

Utjecaj inulina na rast i preživljavanje *Bifidobacterium longum* BB536 u fermentiranom kozjem i kravljem mlijeku

Marina Šimunek*, Silva Evačić

Prehrambena industrija "Vindija" d.d.,
Međimurska 6, Varaždin

Prispjelo - Received: 10.02.2009.
Prihvaćeno - Accepted: 09.07.2009.

Sažetak

Fermentirani mliječni napitci proizvedeni su od standardiziranoga kozjega i kravljeg mlijeka (2,9 % mliječne masti) uz dodatak 3 % obranog mlijeka u prahu (kontrolni uzorci), ili uz dodatak 2 % inulina i 1 % obranog mlijeka u prahu (eksperimentalni uzorci). Fermentacija uzoraka provedena je pri 40 °C uporabom termofilne jogurtne kulture YC-380 i probiotičke kulture *Bifidobacterium longum* BB536. Kod svih je uzoraka poželjna kiselost (pH oko 4,5) postignuta za oko 5,5 h. Broj živih stanica probiotičke kulture (logN/mL) porastao je tijekom fermentacije podjednako za sve uzorke (oko 1,4 logaritamske jedinice), osim za uzorak kravljeg mlijeka obogaćenog inulinom u kojem je porast bifidobakterija bio najveći (oko 1,7 logaritamske jedinice). Tijekom trajanja fermentacije nešto brži pad pH-vrijednosti uočen je kod uzoraka od kozjeg mlijeka u odnosu na kravlje. Na kraju fermentacije između ispitivanih uzoraka nije bilo statistički značajne razlike u pH-vrijednostima ($P > 0,05$), bez obzira na vrstu mlijeka ili dodatak inulina. Tijekom 30 dana čuvanja fermentiranih napitaka pri temperaturi hladionika (oko 6 °C) nešto niže pH-vrijednosti zabilježene su kod uzoraka kravljeg mlijeka u odnosu na kozje, osobito kod kravljeg mlijeka obogaćenog inulinom. Do petnaestog dana čuvanja u svim uzorcima uočen je porast broja živih stanica probiotičkih bakterija, dok je od 20. do 30. dana zabilježen njihov pad za oko 0,5 logaritamske jedinice. U kozjem mlijeku bilo je nešto slabije preživljavanje bifidobakterija nego u kravljem. Broj bifidobakterija u uzorcima obogaćenim inulinom zadnji dan čuvanja u odnosu na kontrolne uzorke bio je veći za oko 0,3 logaritamske jedinice, bez obzira na vrstu mlijeka. U svim uzorcima nakon 30 dana čuvanja u hladioniku osigurana je preporučena koncentracija bifidobakterija na osnovi koje se istraživani fermentirani napitci ubrajaju u probiotičke.

Ključne riječi: *Bifidobacterium longum* BB536, fermentirano kozje i kravlje mlijeko, inulin, probiotici

Uvod

Proizvodnja i konzumacija probiotičkih fermentiranih mliječnih proizvoda kao funkcionalne hrane dramatično je porasla u cijelom svijetu i zbog njihove hranjive vrijednosti, ali i zbog njihovih pozitivnih učinaka na zdravlje (Phillips i sur., 2006.; Hadadji i sur. 2005.; Schillinger i sur., 2005.). U novije vrijeme veliko zanimanje usmjereno je na razvoj bioak-

tivnih kultura i njihovu inkorporaciju u fermentirane mliječne proizvode (Janer i sur., 2004.). Za proizvodnju funkcionalnih mliječnih proizvoda najčešće se koriste odabrani sojevi *Lactobacillus* sp. i *Bifidobacterium* sp. (Oliveira i sur., 2009.).

Bifidobakterije su prepoznate kao bakterije s probiotičkim, nutritivnim i terapijskim svojstvima (Herzallah, 2005.). Među različitim probiotičkim

*Dopisni autor/Corresponding author: E-mail: simunek.marina@gmail.com

bakterijama, soj *Bifidobacterium longum* BB536 podvrgnut je intenzivnom istraživanju povoljnih učinaka na zdravlje (Donkor i sur., 2007.). Primarni su zdravstveni i funkcionalni učinci probiotičkog soja *Bifidobacterium longum* BB536 naseljavanje ljudskoga probavnog sustava i postizanje ravnoteže intestinalne mikroflore, prevencija i pomoć pri liječenju intestinalnih poremećaja i poboljšanje prirodnog imuniteta (Donkor i sur., 2007.; Al-Rwaily i sur., 2005.).

Jogurt je jedan od najpopularnijih fermentiranih mliječnih proizvoda koji se tradicionalno konzumira u većini zemalja (Nakasaki i sur., 2008.) i koji se koristi kao najpovoljniji medij kojim potrošači u organizam mogu unijeti velik broj probiotičkih bakterija u svrhu postizanja terapijskih svojstava (Krasaekoopt i sur., 2006.).

Da bi probiotičke bakterije imale pozitivan učinak na zdravlje, moraju imati sposobnost preživljavanja prolaskom kroz probavni sustav domaćina (Maragkoudakis i sur., 2006.; Oliveira i sur., 2001.; Madureira i sur., 2005.). Mnoge bifidobakterije dodane u neke proizvode ne mogu izvršiti probiotičke efekte jer ugibaju nakon izloženosti niskom pH prilikom fermentacije, kisiku tijekom skladištenja i distribucije, i/ili kiseline u želucu (Maragkoudakis i sur., 2006.; Martínez-Villaluenga i sur., 2006.; Gueimonde i sur., 2004.; Picot i Lacroix 2004.). Za postizanje pozitivnih učinaka na zdravlje proizvod do isteka roka upotrebe mora sadržavati $>10^6$ - 10^7 cfu/g probiotičkih bakterija (Krasaekoopt i sur., 2006.; Oliveira i sur., 2001.; Donkor i sur., 2007.; Martínez-Villaluenga i sur., 2006.; Kourkoutas i sur., 2005.; Talwalkar i Kailasapathy, 2004.).

Dobro je poznato da kozje mlijeko može biti supstitut za kravlje mlijeko, posebice u slučajevima kad kravlje mlijeko uzrokuje alergijske reakcije. Osim toga, neki potrošači preferiraju kozje mlijeko iz dijetetskih razloga (Kongo i sur., 2006.). Kozje mlijeko i proizvodi od kozjeg mlijeka poput sira i jogurta imaju mnoge pozitivne učinke na zdravlje i važnu ulogu u prehrani zbog visoke probavljivosti (male globule masti) i manje alergijskih reakcija (nizak sadržaj α_1 -kazeina). Pozitivni učinci pripisuju se i biofunkcionalnim komponentama kao što su srednjolančani triacilgliceroli, polinezasićene masne kiseline i neki serum proteini (Uysal-Pala i sur., 2006.).

Kako bifidobakterije pokazuju slab rast u mlijeku, nekoliko sastojaka omogućuje potencijalan aktivitet stimulacije rasta (Janer i sur., 2004.). Prebiotici poput inulina i fruktooligosaharida pozitivno utječu na rast bifidobakterija u mlijeku kao i kod naseljavanja debelog crijeva ovim bakterijama (Martínez-Villaluenga i sur., 2006.; Donkor i sur., 2007.). 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 (Drgalić i sur., 2005.; Božanić i sur., 2002.). Inulin, neprobavljiv ugljikohidrat, sastavljen iz prirodnih fruktooligosaharida posjeduje karakteristike dijetalnog vlakna te je važan prebiotik u ljudskoj prehrani (Akin i sur., 2007.). Najčešće se koristi za pripremu proizvoda s malim udjelom mliječne masti radi postizanja punoće okusa (Oliveira i sur., 2008.).

Svrha ovog rada bila je ispitati kako dodatak inulina utječe na sposobnost rasta i preživljavanja probiotičkog soja *Bifidobacterium longum* BB536 u fermentiranom kozjem i kravljem mlijeku.

Materijali i metode rada

Sirovom kozjem i kravljem mlijeku određen je kemijski sastav uređajem Milko Scan 4000 (Foss Elektrik, Danska). Mlijeko je zatim tipizirano na 2,9 % mliječne masti laboratorijskim separatorom. Pripremljena su dva paralelna uzorka tipiziranoga kozjega i kravljeg mlijeka u volumenu od 2 L. S ciljem prilagodbe i ujednačavanja količine ukupne suhe tvari, u kontrolne uzorke dodano je 3 % obranoga mliječnog praha, dok je u eksperimentalne uzorke dodano 2 % inulina (Beneo, Orafit Activ Food Ingredients, Belgija) i 1 % obranoga mliječnog praha. Nakon dodavanja praškastih komponenata provedena je pasterizacija uzoraka na 90-95 °C/5 min. te hlađenje na temperaturu fermentacije (40 °C).

Na toj su temperaturi uzorci mlijeka inokulirani sa 0,02 % inokuluma termofilne jogurtne kulture "FDVS (Frozen-Direct Vet Set) YC-380" (Chr. Hansen A/S Danska) i sa 0,02 % inokuluma probiotičke kulture "*Bifidobacterium longum* BB536, FRO 500 g" (Danisco Cultures Division, Danska). Korištena termofilna jogurtna kultura YC-380 za izravno naciepljivanje u mlijeko sastavljena je od sojeva bakterija mliječne kiseline *Streptococcus thermophilus*, *Lacto-*

bacillus delbrueckii subsp. *lactis* i *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*.

Fermentacija uzorka provedena je pri 40 °C i vođena je do pH 4,53-4,63 u razdoblju od 5,5 sati. Po završetku fermentacije uzorci su ledenom vodom naglo ohlađeni na 4 °C i u staklenim bocama volumena 2 L zatvorenim poklopcem na navoj skladišteni u hladioniku na temperaturi od 6 °C tijekom 30 dana. Tijekom fermentacije mlijeka i tijekom čuvanja uzoraka probiotičkih jogurta praćena je promjena kiselosti (pH-vrijednosti) te je određivan broj živih stanica (logN/mL) soja *Bifidobacterium longum* BB536. Broj živih stanica kao i promjena kiselosti uzoraka mjereni su neposredno nakon naciepljivanja i svakih sat vremena tijekom procesa fermentacije. Svakoga petog dana tijekom čuvanja probiotičkog jogurta određivan je broj živih stanica bifidobakterija i mjerene su pH-vrijednosti.

Broj živih stanica bifidobakterija određivan je standardnim mikrobiološkim metodama naciepljivanja. Za određivanje broja živih stanica bifidobakterija korišten je MRS agar (Merck, Njemačka) sa 5 %-tnim dodatkom>NNL otopine (Chr. Hansen, 1996.; Vinderola i Reinheimer, 1999.) pripremljene na sljedeći način: u destiliranoj vodi suspendirano je 6,00 g LiCl (Merck), 0,030 g nalidiksinske kiseline (Sigma N-8876, USA) i 0,20 g neomicin-

sulfata (Sigma N-1976, USA) te dopunjeno destiliranom vodom u graduiranoj posudi do 100 mL.

pH-vrijednost te otopine podešena je na pH=7,2-7,5 s 0,1 M NaOH. Inkubacija je provedena u anaerobnim uvjetima (GENbag, bioMerieux, Francuska) na 37 °C/3 dana. Za određivanje broja živih stanica bifidobakterija korišten je uređaj "Colony counter" (Bibi Sterlin, Velika Britanija).

Pokus je ponovljen triput, a rezultati su prikazani kao srednja vrijednost. Svi rezultati analizirani su korištenjem programa Microsoft Office Excel (ANOVA).

Rezultati i rasprava

U istraživanju su korišteni sirovo kozje i kravlje mlijeko (tablice 1 i 2), a za pripremu fermentiranih napitaka izvršena je standardizacija tih mlijeka na 2,9 % mliječne masti.

Kemijska analiza pokazala je da sirovo kravlje mlijeko sadržava veći udio mliječne masti (prosječno 25,5 %) i veći udio laktoze (prosječno 11,3 %) u odnosu na sirovo kozje mlijeko. Udio bjelančevina također je bio prosječno 17,3 % veći u sirovom kravljem mlijeku.

S obzirom na razliku ukupne suhe tvari, kod sirovoga kozjega i kravljeg mlijeka provedena je prilagodba udjela mliječne masti (na 2,9 %) i količine

Tablica 1: Kemijski sastav i pH-vrijednost sirovog kozjeg mlijeka (A) (n=3)

Table 1: Chemical composition and pH-value of raw goat's milk (A) (n=3)

Kemijski sastav i pH-vrijednost Chemical composition and pH-value	Kozje mlijeko (A) Goat's milk (A)				
	1	2	3	\bar{x}	s.d.
Suha tvar (%) Total solids	10,64	10,69	11,25	10,86	0,339
Suha tvar bez masti (%) Non faty dry matter	7,71	7,66	7,85	7,74	0,098
Mliječna mast (%) Fat	2,93	3,03	3,4	3,12	0,248
Laktoza (%) Lactose	4,0	4,02	3,99	4,0	0,015
Bjelančevine (%) Proteins	2,87	2,64	2,8	2,77	0,118
pH-vrijednost pH-value	6,64	6,6	6,5	6,58	0,072

\bar{x} - srednja vrijednost/mean value
s.d. - standardna devijacija/standard deviation

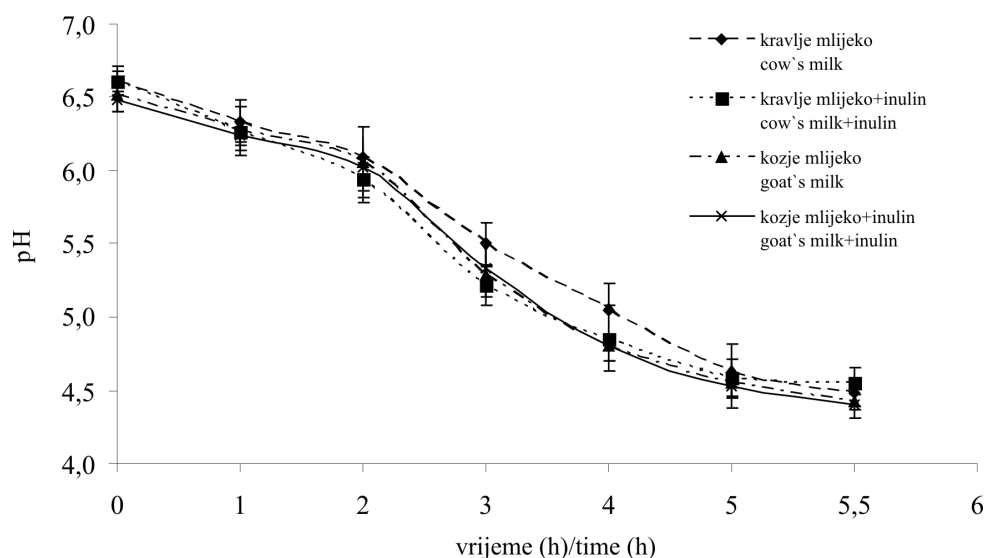
Tablica 2: Kemijski sastav i pH-vrijednost sirovoga kravljeg mlijeka (B) (n=3)

Table 2: Chemical composition and pH-value of raw cow's milk (B) (n=3)

Kemijski sastav i pH-vrijednost Chemical composition and pH-value	Kravlje mlijeko (B) Cow's milk (B)				
	1	2	3	\bar{x}	s.d.
Suha tvar (%)	12,62	12,99	12,82	12,81	0,185
Total solids					
Suha tvar bez masti (%)	8,6	8,67	8,57	8,61	0,051
Non faty dry matter					
Mliječna mast (%)	4,02	4,32	4,25	4,19	0,157
Fat					
Laktoza (%)	4,49	4,51	4,55	4,51	0,031
Lactose					
Bjelančevine (%)	3,26	3,41	3,38	3,35	0,079
Proteins					
pH-vrijednost	6,60	6,54	6,62	19,76	0,042
pH-value					

 \bar{x} - srednja vrijednost/mean value

s.d. - standardna devijacija/standard deviation



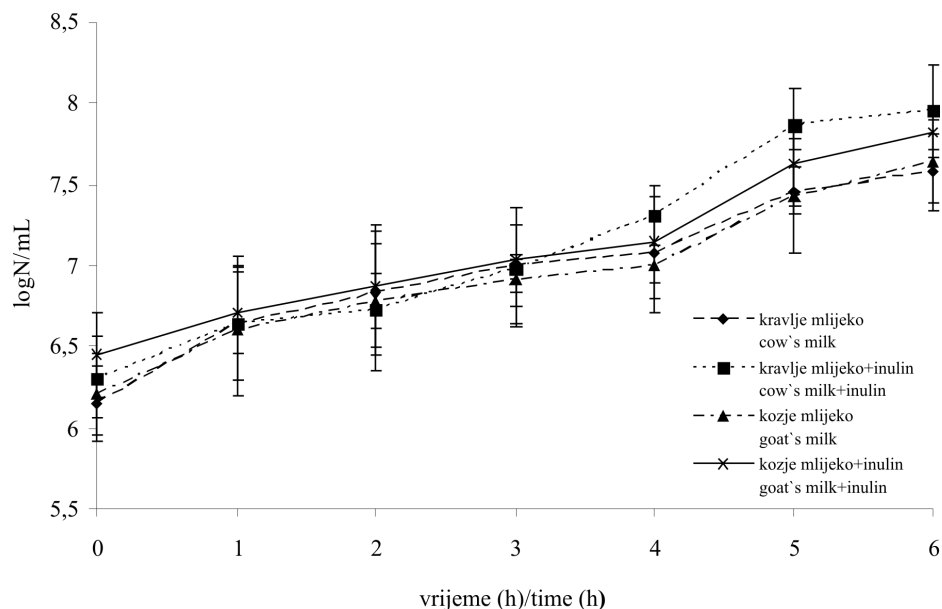
Slika 1: Promjene pH-vrijednosti tijekom fermentacije (40 °C) kozjega i kravljeg mlijeka termofilnom jogurtnom i probiotičkom kulturom s dodatkom i bez dodatka inulina

Figure 1: Changes of pH-value during fermentation (40 °C) of goat's and cow's milk with thermophilic yoghurt and probiotic culture supplemented or not with inulin

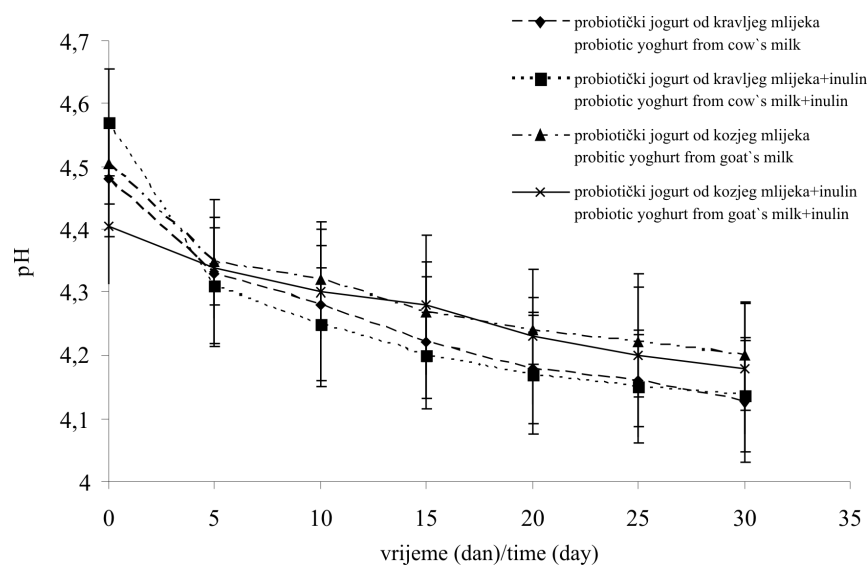
ukupne suhe tvari (na oko 14 %), budući da je preporučena optimalna količina ukupne suhe tvari oko 15% radi postizanja povoljne konzistencije proizvoda (Tratnik, 1998.).

Uobičajena je praksa da se u proizvodnji fermentiranih probiotičkih mliječnih proizvoda probiotičke

bakterije često kombiniraju s drugim bakterijama mliječne kiseline, poput *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* i *Streptococcus thermophilus*, čime se skraćuje vrijeme fermentacije (Oliveira i sur., 2001.; Ongol i sur., 2007.; Božanić i sur., 2002.) i poboljšava okus proizvoda (Tratnik, 1998.). Me-



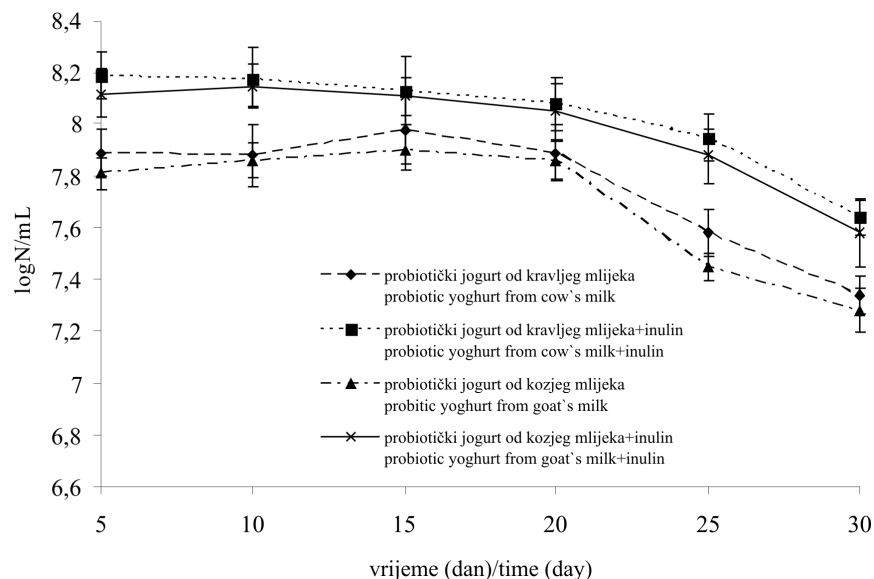
Slika 2: Promjena broja živih stanica (logN/mL) probiotičke kulture *Bifidobacterium longum* BB536 tijekom fermentacije (40 °C) kozjeg i kravljeg mlijeka s dodatkom i bez dodatka inulina
 Figure 2: Changes of viable cell counts (logN/mL) probiotic culture *Bifidobacterium longum* BB536 during fermentation (40 °C) of goat's and cow's milk supplemented or not with inulin



Slika 3: Promjene pH-vrijednosti tijekom 30 dana skladištenja (6 °C) probiotičkog jogurta od kozjeg i kravljeg mlijeka s dodatkom i bez dodatka inulina
 Figure 3. Changes of pH-value during 30 days storage (6 °C) of probiotic yoghurt from goat's milk and cow's milk supplemented or not with inulin

đutim, tijekom skladištenja fermentiranoga mliječnog proizvoda uglavnom bakterija *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* proizvodi mliječnu kiselinu što utječe na sposobnost preživljavanja probiotičkih bakterija (Oliveira i sur., 2001.; Shah, 2000.; Božanić i sur., 2002.). Kako bifidobakterije nemaju dobru spo-

sobnost rasta u mlijeku, pri proizvodnji fermentiranih mliječnih proizvoda često se koristi inokulum koji sadržava konačan broj bifidobakterija zahtijevan za probiotički proizvod (Herzallah, 2005.), tako da je i u ovom radu korišten inokulum od 0,02 % što odgovara broju $\geq 10^6$ bifidobakterija po mililitru proizvoda.



Slika 4: Promjena broja živih stanica (logN/mL) probiotičke kulture *Bifidobacterium longum* BB536 tijekom 30 dana skladištenja (6 °C) probiotičkog jogurta od kozjega i kravljeg mlijeka s dodatkom i bez dodatka inulina

Figure 4: Changes of viable cell counts (logN/mL) of probiotic culture *Bifidobacterium longum* BB536 during 30 days storage (6 °C) of probiotic yoghurt from goat's and cow's milk supplemented or not with inulin

U radu je istraživana fermentacija kozjega i kravljeg mlijeka termofilnom jogurtnom kulturom YC-380 i probiotičkom kulturom *Bifidobacterium longum* BB536 s dodatkom i bez dodatka inulina, a praćeno je preživljavanje probiotičkog soja tijekom 30 dana čuvanja fermentiranih proizvoda pri temperaturi hladionika.

Proces fermentacije za sve je uzorke trajao oko 5,5 sati, što je posljedica aktivnosti termofilne jogurtne kulture YC-380 (*Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis* i *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*) neovisno o vrsti, kemijskom sastavu mlijeka i dodatku inulina. Dodatak inulina, kao ni obranoga mliječnog praha, nije utjecao na trajanje procesa fermentacije kao ni na statistički značajne razlike pH-vrijednosti fermentiranih uzoraka na kraju fermentacije ($P > 0,05$). Iako na kraju procesa fermentacije nije bilo statistički značajnih razlika u pH-vrijednostima ($P > 0,05$) fermentiranih uzoraka, primijećeno je da tijekom procesa fermentacije kozje mlijeko pokazuje brži pad pH-vrijednosti u odnosu na kravlje mlijeko, što se može objasniti manjim pufer kapacitetom zbog manjeg udjela bjelančevina kozjeg mlijeka. Također, brži pad pH-vrijednosti tijekom fermentacije zabilježen je i kod kravljeg mlijeka obogaćenog inulinom u odnosu

na kontrolni uzorak kravljeg mlijeka, što upućuje na činjenicu da je inulin stimulator rasta i razmnožavanja bifidobakterija (Tratnik, 1998.; Herzallah, 2005.).

Neovisno o vrsti i kemijskom sastavu mlijeka, inulin je podjednako utjecao na promjenu pH-vrijednosti tijekom procesa fermentacije. U eksperimentalne uzorke za proizvodnju fermentiranih napitaka dodano je 2 % inulina kako bi se ovi proizvodi sukladno Pravilniku o hrani za posebne prehrambene potrebe (NN 81/04) mogli smatrati izvorom dijetalnih vlakana (Source of fibre).

Broj živih stanica probiotičke kulture *Bifidobacterium longum* BB536 tijekom fermentacije porastao je podjednako u svim uzorcima prosječno 1,4 logaritamske jedinice, osim za uzorak kravljeg mlijeka obogaćenog inulinom u kojem je zabilježen najveći porast broja bifidobakterija, i to prosječno 1,7 logaritamske jedinice.

Tijekom 30 dana čuvanja kod fermentiranih uzoraka kravljeg mlijeka pH-vrijednost pala je oko 0,35 pH-jedinica, a kod uzoraka kozjeg mlijeka oko 0,26 pH-jedinica. Niže pH-vrijednosti 30. dana čuvanja zabilježene su pri kontrolnom (pH=4,13) i inulinom obogaćenom (pH=4,14) kravljem mlijeku u odnosu na kozje mlijeko (pH=4,20 i 4,18).

Pad pH-vrijednosti tijekom skladištenja uzoraka u uvjetima hladionika posljedica je naknadne aktivnosti uglavnom bakterije *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (Božanić i sur., 2002.). Tijekom čuvanja fermentiranih proizvoda do petnaestog je dana u svim uzorcima uočen porast broja živih stanica bifidobakterija, dok je od 20. do 30. dana zabilježen njihov pad oko 0,5 logaritamske jedinice.

Tijekom čuvanja fermentiranih uzoraka nije bilo statistički značajnih razlika u kinetici preživljavanja bifidobakterija ($P > 0,05$) u uzorcima kozjega i kravljeg mlijeka obogaćenih inulinom. U kozjem mlijeku zabilježeno je slabije preživljavanje bifidobakterija u odnosu na kravlje mlijeko. Broj bifidobakterija u uzorcima s dodatkom inulina zadnji je dan čuvanja u odnosu na kontrolne bio veći oko 0,3 logaritamske jedinice. Dodatak inulina u obje je vrste mlijeka omogućio bolje preživljavanje bifidobakterija tijekom razdoblja čuvanja fermentiranih uzoraka.

Uz terapijska svojstva, kozje mlijeko obogaćeno inulinom i fermentirano probiotičkim bakterijama posjeduje sve karakteristike funkcionalne hrane (Božanić i sur. 2002.). Korištenje termofilne jogurtne kulture omogućilo je skraćivanje procesa fermentacije, što je vrlo važno za industrijske uvjete proizvodnje probiotičkih fermentiranih mliječnih proizvoda čime je moguće povećanje broja proizvodnih šarži.

Zaključak

Vrsta mlijeka i dodatak inulina nisu značajno utjecali na trajanje fermentacije kao ni na značajne razlike u pH-vrijednostima nakon fermentacije uzoraka. Dodatak inulina u obje je vrste mlijeka pozitivno utjecao na preživljavanje probiotičkog soja *Bifidobacterium longum* BB536 tijekom čuvanja fermentiranih uzoraka. Za sve probe nakon 30 dana čuvanja osigurana je preporučena koncentracija bifidobakterija $> 10^6$ - 10^7 cfu/mL. Na temelju dobivenih rezultata može se zaključiti da se istraživani fermentirani napitci mogu svrstati u kategoriju probiotičkih proizvoda. Kako je u probama kombiniran probiotički soj s prebiotikom inulinom, fermentirani proizvodi od kozjeg i kravljeg mlijeka u navedenoj kombinaciji spadaju u sinbiotike. Rast soja *Bifidobacterium longum* BB536 u kozjem je mlijeku bio vrlo dobar i usporediv je s rastom u kravljem mlijeku.

Kozje mlijeko u obliku probiotičkoga fermentiranog napitka obogaćenog prebiotikom inulinom moguće je svrstati u kategoriju funkcionalne hrane.

Effect of inulin on the growth and survival of Bifidobacterium longum BB536 in fermented goat's and cow's milk

Summary

Fermented dairy products were made from standardized goat and cow milk (2.9 % milk fat) with addition of 3 % skimmed milk powder (control samples), or with addition of 2 % inulin and 1 % skimmed milk powder (experimental samples). Fermentation of samples was carried out at 40 °C by thermophilic yoghurt culture YC-380 and probiotic culture *Bifidobacterium longum* BB536. Desired acidity (pH around 4.5) was achieved in all samples in about 5.5 h. Viable count of probiotic strain (logN/m) increased for all samples for on average 1.4 logarithmic units except for the sample of cow's milk supplemented with inulin, which exhibited the highest growth of bifidobacteria for approximately 1.7 logarithmic units. During fermentation somewhat faster decrease of pH-value was observed in goat milk samples compared to cow milk samples. At the end of fermentation there was no statistically significant difference ($P > 0.05$) in pH-values regardless of milk origin or inulin addition. During thirty days of fermented drink storage at lower temperature (about 6 °C), slightly lower pH-values were observed in cow milk samples compared to goat milk, especially in cow milk enriched with inulin. During storage, until the 15th day, an increase in the number of viable count of probiotic bacteria was observed in all samples, while from 20th to 30th day a decrease of 0.5 logarithmic units of the same parameter was recorded. In goat milk their survival was somewhat smaller compared to cow milk. The number of bifidobacteria in samples supplemented with inulin on the last day of storage, compared to control samples, was higher for 0.3 logarithmic units, regardless of the milk origin. After thirty days of refrigerated storage, recommended concentration of bifidobacteria was insured in all samples, thus directly implying that these fermented drinks can be included in probiotics.

Key words: *Bifidobacterium longum* BB536, fermented goat's and cow's milk, inulin, probiotic

Literatura

1. Akin, M.B., Akin, M.S., Kirmaci, Z. (2007): Effects of inulin and sugar levels on the viability of yoghurt and probiotic bacteria and the physical and sensory characteristics in probiotic ice-cream, *Food Chemistry* 104, 93-99.

2. Al-Rwaily, M.A., Herzallah, S.M., Humeid, M.A., Yamani, M.I. (2005): Effect of Dried Dates Extract on Growth and Viability of *Bifidobacteria* in Different Milk Types, *Pakistan Journal of Nutrition* 4 (3), 142-147.
3. Božanić, R., Rogelj, I., Tratnik, Lj. (2002): Fermentacija i čuvanje probiotičkog jogurta od kozjeg mlijeka, *Mljekarstvo* 52 (2), 93-111.
4. Chr. Hansen (1996.): Catalogue Nu-trish Cultures, 27.
5. Donkor, O.N., Nilmini, S.L.I., Stolic, P., Vasiljevic, T., Shah, N.P. (2007): Survival and activity of selected probiotic organisms in set-type yoghurt during cold storage, *International Dairy Journal* 17, 675-665.
6. Drgalić, I., Tratnik, Lj., Božanić, R. (2005): Growth and survival of probiotic bacteria in reconstituted whey, *Lait* 85, 171-179.
7. Gueimonde, M., Delgado, S., Mayo, B., Ruas-Madiedo, P., Margolles, A., Reyes-Gavilán, C.G. (2004): Viability and diversity of probiotic *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* populations included in commercial fermented milks, *Food Research International* 37, 839-850.
8. Hadadji, M., Benama, R., Saidi, N., Henni, D.E., Kihal, M. (2005): Identification of cultivable *Bifidobacterium* species isolated from breast-fed infants feces in West-Algeria, *African Journal of Biotechnology* 4 (5), 422-430.
9. Herzallah, S.M. (2005): Effect of Dried Raisins and Apricots Extract on the Growth of *Bifidobacteria* in Cows and Goats Milk, *Pakistan Journal of Nutrition* 4 (3), 170-174.
10. Janer, C., Peláez, C., Requena, T. (2004): Caseinomacropptide and whey protein concentrate enhance *Bifidobacterium lactis* growth in milk, *Food Chemistry* 84, 236-267.
11. Kongo, J.M., Gomes, A.M., Malcata, F.X. (2006): Manufacturing of fermented goat milk with a mixed starter culture of *Bifidobacterium animalis* and *Lactobacillus acidophilus* in a controlled bioreactor, *Letters in Applied Microbiology* 42, 595-599.
12. Kourkoutas, Y., Xolias, V., Kallis, M., Bezirtzoglou, E., Kanellaki, M. (2005): *Lactobacillus casei* cell immobilization on fruit pieces for probiotic additive, fermented milk and lactic acid production, *Process Biochemistry* 40, 411-416.
13. Krasaekoopt, W., Bhandari, B., Deeth, H.C. (2006): Survival of probiotics encapsulated in chitosan-coated alginate beads in yoghurt from UHT and conventionally treated milk during storage, *LWT-Food Science and Technology* 39, 177-183.
14. Madureira, A.R., Pereira, C.I., Truszkowska, K., Gomes, A.M., Pintado, M.E., Malcata, F.X. (2005): Survival of probiotic bacteria in whey cheese vector submitted to environmental conditions prevailing in the gastrointestinal tract, *International Dairy Journal* 15, 921-927.
15. Maragkoudakis, P.A., Zoumpopoulou, G., Miaris, C., Kalantzopoulos, G., Pot, B., Tsakalidou, E. (2006): Probiotic potential of *Lactobacillus* strains isolated from dairy products, *International Dairy Journal* 16, 189-199.
16. Martínez-Villaluenga, C., Frías, J., Gómez, R., Vidal-Valverde, C. (2006.): Influence of addition of raffinose family oligosaccharides on probiotic survival in fermented milk during refrigerated storage, *International Dairy J.* 16, 768-774.
17. Nakasaki, K., Yanagisawa, M., Kobayashi, K. (2008): Microbiological Quality of Fermented Milk Produced by Repeated-Batch Culture, *Journal of Bioscience and Bioengineering* 105 (1), 73-76.
18. Oliveira, M.N., Sodini, I., Remeuf, F., Corrieu, G. (2001): Effect of milk supplementation and culture composition on acidification, textural properties and microbiological stability of fermented milks containing probiotic bacteria, *International Dairy Journal* 11, 935-942.
19. Oliveira, R.P.S., Florence, A.C.R., Silva, R.C., Perego, P., Converti, A., Gioielli, L.A., Oliveira, M.N. (2008): Effect of different prebiotics on the fermentation kinetics, probiotic survival and fatty acids profiles in nonfat symbiotic fermented milk, *International Journal of Food Microbiology* 128, 467-472.
20. Oliveira, R.P.S., Oliveira, P., Converti, A., Oliveira, M.N. (2009): Effect of inulin on growth and acidification performance of different probiotic bacteria in co-cultures and mixed culture with *Streptococcus thermophilus*, *Journal of Food Engineering* 91, 133-139.
21. Ongol, M.P., Sawatari, Y., Ebina, Y., Sone, T., Tanaka, M., Tomita, F., Yokota, A., Asano, K. (2007): Yoghurt fermented by *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* H⁺ - ATPase-defective mutants exhibits enhanced viability of *Bifidobacterium breve* during storage, *International Journal of Food Microbiology* 116, 358-366.
22. Phillips, M., Kailasapathy, K., Tran, L. (2006): Viability of commercial probiotic cultures (*L. acidophilus*, *Bifidobacterium* sp., *L. paracasei* and *L. rhamnosus*) in cheddar cheese, *International J. of Food Microbiology* 108, 276-280.
23. Picot, A., Lacroix, C. (2004): Encapsulation of bifidobacteria in whey protein-based microcapsules and survival in simulated gastrointestinal conditions and in yoghurt, *International Dairy Journal* 14, 505-515.
24. Pravilnik o hrani za posebne prehrabene potrebe, *Narodne novine* 81, Zagreb, 2004.
25. Schillinger, U., Guigas, C., Holzapfel, W.H. (2005): *In vitro* adherence and other properties of lactobacilli used in probiotic yoghurt-like products, *International Dairy Journal* 15, 1289-1297.
26. Shah, N.P. (2000): Probiotic bacteria: Selective Enumeration and Survival in Dairy Foods, *Journal of Dairy Science* 83, 894-907.
27. Talwalkar, A., Kailasapathy, K. (2004): Comparison of selective and differential media for the accurate enumeration of strains of *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium* spp. and *Lactobacillus casei* complex from commercial yoghurts, *International Dairy Journal* 14, 143-149.
28. Tratnik, Lj. (1998): *Mlijeko - tehnologija, biokemija i mikrobiologija*, Hrvatska mljekarska udruga, Zagreb.
29. Uysal-Pala, C., Karagual-Yuceer, Y., Pala, A., Savas, T. (2006): Sensory properties of drinkable yoghurt made from milk of different goat breeds, *Journal of Sensory Studies* 21, 520-533.
30. Vinderola, C.G., Reinheimer, J.A. (1999): Culture media for the enumeration of *Bifidobacterium bifidum* and *Lactobacillus acidophilus* in the presence of yoghurt bacteria, *International Dairy Journal* 9, 497-505.