

Utjecaj koncentrata proteina sirutke na rast i preživljavanje probiotičkih bakterija u sirutki

Bojan Matijević, Rajka Božanić, Ljubica Tratnik, Irena Jeličić

Izvorni znanstveni rad - Original scientific paper

UDK: 637.344

Sažetak

U radu je istražen utjecaj dodatka koncentrata proteina sirutke (KPS) na rast i aktivnost probiotičkih sojeva *Lactobacillus acidophilus* La-5 i *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 u slatkoj rekonstituiranoj sirutki te na njihovo preživljavanje tijekom 28 dana hladnog čuvanja (4 °C) fermentirane sirutke. Praćena je fermentacija sirutke pri 37 °C bez i sa dodatkom 1,5 i 3% KPS. Fermentacija sirutke s *Lactobacillus acidophilus* La-5, kojoj je dodano 3% KPS, bila je oko 1 sat kraća (~ 14 sati) u odnosu na fermentaciju sirutke bez dodatka KPS (~ 15 sati). Porast broja živih bakterijskih stanica *Lactobacillus acidophilus* La-5 u sirutki s 3% KPS bio je bolji ($\Delta \log \text{CFU/mL} = 2,1$) u odnosu na sirutku bez KPS ($\Delta \log \text{CFU/mL} = 1,7$). Dodatak koncentrata proteina sirutke nije značajno utjecao na rast probiotičkog soja *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 u sirutki, kao ni na preživljavanje oba probiotička soja tijekom 28 dana hladnog čuvanja (pri 4 °C). Sirutka obogaćena s KPS imala je nešto veću titracijsku kiselost tijekom fermentacije i čuvanja u odnosu na sirutku bez dodatka KPS.

Ključne riječi: koncentrat proteina sirutke, fermentacija, sirutka, probiotičke bakterije

Uvod

Sirutka je sporedni proizvod u proizvodnji sira ili kazeina koja sadrži oko 50% suhe tvari mlijeka. Količina suhe tvari sirutke je između 5,5 i 7,5%, što ovisi o kakvoći mlijeka i tehnologiji proizvodnje primarnog mliječnog proizvoda (Popović-Vranješ i Vujičić, 1997.). Najzastupljeniji sastojak sirutke je laktoza, nakon kojeg slijede proteini sirutke, mineralne tvari i mliječna mast (Tratnik, 1998.). Sirutkine proteine čine β -laktoglobulini i α -laktalbumini, proteoze - peptoni (koji djelomično potječu i od hidrolize

β -kazeina), te imunoglobulini i albumin krvnog seruma kao i manji proteini poput laktoperoksidaze, lizozima, glikoproteina, krvnog transferina i laktoferina (Damodoran, 1997.). Biološka vrijednost proteina sirutke veća je od proteina mlijeka, a tome pridonosi i visoki sadržaj lizina (40% više u sirutki nego u mlijeku) i tioaminokiselina (2,5 puta više u sirutki). Visoka biološka vrijednost proteina sirutke pridonosi njihovoj upotrebi u proizvodnji hrane za dojenčad, te za povećanje nutritivne vrijednosti brojnih mliječnih kao i drugih prehrambenih proizvoda. Osim toga, imunoglobulini i nespecifični imunoaktivni sastojci sirutkinih proteina s antimikrobnim svojstvima, kao: laktoferin, lizozim, laktoperoksidaza, proteini koji vežu vitamin B₁₂ i folate, te bifidus faktori - vrlo su bitan «imunoaktivni sustav» koji štiti ljudski organizam čineći ga otpornijim (Herceg i Režek, 2006.).

Složeni kemijski sastav sirutke čini je dobrom hranjivom podlogom za rast mnogih bakterijskih vrsta, ali i sirovinom za pripremu probiotičkih fermentiranih napitaka. Definicija probiotika prema Havenar i Huis in't Veld (1992.) i Šušković (1996.) glasi: «Probiotik je jedna ili više kultura živih stanica mikroorganizama koje, primijenjene u životinja ili ljudi, djeluju korisno na domaćina, poboljšavajući svojstva autohtone mikroflore». Posljednjih nekoliko godina u proizvodnji fermentiranih mlijeka sve više se koriste probiotičke bakterije, koje pripadaju skupini bakterija mliječne kiseline i/ili bifidobakterijama (Jay, 2000.; Gilliland, 2001.; Reid i sur., 2003.; Haller, 2005.; Tamime i sur., 2005.). Istraživanja pokazuju da proteini sirutke stimuliraju rast određenih bakterija mliječne kiseline i bifidobakterija, što je posebno važno u primjeni probiotičkih kultura, koje se teže adaptiraju i sporije rastu u mlijeku (Tratnik, 2003.; Janer i sur., 2004.; Antunes i sur., 2005.) Relativno jeftin i lako dostupan izvor proteina sirutke ($\geq 60\%$ u suhoj tvari) je komercijalni koncentrat proteina sirutke (KPS) dobiven postupkom ultrafiltracije ili dijafiltracije (Herceg i Režek, 2006.; Walstra i sur., 2006.). Postoji veliki broj radova o utjecaju KPS na kvalitativna svojstva jogurta (teksturu, rast, aktivnost i preživljavanje probiotičkih bakterija), dok je broj podataka za kvalitetu fermentiranih napitaka na bazi sirutke još uvijek zanemariv. Stoga je svrha ovog rada bila istražiti utjecaj dodatka KPS u sirutku na rast, aktivnost i preživljavanje probiotičkih sojeva bakterija *Lactobacillus acidophilus* La-5 i *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12.

Materijali i metode rada

Priprava rekonstituirane sirutke

Rekonstituirana sirutka pripremljena je otapanjem komercijalne sirutke u prahu (Zdenka d.d., Veliki Zdenci) u vodi do sadržaja suhe tvari do 6 %. Kemijski sastav sirutke bio je sljedeći: laktoza 73 - 75%; proteini 11 - 14%; pepeo 7 - 10%; mliječna mast u suhoj tvari (do 1%) i voda (do 6%).

Koncentrat proteina sirutke (KPS)

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

Probiotička kultura

Korištene su DVS monokulture, *Lactobacillus acidophilus* La-5 i *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 (Chr. Hansen, Danska). Inokulum je priređen tako da je u 100 mL pasterizirane sirutke, ohlađene na 37 °C otopljen 1 g mikrobne kulture uz vrijeme aktivacije od 30 minuta.

Uzorci fermentirane sirutke

Za procjenu rasta i preživljavanja probiotičkih sojeva *Lactobacillus acidophilus* La-5 i *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 pripremljena su tri uzorka rekonstituirane sirutke. U prvi uzorak nije dodan KPS (kontrolna skupina), drugi uzorak pripremljen je uz dodatak 1,5, a teći uz dodatak 3% KPS (pokusne skupine). Potom su uzorci pripremljene sirutke pasterizirani na temperaturi od 73 °C/15 s, zatim ohlađeni na temperaturu od 37 °C te inokulirani s 2,5% (v/v) probiotičke monokulture. Fermentacija svih uzoraka vođena je do približno pH 4,6.

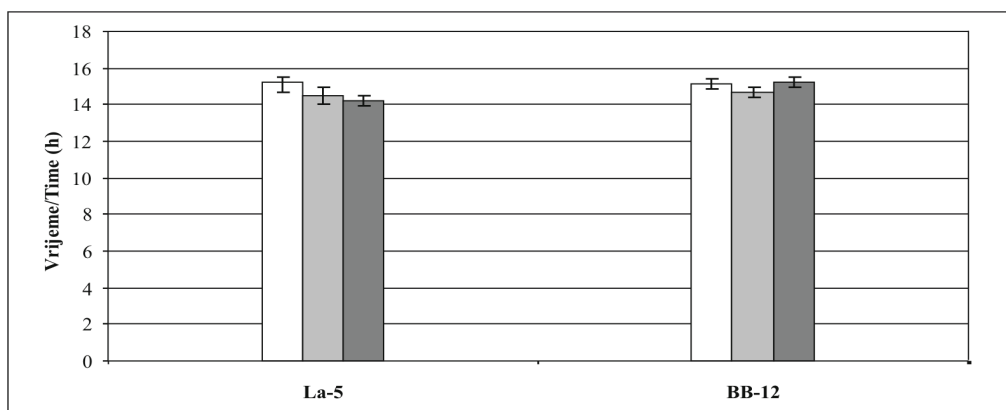
Kemijske i mikrobiološke analize

Kiselost uzoraka sirutke analizirana je kao aktivna i titracijska kiselost. Aktivna kiselost određena je potenciometrijski (pH metar; «Knick» tip 647-1), a titracijska kiselost (°SH) metodom po Soxhlet Henkelu (Sabadoš, 1996.; Sabadoš, 1996.b).

Broj živih bakterijskih stanica (CFU/mL) određen je standardnom metodom na MRS agaru (Biolife, Milano, Italija) nakon tri dana inkubacije na 37 °C. Za *Lactobacillus acidophilus* La-5 inkubacija je provedena u mikroaerofilnim uvjetima koji su postignuti prelijevanjem inokuliranog MRS agara dodatnim slojem MRS (International Dairy Federation, 1995.). *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 je inkubiran u anaerobnim uvjetima koji su postignuti u anaerobnim loncima s anaerogenom (Oxoid Limited, Hampshire, England) (Østlie i sur., 2003.). Uzorci su analizirani tijekom fermentacije, nakon 0, 5, 8 i 10 sati, kada je pH vrijednost bila približno 4,6. Tijekom pohrane na temperaturi od 4 °C uzorci sirutke analizirani su 1., 7., 14., 21. i 28. dana. Pokusi su ponovljeni tri puta. Rezultati su statistički obrađeni u programu Microsoft Office Excel 2007 i prikazani su kao srednja vrijednost uz standardu devijaciju.

Rezultati i rasprava

Dodatak KPS skratio je vrijeme fermentacije sirutke kada se koristila *Lactobacillus acidophilus* La-5 monokultura, ali nije značajno utjecao na trajanje fermentacije korištenjem monokulture *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 (slika 1). Fermentacije kontrolnih uzoraka sirutke (bez

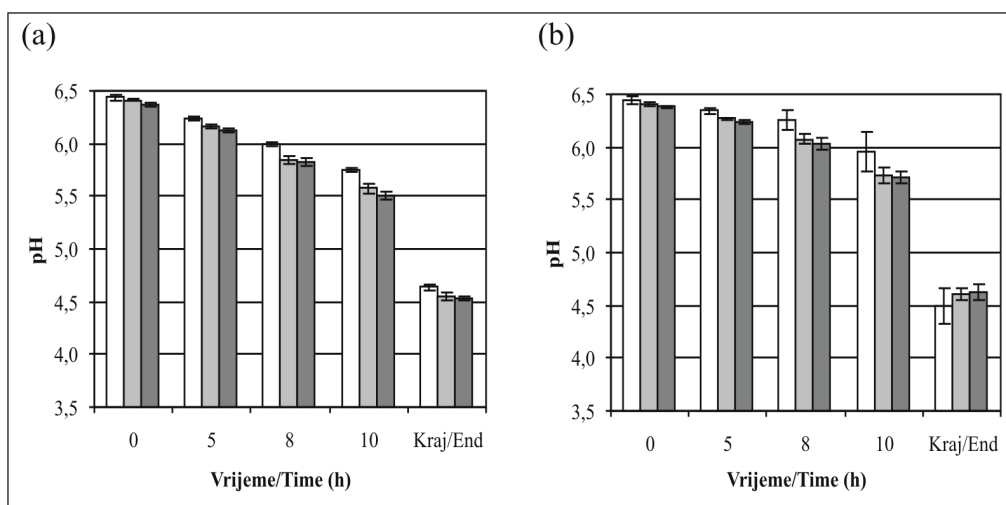


Slika 1: Vrijeme fermentacije sirutke bez (□), te sa 1,5 (■) i 3 (■)% KPS primjenom sojeva *Lactobacillus acidophilus* La-5 i *Bifidobacterium lactis* BB-12

Fig. 1: Fermentation time of whey without (□), and with 1.5 (■) and 3 (■)% of WPC addition fermented by *Lactobacillus acidophilus* La-5 and *Bifidobacterium lactis* BB-12

dotatka KPS) trajale su oko 15 sati za oba probiotička soja. Dodatak 3% KPS skratio je vrijeme fermentacije sirutke s dodatkom *Lactobacillus acidophilus* La-5 za oko 1 sat. Korištenjem *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 za fermentaciju sirutke s 1,5 % KPS vrijeme fermentacije skratilo se za približno 0,5 sata. Istovremeno dodatak od 3% KPS nije utjecao na skraćenje dužine fermentacije istim bakterijskim sojem.

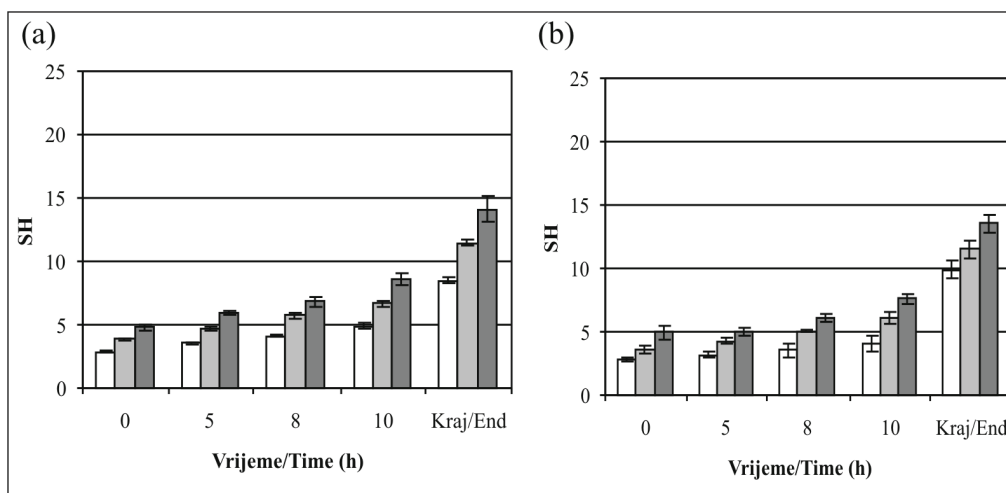
Početna pH-vrijednost svih uzoraka sirutke bila je oko 6,4 jedinica bez obzira na količinu dodanog KPS (slika 2). Uzorci sirutke obogaćeni s KPS imali su nešto nižu pH-vrijednost tijekom fermentacije od kontrolnih uzoraka za oba probiotička soja, a brže snižavanje pH-vrijednosti utvrđeno je tijekom fermentacije uzoraka s *Lactobacillus acidophilus* La-5 (slika 2). Sličan tijek fermentacije sirutke bez dodatka KPS, ali s istim probiotičkim sojevima utvrđen je i u istraživanjima Drgalić i sur. (2005.). Međutim, pH vrijednost od približno 4,6 postignuta je tek nakon 28 sati fermentacije kada je korišten isti soj *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 za fermentaciju kozjeg i kravljeg mlijeka obogaćenog s 2% KPS (Božanić i Tratnik, 2001.).



Slika 2: pH-vrijednosti sirutke bez (□), te sa 1,5 (■) i 3 (■)% KPS tijekom fermentacije sojevima *Lactobacillus acidophilus* La-5 (a) i *Bifidobacterium lactis* BB-12 (b)

Fig. 2: pH-value of whey without (□), and with 1.5 (■) and 3 (■)% of WPC addition during fermentation with *Lactobacillus acidophilus* La-5 (a) and *Bifidobacterium lactis* BB-12 (b)

Uzorci sirutke obogaćeni KPS imali su nešto višu titracijsku kiselost od kontrolnih (slika 3). Titracijska kiselost sirutke na početku fermentacije bila je oko 2,8 °SH, a sa dodatkom 1,5 i 3% KPS-a došlo je do porasla za oko 0,9 °SH, odnosno 1,8 °SH. Na kraju fermentacije titracijska kiselost sirutke sa 3% KPS (~ 13,8 °SH) bila je znatno viša od titracijske kiselosti sirutke bez KPS-a (~ 9,2 °SH) bez obzira na probiotičku kulturu. Približno ista pH vrijednost uzoraka sirutke bez i sa dodatkom KPS i različita titracijska kiselosti povezana je s puferkim kapacitetom sirutke. Dodatak KPS u sirutki povećao je puferki kapacitet sirutke na početku fermentacije. Literatura navodi da 1% proteina sirutke u 1 kg mlijeka ili sirutke ima puferki kapacitet od oko 1,4 mmol NaOH (Walstra i sur., 2006.). Zbog manjeg puferkog kapaciteta uzoraka sirutke bez dodatka KPS njihova je titracijska kiselost bila niža u odnosu na uzorke obogaćene KPS pri čemu je bila značajna i količina dodanog KPS (slika 3).

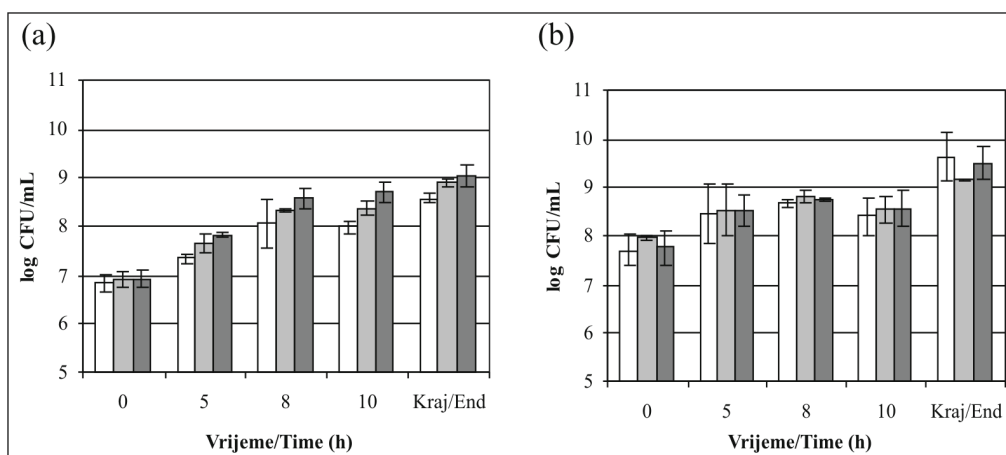


Slika 3: Titracijske kiselosti (°SH) sirutke bez (□), te sa 1,5 (■) i 3 (■)% KPS tijekom fermentacije sojevima *Lactobacillus acidophilus* La-5 (a) i *Bifidobacterium lactis* BB-12 (b)

Fig. 3: Titratable acidity (°SH) of whey without (□), and with 1.5 (■) and 3 (■)% of WPC addition during fermentation with *Lactobacillus acidophilus* La-5 (a) and *Bifidobacterium lactis* BB-12 (b)

Početni broj *Lactobacillus acidophilus* La-5 u sva tri uzorka sirutke bio je u prosjeku 6,9 log CFU/mL (slika 4). Soj *Lactobacillus acidophilus* La-5 bolje je rastao u sirutki s dodatkom 1,5 i 3% KPS (8,9 i 9 log CFU/mL), u odnosu

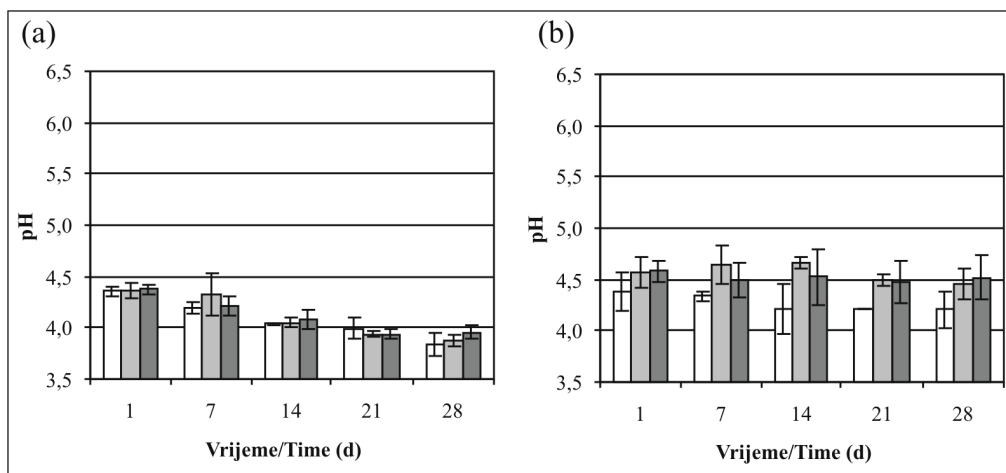
na kontrolni uzorak (8,6 log CFU/mL). Pri tome je vrijeme fermentacije sirutke obogaćene s KPS bilo kraće (slika 1), a broj bakterija na kraju fermentacije veći (slika 4) u odnosu na kontrolni uzorak proporcionalno količini dodanog KPS. Sličan je učinak imao dodatak KPS na dužinu trajanja fermentacije mlijeka i rast *Lactobacillus acidophilus* u jogurtu (Antunes i sur., 2005.) Početni broj *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 u sva tri uzorka sirutke na početku fermentacije bio je oko 7,8 log CFU/mL (slika 4). Na kraju fermentacije, najmanji broj bifidobakterije bio je u sirutki s 1,5% KPS (log CFU/mL = 9,2), a najviši u sirutki bez dodatka KPS (log CFU/mL = 9,63). S druge strane, kod fermentacije kozjeg i kravljeg mlijeka rast *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 bio je bolji kad je dodano 2% KPS (Božanić i Tratnik, 2001.), pri čemu je najveći rast *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 zabilježen u prvih sedam sati fermentacije kada se broj te bakterije povećao za jednu logaritamsku jedinicu. Pozitivan utjecaj dodatka KPS na rast soja *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 u mlijeku zabilježen je kod dodatka 2% (Janer i sur., 2004.) i 3% (Martín-Diana i sur., 2003.).



Slika 4: Broja živih bakterijskih stanica u sirutki bez (□), te sa 1,5 (▒) i 3 (■)% KPS tijekom fermentacije sojevima *Lactobacillus acidophilus* La-5 (a) i *Bifidobacterium lactis* BB-12 (b)

Fig. 4: Viable cells count of whey without (□), and with 1.5 (▒) and 3 (■)% of WPC addition during fermentation with *Lactobacillus acidophilus* La-5 (a) and *Bifidobacterium lactis* BB-12 (b)

Fermentirani uzorci sirutke pohranjeni na temperaturi od 4 °C analizirani su 1., 7., 14., 21. i 28. dana. Prvog dana sva tri uzorka sirutke fermentirane *Lactobacillus acidophilus* La-5 imala su gotovo identičnu pH-vrijednost (pH = 4,36) (slika 5). Kod uzoraka sirutke fermentiranih *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 najnižu pH-vrijednost imala je sirutka bez KPS (pH = 4,39), a pH-vrijednost sirutke sa dodatkom 1,5 i 3% KPS bila je gotovo identična (pH = 4,58).

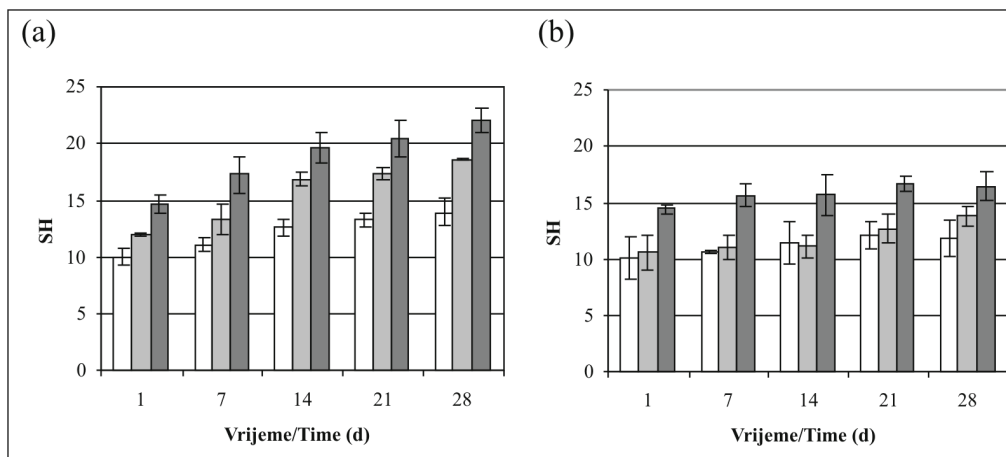


Slika 5: pH-vrijednosti sirutke bez (\square), te sa 1,5 (\blacksquare) i 3 (\blacksquare)% KPS fermentirane sojevima *Lactobacillus acidophilus* La-5 (a) i *Bifidobacterium lactis* BB-12 (b) tijekom 28 dana hladnog čuvanja

Fig. 5: pH-value of whey without (\square), and with 1.5 (\blacksquare) and 3 (\blacksquare)% of WPC addition fermented with *Lactobacillus acidophilus* La-5 (a) and *Bifidobacterium lactis* BB-12 (b) during 28 days of cool storage

Tijekom čuvanja sirutke od 28 dana došlo je do postacidifikacije i snižavanja pH-vrijednosti. Značajnija promjena pH-vrijednosti zabilježena je 14. dan čuvanja. Najnižu pH-vrijednost su imali uzorci fermentirani sa *Lactobacillus acidophilus* La-5 oko 4 jedinice, a nešto viša oko 4,2 jedinice je bila pH-vrijednost kontrolnog uzorka sirutke fermentiranog sa *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12. Kod uzoraka sirutke fermentirane *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 s KPS nije došlo do promjene pH-vrijednosti (oko 4,58 jedinica). Na kraju čuvanja nižu pH-vrijednost su imali uzorci fermentirani *Lactobacillus acidophilus* La-5 (pH ~ 3,90). Kod sirutke fermentirane *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 najnižu pH-

vrijednost su imali uzorci bez dodatka KPS ($\Delta\text{pH} \sim 0,2$), a kod sirutke sa dodatkom KPS ta promjena pH-vrijednosti je bila manja ($\Delta\text{pH} \sim 0,1$). Slične pH-vrijednosti sirutke fermentirane sojem *Lactobacillus acidophilus* La-5 i *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 tijekom 28 dana čuvanja dobili su Drgalić i sur. (2005.).



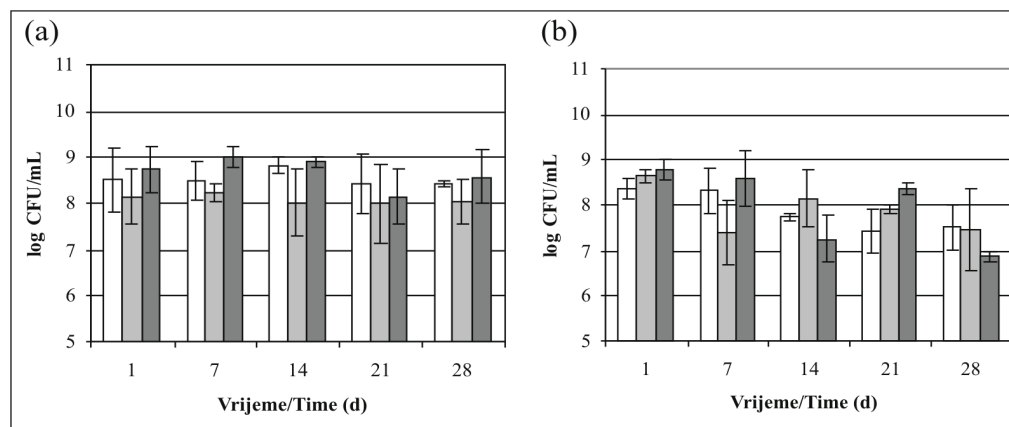
Slika 6: Titracijske kislosti ($^{\circ}\text{SH}$) sirutke bez (\square), te sa 1,5 (\blacksquare) i 3 (\blacksquare)% KPS fermentirane sojevima *Lactobacillus acidophilus* La-5 (a) i *Bifidobacterium lactis* BB-12 (b) tijekom 28 dana hladnog čuvanja

Fig. 6: Titratable acidity ($^{\circ}\text{SH}$) of whey without (\square), and with 1.5 (\blacksquare) and 3 (\blacksquare)% of WPC addition fermented with *Lactobacillus acidophilus* La-5 (a) and *Bifidobacterium lactis* BB-12 (b) during 28 days of cool storage

Titracijska kiselost uzoraka sirutke fermentirane sojem *Lactobacillus acidophilus* La-5 i *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 bila je vrlo slična prvi dan čuvanja (slika 6). Najnižu titracijsku kiselost imali su kontrolni uzorci ($^{\circ}\text{SH} \sim 10,1$), a najvišu uzorci sa 3% dodanog KPS ($^{\circ}\text{SH} \sim 14,6$). Nakon 28 dana čuvanja titracijska kiselost je porasla kod svih uzoraka sirutke. Porast titracijske kiselosti bio je veći kod uzoraka fermentiranih *Lactobacillus acidophilus* La-5 nego *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12. Uzorci sirutke fermentirane *Lactobacillus acidophilus* La-5 i obogaćene s 3% KPS dostigli su titracijsku kiselost od 22 $^{\circ}\text{SH}$. Kod istih uzoraka sirutke s 3% KPS fermentiranih s *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 titracijska kiselost nije bila veća od 16,5 $^{\circ}\text{SH}$. Svi uzorci fermentirane sirutke bez

dotatka KPS imali su titracijsku kiselost (oko 13 °SH) tijekom 28 dana čuvanja sličnu uzorcima sirutke koje navodi literatura (Drgalić, 2005.).

Tijekom 28 dana čuvanja fermentirane sirutke broj *Lactobacillus acidophilus* La-5 bio je stabilniji u odnosu na *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 (slika 7).



Slika 7: Broja živih bakterijskih stanica *Lactobacillus acidophilus* La-5 (a) i *Bifidobacterium lactis* BB-12 (b) u sirutki bez (\square), te sa 1,5 (\blacksquare) i 3 (\blacksquare)% KPS tijekom 28 dana hladnog čuvanja

Fig. 7: Viable cells counts of *Lactobacillus acidophilus* La-5 (a) and *Bifidobacterium lactis* BB-12 (b) in fermented whey without (\square), and with 1.5 (\blacksquare) and 3 (\blacksquare)% of WPC addition during 28 days of storage

Broj bakterija *Lactobacillus acidophilus* La-5 bio je iznad 8 log CFU/mL i ostao je stabilan cijelo vrijeme čuvanja. Tijekom 28 dana čuvanja došlo je do smanjenja *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 sa početnog ~ 8,5 log CFU/mL na ~7,3 log CFU/mL. Najveći pad broja *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 bio je kod sirutke obogaćene sa 3% KPS (~ 6,9 log CFU/mL), a sirutka bez i sa 1,5% KPS sadržavala je gotovo identičan broj živih stanica (~ 7,5 log CFU/mL). Antunes i sur. (2005.) navode da KPS poboljšava preživljavanje probiotičkog soja *Lactobacillus acidophilus* i bifidobakterija u jogurtu. Dobiveni rezultati pokazuju da KPS nema utjecaja na preživljavanje u sirutki, a slični rezultati su utvrđeni i kada je mlijeko fermentirano istim bakterijskim sojem *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 (Božanić i Tratnik, 2001.).

Zaključak

Rezultati istraživanja pokazuju da dodatak koncentrata proteina sirutke (KPS) u sirutku utječe na fermentaciju i rast probiotičkog soja *Lactobacillus acidophilus* La-5, a nema značajan utjecaj na rast i fermentaciju probiotičkog soja *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 bez obzira na dodanu količinu. Fermentacija sirutke kojoj je dodano 3% KPS sa *Lactobacillus acidophilus* La-5 bila je oko 1 sat kraća (~ 14 sati) u odnosu na sirutku bez dodatka KPS-a (~ 15 sati). Porast broja bakterija *Lactobacillus acidophilus* La-5 u sirutki sa 3% KPS-a bio je bolji ($\Delta \log \text{CFU ml}^{-1} = 2,1$) u odnosu na sirutku bez KPS-a ($\Delta \log \text{CFU/ml} = 1,7$). Kod fermentacije sirutke *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 porast bakterija je bio približno identičan ($\Delta \log \text{CFU mL}^{-1} \sim 1,6$) bez obzira na količinu dodanog KPS. Dodani KPS povećao je titracijsku kiselost sirutke, a nije značajno utjecao na preživljavanje oba probiotička soja.

THE INFLUENCE OF WHEY PROTEIN CONCENTRATE ON GROWTH AND SURVIVAL OF PROBIOTIC BACTERIA IN WHEY

Summary

*This research examines the influence of whey protein concentrate addition (WPC) on growth and activity of probiotic species *Lactobacillus acidophilus* La-5 and *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 in sweet reconstituted whey and their survival during 28 days of fermented whey cold storage (4 °C). The fermentation of whey at 37° C with and without 1.5 and 3% of WPC addition has been observed. Fermentation of whey with *Lactobacillus acidophilus* La-5 to which 3% WPC was added, was about an hour shorter (~ 14 hours) compared to the fermentation of whey without WPC addition (~ 15 hours). The viable cells count of *Lactobacillus acidophilus* La-5 was better in whey with 3% of WPC addition ($\Delta \log \text{CFU/mL} = 2.1$) compared to whey without WPC addition ($\Delta \log \text{CFU/mL} = 1.7$). Addition of whey protein concentrate did not influence significantly on growth of *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 in whey, and also it did not influence the survival of both probiotic species during 28 days of cool storage (at 4°C). Whey*

enriched with WPC had slightly higher titratable acidity during fermentation and storage compared to whey without WPC addition.

Key words: whey protein concentrate, fermentation, whey, probiotic bacteria

Literatura

- 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, *International Dairy Journal*, 58 (3), 169-173.
- BOŽANIĆ, R., TRATNIK, LJ. (2001): Quality of cow's and goat's fermented bifido milk during storage, *Food Technol and Biotechnology*, 39 (2), 109-114.
- DAMODORAN, S. (1997): Food proteins: an overview. *Food Proteins and their Applications*, Marcel Dekker Inc., New York.
- DRGALIĆ, I., TRATNIK, LJ., BOŽANIĆ, R. (2005): Growth and survival of probiotic bacteria in reconstituted whey, *Le Lait*, 85, 171-179.
- GILLILAND, S.E. (2001): *Applied Dairy Microbiology*, Second Edition, Marcel Dekker, Inc., New York/Basel.
- HALLER, D. (2005): Molecular interaction of commensal enteric bacteria with the intestinal epithelium and the mucosal immune system: Implication for Chronic intestinal inflammation, *Probiotic and prebiotic: scientific aspects*, Caister Academic Press, Norfolk.
- HAVENAR, R., HUIS IN'T VELD, J.H.J. (1992): Probiotics: A General View, *The Lactic Acid Bacteria in Health and Disease*, Vol. 1, Elsevier Applied Science, London, 151-170.
- HERCEG, Z., REŽEK, A. (2006): Prehrambena i funkcionalna svojstva koncentrata i izolata proteina sirutke, *Mljekarstvo*, 56 (4), 379-396.
- INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION (1995): Detection and enumeration of *Lactobacillus acidophilus* culture media, *IDF Bulletin*, 306, 23-33.
- JANER, C., PELÁEZ, C., REQUENA, T. (2004): Caseinomacropetide and whey protein concentrate enhance *Bifidobacterium lactis* growth in milk, *Food Chemistry*, 86, 263-267.
- JAY J.M (2000): *Modern Food Microbiology*, Sixth Edition, Aspen Publishers, Inc., Gaithersburg, Maryland.
- MARTÍN-DIANA, A., JANER, C., PELÁEZ, C., REQUENA, T. (2003): Development of a fermented goat's milk containing probiotic bacteria, *International Dairy Journal*, 13, 827-833.
- ØSTLIE, H.M., HELLAND M.H., NARVHUS, J.A. (2003): Growth and metabolism of selected strains of probiotic bacteria in milk, *International Journal of Food Microbiology*, 87, 17-27.

POPOVIĆ-VRANJEŠ, A., VUJIČIĆ, I.F. (1997): *Tehnologija sirutke*, Poljoprivredni fakultet Novi Sad, Novi Sad.

REID, G., JASS, J., SEBULSKY, M.T., MCCORMICK, J.K. (2003): Potential use of probiotic in clinical practice, *Clinical Microbiology Reviews*, 16, 658-672.

SABADOŠ, D. (1996): Titracijske metode određivanja stupnja kiselosti mlijeka u knjizi *Kontrola i ocjenjivanje kakvoće mlijeka i mliječnih proizvoda*, II. dopunjeno izdanje, Hrvatsko mljekarstvo društvo, Zagreb, 70.

SABADOŠ, D. (1996b): Ispitivanje jogurta, kiselog mlijeka, mlaćenice i kefira, *Kontrola i ocjenjivanje kakvoće mlijeka i mliječnih proizvoda*, II. dopunjeno izdanje, Hrvatsko mljekarstvo društvo, Zagreb, 166-169.

ŠUŠKOVIĆ, J. (1996): Rast i probiotičko djelovanje odabranih bakterija mliječne kiseline, Disertacija, Prehrambeno-biotehnoški fakultet Sveučilišta u Zagrebu.

TAMIME, A.Y., SAARELA, M., SØNDERGAARD, A.K., MISTRY, V. V., SHAH, N.P. (2005): Production and maintenance of viability of probiotic micro-organisms in dairy products, *Probiotic dairy products*, Tamime, A.Y., Blackwell Publishing.

TRATNIK, LJ. (1998): *Mlijeko - tehnologija, biokemija i mikrobiologija*, Hrvatska mljekarska udruga, Zagreb.

TRATNIK, LJ. (2003): Uloga sirutke u proizvodnji funkcionalne mliječne hrane, *Mljekarstvo*, 53 (4), 325-352.

WALSTRA, P., WOUTERS, J.T.M., GEURTS, T.J. (2006): *Dairy Science and Technology*, Second Edition, Taylor & Francis Group, Boca Raton.

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

Adrese autora – Autor's addresses:

Mr. sc. Bojan Matijević¹

Prof. dr. sc. Rajka Božanić²

Prof. dr. sc. Ljubica Tratnik²

Irena Jeličić, dipl. ing.²

¹Veleučilište u Karlovcu

Odjel prehrambene tehnologije

Trg J.J. Strossmayera 9, Karlovac

²Prehrambeno-biotehnoški fakultet Sveučilišta u Zagrebu

Laboratorij za tehnologiju mlijeka i mliječnih proizvoda

Pierottijeva 6, Zagreb

Prispjelo - Received: 15.06.2008.

Prihvaćeno - Accepted: 18.07.2008.