

STRESZCZENIE

Na rozprawę doktorską składa się cykl 5 prac opublikowanych w następujących czasopismach: dwie publikacje w *International Journal of Food Properties*, dwie prace w *Journal of Elementology*, oraz jedna praca w *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*.

Celem naukowym pracy była ocena wpływu sześciu związków wapnia i sześciu związków magnezu użytych do fortyfikacji mleka na wybrane właściwości mlecznych napojów fermentowanych. Natomiast na cel użyteczny składała się ocena możliwości zastosowania tych związków w produkcji mlecznych napojów fermentowanych.

Postawiono dziewięć hipotez badawczych.

Przedmiotem badań były jogurty (YC-X16) i mleka fermentowane przez dwie monokultury mlezarskie *Bifidobacterium* Bb-12 i *Lactobacillus rhamnosus* wzbogacone w sześć różnych związków wapnia lub sześć różnych związków magnezu. Przebadano również jogurty fermentowane przez szczepionki YC-X11, YF-L811, VITAL fortyfikowane mleczanem magnezu.

W napojach fermentowanych oznaczono: kwasowość, synerżę, profil teksturometryczny (TPA), instrumentalnie barwę. Dokonano oceny organoleptycznej oraz analizy mikrobiologicznej. Uzyskane dane poddano analizie statystycznej w programie Statistica.

Zastosowane do wzbogacania mleka sześciu związków magnezu (30 mg Mg 100 g⁻¹ mleka i mleczan 35 mg Mg 100 g⁻¹ mleka) oraz sześciu związków wapnia (80 mg Ca 100 g⁻¹ mleka) nie powodowało denaturacji białek mleka podczas pasteryzacji. Wykazano, że dodatek diglicynianu wapnia, węglanu wapnia, cytrynianu wapnia a także diglicynianu magnezu powoduje alkalizację mleka przed fermentacją. Natomiast jako związki zakwaszające mleko wskazano: chlorek wapnia, D-glukonian wapnia i mleczan wapnia oraz L-pidolan magnezu, L-mleczan magnezu, D-glukonian magnezu, octan magnezu i chlorek magnezu. Po 24 godzinach przechowywania wszystkie napoje fortyfikowane wapniem lub magnezem cechowały się typową kwasowością charakterystyczną dla mlecznych napojów fermentowanych. Wzbogacanie mleka diglicynianem wapnia skutkowało otrzymaniem najwyższych wyników gęstości optycznej OD₆₄₀ podczas fermentacji w wykorzystaniu *Lactobacillus rhamnosus* i *Bifidobacterium* Bb-12. Mleko fermentowane przez *Lactobacillus rhamnosus* wzbogacone i niewzbogacone w związki wapnia charakteryzowało się intensywniejszym wzrostem komórek bakterii w porównaniu do mleka fermentowanego przez *Bifidobacterium* Bb-12. Najlepiej stymulowały wzrost komórek *Bifidobacterium* Bb-12 podczas fermentacji i w pierwszym dniu przechowywania związki: chlorek wapnia, cytrynian wapnia i węglan wapnia. Największy poziom przeżywalności komórek szczepu *Bifidobacterium* Bb-12 stwierdzono w mleku wzbogaconym węglanem, cytrynianem i diglicynianem wapnia. Wraz z wydłużaniem czasu przechowywania z jednego do dwudziestu jeden dni nastąpiła redukcja populacji żywych komórek szczepu *Bifidobacterium* Bb-12 i szczepu *Lactobacillus rhamnosus* w mleku fermentowanym zarówno niewzbogaconym, jak i wzbogaconym wapniem. Na wzrost i przeżywalność żywych komórek *Lactobacillus rhamnosus* stymulująco wpłynęła fortyfikacja mleka węglanem, cytrynianem, diglicynianem i D-glukonianem wapnia. Spośród sześciu przebadanych związków magnezu najlepsze warunki do namnażania komórek *Bifidobacterium* Bb-12 podczas fermentacji

stworzył dodatek D-glukonianu magnezu. Jednak fortyfikacja mleka diglicynianem magnezu miała szczególnie pozytywny wpływ na przeżywalność komórek *Bifidobacterium* Bb-12 podczas chłodniczego przechowywania. Fortyfikacja mleka mleczanem magnezu stworzyła mniej korzystne warunki do namnażania *Streptococcus thermophilus* w jogurtach fermentowanych przez YC-X11, YF-L811 oraz probiotycznych VITAL. W jogurtach probiotycznych fortyfikowanych mleczanem magnezu oznaczono więcej *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus* oraz *Bifidobacterium lactis* niż w kontrolnych. Jogurty i mleka fermentowane fortyfikowane wapniem lub magnezem pod względem liczby komórek bakterii spełniały minimalne kryterium terapeutyczne przez cały okres badań. Najbardziej zbliżonymi parametrami barwy $L^*a^*b^*$ do jogurtów kontrolnych charakteryzowały się jogurty wzbogacone chlorkiem magnezu i węglanem wapnia. We wszystkich jogurtach fortyfikowanych związkami magnezu i wapnia stwierdzono udział barwy żółtej i zielonej. W większości przypadków wzbogacanie związkami wapnia mleka fermentowanego przez monokultury probiotyczne *Bifidobacterium* Bb-12 i *Lactobacillus rhamnosus* zmieniło barwę na ciemniejszą oraz zmniejszyło lub nie intensywność koloru żółtego. Dodane związki wapnia zwiększyły udział barwy zielonej, której intensywność wzrastała wraz z wydłużaniem czasu przechowywania. W mleku fermentowanym przez *Bifidobacterium* Bb-12 najintensywniejszą barwę zieloną i żółtą nadawał octan magnezu. Najbardziej efektywnie ograniczał synerzę jogurtu dodatek chlorku magnezu w dawce 30 mg Mg 100 g⁻¹ mleka oraz dodatek mleczanu magnezu w dawce 35 mg Mg 100 g⁻¹. W mleku fermentowanym przez *Bifidobacterium* Bb-12 dodatek D- glukonianu lub L-pidolanu magnezu najbardziej skutecznie zmniejszał wyciek serwatki. Spośród związków wapnia, które okazały się najbardziej skuteczne w ograniczeniu synerzy mleka fermentowanego przez monokultury probiotyczne (*Bifidobacterium* Bb-12 lub *Lactobacillus rhamnosus*) wskazano cytrynian wapnia. Profil teksturuometryczny najbardziej zbliżony do jogurtów kontrolnych uzyskano w jogurtach z dodatkiem węglanu wapnia. Natomiast w mleku fermentowanym przez *Lactobacillus rhamnosus* dodatek cytrynianu wapnia nadawał cechy tekstury zbliżone do mleka kontrolnego. Mleko z mleczanem magnezu fermentowane przez *Bifidobacterium* Bb-12 również nie różniło się od kontrolnego pod względem uzyskanych wartości charakteryzujących składowe tekstury. Przeprowadzona ocena organoleptyczna pozwoliła na ustalenie, które z dodanych związków magnezu lub wapnia wydają się być najbardziej przydatne do wzbogacenia mleka. W opinii oceniających najbardziej zbliżonymi cechami organoleptycznymi do jogurtu kontrolnego charakteryzował się jogurt VITAL wzbogacony mleczanem magnezu. Dobrą konsystencję mleka fermentowanego przez *Bifidobacterium* Bb-12, szczególnie gładką i jednorodną nadawał D-glukonian magnezu. Dodatkowo dodatek D-glukonianu magnezu w tym mleku najbardziej skutecznie ograniczył smak kwaśny oraz intensyfikował smak mleczno-kremowy. W opinii oceniających spośród związków wapnia użytych do fortyfikacji mleka probiotycznego (*Bifidobacterium* Bb-12 i *Lactobacillus rhamnosus*) najmniej zmieniał cechy organoleptyczne dodatek cytrynianu wapnia.

Otrzymane wyniki, są bardzo ważne przy projektowaniu nowych funkcjonalnych produktów mlecznych, które łączą korzyści probiotyczne ze zwiększoną zawartością magnezu lub wapnia. Napoje fermentowane i fortyfikowane różnymi związkami magnezu w ilości 30 mg/35 mg Mg 100 g⁻¹ mleka lub związkami wapnia w ilości 80 mg Ca 100 g⁻¹ mogą

stanowić dobre źródło uzupełniania niedoborów minerałów w codziennej diecie człowieka. Według obowiązującego Rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) nr 1169/2011 dzienna referencyjna wartość spożycia wapnia dla osób dorosłych wynosi 800 mg, a dla magnezu 375 mg. W związku z tym proponowana porcja 150 g napoju fermentowanego fortyfikowanego związkami wapnia stanowiłaby około 47%, a fortyfikowanego związkami magnezu około 19-21% dziennej referencyjnej wartości spożycia. Natomiast normy żywienia dla populacji Polski informują, że dzienne zapotrzebowanie na wapń dla osób dorosłych powinno wynosić około 1200 mg, a na magnez około 420 mg (mężczyźni) lub około 320 mg (kobiety). Według tych zaleceń proponowana porcja 150 g napoju fermentowanego wzbogaconego w wapń stanowiłaby około 31% dziennej referencyjnej wartości spożycia, a dla magnezu 17-19% (mężczyźni) i 22-24% (kobiety). Według Rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) nr 1169/2011 wprowadzenie składników mineralnych w ilości znaczącej musi zapewniać minimum 15% referencyjnych wartości spożycia, w przeliczeniu na porcję, jeżeli dane opakowanie zawiera wyłącznie jedną porcję. Można więc stwierdzić uwzględniając zawartość tych makroelementów w mleku, że zastosowanie dodatku wapnia w ilości 80 mg Ca 100 g⁻¹ mleka i magnezu 30 mg/35 mg Mg 100 g⁻¹ mleka stanowią znaczącą ilość składników mineralnych wprowadzonych do 1 porcji proponowanego napoju fermentowanego zapewniającą to minimum. Otrzymane rezultaty badań pozwalają na wyznaczenie nowych kierunków badań nad możliwością zastosowania makroelementów do fortyfikacji napojów fermentowanych przez inne bakterie probiotyczne oraz przy zastosowaniu mleka innego niż krowie.