

## Sirutka - sirovina za proizvodnju starter kultura za pekarstvo

Jasna Mrvčić, Damir Stanzer, Dragana Božić, Vesna Stehlik-Tomas

Izvorni znanstveni rad - Original scientific paper

UDK: 637.344

### **Sažetak**

*U radu je ispitana mogućnost proizvodnje bakterija mliječne kiseline (BMK) prikladnih fizioloških karakteristika za pekarstvo na deproteiniziranoj sirutki te uspoređena s proizvodnjom na modificiranoj MRS podlozi. Istraženi su rast i fermentacijska aktivnost bakterija *Leuconostoc mesenteroides* L-3, *Lactobacillus brevis* L-62 i *Lactobacillus plantarum* L-73. Aktivnost navedenih BMK u fermentacijskim podlogama te kiselom tijestu praćena je mjerenjem količine nastale mliječne i octene kiseline. Iako je postignuta aktivnost BMK na sirutki manja nego na MRS, rezultati su pokazali da se deproteinizirana sirutka može koristiti kao osnovni supstrat u proizvodnji gore navedenih bakterija. Najveći prinos biomase (1,7 g/L) i proizvodnja mliječne kiseline (9,15 mg/mL) ostvareni su s bakterijom *L. plantarum* L-73. Ocjenjivanjem kruha utvrđeno je da su dodatkom startera priređenih na bazi starter-kultura uzgojenih na deproteiniziranoj sirutki poboljšani okus i miris, elastičnost kruha te njegova trajnost u usporedbi s kruhom proizvedenim klasičnim postupkom (uz dodatak monokulture pekarskog kvasca).*

*Ključne riječi: sirutka, *Lactobacillus*, starter-kulture, mliječna kiselina*

### **Uvod**

Sirutka je zbog svog sastava (laktoza, mineralne tvari, vitamini) veoma dobar supstrat za različite biotehnološke procese (uzgoj mikroorganizama za dobivanje mikrobne biomase i proizvodnju mikrobnih metabolita). Bez obzira na to, još uvijek se svega 50% sirutke koristi u prehrambenoj i fermentativnoj industriji, dok se ostatak ispušta u vodotokove bez prethodne obrade. To predstavlja ozbiljan gubitak sirovine i uzrokuje znatne ekološke probleme, s obzirom na visoke KPK (kemijska potrošnja kisika) i BPK<sub>5</sub> (biološka potrošnje kisika) vrijednosti sirutke. U posljednje vrijeme provedena su brojna znanstvena istraživanja u cilju proizvodnje visokovrijednih produkata iz sirutke kao što su mliječna kiselina, etanol te mikrobni proteini (Mrvčić i

sur., 2007.; Mondragon-Parada i sur., 2006.; Stanzer i sur., 2004.; Ghaly i Kamal, 2003.; Grba i sur., 2002.; Ferrari i sur., 2001.; Siso, 1996.). S obzirom da je svjetska proizvodnja sirutke u stalnom porastu, biotehnoška istraživanja usmjerena su ka proizvodnji novih vrijednih proizvoda na bazi sirutke.

Jedno od područja istraživanja je i korištenje sirutke za proizvodnju mikrobnih starter-kultura za primjenu u pekarstvu. Naime, svojim fiziološkim karakteristikama i pravilnim tijekom biokemijskih procesa starter-kulture pospješuju fermentaciju tijesta, odnosno sintezu aromatičnih tvari i prekursora okusa i mirisa. Osim toga, povećala bi se elastičnost tijesta, poboljšala struktura kore kruha, produljila trajnost i smanjilo mrvljenje kruha. Korištenje pekarskog kvasca kao monokulture u proizvodnji kruha i peciva više ne daje željene rezultate s obzirom na kakvoću gotovih proizvoda, pa se primjena pekarskog kvasca, kao monokulture u pekarskoj industriji, sve više napušta. Primjenom mješovitih starter-kultura bakterija mliječne kiseline (BMK) i kvasaca, uz CO<sub>2</sub> i etanol koji gotovom proizvodu daju standardan okus, nastaju mliječna i octena kiselina koje daju poželjnu aromu i kiselost. Isto tako BMK pozitivno djeluju na mehanička svojstva tijesta, nutritivnu vrijednost kruha te odgađaju proces starenja kruha (Šimšek i sur., 2006.).

Ekonomska važnost dužeg održavanja čvrstoće i svježine kruha stavlja ovaj problem u centar znanstvenih istraživanja. Odnos količine glutena i škroba glavni je čimbenik koji utječe na elastičnost kruha tijekom skladištenja. Kiseljenje tijesta pozitivno djeluje na hidrolizu škroba i proizvodnju niskomolekulskih dekstrina koji odgađaju starenje tijesta (Siljeström i sur., 1988.). BMK imaju i vrlo važnu ulogu u povećanju nutritivne vrijednosti kruha. Poznato je da neke sirovine za proizvodnju pekarskih proizvoda sadrže 60 - 80 % fosfora u obliku fitinske kiseline. Fosfor u obliku fitata je biološki neraspoloživ. S druge strane, fitinska kiselina veže i druge minerale, prije svega Zn, Mg i Fe, čime se smanjuje njihova biološka raspoloživost organizmu. Znanstvena istraživanja su pokazala da mliječno-kisela fermentacija kukuruznog te ječmenog brašna smanjuje količinu fitinske kiseline (45 - 70 %) te povećava biološku raspoloživost minerala (Skrede i sur., 2002.). S obzirom na sve brojnije studije koje ukazuju na pozitivno djelovanje minerala na imunost, zdravlje i rast te neizostavnu ulogu minerala u obrani stanica od oksidativnog stresa (Calder i Kew, 2002.), daje se prednost konzumiranju fermentiranih žitarica u odnosu na proizvode dobivene primjenom pekarskog kvasca kao monokulture.

S obzirom da se u Republici Hrvatskoj veoma malo koriste starter-kulture BMK za proizvodnju kruha, a istovremeno problem sirutke, zbog sve strožih propisa postaje sve veći, u ovom radu su za pripremu startera odabrane podloge na bazi sirutke i sojevi bakterija: *Leuconostoc mesenteroides*, *Lactobacillus brevis* i *Lactobacillus plantarum*.

### **Materijali i metode**

#### **Mikroorganizmi**

U radu su korištene heterofermentativne bakterije *Leuconostoc mesenteroides* L-3 i *L. brevis* L-62 te homofermentativna bakterija *L. plantarum* L-73, iz zbirke mikroorganizama Laboratorija za tehnologiju vrenja i kvasaca Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta u Zagrebu.

#### **Hranjive podloge**

Bakterijske kulture uzgajane su na dvije vrste podloga: modificiranoj MRS podlozi (De Man i sur., 1960.), u kojoj je osnovni šećer glukoza zamijenjen istom količinom maltoze te na podlozi na bazi sirutke (suha sirutka razrijeđena je s demineraliziranom vodom i toplinski deproteinizirana). Podloga na bazi sirutke je sadržavala: laktoza - 20 g/L, kvašćev ekstrakt (Kv) - 10 g/L te  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  (DAS) - 2 g/L. Podlozi na bazi sirutke za uzgoj bakterije *L. plantarum* L-73 dodavani su još  $\text{MnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (0,05 g/L) i  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (0,1 g/L), jer su rezultati pereliminarnih istraživanja pokazali da Mn i Mg dodani u navedenim koncentracijama potpomažu rast bakterije *L. plantarum* L-73.

#### **Postupci kultivacije**

Bakterijske kulture čuvane su na modificiranoj MRS podlozi uz dodatak agara u hladnjaku na temperaturi +4 °C.

S kosog agara, kulture bakterija precijepljene su u epruvete koje su sadržavale po 10 mL tekuće sterilne modificirane MRS podloge. Inkubacija je provedena u termostatskoj komori pri 32 °C. Uzgoj biomase bakterija proveden je u MRS podlogama i u podlogama na bazi sirutke u Erlemeyerovim tikvicama od 300 mL (150 mL podloge). Tikvice su tresene u laboratorijskoj tresilici tipa Certomat (Braun) kroz 18 sati pri temperaturi od 32 °C. Nakon uzgoja, biomase su odcentrifugirane uz pomoć centrifuge

Hettich EBA 3S i korištene za pripravu startera. Tablica 1 prikazuje starter-kulture i podlogu koja je korištena za pripremu startera.

Tablica 1: Starteri priređeni kultivacijom BMK u smjesi brašna i vode (1:1)

Table 1: Starters produced by cultivation of LAB in the flour and water mixture (1:1)

Starter Starter	Mikroorganizmi Microorganisms	Postupak Procedure
A - biomasa uzgojena na modificiranoj MRS podlozi A - biomass produced in modified MRS medium	<i>L. mesenteroides</i> L-3 <i>L. brevis</i> L-62	100 g brašna T-500 100 g vode, biomasa dobivena centrifugiranjem 150 mL podloge (modificirane MRS) fermentacija 18 sati, 32 °C 100 g flour T-500 100 g water biomass from 150 mL of modified MRS medium (after centrifugation) 18 hours of fermentation at 32°C
B - biomasa uzgojena na sirutki B - biomass produced in whey medium	<i>L. mesenteroides</i> L-3, <i>L. brevis</i> L-62 <i>L. plantarum</i> L-73	100 g brašna T-500 100 g vode biomasa dobivena centrifugiranjem 150 mL podloge (sirutka) fermentacija 18 sati na temperaturi 32 °C 100 g flour T-500 100 g water biomass from 150 mL of whey medium (after centrifugation) 18 hours of fermentation at 32 °C
C - biomasa uzgojena na sirutki C - biomass produced in whey medium	<i>L. mesenteroides</i> L-3, <i>L. brevis</i> L-62,	100 g brašna T-500 100 g vode biomasa dobivena centrifugiranjem 150 mL podloge (sirutka) fermentacija 18 sati na temperaturi 32 °C 100 g flour 100 g water biomass from 150 mL of whey medium (after centrifugation) 18 hours of fermentation at 32 °C

Nakon provedenih fermentacija (18 sati pri 32 °C) proizvedeni starteri su osušeni na zraku i korišteni u proizvodnji kruha.

Različite količine osušenih startera (10, 20 i 30 g) korištene su za pripremu predfermenta (kiselog tijesta). Za pripremu startera, predfermenta i sva pokusna pečenja kruha korišteno je brašno T - 500, proizvođač «MLIN» Velika Kopanica. Postupci proizvodnje predfermenta dati su u tablici 2.

Tablica 2: Priprema kiselog tijesta (predfermenta)

Table 2: Sourdough (pre-ferment) preparation

Stupanj Phase	Postupci Procedures		
1	10 g suhog startera 500 g brašna T-500 700 g vode fermentacija 16 sati na temperaturi 30 °C 10 g dry starter 500 g flour T-500 700 g water 16 hours of fermentation at 30 °C	20 g suhog startera 500 g brašna T-500 700 g vode fermentacija 16 sati na temperaturi 30 °C 20 g dry starter 500 g flour T-500 700 g water 16 hours of fermentation at 30 °C	30 g suhog startera 500 g brašna T-500 700 g vode fermentacija 16 sati na temperaturi 30 °C 30 g dry starter 500 g flour T-500 700 g water 16 hours of fermentation at 30 °C
2	1 210 g svježeg predfermenta 2 300 g brašna T-500 1 400 g vode fermentacija 16 sati na temperaturi 30 °C 1210 g fresh sourdough 2300 g flour T-500 1400 g water 16 hours of fermentation at 30 °C		

Nakon pripreme predfermenta pristupilo se izradi završnog tijesta za probno pečenje kruha. Probno pečenje kruha izvršeno je u industrijskom mjerilu. Za svaku odvagu suhog startera (10 g, 20 g i 30 g) u pripremi završnog tijesta dodavani su različiti udjeli kiselog tijesta u zamjesu (5 %, 10 % i 15 %). Tablica 3 prikazuje recepturu tijesta za pokusno pečenje kruha.

Tablica 3: Receptura tijesta za pokusno pečenje kruha

Table 3: Recipe for experimentally baked bread dough

Sastav (kg) Ingredients (kg)	Zamjesi Bread dough			
	Standard	5 %	10 %	15 %
Brašno/Flour	10,00	10,00	10,00	10,00
Kvasac/Yeast	0,18	0,16	0,16	0,16
Sol/Salt	0,20	0,20	0,20	0,20
Voda/Water	5,40	5,40	5,40	5,40
Kiselo tijesto Sourdough	0,00	0,50	1,00	1,50
Tigris/Tigris	0,03	0,015	0,015	0,015
Pekol/Pekol	0,03	0,015	0,015	0,015

Fiziološka aktivnost BMK u tekućoj MRS podlozi i podlozi na bazi sirutke te u starteru, kiselom tijestu i završnom zamjesu praćena je određivanjem mliječne i octene kiseline s pomoću HPLC-a (Lefebvre i sur., 2002.).

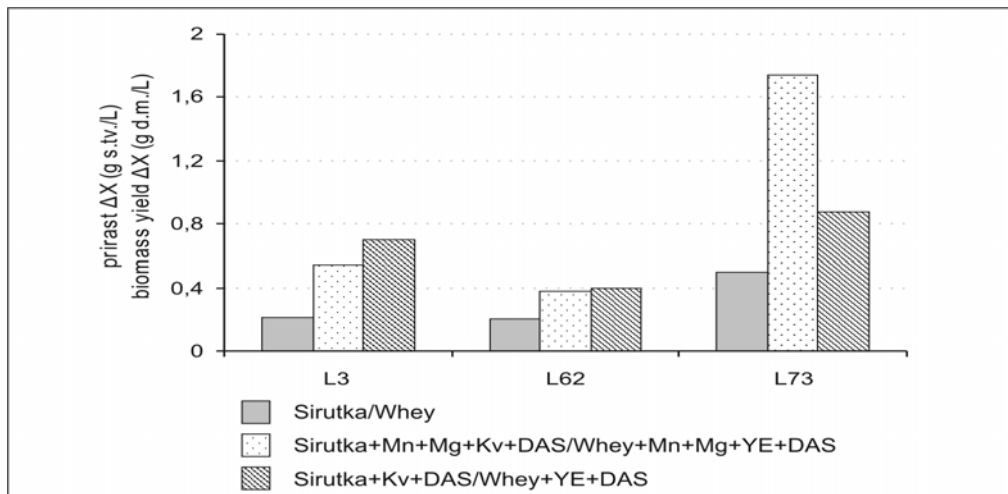
U ocjenjivanju senzorskih svojstava bijelog kruha, proizvedenog sa starterima u industrijskoj pekarnici, sudjelovalo je osam ocjenjivača. Ocjenjivanje kakvoće kruha obavljeno je prema normativima DLG (Deutsche Landwirtschafts Gesellschaft) sheme ocjenjivanja, a ocjenjivana su senzorska svojstava standardnog bijelog kruha te kruha pripremljenog korištenjem startera A, B i C, u količini 30 g suhog startera i 10 % kiselog tijesta dodanog u završni zamjes. Parametri proizvoda koji se ocjenjuju DLG metodom su: oblik i izgled, kora i vanjska površina, izgled sredine i poroznost, elastičnost, struktura sredine te miris i okus.

### **Rezultati i rasprava**

Bakterije *L. brevis*, *L. plantarum* i *L. mesenteroides* za rast zahtijevaju raznovrsne izvore hranjivih tvari kao što su aminokiseline, peptidi, derivati nukleinskih kiselina, vitamini, soli i masne kiseline. Kompleksna MRS podloga zadovoljava većinu navedenih zahtjeva za uzgoj BMK. Međutim, ta podloga je skupa i nema ekonomsku opravdanost za proizvodnju starter-kultura za pekarstvo. Zbog tog važnog kriterija (ekonomičnost, odnosno cijena koštanja), važan je odabir podloge prikladne za uzgoj fiziološki aktivnih starter-kultura koje u fermentaciji tijesta utječu na snižavanje pH-vrijednosti proizvodnjom mliječne kiseline i hlapivih kiselina. Sirutka je odabrana za

umnožavanje bakterija jer je jeftina, a po sastavu kompleksna (bogata) podloga.

Dodatak tvari za stimulaciju rasta bakterija u osnovnu podlogu ubrzava rast bakterija i često omogućava dobre puferske karakteristike, što nakon uzgoja omogućuje održavanje starter-kultura dulje vrijeme u aktivnom fiziološkom stanju. Slabi prirast biomasa postignut u podlozi koja je sadržavala samo sirutku (slika 1) ukazuje na to da se osnovna podloga mora obogatiti dodatkom stimulatora rasta. Ovim rezultatima potvrđeni su navodi Hough i suradnika (1971.), koji tvrde da je za dobar rast roda *Lactobacillus* potrebna prisutnost kationa  $Mg^{+2}$ ,  $Mn^{+2}$  i anorganskog izvora sulfata. Mangan i magnezij su posebno pospješili rast bakterije *L. plantarum* L-73. Naime, poznato je da bakterija *L. plantarum* s pomoću specifične P-ATPase (MntA) akumulira visoke unutarstanične količine mangana u cilju zaštite stanice od djelovanja toksičnih kisikovih radikala, posebno  $O_2^-$ , što omogućuje stanici da preživi oksidativni stres (Groot i sur., 2005.). Ovi rezultati također potvrđuju tezu da dodatak izvora dušika i tvari rasta u obliku kvašćevog ekstrakta i amonijevih soli neophodan za uzgoj BMK na sirutci (Panesar i sur., 2007., Mondragon-Parada i sur., 2006.). Iz slike 1 se vidi da dodatak navedenih tvari znatno pospješuje brzinu rasta BMK.



Slika 1: Prirast bakterija *L. mesenteroides* L-3, *L. brevis* L-62 i *L. plantarum* L-73 na sirutci i uz dodatak izvora dušika i faktora rasta

Figure 1: Biomass yield of *L. mesenteroides* L-3, *L. brevis* L-62 i *L. plantarum* L-73 on whey without and with addition of nitrogen source and growth factors in media

Mliječna kiselina je glavni proizvod metabolizma homofermentativnih BMK. Ostale međuprodukte, koji utječu na svojstvenu aromu fermentiranih namirnica, ove bakterije proizvode u vrlo malim količinama. S druge strane, heterofermentativne BMK razgrađuju glukozu do mliječne kiseline (oko 50 %), a uz nju proizvode hlapive kiseline, uglavnom octenu, zatim nehlapive kiseline, karbonilne spojeve, etanol i CO<sub>2</sub>. Kako su glavni produkti metabolizma BMK mliječna i octena kiselina, tijekom fermentacije praćeno je nastajanje tih produkata. Prirast BMK te proizvodnja metabolita nakon 18 h uzgoja u modificiranoj MRS podlozi te podlozi na bazi sirutke, u semiaerobnim uvjetima, prikazani su tablicom 4.

Tablica 4: Prirast BMK te proizvodnja metabolita nakon 18 sati fermentacije

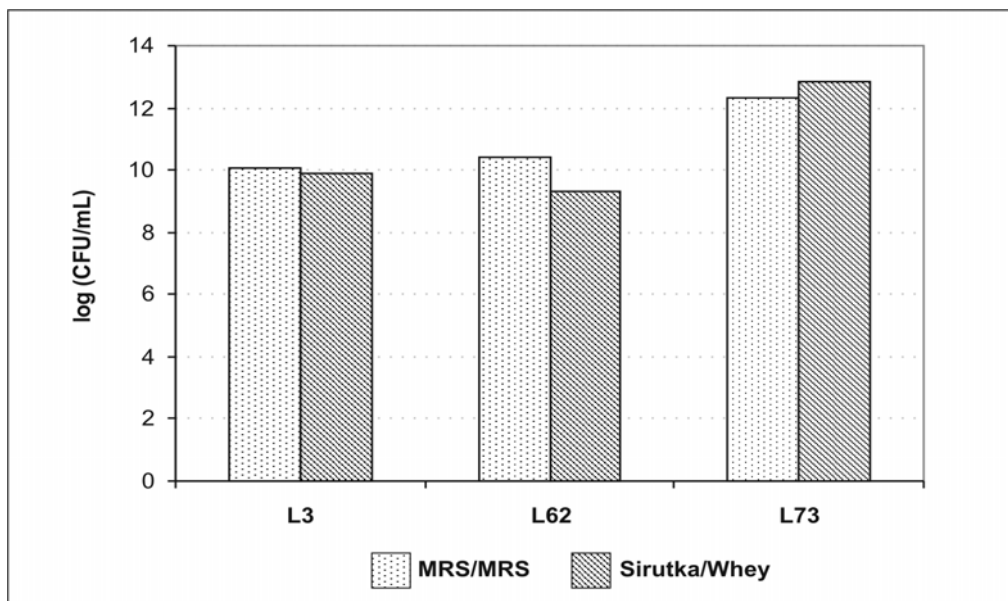
Table 4: LAB yield and metabolite production after 18 hours of fermentation

Mikroorganizam Microorganism	Parametri kultivacije BMK LAB cultivation parameters	Podloga / Medium	
		MRS	Podloga na bazi sirutke Whey-based medium
<i>L. mesenteroides</i> L-3	Prirast / Yield - ΔX (g/L)	2	0,6
	Mliječna kiselina (mg/mL) Lactic acid (mg/mL)	11,1	2,1
	Octena kiselina (mg/mL) Acetic acid (mg/mL)	5,1	1,06
<i>L. brevis</i> L-62	Prirast / Yield - ΔX (g/L)	3,5	0,35
	Mliječna kiselina (mg/mL) Lactic acid (mg/mL)	10,6	0,81
	Octena kiselina Acetic acid (mg/mL)	5,5	0,31
<i>L. plantarum</i> L-73	Prirast / Yield - ΔX (g/L)	4,4	1,7
	Mliječna kiselina (mg/mL) Lactic acid (mg/mL)	21,18	9,15
	Octena kiselina Acetic acid (mg/mL)	-	-

Iz prikazanih rezultata može se vidjeti da se bakterijska vrsta *Lactobacillus brevis* L-62 pokazala kao najnepogodnija za proizvodnju organskih kiselina na podlozi na bazi sirutke. Naime, BMK disaharid laktozu cijepaju s pomoću enzima β-galaktozidaze na glukozu i galaktozu. *L. brevis* može fermentirati glukozu i galaktozu, međutim preferira maltozu i stoga se sirutka pokazala kao nepogodan supstrat za uzgoj ove bakterijske vrste. Bakterije *L. mesenteroides* L-3 i *L. plantarum* L-73 pokazale su manju, ali



relativno zadovoljavajuću fiziološku aktivnost prilikom uzgoja na podlozi na bazi sirutke u usporedbi s uzgojem na MRS podlozi. Međutim, rezultati prikazani slikom 2 pokazuju da nije bilo značajne razlike u broju živih stanica nakon uzgoja BMK na navedenim podlogama.



Slika 2: Broj stanica *L. mesenteroides* L-3, *L. brevis* L-62 i *L. plantarum* L-73, nakon 18 h uzgoja na MRS podlozi i podlozi na bazi sirutke, u semiaerobnim uvjetima

Figure 2: *L. mesenteroides* L-3, *L. brevis* L-62 i *L. plantarum* L-73 cell number, after 18 hours in modified MRS medium and whey media, in semiaerobic conditions

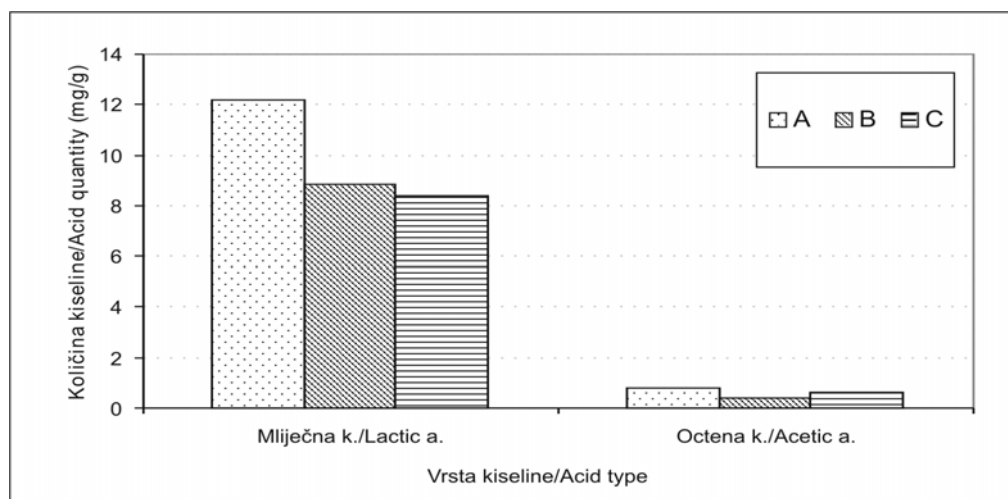
Može se zaključiti da se BMK u uvjetima gladovanja razmnožavaju, ali proizvode znatno manju količinu metabolita. Ovi rezultati potvrđeni su uzgojem bakterije *Lactobacillus brevis* L-62 u minimalnom mediju koji je sadržavao niske koncentracije glukoze i kazeina (Filipčić, 2007.).

Bakterijska biomasa je nakon uzgoja odcentrifugirana i korištena za proizvodnju suhих startera (tablica 1). Aktivnost BMK uzgojenih na modificiranoj MRS podlozi i podlozi na bazi sirutke u brašnu prikazana je tablicom 5 i slikom 3.

Tablica 5: Proizvodnja metabolita nakon 18 h fermentacije BMK na modificiranoj MRS podlozi te podlogama na bazi sirutke u smjesi brašna i vode (1:1)

Table 5: Metabolite production after 18 hours of fermentation by LAB in modified MRS medium and whey media in flour and water mixture (1:1)

Starter	Mliječna kiselina / Lactic acid (mg/g)	Octena kiselina / Acetic acid (mg/g)	log (CFU/g)
A	16,17	0,91	10,11
B	11,30	0,25	9,58
C	8,20	0,43	9,38



Slika 3: Proizvodnja metabolita nakon 32 h fermentacije BMK na modificiranoj MRS podlozi te podlogama na bazi sirutke u kiselom tijestu (predfermentu) pripremljenom s 30 g suhog startera

Figure 3: Metabolite production after 32 hours of fermentation by LAB in modified MRS medium and whey media in sourdough (preferment) prepared with 30 g of dry starter

Najbolja metabolička aktivnost, kako u pripremi startera, tako i u pripremi kiselog tijesta, postignuta je primjenom startera A. Međutim, starteri B i C pokazali su također zadovoljavajuću metaboličku aktivnost prilikom fermentacije u brašnu s obzirom da je maltoza najzastupljeniji fermentabilni šećer u brašnu.

Pripremljena kisela tijesta korištena su za probna pečenja kruha u industrijskom mjerilu. Preliminarni rezultati dobiveni primjenom startera A pokazali su da je najmanji kvalitetni broj 4,05 dobio standard tj. kruh proizveden bez dodatka predfermenta te kruh proizveden s 10 g suhog startera i 5 % predfermenta dodanog u završni zamjes.

Tablica 6: Ocjenjivanje senzorskih svojstava standardnog bijelog kruha te kruha pripremljenog korištenjem startera A, B i C

Table 6: Sensory evaluation of standard white bread and bread prepared by using starters A, B and C

Starter	Kvalitetni broj / Quality number
Standard	4,05
A	4,70
B	4,275
C	4,75

Kruhovi s dodatkom 15 % kiselog tijesta su sporije fermentirali, jer su imali preveliku kiselost koja je usporavala rad kvasca, a kruh najbolje kvalitete postignut je primjenom kiselog tijesta pripremljenog uz dodatak 30 g suhog startera i uz dodatak 10 % kiselog tijesta u završni zamjes (tablica 6). Rezultati prikazani tablicom 6 pokazuju da u tom slučaju nema razlike u kvaliteti kruha dobivenog primjenom startera A i C, dok je primjenom startera B dobiven kruh nešto lošijeg kvalitetnog broja. Naime, u starteru B najveći je početni broj homofermentativnih bakterija *L. plantarum* L-73 (slika 2), što na kraju rezultira manjom koncentracijom octene kiseline (slika 3, tablica 5) te ostalih međuprodukata u kiselom tijestu koji su odgovorni za svojstvenu aromu kruha proizvedenog uz dodatak kiselog tijesta, što je u suglasju sa rezultatima Rehmana i suradnika (2006.). Prisustvo bakterije *L. plantarum* L-73 moglo je negativno utjecati i na metabolizam kvasca u završnom zamjesu. U literaturi se izvori ugljika u brašnu navode kao ključni čimbenik stabilnosti međudjelovanja kvasaca i BMK (Gobbetti, 1998.). Maltoza je najzastupljeniji fermentabilni šećer u brašnu. Bakterije *L. mesenteroides* L-3 i *L. brevis* L-62 posjeduju enzim maltoza fosforilazu i stoga preferiraju korištenje maltoze, dok su ostali fermentabilni šećeri dostupni metabolizmu kvasca, a *L. plantarum* L-73 preferira korištenje glukoze. Bitne promjene u sastavu šećera događaju se i tijekom same fermentacije djelovanjem enzima brašna kao i djelovanjem enzima mikrobnog metabolizma. Navedene promjene u sastavu topivih šećera u tijestu važne su s obzirom da je poznato da šećeri zaostali u

tijestu nakon mikrobnih procesa utječu na senzorske (organoleptičke) karakteristike kruha. Prema DLG shemi ocjenjivanja najveći značaj u ocjenjivanju dat je parametrima mirisa i okusa. Stoga je posebno važno prisustvo heterofermentativnih bakterija roda *Leuconostoc* u starteru s obzirom da one imaju sposobnost razgradnje citrata do različitih tvari arome koje fermentiranim namirnicama daju svojstveni okus, miris i aromu (Cogan i Hill, 1993.).

### **Zaključak**

Ostvareni rezultati pokazuju da sirutka, kao alternativna sirovina za biotehnološke procese, može biti korištena za proizvodnju BMK u cilju njihove primjene u starterima za pekarstvo. Za dobru metaboličku aktivnost bakterija *L. mesenteroides* L-3, *L. brevis* L-62 i *L. plantarum* L-73 na sirutci potreban je dodatak kvašćevog ekstrakta i  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ . Primjenom kiselog tijesta proizvedenog s pomoću ispitanih startera dobiven je, prema ocjeni ispitivača, kvalitetniji bijeli kruh, dok je kruh proizveden bez dodatka kiselog tijesta postigao manji kvalitetni broj. Priprema kiselog tijesta i probna pečenja kruha izvršeni su u industrijskom mjerilu, što pokazuje da su korišteni starteri pogodni za industrijsku primjenu za poboljšanje kvalitete bijelog kruha. Najveći kvalitetni broj dobio je kruh proizveden uz pomoć startera koji su sadržavali heterotrofne bakterije *L. mesenteroides* L-3 i *L. brevis* L-62, dok je starter kojemu je pridružena homofermentativna bakterija *L. plantarum* L-73 postigao manji kvalitetni broj. Zbog skorog uključanja Republike Hrvatske u jedinstveno tržište Europske Unije, uspješna i konkurentna pekarska industrija mora odgovoriti na zahtjeve tog tržišta za visokokvalitetnim pekarskim proizvodima, što svakako podrazumijeva korištenje mješovitih kultura bakterija i kvasaca u fermentaciji tijesta.

## **WHEY - RAW MATERIAL FOR THE PRODUCTION OF BAKER STARTER-CULTURES**

### **Summary**

*The possibility of production Lactic acid bacteria (LAB), which are suitable for breadmaking on whey was researched and compared to the results achieved in modified MRS medium. The growth and fermentation activities of Leuconostoc meseteroides L-3, Lactobacillus brevis L-62 and Lactobacillus*

*plantarum L-73 were examined by monitoring lactic and acetic acid production in fermentation broth and in sourdough. Presented results show that deproteinized whey is suitable for LAB production. The best biomass yield (1,7 g/L) and lactic acid production (9,15 mg/mL) was achieved with L. plantarum L-73. Better flavour, elasticity and shelf life of bread made with whey-based starters compared to the classical yeast-monoculture based bread were determined by sensory analysis (DLG method).*

*Key words: whey, Lactobacillus, starter, lactic acid*

### **Literatura**

- CALDER, P.C., KEW, S. (2002): The immune system: a target for functional foods? *Br. J. Nutr.* 88(2), 165-176.
- COGAN, T.M., HILL, C. (1993): Cheese Starter cultures, in(u): Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology, 1, ured. P.F. Fox, Chapman and Hall, London.
- DE MAN, J.C., ROGOSA, M., SHARPE, M.E. (1960): A medium for the cultivation of *Lactobacilli*. *Journal Applied Bacteriology* 23, 130-135.
- FERRARI, M.D., BIANCO, R., FROCHE, C., LOPERENA, M.L. (2001): Baker's yeast production from molasses/cheese whey mixtures. *Biotechnology Letters* 23(1), 1-4.
- FILIPČIĆ, M. (2007): Fenotip umjerene prednosti rasta enterobakterija nad *Lactobacillus brevis* L-62 u mješovitim kulturama tijekom produljene stacionarne faze, Diplomski rad, Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Zagreb
- GHALY, A.E., KAMAL, M.A. (2004): Submerged yeast fermentation of acid cheese whey for protein production and pollution potential reduction. *Water Res.* 38, 631-644.
- GOBBETTI, M., DE ANGELIS, M., CORSETTI, A., DI CAGNO, R. (2005): Biochemistry and physiology of sourdough lactic acid bacteria. *Trends in Food Sci. Technol.* 16, 57-69.
- GOBBETTI, M. (1998): The sourdough microflora: Interactions acid bacteria and yeasts. *Trends in Food Sci. Technol.* 9, 267-274.
- GRBA, S., STEHLIK-TOMAS, V., STANZER, D., VAHČIĆ, N., ŠKRLIN, A. (2002): Selection of Yeast Strain *Kluyveromyces marxianus* for Alcohol and Biomass Production on Whey. *Chem. Biochem. Eng. Q.* 16(1), 13-16.
- GROOT, M.N.N., KLAASSENS, E., DE VOS, W.M., DELCOUR, J., HOLS, P., KLEEREBEZEM, M. (2005): Genome-based in silico detection of putative manganese transport systems in *Lactobacillus plantarum* and their genetic analysis. *Microbiology* 151: 1229-1238
- GUL, H., OZCELIK, S., SAGDIC, O., CERTEL, M. (2005): Sourdough bread production with lactobacilli and *S. cerevisiae* isolated from sourdoughs. *Process Biochemistry* 40, 691-697.

HUGH, J. S., BRIGGS, D. E., STEVEN, R. (1971): Malting and brewing science. Izd: Chapman and Hall, London.

LEFEBVRE, D., GABRIEL, V., VAYSSIER, Y., FONTAGNE-FAUCHER, C. (2002): Simultaneous HPLC Determination of Sugars, Organic Acid and Ethanol in Sourdough Process. *Lebensm. Wiss. Technol.* 35, 407 - 414.

MRVCIC, J., STEHLIK-TOMAS, V., GRBA, S. (2007): Incorporation of copper ions by yeast *Kluyveromyces marxianus* during cultivation on whey. *Acta Alimentaria* 36 (4), 519-525.

MONDRAGON-PARADA, M.E., NAJERA-MARTINEZ, M., JUAREZ-RAMIREZ, C., GALINDEZ-MAYER, J., RUIZ-ORDAZ, N., CRISTIANI-URBINA, E. (2006): Lactic Acid Bacteria Production From Whey. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 134 (3), 223-232.

PANESAR, P.S., KENNEDY, J.F., KNILL, C.J., KOSSEVA, M. (2007): Applicability of pectate entrapped *Lactobacillus casei* cells for l(+) lactic acid production from whey, *Applied Microbiology and Biotechnology* 74, 35–42.

REHMAN, S., PETERSON, A., PIGGOTT, J.R. (2006): Flavour in sourdough breads: a review. *Trends in Food Science & Technology* 17(10), 557-566.

SILJESTRÖM, M., BJÖRCK, I., ELIASSON, A. C., LÖNNER, C., NYMAN, M., ASP, N. G. (1988): Effect of polysaccharides during baking and storage of bread - *In vitro* and *in vivo* studies. *Cereal Chem.* 65, 1-8.

ŞİMŞEK, Ö., ÇON, A.H., TULUMOĞLU, S. (2006): Isolating lactic starter cultures with antimicrobial activity for sourdough processes. *Food Control.* 17, 263-279.

SISO, M.I.G. (1996): The biotechnological utilization of cheese whey - a review. *Bioresource Technol.* 57, 1-11.

SKREDE, G., STOREBAKKEN, T., SKREDE, A., SAHLSTRØM, M., SØRENSEN, K. D. (2002): Lactic acid fermentation of wheat and barley whole meal flours improves digestibility of nutrients and energy in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) diets. *Aquaculture* 210: 305-321.

STANZER, D., GRBA, S., STEHLIK-TOMAS, V., MRVČIĆ, J. (2004): Utjecaj dodatka melase na kinetiku alkoholne fermentacije sirutke s pomoću kvasca *Kluyveromyces marxianus*. *Mljekarstvo* 54 (1), 27-38.

**Adresa autora - Author's address:**

Mr. sc. Jasna Mrvčić

Mr. sc. Damir Stanzer

Dragana Božić, dipl. ing.

Prof. dr. sc. Vesna Stehlik-Tomas

Laboratorij za tehnologiju vrenja i kvasca

Prehrambeno-biotehnološki fakultet

Pierottijeva 6, Zagreb

E-mail: jmrvcic@pbf.hr

**Prispjelo - Received:** 30.01.2008.

**Prihvaćeno - Accepted:** 11.04.2008.