

Laktuloza u mlijeku

Nada Vahčić, Mirjana Hruškar, Ksenija Marković

Izvorni znanstveni rad - Original scientific paper

UDK: 637.345

Sažetak

Laktuloza je ketoza dobivena iz laktoze tijekom postupka grijanja i pohrane mlijeka i mliječnih proizvoda. Ovaj šećer je nešto slađi i topljiviji od laktoze. Prisustvo laktuloze u umjetnoj prehrani djece potiče razvoj bakterije *Bifidobacterium bifidum* u crijevnoj flori, što oponaša floru nađenu kod djece hranjene majčinim mlijekom. Laktuloza se primjenjuje u liječenju kronične opstipacije i sustavne encefalopatije.

Cilj istraživanja bio je odrediti udjel laktuloze u sirovom mlijeku, mlijeku nakon tri različita režima pasterizacije, te mlijeku steriliziranom u tri različita tipa sterilizatora. Drugo, željelo se utvrditi koliki je udjel laktuloze u uzorcima steriliziranog mlijeka različitih proizvođača prisutnih na zagrebačkom tržištu.

Udjel laktuloze određen je enzimnom metodom.

Toplinskom obradom udjel laktuloze raste tako da prosječna vrijednost u sirovom mlijeku od 0,91 mg/100 g raste do intervala od 3,972 do 4,987 mg/100 g mlijeka za uzorke pasteriziranog mlijeka, te do raspona od 27,069 do 29,225 mg/100 g mlijeka za uzorke steriliziranog mlijeka. Veći udjel laktuloze nastao je u uzorcima pasteriziranim na višoj temperaturi pasterizacije. Vrsta sterilizatora nije značajno utjecala na udjel laktuloze iako su najviše vrijednosti utvrđene u cjevastom sterilizatoru, potom infuzionom i pločastom.

Udjel laktuloze u uzorcima steriliziranog mlijeka sa zagrebačkog tržišta bio je u rasponu od 0,984 do 53,578 mg/100 g mlijeka.

Ključne riječi: laktuloza, mlijeko, toplinska obrada

Uvod

Laktoza je, ne tako davno, smatrana jedinstvenim sastojkom mlijeka i mliječnih proizvoda dok nisu pronađeni i drugi ugljikohidrati koji su često u kombiniranoj formi s proteinima, lipidima ili drugim ugljikohidratima, a nađeni su i kao slobodni monosaharidi, oligosaharidi i fosfatni esteri. Adachi i suradnici (1961.) smatraju da mukoproteini predstavljaju zaštitu tkiva od nekih bolesti i naglašavaju važnost poznavanja kemijskih svojstava i strukture tih tvari. Istraživanja reducirajućih šećera u sirovom i grijanom mlijeku, kromatografijom na papiru, pokazala su porast koncentracije galaktoze u grijanom mlijeku, što upućuje na pojavu razgradnje laktoze (Adachi i Patton, 1961.).

Mnogi su autori (Adachi, 1957.; Adachi i Patton, 1961.; Adachi i Nakanishi, 1958.) proučavali utjecaj grijanja, produženog čuvanja i fer-

mentacije na udjel laktoze u mlijeku i mliječnim proizvodima. U ranoj fazi grijanja mlijeka dolazi do razgradnje laktoze na način Lobry de Bruyn - Alberda van Ekenstein transformacije (L - A transformacije) pa je prvi korak epimerizacija na C₂ - atomu u glukoznom dijelu, što odgovara 2 - keto šećeru, laktulozi (Adachi, 1957.). Reakcija je ovisna o temperaturi i pH. Utvrđen je porast koncentracije laktuloze kad pH mlijeka poraste sa 6,6 na 7,0 (Adachi i Patton, 1961.). Osim laktuloze, u toplinski obrađenom mlijeku identificirani su i drugi sekundarno formirani ugljikohidrati (Adachi i Nakanishi, 1958.).

Osim reakcijama izomerizacije (L - A transformacije) - pri čemu nastaju laktuloza, galaktoza i tagatoza - laktoza tijekom grijanja mlijeka podliježe i reakcijama kondenzacije s proteinima ili aminokiselinama (Martinez - Castro i Olano, 1980.). Svojim istraživanjima Andrews (1987.) ukazuje, da se povećanjem udjela proteina u grijanom mlijeku pospješuju reakcije kondenzacije između amino grupa proteina i karbonilnih grupa laktoze i laktuloze, što smanjuje udjel laktuloze i upućuje na pretpostavku da je jedini mogući mehanizam stvaranja laktuloze L - A transformacija u alkalnim uvjetima. Citrati i fosfati prisutni u mlijeku pri tome djeluju kao katalizatori (Andrews i Prasad, 1987.).

Najnovije metode određivanja laktuloze su jednostavne i brze. Jedna od njih se temelji na hidrolizi laktuloze na galaktozu i fruktozu s enzimom β -galaktozidazom te određivanju nastale fruktoze elektrokemijskim biosenzorom, tj. enzimom fruktoza dehidrogenazom uz K₃[Fe(CN)₆] i platinu (Moscone i sur., 1999.). Proučavanjem Maillard - ovih reakcijskih produkata mlijeka u prahu, pomoću model reakcije između β - laktoglobulina i laktoze, zaključeno je da dolazi do povezivanja laktuloze i epsilon - amino skupine lizina te formiranja laktuloza - protein konjugata koje je moguće odvojiti kapilarnom elektroforezom (Jones i sur., 1998.). Laktozilaciju proteinskih komponenata u UHT - procesiranom i steriliziranom mlijeku trebalo bi pratiti ELISA testovima (Pizzano i sur., 1998.).

Furozin, hidroksimetilfurfural (HMF) i laktuloza su indikatori toplinske obrade mlijeka i mlijećnih proizvoda. Ti produkti rane faze Maillard-ove reakcije određeni su u zagrijanom mlijeku i mlijeku zagrijanom mikrovalovima. Njihova koncentracija povećava se s produljenjem vremena grijanja, a važan utjecaj ima i temperatura. Način grijanja (mikrovalovima ili standardnom metodom) ne utječe na reakcijske produkte (Meißner i Erbersdobler, 1996.). Udjel laktuloze i senzorska svojstva UHT - procesiranog i steriliziranog mlijeka analizirani su senzorskim i instrumentalnim metodama. Prisutnost laktuloze pokazatelj je dobre senzorske kakvoće mlijeka (Andrews i Morant, 1987.).

Laktuloza - trgovački nazivana: "Portalak", "Chronulac", "Constilac", "Diphulac", "Laevolac" - koristi se kao sirup, otopina ili u obliku kristala za tretiranje portalne sustavne encefalopatije i kronične opstipacije (Mendez i Olano, 1979.). Tijekom metaboliziranja toga disaharida u crijevnoj mikroflori,

stvaraju se mliječna kiselina i CO_2 , što rezultira sniženjem kolonskog pH (Olano i sur., 1989.). Niski pH dopušta razvoj bifidus flore (prebiotički - bifidogeni efekt), slične onoj u crijevima dojenčadi (Mendez i Olano, 1979.). Kroz nepoznate mehanizme niski pH reducira razinu amonijaka u krvi pacijenata s portalnom sustavnom encefalopatijom (poremećaj središnjeg živčanog sustava koji se zbiva uslijed komplikacija uznapredovale ciroze jetre) poboljšavajući njihovo stanje. Kliničkom istraživanju podvrgnuta je mogućnost uporabe laktuloze u kombinaciji s neomicinom (antibiotik koji se ne apsorbira, smanjuje broj bakterija u tankom crijevu a time i razinu amonijaka) ili kao zamjena za ovaj lijek pacijentima s portalnom sustavnom encefalopatijom (Mendez i Olano, 1979.).

Sve dok su sadržaj i fiziološka svojstva tagatoze i ostalih (grijanjem nastalih) tvari u mlijeku nepoznati, laktulozi se ne mogu u potpunosti pripisati dobiveni rezultati. Mnogi interesantni problemi vezani uz utjecaj laktuloze ili pripravaka laktuloze na kemijske, biokemijske i fiziološke osobine mliječnih proizvoda, još uvijek nisu istraženi.

Cilj istraživanja bio je odrediti udjel laktuloze u sirovom mlijeku, mlijeku nakon tri različita režima pasterizacije, te mlijeku steriliziranom u tri različita tipa sterilizatora. Drugo, željelo se utvrditi koliki je udjel laktuloze u uzorcima steriliziranog mlijeka različitih proizvođača prisutnih na zagrebačkom tržištu.

Materijali i metode

U istraživanju je korišteno sirovo, pasterizirano i sterilizirano mlijeko nabavljeno direktno iz mljekare. Za uzorke pasteriziranog mlijeka bili su poznati uvjeti pasterizacije: $75^\circ\text{C}/15''$, $80^\circ\text{C}/15''$ odnosno $90^\circ\text{C}/5'$. Sterilizacija mlijeka u pločastom, cjevastom i infuzionom sterilizatoru provedena je također pod poznatim uvjetima.

Iz trgovačke mreže tijekom proljeća i ljeta, nabavljeni su uzorci kratkotrajno steriliziranog, homogeniziranog mlijeka različitih proizvođača (Vindija, KIM, Meggle, Ljubljanske mlekarne, Dukat, Mils, Mljekara Zadar) i s različitim udjelom mliječne masti. Ti su uzorci u rezultatima rada označeni slovima od A do L.

U svim uzorcima laktuloza je određena enzimnom metodom pomoću β -galaktozidaze, heksokinaze, glukoza-6-fosfat dehidrogenaze i fosfoglukoza-izomeraze (Boehringer Mannheim, 1989.)

Prikazani rezultati predstavljaju prosjek od tri paralelna mjerenja.

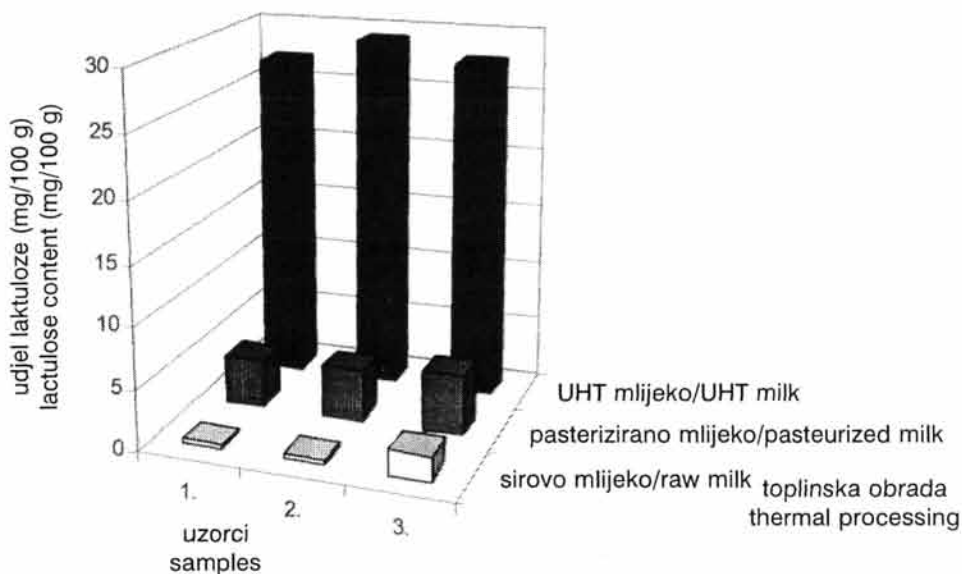
Statistička obrada i interpretacija rezultata uključila je upotrebu regresione analize (Davies, 1960., Chatfield, 1983.) uz korištenje statističkog programa (StatSoft, 1995.). U analizi varijance oznake SS, df, MS F i F_{gr} označavaju sumu kvadrata odstupanja, stupnjeve slobode, varijancu, Fisherov kvocijent odnosno granični Fischerov kvocijent očitani iz statističkih tablica.

Rezultati i rasprava

U sirovom mlijeku gotovo da i nema laktuloze, u prosjeku 0,91 mg/100 g mlijeka. Uzorci pasteuriziranog mlijeka imaju veći udjel laktuloze u odnosu na sirovo mlijeko, prosječno 4,387 mg/100 g uzorka (slika 1.).

Slika 1: Utjecaj toplinske obrade na udjel laktuloze u mlijeku

Figure 1: Influence of thermal processing on lactulose content in milk



Tablica 1: Analiza varijance podataka slike 1.

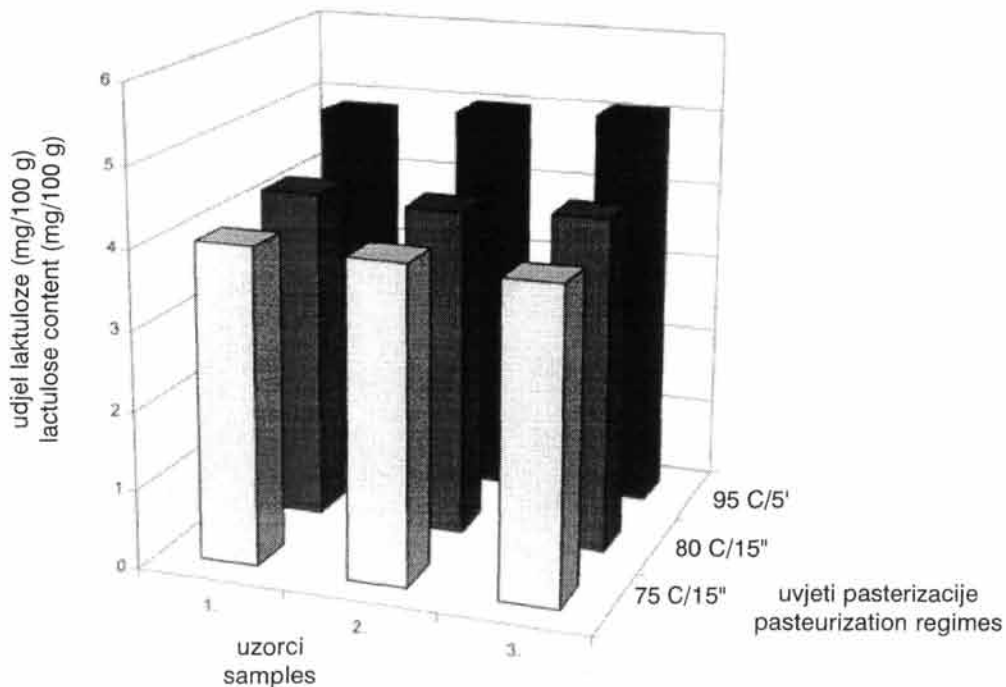
Table 1: Analysis of variance of the results in figure 1.

Izvor varijacija Source of variation	SS	df	MS	F	$F_{gr.}$ $F_{crit.}$
Uzorci Samples	2,242521	2	1,12126	1,71	6,94
Toplinska obrada Thermal processing	1309,729	2	654,8645	998,16	6,94
Analitička pogreška Analytical error	2,624299	4	0,656075		
Ukupno Total	1314,596	8			

Vidljiva je razlika u udjelu laktuloze obzirom na uvjete pasterizacije. Mlijeko pasterizirano pri 95 °C/5 minuta, prosječno je sadržavalo 4,987 mg laktuloze/100 g mlijeka, za razliku od mlijeka pasteriziranog pri 80 °C/15 sec., u kojem je utvrđeno prosječno 4,203 mg laktuloze/100 g mlijeka odnosno 3,972 mg/100 g u mlijeku pasteriziranom pri 75 °C/15 sec (slika 2.).

Slika 2: Utjecaj uvjeta pasterizacije na udjel laktuloze u mlijeku

Figure 2: Influence of pasteurization regimes on lactulose content in milk



Tablica 2: Analiza varijance podataka slike 2.

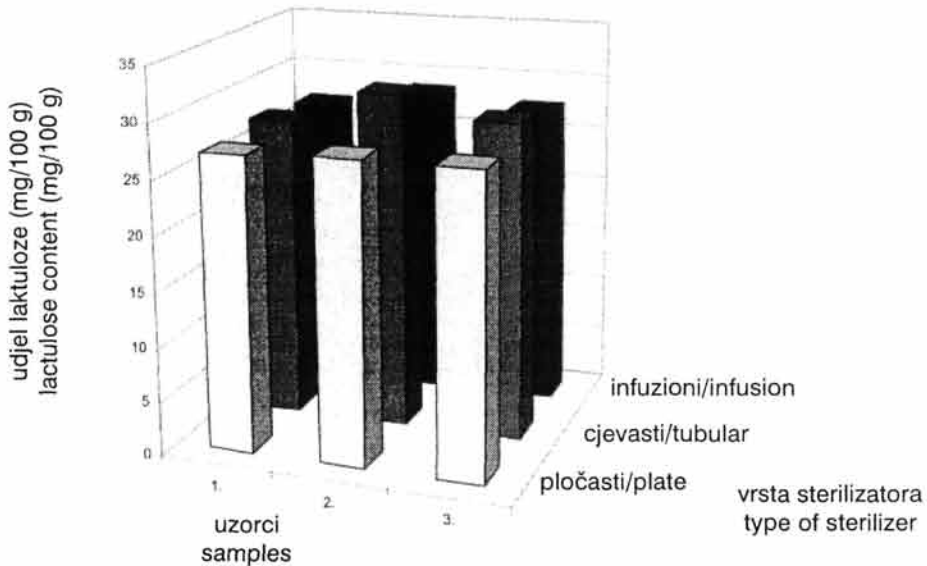
Table 2: Analysis of variance of the results in figure 2.

Izvor varijacija Source of variation	SS	df	MS	F	$F_{gr.}$ $F_{crit.}$
Uzorci Samples	0,002006	2	0,001003	0,16	6,94
Uvjeti pasterizacije Pasteurization regimes	1,69898	2	0,84949	139,32	6,94
Analitička pogreška Analytical error	0,02439	4	0,006097		
Ukupno Total	1,725376	8			

Sterilizirano mlijeko sadržavalo je najviše laktuloze; prosječno 24,721 mg/100 g. Međutim, taj udjel je varirao s obzirom na vrstu sterilizatora u kojem je proveden postupak sterilizacije. Tako, najveći udjel laktuloze (29,225 mg/100 g) sadržavalo je mlijeko s 3,2 % mliječne masti, sterilizirano u cjevastom sterilizatoru, slijedi mlijeko s 3,5 % mliječne masti sterilizirano u infuzionom sterilizatoru s 27,867 mg/100 g, a najmanji udjel laktuloze utvrđen je u uzorku mlijeka s 1,6 % mliječne masti steriliziranom u pločastom sterilizatoru. Uvjeti sterilizacije u sva tri sterilizatora bili su isti: 137 °C/2-3 sekunde (slika 3.).

Slika 3: Utjecaj vrste sterilizatora na udjel laktuloze u mlijeku

Figure 3: Influence of type of sterilizer on lactulose content in milk



Tablica 3: Analiza varijance podataka slike 3.

Table 3: Analysis of variance of the results in figure 3.

Izvor varijacija Source of variation	SS	df	MS	F	$F_{gr.}$ $F_{crit.}$
Uzorci Samples	4,761523	2	2,380761	4,90	6,94
Vrsta sterilizatora Type of sterilizer	5,383718	2	2,691859	5,54	6,94
Analitička pogreška Analytical error	1,942913	4	0,485728		
Ukupno Total	12,08815	8			

Analizom varijance željelo se utvrditi koliko toplinska obrada mlijeka, uvjeti pasterizacije i vrsta sterilizatora, statistički značajno utječu na udjel laktuloze u mlijeku (tablice 1,2,3). Budući da su izračunati F-kvocijenti u dva slučaja veći od graničnih F-kvocijenata očitanih iz statističkih tablica, potvrđen je statistički značajan utjecaj temperature na nastanak laktuloze, utvrđena je značajna razlika u udjelu laktuloze u uzorcima pasteriziranog mlijeka s obzirom na uvjete pasterizacije, ali nije utvrđena statistički značajna razlika u uzorcima steriliziranog mlijeka s obzirom na vrstu sterilizatora.

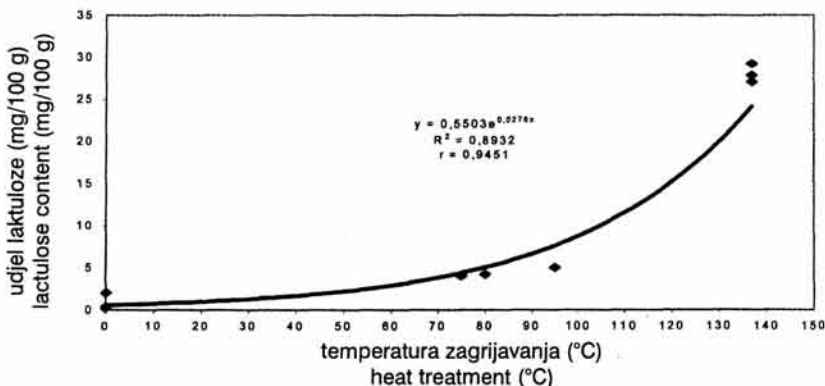
Dobiveni rezultati u skladu su s rezultatima dosad provedenih istraživanja na tom području.

Pojedini su autori proučavali promjene nastale zagrijavanjem mlijeka i detektirali sekundarno nastale ugljikohidrate između njih i laktulozu (Honer i Tuckey, 1953.; Adachi, 1957.; Adachi i Nakanishi, 1958.; Richards i Chandrasekhar, 1960.; Adachi i Patton, 1961.).

Drugu skupinu istraživanja čine radovi autora koji su se bavili utvrđivanjem udjela laktuloze u uzorcima pasteriziranog, UHT (direktni i indirektni postupak) te steriliziranog mlijeka. Martinez - Castro i Olano (1978.) utvrđuju da pasterizirano, UHT - procesirano i sterilizirano mlijeko sadrže različite udjele laktuloze. Laktuloza, kao jedini disaharid nastao izomerizacijom laktoze u mlijeku, pronađena je u varijabilnim količinama u komercijalnom steriliziranom, evaporiranom i sušenom mlijeku. Geier i Klostermeyer (1983.) analizirali su dvadeset UHT i šest steriliziranih uzoraka mlijeka i dobili oko 10 - 72 mg/100 mL laktuloze u UHT - procesiranom mlijeku i 87 - 137 mg/100 mL laktuloze u steriliziranom mlijeku. Corzo i suradnici (1994.) analizirali su jedanaest uzoraka mlijeka tretiranih direktnim UHT - postupkom i dvadeset uzoraka mlijeka tretiranih indirektnim UHT - postupkom. Mlijeko tretirano direktnim UHT - postupkom ima nešto niži udjel laktuloze nego mlijeko tretirano indirektnim UHT - postupkom.

Slika 4: Krivulja nastajanja laktuloze tijekom toplinske obrade

Figure 4: Lactulose formation during thermal processing



Tablica 4: Analiza varijance podataka slike 5.

Table 4: Analysis of variance of the results in figure 5.

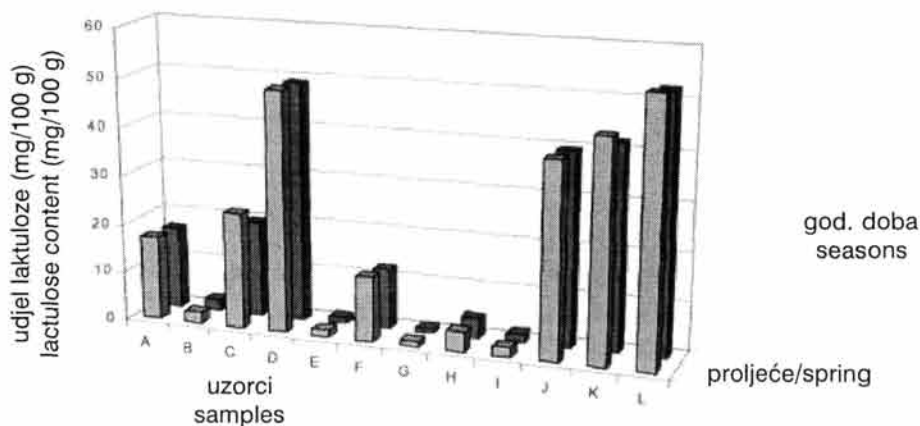
Izvor varijacija Source of variation	SS	df	MS	F	$F_{gr.}$ $F_{crit.}$
Godišnja doba Seasons	5,865759	1	5,865759	6,83	4,84
Uzorci Samples	9074,848	11	824,9862	961,17	4,46
Analiitička pogreška Analytical error	9,441453	11	0,858314		
Ukupno Total	9090,155	23			

Budući je iz literature vidljivo i brojnim istraživanjima potvrđeno da na razvoj laktuloze u mlijeku utječe uglavnom temperatura, dobiveni rezultati poslužili su za utvrđivanje kvantitativne i kvalitativne povezanosti temperature zagrijavanja i udjela nastale laktuloze. Kao matematički model, koji najbolje opisuje povezanost tih dviju varijabli, odabrana je eksponencijalna funkcija (slika 4). Dobivene su visoke vrijednosti koeficijenta korelacije (0,9451) i determinacije (0,8932).

Udjel laktuloze u uzorcima steriliziranog mlijeka različitih proizvođača nabavljenih na zagrebačkom tržištu, prikazan je na slici 5. Vrijednosti su varirale

Slika 5: Prosječni udjel laktuloze u uzorcima steriliziranog mlijeka nabavljenih na zagrebačkom tržištu

Figure 5: Average lactulose content in sterilized milk samples purchased from market in Zagreb



Tablica 5: Kvantitativna i kvalitativna povezanost udjela mliječne masti i laktuloze u uzorcima steriliziranog mlijeka sa zagrebačkog tržišta.

Table 5: Relationship model between fat and lactulose content in sterilized milk samples purchased from market in Zagreb

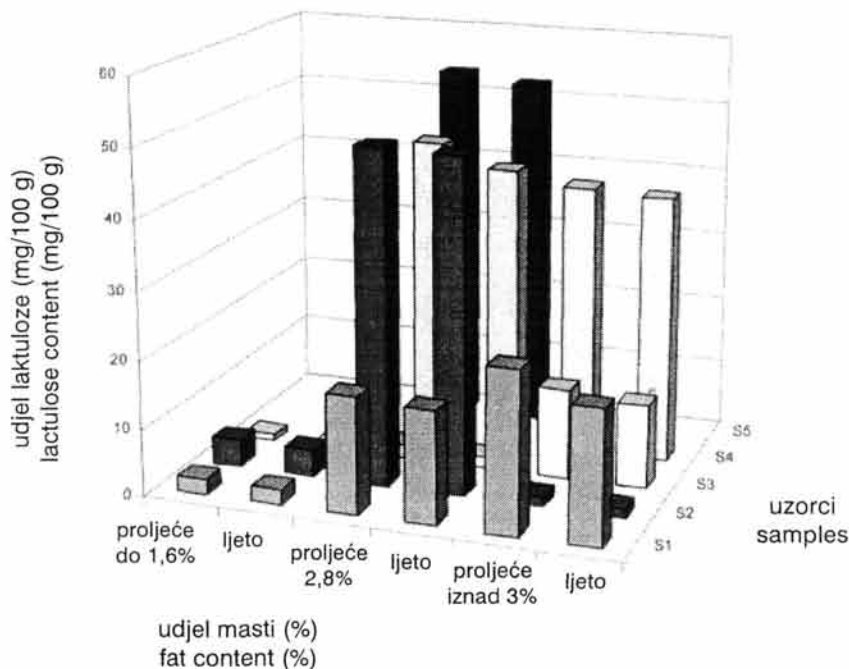
Model povezanosti varijabli Relationship models for variables		Koeficijent korelacije Coefficient of correlation (r)	Koeficijent determinacije Coefficient of determination (R^2)
Linearna Linear	$Y = 8,93x - 2,15$	0,444	0,197
Logaritamska Logarithmic	$Y = 14,79 \ln(x) + 8,67$	0,446	0,199
Eksponecijalna Exponential	$Y = 3,82x^{1,124}$	0,455	0,207
Eksponecijalna Exponential	$Y = 1,39e^{0,753x}$	0,502	0,252
Polinomska n=2 Polynomial	$Y = -3,69x^2 + 24,17x - 13,52$	0,468	0,219
Polinomska n=3 Polynomial	$Y = -5,16x^3 + 30,54x^2 - 41,61x + 17,37$	0,507	0,257
Polinomska n=5 Polynomial	$Y = 8,82x^5 - 85,80x^4 + 297,56x^3 - 440,89x^2 + 273,09x - 53,82$	0,588	0,346
Polinomska n=6 Polynomial	$Y = -63,84x^6 + 827,05x^5 - 4178,8x^4 + 10362x^3 - 1322x^2 + 7706,3x - 1652,6$	0,738	0,545

u širokom rasponu od 0,984 mg/100 g do 53,578 mg/100 g. Pokazalo se da postoji statistički značajna razlika između uzoraka - što nije očekivano - jer je riječ o udjelu laktuloze koja je prirodno prisutna u mlijeku u malim količinama, a veće količine su uglavnom rezultat intenzivnijeg toplinskog tretiranja uslijed čega ona zapravo i nastaje. Nedostatak informacija o vrsti sterilizacije, te njenom trajanju i temperaturi koju koriste pojedine mljekare sprečava donošenje bilo kakvog zaključka o postojećim razlikama. Uočene su značajne razlike u udjelu laktuloze s obzirom na godišnje doba (tablica 4).

Nije uočen utjecaj udjela mliječne masti na udjel laktuloze (slika 6) što su također uočili Geier i Klostermeyer (1983.) i Andrews (1984.) u svojim istraživanjima. Da nema kvantitativne i kvalitativne povezanosti udjela laktuloze u uzorcima steriliziranog mlijeka i postotka mliječne masti u tim uzorcima, prikazano je i u tablici 5. Od 8 pretpostavljenih matematičkih modela ni jedan nije pokazao značajan koeficijent korelacije (0,444 - 0,738) ili determinacije (0,197 - 0,545).

Slika 6: Udjel laktuloze s obzirom na udjel mliječne masti, u uzorcima steriliziranog mlijeka

Figure 6: Lactulose content with regard to fat content in sterilized milk samples



Zaključci

- Toplinska obrada značajno utječe na udjel laktuloze u mlijeku, pri čemu se kvantitativna i kvalitativna povezanost temperature i udjela laktuloze može izraziti eksponencijalnom funkcijom i visokim koeficijentom korelacije.
- Veći udjel laktuloze zabilježen je u uzorcima koji su pasterizirani pri višoj temperaturi pasterizacije u dužem vremenskom periodu.
- Vrsta sterilizatora ne utječe statistički značajno na udjel laktuloze. Najviše laktuloze ima u mlijeku steriliziranom u cjevastom sterilizatoru, slijede infuzioni i pločasti sterilizator.
- U kratkotrajno steriliziranim, homogeniziranim uzorcima mlijeka raznih proizvođača nabavljenim na zagrebačkom tržištu, zabilježen je udjel laktuloze u širokom rasponu od 0,984 do 53,578 mg/100 g.
- Na udjel laktuloze u mlijeku postotak mliječne masti nema statistički značajan utjecaj.

LACTULOSE IN MILK

Summary

Lactulose is ketose derived from lactose during heating and storage of milk and dairy products. This carbohydrate is a slightly sweeter and more soluble than a lactose. The presence of lactulose in an artificial infants nutrition initiate the development *Bifidobacterium bifidum* microorganism in the intestinal flora.

The aim of this work was twofolded. As it is well known that a development of lactulose occurs during a thermal processes, in this work the influence of a different thermal regimes on lactulose content was analysed. For this purpose, a lactulose content in raw milk samples, milk samples obtained by three different pasteurization regimes as well as after sterilization process on three different sterilizer types, was established.

Secondly, a lactulose content in sterilized milk samples from different dairy industries supplied from Zagreb market was established.

Lactulose content was determined by enzymatic method.

Thermal processing increased lactulose content from an average 0,91 mg/100 g in raw milk samples up to the level between 3.972 to 4.987 mg/100 g for pasteurized milk samples. The values from 27.069 to 29.225 mg/100 g were established in sterilized milk samples. Higher lactulose content arose in milk samples treated at higher pasteurization temperature. The type of sterilizer used had no influence on lactulose content, although the higher values were obtained in tubular sterilizer followed by infusion and plate sterilizers.

Lactulose content ranged from 0.984 to 53.578 mg/100 g in sterilized milk samples supplied from market.

Key words: lactulose, milk, thermal processing

Literatura

- ADACHI, S. (1957.): On synthesis of p - toluidine - N - lactoside and its Amadori rearrangement. *J. Agr. Chem. Soc. Japan* 13, 97-106.
- ADACHI, S., NAKANISHI, T. (1958): Studies on amino - carbonyl reaction of milk products. Isolation and identification of lactulose in highly heated milk. *J. Agr. Chem. Soc. Japan* 32, 309-319.
- ADACHI, S., PATTON, S. (1961.): Presence and significance of lactulose in milk products. *J. Dairy Res.* 44, 1375 - 1393.
- ANDREWS, G. R. (1984.): Distinguishing pasteurized, UHT and sterilized milks by their lactulose content. *J. Soc. Dairy Technol.* 37, 92-95.
- ANDREWS, G. R., MORANT, S. V. (1987.): Lactulose content, colour and the organoleptic assessment of ultra heat treated and sterilized milks. *J. Dairy Res.* 54, 493 - 507.
- ANDREWS, G. R., PRASAD, S. K. (1987.): Effect of the protein, citrate and phosphate content of milk on formation of lactulose during heat treatment. *J. Dairy Res.* 54, 207 - 218.

- CORSO, N., DELGADO, T., TROYANO, E., OLANO, A. (1994.): Ratio of lactulose to furosine as indicator of quality of commercial milks. *J. of Food Protection* 5, 737 - 739.
- GEIER, H., KLOSTERMEYER, H. (1983.): Formation of lactulose during heat treatment of milk. *Milchwissenschaft* 38, 475 - 477.
- HONER, C. J., TUCKEY, S.L. (1953.): Chromatographic studies of reducing sugars, other than lactose, in raw and autoclaved milk. *J. Dairy Sci.* 36, 559-565.
- JONES, A. D., TIER, C.M., WILKINS, J. P. G. (1998.): Analysis of the Maillard reaction products of beta - lactoglobulin and lactose in skimmed milk powder by capillary electrophoresis and electrospray mass. *J. of Chrom.* 822 (1), 147 - 154.
- MARTINEZ - CASTRO, I., OLANO, A. (1978.): Determination of lactulose in commercial milks. *Rev. Espan. Lecheria* 110, 213-217.
- MARTINEZ - CASTRO, I., OLANO, A. (1980.): Influence of thermal processing on carbohydrate composition of milk. Formation of epilactose. *Milchwissenschaft* 35 (1), 5 - 8.
- MEIßNER, K., ERBERSDOBLER, H. F. (1996.): Maillard Reaction in Microwave cooking: Comparison of Early Maillard Products in Conventionaly and Microwave - Heated Milk. *J. Sci. Food Agric.* 70, 307 - 310.
- MENDEZ, A., OLANO, A. (1979.): Lactulose. A Review of some chemical properties and applications in infant nutrition and medicine. *Dairy Sci. Abstr.* 41, 531 - 535.
- MOSCONE, D., BERNARDO, R. A., MARCONI, E., AMINE, A., PALLESCHI, G. (1999.): Rapid determination of lactulose in milk by microdialysis and biosensors. *Analyst.* 124(3), 325 - 329.
- OLANO, A., CALVO, M. M., CORZO, N. (1989.): Changes in the carbohydrates fraction of milk during heating processes. *Food Chem.* 31, 259-265.
- PIZZANO, R., NICOLAI, M. A., SICILIANO, R., ADDEO, F. (1998.): Specific detection of the Amadori compounds in milk by using polyclonal antibodies raised against a lactosylated peptide. *J. Agric. Food Chem.* 46(12), 5373 - 5379.
- RICHARDS, E.L., CHANDRASEKHARA, M.R. (1960.): Chemical changes in dried skim milk during storage. *J. Dairy Res.* 27, 59-66.

Adrese autora / Autor's addresses:

Dr. sc. Nada Vahčić, docent

Mr. sc. Mirjana Hruškar, asistent

Dipl. ing. Ksenija Marković, mladi asistent

Prehrambeno-biotehnološki fakultet, Sveučilišta u Zagrebu,

Zagreb, Pierottijeva 6.

Prispjelo - Received: 15.02.2000.

Prihvaćeno - Accepted: 29.03.2000.