ŻYWNOŚĆ. Nauka. Technologia. Jakość, 2022, 29, 2 (131), 57 – 69

DOI: 10.15193/zntj/2022/131/418

NIKOLA ŚMIGIELSKA, ANNA SZOSLAND-FAŁTYN,
BEATA BARTODZIEJSKA

PRZEŻYWALNOŚĆ BAKTERII PROBIOTYCZNYCH W INNOWACYJNYM NAPOJU NA BAZIE OCTU OWOCOWEGO I SERWATKI

S t r e s z c z e n i e

Wprowadzenie. Serwatka, stanowiąca odpad w zakładach mleczarskich, jest niedocenianym surowcem o dużych właściwościach odżywczych. Jednym ze sposobów jej wykorzystywania może być produkcja fermentowanych napojów. Celem badań było opracowanie innowacyjnego fermentowanego napoju na bazie serwatki i octu owocowego oraz określenie w nim przeżywalności dwóch probiotycznych szczepów bakterii kwasu mlekowego. Zakres pracy obejmował przygotowanie poszczególnych komponentów, dobranie właściwych ich proporcji oraz sprawdzenie wpływu warunków i czasu przechowywania na przeżywalność szczepów. Materiał biologiczny stanowiły szczepy drożdży winiarskich *Saccharomyces cerevisiae,* szczepy bakterii octowych *Acetobacter pasterianus* O4 i *Acetobacter pasterianus* MW3 oraz szczepy bakterii kwasu mlekowego: *Lacticaseibacillus rhamnosus* GG ATCC 53103 oraz *Lactiplantibacillus plantarum* LMG P-21021. Przeżywalność bakterii mlekowych zbadano w warunkach beztlenowych. Serwatkę zmieszano z octem jabłkowym w proporcjach 10 % i 50 % octu. Napój przetrzymywano w temperaturze 21 ± 2 °C i 3 ± 2 °C przez 21 dni.

Wyniki i wnioski. Napój analizowano raz w tygodniu, a liczba bakterii kwasu mlekowego po 21 dniach przechowywania kształtowała się na wysokim poziomie, przekraczając rekomendowaną przez WHO liczbę bakterii w napojach probiotycznych – $10^6 \div 10^7$ jtk/cm^3. Napój na bazie serwatki i dodatku 10 % octu był dobrym medium, a liczba bakterii mlekowych w tym napoju w każdym jego wariancie wynosiła średnio 8,4 ± 0,29 log jtk/cm^3.

Słowa kluczowe: serwatka, ocet, bakterie kwasu mlekowego (LAB), bakterie kwasu octowego (AAB), napój fermentowany, probiotyki

Wprowadzenie

Serwatka kwasowa, powstająca w największych ilościach przy produkcji twarogów i serków wiejskich, jest jednym z głównych produktów ubocznych przemysłu

Mgr N. Śmigielska, dr inż. A. Szosland-Fałtyn, ORCID: 0000-0002-5004-8059, dr B. Bartodziejska, ORCID: 0000-0002-5492-5514, Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego – Państwowy Instytut badawczy in. Prof. W. Dąbrowskiego w Warszawie, ul. Rakowiecka 36, 02-532 Warszawa; Kontakt: nikola.smigielska@ibprs.pl

mleczarskiego. Stanowi około 85 ÷ 90 % objętości mleka i jest bogata w wiele cennych składników, takich jak: białko, laktoza, wapń i fosfor, kwasy organiczne oraz witaminy [17, 20]. Serwatka kwasowa powstaje na drodze koagulacji mleka poprzez ukwaszanie i charakteryzuje się pH poniżej wartości 5,0. Obecność kwasu mlekowego, a także niskie pH oraz wysokie stężenie minerałów czyni ją produktem trudnym do wykorzystania. Znalazła zastosowanie w przemyśle rolniczym jako nawóz, a także jako dodatek do pasz dla zwierząt hodowlanych. Wykorzystywana jest również w innych obszarach np. jako podłoża hodowlane dla mikroorganizmów, a także jako substrat do produkcji biopaliw [16, 17, 22]. Badania przeprowadzone na przestrzeni ostatnich lat świadczą o pozytywnym wpływie serwatki na zdrowie dzieci oraz osób dorosłych [21]. Serwatka ma działanie przeciwdrobnoustrojowe, przeciwwirusowe oraz przeciwutleniające, a także wspomagające w leczeniu nowotworów i chorób sercowo-naczyniowych [20]. Ponadto, serwatka ze względu na dużą zawartość białka wpływa pozytywnie na regenerację organizmu po wysiłku fizycznym [5, 23]. Z uwagi na jej prozdrowotne działanie poszukuje się sposobów polepszenia smaku serwatki i jej wykorzystania w produkcji napojów [19, 20].

Ocet jest produktem powszechnie wykorzystywanym do konserwowania żywności, ale także używanym jako polepszacz smaku wielu potraw. Z uwagi na skład bogaty w związki aktywne, m.in.: kwasy organiczne, polifenole, witaminy oraz melanoidy, posiada wiele korzystnych właściwości. Udowodniono działanie przeciwhiperglikemiczne, przeciwhiperlipidemiczne, a także przeciwdrobnoustrojowe, przeciwutleniające i przeciwzapalne octu [1, 4, 6].

Celem pracy było opracowanie receptury innowacyjnego fermentowanego napoju na bazie serwatki i octu owocowego oraz ocena przeżywalności dwóch probiotycznych szczepów bakterii kwasu mlekowego. Dodatkową motywacją do opracowywania napoju na bazie serwatki z dodatkiem octu owocowego było ograniczenie marnowania owoców, a co za tym idzie soków owocowych, z których nadprodukcją zmagają się rolnicy oraz mali i średni przedsiębiorcy rolni.

Materiał i metody badań

Przedmiotem badań były napoje na bazie octu owocowego i serwatki. Do produkcji octu użyto ekologicznego soku jabłkowego **(**Żywność Ekologiczna Bio Food sp. z o.o.**),** poddanego procesowi fermentacji alkoholowej poprzez wprowadzenie szczepów drożdży z kolekcji kultur Instytutu Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego Państwowego Instytutu Badawczego (IBPRS-PIB) *Saccharomyces cerevisiae* rasy Tokay. Po przeprowadzonej fermentacji alkoholowej do otrzymanego półproduktu dodano szczepy bakterii kwasu octowego *Acetobacter pasterianus* O4 oraz *Acetobacter pasterianus* MW3 pochodzące z kolekcji IBPRS-PIB w celu przeprowadzenia fermentacji octowej. Szczepami probiotycznymi użytymi do ukwaszenia mleka w celu

otrzymania serwatki były *Lacticaseibacillus rhamnosus* GG ATCC 53103 oraz *Lactiplantibacillus plantarum* LMG P-21021 pochodzące z preparatów farmaceutycznych, komercyjnie dostępnych.

Przed rozpoczęciem procesu przygotowania octu sprawdzono jakość mikrobiologiczną soku jabłkowego. Posiew przeprowadzono metodami zgodnymi z obowiązującymi normami, w kierunku: ogólnej liczby drobnoustrojów przy użyciu podłoża PCA (Oxoid, Wielka Brytania), mezofilnych bakterii fermentacji mlekowej z wykorzystaniem podłoża MRS (Merck, Niemcy), *Enterobacteriaceae* używając podłoża VRBG (Merck, Niemcy), *Escherichia coli* z wykorzystaniem podłoża TBX (Oxoid, Wielka Brytania), gronkowców koagulazo-dodatnich na podłożu RPF z suplementem (Oxoid, Wielka Brytania), pleśni i drożdży, używając podłoża z chloramfenikolem (Merck, Niemcy), a także w kierunku wykrycia obecności patogenów: *Listeria monocytogenes* przy użyciu pożywek: Half Fraser, Fraser oraz ALOA (Graso, Polska) oraz *Salmonella* spp., stosując pożywki: MKTT, Rambach (Merck, Niemcy) i podłoża RVS i XLD (Oxoid, Wielka Brytania) [8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15]. Pierwszy etap otrzymywania octu stanowiła beztlenowa fermentacja alkoholowa w temperaturze 25 °C z wykorzystaniem drożdży winiarskich *S. cerevisiae* (o gęstości inokulum 10^6 jtk/cm^3), trwająca 7 dni. Powstały w tym procesie półprodukt analizowano na zawartość alkoholu według normy PN-A-79120-04:1990, która polega na oddestylowaniu alkoholu z próbki i odczytaniu mocy z tablic na podstawie piknometrycznie oznaczonej gęstości destylatu [7].

Kolejnym etapem była biosynteza kwasu octowego w temperaturze 30 °C, do której użyto półproduktu otrzymanego na drodze fermentacji alkoholowej oraz szczepów bakterii octowych (AAB) *A. pasterianus* O4 i *A. pasterianus* MW3, których łączna gęstość inokulum wynosiła 10^6 jtk/cm^3. Podczas procesu biosyntezy kwasu octowego oznaczano moc powstającego octu zgodnie z metodyką opisaną przez Czubę [2] poprzez bezpośrednie miareczkowanie 1 ml octu roztworem NaOH o stężeniu 0,1 M wobec roztworu fenoloftaleiny jako wskaźnika oraz przeliczenia według obowiązującego wzoru.

Przed dodaniem probiotycznych bakterii kwasu mlekowego do mleka pasteryzowanego w temperaturze 65 °C przez 30 minut (niska pasteryzacja) sprawdzono jego jakość mikrobiologiczną z użyciem metod analogicznych do wykorzystywanych podczas analizy soku jabłkowego. Mleko z dodatkiem probiotycznych bakterii kwasu mlekowego (LAB) w trzech różnych wariantach (z dodatkiem *L. rhamnosus* GG ATCC 53103, z dodatkiem *L. plantarum* LMG P-21021 oraz z dodatkiem obu tych szczepów) (o gęstości inokulum 10^8 jtk/cm^3), przelano do jałowych butelek i inkubowano przez 4 dni w temperaturze 21 ± 1 °C. Powstały skrzep przełożono do sita i oddzielono od serwatki.

Z uwagi na potencjalnie prozdrowotne działanie uzyskanego napoju określono zawartość pierwiastków w otrzymanym occie, a ze względów bezpieczeństwa oznaczono zawartość metali ciężkich. Oznaczono zawartość Ca, Mn, Mg, Zn, Cu, Fe, K, Na i NaCl oraz metali ciężkich: Cd, Pb i Hg. Oznaczanie pierwiastków oraz kadmu i ołowiu wykonano w oparciu o procedurę metody płomieniowej spektrometrii absorpcji atomowej (FAAS) na aparacie Hitachi Z-200. Próbki mineralizowano na sucho w piecu muflowym w temperaturze 420 ÷ 450 °C. Po mineralizacji i rozpuszczeniu, próbki oznaczano spektrometrycznie z użyciem krzemowej lampy diodowej UV. Stężenie pierwiastków określano na podstawie krzywych wzorcowych. Zawartość rtęci oznaczano przy użyciu metody atomowej spektrometrii absorpcyjnej (AAS) w analizatorze rtęci AMA 254. Próbkę umieszczono na podajniku aparatury, gdzie następowało jej suszenie oraz spalanie w 1000 °C, po czym następował pomiar absorbancji przy długości fali 253,65 nm.

W ostatnim etapie zmieszano powstałe warianty serwatki z octem w odpowiedniej ilości, tak aby otrzymać 10-procentową i 50-procentową zawartość octu w napoju i przechowywano je w dwóch temperaturach: 3 °C oraz 21 °C przez okres 21 dni. Przeżywalność probiotycznych bakterii fermentacji mlekowej sprawdzano we wszystkich wariantach napoju (łącznie 12 rodzajów napoju) w czasie 0, po 2, 7, 14 i 21 dniach, wysiewając 1 cm^3 odpowiednich rozcieńczeń i zalewając płynnym podłożem MRS (w trzech powtórzeniach). Tak przygotowane płytki inkubowano w 37 °C ± 1 °C w warunkach beztlenowych w systemie Anaerobe Gas Generating Pouch (Thermo Scientific), zgodnie z normą PN-ISO 15214:2002 [13] przez 48 h.

Analizę wyników przeprowadzono w programie Statistica (wersja 14, Statsoft, Polska). Wykonano test T dla prób zależnych przy $p \leq 0,05$, aby określić różnice statystycznie istotne pomiędzy czasem 0, a poszczególnymi dniami przechowywania przygotowanych napojów. W celu określenia różnic statystycznie istotnych pomiędzy różnymi temperaturami przechowywania napoju oraz różnymi mocami octu użytego do produkcji napoju wykonano test T dla prób niezależnych przy $p \leq 0,05$.

Wyniki i dyskusja

Wyniki badań jakości mikrobiologicznej ekologicznego soku jabłkowego użytego do produkcji octu oraz niskopasteryzowanego mleka użytego do wyprodukowania serwatki, przedstawiono w tab. 1. Podczas analizy soku jabłkowego nie zaobserwowano wzrostu bakterii, pleśni ani drożdży. Nie wykryto również patogenów, co świadczyło o jałowości soku. W przypadku analizy mikrobiologicznej mleka określono ogólną liczbę drobnoustrojów na podłożu PCA, na pozostałych podłożach wzrostu nie zaobserwowano.

Tabela 1. Wyniki oceny jakości mikrobiologicznej soku jabłkowego i mleka
Table 1. Results of the microbiological quality assessment of apple juice and milk

Parametr mikrobiologiczny Microbiological parameter	Wynik / Result	
	Sok jabłkowy / Apple juice	Mleko / Milk
Ogólna liczba drobnoustrojów [jtk/cm^3] Total count of bacteria [cfu/cm^3]	< 1	3,7 ±0,02
Liczba bakterii kwasu mlekowego [jtk/cm^3] Count of Lactic Acid Bacteria [cfu/cm^3]	< 1	< 1
Liczba *E. coli* [jtk/cm^3] Count of *E.coli* [cfu/cm^3]	< 1	< 1
Liczba *Enterobacteriaceae* [jtk/cm^3] Count of *Enterobacteriaceae* [cfu/cm^3]	< 1	< 1
Liczba gronkowców koagulazododatnich [jtk/cm^3] Count of coagulase-positive staphylococci [cfu/cm^3]	< 1	< 1
Liczba drożdży i pleśni [jtk/cm^3] Count of yeasts and moulds [cfu/cm^3]	< 1	< 1
Obecność *Salmonella* spp. Presence of *Salmonella* spp.	nie wykryto / not detected	nie wykryto not detected
Obecność *Listeria monocytogenes* Presence of *Listeria monocytogenes*	nie wykryto / not detected	nie wykryto not detected

Objaśnienia / Explanatory notes:
W tabeli przedstawiono wartości średnie ± odchylenia standardowe / The table shows mean values ± standard deviations

Podczas procesu fermentacji alkoholowej z wykorzystaniem wyselekcjonowanych szlachetnych drożdży winiarskich kontrolowano zawartość alkoholu, która po 7 dniach wyniosła 7,5 %. W następnym etapie przeprowadzano biosyntezę kwasu octowego, używając produktu powstałego podczas fermentacji alkoholowej oraz szczepów AAB. Podczas trwającej fermentacji octowej analizowano na bieżąco moc powstającego octu, która finalnie, po 77 dniach wynosiła 4,4 %.

Zawartość pierwiastków oraz metali ciężkich w occie jabłkowym przedstawiono w tabeli 2. Zawartość pierwiastków była na wysokim poziomie, co potwierdza wcześniej sugerowane, prozdrowotne działaniu octu. Zawartość metali ciężkich (Cd, Pb, Hg) w occie była poniżej granicy oznaczalności, co z kolei świadczy o bezpieczeństwie produktu.

Liczba bakterii probiotycznych w napojach dla wszystkich badanych szczepów wyjściowo wynosiła średnio 8,0 ± 0,31 log jtk/cm^3. Przedstawiono wyniki dla napojów o mocy octu 10 % i 50 % przechowywanych w temperaturze 3 °C oraz 21 °C przez okres 21 dni. Napój analizowano po 0, 2, 7, 14 i 21 dniach przechowywania. Różnice statystycznie istotne, pomiędzy czasem 0, a poszczególnymi dniami przechowywania

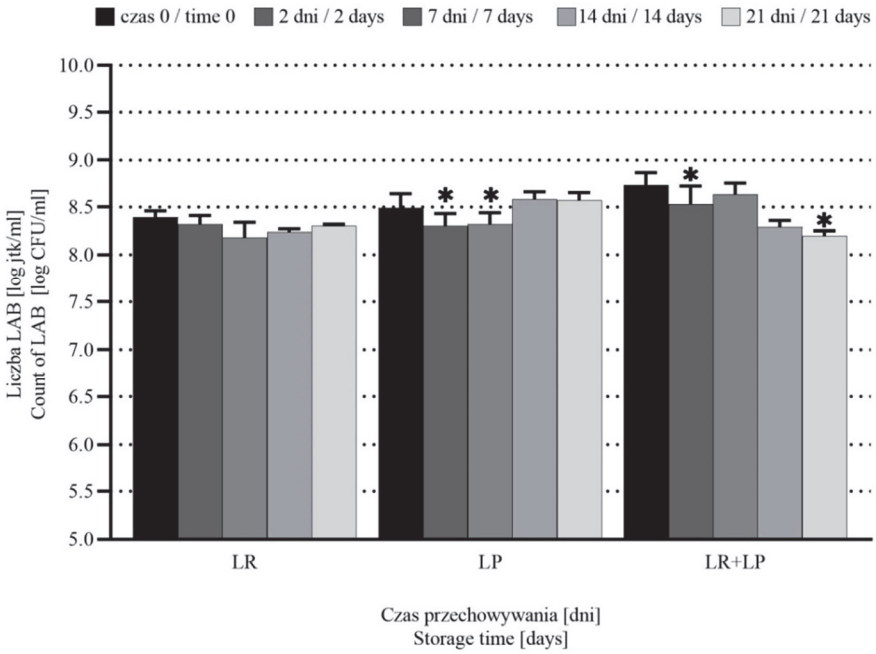
Tabela 2. Zawartość pierwiastków i metali ciężkich w occie jabłkowym
Table 2. Content of elements and heavy metals in apple cider vinegar

Pierwiastek / Element	[mg/dm^3]	SD
Ca	64,4	12,0
Mn	1,67	0,13
Mg	60,3	15,00
Zn	0,541	0,10
Cu	0,480	0,09
Fe	0,805	0,16
K	1,197	0,20
Na	11	0,42
NaCl	0,0027	0,001
Cd	< 0,003*	-
Pb	<0,020*	-
Hg	< 0,001*	-

Objaśnienia / Explanatory notes:
(*) – granica oznaczalności metali ciężkich: Cd, Pb, Hg / limit of determination for heavy metals: Cd, Pb, Hg. W tabeli przedstawiono wartości średnie i odchylenia standardowe – SD / The table shows mean values and standard deviations – SD.

przedstawiono na wykresie. Zaobserwowano, że w napoju z 10 % zawartością octu przechowywanym w 3 °C, przeżywalność szczepów *L. rhamnosus* GG jaki *L. plantarum* oraz kokultury tych szczepów utrzymywała się na wysokim poziomie, powyżej 8,0 ± 0,17 log jtk/cm^3, przez cały okres przechowywania (rys. 1.). W napoju przechowywanym w 21 °C zawierającym 10-procentowy dodatek octu, po 14 dniach przechowywania, przeżywalność szczepu *L. plantarum* obniżyła się do 7,9 ± 0,04 log jtk/cm^3, wynik ten był statystycznie istotny. W tym samym napoju, przeżywalność szczepu *L. rhamnosus* GG oraz kokultura szczepów *L. rhamnosus* GG i *L. plantarum* po 21 dniach przechowywania wynosiła odpowiednio 8,7 ± 0,04 log jtk/cm^3 oraz 8,5 ± 0,03 log jtk/cm^3 (rys. 2.). W drugim wariancie napoju, o mocy octu 50 % przechowywanym w 3 °C, zaobserwowano obniżenie przeżywalności wszystkich szczepów bakterii probiotycznych. Największe obniżenie przeżywalności odnotowano dla szczepu *L. rhamnosus* GG, wynosiło ono jeden rząd logarytmiczny po 21 dniach inkubacji (7,0 ± 0,07 log jtk/cm^3), wynik ten był statystycznie istotny. Liczba bakterii *L. plantarum* oraz kokultury *L. rhamnosus* GG *i L. plantarum* po 21 dniach przechowywania wynosiła średnio 7,6 ± 0,35 log jtk/cm^3 (rys. 3.). Analizując napój o 50-procentowej zawartości octu przechowywanym w 21 °C wykazano obniżenie przeżywalności szczepu *L. plantarum*, wynoszącej po 21 dniach 6,1 ± 0,04 log jtk/cm^3 (obniżenie o 2 rzędy logarytmiczne), co było statystycznie istotne. Liczba bakterii szczepu *L. rhamnosus* GG

oraz kokultury szczepów *L. rhamnosus* GG *i L. plantarum* po 21 dniach wynosiła średnio 7,7 ± 0,08 log jtk/cm^3 (rys. 4).

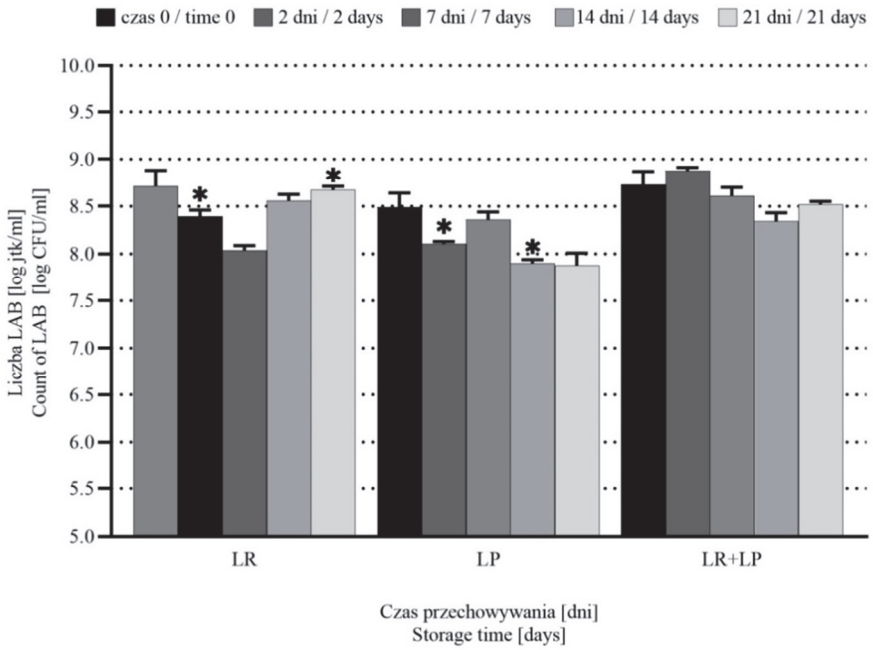


Objaśnienia / Explanatory notes: LR - *Lacticaseibacillus rhamnosus* GG ATCC 53103; LP - *Lactiplantibacillus plantarum* LMG P-21021. Na rysunku przedstawiono wartości średnie (w postaci słupków) i odchylenia standardowe; * - wartości statystycznie istotne ($p \leq 0,05$) / The figure shows mean values (bars) and standard deviations; * - statistically significant values ($p \leq 0,05$)

Rys. 1. Przeżywalność szczepów probiotycznych w napoju na bazie serwatki i 10-procentowy octu owocowego przechowywanym w 3 °C

Fig. 1. The survivability of probiotic strains in a beverage based on whey and 10 % of fruit vinegar stored at 3 °C

Wykazano, że średnie wartości przeżywalności bakterii probiotycznych w napojach zawierających 10 % octu są istotnie wyższe od średnich wartości przeżywalności w napojach z 50 % zawartością octu. Temperatura przechowywania napojów nie wpłynęła istotnie na przeżywalność bakterii probiotycznych. Organizacja Narodów Zjednoczonych do spraw Wyżywienia i Rolnictwa (FAO) oraz Światowa Organizacja Zdrowia (WHO) określiły liczbę bakterii probiotycznych w produkcie, gwarantującą osiągnięcie efektu terapeutycznego na poziomie $6 \div 7$ log jtk/cm^3 [3]. W analizowanych napojach liczba bakterii probiotycznych LAB utrzymywała się na wysokim poziomie, przekraczając w ciągu 21-dniowego okresu przechowywania minimalną ilość bakterii, ustaloną dla produktów probiotycznych.

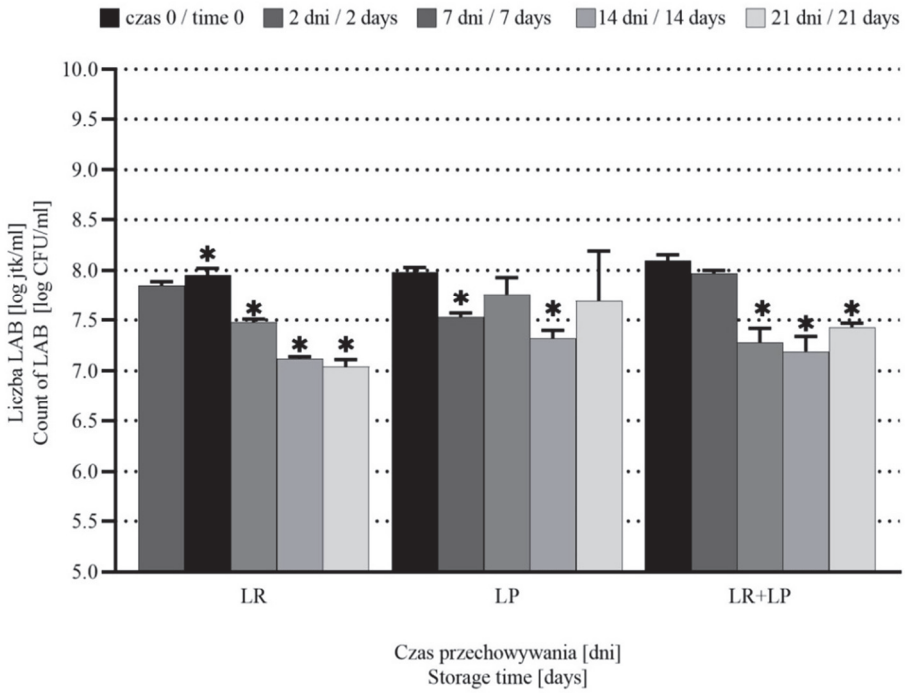


Objaśnienia jak pod rys. 1. / Explanatory notes as in Fig. 1.

Rys. 2. Przeżywalność szczepów probiotycznych w napoju na bazie serwatki i 10-procentowego octu owocowego przechowywanego w 21 °C

Fig. 2. The survivability of probiotic strains in a beverage based on whey and 10 % of fruit vinegar stored at 21 °C]

W badaniach przeprowadzonych przez Sady i wsp. [18] obserwowano istotny statystycznie spadek przeżywalności drobnoustrojów w napojach na bazie serwatki i soku pomarańczowego, jabłkowego oraz z czarnej porzeczki. Po 21 dniach przechowywania napojów serwatkowo-owocowych przeżywalność niektórych szczepów spadła poniżej 6,0 log jtk/cm^3. Największe obniżenie przeżywalności drobnoustrojów obserwowano w napoju składającym się z serwatki i soku z czarnej porzeczki. Napojem charakteryzującym się najwyższym poziomem przeżywalności drobnoustrojów był napój pomarańczowy. W uzyskanych przez Skryplonek i Jasińską [19] napojach probiotycznych z mrożonej serwatki kwasowej oraz mleka i dodatków funkcjonalnych tj. oligofruktozy oraz koncentratu białek serwatkowych WPC 35 nie wykazano istotnych wahań przeżywalności bakterii probiotycznych w 14-dniowym okresie przechowywania. W owocowych napojach probiotycznych stabilność mikrobiologiczna jest znacznie niższa, niż w mlecznych napojach probiotycznych, czy też mleczno-owocowych.

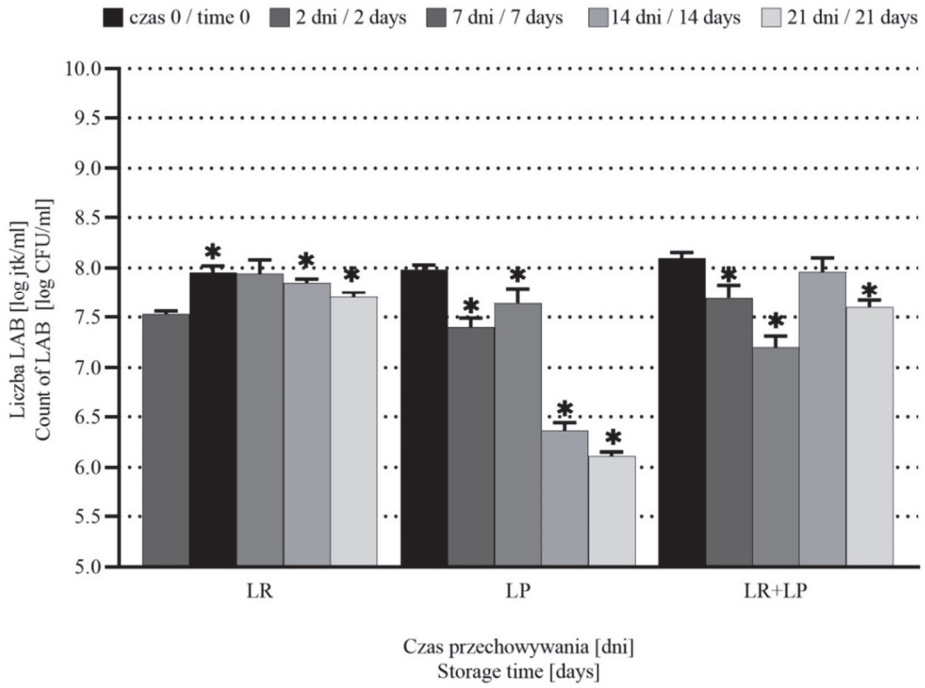


Objaśnienia jak pod rys. 1. / Explanatory notes as in Fig. 1.

Rys. 3. Przeżywalność szczepów probiotycznych w napoju na bazie serwatki i 50 % octu owocowego przechowywanym w 3 °C

Fig. 3. The survivability of probiotic strains in a beverage based on whey and 50 % of fruit vinegar stored at 3 °C

Należy nadmienić, że LAB występują naturalnie w procesie fermentacji i powstawania dojrzewającego octu chińskiego Shanxi, produkowanego ze zbóż. Pełnią one bardzo ważną rolę podczas procesu powstawania poprzez polepszanie smaku octu. LAB są obecne we wszystkich etapach dojrzewania octu, tolerując trudne warunki procesów fermentacji alkoholowej i octowej [24, 25]. Podsumowując, otrzymane napoje, poprzez wysoką liczbę bakterii kwasu mlekowego spełniały wymagania postawione produktom probiotycznym. Uzyskane produkty były bezpieczne i stabilne mikrobiologicznie przez cały okres przechowywania.



Objaśnienia jak pod rys. 1. / Explanatory notes as in Fig. 1.

Rys. 4. Przeżywalność szczepów probiotycznych w napoju na bazie serwatki i 50 % octu owocowego przechowywanym w 21 °C

Fig. 4. The survivability of probiotic strains in a beverage based on whey and 50 % of fruit vinegar stored at 21 °C

Wnioski

1. Badane probiotyczne szczepy bakterii mlekowych wykazały wyższą przeżywalność w napojach o niższej zawartości octu jabłkowego.
2. Napój na bazie serwatki uzyskanej po fermentacji mleka szczepami LAB i dodatku 10 % octu był dobrym medium, zapewniającym wysoką liczbę bakterii mlekowych.
3. W napoju z dodatkiem 50 % octu szczep *Lacticaseibacillus rhamnosus* GG ATCC 53103 wykazał wyższą wrażliwość w temperaturze 3 °C na dodatek octu, natomiast *Lactiplantibacillus plantarum* LMG P-21021 wykazał wyższą wrażliwość w temperaturze 21 °C.
4. W ciągu 21-dniowego okresu przechowywania napoju z dodatkiem 10 % octu, niezależnie od temperatury i szczepu, liczba bakterii kwasu mlekowego była powyżej 7,0 log jtk/cm^3.

5. Uzyskane wyniki badań wskazują, że innowacyjny napój dzięki utrzymującej się wysokiej liczbie bakterii kwasu mlekowego jest bezpieczny i stabilny mikrobiologicznie przez okres 21 dni.

Literatura

[1] Budak N.H., Aykin E., Seydim A.C., Greene A.K., Guzel-Seydim Z.B.: Functional properties of vinegar. J. Food Sci., 2014, 79(5): 757-64.

[2] Czuba J.: Octownictwo. Instytut Przemysłu Fermentacyjnego, Warszawa 1986, pp. 101-103.

[3] FAO/WHO: Probiotics in food Health and nutritional properties and guidelines for evaluation. [online]. FAO/WHO. Rome 2006. Dostęp w Internecie [11.05.2022.]: https://www.fao.org/3/a0512e/a0512e.pdf

[4] Gajewska M., Bartodziejska B., Szosland-Fałtyn A.: Wykorzystanie procesów fermentacyjnych do opracowania innowacyjnej metody otrzymywania octu jabłkowego o właściwościach prozdrowotnych. ŻYWNOŚĆ. Nauka. Technologia. Jakość, 2020, 27, 3 (124), 77-86.

[5] Nieman D.C., Zwetsloot K.A., Simonson A.J., Hoyle A.T., Wang X., Nelson H.K,, Lefranc-Millot C., Guérin-Deremaux L.: Effects of Whey and Pea Protein Supplementation on Post-Eccentric Exercise Muscle Damage: A Randomized Trial. Nutrients, 2020, 12 (8), 2382.

[6] Ousaaid D., Mechchate H., Laaroussi H., Hano C., Bakour M., El Ghouizi A., Conte R., Lyoussi B., El Arabi I.: Fruits Vinegar: Quality Characteristics, Phytochemistry, and Functionality. Molecules, 2021, 27(1), 222.

[7] PN-A-79120-04:1990. Wina i miody pitne. Przygotowanie próbek i metody badań. Oznaczanie zawartości alkoholu etylowego.

[8] PN-EN ISO 11290-1:2017:07. Mikrobiologia łańcucha żywnościowego. Horyzontalna metoda wykrywania i oznaczania liczby *Listeria monocytogenes* i innych *Listeria* spp. Część 1: Metoda wykrywania.

[9] PN-EN ISO 21528-2:2017-08. Mikrobiologia łańcucha żywnościowego. Horyzontalna metoda wykrywania i oznaczania liczby *Enterobacteriaceae.* Część 2: Metoda liczenia kolonii.

[10] PN-EN ISO 4833-1:2013-12 + Ap1:2016-11. Mikrobiologia łańcucha żywnościowego. Horyzontalna metoda oznaczania liczby drobnoustrojów. Część 1: Oznaczanie liczby metodą posiewu wgłębnego w temperaturze 30 stopni C.

[11] PN-EN ISO 6579-1:2017-04/A1:2020-09. Mikrobiologia łańcucha żywnościowego. Horyzontalna metoda wykrywania, oznaczania liczby i serotypowania *Salmonella*. Część 1: Wykrywanie *Salmonella* spp.

[12] PN-EN ISO 6888-2:2022-03. Mikrobiologia łańcucha żywnościowego. Horyzontalna metoda oznaczania liczby gronkowców koagulazo-dodatnich (*Staphylococcus aureus* i innych gatunków). Część 2: Metoda z zastosowaniem pożywki agarowej z plazmą króliczą i fibrynogenem.

[13] PN-ISO 15214:2002. Mikrobiologia żywności i pasz. Horyzontalna metoda oznaczania liczby mezofilnych bakterii fermentacji mlekowej. Metoda płytkowa w temperaturze 30 stopni C.

[14] PN-ISO 16649-2:2004. Mikrobiologia żywności i pasz. Horyzontalna metoda oznaczania liczby beta-glukuronidazo-dodatnich *Escherichia coli*. Część 2: Metoda płytkowa w temperaturze 44 stopni C z zastosowaniem 5-bromo-4-chloro-3-indolilo beta-D-glukuronidu.

[15] PN-ISO 7954:1999. Mikrobiologia. Ogólne zasady oznaczania drożdży i pleśni. Metoda płytkowa w 25 stopniach C.

[16] Rocha-Mendoza D., Kosmerl E., Krentz A., Zhang L., Badiger S., Miyagasuku-Cruzado G., Mayta-Apaza A., Giusti M., Jimenez-Flores R., Garcia-Cano I.: Invited review: Acid whey trends and health benefits. J. Dairy Sci., 2020, 104(2), 1262-1275.
[17] Rzepkowska A., Zielińska D., Ołdak A., Kołożyn-Krajewska D.: Organic whey as a source of *Lactobacillus* strains with selected technological and antimicrobial properties. Int. J. Food Sci. Technol., 2017, 52 (9), 1983-1994
[18] Sady M., Najgebauer-Lejko D., Domagała J.: The suitability of different probiotic strains for the production of fruit-whey beverages. Acta Sci. Pol. Technol. Aliment., 2017, 16(4), 421-429.
[19] Skryploenek K., Jasińska M.: Jakość fermentowanych napojów probiotycznych otrzymanych z mrożonej serwatki kwasowej i mleka w czasie chłodniczego przechowywania. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 2016, 1 (104), 32-44.
[20] Skryplonek K., Dmytrów I., Mituniewicz-Małek A.: Probiotic fermented beverages based on acid whey. J. Dairy Sci., 2019, 102(9), 7773-7780.
[21] Stobaugh H.C., Ryan K.N., Kennedy J.A., Grise J.B., Crocker A.H., Thakwalakwa C, Litkowski P.E., Maleta K.M., Manary M.J., Trehan I.: Including whey protein and whey permeate in ready-to-use supplementary food improves recovery rates in children with moderate acute malnutrition: a randomized, double-blind clinical trial. Am. J. Clin. Nutr., 2016, 103 (3), 926-33.
[22] Wesołowska-Trojanowska M., Targoński Z.: Wykorzystanie serwatki w procesach biotechnologicznych. Nauki Inżynierskie i Technologie, 2014, 1(12).
[23] West D.W.D., Sawan S. A., Mazzulla M., Williamson E, Moore D.R.: Whey Protein Supplementation Enhances Whole Body Protein Metabolism and Performance Recovery after Resistance Exercise: A Double-Blind Crossover Study. Nutrients, 2017, 11, 9 (7), 735.
[24] Wu J. J., Ma Y. K., Zhang F. F., Chen F. S. Biodiversity of yeasts, lactic acid bacteria and acetic acid bacteria in the fermentation of "Shanxi aged vinegar", a traditional Chinese vinegar. Food Microbiol., 2012, 30(1), 289-97.
[25] Zheng Y., Mou J., Niu J., Yang S., Chen L., Xia M., Wang M. Succession sequence of lactic acid bacteria driven by environmental factors and substrates throughout the brewing process of Shanxi aged vinegar. Appl. Microbiol, Biotechnol., 2018, 102(6), 2645-2658.

THE SURVIVABILITY OF PROBIOTIC BACTERIA IN AN INNOVATIVE BEVERAGE BASED ON FRUIT VINEGAR AND WHEY

S u m m a r y

Background. Whey, a waste product from cheese production, is an underutilized raw material with high nutritional value. This waste product may be used in the production of fermented beverages. The aim of this study was to develop an innovative fermented beverage based on whey and fruit vinegar and to determine the survivability of two probiotic strains of lactic acid bacteria. The study included the preparation of individual components, the selection of their appropriate proportions and the verification of the influence of storage conditions and time on the survivability of the strains. The biological material consisted of *Saccharomyces cerevisiae* wine yeast strain, *Acetobacter pasterianus* O4 and *Acetobacter pasterianus* MW3 acetic bacteria strains and lactic acid bacteria strains: *Lacticaseibacillus rhamnosus* GG ATCC 53103 and *Lactiplantibacillus plantarum* LMG P-21021. The survivabilityl of lactic acid bacteria was tested under anaerobic conditions. The beverage was made of whey mixed with 10 % to 50 % apple cider vinegar. The above beverage was kept at a temperature of 21 ± 2 °C and 3 ± 2 °C for 21 days.

Results and conclusion. The beverage was analyzed once a week, and the number of lactic acid bacteria after 21 days of storage was at a high level, exceeding the WHO recommended number of bacteria in probiotic beverages – $10^6 \div 10^7$ CFU/cm^3. The beverage based on whey and the addition of 10 % vinegar was a good medium, and the number of lactic acid bacteria in each variant of the beverage was on average 8.4 ± 0.29 log CFU/cm^3.

Key words: whey, vinegar, lactic acid bacteria (LAB), acetic acid bacteria (AAB), fermented beverage, probiotics