

Fermentacija i čuvanje probiotičkog jogurta od kozjeg mlijeka

Rajka Božanić, Irena Rogelj, Ljubica Tratnik

Izvorni znanstveni rad - Original scientific paper

UDK: 637.12'639/637.146

Sažetak

Kravlje i kozje mlijeko fermentirano je ABT4 kulturom. Istraživan je rast sojeva *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus* i *Bifidobacterium* ssp. u kontrolnom i inulinom obogaćenom kozjem mlijeku te uspoređivan s kravljim mlijekom. Ispitivano je preživljavanje sojeva tijekom 28 dana čuvanja. Fermentacija obje vrste mlijeka do željene pH-vrijednosti 4,6 trajala je 6 sati, a udjel živih stanica pojedinih sojeva *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus* i *Bifidobacterium* ssp. bio je podjednak 40 : 33 : 27 u svim fermentiranim uzorcima. Tijekom čuvanja broj streptokoka i bifidobakterija nije opadao. U uzorcima s dodatkom inulina broj bifidobakterija se nešto povećao, pa je 28. dana u tim uzorcima njihov broj bio veći nego u kontrolnim za oko 0,6 logaritamskih jedinica. Preživljavanje laktobacila tijekom čuvanja bilo je slabije u fermentiranom kozjem nego li u fermentiranom kravljem mlijeku. Dodatak inulina poboljšao je čvrstoću koaguluma, a u uzorcima kozjeg mlijeka ublažio karakterističan okus. Fermentirani uzorci kozjeg mlijeka tijekom čuvanja senzorski su bolje ocijenjeni od uzoraka kravljeg mlijeka. Kozje mlijeko fermentirano probiotičkim bakterijama te obogaćeno inulinom zadovoljava sve potrebe funkcionalne hrane.

Ključne riječi: kozje mlijeko, inulin, probiotički jogurt

Uvod

Fermentirani mliječni napitci konzumiraju se diljem Europe već 4000 godina (Buttriss, 1997.). U posljednje vrijeme potrošnja probiotičkih napitaka veoma je porasla u većem dijelu Europe, Amerike te azijskih pacifičkih zemalja. Više od 90% tih proizvoda sadrži sojeve *Lactobacillus acidophilus* ili *Bifidobacterium* spp. ili obje vrste zajedno (Dave i Shah,

1998.). Žive stanice ovih probiotičkih bakterija u prehrani prvenstveno uspostavljaju normalnu mikrobnu populaciju probavnog sustava te poboljšavaju korištenje laktoze kod laktoza malapsorpcije, redukciju razine kolesterola u krvi, a vjerojatno i prevenciju karcinoma.

Različiti dodaci za fermentaciju mlijeka mogu poboljšati senzorska i nutritivna svojstva proizvoda.

Ovisno o vrsti mlijeka od kojeg se proizvode, fermentirani napitci mogu imati različite karakteristike. Poznato je da kozje mlijeko ima znatno veću probavljivost u usporedbi s kravljim zbog manjeg promjera masnih kuglica (Mehaia, 1995.), većeg udjela kratkolančanih masnih kiselina i esencijalnih aminokiselina (Alichandis i Polychroniadou, 1997.; Hellin, i sur., 1998.), većeg udjela topljivih mineralnih tvari (Gueguen, 1997.) te manjeg promjera micela kazeina (Haenlein, 1996.; Jandal, 1996.; Urbiene, i sur., 1997.). Iako se kozje mlijeko već koristi u terapijske svrhe, osobito zbog antialergijskih odlika (Park, 1994.), prema dostupnim objavljenim podacima proizvodnja fermentiranih napitaka od kozjeg mlijeka nije do sada dovoljno istražena. Zbog sve većeg uzgoja koza u Republici Hrvatskoj ovo je polje istraživanja vrijedno pažnje (Sinković, 2000.).

Tek nedavno u prehrambenoj su industriji počeli koristiti prebiotike. Prebiotici su neprobavljivi sastojci hrane koji povoljno utječu na domaćina selektivnom stimulacijom rasta i/ili aktivnosti jedne ili ograničenog broja bakterijskih vrsta u debelom crijevu što poboljšava zdravlje domaćina (Schrezenmeier i Vrese, 2001.). Jedan od najpopularnijih prebiotika je inulin. Inulin je neprobavljivi šećer koji služi kao supstrat za razmnožavanje bifidobakterija u ljudskom probavnom sustavu (točnije debelom crijevu), a novije se navodi kao prebiotik u ljudskoj prehrani (Roberfroid, i sur., 1998.; Cummings, i sur., 2001.). Povećanje broja bifidobakterija u debelom crijevu pomaže olakšavanju začepjenosti, boljoj apsorpciji kalcija i magnezija, stimulaciji imunostava, sprječavanju intestinalnih infekcija, a moguća je i prevencija karcinoma (Binder, 1998.; Franck, 1998.; Riccardi, 1998.). Inulin se već uspješno primjenjuje u proizvodnji nekoliko poznatih mliječnih proizvoda kao što su jogurt, fermentirana mlijeka, svježi sir, mliječni napitci i deserti (Franck, 1998.), međutim, još nema radova o primjeni inulina u proizvodnji fermentiranih napitaka od kozjeg mlijeka.

Iako su probiotička svojstva bakterija *Lactobacillus acidophilus* i *Bifidobacterium* ssp. dobro poznata zbog prilično sporog rasta tih bakterijskih

kultura u mlijeku ove bakterije nisu poželjne u mljekarskoj industriji, osobito zbog nedostatka okusa nastalog proizvoda. Da bi to izbjegli, u praksi se vrlo često te probiotičke bakterije kombiniraju s tipičnim mljekarskim bakterijama, najčešće s bakterijama jogurtne kulture, kako bi se vrijeme fermentacije skratilo, a okus proizvoda poboljšao. Broj probiotičkih bakterija u takvom proizvodu ne bi smio biti ispod 10^6 živih stanica po mililitru (Shah i sur., 1995.). Te korisne bakterije u ljudskom organizmu preživljavaju, ali u proizvodima njihovo preživljavanje može biti slabo (Iwana i sur., 1993.). Na preživljavanje korisnih bakterija može utjecati niz različitih čimbenika. Tijekom proizvodnje i čuvanja jogurta to mogu biti kiselost, pH i vodikov peroksid (u probiotičkom jogurtu gdje je prisutna bakterija *Lactobacillus bulgaricus*; Dave i Shah, 1997.) zatim temperatura čuvanja, sadržaj kisika, koncentracija mliječne i octene kiseline i slično (Shah i sur., 1995.; Lankaputhra i sur., 1996.). Poznato je da bakterija *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* može prouzrokovati naknadnu kiselost tijekom čuvanja proizvoda u uvjetima hladnjaka što može značajno smanjiti preživljavanje probiotičkih bakterija u fermentiranim napitcima tijekom čuvanja. *L. bulgaricus* proizvodi i vodikov peroksid što može značajno inhibirati rast bakterije *L. acidophilus* (Dave i Shah, 1997.), a problem je moguće riješiti korištenjem starter kulture kojem se izbjegava bakterija jogurtne kulture *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*. Najčešće se koristi mješovita kultura s bakterijom *Streptococcus thermophilus* kao što je ABT4 kultura (Dave i Shah, 1998.). Kultura ABT već se koristi za fermentaciju kravljeg mlijeka, dok je u fermentaciji kozjeg mlijeka malo istražena.

Stoga je u ovom radu od kozjeg i kravljeg mlijeka proizveden tekući fermentirani napitak s mješovitom ABT4 kulturom (*Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus thermophilus* i *Bifidobacterium* spp.), te je promatran utjecaj inulina na tijek fermentacije i kakvoću napitka tijekom 28 dana čuvanja.

Materijali i metode

Sirovom kozjem i kravljem mlijeku određen je kemijski sastav aparatom Milko Scan 133 (Foss Elektrik, Danska). Mlijeko je zatim tipizirano na 3,2% mliječne masti laboratorijskim separatorom. Podijeljeno je u dva dijela po 2 L te pasterizirano na 85°C/10 minuta, a zatim djelomično ohlađeno na 55°C. U jedan paralelni uzorak dodan je inulin (1,5%). Mlijeko je ohlađeno na 37°C i inokulirano s 2% inokuluma ABT4 kulture.

Korištena je DVS (Direct Vat Set) ABT4 kultura (mješovita kultura sastavljena od sojeva bakterijskih vrsta *Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus thermophilus* i *Bifidobacterium* spp.) za izravno naciepljivanje u mlijeko (Christian Hansen's Lab. Danska).

Fermentacija je vođena do pH-vrijednosti 4,6. Fermentirano mlijeko je ohlađeno vodovodnom vodom na sobnu temperaturu, snažno promiješano te pakirano u plastične čaše od 2 dL kojima je zataljen poklopac. Uzorci su čuvani u hladnjaku (5°C) 28 dana. Prvi, sedmi, četrnaesti, dvadeset i prvi te dvadeset i osmi dan čuvanja izmjerena je pH-vrijednost fermentiranih napitaka te napravljena mikrobiološka i senzorska analiza.

Broj živih stanica bakterija određivan je standardnim mikrobiološkim metodama naciepljivanja. Za određivanje broja živih streptokoka korištena je podloga za laktolitične streptokoke po Chalmeru (Catteau, 1982.). Inkubacija je provedena na 42°C/24 h. Za određivanje broja živih stanica bakterije *Lactobacillus acidophilus* korišten je MRS agar (Merck, Njemačka) kojem je pH vrijednost snižena na 5,4 dodatkom ledene octene kiseline. Inkubacija je provedena u mikroaerofilnim uvjetima (Generbag, bioMérieux, Francuska), na 37°C/ 3 dana. Za određivanje broja živih stanica bifidobakterija korišten je MRS agar s 5%-tnim dodatkom NNLP otopine, pripravljene kako slijedi: u destiliranoj vodi suspendirano je 6,00 g LiCl (Merck), 0,03 g nalidiksinske kiseline (Sigma N-8878, USA), 0,20 g neomicin-sulfata (Sigma N-1976) i 0,25 g paromomicin-sulfata (Parke-Davis, Engleska) te dopunjeno s destiliranom vodom do 100 mL. pH-vrijednost podešena je s 0,1 M NaOH na 7,2-7-5. Inkubacija je provedena u anaerobnim uvjetima (Generbag, bioMérieux) na 37°C/ 3 dana. Za određivanje broja stanica živih bakterija korištena je podloga Plate-Count-Agar (Merck). Inkubacija je provedena u anaerobnim uvjetima na 31°C/ 2 dana. Za određivanje broja koliformnih bakterija korištena je VRB podloga (Merck). Inkubacija je provedena u aerobnim uvjetima na 37°C/ 2 dana.

Senzorsku procjenu fermentiranih napitaka provela je panel skupina od 5 članova koristeći sustav od 20 ponderiranih bodova (ISO, 1985).

Pokus je ponovljen tri puta, a rezultati su prikazani kao srednja vrijednost.

Rezultati i rasprava

U istraživanju je korišteno sirovo kravlje i kozje mlijeko (tablice 1 i 2), a za pripravu fermentiranih napitaka mliječna mast je podešena na 3,2%.

Tablica 1: Kemijski sastav i pH-vrijednost sirovog kravljeg mlijeka (A) (n=3)
Table 1: Chemical composition, and pH value of raw cow's milk (A) (n=3)

Sastav i pH Composition and pH	Kravlje mlijeko (A) Cow's milk (A)			
	1	2	3	x
Suha tvar (%) Total solids	12,46	13,09	12,99	12,85
Suha tvar bez masti (%) Non fat dry matter	8,45	8,59	8,65	8,56
Mliječna mast (%) Fat	4,01	4,50	4,34	4,28
Laktoza (%) Lactose	4,40	4,52	4,52	4,48
Proteini (%) Proteins	3,33	3,34	3,41	3,36
pH-vrijednost pH-value	6,76	6,58	6,63	6,65

Tablica 2: Kemijski sastav i pH-vrijednost sirovog kozjeg mlijeka (B) (n=3)
Table 2: Chemical composition, and pH value of raw goat's milk (B) (n=3)

Sastav i pH Composition and pH	Kozje mlijeko (B) Goat's milk (B)			
	1	2	3	x
Suha tvar (%) Total solids	11,91	12,53	12,56	12,33
Suha tvar bez masti (%) Non fat dry matter	8,15	8,77	8,85	8,59
Mliječna mast (%) Fat	3,76	3,77	3,71	3,74
Laktoza (%) Lactose	4,33	4,00	4,02	4,12
Proteini (%) Proteins	3,07	4,03	4,10	3,73
pH-vrijednost pH-value	6,53	6,45	6,56	6,51

Sirovo kravlje mlijeko je u svim uzorcima imalo više mliječne masti (za prosječno 12,6%) i više laktoze (za prosječno 8,0%) od kozjeg. Udjel proteina u kozjem mlijeku prilično je varirao od uzorka do uzorka. Ipak je, u prosjeku, udjel proteina bio za 9,9% veći u kozjem mlijeku, pa je suha tvar bez masti u oba mlijeka bila u prosjeku podjednaka (8,56-8,59%).

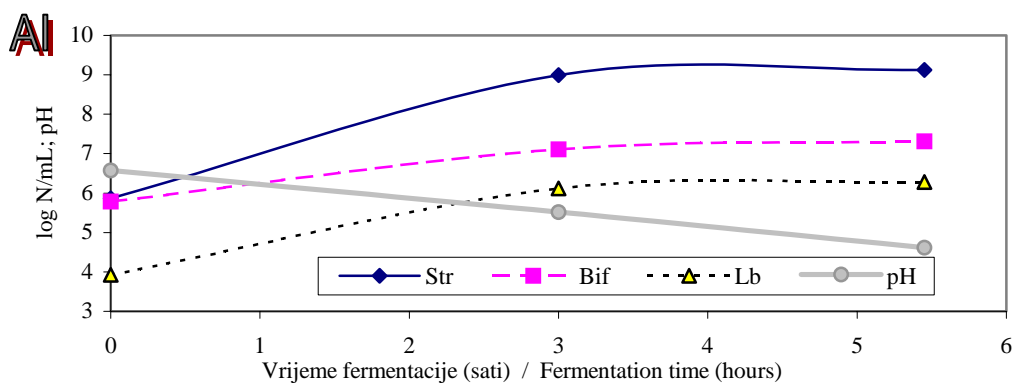
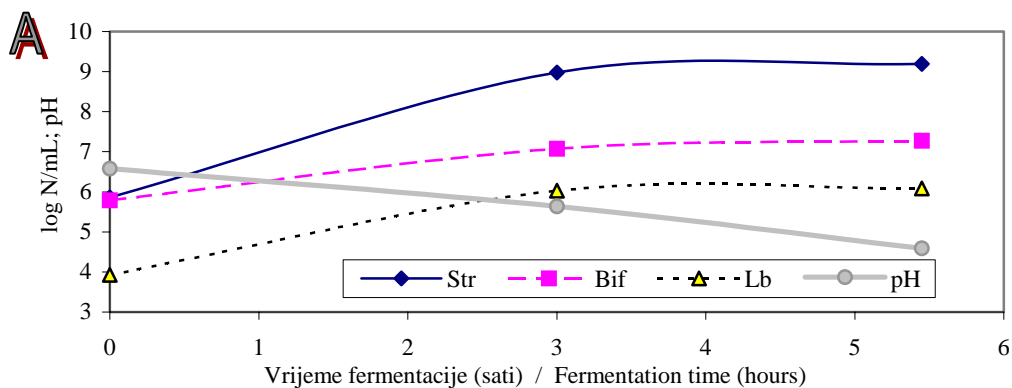
Analiziran je i mikrobiološki sastav sirovog mlijeka (tablica 3). Broj živih bakterija u sirovom kravljem mlijeku bio je u prosjeku veći ($4,0 \times 10^5$ cfu/mL) nego u kozjem mlijeku ($2,5 \times 10^5$ cfu/mL), kao i broj koliformnih bakterija ($1,3 \times 10^4$ u kravljem mlijeku, te $4,8 \times 10^3$ cfu/mL u kozjem mlijeku). Međutim, nakon pasterizacije (85°C/10 minuta) ni u jednom mlijeku nije bilo koliformnih bakterija, a broj živih bakterija je bio manji od reda veličine 10^3 cfu/mL.

Tablica 3: Broj živih stanica bakterija (N) te broj koliformnih bakterija (K) u mL sirovog kravljeg (A) i kozjeg (B) mlijeka

Table 3: Total viable cell counts (N) and coliform counts (K) in mL of raw cow's (A) and goat's (B) milk

Broj živih stanica bakterija u 1 mL sirovog mlijeka Viable cell counts in 1 mL of raw milk (cfu/mL)	Kravlje mlijeko (A) Cow's milk (A)			
	1	2	3	x
Broj živih stanica bakterija/total viable cell counts (N)	$2,7 \times 10^4$	$9,7 \times 10^5$	$2,1 \times 10^5$	$4,0 \times 10^5$
log N	4,43	5,98	5,32	5,24
Broj koliformnih bakterija / coliform counts (K)	$4,3 \times 10^3$	$3,4 \times 10^4$	$2,4 \times 10^2$	$1,3 \times 10^4$
log K	3,63	4,53	2,38	3,51
Broj živih stanica bakterija u 1 mL sirovog mlijeka Viable cell counts in 1 mL of raw milk (cfu/mL)	Kozje mlijeko (B) Goat's milk (B)			
	1	2	3	x
Broj živih stanica bakterija/total viable cell counts (N)	$6,1 \times 10^4$	$1,0 \times 10^4$	$4,0 \times 10^3$	$2,5 \times 10^4$
log N	4,78	4,00	3,60	4,13
Broj koliformnih bakterija / coliform counts (K)	$1,0 \times 10^4$	$4,5 \times 10^3$	$1,0 \times 10^1$	$4,8 \times 10^3$
log K	4,00	3,65	1,00	2,88

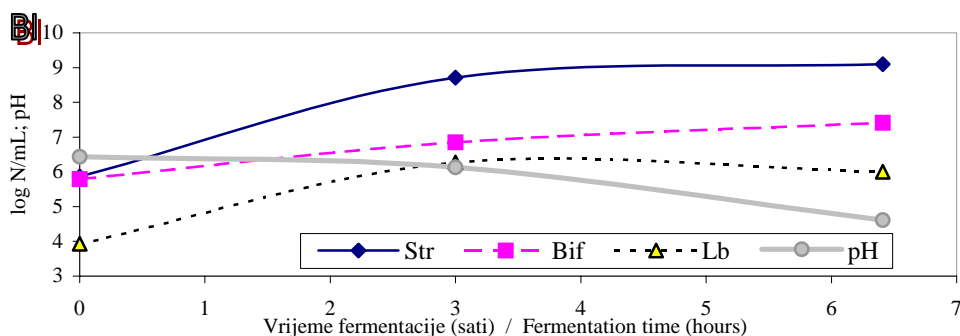
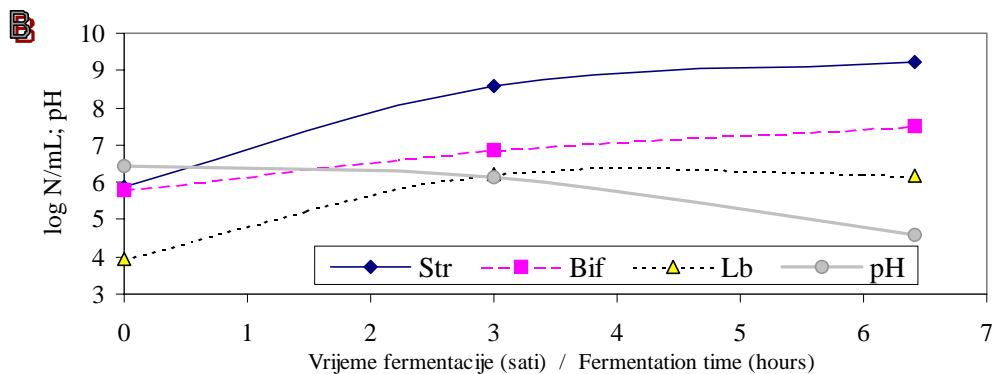
U radu je istraživana fermentacija kravljeg i kozjeg mlijeka sa i bez dodatka inulina (1,5%).



Slika 1: Promjena pH-vrijednosti i broja živih bakterijskih stanica ($\log N/mL$) *Streptococcus thermophilus* (Str), *Lactobacillus acidophilus* (Lb) i *Bifidobacterium* spp. (Bif) tijekom fermentacije (37 °C) kravljeg mlijeka (A) te kravljeg mlijeka s dodatkom inulina (AI)

Figure 1: Changes of pH-value and viable cell counts ($\log N/mL$) of *Streptococcus thermophilus* (Str), *Lactobacillus acidophilus* (Lb) and *Bifidobacterium* spp. (Bif) during fermentation (37 °C) of cow's milk (A) and cow's milk supplemented with inulin (AI)

Fermentacija kravljeg mlijeka s mješovitom ABT4 kulturom bila je kraća (5²⁷ sati) za oko 1 sat od fermentacije kozjeg mlijeka (6²⁵ sati) jer je pad pH-vrijednosti tijekom fermentacije kravljeg mlijeka bio brži (slike 1 i 2). Tome je, vjerojatno, pridonio manji udjel proteina u kravljem mlijeku (tablice 1 i 2).



Slika 2: Promjena pH-vrijednosti i broja živih bakterijskih stanica ($\log N/mL$) *Streptococcus thermophilus* (Str), *Lactobacillus acidophilus* (Lb) i *Bifidobacterium* spp. (Bif) tijekom fermentacije (37 °C) kozjeg mlijeka (B) i kozjeg mlijeka s dodatkom inulina (BI)

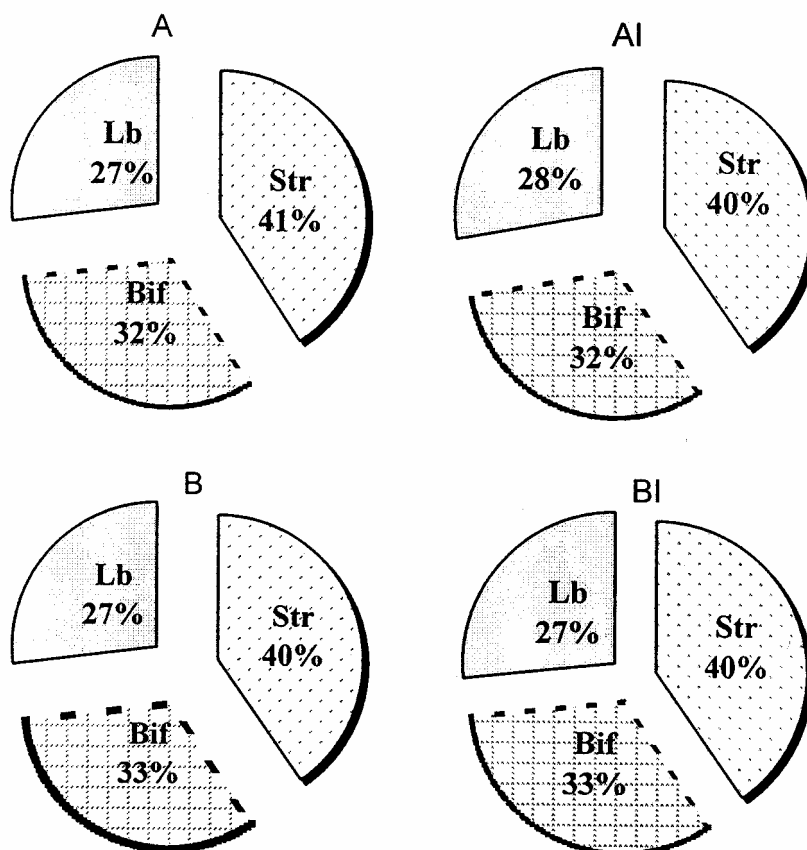
Figure 2: Changes of pH-value and viable cell counts ($\log N/mL$) of *Streptococcus thermophilus* (Str), *Lactobacillus acidophilus* (Lb) and *Bifidobacterium* spp. (Bif) during fermentation (37 °C) of goat's milk (B) and goat's milk supplemented with inulin (BI)

Na početku fermentacije broj laktobacila bio je puno manji ($\log N/mL=3,93$) od broja bifidobakterija ($\log N/mL=5,79$) i broja streptokoka ($\log N/mL=5,86$). Tijekom fermentacije nije bilo značajne razlike u rastu pojedinih bakterijskih sojeva između uzoraka kravljeg i kozjeg mlijeka, a osobito između kontrolnih uzoraka i uzoraka s dodatkom inulina iste vrste mlijeka (slike 1 i 2). U svim je uzorcima mlijeka kinetika rasta bakterijskih sojeva tijekom fermentacije bila približno jednaka. Najbolje su rasli streptokoki, $\log N/mL$ oko 9, što je ustanovljeno već u trećem satu fermentacije. Unatoč relativno dobrom rastu, broj živih laktobacila bio je na kraju fermentacije nizak, $\log N/mL$ oko 6, što je posljedica niskog početnog broja u kulturi (slike 1 i 2). Broj bifidobakterija na kraju fermentacije bio je u granicama od $8,2 \times 10^6$ do $3,1 \times 10^7$ živih stanica po mililitru što je znatno manje od fermentacije vođene monokulturom bifidobakterija (od $1,1 \times 10^8$ do $3,8 \times 10^8$ živih stanica po mililitru) (Božanić i Tratnik, 2001.). Prema Samona i Robinsonu (1994.) različiti sojevi bifidobakterija (*Bifidobacterium adolescentis*, *B. lactis* i *B. longum*) također znatno bolje rastu kao monokulture nego u zajednici s bakterijama jogurtne kulture.

Na kraju fermentacije odnos Str : Bif : Lb u svim uzorcima bio je podjednak: 40 : 33 : 27 (slika 3).

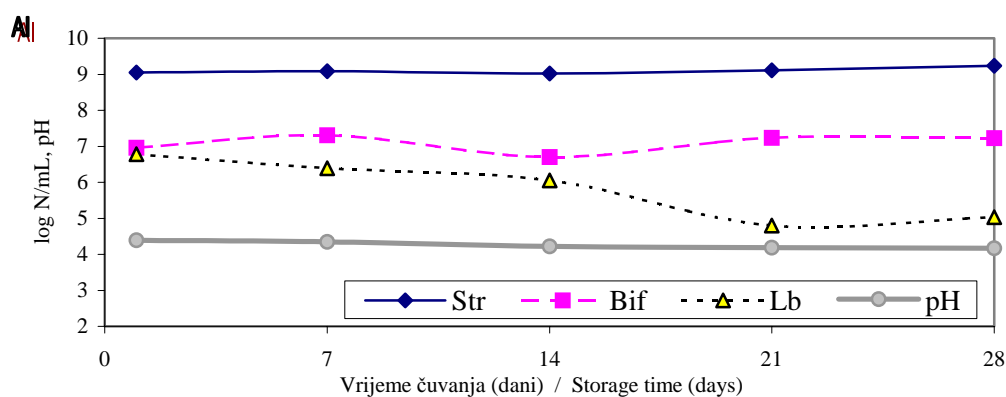
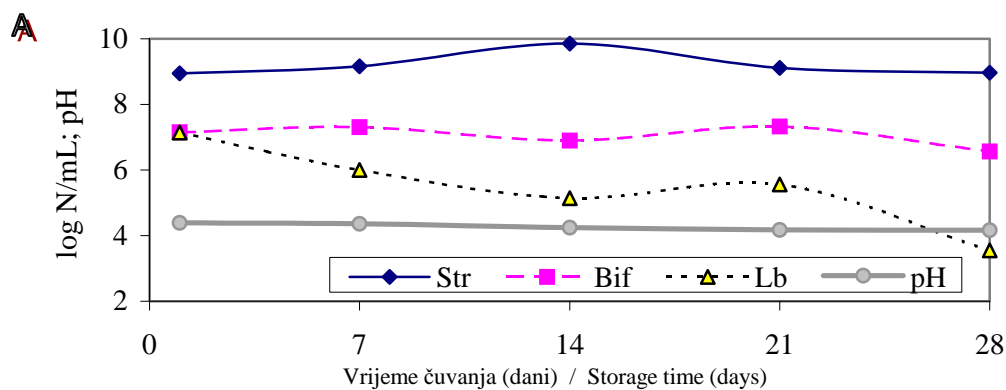
Tijekom 4 tjedna čuvanja ustanovljene su vrlo male promjene pH-vrijednosti u svim uzorcima fermentiranih napitaka (slike 4 i 5). U uzorcima kravljeg mlijeka pH-vrijednost je tijekom 28 dana čuvanja opala za 0,22 pH jedinice, a u uzorcima kozjeg mlijeka za 0,14 pH jedinica.

Streptokoki su u mješovitoj kulturi bili najstabilniji. Tijekom četiri tjedna čuvanja broj živih streptokoka kretao se od 10^9 živih stanica po mililitru, a 28. dana čuvanja njihov broj je u svim uzorcima bio u granicama $1,7 \times 10^9$ – $1,8 \times 10^9$ živih stanica /mL, osim u kontrolnom uzorku kravljeg mlijeka (A) gdje je bio nešto niži ($9,3 \times 10^8$ živih stanica /mL). Ti rezultati su u korelaciji s rezultatima drugih autora (Dave i Shah, 1997.; Micanel i sur., 1997.; Rogelj i sur., 1998.). Nije zapažen bitan utjecaj vrste mlijeka pa ni dodatka inulina na preživljavanje streptokoka (slike 4 i 5).



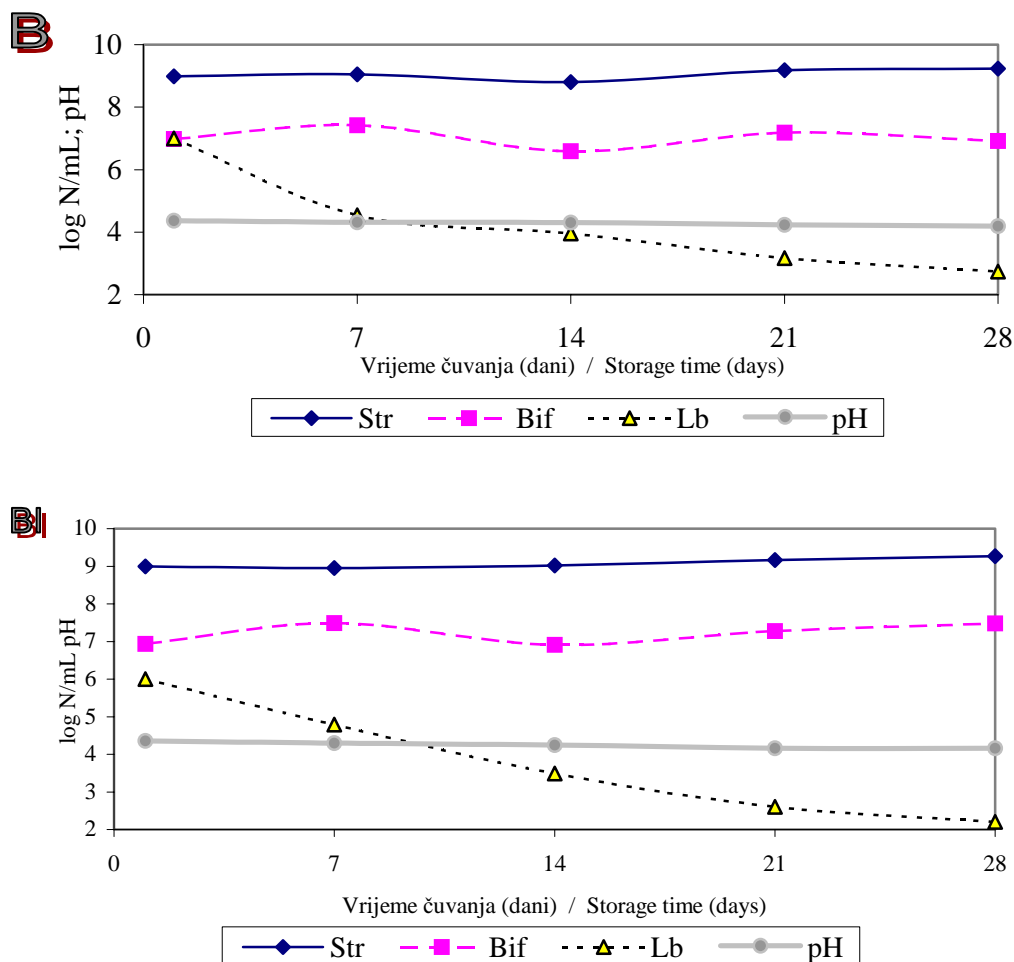
Slika 3: Udjel živih bakterijskih stanica *Streptococcus thermophilus* (Str), *Lactobacillus acidophilus* (Lb) i *Bifidobacterium* spp. (Bif) na kraju fermentacije s kulturom ABT4 kravljeg (A) i kozjeg mlijeka (B) te uzoraka s dodatkom inulina (AI i BI)

Figure 3: Proportion of viable cells of *Streptococcus thermophilus* (Str), *Lactobacillus acidophilus* (Lb) i *Bifidobacterium* spp. (Bif) at the end of fermentation with ABT4 culture of cow's (A) and goat's milk (B) as well as samples supplemented with inulin (AI and BI)



Slika 4: Promjena pH-vrijednosti i broja živih bakterijskih stanica ($\log N/mL$) *Streptococcus thermophilus* (Str), *Lactobacillus acidophilus* (Lb) i *Bifidobacterium* spp. (Bif) tijekom 28 dana čuvanja (na 5 °C) probiotičkog napitka od kravljeg mlijeka (A) i kravljeg mlijeka s dodatkom inulina (AI)

Slika 4: Changes of pH-value and viable cell counts ($\log N/mL$) of *Streptococcus thermophilus* (Str), *Lactobacillus acidophilus* (Lb) and *Bifidobacterium* spp. (Bif) during 28 days of storage (at 5 °C) of probiotic beverages made from cow's milk (A) as well as cow's milk supplemented with inulin (AI)



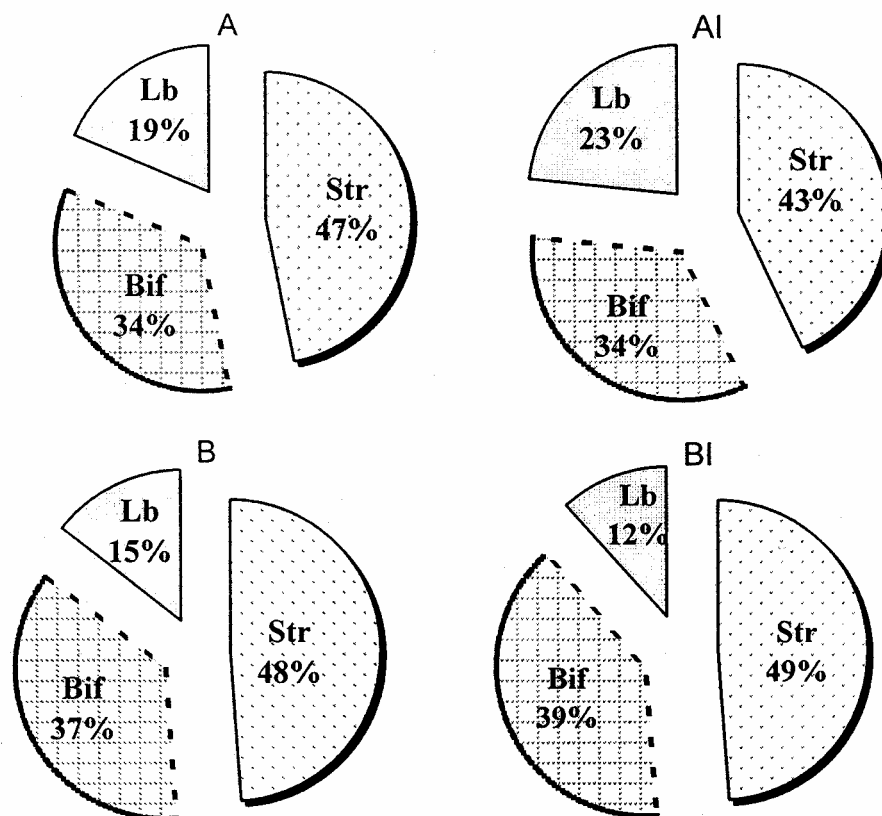
Slika 5: Promjena pH-vrijednosti i broja živih bakterijskih stanica ($\log N/mL$) *Streptococcus thermophilus* (Str), *Lactobacillus acidophilus* (Lb) i *Bifidobacterium* spp. (Bif) tijekom 28 dana čuvanja (na 5 °C) probiotičkog napitka od kozjeg mlijeka (B) i kozjeg mlijeka s dodatkom inulina (BI)

Figure 5: Changes of pH-value and viable cell counts ($\log N/mL$) of *Streptococcus thermophilus* (Str), *Lactobacillus acidophilus* (Lb) and *Bifidobacterium* spp. (Bif) during 28 days of storage (at 5 °C) of probiotic beverages made from goat's milk (B) as well as goat's milk supplemented with inulin (BI)

Broj bifidobakterija tijekom čuvanja uzoraka također nije smanjen (slike 4 i 5). Autori koji su rabili istu kulturu (Dave i Shah, 1997.; Rogelj i sur, 1998.) dobili su vrlo raznolik rast bifidobakterija tijekom fermentacije. Uglavnom, udjel bifidobakterija u mješovitoj kulturi bio je najmanji. U njihovim istraživanjima broj je bifidobakterija u sličnim pokusima značajno opadao tijekom tridesetak dana čuvanja proizvoda. Ipak, u nekim se pokusima kinetika preživljavanja bifidobakterija poklapa s istraživanjem u ovom radu. Rogelj i suradnice (1998.) u svom radu su koristile probiotički napitak triju mljekara proizveden ABT4 kulturom. U svakom je od tih proizvoda broj bifidobakterija, i njihovo preživljavanje, bilo drugačije ($4,6 \times 10^2$ do $2,3 \times 10^6$ stanica /g). Te veće razlike u broju i preživljavanju bifidobakterija autorice objašnjavaju razlikom u sadržaju kisika, odnosno razlikom u tehnološkim postupcima. S obzirom da su bifidobakterije anaerobi, količina kisika sigurno utječe na njihov rast. Slične rezultate dobili su Dave i Shah (1997.) koji su probiotičke napitke čuvali u plastičnim i staklenim posudama 35 dana. Bolje je preživljavanje bifidobakterija u potpuno hermetički zatvorenim staklenim posudama.

Tijekom čuvanja fermentiranih uzoraka (slike 4 i 5) nije bilo razlike u kinetici preživljavanja bifidobakterija u napitcima od kravljeg i kozjeg mlijeka. U uzorcima s dodatkom inulina (AI, BI) broj bifidobakterija se nešto povećao te je 28. dana u tim uzorcima njihov broj za oko 0,6 logaritamskih jedinica veći nego u kontrolnim (A, B). U svim uzorcima broj bifidobakterija je za vrijeme čuvanja bio veći od 10^6 živih stanica po mililitru, što ove proizvode svrstava u probiotičke.

Preživljavanje laktobacila tijekom čuvanja napitaka (slike 4 i 5) osobito je slab u uzorcima od kozjeg mlijeka (B, BI). Već nakon prvog tjedna čuvanja, broj laktobacila u tim uzorcima bio je manji od reda veličine 10^6 živih stanica / mL ($\log N/mL=3,9-4,5$), da bi na kraju čuvanja udjel laktobacila u ukupnoj bakterijskoj populaciji uzoraka od kozjeg mlijeka (B i BI) bio manji ili jednak 15% (slika 6). Preživljavanje laktobacila bilo je nešto bolje u uzorcima od kravljeg mlijeka (A i AI). Ipak, njihov je broj tijekom perioda čuvanja stalno opadao. Prva dva tjedna čuvanja broj laktobacila bio je veći od 10^6 živih stanica po mililitru u uzorku AI, dok je u kontrolnom uzorku A bio nešto niži ($\log N/mL=5,15$). Udjel laktobacila u kontrolnom uzorku (A) bio je 28. dana 19%, a u uzorku s inulinom (AI) 23% (slika 6).



Slika 6: Udjel živih bakterijskih stanica *Streptococcus thermophilus* (Str), *Lactobacillus acidophilus* (Lb) i *Bifidobacterium* spp. (Bif) u fermentiranim uzorcima kravljeg (A) i kozjeg (B) mlijeka, te uzoraka s dodatkom inulina (AI i BI), nakon 28 dana čuvanja (pri 5 °C)

Figure 6: Proportion of viable cell counts of *Streptococcus thermophilus* (Str), *Lactobacillus acidophilus* (Lb) i *Bifidobacterium* spp. (Bif) fermented samples of cow's (A) and goat's milk (B) as well as samples supplemented with inulin (AI and BI), after 28 days of storage (at 5 °C)

Senzorska ocjena proizvedenih napitaka rađena je jednom tjedno tijekom mjesec dana (tablica 5).

Tablica 5: Senzorska procjena (bodovi) uzoraka probiotičkog napitka od kravljeg (A) i kozjeg mlijeka (B) te uzoraka s dodatkom inulina (AI i BI) tijekom čuvanja na 5 °C

Table 5: Sensory evaluation (scores) of probiotic beverages made from cow's (A) and goat's milk (B) as well as samples supplemented with inulin (AI and BI) during storage at 5 °C

Vrijeme čuvanja (dani) Time of storage (days)	A	AI	B	BI
1				
Izgled / Appearance	1,0	0,9	1,0	1,0
Boja / Colour	1,0	1,0	1,0	1,0
Miris / Odour	2,0	2,0	2,0	2,0
Konzistencija / Consistency	3,3	3,6	3,2	3,5
Okus / Flavour	10,9	11,1	10,3	10,0
Σ	18,2	18,6	17,5	17,5
7				
Izgled / Appearance	1,0	1,0	1,0	1,0
Boja / Colour	1,0	1,0	1,0	1,0
Miris / Odour	2,0	2,0	2,0	2,0
Konzistencija / Consistency	3,0	3,2	3,8	3,8
Okus / Flavour	10,8	11,2	11,1	11,4
Σ	17,8	18,4	18,9	19,2
14				
Izgled / Appearance	1,0	1,0	1,0	0,9
Boja / Colour	1,0	1,0	1,0	1,0
Miris / Odour	2,0	2,0	2,0	2,0
Konzistencija / Consistency	3,5	4,0	3,8	4,0
Okus / Flavour	11,0	11,2	11,0	11,5
Σ	18,5	19,2	18,8	19,4
21				
Izgled / Appearance	1,0	1,0	1,0	0,9
Boja / Colour	1,0	1,0	1,0	1,0
Miris / Odour	2,0	2,0	2,0	2,0
Konzistencija / Consistency	3,0	3,5	3,5	3,5
Okus / Flavour	10,3	10,3	11,0	11,0
Σ	17,3	17,8	18,5	18,4
28				
Izgled / Appearance	1,0	1,0	1,0	1,0
Boja / Colour	1,0	1,0	1,0	1,0
Miris / Odour	2,0	2,0	2,0	2,0
Konzistencija / Consistency	3,5	3,5	4,0	4,0
Okus / Flavour	11,2	11,2	11,3	11,3
Σ	18,7	18,7	19,3	19,3

Uzorci s inulinom imali su nešto veću gustoću i bolju konzistenciju. Prema literaturi (Salminen i sur., 1998.) inulin je blagog, neutralnog okusa, bez ikakvog suokusa. Inulin također može služiti kao supstitucija za masti jer pomiješan s vodom tvori gel, kremastu teksturu izvrsnih okusnih karakteristika. Stabilizira pjenjenje i emulgiranje, djeluje sinergistički s većinom želirajućih agenasa. U uzorcima kravljeg mlijeka dodatak inulina nije utjecao na okus, dok je u uzorcima kozjeg mlijeka s dodatkom inulina bio slabije izražen suokus na kozu. Sinereza se pojavila 21. dana čuvanja i slabija je bila u uzorcima s inulinom. Iako su uzorci kozjeg mlijeka nakon 24 sata čuvanja bili lošije ocijenjeni od uzoraka kravljeg mlijeka, njihov se okus kasnije poboljšao te su dobili bolje ocjene od uzoraka kravljeg mlijeka. Senzorska kakvoća napitaka tijekom ukupnog perioda čuvanja nije značajno opadala. Nije bilo bitne razlike ni između kontrolnih uzoraka i uzoraka fermentiranih napitaka s inulinom.

Zaključak

Kada se fermentirano kozje mlijeko oplemeni probiotičkim bakterijama i prebiotičkim supstratom, kao što je inulin, ono zadovoljava sve zahtjeve funkcionalne hrane. Naši rezultati su pokazali da je rast bakterija *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus* i *Bifidobacterium* spp. u kozjem mlijeku bio vrlo dobar i usporediv s rastom u kravljem mlijeku, a odnos Str : Bif : Lb na kraju fermentacije u svim je uzorcima bio podjednak: 40 : 33 : 27. Tijekom čuvanja broj streptokoka i bifidobakterija nije opadao. U uzorcima s dodatkom inulina broj bifidobakterija se nešto povećao te je 28. dana u tim uzorcima njihov broj bio veći za oko 0,6 logaritamskih jedinica nego u kontrolnim. Preživljavanje laktobacila tijekom čuvanja bilo je lošije u fermentiranom kozjem mlijeku nego u fermentiranom kravljem mlijeku. Dodatak inulina poboljšao je čvrstoću koaguluma i ublažio karakterističan okus kozjeg mlijeka. Fermentirani uzorci kozjeg mlijeka tijekom čuvanja bili su bolje senzorski ocijenjeni u odnosu na uzorke kravljeg mlijeka.

FERMENTATION AND STORAGE OF PROBIOTIC YOGHURT FROM GOAT'S MILK

Summary

Cow's and goat's milk supplemented with inulin were fermented with ABT4 culture. The population growth of *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium* ssp. in plain and inulin-supplemented goat's milk during fermentation was evaluated. The survival of strains during 28 d of storage was followed in comparison with that of cow's milk. The time required to reach the desired pH of 4.6 during fermentation was 6 h for both types of milk. At that time the proportion of viable cells of *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium* ssp. in all fermented samples was comparable 40 : 33 : 27, respectively. During the storage viable count of streptococci and bifidobacteria have not decreased. In supplemented samples viable counts of bifidobacteria were increased and during 28th day of storage were higher for 0.6 logarithms compared to the non supplemented samples. Surviving of lactobacilli was poorer in fermented goat's milk than in fermented cow's milk during storage. The addition of inulin improved the firmness of fermented goat's and cow's milks products. Inulin addition partly masked the goat's flavour of produced yogurt. During storage the fermented goat's samples were scored better in comparison with cow's samples. Goat's milk fermented with probiotic bacteria and fortified with inulin complies with the requirements of functional food.

Key words: goat's milk, inulin, probiotic yoghurt

Literatura

- ALICHANDIS E., POLYCHRONIADOU A. (1997.): Special features of dairy products from ewe and goat milk from the physicochemical and organoleptic point of view; *Sheep Dairy News* 14 (1) 11-18.
- BINDER H. J. (1998.): Mechanism of Colonic Short Chain Fatty Acid Absorption; *Gastroenterology International* 11 (1) 74-75.
- BOŽANIĆ R., TRATNIK LJ. (2001.): Quality of Cow's and Goat's Fermented Bifido Milk during Storage; *Food Technology and Biotechnology* 39 (2) 109-144.
- BUTTRISS J. (1997): Nutritional properties of fermented milk products; *International Journal of Dairy Technology* 50 (1) 21-27.

- CATTEAU M. (1982.): Cours de Microbiologie des Daires Alimenaries; 14euse letion, Institut de Lill.
- CUMMINGS J. H., MACFARLANE G. T., ENGLYST H. N. (2001.): Prebiotic digestion and fermentation; *American Journal of Clinical Nutrition* 73 S10731K
- DAVER. I., SHAH N. P. (1997.): Viability of yoghurt and probiotic bacteria in yogurts made from comercial starter culture; *International Dairy Journal* 7 (1) 31-41.
- DAVER. I., SHAH N. P. (1998.): Ingredient supplementation effects on viability of probiotic bacteria in yogurt; *Journal of Dairy Science* 81 2804-2816.
- FRANCK, A. (1998.): Prebiotic stimulate calcium apsrption: a review; *Milchwissenschaft* 53 (8): 427-429.
- GUEGUEN L. (1997.): La valeur nutritionnelle minerale du lait de chevre; *INRA* (81) 67-80.
- HAENLEIN G. F. W. (1996.): Nutritional value of dairy products of ewe and goat milk; Production and Utilization of Ewe and Goat Milk, *International Dairy Federation*, Brussels, 159-178.
- HELLIN P., LOPEZ M.-B., JORDAN M.-J., LAENCINA J. (1998.): Fatty acids in Murciano-Granadina goat's milk; *Lait* 78 363-369.
- ISO (TC 34) SC 12 (Secretariat - 139 E) *Sensory analysis* DC, 185-02-05, 1985.
- IWANA H., MASUDA S., FUJISAWA T., SUZUKI H., MITSOUKA T. (1993.): Isolation *Bifidobacterium* spp. in commercial yoghurts sold in Europe; *Bifidobacteria Microflora* 12 39.
- JANDAL J. M. (1996.): Comparative aspects of goat and sheep milk; *Small Ruminant Research* 22 177-185.
- LANKAPUTHRA W. E. V., SHAH N. P. BRITZ M. L. (1996.): Survival of bifidobacteria during refrigerated storage in the presence of acid and hydrogen peroxide; *Milchwissenschaft* 51 (2) 65-69.
- MEHAIA M. A. (1995.): The fat globule size distribution in camel, goat, ewe and cow milk; *Milchwissenschaft* 50 (5): 260-263.
- MICANEL N., HAYNES NI. N., PLAYNE M. J. (1997.): Viability of probiotic cultures in commercial Australian yogurts; *The Australian Journal of Dairy Technology* 52 April 24-27.
- PARK Y. X. (1994.): Hypo-allergenic and therapeutic significance of goat milk; *Small Ruminant Research*, 14 151-154.
- RICCARDI G. (1998.): Dietary Fiber in the Treatment of Diabetes; *Gastroenterology International* 11 (1) 127-129.
- ROBERFROID M. B., VAN LOO J. A. G., GIBSON, G. R. (1998.): A review on the bifidogenic nature of chickory inulin and its hydrolysis products; *Jurnal of Nutrition* 128 (1) 11-19.

ROGELJ I., MIKLIČ-ANDERLIČ A., BOGOVIČ-MATIJAŠIĆ B. (1998.): The survival of *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium* spp. during the storage of fermented milk, *Mljekarstvo*, 48 (1) 27-36.

SALMINEN S., ROBERFROID M., RAMOS P., FONDEN R. (1998.): Prebiotic Substrates and Lactic Acid Bacteria, U: "Lactic acid bacteria: microbiology and functional aspects" Second Edition (S. Salminen, ured) Marcel Dekker Inc., New York.

SAMONA A., ROBINSON R. K. (1994.): Effect of yoghurt cultures on the survival of bifidobacteria in fermented milks; *Journal of the Society of Dairy Technology* 47 (2) 58-60.

SCHREZENMEIER J., VRESE M. (2001.): Probiotic, prebiotic, and synbiotics – approaching a definition; *American Journal of Clinical Nutrition* 73 361S-364S.

SHAH N. P., LANKAPUTHRA W. E. V., BRITZ M. L., KYLE W. S. A. (1995.): Survival of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* in commercial yoghurt during refrigerated storage. *International Dairy Journal* 5 (5) 515-521.

SINKOVIĆ K. (2000.): Provedba i rezultati uzgojno selekcijskog rada u ovčarstvu i kozarstvu u 1999. godini; *Drugo savjetovanje uzgajivača ovaca i koza u Republici Hrvatskoj, Plitvička Jezera*, 26-27 June 2000.

URBIENE S., CIUCKINAS A., MARGELYTE J. (1997.): Physical and chemical properties and the biological value of goat's, cow's and human milk; *Milchwissenschaft* 52 (8) 427-430.

Adrese autora - Author's addresses:

Doc. dr. sc. Rajka Božanić
Prof. dr. sc. Ljubica Tratnik
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Sveučilišta u Zagrebu
Prof. dr. sc. Irena Rogelj
Biotehniška fakulteta
Inštitut za mljekarstvo
Domžale, Slovenija

Prispjelo – Received:

15. 03. 2002.

Prihvaćeno – Accepted:

28. 06. 2002.