Potencijal primjene probiotičkih bakterija u proizvodnji mliječnih deserata s dodatkom kakaa

Mandinić, Sandra

Master's thesis / Diplomski rad

2020

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Agriculture / Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:204:559618

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**



Repository / Repozitorij:

Repository Faculty of Agriculture University of Zagreb







Sveučilište u Zagrebu
Agronomski fakultet
University of Zagreb
Faculty of Agriculture

POTENCIJAL PRIMJENE PROBIOTIČKIH BAKTERIJA U PROIZVODNJI MLIJEČNIH DESERATA S DODATKOM KAKAA

DIPLOMSKI RAD

Sandra Mandinić

Zagreb, rujan, 2020.

Sveučilište u Zagrebu
Agronomski fakultet

University of Zagreb
Faculty of Agriculture

Diplomski studij:

Proizvodnja i prerada mlijeka

POTENCIJAL PRIMJENE PROBIOTIČKIH BAKTERIJA U PROIZVODNJI MLIJEČNIH DESERATA S DODATKOM KAKAA

DIPLOMSKI RAD

Sandra Mandinić

Mentor:
doc. dr. sc. Iva Dolenčić Špehar

Zagreb, rujan, 2020.

Sveučilište u Zagrebu
Agronomski fakultet

University of Zagreb
Faculty of Agriculture

IZJAVA STUDENTA

O AKADEMSKOJ ČESTITOSTI

Ja, **Sandra Mandinić**, JMBAG 0284012079, rođen/a 21.04.1996. u Kninu, izjavljujem da sam samostalno izradila/izradio diplomski rad pod naslovom:

POTENCIJAL PRIMJENE PROBIOTIČKIH BAKTERIJA U PROIZVODNJI MLIJEČNIH DESERATA S DODATKOM KAKAA

Svojim potpisom jamčim:

- da sam jedina autorica/jedini autor ovoga diplomskog rada;
- da su svi korišteni izvori literature, kako objavljeni tako i neobjavljeni, adekvatno citirani ili parafrazirani, te popisani u literaturi na kraju rada;
- da ovaj diplomski rad ne sadrži dijelove radova predanih na Agronomskom fakultetu ili drugim ustanovama visokog obrazovanja radi završetka sveučilišnog ili stručnog studija;
- da je elektronička verzija ovoga diplomskog rada identična tiskanoj koju je odobrio mentor;
- da sam upoznata/upoznat s odredbama Etičkog kodeksa Sveučilišta u Zagrebu (Čl. 19).

U Zagrebu, dana _____

_____
Potpis studenta / studentice

Sveučilište u Zagrebu
Agronomski fakultet

University of Zagreb
Faculty of Agriculture

IZVJEŠĆE

O OCJENI I OBRANI DIPLOMSKOG RADA

Diplomski rad studentice **Sandra Mandinić**, JMBAG 0284012079, naslova

POTENCIJAL PRIMJENE PROBIOTIČKIH BAKTERIJA U PROIZVODNJI MLIJEČNIH DESERATA S DODATKOM KAKAA

obranjen je i ocijenjen ocjenom _____ , dana _____ .

Povjerenstvo: potpisi:

1. Doc. dr. sc. Iva Dolenčić Špehar mentor _____
2. Prof. dr. sc. Dubravka Samaržija član _____
3. Doc. dr. sc. Milna Tudor Kalit član _____

Zahvala

Ovime zahvaljujem prvenstveno mentorici doc. dr. sc. Ivi Dolenčić Špehar na ogromnoj pomoći i brojnim savjetima. Također, najveće hvala od srca mami, tati i sestri na potpori koju mi pružaju cijeli život i daju vjetar u leđa za uspješnost u životu.
Zahvala ide i mojoj kumi koja je velikim dijelom sudjelovala u uspješnom odrađivanju svih prepreka koje su se našle na putu do ove diplome. Veliko hvala i ostatku obitelji koja me podupire i bodri, to mnogo znači. Volim vas sve!

Sadržaj

1. Uvod 1
2. Pregled dosadašnjih istraživanja 3
2.1. Probiotici 3
2.2. Podjela probiotika 5
2.3. Učinak probiotika na ljudski organizam 11
3. Mliječni deserti 12
3.1. Tehnologija proizvodnje mliječnih deserata s dodatkom kakaa 15
3.1.1. Kakao prah (kakao) 15
3.1.2. Mousse 18
3.1.3. Puding 20
4. Probiotički mliječni deserti s dodatkom kakaa 22
5. Zaključak 29
6. Literatura 30

Sažetak

Diplomskog rada studentice **Sandre Mandinić**, naslova

POTENCIJAL PRIMJENE PROBIOTIČKIH BAKTERIJA U PROIZVODNJI MLIJEČNIH DESERATA S DODATKOM KAKAA

Mliječni deserti su velika skupina mliječnih proizvoda izuzetno popularna kod potrošača svih dobnih skupina. Radi povećanja nutritivne vrijednosti i senzornih karakteristika, u mliječne deserte se osim kakaa, voća ili žitarica dodaju i probiotičke bakterije. U tom smislu, u posljednje se vrijeme probiotičke bakterije dodaju i u mliječne deserte s dodatkom kakaa poput primjerice pudinga i mousse-a. Ovi mliječni deserti pokazali su se kao odličan medij za dodavanje probiotičkih bakterija radi njihovog velikog postotka preživljavanja zbog čega takvu vrstu namirnica možemo svrstati u funkcionalnu hranu. Upravo bi to mogao biti glavni razlog sve veće potražnje ovakve vrste proizvoda.

Ključne riječi: probiotičke bakterije, mliječni deserti, kakao, mliječni deserti s dodatkom kakaa

Summary

Of the master's thesis - student **Sandra Mandinić**, entitled

POTENTIAL OF APPLICATION OF PROBIOTIC BACTERIA IN THE PRODUCTION OF DAIRY DESSERTS WITH COCOA ADDITION

Dairy desserts are a large group of dairy products extremely popular among consumers of all ages. With the aim of increasing nutritional value and sensory characteristics of dairy desserts, probiotic bacteria are as well added, in addition to cocoa, fruit or cereals. In this sense, probiotic bacteria have recently been added to dairy desserts with the addition of cocoa such as pudding and mousse. These dairy desserts have proven to be an excellent medium for adding probiotic bacteria due to their high survival rate, which classify this type of food as a functional food. This could be the main reason for the growing demand for this type of product.

Keywords: probiotics, dairy desserts, cocoa, probiotic dairy desserts, dairy desserts with cocoa

1. Uvod

Prema Svjetskoj zdravstvenoj organizaciji (WHO, 2002.), probiotičke bakterije su živi mikroorganizmi koji konzumirani u adekvatnoj količini doprinose poboljšanju zdravlja organizma domaćina. U tu svrhu najčešće se koriste bakterije mliječne kiseline (BMK) i bifidobakterije (LeBlanc i sur., 2017.). BMK su dio mikrobne populacije probavnog sustava zdravih ljudi i tako sudjeluju u održavanju normalnog metabolizma ljudi. Pozitivan učinak ovih bakterija najviše se pripisuje rodovima *Lactobacillus* i *Bifidobacterium,* no i rodovi poput *Bacillus, Streptococcus i Enterococcus* pridonose poboljšanju zdravstvenog stanja organizma domaćina. Poželjni učinci ovih vrsta probiotika najčešće se odnose na stimulaciju imunološkog sustava, suzbijanje urogenitalnih i crijevnih infekcija te modifikaciju crijevne mikroflore (Sanders i Huis in't Veld, 1999.).

Probiotičke bakterije se najčešće dodaju u mlijeko i mliječne proizvode. U novije vrijeme probiotičke bakterije se učestalo dodaju i u različite vrste mliječnih deserata koje konzumiraju različite skupine potrošača uključujući djecu i starije osobe. Upravo je to razlog sve većoj potrošnji ovakve vrste proizvoda. Na popularnost mliječnih deserata utječu svakako njihove nutritivne i senzorne karakteristike te porast marketinških aktivnosti u cilju povećanja njihove potrošnje. Zbog toga, danas je na tržištu prisutan veliki broj različitih vrsta deserata na bazi mlijeka i sastojaka mlijeka (Buriti i Saad, 2014.).

Prema Codex Alimentarius-u (2015.) mliječni deserti obuhvaćaju brojnu skupinu različitih proizvoda koja uključuje gotove mliječne desertne proizvode (*ready-to-eat*) s okusom, mješavine za deserte, smrznute mliječne deserte (sladoled, jogurt), aromatizirani jogurt, dulche de leche, mousse, puding i drugo. Radi povećanja nutritivne vrijednosti, senzornih karakteristika te prihvatljivosti od strane potrošača, osim voća i žitarica, najčešće korišteni dodatak u proizvodnji mliječnih deserata ali i deserata općenito je kakao, a prehrambeni proizvodi koji sadrže kakao, odnosno, imaju čokoladni okus jedni su od najprodavanijih u svijetu.

Mliječni se deserti za poboljšanje zdravstvenih učinaka na ljudski organizam u posljednje vrijeme obogaćuju dodatkom probiotičkih bakterija mliječne kiseline.

Osim toga, danas na tržištu prisutni su još i mliječni deserti sa smanjenim udjelom masti i šećera pri čemu su senzorne karakteristike proizvoda nepromijenjene. Upravo iz tih razloga mliječni deserti predstavljaju zanimljiv medij za inkorporaciju funkcionalnih sastojaka poput probiotika ali i prebiotika zbog čega imaju veliki tržišni potencijal (Buriti i Saad, 2014.).

Cilj diplomskog rada je na temelju pregleda dosadašnjih rezultata istraživanja prikazati potencijal primjene probiotičkih bakterija u proizvodnji mliječnih deserata s dodatkom kakaa.

2. Pregled dosadašnjih istraživanja

2.1. Probiotici

Termin probiotik prvi se put spominje 1965. godine u istraživanju Lilley i Stillwell koji su opisivali na koji način mikroorganizmi luče tvari koje stimuliraju rast nekog drugog mikroorganizma. Riječ probiotik ima grčko podrijetlo pri čemu riječi *pro* i *bios* znače - ***za život*** kao antonim pojmu antibiotik koji ima značenje - protiv života (Samaržija, 2015.). Godine 2001. Organizacija za hranu i poljoprivredu (FAO) daje definiciju probiotika, a 2013. godine Svjetska organizacija za gastroenterologiju (WGO) izdaje svoje smjernice za probiotike te potvrđuje da je učinkovitost probiotika specifična za određeni soj bakterije i dozu koja se primjenjuje. Time se opovrgava mit da je svaki fermentirani mliječni proizvod ujedno i probiotički proizvod (McFarland, 2015.).

Povijesno gledajući, primjena probiotika seže daleko u prošlost, u vrijeme prije otkrića mikroorganizama. Fermentirani mliječni proizvodi prikazani su na Egipatskim hijeroglifima, a fermentirano mlijeko je bilo najčešće konzumirano piće tibetanskih nomada. Razlog konzumacije takvog mlijeka jest njegova produljena trajnost tijekom njihovih dugotrajnih putovanja. Prve pokazatelje pozitivnog učinka fermentiranih proizvoda općenito na ljudsko zdravlje znanstvenici su utvrdili još 1800-ih godina. Kasnije je Louis Pasteur identificirao bakterije i kvasce odgovorne za proces fermentacije u mliječnim proizvodima, no nije ih povezao sa zdravstvenim učincima na organizam domaćina (McFarland, 2015.). Godine 1905. godine, suradnik Louisa Pasteura, Ilja Iljič Mečnikov smatrao je kako je za dugovječnost stanovnika Bugarske zaslužan *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricu*s, laktobacil izoliran iz bugarskog kiselog mlijeka. Iako je Mečnikova pretpostavka kasnije odbačena ova otkrića bila su od velike važnosti za daljnja istraživanja (Samaržija, 2015.).

Jedno od ranijih istraživanja o djelovanju probiotika na ljudski organizam provedeno je 1922. godine pod vodstvom Rettgera i Cheplina, a u istraživanju je sudjelovalo 30 bolesnika s kroničnom opstipacijom, dijarejom ili ekcemima. Utvrđeno je poboljšanje zdravstvenog stanja kod bolesnika koji su konzumirali fermentirano mlijeko točnije jogurt s dodatkom bakterije *Lactobacillus acidophillus*. No, tek je 10 godina kasnije potvrđena zdravstvena dobrobit ove bakterije na bolesti crijeva u istraživanju provedenom od strane Kopeloffa i suradnika (1932.).

Razlika između probiotika i bakterija koje su sastavni dio mikrobne mljekarske kulture u proizvodnji fermentiranih mlijeka, utvrđena je u 1930-im godinama istraživanjem bakterija *Lactobacillus bulgaricus* i *Streptococcus thermophilus* (mikrobna kultura jogurta) o njihovoj nemogućnosti kolonizacije crijeva. Suprotno, konzumacija fermentiranih mlijeka s dodatkom probiotičke bakterije *Lactobacillus acidophillus* kolonizira crijeva, a pri tom ne proizvodi visoku koncentraciju mliječne kiseline. Potvrda o postojanju razlika između bakterija bila je osnova za daljnja istraživanja (McFarland, 2015.). U tablici 2.1. dan je povijesni prikaz prve izolacije i djelovanja nekih probiotika.

Tablica 2.1. Povijesni prikaz prve izolacije i djelovanja nekih vrsta probiotika

Bakterija	**Prvo izolirano**	**Prvo djelovanje**
Bifidobacteria bifidum	Henry Tissier izolirao iz fecesa djeteta	Uklanja patogene u crijevima
Clostridium butyricum 588	Izolirana iz tla	Pozitivne promjene u mikroflori crijeva
Escherichia coli (Nissle DSM6601)	1917. Alfred Nissle izolirao iz fecesa zdravog vojnika	Prevencija salmonele i šigele
Lactobacillus acidophilus Lb	1900. Izolirana iz ljudskog intestinalnog trakta	Prevencija dijareje
Lactobacillus bulgaricus	1905. Stamen Grigorov izolirao iz fermentiranog mlijeka	Fermentacija jogurta
Lactobacillus casei subsp. *shirota*	1935. Minoru Shirota izolirao iz ljudskog fecesa	Otpor kolonizaciji patogena
Lactobacillus reuteri (DSM 55730)	1990. izolirana iz majčinog mlijeka	Uspostavlja normalnu mikrofloru crijeva kod djece
Lactobacillus rhamnosus GG (ATCC 53013)	1983. Goldin i Gorbach izolirali iz fecesa zdravog čovjeka	Poboljšava normalnu mikrofloru crijeva
L. rhamnosus (CNCM I-1720)	1976. izolirana iz mliječnih mikrobnih kultura	Pomaže izlječenju peptičkog ulkusa
L. helveticus (CNCM I-1722)	1990. izolirana iz mikrobne kulture acidofilnog mlijeka	Pomaže izlječenju peptičkog ulkusa

Izvor: prilagođeno prema McFarland (2015.)

2.2. Podjela probiotika

Kada se govori o probioticima najčešće se misli na bakterije mliječne kiseline jer su one dio mikrobne populacije probavnog sustava zdravih ljudi i zapravo su uključene u održavanje normalnog metabolizma ljudskog organizma. U tu skupinu srodnih bakterija spadaju i sve vrste gore navedenih probiotika, a veliki broj poželjnih zdravstvenih učinaka bakterija na mikrofloru crijeva pripisuje se upravo bakterijama mliječne kiseline i bifidobakterijama (tablica 2.2.).

Tablica 2.2. Najčešće vrste probiotičkih bakterija

Lactobacillus spp.	*acidophilus* *plantarum* *rhamnosus* *paracasei* *fermentum* *reuteri* *brevis* *casei* *lactis* *delbrueckii* subsp. *bulgaricus*
Bifidobacterium spp.	*breve* *infantis* *iongum* *bifidum* *thermophilum* *animalis* *lactis*
Bacillus spp.	*coagulans*
Streptococcus spp.	*thermophilus*
Enterococcus spp.	*faecium*

Izvor: Khalighi i sur. (2016.)

Poželjno djelovanje bakterija mliječne kiseline na organizam domaćina najčešće obuhvaća: poboljšanje metabolizma laktoze, stimulaciju imunološkog sustava, suzbijanje urogenitalnih i crijevnih infekcija, antitumorno djelovanje, suzbijanje alergijskih reakcija i modifikaciju crijevne mikroflore. Zbog ovih pozitivnih učinaka na organizam preporuka je unositi BMK putem hrane (Sanders i Huis in't Veld, 1999.).

LeBlanc i sur. (2017.) u svom istraživanju navode da BMK imaju sposobnost proizvesti kratkolančane masne kiseline fermentacijom krajnjih proizvoda ugljikohidrata poput piruvata koristeći glikolitički put dok bifidobakterije koriste fermentacijski put. Tim fermentacijskim putem bifidobakterije proizvode acetat i format pod ograničenjem ugljikohidrata te acetat i laktat kada su ugljikohidrati u suvišku.

Rast i metabolička aktivnost probiotičkih bakterija kao što su bifidobakterije i BMK mogu biti selektivno stimulirani različitim dijetalnim ugljikohidratima koji nisu probavljivi, a nazivaju se prebiotici. Oni u kombinaciji sa probioticima daju simbiotike koji su korisni jer doprinose uravnoteženoj crijevnoj mikroflori, sprječavaju zatvor i dijareju, utječu na imunološki sustav te doprinose smanjenju kancerogenih tvari u crijevima. Također, simbiotici djeluju antialergijski i doprinose smanjenju količine triglicerida i šećera u krvi (LeBlanc i sur., 2017.).

Probiotici se mogu podijeliti na tri široke grane koje obuhvaćaju (McFarland, 2015.):

1. Probiotike bez zdravstvenog učinka koji se u pravilu smatraju sigurnim, no bez doze učinkovitosti
2. Probiotike koji se koriste kao dodatak prehrani sa specifičnim zdravstvenim učinkom kod kojih su definirani korišteni sojevi bakterije te je njihova učinkovitost potkrijepljena dokazima s kliničkih ispitivanja, a koriste se za jačanje mehanizma obrane ili smanjenje simptoma bolesti u organizmu
3. Probiotike koji se koriste u svrhu kliničkih ispitivanja za specifičnu indikaciju ili bolest, potrebno ispunjavanje regulatornih standarda za lijekove.

Odabir probiotičke bakterije ovisi o njegovim karakteristikama (tablica 2.3.) pri čemu izbor njihovih sojeva mora udovoljavati određenim kriterijima, a to su: poželjno humano podrijetlo, nepatogenost (sigurnost soja), sposobnost aktivnosti i preživljavanja u proizvodu, rezistentnost na niski pH odnosno na želučanu kiselinu i žučne soli, sposobnost adsorpcije za sluznicu crijeva i kolonizacije gastrointestinalnog sustava te sposobnost inhibitornog djelovanja prema patogenim bakterijama (Samaržija, 2015.). Svi čimbenici koji su povezani sa tehnološkim i senzornim aspektima u proizvodnji hrane s dodatkom probiotičkih bakterija od velike su važnosti jer se zadovoljstvo potrošača može odraziti na povećanje potrošnje probiotičkih proizvoda koji se svrstavaju u skupinu funkcionalne hrane (Saarela i sur., 2000.).

Pojam funkcionalne hrane koristi se za hranu koja zbog svog sastava uz nutritivna ima i posebna funkcionalna svojstva što znači da ima povoljan preventivan ili terapijski učinak na zdravstveno stanje organizma (Samaržija, 2015.).

To se odnosi i na probiotičke bakterijske sojeve koji uz druge istaknute kriterije, moraju imati i funkcionalna svojstva preko kojih mogu pozitivno utjecati na narušenu mikrobnu ravnotežu u crijevima. Odnosno, te bakterije bi trebale svojim izravnim ili neizravnim djelovanjem imati povoljan utjecaj na zdravlje domaćina. Bakterije koje imaju pozitivan učinak na zdravlje domaćina su one bakterije koje pomažu u sprječavanju ili suzbijanju bolesti kao što su dijareja, upalne bolesti crijeva, alergijske upale, urogenitalne infekcije te mnoge bolesti povezane s kardiovaskularnim sustavom (Samaržija, 2015.).

Tablica 2.3. Karakteristike određenih probiotika

	Temperatura rasta				
Vrsta bakterije	**Min. (°C)**	**Optimum (°C)**	**Max. (°C)**	**Vrsta fermentacije**	**Mliječna kiselina (%)**
Lb. delbrueckii subsp. *bulgaricus*	22	45	52	homofermentativna	1,5-1,8
Lb. delbrueckii subsp. *lactis*	18	40	50	homofermentativna	1,5-1,8
Lb. helveticus	22	45	54	homofermentativna	1,5-2,2
Lb. acidophilus	27	37	48	homofermentativna	0,3-1,9
Lb. kefir	8	32	43	heterofermentativna	1,2-1,5
Lb. brevis	8	30	42	heterofermentativna	1,2-1,5
S. thermophilus	22	40	52	homofermentativna	0,6-0,8
Lc. lactis subsp. *lactis*	8	30	40	homofermentativna	0,5-0,7
Lc. lactis subsp. *cremoris*	8	22	37	homofermentativna	0,5-0,7
Lc. lactis subsp. lactis biovar. diacetylactis	8	22-28	40	homofermentativna	0,5-0,7
Ln. mesenteroides subsp. *cremoris*	4	20-28	37	heterofermentativna	0,1-0,2
Bifidobacterium spp.	22	37	48	/	0,1-1,4

Izvor: Heller (2001.)

Postoje dva glavna načina korištenja probiotika, konzumacijom fermentirane hrane ili kroz dodatke prehrani. Kod pojma fermentirane hrane misli se na namirnice proizvedene od mlijeka te one biljnog podrijetla od kojih su najpoznatiji jogurt i kiseli kupus.

Neovisno o obliku i načinu primjene, za kliničku učinkovitost, proizvod u koji se dodaju probiotičke bakterije mora istima osigurati uvjete za rast i kolonizaciju u crijevima. Probiotici koji se koriste kao dodaci prehrani, sastoje se od liofiliziranih bakterija u obliku praha, kapsula ili tableta (tablica 2.4.).

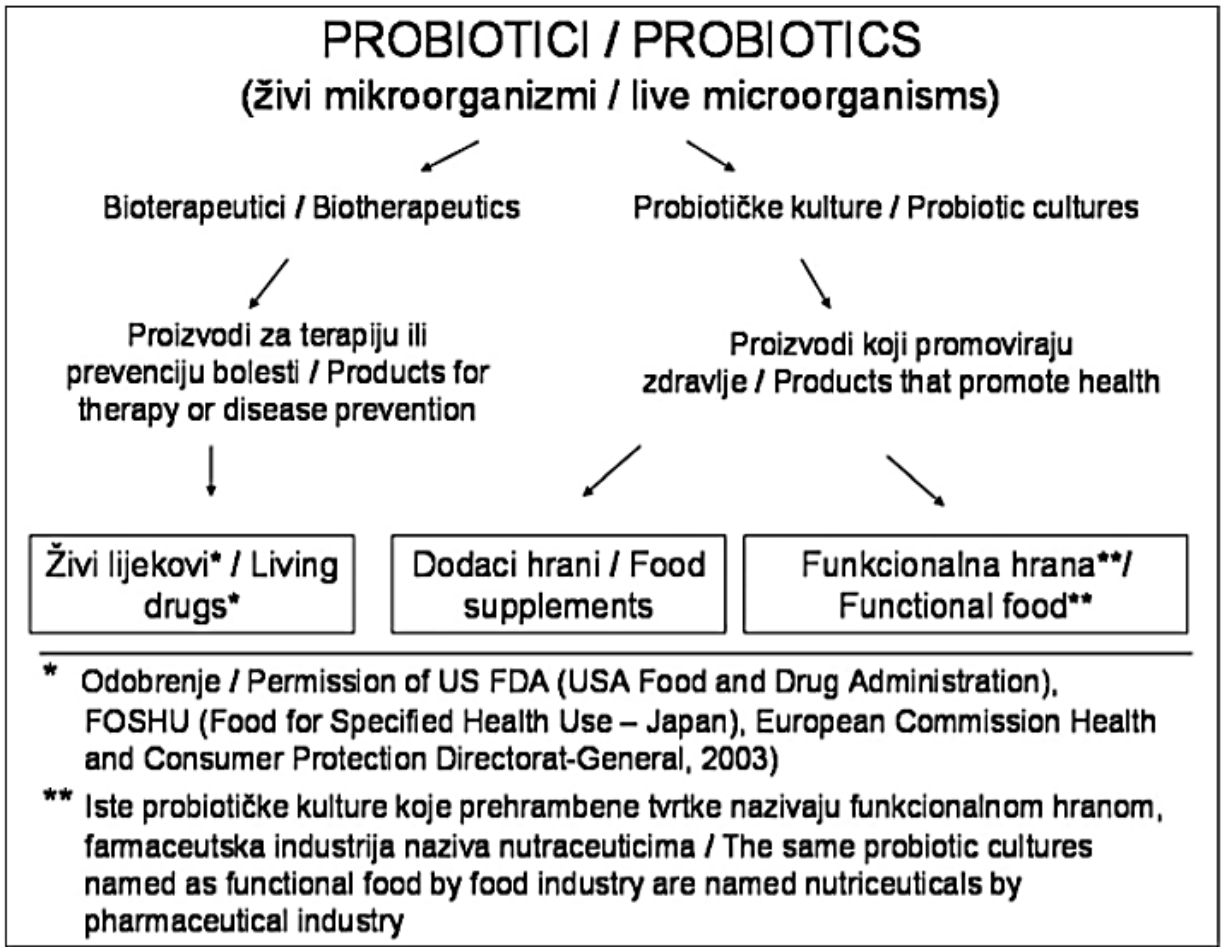
Tablica 2.4. Prednosti i nedostaci primjene određenog probiotika

Način primjene	**Prednosti**	**Nedostatci**
Fermentirani proizvodi	Pristupačnost i jednostavnost konzumacije, lako uključenje u svakodnevnu prehranu, unos dodatnih korisnih tvari, poboljšano preživljavanje bakterija kroz gornji dio gastrointestinalnog trakta (100x manje bakterija potrebno po dozi)	Sadrži proteine i laktozu (problem kod alergije i intolerancije), problemi sa okusom, nije prikladno za putovanja, nije prikladno za osobe koje ne jedu namirnice animalnog podrijetla
Kapsule	Jednostavnost primjene, ne sadrži vezivna sredstva	Ne djeluje terapeutski u gornjem dijelu gastrointestinalnog trakta (jedino ako se prožvače ili otvori kapsula), može sadržavati alergene pomoćne tvari, visoka cijena
Tablete	Jednostavnost primjene, djelotvorno u gornjem dijelu gastrointestinalnog trakta	Može sadržavati alergene pomoćne tvari ili vezivna sredstva i druge aditive (gluten), visoka cijena
Prašak	Djelotvorno u gornjem dijelu gastrointestinalnog trakta, doza se može prilagoditi individualno, omogućeno miješanje sa hranom ili pićem, ne sadrži vezivna sredstva	Visoka cijena

Izvor: Khalighi i sur. (2016.)

Doziranje probiotika u hrani i dodacima prehrani temelji se isključivo na broju živih organizama prisutnih u proizvodu. Na temelju dosadašnjih istraživanja utvrđeno je da broj probiotičkih bakterija treba biti između 10^7 i 10^{11} po ml proizvoda.

Pri tom je utvrđeno da je mlijeko najbolji transportni medij za probiotike jer je potrebno 100 puta manje održivih bakterija ako se one nalaze u mliječnom mediju nego ako su u zamrznutom ili osušenom mediju kao što je slučaj s dodacima prehrani (Khalighi i sur., 2016.). Probiotici se prema načinu primjene mogu podijeliti na bioterapeutike i probiotičke kulture koje se koriste kao funkcionalni dodatci hrani (slika 2.1.). Bioterapeutici su proizvodi namijenjeni za terapiju ili prevenciju bolesti što ih svrstava u kategoriju živih lijekova, dok probiotici kao funkcionalni dodaci hrani promoviraju zdravlje odnosno imaju pozitivan učinak na ravnotežu crijevne mikroflore (Šušković i sur., 2009.).



Slika 2.1. Klasifikacija probiotičkih proizvoda (Sleator i Hill, 2008; Šušković i sur., 2009.)

2.3. Učinak probiotika na ljudski organizam

Tijekom posljednja dva desetljeća zbog zdravstvene prednosti koje probiotici imaju na ljudski organizam povećava se njihovo korištenje u brojnim vrstama prehrambenih proizvoda, a najčešće u proizvodnji fermentiranih mlijeka (Saarela i sur., 2000.).

Izraz probiotik odnosi se na proizvode koji:

1. sadrže žive mikroorganizme
2. poboljšavaju zdravstveno stanje ljudi i životinja
3. mogu djelovati u ustima ili probavnom traktu, u gornjem respiratornom traktu ili u urogenitalnom traktu (Šušković i sur., 1997.).

Postoji više mehanizama djelovanja probiotika, a uključuju jačanje epitelne barijere, povećanu adheziju na crijevnu sluznicu i istodobnu inhibiciju patogena, proizvodnju antimikrobnih tvari, modulaciju imunološkog sustava te kompetitivno isključivanje patogenih mikroroganizama. Najvažnije djelovanje probiotika jest i najpoznatiji pozitivan učinak probiotičkih bakterija na organizam domaćina, a odnosi se na blokiranje djelovanja patogenih bakterija. Povrh toga, probiotici štite sluznicu crijeva stimuliranjem proizvodnje mucina koji je visokomolekularni glikoprotein. Uz to, probiotici na samom epitelu crijeva uzrokuju i neke biokemijske promjene koje štite stanice i inhibiraju djelovanje patogenih mikroorganizama, te obnavljaju poremećenu propusnost crijevnog epitela (Bermudez-Brito i sur., 2012.). Khalighi i sur. (2016.) u svom istraživanju navode pozitivne učinke pojedinih probiotika na ljudsko zdravlje. Tako autori tvrde da su posebno učinkoviti laktobacili za koje se smatra da vežu prehrambene karcinogene i smanjuju razvoj tumora u debelom crijevu. Bakterija *Lactobacillus plantarum* smanjuje ozbiljnost enterokolitisa izazvanog kemoterapijom. Također, laktobacili koji proizvode vodikov peroksid i mliječnu kiselinu, djeluju baktericidno na patogenu bakteriju *Gardnerella vaginalis* snižavanjem pH vrijednosti što sprječava rast patogenih bakterija u rodnici. Šušković i sur. (1998.) zbog sve veće antibiotske rezistencije organizma predlažu povećanje upotrebe probiotika te prebiotika, supstancijama kompleksnog polisaharidnog sustava koje stimuliraju preživljavanje i kolonizaciju probiotičkih bakterija u probavnom sustavu. Korištenjem probiotika, prebiotika i njihove kombinacije (simbiotik) smanjuje se upotreba antibiotika što doprinosi smanjenju antibiotske rezistencije.

3. Mliječni deserti

Mliječni deserti prema Codex Alimentariusu (2015.) obuhvaćaju veliku skupinu različitih proizvoda koja uključuje gotove mliječne desertne proizvode (*ready-to-eat*) s okusom, mješavine za deserte, smrznute mliječne deserte, aromatizirani jogurt (fermentirani proizvod s dodatkom voća, kakaa, kave), smrznuti jogurt sa ili bez dodataka (voće). Prema tome, mliječni deserti uključuju i:

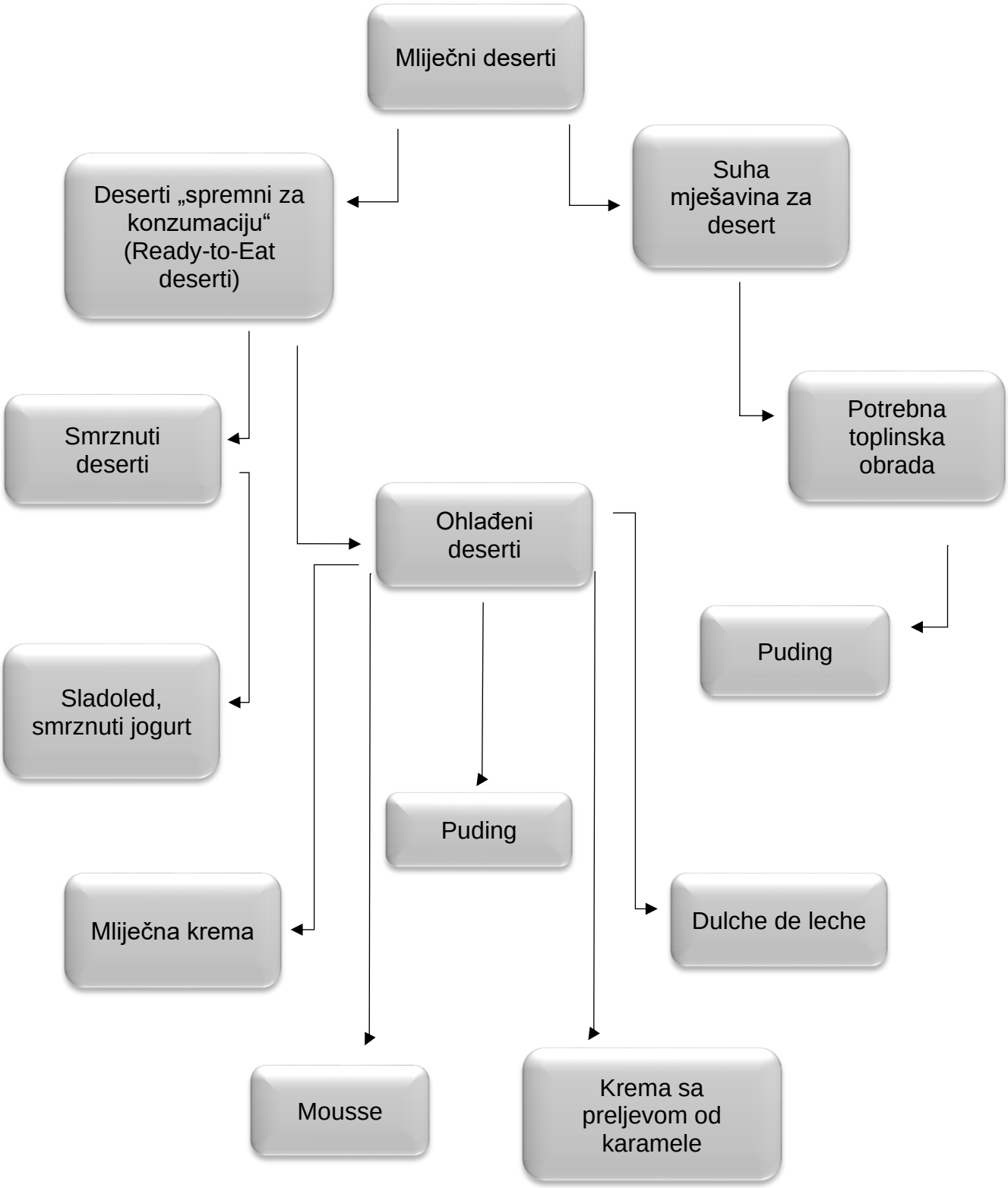
- Sladoled (smrznuti desert koji može sadržavati punomasno ili obrano mlijeko, vrhnje, maslac, šećer, voće, kakao i/ili proizvode od jaja)
- Ledeno mlijeko (proizvod sličan sladoledu sa smanjenim udjelom punomasnog mlijeka ili napravljen od obranog mlijeka)
- „Junket“ (slatki kremasti desert napravljen od aromatiziranog mlijeka s dodatkom sirila)
- Dulche de leche (mlijeko kuhano sa šećerom i dodatkom kakaa, čokolade, kokosa i sličnih dodataka)
- Puding
- Mousse
- Tradicionalni slatkiši napravljeni od kozjeg, bivoljeg ili kravljeg mlijeka s raznim dodatcima

Prema pravilniku o mlijeku i mliječnim proizvodima (NN 133/07), mliječni deserti proizvode se postupkom toplinske obrade mlijeka i/ili sirutke i dodanih sastojaka, koji posebnim tehnološkim postupkom poprimaju čvrstu, gusto-tekuću i/ili pjenastu konzistenciju. Mliječni deserti moraju imati karakterističan okus, miris i boju ovisno o korištenoj osnovnoj sirovini ili dodanom sastojku.

Mliječni deserti tijekom zadnja dva desetljeća stječu sve veću popularnost kod potrošača svih dobnih skupina iz više razloga (Early, 1998.):

- jednostavni su za upotrebu
- mogu imati sniženi udio masti
- izvor su hranjivih tvari uz dodatak nutrijenata
- imaju duži rok trajnosti
- mogu se koristiti kao dodatak u pripremi slastica
- samostalan su obrok
- nude osvježenje kad su ohlađeni

Nekada se proizvodnja mliječnih deserata temeljila na pripravljanju u kućanstvu pri čemu su mlijeko i škrob činili osnovne sastojke, a naknadno su se dodavali šećer, kakao, voće i ostali sastojci. Iako se mliječni deserti uglavnom pripravljaju u domaćinstvu, tehnologija proizvodnje tih vrsta proizvoda u industriji se razlikuje. Industrijski proizvedeni mliječni deserti su namirnice spremne za konzumaciju jer ih nije potrebno prethodno doraditi zbog čega se nazivaju *ready-to-eat* desertima. Međutim, za proizvodnju mliječnih deserata poput primjerice pudinga (dijagram 3.1.) potrebno je praškaste sastojke izmiješati te termički obraditi dodavanjem u zagrijano mlijeko te ohladiti (Chandan i Kilara, 2016.).



Dijagram 3.1. Podjela mliječnih deserata (prema Chandan i Kilara, 2016.)

3.1. Tehnologija proizvodnje mliječnih deserata s dodatkom kakaa

3.1.1. Kakao prah (kakao)

Kakao zrna predstavljaju sjeme plodova stabla kakaovca (*Theobroma cacao L.,* red *Sterculiacae),* koje je domaća vrsta u tropskim vlažnim šumama na donjim istočnim ekvatorijalnim obroncima Anda u Južnoj Americi (Caligiani i sur., 2016.). Postupak proizvodnje kakaa započinje berbom plodova kakaovca (slika 3.1.). Nakon berbe plodovi se otvaraju te se zrna stavljaju na fermentaciju (Pohlan i Perez, 2010.). U fermentaciji kakaa sudjeluju divlji kvasci (*Kloeckera and Saccharomyces spp.)* i rodovi bakterija *Lactobacillus, Bacillus, Pediococcus, Acetobacter* i *Gluconobacter*, određujući tako vrstu fermentacije koja može biti alkoholna, mliječna i octena (Caligiani i sur., 2016.).

Fermentacija se provodi, ovisno o sorti kakaovca, 3-8 dana nakon čega se zrna kakaovca stavljaju na sušenje (slika 3.2.). Sušenjem se postotak vlage sa 40-50% smanjio na 6-8%. Postupak sušenja može se provoditi prirodno, na suncu tijekom 7 dana ili u kontroliranim uvjetima na temperaturi do 60°C/48 sati.

Osušena zrna kakaovca se zatim prže na 130-150°C/15-45 minuta, te usitnjavaju ovisno o tome proizvodi li se kakao masa, kakao prah, kakao maslac ili kakao tekućina (Pohlan i Perez, 2010.).



Slika 3.1. Plod kakaovca

(Izvor: kandit.hr)



Slika 3.2. Sušenje fermentiranih zrna kakaovca

(Izvor: http://www.cacaoweb.net/cacao-beans2.html)

Kemijski sastav kakao zrna je vrlo složen te ona za razliku od nekih drugih sjemenki sadrže veliku količinu masti, u endospermu čak do 61%. Sadrže približno 6% taninskih tvari te do 2% alkaloida (teobromina i kofeina). Udjel vode u kakao zrnu iznosi od 5% do 7,5%. Optimalan udjel vode važan je jer kod smanjenog udjela vode dolazi do oštećenja i loma zrna, a kod povećanog udjela vode dolazi do pojave plijesni. Ugljikohidrati su u najvećoj količini prisutni u ljusci i endospermu, pa tako ljuska sadrži oko 3% škroba, 27% celuloze, 8% pektina, a endosperm oko 6% škroba, 9% celuloze i 1% šećera (Goldoni, 2004.). Proteini su sastojak kakaa koji se podvrgava najintenzivnijoj modifikaciji tijekom fermentacije jer mikrobiološke i enzimske reakcije dovode do razgradnje proteina u zrnu kakaa čime se dobivaju peptidi i aminokiseline koji su važni prekursori arome. Također, kakao zrna sadrže 4 važna proteina, a to su: albumin, globulin, prolamin i glutein (Mellor, 2016.). Što se tiče mineralnih tvari, njih u ljusci ima od 5,5 do 12,4%, u endospermu od 2,6 do 4%, a u klici od 5,7 do 6,9%. Mineralne tvari sadržane su uglavnom u obliku karbonske, fosfatne i sulfatne kiseline. Kalij i fosfor najzastupljenije su mineralne tvari(Goldoni, 2004.), a Mellor (2016.) također navodi da je kakao dobar izvor magnezija i željeza.

Kakao sadrži više fenolnih antioksidansa od većine namirnica što djeluje pozitivno na zdravlje potrošača. Primjerice, antioksidativni učinci kakaa mogu izravno utjecati na otpornost inzulina i smanjiti rizik od dijabetesa. Također, kakao može zaštititi živce od ozljeda i upala te zaštititi kožu od oksidativnih oštećenja UV zračenja.

Kakao se najviše konzumira kroz čokoladu i čokoladne pripravke pa se samim tim kakau pridodaje i blagotvorno djelovanje na sitost, kognitivne funkcije te raspoloženje. Uz brojne pozitivne učinke kakaa, negativna strana jest jedino pretjerana konzumacija namirnica poput čokolade što može dovesti do povećanja tjelesne mase i pretilosti (Katz i sur., 2011.).

Prema Codex Alimentariusu (105-1981) određeni su standardi za upotrebu naziva kakao prah (tablica 3.1.). Naziv „kakao prah“, „kakao prah sa smanjenim udjelom masti“ i „kakao prah sa izrazito smanjenim udjelom masti“ koristi se za proizvode dobivene iz kakao mase koja je pretvorena u prah. Kakao zrna su osnova za dobivanje kakao tekućine, kakao maslaca, kakao praha i kakao mase koji se potom koriste u proizvodnji čokolada i ostalih slastica.

Tablica 3.1. Standardi za kakao prah

Kakao prah		**Postotak kakao maslaca**		
		≥20% masti	**10 – 20 % masti**	**<10% masti**
		Kakao prah	Kakao prah sa smanjenim udjelom masti	Kakao prah sa izrazito smanjenim udjelom masti
Postotak kakao praha u suhim mješavinama	**>25% masti**	Zaslađeni kakao, zaslađeni kakao prah, tekuća čokolada za piće	Zaslađeni kakao prah sa smanjenim udjelom masti, čokolada za piće sa smanjenim udjelom masti	Zaslađeni kakao prah sa izrazito smanjenim udjelom masti, čokolada za piće sa izrazito smanjenim udjelom masti
	20 - 25% masti	Zaslađena kakao mješavina	Zaslađena kakao mješavina sa smanjenim udjelom masti	Zaslađena kakao mješavina sa izrazito smanjenim udjelom masti
	<20% masti	Zaslađena kakao mješavina	Zaslađena kakao mješavina sa smanjenim udjelom masti	Zaslađena kakao mješavina sa izrazito smanjenim udjelom masti

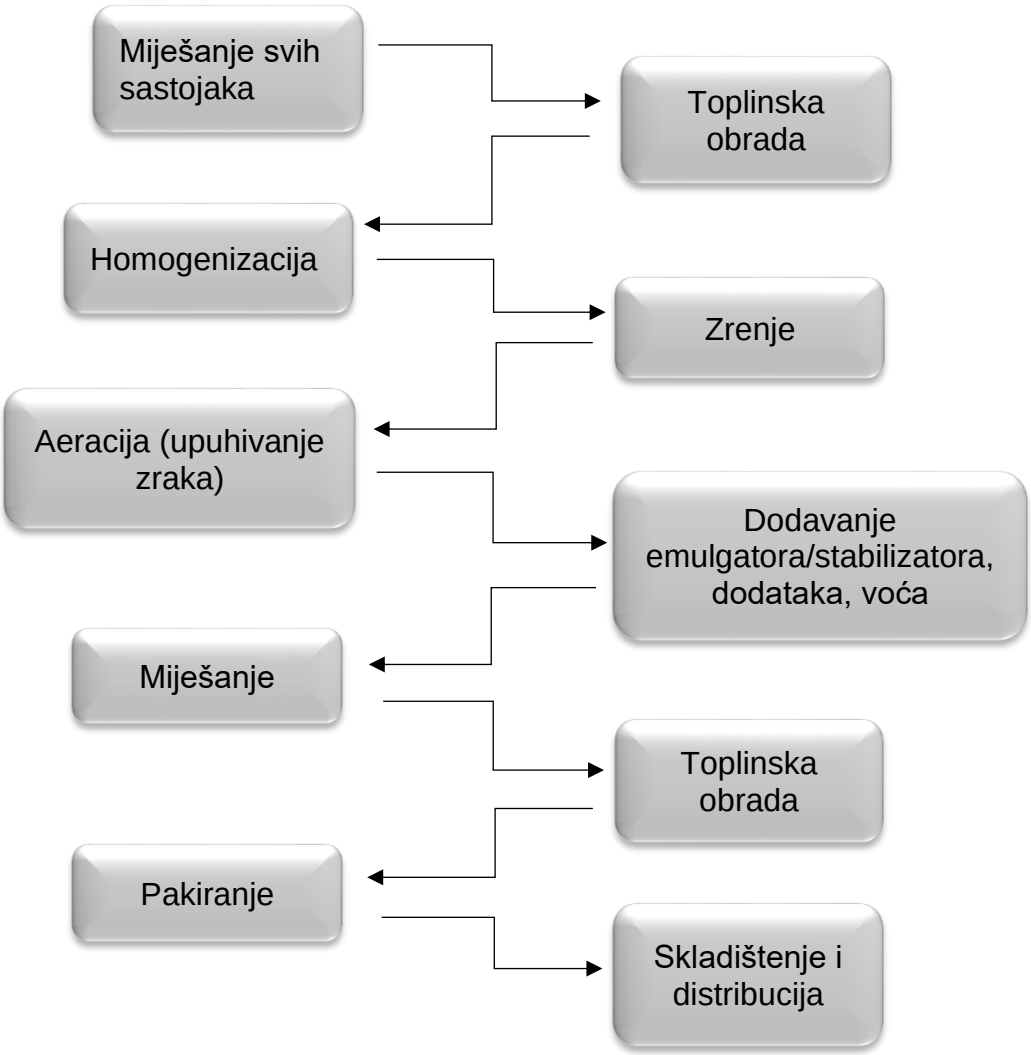
Izvor: Codex Alimentarius (1981.)

3.1.2. Mousse

Tehnologija proizvodnje svih mliječnih deserata je slična, a pojedine faze ovise o vrsti proizvoda. Izuzev sladoleda, mousse i puding s dodatkom kakaa najpoznatiji su predstavnici mliječnih deserata. Pri tom je tehnologija proizvodnje mousse-a (slika 3.1.) radi njegove pjenušave teksture nešto zahtjevnija, u odnosu na tehnologiju proizvodnje primjerice pudinga. Sastojci koji se dodaju u mousse su vrhnje, obrano mlijeko, obrano mlijeko u prahu, šećer, čokolada, kakao u prahu te emulgatori i stabilizatori. Udjeli mliječne masti variraju do 12% pa i više. Mousse od obranog mlijeka ima gušće je odnosno ima čvršću teksturu dok mousse s većim udjelom masti ima laganu „prozračnu“ teksturu kakva je i poželjna za ovu vrstu deserta. Udjel bezmasne suhe tvari mlijeka ispod 7% dovodi do promjena konzistencije proizvoda i problema sa zadržavanjem vode. Veći udjel bezmasne suhe tvari, iznad 12% ima negativan utjecaj na teksturu, odnosno gubi se pjenasta tekstura i proizvod postaje gust i „težak“. Udjel šećera u mousse-u iznosi između 8 i 15%, a svako odstupanje ima negativan utjecaj na okus proizvoda. Za proizvodnju kvalitetnog proizvoda sa svim karakteristikama koje su tipične za mousse sadržaj ukupne suhe tvari treba biti veći od 31% (Early, 1998.)

Prva faza u proizvodnji mousse-a je miješanje svih sastojaka pri čemu je potrebno voditi računa o količini inkorporiranog zraka tijekom miješanja sastojaka. Naime, prevelika količina inkorporiranog zraka uzrokuje ljepljivost zbog čega su otežani postupci pasterizacije i homogenizacije. Nakon miješanja slijedi toplinska obrada na 80 – 85°C/20 – 30 s (high temperature short time - HTST). Takva toplinska obrada dovodi do denaturacije proteina sirutke iz vrhnja i rezultira boljim vezanjem vode, a dobiveni proizvod ima glatku i kremastiju teksturu. Za proizvodnju mousse-a s produženim rokom trajanja koriste se visoke temperature (UHT tretmani) odnosno sterilizacija pri 140 – 145°C/3 – 5 sekundi (Early, 1998.). Homogenizacija je obvezan postupak u proizvodnji mousse-a radi dobivanja odgovarajuće teksture smjese, a može se provoditi prije ili nakon toplinske obrade. Homogenizirana smjesa mora proći fazu zrenja, nakon čega se podvrgava postupku aeracije ili upuhivanja zraka. Aeracijom se dobiva karakteristična pjenušava i prozračna tekstura mousse-a. Overrun, odnosno udio inkorporiranih mjehurića zraka u proizvodu, može iznositi i do 100% povećanja mase. U smjesu se dodaju emulgatori, stabilizatori i ostali dodatci kao što su arome, najčešće kakao, a potom slijedi miješanje radi ujednačavanja smjese.

Tako ujednačena smjesa ponovno se toplinski obrađuje, potom pakira, pohranjuje i distribuira na tržište (Early, 1998.).



Dijagram 3.2. Shematski prikaz tehnologije proizvodnje mousse-a (prema Early, 1998.)



Slika 3.1. Mousse s dodatkom kakaa

(Izvor: https://www.allrecipes.com/recipe/19013/chocolate-mousse-i/)

3.1.3. Puding

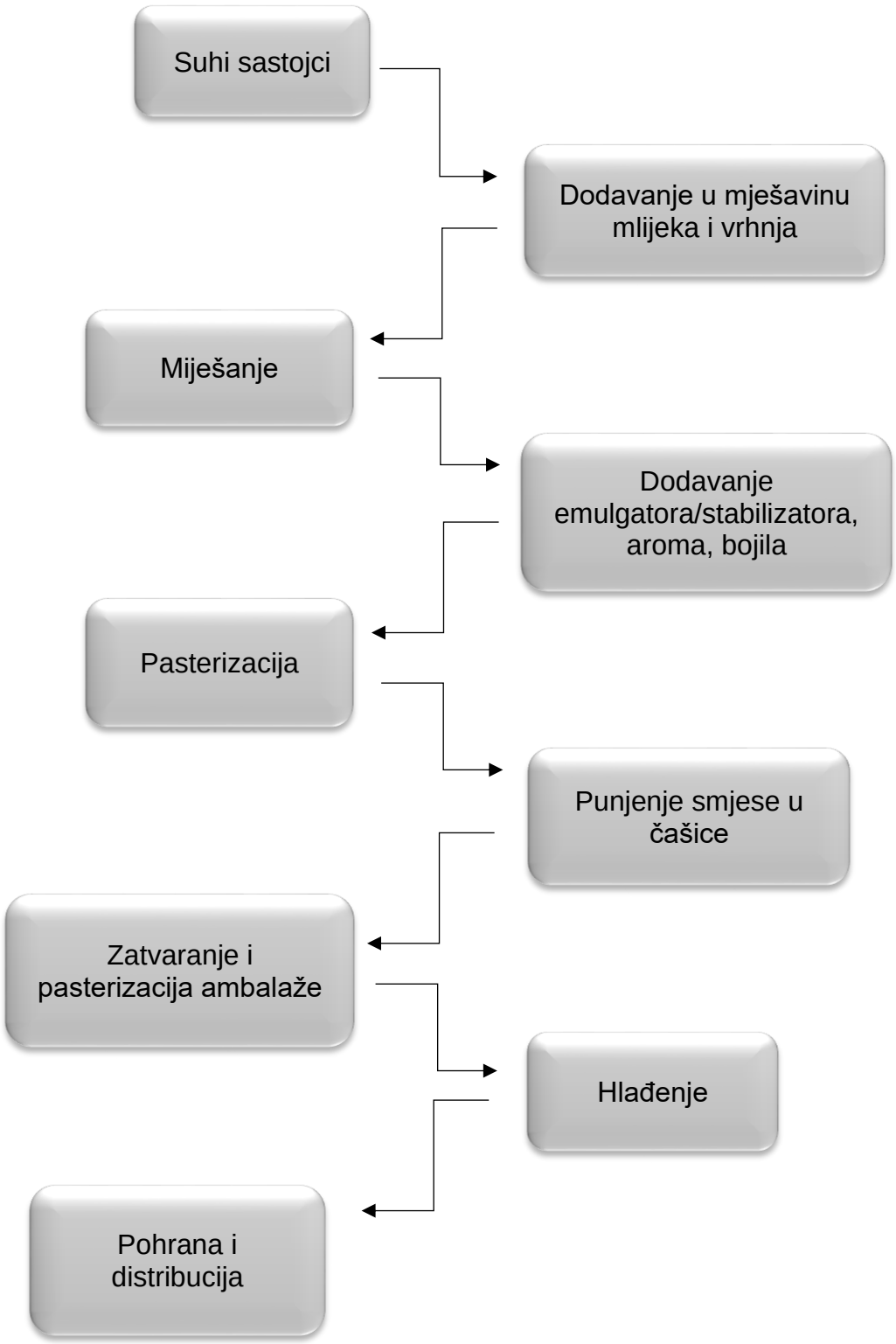
Općenito, tehnologija proizvodnje pudinga podrazumijeva miješanje suhih (praškastih) sastojaka koji se potom dodaju smjesi mlijeka i vrhnja. Kod industrijske proizvodnje pudinga koristi se punomasno ili obrano mlijeko koje se miješa sa vrhnjem, dodaje se šećer ili zamjena za šećer (prirodna ili umjetna sladila) te aditivi poput škroba i želatine te ostali propisani Codex Standardom 192-1995. Također, mogu se dodati i jaja, a u proizvodnji nekih vrsta pudinga (voćni, čokoladni, s okusom vanilije, karamele, lješnjaka) dodaju se arome i bojila za postizanje okusa i izgleda na kakav su potrošači naviknuti (Chandan i Kilara, 2016.).

Proizvodnja pudinga započinje miješanjem suhih sastojaka koji se potom dodaju smjesi mlijeka i vrhnja. Za postupak miješanja koristi se cirkularna pumpa da bi se postiglo snažno miješanje i tako se izvršilo bolje raspršivanje suhih sastojaka unutar tekućine. Boje i arome dodaju se tijekom zagrijavanja mlijeka i/ili vrhnja pri 65°C. Zatim slijedi pasterizacija na 68°C u trajanju od 30 minuta nakon čega se pasterizirana smjesa prebacuje u uređaj s izmjenjivačem topline u kojem se temperatura povećava na 90,6 do 93,3°C uz pomoć pare pod tlakom. Nakon završene pasterizacije puding se hladi na temperaturu od 74°C, puni u čašice koje se zatim okreću i zadržavaju na temperaturi 10 do 15 minuta kako bi se izvršila pasterizacija čašica i poklopaca. Nakon toga puding se hladi na 10°C unutar jednog sata. Nakon što temperatura proizvoda dostigne 10°C, puding se pohranjuje u hladnjak na temperaturu nižu od 7°C do distribucije. Rok valjanosti ovako proizvedenog pudinga je od 45 do 60 dana pri temperaturi od 5 do 7°C (Chandan i Kilara, 2016.).



Slika 3.2. Puding s dodatkom kakaa

(Izvor: https://www.verybestbaking.com/recipes/29516/creamy-chocolate-pudding)



Dijagram 3.3. Shematski prikaz tehnologije proizvodnje pudinga (prema Chandan i Kilara, 2016.)

4. Probiotički mliječni deserti s dodatkom kakaa

Proizvodnja probiotičkih mliječnih deserata zbog svojih funkcionalnih svojstava predstavlja sve važniji segment mljekarske industrije. Obogaćivanje različitih mliječnih deserata probiotičkim bakterijama i sve veća prihvatljivost od strane potrošača pokazuju potencijal prihvaćanja takve vrste proizvoda u svakodnevnoj prehrani. U istraživanju koje su proveli Ares i sur. (2008.) potrošači su ocijenili da mliječni deserti najviše doprinose očuvanju zdravlja te ih smatraju vjerodostojnim nosiocima funkcionalnih tvrdnji. To potvrđuje kako je dodavanje probiotičkih bakterija, ali i prebiotika u mliječne deserte privlačno kupcima posebno onima koji konzumiraju nutritivno vrijedniju hranu, upravo zbog veće funkcionalne vrijednosti proizvoda.

Dugi niz godina smatralo se da mliječni deserti nisu namirnice koje se smatralo nutritivno vrijednima, međutim taj trend se promijenio. Posljednjih su godina mliječni deserti postali jedan od boljih primjera zdravije prehrane (Saunders, 2011., Verruck i sur., 2019.) što se pripisuje visokovrijednim proteinima, mastima, ugljikohidratima, određenim vitaminima i mineralnim tvarima u njihovom sastavu, a njihova konzumacija uključuje sve dobne skupine potrošača (Ferrar i sur., 2011., Verruck i sur., 2019.). Upravo je njihova visoka hranjiva vrijednost jedan od glavnih faktora koji su važni pri odabiru kod potrošača (tablica 4.1. i tablica 4.2.). Također, mliječni deserti laganije teksture poput pudinga i moussea osim kod mlađe populacije, prihvatljiva su hrana i u osoba starije životne dobi koje imaju problema sa gutanjem i žvakanjem (Quinchia i sur., 2011, Verruck i sur., 2019.). Dodatno, mliječni deserti obogaćeni probiotičkim bakterijama (tablica 4.3.) predstavljaju dobro rješenje u prehrani osoba s gastrointestinalnim poremećajima.

Tablica 4.1. Prosječna hranjiva vrijednost moussa s dodatkom kakaa

Mousse s dodatkom kakaa (202 g)	
Energetska vrijednost	455 kcal
Masti	32 g
Ugljikohidrati (šećeri)	32 g
Proteini	8,4 g
Kolesterol	283 mg
Željezo	1 mg
Kalcij	195 mg
Kalij	289 mg
Kofein	14,1 mg

Izvor: Nutritionix.com

Tablica 4.2. Prosječna hranjiva vrijednost pudinga s dodatkom kakaa

Puding s dodatkom kakaa (202 g)	
Energetska vrijednost	286,1 kcal
Masti	9,4 g
Ugljikohidrati (šećeri)	35,5 g
Proteini	4,3 g
Kolesterol	2,1 mg
Željezo	3 mg
Kalcij	102 mg
Kalij	372 mg
Kofein	4 mg

Izvor: Nutritionix.com

Tablica 4.3. Probiotici u različitim vrstama mliječnih deserata

Vrsta mliječnog deserta	Probiotički soj bakterije
Puding	*Lactobacillus casei Shirota*
Puding s dodatkom kakaa	*Lactobacillus acidophilus* LAFTI L10 *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* LAFTI B94 *Lactobacillus casei* LAFTI L26 *Lactobacillus rhamnosus GG*
Mousse s dodatkom kakaa	*Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* LBC 82 *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* LBC 81 Lactobacillus paracasei subsp. paracasei NCDC 022
Rižin puding	*Lactobacillus acidophilus* LA-5 *Bifidobacterium bifidum* BB-12
Puding s dodatkom žitarica	*Lactobacillus acidophilus* La5 i 1748 *Bifidobacterium animalis* Bb12 *Lactobacillus rhamnosus GG*
Fermentirani desert	*Lactobacillus acidophilus* MJLA1 *Bifidobacterium* spp. BDBB2 Mješavina kultura *Lactobacillus acidophilus* (SAB 440-A) *i Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*

Izvor: prilagođeno prema Verruck i sur. (2019.)

Za postizanje zdravstvene dobrobiti probiotika preporuka je unijeti dovoljan broj živih bakterija. Tripathi i Giri (2014.), navode da je potrebno dnevno unijeti 10^8 – 10^{10} broja živih bakterija. Irkin i Guldas (2011.) u svojem istraživanju opisuju održivost i senzorne karakteristike probiotičkog pudinga s dodatkom kakaa. Odabir probiotika temeljio se na njihovim antimutagenim i antikancerogenim svojstvima, poboljšanju metabolizma laktoze, snižavanju udjela kolesterola te stimuliranju imunološkog sustava. Za potrebe istraživanja proizvedeno je tri vrste probiotičkog pudinga s dodatkom kakaa i dodatkom: I) *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* LAFTI B94 DSL, II) *Lactobacillus acidophilus* LAFTI L10 DSL, i III) *Lactobacillus casei* LAFTI L26 DSL. Broj živih bakterija u svim uzorcima probiotičkog pudinga s dodatkom kakaa iznosio je 10^8 – 10^9 tijekom 25 dana pohrane na temperaturi od 4°C.

Promjene senzornih svojstava utvrđene su samo u pudingu s dodatkom kakaa u koji je dodan *Lactobacillus casei* LAFTI L26 DSL soj. Senzorne karakteristike i pH vrijednosti proizvoda ostale su nepromijenjene tijekom 20 dana pohrane. Kod pudinga s dodatkom *Lactobacillus casei* LAFTI L26 DSL soja uočena je prisutnost sinereze kod duže pohrane, dok je uzorak s dodatkom *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* LAFTI B94 DSL imao izraženije senzorne karakteristike u odnosu na kontrolni uzorak (Irkin i Gludas, 2011.). Rosa i sur. (2016.) su proveli istraživanje o djelovanju probiotičke bakterije *Lactobacillus acidophilus* u mliječnim desertima s dodatkom kakaa na prisutnost patogenih bakterija. Cilj istraživanja bio je proizvesti probiotički mliječni desert s dodatkom kakaa i utvrditi održivost probiotičkog soja *Lactobacillus acidophilus* LA-05 na prisutnost sojeva patogenih bakterija. Za potrebe istraživanja proizvedeno je 9 uzoraka s dodatkom: I) *Lactobacillus acidophilus* LA-05, II) *Escherichia coli* O 157:H7 (CDC EDL-933), III) *Salmonella* spp. (ATCC 00150), IV) *Staphylococcus aureus* (ATCC 00358), V) *Bacillus cereus* (ATCC 14579), VI) *Lactobacillus acidophilus* LA-05 i *Escherichia coli* O 157:H7 (CDC EDL-933), VII) *Lactobacillus acidophilus* LA-05 i *Salmonella* spp. (ATCC 00150), VIII) *Lactobacillus acidophilus* LA-05 i *Staphylococcus aureus* (ATCC 00358) te IX) *Lactobacillus acidophilus* LA-05 i *Bacillus cereus* (ATCC 14579). Proizvedeni uzorci pohranjeni su na temperaturi od 8°C te analizirani tijekom 24, 48 i 72 sata odnosno nakon 7 i 28 dana. Nakon 28 dana pohrane došlo je do kvarenja uzoraka pa nije bilo moguće provesti potrebnu analizu. Rezultatima istraživanja utvrđeno je da nije došlo do ukupnog povećanja broja patogena preko razine sigurnosti što autori tumače kao moguće djelovanje bakteriocina ili mikrobiološko nadmetanje. Senzornom analizom uzoraka pohranjenih 28 dana utvrđena je promjena boje te okusa i mirisa koji su bili neprihvatljivi.

Fizikalno-kemijska svojstva probiotičkih mliječnih deserata ovise o dodanom soju probiotika te je li soj dodan kao monokultura ili se koristi u kombinaciji s drugim bakterijama (mješovita kultura). Sastojci dodani u procesu proizvodnje mogu utjecati na metabolizam probiotičkih bakterija, najviše na pH vrijednost proizvoda što je posljedica proizvodnje mliječne i limunske kiseline (Buriti i Saad, 2014.). Tako Helland i sur. (2004.) u svom istraživanju navode da je *Lactobacillus rhamnosus GG* odgovoran za najveću proizvodnju mliječne kiseline (10 g/kg) i limunske kiseline (1,819 g/kg) dok je najmanja količina mliječne kiseline (5 g/kg) utvrđena u pudingu s dodatkom *Lactobacillus acidophilus* 1748 soja.

Pri tom, *Lactobacillus rhamnosus GG* ima i najveći utjecaj na smanjenje koncentracije acetaldehida i acetoina, te na povećanje koncentracije diacetila. Kod pudinga s dodatkom *Lactobacillus rhamnosus GG* uočena je niska koncentracija acetoina (23-30 mg/kg), niska koncentracija acetaldehida (7-4,5 mg/kg) te visoka koncetracija diacetila (18 mg/kg) (Helland i sur., 2004.).

Slično istraživanje proveli su Aragon-Alegro i sur. (2007.) na mousse-u s dodatkom kakaa te probiotika (*Lactobacillus paracasei LBC 82)* i/ili simbiotika (inulin). Sastojci korišteni u proizvodnji mousse-va prikazani su u Tablici 4.4. Uzorci su analizirani tijekom 28 dana na temperaturi od 4°C. Senzorna analiza te provjera pH vrijednosti provedene su 1. dana, 7. dana, 14. dana, 21. dana te 28. dana pohrane.

Tablica 4.4. Sastojci korišteni u pripremi uzoraka

Količina sastojka (g/100 g)	**Kontrolni uzorak**	**Probiotički uzorak**	**Simbiotički uzorak**
Vrhnje (25% m.mast)	27,9	27,9	26,79
Kakao prah	2,5	2,5	2,4
Čokolada u prahu	1	1	0,96
Želatina	1,25	1,25	1,20
Emulgator	1,25	1,25	1,20
Saharoza	11	11	9,51
Obrano mlijeko u prahu	3,9	3,9	3,74
UHT obrano mlijeko	51,2	51,19	49,18
Inulin	/	/	5,01
***Lactobacillus paracasei* LBC 82**	/	0,01	0,01

Izvor: Aragon-Alegro i sur. (2007.)

Istraživanjem je utvrđeno kako se pH najviše promijenio korištenjem probiotika *Lactobacillus paracasei LBC 82* i prebiotika inulina. Prvog dana analize pH vrijednost mousse-a iznosi 6,21, a 28. dana 5,37 dok pH vrijednost kontrolnog uzorka 1. dana analize iznosi 6,22 odnosno 6,01 28. dana. Mousse s dodatkom kakaa i probiotika *Lactobacillus paracasei LBC 82* promijenio je pH vrijednost sa 6,26 (1. dan analiza) na 5,67 (28. dan analiza). Mousse s dodatkom kakaa izvrsna je podloga za probiotički soj *Lactobacillus paracasei LBC 82* pri čemu dodatak probiotika inulina ne ometa održivost probiotika niti njihova kombinacija ima utjecaj na senzorna svojstva proizvoda (Aragon-Alegro i sur., 2007.). Senzorna analiza provedena je 7. dan testom preferencije, a uzorke je testiralo 42 potrošača. Ocjenjivanje se vršilo pomoću brojeva od 1, što je označavalo najpoželjniji uzorak, do 3, što je označavalo najmanje poželjan uzorak. Izračunati prosjek, odnosno srednja vrijednost za kontrolni uzorak iznosi 2,09, za probiotički uzorak 1,88 te za simbiotički uzorak 2,05. Rezultati senzorne analize ne pokazuju razlike u okusu probiotičkog i simbiotičkog uzorka među potrošačima (Aragon-Alegro i sur., 2007.).

Kremasti čokoladni deserti predstavljaju novu alternativu za proizvode koji sadrže probiotike i prebiotike zbog veće prihvatljivosti među potrošačima. Zbog sve veće potrošnje ovih deserata Valencia i sur. (2016.) proveli su istraživanje o mikrobiološkim i senzornim karakteristikama kremastog deserta s čokoladom (tablica 4.5.) s dodatkom probiotičkog soja *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei LBC 81* i prebiotika fruktooligosaharida. Za potrebe provođenja analiza, proizvedena su tri uzorka: I) bez dodatka probiotika i prebiotika (kontrolni uzorak), II) s dodatkom *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei LBC 81* (probiotički uzorak), III) s dodatkom *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei LBC 81* i fruktooligosaharida (simbiotički uzorak). Analize sva tri uzorka uključivale su određivanje pH vrijednosti, kiselosti, indeks sinereze te održivost broja bakterija u proizvodu tijekom 28 dana. Senzorno ocjenjivanje imalo je za cilj procijeniti prihvatljivost proizvoda od strane potrošača i namjera kupnje takve vrste proizvoda. Analize proizvoda provedene su 1., 7., 14., 21. i 28. dan. Vrijeme pohrane ima utjecaj na smanjenje pH vrijednosti odnosno povećanje kiselosti u probiotičkom i simbiotičkom uzorku. Tako pH vrijednost kontrolnog uzorka 1. dan odnosno 28. dan iznosi 6,6 i 6,8, probiotičkog 6,1 i 5,0 te simbiotičkog uzorka 6,1 i 5,1 (Valencia i sur., 2016.).

Analizom nije uočena sinereza tijekom 28 dana pohrane za sve tri vrste uzoraka što je posljedica dodavanja ksantan gume. Na skali od 1 do 9, prosječna ocjena za sva tri uzroka je 7, što predstavlja vrlo dobru prihvatljivost od strane potrošača. Također, ocjenjivači su na skali od 1 do 5 dodijelili prosječnu ocjenu 4 što znači da bi rado kupili jedan od proizvoda. Broj održivih stanica *Lactobacillus paracasei* subsp*. paracasei LBC 81* ostao konstantan tijekom razdoblja pohrane. Odnosno broj održivih stanica u probiotičkom uzorku 1. dana bio je 8,3 log cfu/g odnosno 8,9 log cfu/g 28. dana, u simbiotičkom uzorku 8,5 log cfu/g i 8,7 log cfu/g (Valencia i sur., 2016.).

Tablica 4.5. Sastojci za proizvodnju kremastog deserta s čokoladom

Sastojci (g/100 g)	**Kontrolni uzorak**	**Probiotički uzorak**	**Simbiotički uzorak**
UHT mlijeko (3,5% m.m.)	80,8	80,3	77,1
Šećer	6	6	5,8
Čokolada prah	5	5	4,8
Čokolada	4	4	3,8
Kukuruzni škrob	4	4	3,8
Ksantan guma	0,2	0,2	0,2
Fruktooligosaharid	/	/	4
***Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* LBC 81**	/	0,5	0,5

Izvor: Valencia i sur. (2016.)

5. Zaključak

Mliječni deserti spadaju u skupinu mliječnih proizvoda koji su izuzetno popularni kod potrošača svih dobnih skupina zbog svog prepoznatljivog slatkog okusa i nježne konzistencije. Mliječni deserti dobar su medij za dodatke poput kakaa i probiotičkih bakterija.

Modifikacija dodavanjem probiotičkih bakterija u mliječne deserte posebno one s dodatkom kakaa, te njihov pozitivan učinak na ljudsko zdravlje rezultira sve većom potrošnjom takve vrste proizvoda.

U skladu s tim, postoji veliki potencijal za razvoj i proizvodnju novih vrsta mliječnih deserata s kakaom i dodatkom probiotičkih bakterija.

6. Literatura

1. Aragon-Alegro, L. C., Alegro, J. H. C., Cardarelli, H. R., Chiu, M. C., Saad, S. M. I. (2007). Potentially probiotic and synbiotic chocolate mousse. Food Sci. Technol. 40: 669–675
2. Ares, G., Gimenez, A., Gambaro, A. (2008). Influence of nutritional knowledge on perceived healthiness and willingness to try functional foods. Appetite. 51: 663–668
3. Bermudez-Brito, M., Plaza-Diaz, J., Muñoz-Quezada, S., Gómez-Llorente, C., Gil., A. (2012.). Probiotic Mechanisms of Action. Annals of Nutrition and Metabolism. 61:160–174
4. Buriti, F. C. A., Saad, S. M. I., (2014). Chilled Milk-based Desserts as Emerging Probiotic and Prebiotic Products, Food Science and Nutrition, 54:2 (139-150)
5. Caligiani, A., Marseglia, A., Palla, G. (2016). Cocoa: Production, Chemistry, and Use. Encyclopedia of Food and Health. Elsevier, Oxford
6. Chandan, R. C., Kilara, A. (2016). Dairy Processing and Quality Assurance, Second Edition, John Wiley & Sons, United States of America
7. Early, R. (1998). The technology of dairy products: second edition, Thomson science, London
8. Ferrar, L., Van der Hee, R. M., Berry, M., Watson, C., Miret, S., Wilkinson, J., Bradburn, M., Eastell, R. (2011). Effects of calcium-fortified ice cream on markers of bone health, Osteoporosis International, volume 22 :2721–2731
9. Goldoni, L., (2004). Tehnologija konditorskih proizvoda. Kugler, Zagreb
10. Helland, M. H., Wicklund, T., Narvhus, J. A. (2004). Growth and metabolism of selected strains of probiotic bacteria in milk- and water-based cereal puddings. Int. Dairy J., 14 :957–965
11. Heller, K. J. (2001). Probiotic bacteria in fermented foods: product characteristics and starter organisms. The American Journal of Clinical Nutrition, 73(2), 374-379
12. http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codex-texts/list-standards/en/, pristupljeno: 07.04.2020.
13. http://www.putokaz.me/herbarijum/2891-najsladje-drvo-na-svijetu-kakaovac, pristupljeno:27.05.2020.

14. https://www.allrecipes.com/recipe/19013/chocolate-mousse-i/, pristupljeno: 01.09.2020.
15. https://www.kandit.hr/hr/coko-blog/o-cokoladi/prerada-kakaovca/, pristupljeno:27.05.2020.
16. https://www.nutritionix.com/, pristupljeno: 24.08. 2020.
17. https://www.verybestbaking.com/recipes/29516/creamy-chocolate-pudding, pristupljeno: 01.09.2020.
18. Irkin, R., Guldas, M. (2011). Evaluation of cacao-pudding as a probiotic food carrier and sensory acceptability properties, Acta agriculturae Slovenica, 97:3
19. Katz, D. L., Doughty, K., Ali, A. (2011). Cocoa and Chocolate in Human Health and Disease. Antioxidants & redox signaling. 15(10): 2779-2811
20. Khalighi, A., Behdani, R., Kouhestani, S., (2016). Probiotics: A Comprehensive Review of Their Classification, Mode of Action and Role in Human Nutrition
21. Kopeloff, N., Blackman, N., McGinn, B., (1932). The incidence of Lactobacillus acidophilus in adults. J Infect Dis, 50:426–9
22. LeBlanc, J. G., Chain, F., Martin, R., Bermúdez-Humarán, L. G., Courau, S., Langella, P. (2017). Beneficial efects on host energy metabolism of short-chain fatty acids and vitamins produced by commensal and probiotic bacteria, Microbial Cell Factories, 16:79
23. Lilly, D. M., Stillwell, R. H. (1965). Probiotics: Growth-Promoting Factors Produced by Microorganisms. Science. 147:747-748
24. McFarland, V. L., (2015). From Yaks to Yogurt: The History, Development, and Current Use of Probiotics, Department of Medicinal Chemistry, University of Washington, Seattle
25. Mellor, D. D. (2016). Cocoa: Composition and Health Effects. Encyclopedia of Food and Health. Elsevier, Oxford,179-184
26. Pohlan, H. A. J., Perez, V. D. (2010). Growth and production of cacao, in Soils, Plant Growth and Crop Production, Encyclopedia of Life Support Systems (EOLSS), Developed under the Auspices of the UNESCO, Eolss Publishers, Oxford, UK
27. Pravilnik o mlijeku i mliječnim proizvodima (2007). Narodne novine, broj 133/2007

28. Quinchia, L. A., Valencia, C., Partal, P., Franco, J. M., Brito de la Fuente, E., Gallegos, C., (2011). Linear and non-linear viscoelasticity of puddings for nutritional management of dysphagia, Food Hydrocolloids, volume 25:586-593
29. Rettger, L.F., Cheplin, H.A., (1922), Bacillus acidophilus and its therapeutic application. Arch Intern Med, 29:357–67
30. Rosa, L. J. B., Ramires Esper, L. M., Guimarães Cabral, J. P. L., Franco, R. M., Cortez, M. A. S. (2016). Viability of probiotic micro-organism *Lactobacillus acidophilus* in dairy chocolate dessert and its action against foodborne pathogens. Food technology. 46:368-374
31. Saarela, M., Mogensen, G., Fonden, R., Matto, J., Mattila-Sandholm, T. (2000). Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties. Journal of Biotechnology, 84(3):197-215
32. Samaržija, D. (2015). Fermentirana mlijeka, Agronomski fakultet, Zagreb, Hrvatska
33. Sanders, M. E., Huis in't Veld, J. (1999). Bringing a probiotic-containing functional food to the market: microbiological, product, regulatory and labeling issued. Kluwer Academic Publichers, The Netherlands, str. 293-316
34. Saunders, A. B., (2011). Ice Cream and Desserts, Encyclopedia of Dairy Sciences (Second Edition). 905-912
35. Sleator, R. D., Hill, C. (2008). New frontiers in probiotic research. Lett. Appl. Microbiol. 46: 143-147
36. Šušković, J., Brkić, B., Matošić, S. (1997). Mehanizam probiotičkog djelovanja bakterija mliječne kiseline. Mljekarstvo, 47 :107-112
37. Šušković, J., Kos, B., Frece, J., Beganović, J., Leboš Pavunc, A., (2009). Probiotički koncept – probiotici kao dodaci hrani i probiotici kao bioterapeutici. Hrvatski časopis za prehrambenu tehnologiju, biotehnologiju i nutricionizam 4 (3-4):77-84
38. Šušković, J., Kos, B., Matošić, S. (1998). Probiotici: znanstvena činjenica ili pomodni trend?. Mljekarstvo 48 (3):165-176
39. Tripathi, M. K., Giri, S. K. (2014). Probiotic functional foods: Survival of probiotics during processing and storage, Journal of Functional Foods. 9:225-241

40. Valencia, M. S., Salgado, S. M., Cardoso Andrade, S. A., Montarroyos Padilha, V., Souza Livera, A. V., Montenegro Stamford, T. L. (2016). Development of creamy milk chocolate dessert added with fructooligosaccharide and Lactobacillus paracasei subsp. paracasei LBC 81. LWT - Food Science and Technology. 69: 104-109
41. Verruck, S., Balthazar, C. F., Rocha, R. S. Silva, R. Esmerino, E. A., Pimentel, T. C., Freitas, M. Q., Silva, M C., Gomes da Cruz, A., Prudencioa, E. S. (2019). Dairy foods and positive impact on the consumer's health., Advances in Food and Nutrition Research. Vol. 89
42. WHO (World health organization) (2002)., pristupljeno 26.05.2020. na: https://www.who.int/classifications/en/