u sirutki fermentiranoj sa združenom ABT-5 bakterijskom kulturom određen je standardnom metodom za svaku bakterijsku vrstu. Soj *Lactobacillus acidophilus* izoliran je na MRS agaru kojem je pH-vrijednost snižena na 5,4 dodatkom ledene octene kiseline. Inkubacija je provedena pri 37 °C/3 dana u mikroaerofilnim uvjetima koji su postignuti prelijevanjem inokuliranog MRS agara dodatnim slojem MRS (ISO 20128, 2006.). *Bifidobacterium* spp. izolirane su na MRS agaru + NNLP otopina (nalidiksična kiselina, neomicin-sulfat, LiCl, paromomicin sulfat). Inkubacija je provedena pri 37 °C/3 dana u anaerobnim uvjetima u anaerobnim loncima s anaerogenom (Oxoid Limited, Hampshire, England) (IDF, 2007.). *Streptococcus thermophilus* je izoliran na M17 agaru.

Inkubacija je provedena pri 37 °C/2 dana (ISO 7889, 2003.). Uzorci su analizirani tijekom fermentacije, nakon 0, 2, 4 i 6 sati, te kada je pH vrijednost

bila približno 4,6. Tijekom pohrane na temperaturi od 5 °C uzorci fermentirane sirutke analizirani su 1., 7., 14., 21. i 28. dana. Pokusi su ponovljeni tri puta.

#### Statistička obrada podataka

Za dobivene rezultate su izračunate prosječne vrijednosti i odstupanja ( $\bar{x}$ ), a za utvrđivanje postojanja statistički značajnih razlika korišten je ANOVA test (SPSS 16.0) i provedena je usporedba srednjih vrijednosti pojedinih grupa Tukey testom ( $P < 0,05$ ).

#### Rezultati i rasprava

Probiotičke bakterije duže se prilagođavaju i sporije rastu u sirutki. Posljedica toga je dugo trajanje fermentacije. Kako bi se poboljšao rast probiotičkih bakterija sirutka je obogaćena s 1,5 i 3 % koncentrata proteina sirutke (KPS) i fermentirana pri 37 °C sa združenom ABT-5 (*Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium* spp. i *Streptococcus thermophilus*) bakterijskom kulturom.

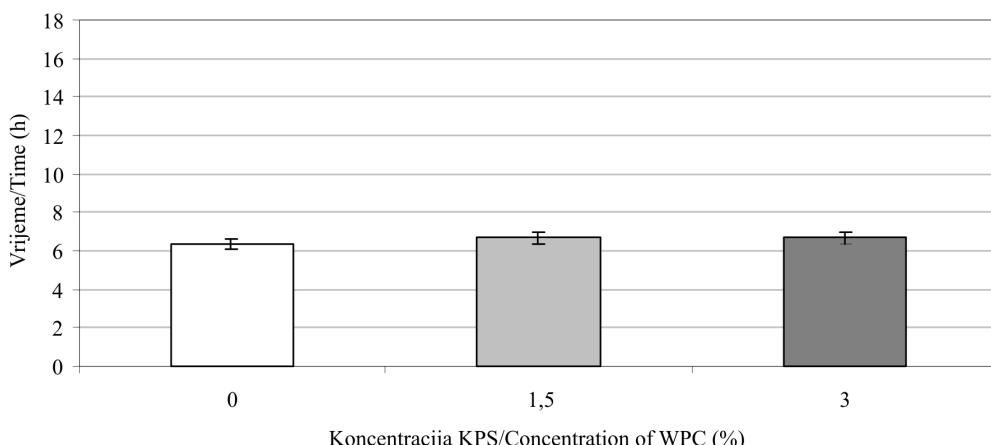
Fermentacija sirutke s ABT-5 bakterijskom kulturom do pH približno 4,6 trajala je oko 6,3 sati u sirutki bez KPS (kontrolni uzorak), a oko 6,7 sati u sirutki obogaćenoj s KPS (slika 1). Dodatak KPS je neznatno produžio trajanje fermentacije u odnosu na kontrolni uzorak, ali te razlike nisu statistički značajne ( $P=0,332$ ). Fermentacija mlijeka s ABT-5 bakterijskom kulturom do pH 4,6 trajala je od 5 do 6 sati (Matijević, 2004.; Damin i sur., 2008.). U

ABT bakterijske kulture glavni nositelj fermentacije je *Streptococcus thermophilus* (Shah, 2006.a; Shah, 2006.b), te dinamika fermentacije ovisi najviše o toj bakteriji. Dobiveni rezultati i literatura (Matijević, 2004.; Damin i sur., 2008.) pokazuju da je aktivnost bakterije *Streptococcus thermophilus* jednak dobra u sirutki kao i u kravljem mlijeku. Kod fermentacije kozjeg mlijeka s ABT-2 bakterijskom kulturom fermentacija je trajala oko 11 sati, a kada je dodan KPS u količini od 3 i 5 % skratila se na 9, odnosno 8 sati (Martín-Diana i sur., 2003.).

Početna pH-vrijednost svih uzoraka sirutke je bila oko 6,2 bez obzira na količinu dodanog KPS (slika 2, 3, 4). Značajniji pad pH sirutke je bio vidljiv nakon 2. sata fermentacije.

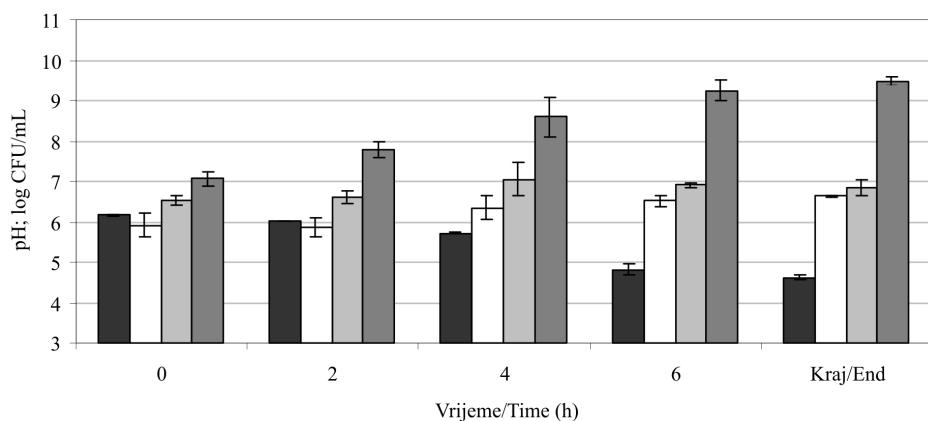
Promjene pH-vrijednosti bile su vrlo slične u svim uzorcima sirutke bez obzira na dodani KPS. U 6. satu uzorak sirutke bez KPS imao je nešto nižu pH-vrijednost. Dodatak KPS u sirutku nije utjecao na statistički značajne razlike pH-vrijednosti ( $P=0,076$ ) između kontrolnog i pokusnih uzoraka sirutke tijekom fermentacije. Slična dinamika promjene pH-vrijednosti tijekom fermentacije s ABT-5 bakterijskom kulturom zapažena je i kod fermentacije mlijeka (Matijević, 2004.).

Na početku fermentacije u svim je uzorcima sirutke najviše bilo streptokoka (oko 7,05 log CFU/mL), zatim su slijedile bifidobakterije (6,61 log CFU/mL) i laktobacili (oko 5,83 log CFU/mL) (sli-



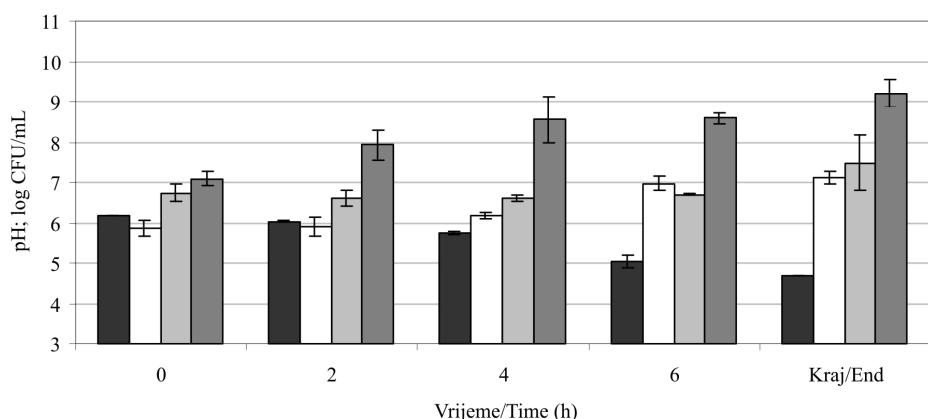
Slika 1. Vrijeme fermentacije sirutke bez (□), te sa 1,5 (■) i 3 (■) % koncentrata proteina sirutke (KPS) primjenom ABT-5 bakterijske kulture

Fig. 1. Fermentation time of whey without (□), and with 1.5 (■) and 3 (■) % of whey protein concentrate (WPC) addition fermented by ABT-5 bacterial culture



Slika 2. Promjena pH-vrijednosti (■) te broja živih bakterija (log CFU/mL) *Lactobacillus acidophilus* (□), *Bifidobacterium* spp. (▨) i *Streptococcus thermophilus* (■) u sirutki bez dodatka koncentrata proteina sirutke (KPS) tijekom fermentacije s ABT-5 bakterijskom kulturom

Fig. 2. Change in pH-values (■) and viable cells count (log CFU/mL) of *Lactobacillus acidophilus* (□), *Bifidobacterium* spp. (▨) and *Streptococcus thermophilus* (■) in whey without whey protein concentrate (WPC) during fermentation with ABT-5 bacterial culture

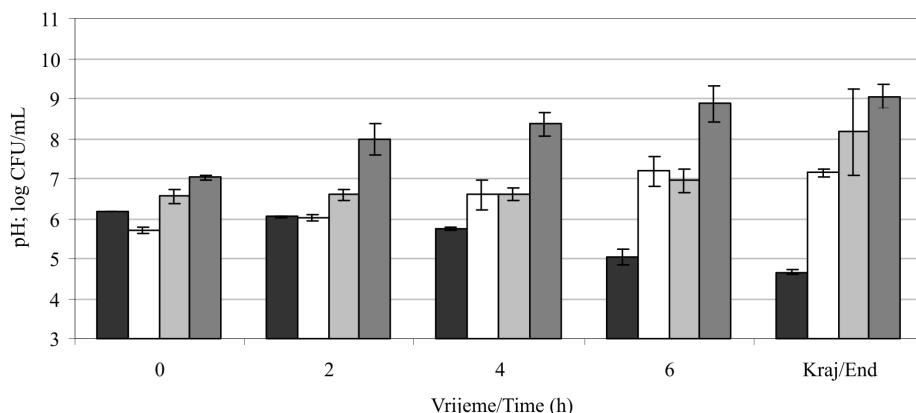


Slika 3. Promjena pH-vrijednosti (■) te broja živih bakterija (log CFU/mL) *Lactobacillus acidophilus* (□), *Bifidobacterium* spp. (▨) i *Streptococcus thermophilus* (■) u sirutki s 1,5 % dodanog koncentrata proteina sirutke (KPS) tijekom fermentacije s ABT-5 bakterijskom kulturom

Fig. 3. Change in pH-values (■) and viable cells count (log CFU/mL) of *Lactobacillus acidophilus* (□), *Bifidobacterium* spp. (▨) and *Streptococcus thermophilus* (■) in whey with 1.5 % whey protein concentrate (WPC) addition during fermentation with ABT-5 bacterial culture

ka 2, 3 i 4). Tijekom fermentacije sirutke najbolje su rasli streptokoki, dok su laktobacili i bifidobakterije rasli puno sporije (slika 2, 3 i 4). Na kraju fermentacije sirutke sa združenom ABT-5 bakterijskom kulturom bilo je više streptokoka i bifidobakterija u odnosu na laktobacile. Dodatak KPS nije statistički značajno utjecao ( $P=0,145$ ) na rast bakterije *Streptococcus thermophilus*, te je broj živih stanica *Streptococcus thermophilus* na kraju fermentacije bio podjednak u svim uzorcima sirutke (oko 9,29 log

CFU/mL). Sirutka s dodatkom 3 % KPS (slika 4) sadržavala je najviše bakterija *Bifidobacterium* spp. (oko 8,16 log CFU/mL) u usporedbi s kontrolnim uzorkom (slika 2) (oko 6,84 log CFU/mL). Međutim, tijekom fermentacije nisu zabilježene statistički značajne razlike ( $P=0,851$ ) u broju živih stanica *Bifidobacterium* spp. između kontrolnog i skupine uzoraka s KPS. Najveći broj bakterija *Lactobacillus acidophilus* (slika 3 i 4) na kraju fermentacije bio je u sirutki obogaćenoj s KPS (oko 7,13 log CFU/mL)



Slika 4. Promjena pH-vrijednosti (■) te broja živih bakterija (log CFU/mL) *Lactobacillus acidophilus* (□), *Bifidobacterium* spp. (▨) i *Streptococcus thermophilus* (■) u sirutki s 3 % dodanog koncentrata proteina sirutke (KPS) tijekom fermentacije s ABT-5 bakterijskom kulturom

Fig. 4. Change in pH-values (■) and viable cells count (log CFU/mL) of *Lactobacillus acidophilus* (□), *Bifidobacterium* spp. (▨) and *Streptococcus thermophilus* (■) in whey with 3 % whey protein concentrate (WPC) addition during fermentation with ABT-5 bacterial culture

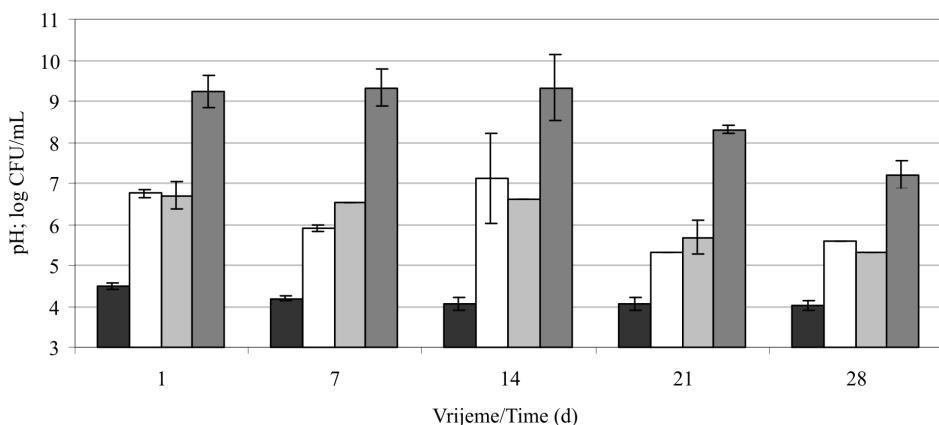
u usporedbi s kontrolnim uzorkom (oko 6,63 log CFU/mL). Dodatak KPS u sirutku pokazuje statistički značajan utjecaj ( $P=0,009$ ) na rast bakterija *Lactobacillus acidophilus* u sirutki. Kod fermentacije mlijeka sa združenom ABT-5 bakterijskom kulturom najbolje su rasli streptokoki, dok je rast bifidobakterija i laktobacila bio podjednak (Matijević, 2004.). Sličnu dinamiku rasta pokazuju bakterije kod fermentacije sirutke sa združenom ABT-5 bakterijskom kulturom. Dodatak KPS u sirutku pospješio je rast bakterije *Lactobacillus acidophilus*, ali nije značajno utjecao na *Bifidobacterium* spp. Utjecaj KPS na fermentaciju i rast *Lactobacillus acidophilus* u sirutki sličan je onom u jogurtu (Antunes i sur., 2005.), dok dodatak KPS nije imao utjecaja na fermentaciju i rast monokulture *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 u sirutki (Matijević i sur., 2008.b.). S druge strane, kod fermentacije mlijeka rast monokulture *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 bio je bolji kad je dodano 2 % KPS (Božanić i Tratnik, 2001.). Rast bakterija združene ABT-5 kulture u sirutki je ograničen bez obzira na količinu dodanog KPS. Ovo može biti povezano s dovoljnom količinom aminokiselina i peptida u sirutki i bez KPS ili ograničenom količinom hranjivih tvari. Možda bi dodatak nekih drugih poznatih promotora rasta za bakterije mlijecne kiseline, kao što su vitamini B grupe, neke masne kiseline te purinske i pirimidin-

ske baze, bio učinkovitiji (Molder i Villa-Garcia, 1993.; Hidalgo-Morales i sur., 2005.).

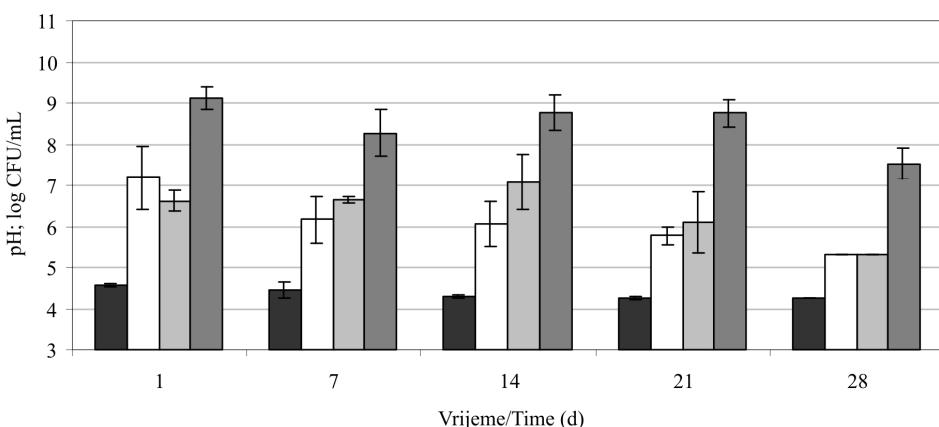
Fermentirani uzorci sirutke pohranjeni su na temperaturi od 5 °C te analizirani 1., 7., 14., 21. i 28. dana. Prvog dana čuvanja svi uzorci fermentirane sirutke imali su pH-vrijednost oko 4,5 (slika 5, 6 i 7). Nakon 7 dana čuvanja uzoraka sirutke bez KPS pH je pao na 4,2, a 28. dan čuvanja bio je pH oko 4,0. Uzorci sirutke obogaćeni s KPS imali su nešto višu pH-vrijednost tijekom cijelog vremena čuvanja (oko 4,3). Statistički značajna razlika ( $P<0,05$ ) pH-vrijednosti kontrolnog uzorka u odnosu na pokušne uzorke sirutke povezana je s puferskim kapacitetom sirutke. Dodatak KPS u sirutki povećao je puferski kapacitet sirutke. Literatura navodi da 1 % proteina sirutke u 1 kg mlijeka ili sirutke ima puferski kapacitet od oko 1,4 mmol NaOH (Walstra i sur., 2006.).

Kod čuvanja fermentiranog kravljeg mlijeka s ABT-5 bakterijskom kulturom 1. dan čuvanja pH bio je oko 4,1 i ta je vrijednost bila stabilna tijekom 21. dan čuvanja (Matijević, 2004.). Također, i kod čuvanja fermentiranog kozjeg mlijeka obogaćenog s KPS (3 % i 5 %) nije bilo značajnih promjena pH-vrijednosti tijekom 21 dan čuvanja (Martín-Diana i sur., 2003.).

Tijekom čuvanja uzoraka fermentirane sirutke najstabilnija je bila bakterija *Streptococcus thermoph-*



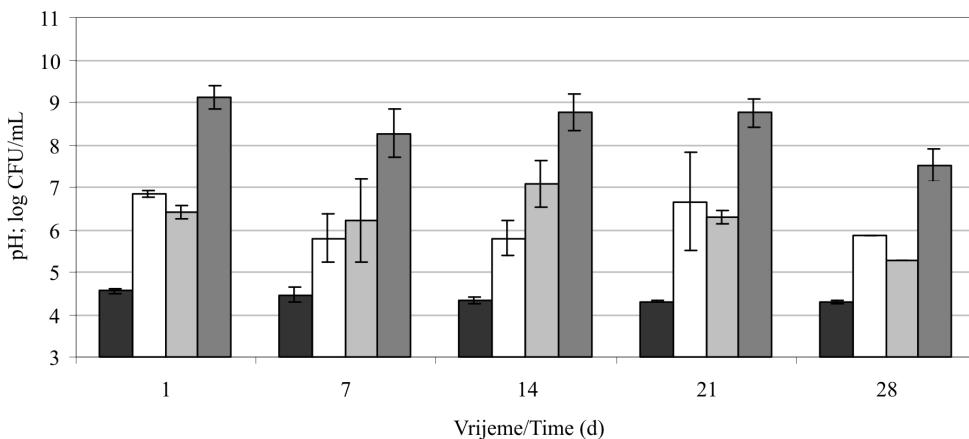
Slika 5. Promjena pH-vrijednosti (■) te broj živih bakterija (log CFU/mL) *Lactobacillus acidophilus* (□), *Bifidobacterium* spp. (▨) i *Streptococcus thermophilus* (■) u fermentiranoj sirutki s ABT-5 bakterijskom kulturom bez dodanog koncentrata proteina sirutke (KPS) tijekom 28 dana hladnog čuvanja  
Fig. 5. Changes in pH-value (■) and viable cells count (log CFU/mL) of *Lactobacillus acidophilus* (□), *Bifidobacterium* spp. (▨) and *Streptococcus thermophilus* (■) in whey without whey protein concentrate (WPC) addition fermented by ABT-5 bacterial culture during 28 days of cool storage



Slika 6. Promjena pH-vrijednosti (■) te broja živih bakterija (log CFU/mL) *Lactobacillus acidophilus* (□), *Bifidobacterium* spp. (▨) i *Streptococcus thermophilus* (■) u fermentiranoj sirutki s ABT-5 bakterijskom kulturom s 1,5 % dodanog koncentrata proteina sirutke (KPS) tijekom 28 dana hladnog čuvanja  
Fig. 6. Changes in pH-value (■) and viable cells count (log CFU/mL) of *Lactobacillus acidophilus* (□), *Bifidobacterium* spp. (▨) and *Streptococcus thermophilus* (■) in whey with 1,5 % whey protein concentrate (WPC) addition fermented by ABT-5 bacterial culture during 28 days of cool storage

*ilus* (slika 5, 6 i 7), dok je preživljavanje bakterija *Lactobacillus acidophilus* i *Bifidobacterium* spp. bilo podjednako. 28. dan čuvanja fermentirana sirutka sadržavala je oko 7,38 log CFU/mL streptokoka. Međutim, broj živih bakterija pao je ispod 6 log CFU/mL već 21. dan čuvanja uzoraka s laktobacilima, a 28. dan kod uzoraka s bifidobakterijama (slika 5, 6 i 7). Dodatak KPS nije statistički značajno utjecao

na preživljavanje bakterija *Streptococcus thermophilus* ( $P=0,544$ ), *Lactobacillus acidophilus* ( $P=0,708$ ) i *Bifidobacterium* spp. ( $P=0,597$ ) tijekom čuvanja. Kod mlijeka fermentiranog sa združenom ABT-5 bakterijskom kulturom broj laktobacila i bifidobakterija tijekom hladnog čuvanja 21. dan nije pao ispod 6 log CFU/mL (Matijević, 2004.).



Slika 7. Promjena pH-vrijednosti (■) te broja živih bakterija (log CFU/mL) *Lactobacillus acidophilus* (□), *Bifidobacterium* spp. (■) i *Streptococcus thermophilus* (■) u fermentiranoj sirutki s ABT-5 bakterijskom kulturom s 3 % dodanog koncentrata proteina sirutke (KPS) tijekom 28 dana hladnog čuvanja  
Fig. 7. Changes in pH-value (■) and viable cells count (log CFU/mL) of *Lactobacillus acidophilus* (□), *Bifidobacterium* spp. (■) and *Streptococcus thermophilus* (■) in whey with 3 % whey protein concentrate (WPC) addition fermented by ABT-5 bacterial culture during 28 days of cool storage

### Zaključci

Fermentacija sirutke sa združenom ABT-5 bakterijskom kulturom trajala je oko 6,5 sati, a KPS nije utjecao na dinamiku fermentacije bez obzira na dodanu količinu. Porast broja živih stanica *Lactobacillus acidophilus* bio je bolji u sirutki s KPS (oko 7,13 log CFU/mL) u odnosu na sirutku bez KPS (oko 6,63 log CFU/mL). Sirutka s dodatkom 3 % KPS sadržavala je najviše bakterija *Bifidobacterium* spp. (oko 8,16 log CFU/mL) u usporedbi s kontrolnim uzorkom (oko 6,84 log CFU/mL). Međutim tijekom fermentacije nisu zabilježene statistički značajne razlike ( $P=0,851$ ) u broju živih stanica *Bifidobacterium* spp. između kontrolne i pokušne skupine uzorka. Dodatak KPS nije utjecao na rast *Streptococcus thermophilus* kao ni na preživljavanje bakterija ABT-5 kulture u fermentiranoj sirutki tijekom 28 dana hladnog čuvanja.

### Growth of ABT-5 bacteria culture in whey supplemented with whey protein concentrate

### Summary

The objective of this research was to decrease the duration of whey fermentation and to analyze the impact of whey protein concentrates (WPC) addition on growth and activity as well as on survival of

mixed ABT-5 culture bacteria (*Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium* spp. and *Streptococcus thermophilus*) during 28 days of fermented whey cold storage (5 °C). Whey fermentation was observed at 37 °C with and without 1.5 and 3 % WPC addition. Whey fermentation with mixed ABT-5 bacterial culture took about 6.5 hours, and WPC did not affect the fermentation dynamics, regardless of the added amount. The viable cell count of *Lactobacillus acidophilus* was higher in fermented whey with WPC (about 7.13 log CFU/mL) compared to whey without WPC (about 6.63 log CFU/mL). WPC addition did not affect the growth of bacteria *Bifidobacterium* spp. and *Streptococcus thermophilus* nor the survival of ABT-5 culture bacteria in fermented whey during 28 days of cold storage (5 °C).

**Key words:** *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium* spp., *Streptococcus thermophilus*, whey protein concentrate, whey

### Zahvala

Prikazani rezultati proizašli su iz znanstvenog projekta "Slatki i fermentirani proizvodi na bazi sirutke i sojinog mlijeka", provođenog uz potporu Ministarstva znanosti, obrazovanja i športa Republike Hrvatske.

## Literatura

1. Antunes, A.E.C., Cazetto, T., Bolini, H.M.A. (2005): Viability of probiotic micro-organisms during storage, postacidification and sensory analysis of fat-free yogurts with added whey protein concentrate. *Int. Dairy J.* 58 (3), 169-173.
2. Božanić, R., Tratnik, L.J. (2001): Quality of cow's and goat's fermented bifido milk during storage. *Food. Tech. Biotechnol.* 39 (2), 109-114.
3. Damin, M.R., Minowa, E., Alcântara, M.R., Oliveria, M.N. (2008): Effect of cold storage on culture viability and some rheological properties of fermented milk prepared with yogurt and probiotic bacteria. *J. Texture Studies* 39, 40-55.
4. FAO/WHO (2001): Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation on Evaluation of Health and Nutritional Properties of Probiotics in Food Including Powder Milk with Live Lactic Acid Bacteria, Córdoba, Argentina, 1-4.
5. Gallardo-Escamilla, F.J., Kelly, A.L., Delahunty, C.M. (2005): Influence of starter culture on flavour and headspace volatile profiles fermented whey and whey produced from fermented milk. *J. Dairy Sci.* 88, 3745-3753.
6. Gillian, E., Gardiner, G.E., Ross, P.R., Kelly, P.M., Collins, J.K., Fitzgerald, G. (2002): Microbiology of therapeutic milks, *Dairy microbiology handbook*, 3rd edition, Robinson, R.K., John Wiley and Sons, Inc., New York, 431-478.
7. Herceg, Z., Režek, A. (2006): Prehrambena i funkcionalna svojstva koncentrata i izolata proteina sirutke. *Mlječarstvo* 56 (4), 379-396.
8. Hidalgo-Morales, M., Robles-Olivera, V., Garcia, H.S. (2005): *Lactobacillus reuteri* β-galactosidase activity and low milk acidification ability. *Can. J. Microbiol.* 51, 261-267.
9. IDF (2007): Selective enumeration of bifidobacteria in dairy products: Development of a standard method. *Bulletin of the IDF*, 411.
10. ISO 20128 (2006): Milk products - Enumeration of presumptive *Lactobacillus acidophilus* on a selective medium.
11. ISO 7889 (2003): Yoghurt - Enumeration of characteristic microorganisms.
12. Kearney, N., Stanton, C., Desmond, C., Coakley, M., Collins, K.J., Gerald Fitzgerald, G., Ross, R.P. (2008): Challenges Associated with the Development of Probiotic-Containing Functional Foods, *Handbook of Fermented Functional Foods*, 2<sup>nd</sup> Edition, Farnworth, E.R., CRC Press Taylor & Francis Group, Boca Raton, 25-70.
13. Lacroix, C., Yildirim, S. (2007): Fermentation technologies for the production of probiotics with high viability and functionality. *Curr. Opin. Biotechnol.* 18 (2), 176-183.
14. Martín-Diana, A., Janer, C., Peláez, C., Requena, T. (2003): Development of a fermented goat's milk containing probiotic bacteria. *Int. Dairy J.* 13, 827-833.
15. Matijević, B. (2004): *Izbor bakterijske kulture za proizvodnju probiotičkog tekućeg fermentiranog mlijeka*, Magistarski rad, Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Zagreb.
16. Matijević, B., Božanić, R., Tratnik, L.J., Jeličić, I. (2008a): Utjecaj koncentrata proteina sirutke na rast i preživljavanje probiotičkih bakterija u sirutki. *Mlječarstvo* 58 (3) 243-255.
17. Matijević, B., Lisak, K., Božanić, R., Tratnik, L.J. (2008b): Utjecaj različitih početnih koncentracija probiotičkih bakterija na fermentaciju slatke sirutke. *Mlječarstvo* 58 (4), 387-401.
18. McComas, K.A., Gilliland, S.E. (2003): Growth of Probiotic and Traditional Yogurt Cultures in Milk Supplemented with Whey Protein Hydrolysate. *J. Food Sci.* 68 (6), 2090-2095.
19. Molder, H.W., Villa-Garcia, L. (1993): The growth of *Bifidobacterium longum* in whey-based medium and viability of this organism in frozen yogurt with low and high levels of developed acidity. *Cultured Dairy Prod.* J. 28, 4-8.
20. Özer, B.H., Kirmaci, H.A. (2010): Functional milks and dairy beverages. *Int. J. Dairy Sci.* 63 (1), 1-15.
21. Prado, F.C., Parada, J.L., Pandey, A., Soccol, C.R. (2008): Trends in non-dairy probiotic beverages. *Food Res. Int.* 41, 111-123.
22. Samardžija, D., Tudor, M., Prtilo, T., Dolenčić-Špehar, I., Zamberlin, Š., Havranek, J. (2009): Probiotičke bakterije u prevenciji i terapiji dijareje. *Mlječarstvo* 59 (1), 28-32.
23. Shah, N.P. (2006a): Health Benefits of Yogurt and Fermented Milks, *Manufacturing Yogurt and Fermented Milks*, Chandan, R.C., Blackwell Publishing, Iowa, 327-340.
24. Shah, N.P. (2006b): Probiotics and Fermented Milks, *Manufacturing Yogurt and Fermented Milks*, Chandan, R.C., Blackwell Publishing, Iowa, 341-354.
25. Šušković, J. (2009): Zašto je uspostavljen koncept funkcionalne prehrane?, *Zbornik radova s drugog stručnog skupa "Funkcionalna hrana u Hrvatskoj"*, Zagreb, 2-15.
26. Tamime, A.Y., Božanić, R., Rogelj, I. (2003): Probiotički fermentirani mliječni proizvodi. *Mlječarstvo* 53 (2), 111-134.
27. Tratnik, L.J. (2003): Uloga sirutke u proizvodnji funkcionalne mliječne hrane. *Mlječarstvo* 53 (4), 325-352.
28. Walstra, P., Wouters, J.T.M., Geurts, T.J. (2006): *Dairy Science and Technology*, 2<sup>nd</sup> ed., Taylor and Francis Group, London.