

ANNA DEMCZUK, WŁODZIMIERZ BEDNARSKI,
JADWIGA KOWALEWSKA-PIONTAS, JUSTYNA GÓRSKA

WZBOGACANIE W OLIGOSACHARYDY ODCIEKÓW PO ULTRAFILTRACJI MLEKA I ICH ZASTOSOWANIE W PRODUKCJI JOGURTU

Streszczenie

Opracowano warunki hydrolizy laktozy oraz wydajnej syntezy GOS w permeacie po ultrafiltracji mleka z dodatkiem preparatu b-galaktozydazy. Otrzymany koncentrat GOS zastosowano do produkcji jogurtu.

Oceniono zależność stopnia hydrolizy laktozy oraz wydajności syntezy galaktooligosacharydów od temperatury i czasu reakcji, obecności lub braku białka w roztworach substratu oraz od wyjściowego stężenia laktozy w roztworach substratu. Korzystną wydajność syntezy galaktooligosacharydów otrzymano w procesie prowadzonym przez 8 h w odcieku nieodbiańczonym, zawierającym 30% laktozy, w temp. 5°C. Otrzymany koncentrat galaktooligosacharydów zastosowano do uzupełnienia zawartości suchej masy w mleku przeznaczonym do produkcji jogurtów.

Stwierdzono, że dodatek koncentratu galaktooligosacharydów wpłynął stymulująco na rozwój bakterii z rodzajów *Lactobacillus bulgaricus* i *Streptococcus thermophilus* w jogurcie.

Słowa kluczowe: b-galaktozydaza, prebiotyki, probiotyki, galaktooligosacharydy.

Wprowadzenie

Zagospodarowanie serwatki, a także permeatu po ultrafiltracji (UF) serwatki lub mleka jest ciągle aktualnym problemem technologicznym, ekonomicznym i ekologicznym.

Do nowych kierunków zagospodarowywania serwatki lub odcieków (permeatów) po UF serwatki lub mleka zalicza się ich enzymatyczne wzbogacanie w oligosacharydy (OS), głównie galaktooligosacharydy (GOS) i zastosowanie w produkcji żywności prozdrowotnej [8, 9, 16].

W przewodzie pokarmowym GOS są wykorzystywane przez bifidobakterie i bakterie z rodzaju *Lactobacillus*, stymulując ich rozwój [13]. Korzystny wpływ GOS na ww. mikroflorę jelita grubego, właściwości antyadhezyjne i inhibicyjne wobec wielu patogenów, a także właściwości żywieniowe pozwalają zaliczyć je do składników żywności funkcjonalnej [7, 10].

Aplikacyjne zainteresowanie GOS zmierza w kierunku ich zastosowania w produkcji odżywek dla niemowląt i przybliżenia ich składu do mleka ludzkiego, ale również do opracowania technologii produkcji dodatków modyfikujących właściwości jogurtów, napojów, deserów, galaretek, lodów, wyrobów piekarskich (chleba) i cukierniczych (ciastek i cukierków), dżemów oraz marmolad [5].

W procesie wzbogacania permeatów po UF serwatki lub mleka w GOS stosuje się najczęściej enzymatyczną transgalaktozylację laktozy [13]. O wydajności reakcji syntezy GOS oraz ich składzie decydują: właściwości stosowanych preparatów β -galaktozydazy oraz warunki procesu, np. stężenie laktozy [5, 11].

Celem niniejszych badań było opracowanie warunków hydrolizy laktozy oraz wydajnej syntezy GOS w permeacie po UF mleka z dodatkiem preparatu β -galaktozydazy, a następnie otrzymanie koncentratu GOS i zastosowanie go w produkcji jogurtu.

Materiał i metody badań

W badaniach stosowano: mleko o zawartości 2% tłuszczu (SM „Mlekoop”, Grajewo), proszek mleka odtłuszczonego (SM Gostyń), suszony permeat po UF mleka (SM w Wolsztynie), liofilizowane kultury bakterii fermentacji mlekowej EZAL seria MY 96 (Rhodia Food Biolacta w Olsztynie), preparat β -galaktozydazy Maxilact LX5000 (Gist-Brocades), peroksydazę (Fluka), dihydrochlorek o-tolidyny (Fluka) i oksydazę glukozową (Sigma), podłoża MRS i M17 (Merck).

Warunki reakcji enzymatycznej hydrolizy i transgalaktozylacji laktozy

Hydrolizę laktozy przez preparat Maxilact LX 5000 w dawce 40 j.a./1 g laktozy prowadzono w roztworach nieodbiałczonych i odbiałczonych permeatu po UF mleka o pH 6,4, zawierających 10, 20 i 30% laktozy. Badano wpływ odbiałczenia permeatu oraz czasu procesu na stopień hydrolizy laktozy i wydajność syntezy OS. Proces prowadzono w temp. 5°C przez 24 h, pobierając próbki do analizy po 4, 8, 12 i 24 h oraz w temp. 37°C przez 6 h, pobierając próbki do analizy po 3, 4, 5 i 6 h.

Stopień hydrolizy laktozy wyrażano jako procent zhydrolizowanej laktozy w stosunku do jej zawartości ogółem. W tym celu oznaczano zawartość laktozy i glukozy w hydrolizatach metodą AOAC [1, 2]. W próbkach wszystkich otrzymanych hydrolizatów przeprowadzono chromatograficzny rozdział sacharydów na płytkach TLC [17].

Hydrolizat otrzymany w ustalonych warunkach zagęszczano w wyparce próżniowej do zawartości 74,2% s.m. Otrzymany koncentrat GOS zastosowano w produkcji jogurtu.

Sposób produkcji jogurtu

Jogurt produkowano zgodnie z instrukcją technologiczną [15].

Zawartość suchej masy w mleku uzupełniano do 18,5%, dodając obliczoną dawkę mleka w proszku (próba kontrolna) lub mleka w proszku i koncentratu GOS w stosunku s.m. 1:1, lub tylko ww. koncentratu zamiast mleka w proszku. Mleko pasteryzowano w temp. 90°C przez 10 min. W procesie fermentacji stosowano liofilizowane kultury bakterii fermentacji mlekowej, wcześniej uaktywniane w mleku w temp. 42°C do momentu otrzymania skrzepu.

W próbkach mleka przygotowanych w sposób opisany powyżej oraz w próbkach jogurtu oznaczano: kwasowość potencjalną oraz redukcyjność cukrów metodą Bertranda, a także zawartość suchej masy [3] i zawartość białka metodą Lowry [12]. Przeprowadzono ocenę sensoryczną próbek jogurtu oraz rozdział chromatograficzny sacharydów w próbkach otrzymanych jogurtów i w próbce koncentratu GOS, zastosowanego do uzupełnienia zawartości s.m. mleka. Rozdział prowadzono na płytkach TLC.

W jogurcie podczas dojrzewania oznaczano metodą płytkową liczbę drobnoustrojów *Lactobacillus bulgaricus* i *Streptococcus thermophilus*. Odważano 1 g określonego jogurtu i sporządzano kolejne jego rozcieńczenia, które nanoszono na płytki. Do określenia liczby pałeczek stosowano podłoże stałe MRS o pH 5,8, płytki inkubowano w temp. 37°C przez 72 h w warunkach beztlenowych. Do określenia liczby paciorkowców stosowano podłoże stałe M17 o pH 7,2, płytki inkubowano w temp. 37°C przez 72 h w warunkach tlenowych. Liczbę drobnoustrojów podano w jtk/1 g jogurtu [4], w modyfikacji własnej.

Wyniki i dyskusja

Badano zależność stopnia hydrolizy laktozy od temperatury i czasu reakcji, obecności lub braku białka w roztworach substratu (odcieku po UF mleka) oraz od wyjściowego stężenia laktozy w roztworach substratu.

Zarówno w reakcji prowadzonej w temp. 37°C, jak i w 5°C stopień hydrolizy laktozy wzrastał wraz ze wzrostem wyjściowego stężenia tego cukru w odcieku i zawierał się w granicach od 60,8 do 99,3%. Stopień hydrolizy laktozy zmieniał się wraz z czasem trwania reakcji. Wydłużaniu czasu reakcji towarzyszył wzrost stopnia hydrolizy laktozy (tab. 1).

Tabela 1

Porównanie stopnia hydrolizy laktozy w odbiałczonych (-) i nieodbiałczonych (+) roztworach permeatu po UF mleka, o różnym stężeniu laktozy hydrolizowanej przez preparat β -galaktozydazy Maxilact. Dodatek β -galaktozydazy 40 j.a./1 g laktozy.

Comparison of the hydrolysis degree of lactose in permeate solutions with or without protein after the completed ultrafiltration of milk showing different concentration values of the lactose; the lactose was hydrolyzed using a preparation of β -galactosidase Maxilact. Additionally, β -galactosidase 40 AU/1 g of lactose was added.

Warunki procesu hydrolizy laktozy Conditions of the lactose hydrolysis process				Stopień hydrolizy laktozy Hydrolysis degree of the lactose [%]
Temperatura Temperature [°C]	Czas hydrolizy laktozy Time of lactose hydrolysis [h]	Obecność białka w roztworze substratu Protein present in the substrate solution	Zawartość laktozy Lactose content [%]	
37	3	(+) (+)	10	69,00
	4			72,00
	5			72,20
	6			75,20
37	3	(+) (+)	20	60,80
	4			70,60
	5			72,50
	6			74,50
37	3	(+) (+)	30	79,79
	4			80,57
	5			81,09
	6			82,67
37	3	(-) (-)	10	76,86
	4			81,56
	5			84,70
	6			87,84
37	3	(-) (-)	20	82,35
	4			86,47
	5			90,58
	6			93,30
37	3	(-) (-)	30	87,25
	4			90,84
	5			90,84
	6			96,52
5	4	(+) (+)	10	81,80
	8			87,44
	12			91,16
	24			93,02

c.d. tab. 1

5	4	(+)	20	82,33
	8			83,72
	12			94,60
	24			96,76
5	4	(+)	30	74,47
	8			80,67
	12			91,53
	24			99,29
5	4	(-)	10	69,00
	8			69,00
	12			70,58
	24			75,30
5	4	(-)	20	62,56
	8			70,93
	12			73,72
	24			75,85
5	4	(-)	30	70,74
	8			73,23
	12			78,82
	24			80,02

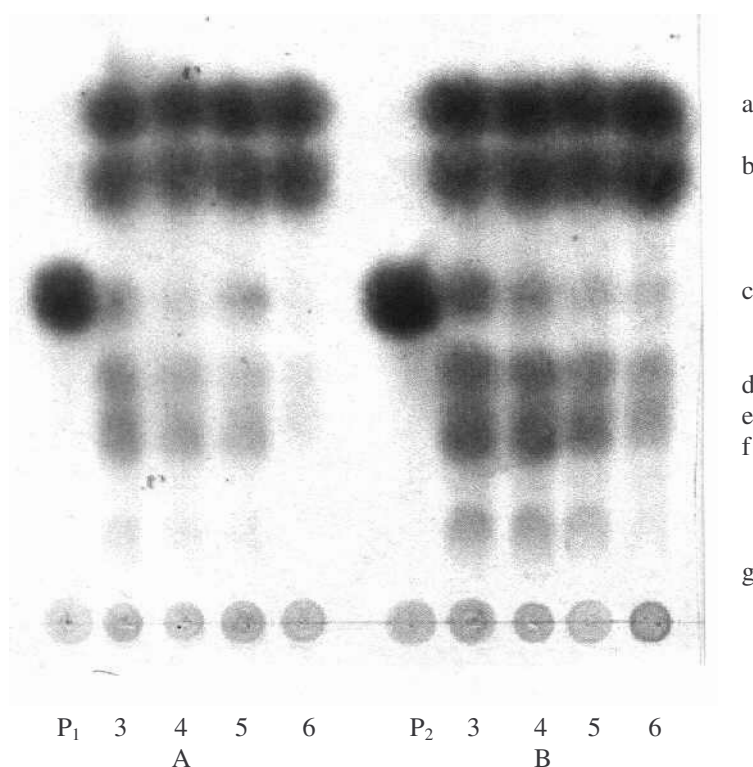
W procesie prowadzonym w temp. 37°C obecność białek hamowała reakcję hydrolizy laktozy. W obecności białek najwyższy stopień hydrolizy laktozy wyniósł 82% w odcieku zawierającym 30% tego cukru, po 6 h reakcji, podczas gdy w odcieku odbiałczonym stopień hydrolizy laktozy osiągnął wartość 96% przy tym samym stężeniu wyjściowym laktozy i po tym samym czasie reakcji (tab. 1).

Stwierdzono, że o wpływie białek na aktywność β -galaktozydazy decydowała temperatura procesu. Prowadząc proces w temp. 5°C otrzymano inne niż w 37°C stopnie hydrolizy laktozy w porównywanych próbkach odcieku (tab. 1).

Reakcji hydrolizy laktozy katalizowanej przez β -galaktozydazę towarzyszyła reakcja transgalaktozylacji prowadząca do powstania GOS.

Wykazano, że zbyt szybka i głęboka hydroliza laktozy, przy jej stosunkowo niskim stężeniu wyjściowym, może nie sprzyjać syntezie GOS. Potwierdza to chromatogram z rozdziału sacharydów w próbkach hydrolizatów laktozy oznaczony literą „A”. (rys. 1). Zaobserwowano, że w procesie prowadzonym w odcieku o zawartości laktozy 20% uzyskano wysoki stopień hydrolizy laktozy wynoszący 93,3% (słabe natężenie barwy plamek w poz. c), ale otrzymano niewielkie stężenie GOS (słabe natężenie barwy plamek d-g). (rys. 1). Natomiast w hydrolizatach „B” z roztworów odcieków o zawartości 30% laktozy i wysokim stopniu jej hydrolizy (96,52%) stwierdzono wyższą koncentrację GOS (plamki d-g na chromatogramie, rys. 1). Charakter i liczba GOS powstających w reakcjach transgalaktozylacji

katalizowanych przez enzym β -galaktozydazę zależy od początkowego stężenia substratu. Wydajność syntezy GOS z laktozy rośnie wraz ze wzrostem początkowego stężenia tego cukru [9, 16]. Zazwyczaj użycie wysokich stężeń początkowych laktozy w roztworze umożliwia uzyskanie korzystnych wydajności syntezy GOS. Prawdopodobnie, wraz ze wzrostem koncentracji laktozy, grupy β -galaktozylowe mają większe powinowactwo do laktozy i/lub GOS niż do wody [9].



Rys. 1. Chromatogram z rozdzielu sacharydów w odbiałczonych roztworach odcieku po UF mleka o zawartości 20% laktozy (P_1) i 30% laktozy (P_2), hydrolizowanej przez preparat β -galaktozydazy Maxilact. Hydrolizę prowadzono w temp. 37°C, pH 6,4. Próbkę pobierano po 3, 4, 5 i 6 h.

Fig. 1. Chromatograms obtained on the basis of saccharides separation in a deproteinized solution of milk permeate after the ultra-filtration of milk containing 20% of lactose (P_1) and 30% of lactose (P_2); the lactose was hydrolyzed using a preparation of β -galactosidase Maxilact. The hydrolysis was conducted at 37°C, pH 6,4. The samples were taken after 3, 4, 5, and 6 hours

Oznaczenia / Designation:

a – glukoza / glucose; b – galaktoza / galactose; c – laktoza / lactose; d–g galaktooligosacharydy / galactooligosaccharides;

A – próbki hydrolizatu z roztworów o zawartości 20% laktozy / samples of hydrolizate from solutions containing 20% of lactose;

B – próbki hydrolizatu z roztworów o zawartości 30% laktozy / samples of hydrolizate from solutions containing 30% of lactose;

Z przeprowadzonych badań wynika, że o wydajności syntezy GOS decydował również czas reakcji enzymatycznej. Wraz z postępującym czasem reakcji dochodziło do wtórnej degradacji GOS, w wyniku czego ich zawartość w zhydrolizowanym odcieku malała (rys. 1, A i B). Jest to zgodne z danymi literaturowymi [14].

Korzystną wydajność syntezy GOS uzyskano w procesie prowadzonym przez 8 h w odcieku nieodbiańczonym, zawierającym 30% laktozy w temp. 5°C. Hydrolizat zagęszczano następnie do zawartości 74,2% s.m., otrzymując koncentrat GOS. Zgodnie z założeniem, koncentrat GOS zastosowano do uzupełnienia zawartości suchej masy w mleku, do około 18,5 %, przeznaczonym do produkcji jogurtu.

W wyniku oceny sensorycznej próbek jogurtu stwierdzono, że uzupełnianie suchej masy mleka koncentratem GOS w różnym stopniu wpłynęło na skład i właściwości gotowych produktów. Najwyżej oceniono jakość jogurtu z mleka, do którego obok mleka w proszku dodano koncentrat (tab. 2).

Z porównania składu chemicznego i właściwości jogurtu wynika, że różnią się one zawartością białek oraz redukcijnością. Dotyczy to przede wszystkim jogurtu z mleka, w którym zawartość suchej masy uzupełniono wyłącznie dodatkiem koncentratu GOS (tab. 2).

Na uwagę zasługują również różnice kwasowości otrzymanych jogurtów. Znacznie wyższa kwasowość próbek jogurtu otrzymanego z mleka z dodatkiem koncentratu GOS może być potwierdzeniem stymulującego oddziaływania GOS na rozwój i aktywność bakterii stosowanych w produkcji jogurtu. W jogurtach oznaczano liczbę drobnoustrojów *Lactobacillus bulgaricus* i *Streptococcus thermophilus* (tab. 3).

Pomiędzy jogurtem z dodatkiem koncentratu GOS i bez dodatku zaobserwowano różnice w populacji szczepów pałeczek i paciorkowców. Wg Cruza i wsp. [6], obecność OS może stymulować rozwój nie tylko szczepów *Lactobacillus*, ale i *Streptococcus*. Znalazło to odzwierciedlenie w naszych badaniach. Zaobserwowano wzrost liczby pałeczek, z $1,14 \cdot 10^8$ jtk/1 g jogurtu z dodatkiem mleka w proszku do $1,6 \cdot 10^8$ jtk/1 g jogurtu z dodatkiem koncentratu GOS. Jeszcze większe różnice występują w populacji paciorkowców. W jogurcie z dodatkiem mleka w proszku liczba bakterii z rodzaju *Streptococcus* wynosiła $1,4 \cdot 10^9$ jtk/1 g jogurtu, podczas gdy w jogurcie z dodatkiem koncentratu GOS liczba ta wzrosła do $1,2 \cdot 10^{10}$ jtk/1 g jogurtu. Świadczy to o stymulującym wpływie dodatku GOS na mikroflorę jogurtową.

Wyższa kwasowość próbek jogurtu (z mleka z podwyższoną zawartością GOS) zadecydowała o ich właściwościach sensorycznych.

Zauważone różnice w ocenie jakości jogurtu z surowca uzupełnionego dodatkiem koncentratu GOS z odcieków po UF mleka można łatwo wyeliminować np. optymalizując wielkość jego dodatku, a także dobierając temperaturę i czas fermentacji.

Tabela 2

Wpływ dodatku koncentratu galaktooligosacharydów do mleka na skład i właściwości otrzymanych jogurtów.

The effect of galactooligosaccharides concentrate added to milk on the composition and properties of yogurts obtained.

Surowiec do produkcji jogurtu Raw material to produce yogurt	Ocena jogurtu / Evaluation of yogurt				
	Zawartość Content of		Kwasowość Acidity pH	Redukcyjność roztworu Reductivity of solution ml 0,1N KMnO ₄	Ocena sensoryczna Sensory assessment
	s.m. dry matter [%]	białka protein [%]			
Mleko + mleko w proszku Powdered milk	18,5	3,75	4,92	15,1	k*-jednolita, ciągliwa s*-jednolity, bez ocieku serwatki, połysk porcelanowy b*-biała, lekko kremowa z*-typowy, jogurtowy, przyjemny o*-lekko kwaśny, przyjemny, dobry
Mleko + mleko w proszku+ koncentrat GOS Milk + powdered milk+ GOS concentrate	18,27	3,63	4,84	18,6	k*-rwąca, krótka s*-lekki podciek serwatki b*-lekko kremowa z*-typowy, jogurtowy, przyjemny o*- słodko-kwaśny, bardzo dobry
Mleko + koncentrat GOS Milk + GOS concentrate	18,41	2,95	4,66	21,0	k*-krótka, ale dosyć lepka, ciągliwa s*-lekki podciek serwatki b*-lekko kremowa z*-typowy, jogurtowy, o*-słodki, lekko mdły, dobry

k*- konsystencja / consistency,

s*- skrzep / curd,

b*- barwa / colour,

z*- zapach / odour,

o*- smak / taste;

Tabela 3

Wpływ dodatku koncentratu GOS do mleka na populację bakterii fermentacji mlekowej w jogurcie.
The effect of GOS concentrate added to milk on the population of lactic acid bacteria in yogurt

Surowiec do produkcji jogurtu Raw material to produce yogurt	Czas dojrzewania Maturation time [h]	Temperatura dojrzewania Maturation temperature [°C]	Liczba drobnoustrojów Number of microorganisms [jtk/1 g jogurtu] [cfu/ 1 g of yogurt]	
			<i>Lactobacillus bulgaricus</i>	<i>Streptococcus thermophilus</i>
Mleko+ mleko w proszku Milk+ powdered milk	3	42	$5 \cdot 10^7$	$7,8 \cdot 10^8$
	5	20	$7,2 \cdot 10^7$	$1,2 \cdot 10^9$
	9	4	$1,14 \cdot 10^8$	$1,4 \cdot 10^9$
Mleko+ mleko w proszku+ koncentrat GOS Milk + powdered milk + GOS concentrate	3	42	$6,9 \cdot 10^7$	$9,3 \cdot 10^8$
	5	20	$1,1 \cdot 10^8$	$1,3 \cdot 10^9$
	9	4	$1,5 \cdot 10^8$	$1,6 \cdot 10^9$
Mleko+ koncentrat GOS Milk + GOS concentrate	3	42	$9,7 \cdot 10^7$	$6,3 \cdot 10^9$
	5	20	$1,2 \cdot 10^8$	$9,8 \cdot 10^9$
	9	4	$1,6 \cdot 10^8$	$1,2 \cdot 10^{10}$

Wnioski

1. Sterując warunkami reakcji enzymatycznej hydrolizy laktozy takimi, jak: początkowe stężenie tego cukru, obecność białek oraz temperatura procesu można uzyskać hydrolizat o pożądanej zawartości GOS.
2. Dodatek koncentratu GOS wpływa stymulująco na rozwój bakterii z rodzajów *Lactobacillus bulgaricus* i *Streptococcus thermophilus* w jogurcie.
3. Proponowana technologia wydaje się być atrakcyjna. Jej upowszechnienie pozwoli na racjonalne, bezodpadowe zagospodarowanie odcieków po UF mleka lub serwatki, a jednocześnie sprzyjać będzie uatrakcyjnieniu asortymentu mleknych napojów fermentowanych.

Literatura

- [1] AOAC, Official Methods of Analysis, Lactose in Milk, 1990a, ed.15, 810.
- [2] AOAC, Official Methods of Analysis, Glucose in corn syrups and sugars, 1990b, ed. 15, 1042.
- [3] Budusławski J., Drabent Z.: Metody analizy żywności, WNT, Warszawa 1972.
- [4] Burbianka M., Pliszka A., Burzyńska H.: Mikrobiologia żywności, PZW, Warszawa 1983.
- [5] Crittenden R.G., Playne M.J.: Production, properties and application of food-grade oligosaccharides. Trends Food Sci. Technol., 1996, 7, 353-361.
- [6] Cruz R., Cruz V.A., Belote J.G., Khenayfes M.O., Dorta C., Oliveira L.H., Ardiles E., Galli A.: Production of transgalactosylated oligosaccharides (TOS) by galactosyltransferase activity from *Penicillium simplicissimum*. Bioresource Technol., 1999, 70, 165-171.

- [7] Delzenne N.M., Raberfroid M.R.: Physiological effects of non-digestible oligosaccharides. *Lebensm. – Wiss. u - Technol.* 1994, **27**, 1-6.
- [8] Foda M.I., Lopez-Leiva M.: Continuous production of oligosaccharides from whey using a membrane reactor. *Process Biochem.*, 2000, **35**, 581-587.
- [9] Iwasaki K., Nakajima M., Nakao S.: Galacto-oligosaccharide production from lactose by enzymatic batch reaction using β -galactosidase. *Process Biochem.*, 1996, **1 (1)**, 69-76.
- [10] La Ferla B., Lay L., Poletti L., Russo G., Panza L.: Easy chemo-enzymatic synthesis of human milk trisaccharides from a common selectively protected lactose building block. *J. Carbohydrate Chem.*, 2000, **19**, 331-343.
- [11] Li J., Cheng H.N., Nickol R.G., Wang P.G.: Enzymatic modification of hydroxyethylcellulose by transgalactosylation with β -galactosidase. *Carbohydrate Research*, 1999, **316**, 133-137.
- [12] Lowry O.M., Rosebrough N.J., Farr A. L., Randall R. J.: Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 1951, **193**, 265-269.
- [13] Perrin V., Fenet B., Praly J.-P., Lecroix F., Ta C.D.: Identification and synthesis of a trisaccharide produced from lactose by transgalactosylation. *Carbohydrate Research*, 2000, **325**, 202-210.
- [14] Petzelbauer I., Zeleny R., Reiter A., Kulbe K.D., Nietzky B.: Development of an ultra-high-temperature process for the enzymatic hydrolysis of lactose: II. Oligosaccharide formation by two thermostable β -glycosidases. *Biotechnol. Bioeng.*, 2000, **69, 2**, 140-149.
- [15] Praca zbiorowa: Instrukcje technologiczne do produkcji artykułów mleczarskich. Zakł. Wyd. CZSR, 180, s. 97-104.
- [16] Rustom I.Y.S., Foda M.I., Lopez-Leiva M.H.: Formation of oligosaccharides from whey UF-permeate by enzymatic hydrolysis - analysis of factors. *Food Chem.*, 1998, **62, 2**, 141-147.
- [17] Stahl E., Ashworth M.R.F.: *Thin-layer chromatography: a laboratory handbook*. 2nd Ed. Springer-Verlag, Berlin 1968, p. 9.

OLIGOSACCHARIDE-ENRICHED MILK PERMEATES AFTER ULTRAFILTRATION AND THEIR APPLICATION IN THE PRODUCTION OF YOGHURT

S u m m a r y

In this paper there are investigated conditions of the lactose hydrolysis and effective synthesis of galactooligosaccharides in permeate after the completed process of milk ultrafiltration with a β -galactosidase preparation added.

A galactooligosaccharide concentrate obtained was then used to produce yogurt. It was assessed what impact on the hydrolysis degree of lactose, as well as on the effectiveness of synthesis of galactooligosaccharides had the temperature & time of the reaction, further, the presence/absence of proteins in permeate solutions, and concentration levels of lactose in permeate at the beginning of the process. It was stated that if the process was conducted in an under-proteinized permeate with proteins containing 30% of lactose at 5°C during a period of 8 hours, the effectiveness of galactooligosaccharides synthesis was satisfactory. The concentrate of galactooligosaccharides was used to enrich dry matter contained in milk destined for the further production of yogurts.

It was stated that the addition of galactooligosaccharides stimulated the growth of bacteria belonging to the *Lactobacillus bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* species.

Key words: β -galactosidase, prebiotics, probiotics, and galactooligosaccharides. ☒