

UNIVERZITET U NIŠU  
PRIRODNO-MATEMATIČKI FAKULTET NIŠ  
DEPARTMAN ZA BIOLOGIJU I EKOLOGIJU

Jovana R. Komnenović

**Fermentacija sojinog mleka sa starter kulturom jogurta**

MASTER RAD

Niš, 2015.

UNIVERZITET U NIŠU  
PRIRODNO-MATEMATIČKI FAKULTET NIŠ  
DEPARTMAN ZA BIOLOGIJU I EKOLOGIJU

**Fermentacija sojinog mleka sa starter kulturom jogurta**

MASTER RAD

Kandidat:

Jovana R. Komnenović 109

Mentor:

dr Nataša Joković

Niš, 2015.

UNIVERSITY OF NIS  
FACULTY OF SCIENCES AND MATHEMATICS  
DEPARTMENT OF BIOLOGY AND ECOLOGY

**The fermentation of soybean milk with yoghurt starter culture**

**MASTER THESIS**

Candidate:

Jovana R. Komnenović 109

Mentor:

PhD Nataša Joković

Nis, 2015.

## *Zahvalnica*

*Zahvaljujem se svom mentoru, dr Nataši Joković, na stručnoj, svestranoj i nesebičnoj pomoći, dragocenim savetima i ukazanom poverenju.*

*Veliku zahvalnost dugujem svojoj porodici, a posebno svojoj Majci, koja je nesebično, sa puno snage i razumevanja, bila uz mene na svakom mom životnom koraku.*

*Hvala!*

## **Biografija**

**Ime i prezime:** Jovana Komnenović

**Datum rođenja:** 15. 09. 1991.

**Mesto rođenja:** Prokuplje

**Osnovna škola:** „Drinka Pavlović“ Kuršumlija (nosilac Vukove diplome)

**Srednja škola:** Gimnazija „Radoš Jovanović- Selja“ Kuršumlija (nosilac Vukove diplome)

**Fakultet:** Prirodno- matematički fakultet, Univerzitet u Nišu

Osnovne akademske studije na departmanu za biologiju i ekologiju upisane školske 2010/2011. godine.

Master akademske studije, studijski program Biologija, na departmanu za biologiju i ekologiju upisane školske 2013/2014. godine.

## Sažetak

U ovom radu je ispitivana mogućnost rasta jogurtne starter kulture sastavljene od dve vrste bakterija, *Streptococcus thermophilus* i *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, u sojinom mleku. Proces fermentacije je praćen merenjem pH vrednosti fermentacionih podloga, dok je broj bakterija tokom fermentacije određivan metodom sukcesivnog razblaživanja. Jogurtna kultura smanjuje pH vrednost sojinog mleka 6,4 na 4,23 nakon 24 sata fermentacije tako da je sojino mleko dobar supstrat za rast jogurtne kulture. Ispitivanjem uticaja inokuluma (1%, 3% i 6%) na proces fermentacije, pokazano je da korišćenjem 6% inokuluma pH vrednost sojinog mleka opada na 4,75 nakon 4,5 sati od početka fermentacije. Broj ćelija streptokoka određivan na M17 podlozi bio je veći u svim fazama fermentacije u odnosu na broj laktobacila na MRS podlozi tako da je sojino mleko bolji supstrat za rast streptokoka. U daljem radu, ispitan je uticaj dodatka surutke u sojino mleko na proces fermentacije. Rezultati su pokazali da surutka pospešuje rast streptokoka i laktobacila u sojinom mleku i skraćuje vreme fermentacije sojinog mleka. Dobijeni fermentisani napici od sojinog mleka i obogaćenog sojinog mleka surutkom čuvani su u frižideru (4°C) kako bi se odredila stabilnost proizvoda. Nakon pada pH vrednosti fermentisanih napitaka u prvih 5 dana skladištenja, pH ostaje konstanta do 20. dana.

**Ključne reči:** Sojino mleko, jogurtna starter kultura, surutka

## Abstract

In present study, we examine the possibility for growth of yoghurt starter culture, composed of two bacterial species, *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* in soybean milk. The fermentation process was monitored by measuring the pH value of the fermentation media, while the number of bacteria during fermentation was determined by the method of successive dilutions. Yoghurt culture reduces the pH of soybean milk from 6,4 to 4,23, after 24 hours of fermentation which confirms that soybean milk is a good substrate for the growth of yoghurt culture. Investigation of the effect of the inoculum (1%, 3% and 6%) on the fermentation process has shown that by using the 6% of inoculum the pH of soybean milk decreases to 4, 75 after 4 and the half hours from the beginning of fermentation. The number of streptococcal cells determined on M17 medium was higher in all the stages of the fermentation process compared to the number of lactobacilli on the MRS medium. Soybean milk is a better substrate for the growth of streptococci. In further work, we investigated the influence of whey addition in soybean milk on the fermentation process. The results showed that whey stimulates the growth of streptococci and lactobacilli in the soybean milk and shortens time of fermentation. The fermented beverages, soybean milk and soybean milk with whey, were stored in the refrigerator (4°C), in order to determine the stability of the products. After the fall of the pH value of fermented beverages in the first 5 days of storage, the pH remains constant up to 20 days.

**Keywords:** Soybean milk, yoghurt starter culture, whey

## Sadržaj

1.Uvod.....	1
1.1.Funkcionalna hrana .....	1
1.2.Soja kao hrana .....	3
1.2.1.Sojino mleko .....	3
1.3.Fermentisana hrana .....	4
1.3.1.Fermentisana soja.....	5
1.4.Starter kulture .....	5
1.4.1.Jogurtna kultura.....	9
2.Ciljevi rada .....	10
3.Materijali i metode .....	11
3.1.Materijal .....	11
3.1.1.Fermentacione podloge .....	11
3.1.2.Jogurtna kultura i podloge.....	11
3.2.Metode rada.....	12
3.2.1.Fermentacija sojinog mleka .....	12
3.2.2.Merenje pH vrednosti.....	12
3.2.3.Brojanje bakterijskih ćelija.....	12
4.Rezultati i diskusija .....	13
4.1.Rast jogurtne kulture u sojinom mleku .....	13
4.2.Uticaj inokuluma na rast jogurtne kulture.....	14
4.3.Uticaj dodavanja surutke na rast jogurtne kulture.....	17
4.4.Stabilnost fermentisanih napitaka tokom skladištenja .....	19
5.Zaključak .....	20
6.Literatura .....	21



# 1.Uvod

Zdrava i pravilna ishrana ljudi je jedna od najosnovnijih komponenti normalnog i pravilnog rasta i razvoja čoveka, jer je čovekovom telu, kako bi moglo da ostvari svoj pun potencijal, potrebna prava hrana i redovne aktivnosti, kako fizičke, tako i mentalne (Dunne, 1996). Prehrambeni proizvodi koji potrošačima „obećavaju“ poboljšanja u određenim, ciljanim fiziološkim funkcijama poznati su kao funkcionalna hrana (Diplock et al.,1999).

Soja (lat. *Glycine max* (L.) Merr.), biljna vrsta koja pripada porodici *Fabaceae*, klasi *Magnoliopsida*, spada u mahunarke koje imaju široku primenu u prehrambenoj industriji. Već decenijama se soja tradicionalno koristi za proizvodnju raznih fermentisanih proizvoda u mnogim delovima sveta, kao što su istočna područja Himalaja, Nepala i Indije (Tamang, 2015). Na osnovu dosadašnjih istraživanja, potvrđeno je da je sojino mleko, kao jedan od proizvoda ove biljne vrste, izuzetno hranljiv i zdrav napitak, velike nutritivne vrednosti. Preporučuje se osobama koje pate od kardiovaskularnih bolesti, holesterola i visokog krvnog pritiska, a trend proizvodnje i upotrebe ovog „alternativnog mleka“, u ishrani ljudi se sve više nastavlja (Amalar Santos et al., 2014).

Zbog prisustva određenih hemijskih jedinjenja, ukus sojinog mleka može biti neprikladan za neke potrošače, a jedan od načina prevazilaženja ovog problema jeste fermentacija sojinog mleka bakterijama mlečne kiseline (BMK). Cilj ovog rada je dobijanje fermentisanog sojinog napitka sa jogurtom starter kulturom koja sadrži bakterije ***Streptococcus thermophilus*** i ***Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus***.

## 1.1.Funkcionalna hrana

Hrana koja, pored svojih uobičajenih nutritivnih funkcija, ima povoljan uticaj i na ljudsko zdravlje naziva se funkcionalna hrana (Diplock et al., 1999). To je hrana koja sadrži biološki aktivna jedinjenja, koja je čine funkcionalnom, jer pozitivno utiču na određene funkcije u organizmu, što je i naučno potvrđeno (Bigliardi i Galati, 2013). Funkcionalna hrana ima optimalan uticaj na digestivni sistem, ima povoljan efekat na imunitet i krvne sudove, a obično ima i veliki antioksidativni potencijal važan u borbi sa slobodnim radikalima, koji se

stvaraju svakodnevno u našem organizmu u zavisnosti od uslova u kojima živimo, u većoj ili manjoj meri (Al-Sheraji et al., 2013). Takođe, kao funkcionalna namirnica se označava i ona namirnica kojoj je nešto dodato u smislu poboljšanja efekta (Goetzke et al., 2014).

Postoje i namirnice koje su pravljene sa određenom funkcijom, kao što su to, na primer, sve prisutniji voćni jogurti, gde je voće bogato vitaminima i dijetetskim vlaknima pomešano sa žitaricama i probioticima, tj. prijateljskim bakterijama našeg digestivnog trakta. Da bi se namirnica označila kao funkcionalna, informacije o njenom sastavu i funkciji moraju biti istinite, pri čemu one ne moraju biti odobrene od FDA (Food and Drug Administration), za razliku od zdravstvenih izjava koje moraju da imaju naučnu potvrdu i moraju imati odobrenje (atest) FDA. Zato je potrebno gledati deklaraciju na svakoj namirnici u pogledu sastava, datuma i atesta. Primeri, nekih jedinjenja koji hranu, kada se nađu u njoj, čine funkcionalnom, su:

- *beta karoten* iz šargarepe, voća i povrća, koji neutrališe slobodne radikale i tako sprečava oštećenje ćelija,
- *lutein* iz zelenog lisnatog povrća, koji sprečava degeneraciju makule (gubitak vida kod starijih osoba),
- *likopen* iz crvenog povrća (paradajz) smanjuje rizik od raka prostate,
- *dijetna vlakna* (ječam, ovas, pšenične mekinje) smanjuju rizik od kardiovaskularnih oboljenja, raka debeleog creva i snižavaju nivo holesterola,
- *omega-3 masne kiseline* iz ribe smanjuju rizik od kardiovaskularnih oboljenja, stvaranja ugrušaka, poboljšavaju mentalne funkcije i vid,
- *vitamini i antioksidanti* u voću jačaju imunitet,
- *fitoestrogeni iz soje i proizvoda od soje* olakšavaju simptome menopauze, štite od bolesti srca i snižavaju nivo lipoproteina male gustine (LDL) i ukupnog holesterola,
- *flavonoidi i druge materije u voću/citrusima i povrću* neutrališu slobodne radikale i snižavaju rizik od raka,
- *hladno ceđena ulja* kukuruza, masline, soje i semenki grožđa smanjuju holesterol u krvi tako što smanjuju njegovu apsorpciju,
- *probiotici, prebiotici i kalcijum iz jogurta i drugih mlečnih proizvoda*, koji poboljšavaju varenje i uspostavljaju ravnotežu mikroflore u crevima, pospešuju zdravlje sistema za varenje i sprečavaju osteoporozu ( Duraković et al., 2002).

## 1.2. Soja kao hrana

Soja (lat. *Glycine max* (L.)Merr.) je biljna vrsta koja pripada porodici *Fabaceae*, klasi *Magnoliopsida*. Spada u mahunarke visoke hranljive vrednosti, a osnovni razlog gajenja soje jeste povoljan hemijski sastav zrna. Soja i njeni proizvodi su veoma cenjeni i traženi u svetu, otkako su potvrđene sve njene hranljive vrednosti (Tamang, 2015). Soja sadrži malo kalorija, a bogata je sastojcima koji su korisni ljudskom organizmu, kao što su aminokiseline, bakar, belančevine, biljna vlakna, vitamini B- kompleksa, jod, kalijum, kalcijum, ugljeni hidrati, folna kiselina i cink (Tošović, 1983). Jedna od najvećih prednosti soje, jeste to što u ishrani može da zameni namirnice životinjskog porekla, kao što su meso i mleko.



**Slika 1.** Soja (lat. *Glycine max* (L.)Merr.)

### 1.2.1. Sojino mleko

Sojino mleko je napitak koji se dobija iz sojinog zrna specijalnim postupkom (Tamang, 2015). Proizvodnja sojinog mleka se sastoji od nekoliko faza (priprema zrna, ekstrakcija i skladištenje proizvoda), a osnovu procesa čini vodena ekstrakcija celog zrna soje, pri čemu se napitku dodaje inulin i morska so. Sojino mleko se čuva na temperaturi od 1-4° C (Mujić et al., 2008). Dobijeni napitak je po konzistenciji, boji i sastavu sličan kravljem mleku, ali ono što ga zapravo razlikuje od njega jeste manji procenat masti i ugljenih hidrata, a veći procenat proteina. Sojino mleko ne sadrži holesterol, pa se može konzumirati u cilju prevencije oboljenja srca i krvnih sudova, a karakteriše ga i odsustvo mlečnog šećera laktoze (Tošović, 1983). Veliki broj dece i odraslih pati od intolerancije na laktozu, zbog čega njihov organizam ne može da podnosi mlečne proizvode, a naročito mleko, pa sojino mleko predstavlja jednu od najpovoljnijih alternativa za njih. Posebnu hranljivu i zdravstvenu

vrednost sojinom mleku daju njegovi sastojci: sojino ulje (koje sadrži nezasićene masne kiseline, među kojima su najvažnije esencijalne linolna i linolenska), sojin lecitin (ima veliki fiziološki značaj, jer reguliše rad pojedinih enzima, transport masti i holesterola u krvi), mineralni sastojci i vitamini (Mujić et al., 2008). Zbog svoje značajne dijetetske vrednosti, sojino mleko može da se koristi i u dijetoterapiji pojedinih bolesti, a poseduje i izoflavonoid iz grupe biljnih estrogenih hormona, koji se ponaša slično kao tamoksifen, supstanca koja inhibira dejstvo ženskih estrogenih hormona, koje naučnici smatraju glavnim uzročnikom nastanka karcinoma dojke kod mladih osoba (Anonymous, 2011).

### **1.3.Fermentisana hrana**

Fermentacija (lat. *fermentum*) je jedan od najstarijih i najvažnijih tehnoloških postupaka konzervisanja namirnica (Nikolić, 1964). Istraživanja su pokazala da konzumiranje fermentisane hrane može doprineti poboljšanju crevne flore, prevenciji srčanih oboljenja, artritisa, pa čak i popravljanju raspoloženja (Mirić i Šobajić, 2002). Istraživanja su pokazala, da fermentisane namirnice utiču pozitivno na zdravlje ljudi jer:

- pomažu u detoksikaciji organizma,
- osiguravaju izgradnju snažnog imuniteta i zdravu probavu,
- regulišu funkciju probavnog trakta,
- pomažu pri regulaciji telesne težine i štetnih masnoća u krvi,
- pomažu u postizanju zdrave i čiste kože,
- pomažu u aktivnoj borbi protiv alergija i intolerancije na neke namirnice (Mirić i Šobajić, 2002).

U toku procesa fermentacije određena namirnica služi kao dobra podloga za rast mikroorganizama i proces vrenja, a rezultat njihovog rasta i delovanja je fermentisani proizvod visoke biološke vrednosti (Žakula, 1980). Za razliku od prirodnog vrenja, kod fermentacije se koriste čiste kulture mikroorganizama, pa je proces, po pravilu, kontrolisan (Žakula, 1980). Osnovne karakteristike fermentisane hrane su: konzervacija, povećanje nutritivnih vrednosti i organoleptička svojstva. U osnovi, svi fermentacioni procesi mogu se podeliti na:

1. Anaerobna vrenja (bez kiseonika): alkoholna, mlečna, propionska i buterna fermentacija,
2. Aerobna vrenja (sa kiseonikom): sirćetna, limunska i glukonska fermentacija.

### 1.3.1. Fermentisana soja

Fermentisani proizvodi soje imaju veliki funkcionalni i zdravstveni značaj za organizam (Mujić et al., 2008). Popularni fermentisani proizvodi soje prvenstveno su bili deo prehrane nekih istočnjačkih naroda (Tamang, 2015). Neki od fermentisanih proizvoda soje, koji danas imaju široku primenu, su:

- Miso- vrlo je dobar izvor mangana (Mn), cinka (Zn) i antioksidansa,
- Natto- tradicionalno japansko jelo, ima visok sadržaj proteina, jak miris i ukus i „klizavu“ teksturu,
- Sufu- fermentisani proizvod bogat proteinima, koji je poznat i kao „kineski sir“
- Tempeh- predstavlja odličan izvor kvalitetnih biljnih proteina, bogat je biljnim vlaknima koji je vezuju za toksine, detoksikujući na taj način debelo crevo.



Slika 2. Tempeh, fermentisani proizvod soje

### 1.4. Starter kulture

Nakon razvoja industrijske proizvodnje, početkom 20. veka došlo je do značajnih promena u smeru proizvodnje i poboljšanja proizvodnje fermentisane hrane, pre svega piva i mlečnih proizvoda (Marković, 2009). Veliki značaj u ovom progresu imalo je korišćenje tačno definisanih starter kultura za pojedine fermentisane proizvode, čija primena zapravo omogućava stalnost kvaliteta krajnjeg proizvoda (Marković, 2009). Starter kulture čine odabrane vrste mikroorganizama koji poseduju određena svojstva da započnu i izvedu željenu

fermentaciju do kraja, pri čemu kao krajnji proizvod daju visoko kvalitetne proizvode (Obradović, 2002). Starter kulture se mogu podeliti na definisane i nedefinisane. Nedefinisane starter kulture su one kulture koje se upotrebljavaju u proizvodnji fermentisane hrane u domaćinstvu, na tradicionalan način. Ove starter kulture mogu biti prirodne kulture, i u ovim kulturama mikroorganizmi nisu u potpunosti okarakterisani (Marković, 2009). Definisane starter kulture su kulture koje se koriste u industrijskoj proizvodnji, a sastoje se od organizama koji su tačno identifikovani (Marković, 2009). U razvoju definisanih starter sistema važno je selekcionisati sojeve na osnovu određenih karakteristika koje su značajne za proizvodnju fermentisane hrane. Kriterijumi za selekciju sojeva koji ulaze u sastav definisanih startera mogu biti različiti i zavise od tipa fermentisane hrane (Đukić i Mandić, 2012).

Mikroorganizmi koji ulaze u sastav starter kultura izoluju se iz tradicionalnih proizvoda, a zatim se vrši njihova selekcija na osnovu poželjnih karakteristika za određeni proizvod (Đukić i Mandić, 2012). Osnovne karakteristike sojeva koji ulaze u sastav starter kultura za proizvodnju mlečnih proizvoda su: kontrolisana proizvodnja mlečne kiseline, kratka lag faza, rezistentnost na bakteriofage i stabilnost osobina koje poseduju. U sastav starter kultura ulaze različite vrste kvasaca, plesni i bakterija u zavisnosti od tipa fermentisane hrane koja se dobija. Bakterije mlečne kiseline (BMK) predstavljaju grupu bakterija koje se često koriste za proizvodnju raznih tipova fermentisane hrane (Kavaz i Bakirci, 2014).

BMK pripadaju grupi najstarijih živih organizama na zemlji. Fosilni ostaci ovih bakterija pronađeni su u sedimentima starim 2,75 milijardi godina, što ukazuje da su postojale pre pojave kiseonika u atmosferi (Marković, 2009). BMK predstavljaju heterogenu grupu bakterija koje su objedinjene na osnovu njihovih morfoloških, metaboličkih, fizioloških i genetičkih karakteristika (Salminen i Von Wright, 1998). To su Gram+ koke ili bacili sa niskim sadržajem GC parova u genomu, ne sintetišu enzim katalazu i nemaju citohrome tako da spadaju u grupu mikroaerofilnih i fakultativno anaerobnih bakterija. BMK ne formiraju spore i nepokretne su, jer nemaju flagele (Salminen i Von Wright, 1998). Mogu da rastu samo na bogatim podlogama, uz dodatak vitamina (riboflavina, folne kiseline, biotina i tiamina) i amino kiselina. BMK se uglavnom nalaze u staništima koja su bogata hranljivim materijama, kao što su različite namirnice (mleko, meso, piće), rasprostranjene su u prirodi kao normalna epifitna flora na biljkama, dok su neke deo normalne mikroflore usta i gastrointestinalnog trakta sisara (Salminen i Von Wrihgt, 1998). Dugogodišnje korišćenje ovih bakterija u industriji hrane omogućilo je svrstavanje BMK u grupu mikroorganizama

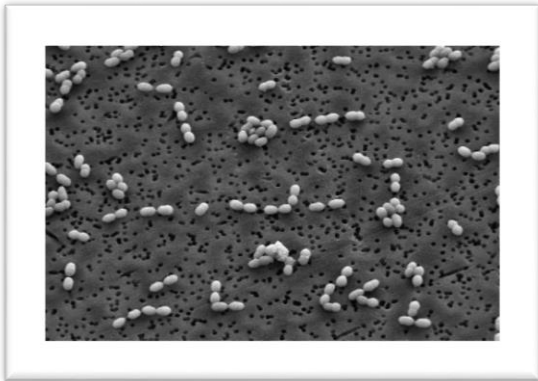
koje imaju GRAS status (Generally Recognized As Safe), odnosno mikroorganizama koji nemaju štetan efekat na zdravlje ljudi (Marković, 2009).

Na osnovu katabolizma glukoze koja je osnovni izvor energije za rast BMK, BMK su podeljenje u dve grupe: homofermentativne i heterofermentativne (Salminen i Von Wright, 1998). Homofermentativne BMK glukozu katabolišu glikolitičkim putem i mlečnom fermentacijom, a kao krajnji produkt fermentacije se dobija mlečna kiselina (Obradović, 2002). Ove vrste BMK vrše proces fermentacije tako što najpre dolazi do glikolitičkog razlaganja glukoze do 2 molekula piruvata (pirogroždane kiseline), pri čemu se sintetišu 2 molekula adenozin-trifosfata (ATP), a zatim vrše redukciju 2  $\text{NAD}^+$  koenzima do  $\text{NADH}^+\text{H}^+$ . S obzirom da je za dalje odigravanje procesa glikolize i dobijanja molekula ATP neophodan oksidovani oblik  $\text{NAD}^+$  koenzima, homofermentativne BMK piruvat redukuju do laktata (mlečne kiseline) uz reoksidaciju 1  $\text{NADH}^+\text{H}^+$  u  $\text{NAD}^+$  koenzim koji opet ulazi u glikolizu (Salminen i Von Wright, 1998). Homofermentativne BMK imaju enzim laktat dehidrogenazu koja katalizuje konverziju piruvata u laktat. Glikolitičkim razlaganjem jednog molekula glukoze dobijaju se 2 molekula mlečne kiseline i 2 molekula ATP. Heterofermentativne BMK glukozu razlažu 6-fosfoglukonat/fosfoketolaznim (6-PG/PK) putem, a kao krajnji produkt se mogu dobiti mlečna kiselina,  $\text{CO}_2$ , sirćetna ili propionska kiselina (Obradović, 2002).

### ***Rod Streptococcus***

U okviru roda *Streptococcus* jedina vrsta koja je važna u industriji mleka i fermentisanih mlečnih proizvoda je ***Streptococcus thermophilus*** (Salminen i Von Wright, 1998). Ova bakterija je izolovana iz mnogih sireva i fermentisanih mlečnih proizvoda, ali i sa biljnog materijala. *St. thermophilus* je termofilna BMK koja raste na temperaturi od  $45^\circ\text{C}$ , pa čak i preko  $50^\circ\text{C}$  (Simić, 1988). Čelije su okruglog oblika i javljaju se u paru, u dugim lancima (Obradović, 2002). Pripada grupi homofermentativnih BMK i sintetiše L oblik mlečne kiseline (Salminen i Von Wright, 1998). Uloga vrste *St. thermophilus* u fermentaciji mleka zasniva se na brznoj konverziji laktoze u mlečnu kiselinu, ali i na produkciji metabolita koji su značajni za tehnološka svojstva mlečnih proizvoda (Salminen i Von Wright, 1998). U mlekerskoj industriji *St. thermophilus* se često koristi kao starter kultura za proizvodnju jogurta i mnogih sireva (emental, parmezan, mocarela i čedar). Vrsta *St. thermophilus* ima GRAS (General Recognized As Safe) status, odnosno nema štetan efekat na zdravlje ljudi. U genomu *St. thermophilus* otkriveni su geni slični genima vrsta *Lactobacillus lactic* i

*Lactobacillus bulgaricus* koji su, verovatno, prenošeni horizontalnim transferom gena nakon duge zajedničke upotrebe ovih vrsta u mlekarskoj industriji (Salminen i Von Wright, 1998).



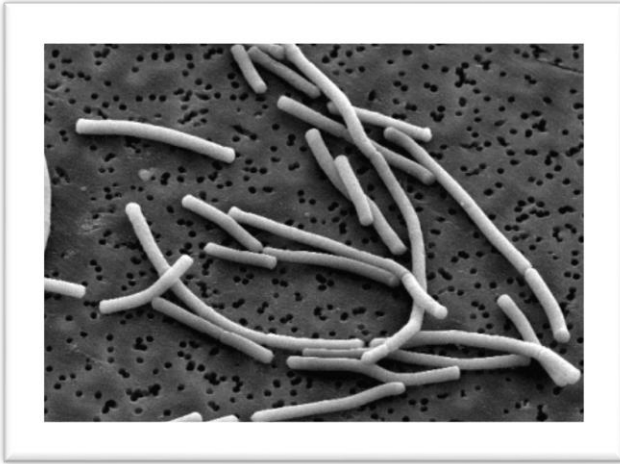
Slika 3. Vrsta *Streptococcus thermophilus*, rod *Streptococcus*

### **Rod *Lactobacillus***

Rod *Lactobacillus* je najbrojniji od svih rodova koji pripadaju BMK i obuhvata više od 135 vrsta i 27 podvrsta (Simić, 1988). Laktobacili su izolovani iz različitih staništa (Salminen i Von Wright, 1998). Pronađeni su u oralnim šupljinama, gastrointestinalnom traktu ljudi i životinja, kao uzročnici kvarenja piva, voća, ribe, mesa, mleka i fermentisanih napitaka, ali se javljaju i na biljkama, u fermentisanoj hrani i vodi (Simić, 1988). Oblik ćelija laktobacila varira od jako izduženih i tankih štapića do kratkih i kokoidnih formi koje često rastu u dužim ili kraćim lancima (Obradović, 2002). Laktobacili su acidofilni ili acidotolerantni i tokom rasta obaraju pH supstrata, koji sadrži fermentativne ugljene hidrate, na vrednost oko 4.

Vrsta **Lb. delbrueckii ssp. bulgaricus**, je obligatni homofermentativni laktobacil, što znači da fermentiše heksoze do mlečne kiseline, ali ne fermentiše pentoze i glukonat. *Lb. delbrueckii ssp. bulgaricus* ulazi u sastav starter kultura za jogurt. Za rast zahteva nisku pH vrednost (5,4- 4,6), i ima složene potrebe u ishrani (Salminen i Von Wright, 1998).





**Slika 4.** Vrsta *Lb. delbrueckii ssp. bulgaricus*, rod *Lactobacillus*

#### **1.4.1. Jogurtna kultura**

Jogurtna kultura je naziv za bakterije koje učestvuju u proizvodnji jogurta (Obradović, 2002). Sadrži dve vrste bakterija: ***Streptococcus thermophilus*** i ***Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus*** koje pripadaju bakterijama mlečne kiseline (BMK) (Obradović, 2002). Ove dve vrste bakterija žive u simbiozi. *St. thermophilus* sintetizuje mrvlju kiselinu koja povoljno deluje na *Lb. delbrueckii ssp. bulgaricus*, a u malim količinama sintetizuje i CO<sub>2</sub> koji snižava redoks potencijal i omogućava razvoj *Lb. delbrueckii ssp. bulgaricus*, jer se on razvija u uslovima snižene koncentracije O<sub>2</sub> (Obradović, 2002). *Lb. delbrueckii ssp. bulgaricus* poseduje proteolitičku aktivnost i razgrađuje proteine do aminokiselina, koje stimulatивно deluju na *St. thermophilus* (Obradović, 2002). U mleku se prvo razvija *St. thermophilus* koji snižava pH vrednost i produktima svog metabolizma stvara uslove za razviće *Lb. bulgaricus*, koji zatim svojim produktima metabolizma stimuliše dalji razvoj *St. thermophilus* (Obradović, 2002).

## 2.Ciljevi rada

Imajući u vidu, eksperimentalno i naučno, dokazane činjenice o zdravstvenom značaju i hranljivim svojstvima sojinog mleka, ciljevi ovog rada su:

- ispitivanje mogućnosti rasta jogurtne starter kulture u sojinom mleku,
- ispitivanje uticaja količine inokuluma na rast jogurtne kulture u sojinom mleku,
- ispitivanje uticaja dodatka surutke na rast jogurtne kulture u sojinom mleku.

## **3.Materijali i metode**

### **3.1.Materijal**

#### **3.1.1.Fermentacione podloge**

U ovom radu je, za ispitivanje procesa fermentacije, korišćeno sojino mleko proizvođača Delhaize (Belgija). Nutritivne vrednosti ovog sojinog napitka, u 100 ml proizvoda, su:

- proteini                      3,3 g
- ugljeni hidrati              1,0 g
- masnoće                      1,3 g
- inulin                         2,2 g

Za obogaćivanje sojinog mleka korišćena je komercijalna surutka u prahu (Lučar, Srbija). Sastav surutke je bio sledeći: proteini min. 11%, laktoza min. 61%, mast maks. 2%, suva materija min. 95% i pepeo maks. 9.5%.

Za pripremu inokuluma kojim je zasejavano sojino mleko korišćeno je kravlje mleko sa 0,5% mlečne masti (Imlek, Srbija). Sojino mleko, sojino mleko obogaćeno surutkom i kravlje mleko su pasterizovani kuvanjem na 80°C 30 minuta.

#### **3.1.2.Jogurtna kultura i podloge**

Za fermentaciju sojinog mleka korišćena je jogurtna kultura dobijena iz komercijalnog jogurta (Imlek, Srbija). Inokulum za fermentaciju sojinog mleka dobijen je dvostrukim sukcesivnim zasejavanjem pasterizovanog kravljeg mleka (1,5% v/v). Za početni inokulum je korišćen komercijalni jogurt dok je radni inokulum dobijen zasejavanjem početnog inokuluma u kravlje mleko. Kravlje mleko zasejano jogurtnom kulturom inkubirano je 24 sata na 42°C i nakon inkubacije, merena je pH vrednost. U radu je za inokulaciju fermentacionih podloga uvek korišćen inokulum čija je pH vrednost bila 4,20.

Brojanje bakterijskih ćelija tokom fermentacije rađeno je na selektivnim podlogama za BMK. Korišćena je MRS čvrsta podloga (Torlak, Srbija) koja favorizuje rast laktobacila i M17 čvrsta podloga (Merck, Nemačka) obogaćena 5% glukozom (Zorka, Srbija) za rast streptokoke.

## **3.2. Metode rada**

### **3.2.1. Fermentacija sojinog mleka**

Za fermentaciju sojinog mleka korišćeno je čisto sojino mleko i sojino mleko sa dodatkom surutke (1%, 2%, 4% w/v). Zasejavanje fermentacionih podloga rađeno je prekonocnim inokulumom (pH 4,2) jogurtne kulture. U delu eksperimenta gde je ispitivan uticaj količine inokuluma na proces fermentacije sojinog mleka korišćen je 1%, 3% i 6% (v/v) inokulum jogurtne kulture. Za ispitivanje uticaja surutke na rast jogurtne kulture korišćen je 3% inokulum. U svim eksperimentima korišćena je kontrola, nezasejano sojino mleko. Zasejane fermentisane podloge i kontrolne podloge inkubirane su 24 sata na 42°C. Nakon ovog perioda dobijeni fermentisani napici su čuvani u frižideru na 4°C.

Tok fermentacije praćen je merenjem pH vrednosti fermentacionih podloga i brojanjem ćelija u uzorcima nakon određenog vremenskog perioda. Uzorci su uzimani prvih 5 sati u vremenskim intervalima od 1,5 sata i nakon 24 sata od početka fermentacije. Za određivanje stabilnosti dobijenog fermentisanog napitka uzorci su uzimani u period od 20 dana na svaka 4 dana.

### **3.2.2. Merenje pH vrednosti**

pH vrednosti fermentacionih podloga i kontrola merene su pH metrom (Eutech Instrument, Singapour). Zbog gustine uzoraka, uzorci su razblaživani sa 10 ml destilovane vode.

### **3.2.3. Brojanje bakterijskih ćelija**

Brojanje bakterijskih ćelija u uzorcima iz fermentacionih podloga rađeno je indirektnom metodom brojanja. S obzirom na veliki broj ćelija, početni uzorak je razblaživan u fiziološkom rastvoru (0,85% NaCl). Zasejavanje MRS i M17 podloga rađeno je iz uzoraka sa većim razblaženjem tako da na Petri pločama bude od 30 do 300 kolonija. Zasejane Petri ploče inkubirane su 48 sati na 37°C, nakon čega su brojane izrasle kolonije. Broj ćelija u uzorku dobijen je množenem broja kolonija sa korišćenim razblaženjem i prikazan je kao logN u 1 ml uzorka (logN/ml) gde je N broj kolonija na podlozi.

## 4. Rezultati i diskusija

### 4.1. Rast jogurtne kulture u sojinom mleku

Sojino mleko je beličasta neprovidna tečnost koja se dobija od sojinog zrna specijalnim tehnološkim procesom. Prisustvo n-heksanala i pentanala daje karakterističan miris i ukus ovom mleku koji može biti nepogodan za neke potrošače (Božanić et al., 2011). Jedan od načina prevazilaženja ovog problema je fermentacija sojinog mleka sa BMK koje svojim rastom i sintezom mlečne kiseline mogu da maskiraju prirodan miris sojinog mleka. Osim poboljšanja organoleptičkih svojstava, fermentacija doprinosi boljim nutritivnim vrednostim i antioksidativnom kapacitetu napitka (Božanić et al., 2011).

U mlekarskoj industriji razvijen je veliki broj starter kultura za proizvodnju različitih fermentisanih mlečnih napitaka. Za proizvodnju jogurta koristi se jogurtna kultura koja se sastoji od selekcionisanih sojeva vrsta *St. thermophilus* i *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus*. Ove dve BMK svojim simbiotskim rastom u mleku utiču na organoleptička svojstva jogurta dajući mu prijatan, mlečno kiseli miris i ukus. Zato je u ovom radu izabrana jogurtna kultura za fermentaciju sojinog mleka.

Rast bakterijskih vrsta *St. thermophilus* i *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* u mleku zasniva se na korišćenju laktoze iz mleka kao osnovnog izvora energije i proteolitičkom razlaganju kazeina kao osnovnog izvora amino kiselina. Međutim u sojinom mleku nema laktoze već su saharoza, rafinoza i stahioza najprisutniji ugljeni hidrati (Obendorf i Kosina, 2011). Takođe, proteini soje su sasvim drugačijeg sastava i strukture u odnosu na kazein u mleku. Zato je ispitivanje mogućnosti rasta jogurtne kulture rađeno, osim u čistom sojinom mleku, i u sojinom mleku obogaćenom surutkom. Surutka je dodata kao izvor laktoze i proteina.

Rast jogurtne kulture određivan je merenjem pH vrednosti fermentacionih podloga nakon zasejavanja podloga jogurnom kulturom i inkubacije od 24 sata na 42°C. Takođe, rađeno je i brojanje bakterijskih ćelija jogurtne kulture nakon 24 sata inkubacije. Dobijeni rezultati prikazani su u Tabeli 1.

Tabela 1: pH vrednosti sojinog i obogaćenog sojinog mleka i broj bakterijskih ćelija u njima nakon fermentacije sa jogurtnom kulturom

Uzorak	pH vrednost	Brj ćelija (logN/ml)	
		M17	MRS
1.sojino mleko	4,23	6,5	6,04
2.sojino mleko + 1% surutka	4,13	6,3	5,77
3.sojino mleko + 2% surutka	3,97	5,51	4,9
4.sojino mleko + 4% surutka	3,86	4,47	4,47

Rastom BMK iz jogurtne kulture u sojinom mleku, pH fermentacione podloge nakon 24 sata inkubacije snižena je od početne vrednosti nefermentisanog mleka od 6,4 do 4,23 (Tabela 1). Ova pH vrednost pokazuje da bakterijske vrste *St. thermophilus* i *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* mogu da rastu i sintetišu kiseline u sojinom mleku. U ovom radu nije rađena kvalitativna analiza sintetisanih kiselina ali je verovatno sintetisana mlečna kiselina kao glavni produkt metabolizma BMK. Dodatak surutke u sojino mleko, stimuliše sintezu kiselina. Najmanja izmerena pH vrednost obogaćenog mleka sa surutkom bila je 3, 86 u fermentacionoj podlozi sa 4% surutke (Tabela 1).

Broj bakterijskih ćelija na obe korišćene podloge najveći je u fermentisanom sojinom mleku (Tabela 1). Na M17 podlozi koja je selektivna za rast vrste *St. thermophilus* broj ćelija je bio 6,5 logN/ml. Nešto manji broj ćelija bio je na MRS podlozi (6, 04 logN/ml) koja favorizuje rast vrste *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus*. Sa dodatkom veće količine surutke u sojino mleko broj ćelija na obe korišćene podloge opada (Tabela 1). Opadanje broja ćelija je posledica smanjivanja pH vrednosti fermentacionih podloga sa surutkom. Iako BMK imaju veću otpornost na inhibitorno delovanje mlečne kiseline u odnosu na druge grupe bakterija, povećana količina mlečne kiseline deluje inhibitorno i na njihove ćelije.

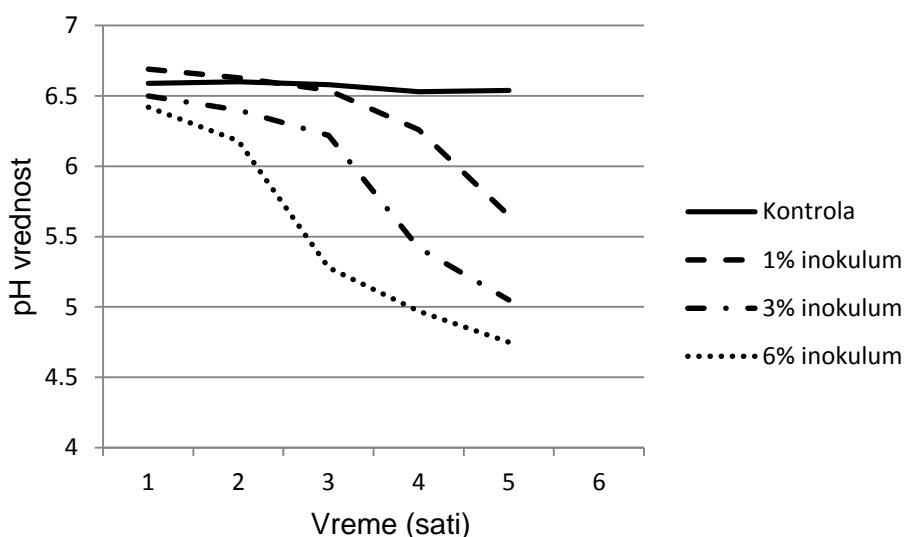
Na osnovu dobijenih rezultata pokazano je da je sojino mleko pogodan supstrat za rast jogurtne kulture tako da je u daljem radu korišćeno čisto sojino mleko.

#### 4.2.Uticaj inokuluma na rast jogurtne kulture

Rast starter kultura u određenoj podlozi zavisi od hemijskog sastava podloge, vrste starter kultura, kao i od tehnoloških parametara koji uključuju temperaturu na kojoj se radi

fermentacija i količinu inokuluma koja se dodaje u fermentacionu podlogu. U ovom radu je dalje ispitan uticaj inokuluma (1%, 3%, 6% ) na proces fermentacije sojinog mleka. Fermentacija je praćena 5 sati jer je to dovoljno vreme za snižavanje pH vrednosti sojinog mleka na 4,6 što predstavlja izoelektričnu tačku proteina soje (Vissesanguan et al., 2005).

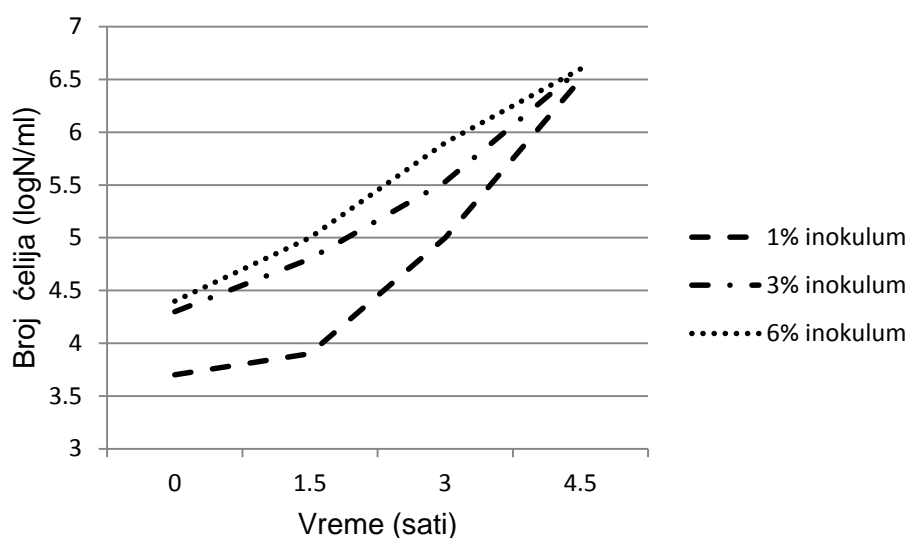
Na slici 5 prikazana je promena pH vrednosti sojinog mleka tokom 5 sati fermentacije sa različitom količinom inokuluma. Najmanja pH vrednost (4,75) je postignuta sa 6% inokulumom dok su pH vrednosti sojinog mleka sa 1% i 3% inokulumom bile veće (5,65 i 5,05). U radu Božanića i saradnika (2011) pH vrednost sojinog mleka fermentisanog jogurtom kulturom YCX11 sa dodatkom *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb12, je 4,6 nakon 4 sata fermentacije. Brža fermentacija u ovom radu postignuta je direktnim korišćenjem dehidratiranih starter kultura a ne inokuluma kao u našem radu. Korišćenje prekonocnog inokuluma verovatno je smanjilo početni broj ćelija u inokulumu.



**Slika 5.** Uticaj količine inokuluma na promenu pH vrednosti sojinog mleka tokom fermentacije

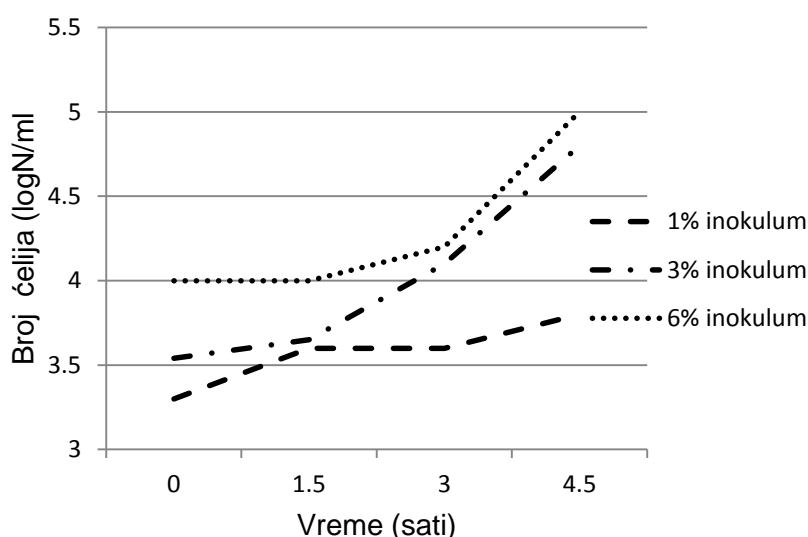
Određivanje broja ćelija tokom fermentacije rađeno je na M17 i MRS podlozi (Slika 6 i 7). Broj ćelija na obe podloge najveći je u fermentacionoj tečnosti gde je za zasejavanje korišćen 6% inokulum jer je tu unesen i najveći broj ćelija inokulacijom. Na M17 podlozi broj ćelija vrste *St. thermophilus* je veći u odnosu na broj laktobacila određivan na MRS podlozi.

U prethodnim studijama fermentacije sojinog mleka sa jogurtnom kulturom pokazano je da streptokoke bolje i brže rastu u odnosu na laktobacile u sojinom mleku (Božanić et al., 2008)



**Slika 6.** Promena broja ćelija na M17 podlozi tokom fermentacije sojinog mleka sa različitim količinom inokuluma

U fermentacionoj podlozi gde je korišćen 1% inokulum rast streptokoka je najsporiji na početku fermentacije ali na kraju praćenog fermentacionog perioda broj ćelija streptokoka je isti bez obzira na količinu inokuluma koji je korišćen i iznosi 6,6 log N/ml (Slika 6).



**Slika 7.** Promena broja ćelija na MRS podlozi tokom fermentacije sojinog mleka sa različitim količinom inokuluma



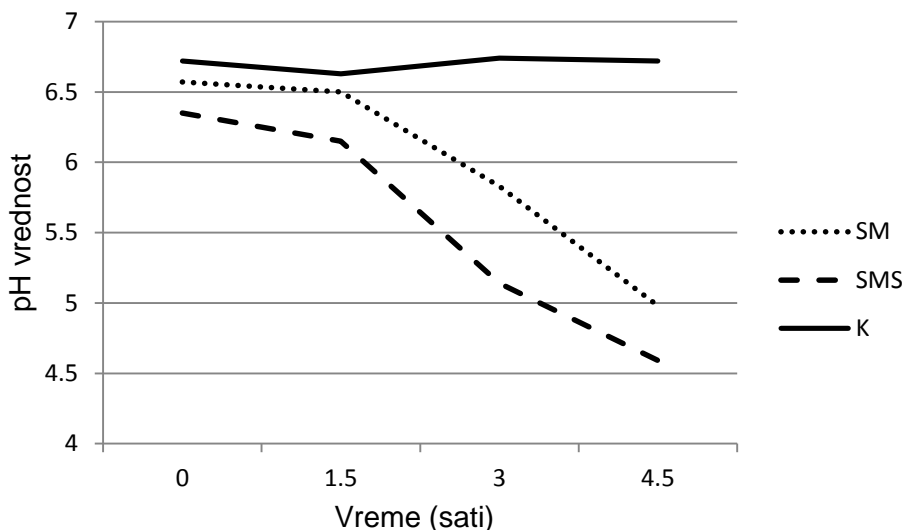
Vrsta *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* osim što je imala slabiji rast u sojinom mleku tokom fermentacije u odnosu na streptokoke, pokazuje i različite načine rasta u zavisnosti od količine inokuluma. Tako, laktobacili imaju konstantnu brzinu rasta samo kada je korišćen 3% inokulum. Korišćenje 1% inokuluma dovelo je do produženja početne faze rasta laktobacila tako da tek nakon 3 sata fermentacije dolazi do znatnijeg povećanja broja ćelija laktobacila. Sličan rezultat dobijen je i prilikom rasta laktobacila u sojinom mleku gde je korišćen 6% inokulum.

Broj obe vrste bakterija nakon 5 sati fermentacije sojinog mleka u našem radu je za oko 2 logN/ml manji u odnosu na rezultate istraživanja Božanića i saradnika (Božanić et al., 2011). Rast BMK u sojinom mleku zavisi od aktivnosti  $\alpha$ -galaktozidaza koja se značajno razlikuje među sojevima BMK (Donkor et al., 2007) čime se mogu objasniti dobijeni rezultati. Iako vrsta *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ima slabu  $\alpha$ -galaktozidaznu aktivnost, može da raste sa vrstom *St. thermophilus* u sojinom mleku (Famworth et al., 2007).

#### **4.3. Uticaj dodavanja surutke na rast jogurtne kulture**

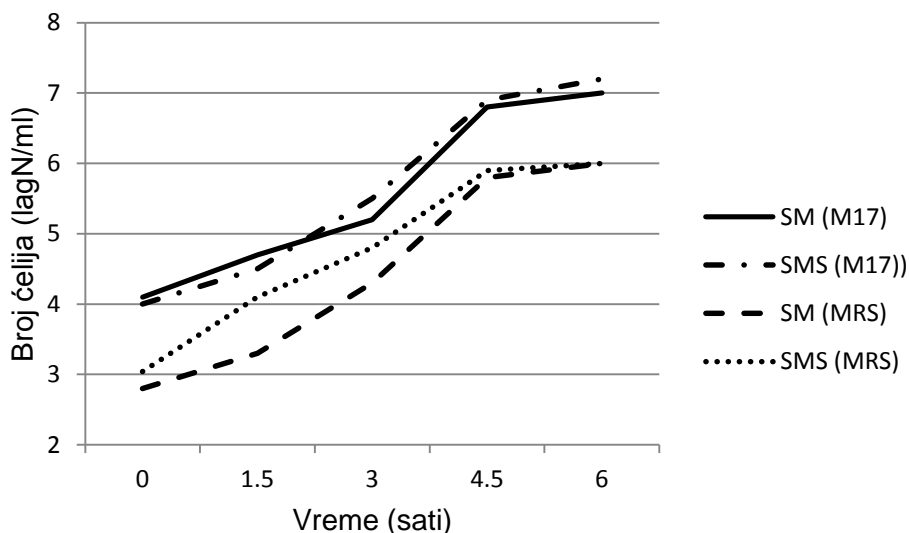
Surutka koja nastaje u procesima proizvodnje sira i kazeina se često koristi za proizvodnju fermentisanih funkcionalnih napitaka. Prisustvo laktoze i protein u surutki pospešuju rast BMK koje se koriste za dobijanje fermentisanih napitaka. Surutka, takođe, ima pozitivan efekat na zdravlje ljudi (Bulatović et al., 2012).

Fermentacija sojinog mleka i sojinog mleka obogaćenog surutkom (1% w/v) rađena je sa 3% inokulumom aktivirane jogurtne kulture. Promena pH vrednosti fermentisanih podloga u petočasovnoj fermentaciji pokazuje da je veća količina sintetisanih kiselina u sojinom mleku sa dodatkom surutke (Slika 8). Iako BMK mogu da koriste veći broj ugljenih hidrata kao izvore energije, laktoza se brže prevodi u mlečnu kiselinu od drugih ugljenih hidrata koji se nalaze u sojinom mleku. Pozitivan efekat surutke na sintezu organskih kiselina pri fermentaciji jogurta pokazan je u različitim radovima (Kavaz i Bakirci, 2014).



**Slika 8.** Promena pH vrednosti sojinog mleka (SM) i sojinog mleka obogaćenog surutkom (SMS) tokom fermentacije K-kontrola

Broj ćelija jogurtne starter kulture tokom fermentacije sojinog mleka i obogaćenog sojinog mleka detektovan na M17 i MRS podlozi prikazan je na slici 9. Dodatak surutke dovodi do bržeg rasta obe bakterijske vrste iz jogurtne starter kulture. Kazein prisutan u surutki, kao i laktoza, omogućavaju brži metabolizam bakterija, sintezu veće količine energije pa samim tim i brži rast.



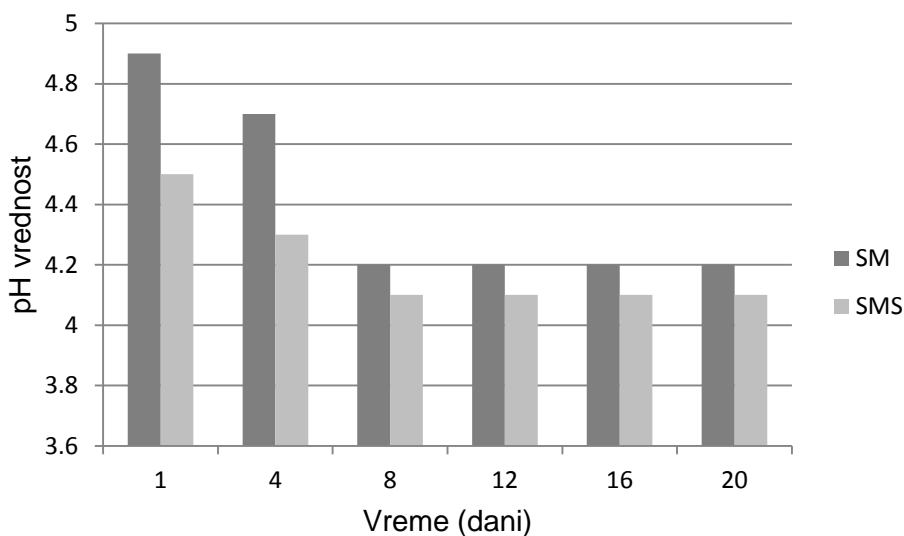
**Slika 9.** Promena broja ćelija tokom fermentacije sojinog mleka (SM) i sojinog mleka obogaćenog surutkom (SMS) određivana na M17 I MRS podlozi

Broj ćelija vrste *St. thermophilus* je veći za oko 1 logN/ml u odnosu na broj ćelija vrste *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* što opet potvrđuje prethodno prikazane rezultate u ovom radu, da je sojino mleko bolji supstrat za rast streptokoka.

#### 4.4. Stabilnost fermentisanih napitaka tokom skladištenja

Stabilnost fermentisanih napitaka tokom čuvanja proizvoda nakon izvršene fermentacije je značajna karakteristika koja ukazuje na mogućnost kvarenja proizvoda i održavanja njegovih organoleptičkih karakteristika. Fizičko-hemijski parametri kao što su pH vrednost, viskoznost i kapacitet zadržavanja vode su osnovni pokazatelji stabilnosti proizvoda tokom čuvanja u dužem vremenskom periodu (Stijepić et al., 2013).

Fermentisano sojino mleko i sojino mleko obogaćeno surutkom su odmah nakon 5 sati fermentacije prebačeni u frižider. Na slici 10 prikazana je pH vrednost fermentisanih napitaka od soje tokom skladištenja na 4°C u periodu od 20 dana.



**Slika 10.** pH vrednosti fermentisanog sojinog mleka (SM) i sojinog mleka sa dodatkom surutke (SMS) tokom čuvanja na 4°C

U prvih 8 dana skladištenja dolazi do pada pH vrednosti dobijenih fermentisanih napitaka.. Pad pH vrednosti u fermentisanom sojinom mleku je 0,7 dok je u fermentisanom sojinom mleku sa dodatkom surutke nešto manji (0,4). Nakon ovog perioda pH vrednost oba fermentisana mleka ostaje nepromenjena do 20. dana.

## 5. Zaključak

Na osnovu rezultata dobijenih u ovom radu mogu se doneti sledeći zaključci:

1. Sojino mleko je dobar supstrat za rast jogurtne starter kulture
2. Veća količina inokuluma povećava brzinu fermentacije sojinog mleka kao i broj bakterijskih ćelija u fermentisanoj podlozi
3. Bakterija *St. thermophilus* pokazuje bolji rast u sojinom mleku u odnosu na bakteriju *Lb. delbrueckii ssp. bulgaricus*
4. Dodavanje surutke u sojino mleko dovodi do povećanja brzine fermentacije i povećanja broja ćelija u fermentacionim podlogama
5. Dobijeni fermentisani napici nakon 8. dana skladištenja ostaju stabilni do 20. dana na temperature od 4°C

## 6.Literatura

Amalar Santos, C. C. A., Silva Libeck, B., Schwan, R. F., 2014: Co-culture fermentation of peanut-soy milk for the development of a novel functional beverage. - *International Journal of Food Microbiology* **186**: 32-41,

<http://www.sciencedirect.com.proxy.kobson.nb.rs/2048/science/article/pii/S0168160514002955.pdf>

Al- Sheraji, S. H., Ismail, A., Manap, M. Y., Mustafa, S., Yusof, R. M., Hassan, F. A., 2013: Prebiotics as functional foods: A review. – *Journal of functional foods* **5**: 1542- 1553.

Altay, F., Karbancıoglu-Güler, F., Daskaya-Dikmen, C., Heperkan, D., 2013: A review on traditional Turkish fermented non-alcoholic beverages: Microbiota, fermentation process and quality characteristics. - *International Journal of Food Microbiology* **167**: 44-56,

<http://www.sciencedirect.com.proxy.kobson.nb.rs:2048/science/article/pii/S0168160513003073>

Bigliardi, B., Galati, F., 2013: Innovation trends in the food industry: The case of functional foods. – *Trends in Food Science & Technology* **31**: 118- 129.

Božanić, R., Letikapić, G., Lovković, S., 2008: Influence of temperature and glucose addition on growth and survival of BCT culture in soymilk. – *Mljekarstvo* **58**: 171- 179.

Božanić, R., Lovković, S., Jeličić, I., 2011: Optimising fermentation of soymilk with probiotic bacteria. – *Czech Journal Food SC.* **29**: 51- 56.

Bulatović, M., Rakin, M., Mojović, Lj., Nikolić, S., Sekulić, M. V., Vukotić, A., 2012: Surutka kao sirovina za proizvodnju funkcionalnih napitaka. – *Hemijska industrija* **66**: 567- 579.

Carić, M., Milanović, S., Vucelja, D., 2000: Standardne metode analize mleka i mlečnih proizvoda. - Tehnološki fakultet, Novi Sad.

Diplock, A.T., Aggett, P., Ashwell, M., Bornet, F., Fern, E., Roberfroid, M., 1999: Scientific concepts of functional food science in Europe. – *Brit. Journal Nutr. Suppl.* **1**: 1- 28.

- Dunne, L. J., 1996: Sve o zdravstvenoj prehrani. – Mate, Hrvatska.
- Duraković, S., Delaš, F., Duraković, L., 2002: Moderna mikrobiologija namirnica- knjiga prva. - Kugler, Zagreb.
- Duraković, S., 2003: Mikrobiologija u biotehnologiji. - Kugler, Zagreb.
- Đukić, A. D., Mančić, G. L., 2012: Tehnologija mikrobioloških proizvoda. - Prosveta, Beograd.
- Espirito- Santo, A. P., Rivier, C. M., Humbolt, C., Cazevielle, C., Verniere, C. I., Soccol, C. R., Guyot, J. P., 2014: Influence of cofermentation by amylolytic *Lactobacillus* strains and probiotic bacteria on the fermentation process, viscosity and microstructure of gruels made of rice, soy milk and passion fruit fiber. – *Food Research International* **57**: 104- 113.
- Farnworth, E. R., Mainville, I., Desjardins, M. P., Gardner, N., Fliss, I., Champagne, C., 2007: Growth of probiotic bacteria and bifidobacteria in a soy yogurth formulation. – *International Journal of Food Microbiology* **116**: 174- 181.
- Goetzke, B., Nitzko, S., Spiller, A., 2014: Consumption of organic and functional food. A matter of well- being and health?. – *Appetite* **77**: 94- 103.
- Kavaz, A., Bakirci, I., 2014: Influence of inulin and demineralised whey powder addition on the organic and profiles of probiotic yoghurts. – *International Journal of Dairy Technology* **67**: 577- 583.
- Ladokun, O., Oni, S., 2014: Fermented Milk Products from Different Milk Types. – *Food and Nutrition Sciences* **5**(13): 1228-1233,  
<http://www.scirp.org/journal/PaperDownload.aspx?DOI=10.4236/fns.2014.513133>
- Marković, D., 2009: Kiselo mlečni proizvodi. – Kuća štampe, Zemun.
- Maćej, O., Jovanović, S., Barać, M., 2007: Proteini mleka. -Poljoprivredni fakultet, Beograd.
- Mirić, M., Šobajić, S. S., 2002: Zdravstvena ispravnost namirnica. – Zavod za udžbenike, Beograd.
- Mujić, I., Sarić, O., Sarić, Z., Alibabić, V., 2008: Sojino mleko- proizvodnja, prerada i zdravstveni aspekti. – Grafičar, Bihać.

- Nikolić, B., 1964: Biohemija. - Naučna knjiga, Beograd.
- Obendorf, R. L., Kosina, S.M., 2011: Soluble carbohydrates in soybean. – Cornell University, USA,  
<http://www.intechopen.com/books/soybean-biochemistry-chemistry-and-physiology/soluble-carbohydrates-in-soybean>
- Obradović, D., 2002: Tehnološka mikrobiologija. – Beograd,  
<http://www.sirikajmak.rs/documents/predavanja-tehn-mikrobiologija.pdf>
- Olmos, A. R., Bru, E., Garro, M. S., 2014: Optimization of fermentation parameters to study the behavior of selected lactic cultures on soy solid state fermentation. – *International Journal of Food Microbiology* **196**: 16- 23.
- Pescuma, M., Hebert, E. M., Mozzi, F., Font de Valdez, G., 2008: Whey fermentation by thermophilic lactic acid bacteria: Evolution of carbohydrates and protein content. – *Food Microbiology* **25**: 442-451,  
<http://www.sciencedirect.com.proxy.kobson.nb.rs:2048/science/article/pii/S0740002008000233>
- Pescuma, M., Hebert, E. M., Mozzi, F., Font de Valdez, G., 2010: Functional fermented whey-based beverage using lactic acid bacteria. – *International Journal of Food Microbiology* **141**: 73-81,  
<http://www.sciencedirect.com.proxy.kobson.nb.rs:2048/science/article/pii/S0168160510002217>
- Salminen, S., Von Wright, A., 1998: Lactic acid bacteria. – Marcel, Dekker.
- Simić, D., 1988: Mikrobiologija I. – Naučna knjiga, Beograd.
- Stijepić, M., Glušac, J., Milošević, Đ. D., Mikulec, P. D., 2013: Physicochemical characteristics of soy probiotic yoghurt with inulin addition during the refrigerated storage. – *Romanian Biotechnological Letters* **18**: 8077- 8085.
- Tamang, J. P., 2015: Naturally fermented ethnic soybean foods of India. – *Journal of Ethnic Foods* **2**: 8- 17.
- Tošović, T., 1983: Proizvodi od soje i njihova primena. – Zadruga, Beograd.

Vissesanguan, W., Benjakul, S., Potachareon, W., Panya, A., Riebroy, S., 2005: Accelerated proteolysis of soy proteins during fermentation of Thua- Nao inoculated with *Bacillus subtilis*. – *Journal of Food Biochemistry* **29**: 349- 366.

Vranješ, A. P., Vujičić, I., 1997: Tehnologija surutke. – Poljoprivredni fakultet, Novi Sad.

Widyastuti, Y., Rahmatussolihat, Febrisiantosa, A., 2014: The Role of Lactic Acid Bacteria In Milk Fermentation. - *Food and Nutrition Sciences* **5**: 435-442,

<http://www.scirp.org/journal/PaperDownload.aspx?DOI=10.4236/fns.2014.54051>

Zorba, M., Hancioglu, O., Genc, M., Karapinar, M., Ova, G., 2002: The use of starter cultures in the fermentation of boza, a traditional Turkish beverage. - *Process Biochemistry* **38**: 1405-1411,

<http://www.sciencedirect.com.proxy.kobson.nb.rs:2048/science/article/pii/S00329592030003>

[35](#)

Žakula, R., 1980: Mikrobiologija hrane. - Tehnološki fakultet, Novi Sad.