

Prebiotikas – probiotisko baktēriju vairošanās un dzīvotspējas veicinātājas pienā

Prebiotics – the Influencing Factors on Growth and Survival of Probiotics in Milk

Ilze Beitāne, Inga Ciproviča
LLU Pārtikas tehnoloģijas katedra
Department of Food Technology, LLU
e-mail: ilzebeitane@inbox.lv

Abstract. The task of the present study was to investigate the influence of different concentrations of inulin and lactulose on the growth of *Bifidobacterium lactis* in milk during fermentation, and to determine the survival of *Bifidobacterium lactis* in fermented milk during self life of the product. For the experiments, pasteurized milk, freeze-dried culture Bb-12 (*Bifidobacterium lactis*, Chr.Hansen, Denmark), inulin RAFTILINE®HP (ORAFI Active Food Ingredients, Belgium), and syrup of lactulose (Duphalac®, the Netherlands) were used. Different concentrations of lactulose and inulin (1, 2, 3, 4, and 5%) were used. The initial concentration of *B.lactis* was 10⁶ cfu inoculated in milk. Milk samples with and without prebiotics were fermented at 36 °C for 16 hours. Colony forming units of *Bifidobacterium lactis* were determined according to “The Guideline of Selective Enumeration of Bifidobacteria in Dairy Products: Development of a Standard Method”. The results showed that inulin and lactulose promote the growth of *B.lactis* in milk during fermentation. The concentrations of inulin and lactulose have significant influence on the growth of bifidobacteria in milk; also prebiotics have influence on the survival of *B.lactis* in fermented milk during self life of the product. Investigations suggest that the properties of one strain of bifidobacteria cannot be referred to the other strains of bifidobacteria. The optimal concentration of lactulose proved to be 2%, and of inulin – 4%.

Key words: *Bifidobacterium lactis*, lactulose, inulin, fermented milk.

Ievads

Viena no visplašāk pārstāvētām funkcionālo pārtikas produktu grupām ir probiotiskie un sinbiotiskie produkti. Tiem ir raksturīga spēja izmainīt un normalizēt cilvēka zarnu trakta mikrofloru. No mikrobiālo fermentācijas procesu norises resnajā zarnā ir atkarīga ne tikai gremošanas trakta normāla funkcionēšana, bet galvenokārt organisma vispārējais stāvoklis (Saarela et al., 2002; Ouwehand et al., 2005). Savukārt zarnu mikrofloras sastāva izmaiņas, pamatā antibiotiku ietekmē, izraisa nopietnus fizioloģiskas dabas traucējumus un var būt par iemeslu veselai virknei saslimšanu (Nord et al., 1997; Gopal et al., 2003). Līdz ar to jautājums par normālas zarnu trakta mikrofloras uzturēšanu ir aktuālāks nekā jebkad. Šī jautājuma risināšana paredz palielināt ar produktiem uzņemamo cilvēkam nozīmīgo mikroorganismu skaitu, kas varētu sekmēt normālu zarnu trakta darbību.

Mikroorganismiem, kas pretendē uz probiotikas statusu, ir jāatbilst noteiktiem kritērijiem – strauji jāvairojas un jā saglabā sava dzīvotspēja produktā, tie nedrīkst izmainīt produkta pamatgaršu (Ostlie et al., 2005), un tie nevar būt kaitīgi cilvēkam organismam

(Dunne et al., 1999). Lai pierādītu probiotiku labvēlīgo ietekmi uz cilvēka organismu, jāveic klīniskie pētījumi, piesaistot brīvprātīgos pacientus. Probiotikas ir dažādi *Lactobacillus* un *Bifidobacterium* ģints pārstāvji (Orrhage, 1994). Lai probiotikas zarnu traktā varētu konkurēt ar vairāk nekā 400 dažādām mikroorganismu sugām, tām jābūt apveltītām ar īpašām spējām – pārvarēt kuņģa skābes barjeru un žultskābju barjeru tievajās zarnās un piestiprināties zarnu epitēlijā, tādējādi uzlabojot organisma aizsargspēju caur zarnu epitēliju (Dunne et al., 1999). Probiotikām jāspēj kolonizēties tievajā un resnajā zarnā, nomācot nevēlamās mikrofloras attīstību.

Lai probiotikas spētu vairoties gan produktā, gan cilvēka zarnu traktā, ir nepieciešami to augšanu stimulējošie faktori, tādi kā prebiotikas. Prebiotikas ir nesagremojami ogļhidrāti, kas labvēlīgi ietekmē zarnu trakta darbību, stimulējot tajā probiotisko baktēriju vairošanos (Gibson, Roberfroid, 1995; Lewis, Freedman, 1998).

Prebiotikas ir oligosaharīdi ar polimerizācijas pakāpi no 2 līdz 10. Prebiotikas ir gan dabīgas izcelsmes, piemēram, laktuloze (mātes pienā),

inulīns (cigoriņos) vai ogļhidrātu fermentācijas ceļā iegūtie produkti – trehaloze, maltitols u.c. Zinot, ka prebiotikas stimulē probiotiku augšanu zarnu traktā un var kalpot kā selektīvs augšanas substrāts probiotisko mikroorganismu sugām produkta raudzēšanas un uzglabāšanas laikā (Simmering, Blaut, 2001; Manning et al., 2003), patērētājiem tiek piedāvāti produkti, kas satur šos abus bioloģiski aktīvo savienojumu veidus, sauktus par sinbiotikām (Casiraghi et al., 2007).

Līdz ar to pētījuma mērķis bija analizēt *Bifidobacterium lactis* vairošanos pienā ar prebiotiku klātbūtni un bez tās un vērtēt izvēlētās prebiotikas dzīvotspēju raudzēta piena uzglabāšanas laikā.

Materiāli un metodes

Pētījumi veikti LLU Pārtikas tehnoloģijas fakultātes Mikrobioloģijas un PVD Nacionālā diagnostikas centra Pārtikas un vides izmeklējumu laboratorijās.

Pētījumiem izmantots piens ar tauku saturu 2.5%, liofilizētais ieraugs Bb-12 (*Bifidobacterium lactis*, celms Bb-12, Chr.Hansen, Dānija) un prebiotikas. Laktulozes koncentrāts (Duphalac®, Nīderlande) ar šādu 100 g produkta sastāvu: ne mazāk par 67% laktulozes, ne vairāk par 10% galaktozes un ne vairāk par 6% laktozes. Inulīns RAFTILINE®HP (ORAFI Active Food Ingredients, Beļģija) ar šādu 100 g produkta sastāvu: inulīns ne mazāk par 99.5%, glikoze, fruktoze un saharoze ne vairāk par 0.5%.

Bifidobaktēriju ieraugu pienam pievienoja suspensijas veidā, un tas veidoja 2 ml jeb 2% no produkta daudzuma. Ar ieraugu pienam tika pievienots ne mazāk kā $1 \cdot 10^6$ *B.lactis* KVV. Pētījumos pienam tika pievienots inulīns un laktulozes šķīdums koncentrācijās 1%, 2%, 3%, 4% un 5%. Ņemot vērā ievērojamo laktulozes saturu šķīdumā ($\geq 67\%$), turpmāk tekstā tās apzīmēšanai tiks lietots šāds pieraksts: 1%, 2%, 3%, 4% un 5% laktulozes. Sagatavotie piena paraugi tika inkubēti 16 h 36 °C temperatūrā. Izvēlētie raudzēšanas režīmi balstīti uz Chr. Hansen rekomendācijām un raudzētu piena produktu ar bifidobaktērijām ražošanas praksi. Lai varētu veikt iegūto rezultātu salīdzinājumu, tika sagatavots raudzēts piena paraugs bez prebiotikām jeb kontrole. Raudzēta produkta gatavošana veikta atbilstoši klasiskajai skābpiena dzērienu tehnoloģijai.

Bifidobaktēriju noteikšana veikta saskaņā ar bifidobaktēriju noteikšanas vadlīnijām „*Selective Enumeration of Bifidobacteria in Dairy Products: Development of a Standard Method*” (*Bulletin of the International Dairy Federation 411/2007*).

Koloniju veidojošo vienību skaits paraugos noteikts tūlīt pēc ierauga pievienošanas un tālāk ik pēc 2, 4, 6 un 16 h, kā arī gatavam produktam 1. un

7. dienā. Pēc raudzēšanas piena paraugus samaisīja un atdzesēja līdz +10 °C, pēc tam – līdz +4 °C. Šajā režīmā tos arī nogatavināja un uzglabāja. Produkta uzglabāšanas ilgums – 7 dienas. Tas izvēlēts, ņemot vērā vidējo skābpiena dzērienu bez piedevām uzglabāšanas ilgumu. Paraugu analīzes veiktas trīs atkārtojumos. Iegūtajiem rezultātiem noteikti statistiskie rādītāji: vidējais ģeometriskais (\bar{x}_g) un standartkļūda (s_y), izmantojot dispersijas analīzi (ANOVA), Fišera jeb F-testu un t-testu.

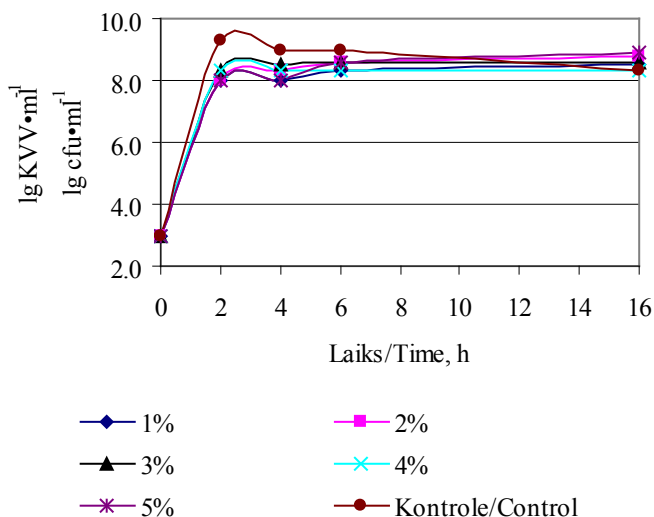
Rezultāti un diskusija

Literatūrā ir atrodams atziņas, ka bifidobaktērijas vāji vairojas un dažkārt pat pilnīgi neairojas pienā (Modler, 1994), tāpēc to augšanai tiek izmantotas prebiotikas, kas var veicināt to vairošanos un dzīvotspēju (Martinez-Villaluenga et al., 2006).

B.lactis vairošanās dinamika paraugos atkarībā no laktulozes un inulīna koncentrācijas atspoguļota 1. un 2. attēlā. Kā redzams no iegūtiem datiem, pirmajās divās stundās paraugos ir vērojams straujš *B.lactis* skaita pieaugums, īpaši kontrolei. Līdzīgas atziņas pauž Rastall un Maitin (2002), norādot, ka *B.lactis* piemīt augstas izdzīvošanas spējas pienā. Arī Martinez-Villaluenga u.c. (2006) norāda uz *B.lactis* ātro vairošanos piena sākotnējā raudzēšanas laikā, salīdzinot ar citām bifidobaktēriju sugām. Tas liecina par noteiktu *B.lactis* skābekļa un skābes toleranci. Tomēr tālākā raudzēšanas laikā kontrolei ir vērojams pakāpenisks *B.lactis* skaita samazinājums.

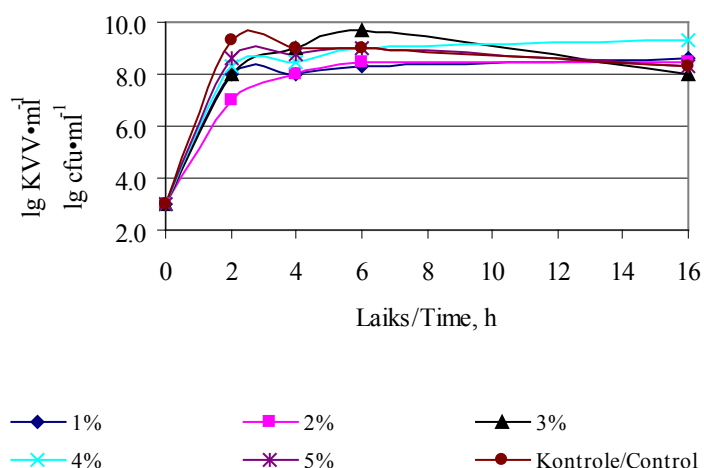
Savukārt raudzētajiem piena paraugiem ar laktulozi (1. attēls), sākot ar otro raudzēšanas stundu, tika konstatēts pakāpenisks *B.lactis* skaita pieaugums. Augstāko *B.lactis* skaitu raudzēšanas beigās noteica paraugiem ar 2% ($6 \cdot 10^8$ KVV ml⁻¹) un 5% laktulozes ($8 \cdot 10^8$ KVV ml⁻¹). Iegūtie rezultāti saskan ar Palframan u.c. (2002) pētījuma atziņām, ka labākais bifidogēnais efekts laktulozei tiek panākts, pievienojot to 2% lielā koncentrācijā. Martinez-Villaluenga u.c. (2006) secina, ka *B.lactis* vairošanās vienlīdz labi tiek veicināta, pievienojot 0.5%, 1% un 2% laktulozes. Turpretī Dubey un Mistry (1996) atzīmē, ka laktulozei ir minimāla ietekme uz bifidobaktēriju vairošanos.

Raudzētajiem piena paraugiem ar 3% un 5% inulīna un kontrolei (2. attēls) pēc pirmajām divām raudzēšanas stundām tika konstatēta lejupejoša tendence. Savukārt piena paraugiem ar 1%, 2% un 4% inulīna bija vērojams pakāpenisks *B.lactis* skaita pieaugums. Raudzēšanas beigās augstākais *B.lactis* skaits tika noteikts piena paraugam ar 4% inulīna ($2 \cdot 10^9$ KVV ml⁻¹). Šeit var vilkt paralēles ar Shin u.c. (2000) pētījumu, kur ir norādes, ka fruktooligosaharīdi ir visefektīvākās prebiotikas starp pētītajiem ogļhidrātu avotiem. Fruktooligosaharīdu efektivitāte



1. att. *B.lactis* vairošanās dinamika piena raudzēšanas laikā atkarībā no pievienotās laktulozes koncentrācijas.

Fig. 1. The dynamic of growth of *B.lactis* in milk depending on the concentration of lactulose.



2. att. *B.lactis* vairošanās dinamika piena raudzēšanas laikā atkarībā no pievienotās inulīna koncentrācijas.

Fig. 2. The dynamic of growth of *B.lactis* in milk depending on the concentration of inulin.

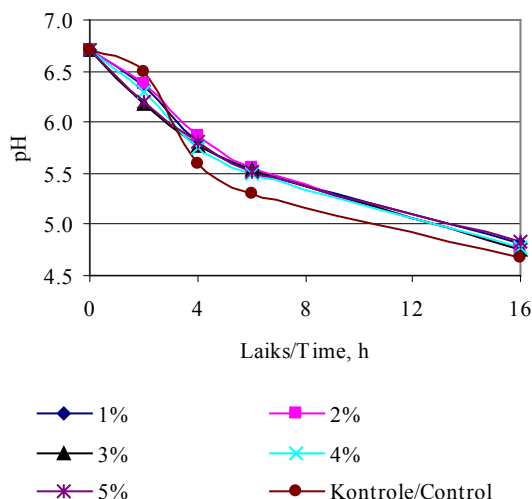
palielinās, palielinoties to koncentrācijai (maksimāli līdz 5%). Savukār Palframan u.c. (2002) norāda, ka fruktooligosaharīdiem augstākais bifidogēnais efekts tiek panākts 1% lielā koncentrācijā. Šis atšķirīgās atziņas varētu skaidrot ar pētījumos izmantotajām, atšķirīgajām fruktooligosaharīdu polimerizācijas pakāpēm un bifidobaktēriju sugām. Līdz ar to ir jāsecina, ka vienas sugas īpatnības nevar attiecināt uz visu ģinti. To apstiprina arī Bielecka u.c. (2002) pētījuma atziņa, ka tikai 18 no 30 pētītajām bifidobaktēriju sugām (galvenokārt *B.longum* un *B.animalis*) spēj izmantot fruktooligosaharīdus.

Pamatojoties uz lielākajai daļai bifidobaktēriju sugu konstatēto pozitīvo korelāciju starp vairošanās

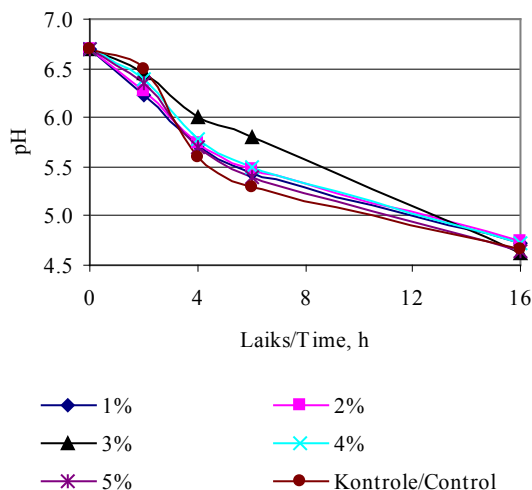
ātrumu un vides pH (Martinez-Villaluga et al., 2006), 3. un 4. attēlā ir atspoguļota pH izmaiņu dinamika kontrolei un piena paraugiem ar laktulozi un ar inulīnu raudzēšanas laikā.

Izvērtējot pH izmaiņas piena paraugos ar laktulozi un ar inulīnu raudzēšanas laikā, tika konstatētas sakarības starp *B.lactis* vairošanās ātrumu un skābuma pieauguma intensitāti.

Raudzēšanas laikā ir vērojams pakāpenisks pH samazinājums. pH izmaiņas ir skaidrojamas ar pienskābes un citu organisku skābju veidošanos pienā esošo ogļhidrātu fermentācijas rezultātā. Bifidobaktēriju augšanai optimālākais pH ir robežās no 6 līdz 8. Inokubējot *B.lactis* pienā, kura pH ir 6.7,



3. att. pH izmaiņas piena paraugos ar laktulozi raudzēšanas laikā.
 Fig. 3. The changes in pH during fermentation of milk samples with lactulose.



4. att. pH izmaiņas piena paraugos ar inulīnu raudzēšanas laikā.
 Fig. 4. The changes in pH during fermentation of milk samples with inulin.

tiek nodrošināti optimāli to augšanas apstākļi. Tas arī skaidro kraso *B.lactis* skaita pieaugumu pirmajās divās paraugu raudzēšanas stundās. Turpmākajā raudzēšanas laikā kontrolei pH ir noslīdējis zem 6.0. Savukārt piena paraugiem ar laktulozi un ar inulīnu skābuma pieaugums ir lēnāks.

Ar vides skābuma izmaiņām varam arī izskaidrot *B.lactis* skaita samazinājumu analizētajos piena paraugos turpmākajā raudzēšanas laikā. Raudzētajam piena paraugam ar 3% inulīna izteiktāks *B.lactis* pieaugums konstatēts līdz pat 6. raudzēšanas stundai, kad pH ir tuvu optimālajai bifidobaktēriju vairošanai (4. attēls). Iegūtie rezultāti parādīja, ka laktulozes un inulīna klātbūtne nodrošina pakāpeniskāku pH samazinājumu paraugos; līdz ar

to visā piena raudzēšanas laikā ir vērojams neliels, bet sistemātisks *B.lactis* pieaugums (1. un 2. attēls). Šo eksperimentu atziņu mēs varam skaidrot šādi: *B.lactis* sākotnēji ir izdalīta no dzīvnieku fecēm un adaptēta pienā (Klein et al., 1998), un tai piemīt relatīva skābekļa un skābes tolerance, kas daļai bifidobaktēriju sugu nav novērojama. Tas arī skaidro *B.lactis* izteiktās vairošanās spējas pienā, salīdzinot ar citām bifidobaktēriju sugām, un pierāda šīs sugas piemērotību daudzveidīgu skābpiena dzērienu ražošanā, t.sk. ieraugu bagātināšanā.

Lai noteiktu, ka pastāv būtiskas atšķirības starp *B.lactis* skaitu raudzētajos piena paraugos ar prebiotikām, starp to koncentrācijām un kontroli, iegūtos rezultātus logaritmēja un paraugos

savstarpēji salīdzināja, nosakot p vērtības. Iegūtie rezultāti ir apkopoti 1. tabulā. Tie liecina, ka pievienotā prebiotiku koncentrācija būtiski ietekmē *B.lactis* skaitu paraugos. Līdz ar to var secināt, ka, pievienojot laktulozi un inulīnu, ir iespējams veicināt *B.lactis* vairošanos paraugos. Optimālākās laktulozes koncentrācijas ir 2% un 5%, inulīnam – 4%. Paraugs ar 4% inulīna būtiski atšķirās no visiem analizētajiem paraugiem, tādējādi parādot, ka arī prebiotikas veids var ietekmēt *B.lactis* skaitu raudzētājā pienā. Tas tikai apstiprina pētījumos izteiktās atziņas, ka bifidobaktēriju augšanai īpaši piemēroti ir fruktooligosaharīdi (Simmering, Blaut, 2001).

Jāatzīmē, ka visiem analizētajiem paraugiem *B.lactis* skaits raudzēšanas beigās bija no 10^8 KVV ml⁻¹ līdz 10^9 KVV ml⁻¹, kas ir būtiski

augstāks par noteikto terapeitisko devu cilvēkam – vismaz 10^6 KVV g⁻¹ (Kurman, Rasic, 1991).

Līdzās bifidobaktēriju augšanas veicināšanai pienā ne mazāk svarīgs faktors ir bifidobaktēriju dzīvotspējas nodrošināšana produktā tā uzglabāšanas laikā. Ōzer u.c. (2005) norāda, ka viena no iespējām, kā sekmēt *B.bifidum* (BB-02) un *L.acidophilus* (LA-5) dzīvotspēju jogurta uzglabāšanas laikā, ir prebiotiku pievienošana produkta gatavošanas laikā. Līdz ar to raudzētajiem piena paraugiem ar prebiotikām tika noteikts *B.lactis* skaits 1. un 7. dienā. Iegūtie rezultāti atspoguļoti 5. un 6. attēlā. Redzams, ka pēc raudzēšanas paraugos ir vērojams krass *B.lactis* skaita samazinājums (uz x ass 0 punktā atzīmēts *B.lactis* skaits raudzēšanas beigās), ko varam skaidrot gan ar skābekļa klātbūtni, produktu samaisot, gan ar temperatūras izmaiņām, produktu atdzesējot, gan

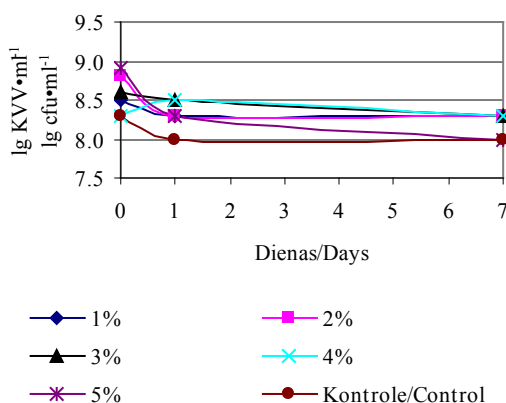
1. tabula / Table 1

Laktulozes un inulīna koncentrāciju ietekme uz *B.lactis* skaitu raudzētos piena paraugos, lg KVV ml⁻¹
The influence of the concentrations of lactulose and inulin on the amount of *B.lactis* in fermented milk samples, lg cfu ml⁻¹

Koncentrācijas, % / Concentrations, %	Laktuloze / Lactulose	Inulīns / Inulin
1	8.5 b	8.6 b
2	8.8 b	8.5 b
3	8.6 b	8.0 b
4	8.3 a	9.3 b
5	8.9 b	8.3 a
Kontrolē / Control	8.3 a	8.3 a

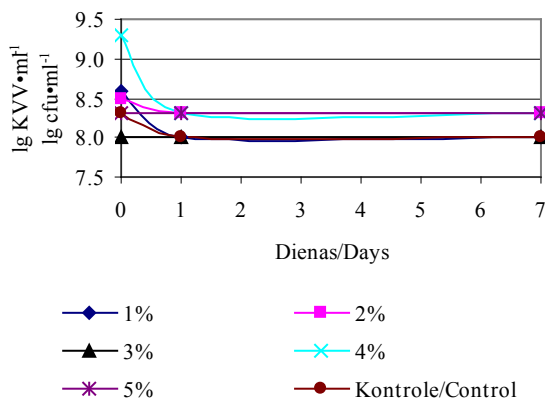
Piezīme: a, b – norāda atšķirības starp laktulozes vai inulīna koncentrācijām: a – nav būtisku atšķirību ($p>0.05$), salīdzinot ar kontroli; b – pastāv būtiskas atšķirības ($p<0.05$), salīdzinot ar kontroli.

Note: a, b – indicate differences between concentrations of lactulose and inulin: a – no disparity ($p>0.05$) compared to control; b – a disparity ($p<0.05$) compared to control.



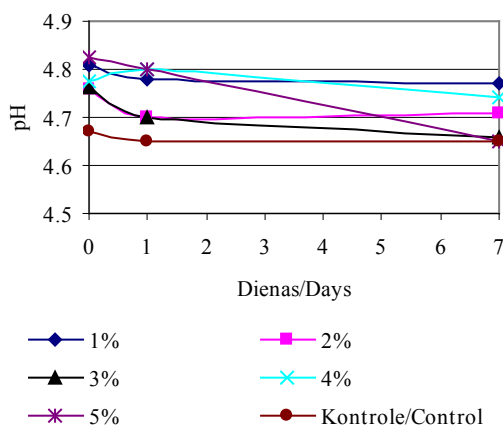
5. att. *B.lactis* skaita izmaiņas raudzētajos piena paraugos to nogatavināšanas un uzglabāšanas laikā atkarībā no pievienotās laktulozes koncentrācijas.

Fig. 5. The changes in the number of *B.lactis* in fermented milk samples depending on the concentration of lactulose during the maturation time and self life of product.



6. att. *B.lactis* skaita izmaiņas raudzētajos piena paraugos, to nogatavināšanas un uzglabāšanas laikā atkarībā no pievienotās inulīna koncentrācijas.

Fig. 6. The changes in the number of *B.lactis* in fermented milk samples depending on the concentration of inulin during the maturation time and self life of product.



7. att. pH izmaiņas raudzētajos piena paraugos ar laktulozi nogatavināšanas un uzglabāšanas laikā.

Fig. 7. The changes in pH during the maturation time and self life of fermented milk samples with lactulose.

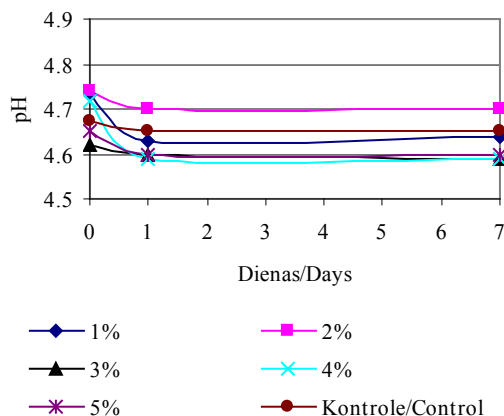
ar tālāku skābuma pieaugumu bioķīmisko norišu rezultātā, produktu nogatavinot.

Skābpiena dzērienu/produktu gatavošanā raudzēšanas process ir viens no tehnoloģiskajiem etapiem un nebūt ne noslēdzošais. Pēc raudzēšanas produkts tiek atdzesēts, iepakots un nogatavināts. Nogatavināšana ir produkta ražošanas nozīmīga operācija, kurā pilnveidojas produkta sensorās īpašības: garša, smarža un konsistence un tiek sasniegti noteikti kvalitātes rādītāji, piemēram, skābums.

Ar bioķīmisko procesu norisi produkta nogatavināšanas laikā mēs varam skaidrot gan *B.lactis* skaita samazinājumu (5. un 6. attēls), gan skābuma izmaiņas (7. un 8. attēls). Uzglabāšanas laikā, sākot no 1. dienas, nemainīgs *B.lactis* skaits tika konstatēts kontrolei un raudzētiem piena paraugiem ar 1% un 2% laktulozes. Savukārt inulīna klātbūtne raudzētajos piena paraugos uzglabāšanas laikā, sākot ar 1. dienu (6. attēls), nodrošināja nemainīgu *B.lactis* skaitu, kas

ir ļoti pozitīvi, veidojot sinbiotisku raudzēto piena produktu. Savukārt raudzētajiem piena paraugiem ar 3% laktulozes un vairāk bija vērojams *B.lactis* skaita samazinājums no 0.5 līdz 1 lg vērtībai. Tas saskan ar literatūrā minētajām atziņām, ka optimālākais bifidogēnais efekts laktulozei tiek panākts nelielās koncentrācijās, kas arī nodrošina nemainīgu *B.lactis* skaitu paraugos uzglabāšanas laikā. Turpretī Alkalīn u.c. (2004) ir secinājis, ka uzglabāšanas laikā dzīvotspējīgo bifidobaktēriju skaits ir augstāks, ja tās ir augušanas fruktooligosaharīdu klātbūtnē. Ar šīs atziņas palīdzību var skaidrot pētījumā iegūtos rezultātus, proti, augstāks un nemainīgāks *B.lactis* skaits (8.3 lg KVV ml⁻¹) ir piena paraugiem ar 2%, 4% un 5% inulīna.

Tā kā literatūrā un arī praksē ir zināms, ka skābpiena dzēriena uzglabāšanas laikā pH turpina samazināties, sasniedzot pat pH 4.4 (Alkalīn et al., 2004), tad raudzētajiem piena paraugiem ar



8. att. pH izmaiņas raudzētajos piena paraugos ar inulīnu nogatavināšanas un uzglabāšanas laikā.
 Fig. 8. The changes in pH during the maturation time and self life of fermented milk samples with inulin.

2. tabula / Table 2

Laktulozes un inulīna koncentrāciju ietekme uz *B.lactis* skaitu analizētajos paraugos uzglabāšanas beigās, lg KVV ml⁻¹
The influence of the concentrations of lactulose and inulin on the number of *B.lactis* in fermented milk samples at the end of self life, lg cfu ml⁻¹

Koncentrācijas, % / Concentrations, %	Laktuloze / Lactulose	Inulīns / Inulin
1	8.3 b	8.0 a
2	8.3 b	8.3 b
3	8.3 b	8.0 a
4	8.3 b	8.3 b
5	8.0 a	8.3 b
Kontrole / Control	8.0 a	8.0 a

Piezīme: a, b – norāda atšķirības starp laktulozes vai inulīna koncentrācijām: a – nav būtisku atšķirību ($p > 0.05$), salīdzinot ar kontroli; b – pastāv būtiskas atšķirības ($p < 0.05$), salīdzinot ar kontroli.
 Note: a, b – indicate differences between concentrations of lactulose and inulin: a – no disparity ($p > 0.05$) compared to control; b – a disparity ($p < 0.05$) compared to control.

laktulozi un ar inulīnu tika noteiktas pH izmaiņas nogatavināšanas un uzglabāšanas laikā. Iegūtie rezultāti atspoguļoti 7. un 8. attēlā.

Uzglabāšanas laikā raudzētajiem piena paraugiem pH nenoslīdēja zemāk par 4.6. Šo atšķirību var skaidrot ar pētījumā izmantoto monokultūru – Bb-12; savukārt literatūrā aprakstītā produkta ieraugā bez bifidobaktērijām ietilpa arī *Streptococcus salivarius subsp.thermophilus* un *Lactobacillus debrueckii subsp.bulgaricus*. Kontrolei un raudzētajiem piena paraugiem ar 1% un 2% laktulozes pH izmaiņas bija nenozīmīgas, kas arī izskaidro nemainīgo *B.lactis* skaitu šajos paraugos uzglabāšanas laikā. Raudzētajiem piena paraugiem ar inulīnu ir vērojams ļoti niecīgs pH samazinājums, izņemot raudzēto piena paraugu ar 4% inulīna. Iegūtie rezultāti norāda uz pozitīvu korelāciju starp *B.lactis* skaitu un produkta vides skābumu.

Lai izvērtētu laktulozes un inulīna ietekmi uz *B.lactis* skaitu raudzētajos piena paraugos uzglabāšanas beigās, iegūtos rezultātus logaritmēja un paraugus savstarpēji salīdzināja. Iegūtie rezultāti (skat. 2. tabulu) rāda, ka prebiotikas veids būtiski neietekmē *B.lactis* skaitu raudzētajos piena paraugos uzglabāšanas termiņa beigās. Izvēloties katrai prebiotikai optimālāko pievienojamo koncentrāciju, iespējams panākt līdzīgu rezultātu. Augstākais *B.lactis* skaits uzglabāšanas laika beigās tika iegūts raudzētajam piena paraugam ar 4% laktulozes, savukārt paraugiem ar inulīnu – 2%, 4% un 5% koncentrācijās. Kā pozitīvu aspektu jāatzīmē, ka uzglabāšanas termiņa beigās visos raudzētajos piena paraugos *B.lactis* skaits bija 10^8 KVV ml⁻¹ vai lielāks, kas pārsniedz noteikto terapeitisko minimumu bifidobaktērijām – 10^6 KVV g⁻¹.

Secinājumi

1. Pievienojot pienam laktulozi un inulīnu, ir iespējams veicināt gan *B.lactis* vairošanos, gan arī nodrošināt *B.lactis* dzīvotspēju raudzētajos piena paraugos uzglabāšanas laikā.
2. *B.lactis* skaits paraugos pēc raudzēšanas, pēc nogatavināšanas un uzglabāšanas termiņa beigās bija būtiski augstāks par noteikto terapeitisko minimumu bifidobaktērijām – 10^6 KVV g^{-1} .
3. Lai nodrošinātu *B.lactis* vairošanos un dzīvotspēju raudzētā pienā, kā optimālākā laktulozes koncentrācija ir uzskatāmi 2%, bet inulīna – 4%.
4. Paraugi ar 4% inulīna būtiski atšķīrās no visiem analizētajiem paraugiem, tādējādi parādot, ka arī prebiotikas veids var ietekmēt *B.lactis* skaitu raudzētā pienā.
5. Prebiotikas veids būtiski neietekmē *B.lactis* skaitu raudzētajos piena paraugos uzglabāšanas termiņa beigās.

Literatūra

1. Alkalin, A.S., Fenderya, S., Akbulut, N. (2004) Viability and activity of bifidobacteria in yoghurt containing fructooligosaccharide during refrigerated storage. *International Journal of Food Science and Technology*, 39, pp. 613-621.
2. Bielecka, M., Biedrzycka, E., Majkowska, A. (2002) Selection of probiotics and prebiotics for synbiotics and confirmation of their *in vivo* effectiveness. *Food Research International*, 35, pp. 125-131.
3. Casiraghi, M.C., Canzi, E., Zanchi, R., Donati, E., Villa, L. (2007) Effects of a synbiotic milk product on human intestinal ecosystem. In: *Journal of Applied Microbiology*, Vol. 103, pp. 499-506.
4. Dubey, U.K., Mistry, V.V. (1996) Effect of Bifidogenic Factors on Growth Characteristics of Bifidobacteria in Infant Formulas. *Journal Dairy Science*, 79, pp. 1156-1163.
5. Dunne, C., Murphy, L., Flynn, S., O'Mahony, L., O'Halloran, S., Feeney, M., Morrissey, D., Thornton, G., Fitzgerald, G., Daly, C., Kiely, B., Quigley, E.M., O'Sullivan, G.C., Shanahan, F., Collins, J.K. (1999) Probiotics: from myth to reality. Demonstration of functionality in animal models of disease and in human clinical trials. In: *Antonie Van Leeuwenhoek*, Vol. 76, pp. 279-292.
6. Gibson, G.R., Roberfroid, M.B. (1995) Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. In: *J. Nutr.*, Vol. 125, pp. 1401-1412.
7. Gopal, P.K., Prasad, J., Gill, H.S. (2003) Effects of the consumption of *Bifidobacterium lactis*

- HN019 (DR 10™) and galacto-oligosaccharides on the microflora of the gastrointestinal tracts in human subjects. In: *Nutrition Research*, Vol. 23, pp. 1313-1328.
8. Klein, G., Pack, A., Bonaparte, C., Reuter, G. (1998) Taxonomy and physiology of probiotic lactic acid bacteria. *Int. J. Food Microbiol.*, 41, pp. 103-125.
9. Kurman, J.A., Rasic, J.L. (1991) The health potential of products containing bifidobacteria. In: *Therapeutic Properties of Fermented Milks*. Robinson, R.K. (ed.) London: Elsevier Applied Food Sciences, pp. 117-158.
10. Lewis, S.J., Freedman, A.R. (1998) Review article: the use of biotherapeutic agents in the prevention and treatment of gastrointestinal disease. In: *Aliment. Pharmacol. Ther.*, Vol. 12, pp. 807-822.
11. Manning, Th.Sc., Rastall, R., Gibson, G. (2003) Prebiotics and Lactic Acid Bacteria. In: *Lactic Acid Bacteria. Microbiological and Functional Aspects*. Ed. by Salminen, S., Wright, A., Ouwehand, A. New York: Marcel Dekker, Inc., pp.407-418.
12. Martinez-Villaluenga, C., Frias, J., Gomez, R., Vidal-Valverde, C. (2006) Influence of addition of raffinose family oligosaccharides on probiotic survival in fermented milk during refrigerated storage. *International Dairy Journal*, 16, pp. 768-774.
13. Modler, H.W. (1994) Bifidogenic factors – Sources, Metabolism and Applications. *International Dairy Journal*, 4, pp. 383-407.
14. Nord, C.E., Lidbeck, A., Orrhage, K., Sjostedt, S. (1997) Oral supplementation with lactic acid bacteria during intake of clindamycin. In: *Clinical Microbiology and Infection*, Vol. 3, pp. 124-132.
15. Orrhage, K. (1994) Effects of supplements of *Bifidobacterium longum* and *Lactobacillus acidophilus* on the intestinal microbiota during administration of clindamycin. In: *Microb. Ecol. Health Dis.*, Vol. 7, pp. 17-25.
16. Ostlie, H.M., Treimo, J., Narvhus, J.A. (2005) Effect of temperature on growth and metabolism of probiotic bacteria in milk. In: *International Dairy Journal*, Vol. 15, pp. 989-997.
17. Ouwehand, A.C., Derrien, M., de Vos, W., Tiihonen, K., Rautonen, N. (2005) Prebiotics and other microbial substrates for gut functionality. In: *Current Opinion in Biotechnology*, Vol. 16, pp. 212-217.
18. Özer, D., Akin, S., Özer, B. (2005) Effect of Inulin and Lactulose on Survival of *Lactobacillus Acidophilus* LA-5 and *Bifidobacterium Bifidum*

- BB-02 in Acidophilus-Bifidus Yoghurt. *Food Sci. Tech. Int.*, 11, pp. 019-6.
19. Palframan, R.J., Gibson, G.R., Rastall, R.A. (2002) Effect of pH and dose on the growth of gut bacteria on prebiotic carbohydrates *in vitro*. *Anaerobe*, 8, pp. 287-292.
20. Rastall, R.A., Maitin, V. (2002) Prebiotics and synbiotics: towards the next generation. *Current Opinion in Biotechnology*, 13, pp. 490-496.
21. Saarela, M., Lähteenmäki, L., Crittenden, R., Salminen, S., Mattila-Sandholm, T. (2002) Gut bacteris and health foods – the European perspective. In: *International Journal of Food Microbiology*, Vol. 78, pp. 99-117.
22. Shin, H.S., Lee, J.H., Pestka, J.J., Ustunol, Z. (2000) Growth and viability of commercial *Bifidobacterium spp.* in skim milk containing oligosaccharides and inulin. *Journal of Food Science*, 65, pp. 884-887.
23. Simmering, R., Blaut, M. (2001) Pro- and prebiotics – the tasty guardian angels? *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 55, pp. 19-28.