

MAGDALENA KOWALCZYK, AGATA ZNAMIROWSKA

PRÓBA ZASTOSOWANIA β -D-GALAKTOZYDAZY DO PRODUKCJI PROBIOTYCZNYCH LODÓW MLECZNYCH

Streszczenie

Celem badań była ocena możliwości zastosowania β -D-galaktozydazy do produkcji lodów mlecznych z inuliną i *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* BB-12.

Badania obejmowały oznaczenie kwasowości i składu chemicznego mieszanek oraz określenie właściwości fizykochemicznych, sensorycznych i liczby komórek bakterii probiotycznych w lodach mlecznych w czasie zamrażalniczego przechowywania. Średnie wartości pH w mieszance poddanej hydrolizie laktozy i z tradycyjną zawartością laktozy nie różniły się statystycznie istotnie. Nie stwierdzono także różnic pod względem składu chemicznego mieszanek, tj. zawartości białka, cukru i tłuszczu. Produkty uznaje się za probiotyczne, gdy liczba komórek bakterii w nich zawartych wynosi minimum $6 \log \text{ jtk} \cdot \text{g}^{-1}$. Wyprodukowane mieszanki lodowe spełniały wymagane kryterium, a nawet przekraczały to minimum o ok. $3 \log \text{ jtk} \cdot \text{g}^{-1}$. Wartość pH po jednym dniu przechowywania lodów wynosiła od 5,51 w lodach niskolaktosowych do 5,00 w lodach z laktozą. Wraz z wydłużeniem czasu przechowywania z jednego dnia do 28 wartość pH wzrosła o 0,04 jednostki w lodach z laktozą i o 0,13 – w niskolaktosowych. Enzymatyczny rozkład laktozy nie miał wpływu na wzrost liczby komórek bakterii *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 podczas fermentacji mieszanki oraz zamrażania i przechowywania lodów. Tylko w przypadku lodów niskolaktosowych wydłużenie czasu zamrażalniczego przechowywania do 28 dni skutkowało istotną redukcją liczby komórek *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12. Lody z laktożą charakteryzowały się większą puszystością niż lody niskolaktosowe tylko po jednym dniu przechowywania. W produkcji lodów niskolaktosowych należy uwzględnić ich bardziej intensywny smak słodki niż lodów z laktożą. Wskazuje to na możliwość proporcjonalnego zmniejszenia dodatku sacharozy do lodów niskolaktosowych i uzyskanie zbliżonego smaku słodkiego jak w lodach z laktożą.

Słowa kluczowe: lody probiotyczne, *Bifidobacterium* BB-12, inulina, laktaza, β -D-galaktozydaza

Wprowadzenie

Lody są powszechnie cenionym deserem mlecznym dzięki walorom smakowym oraz atrakcyjnej ofercie producentów. W Polsce spożycie lodów przez ostatnie 10 lat

*Mgr inż. M. Kowalczyk, dr hab. inż. A. Znamirska, prof. UR, Zakład Technologii Mleczarstwa, Instytut Technologii Żywności i Żywienia, Uniwersytet Rzeszowski, ul. M. Ćwiklińskiej 2d, 35-601 Rzeszów.
Kontakt: magdalenakowalczyk@poczta.fm*

wzrosło z ok. 3,5 l do ok. 4 l na osobę rocznie [23] i nadal wzrasta [25]. Ich roczne spożycie np. w Norwegii i we Włoszech wynosi ok. 7 l na osobę, a w USA przekracza 20 l na osobę [27].

Powszechność spożycia lodów sprawia, że mogą służyć jako nośniki bakterii probiotycznych czy błonnika pokarmowego. Do produkcji lodów probiotycznych najczęściej stosowane są szczepy bakterii z rodzajów *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* oraz drożdże *Sacharomyces* [7]. Jak dowiedziono, bifidobakterie pozytywnie wpływają na układ pokarmowy i funkcje odpornościowe człowieka [22]. Probiotyki obniżają poziom cholesterolu, hamują wzrost patogenów oraz niszczą komórki nowotworowe [16].

Coraz większy popyt dotyczy nowości w postaci mrożonych jogurtów smakowych oraz lodów jogurtowych. Ten rodzaj deseru, produkowanego na bazie świeżego jogurtu naturalnego, zawierającego żywe kultury bakterii probiotycznych, znajduje uznanie wśród młodych konsumentów, którzy zwracają uwagę na jak najmniejszą wartość energetyczną, ale za to na jak największą liczbę smaków i odpowiednią wartość odżywczą. W miejsce niektórych składników wprowadza się substancje balastowe, istotnie obniżające kaloryczność mieszanki. Należą do nich m.in. inulina zastępująca tłuszcz i nadająca lekko słodki smak oraz oligofruktozy zastępujące cukier. Dodatki te wykazują również aktywność w zakresie stymulacji wzrostu bifidobakterii [2] w przewodzie pokarmowym, a technologicznie zmieniają punkt zamarzania mieszanki i jej podatność na topnienie, ograniczają wzrost kryształów lodu i stabilizują mieszankę w warunkach wahań temperatury [15].

Bakterie probiotyczne fermentują laktozę w mieszance lodowej, dzięki czemu przyczyniają się do łagodzenia nieprzyjemnych objawów u osób z nietolerancją laktozy. Osoby z tym schorzeniem nie wydzielają laktazy lub wytwarzają jej zbyt mało, co powoduje niezdolność trawienia dwucukru laktozy. Przy leczeniu osób z nietolerancją laktozy i hipolaktazją zaleca się przestrzeganie diety niskolaktozowej [13]. W Polsce szacuje się występowanie hipolaktazji u 20 ÷ 37 % populacji. Większość produktów mlecznych, w tym nawet te fermentowane przez bakterie probiotyczne, zawiera laktozę, dlatego producenci branży lodowej będą musieli dostosować się do wymagań stawianych przez konsumentów z nietolerancją laktozy poprzez modyfikację receptur i wprowadzenie na rynek Polski innowacyjnych niskolaktozowych lodów probiotycznych. Enzym laktaza w mieszance lodowej prowadzi do hydrolizy laktozy, jednocześnie wpływa na poprawę smaku, tworzy gładką strukturę i pożądaną płynność lodów. Dodatek enzymu zmniejsza również skutki krystalizacji laktozy odpowiedzialnej za piaszczystość [12].

Celem pracy była ocena możliwości zastosowania β -D-galaktozydazy do produkcji lodów mlecznych z inuliną i *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* BB-12. Badania obejmowały oznaczenie kwasowości i składu chemicznego mieszanek oraz określenie

właściwości fizykochemicznych, sensorycznych i liczby komórek bakterii probiotycznych w lodach mlecznych w czasie zamrażalniczego przechowywania.

Material i metody badań

Do produkcji lodów zastosowano następujące surowce: mleko krowie pasteryzowane, mikrofiltrowane o zawartości tłuszczu 2 % (SM Mlekoop, Polska), śmietankę UHT o zawartości tłuszczu 36 % (OSM Łowicz, Polska), cukier biały (Polski Cukier, Polska), esencję smakową mango-maracuja zawierającą naturalne i identyczne z naturalnymi aromaty mango i marakuja, kwas cytrynowy E330 i sok mango (Browin, Polska), inulinę (Witpak, Polska), preparat enzymatyczny NOLATM Fit 5500 (Chr. Hansen, Dania), kultury starterowe *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* BB-12 (Chr. Hansen, Dania).

Mieszankę lodową wykonywano z: 42,50 % mleka krowiego pasteryzowanego, 37,60 % śmietanki UHT, 10,40 % cukru białego, 3,80 % inuliny. Mieszankę homogenizowano i pasteryzowano (w temp. 85 °C, 30 min), następnie chłodzono do temp. 37 °C i dodawano 1,70 % esencji smakowej mango-maracuja oraz 4 % inoculum *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* BB-12 (zawierającego 9 log jtk·g⁻¹). Mieszankę lodową dzielono na dwie części i kodowano jako A i B. Do części A dodawano β-D-galaktozydazę NOLATM Fit 5500 w dawce 0,5 ml/l i mieszano. Obie mieszanki A i B fermentowano w inkubatorze (POL-EKO-Aparatura, Polska) przez 10 h w temp. 37 °C, a następnie chłodzono do temp. 5 °C i kondycjonowano w tej temperaturze przez 12 h. Pobierano próbki do badań właściwości fizykochemicznych i mikrobiologicznych obu mieszanek. Dodatkowo w mieszance A oznaczano zawartość laktozy metodą, którą opisali Pawlos i wsp. [24]. Mieszanki lodowe poddawano mrożeniu przez 40 - 50 min we frezerze (UNOLD AG, Niemcy), a następnie lody pakowano w pojemniki z tworzywa sztucznego o poj. 100 ml i kodowano (A, B). Przechowywano je w warunkach zamrażalniczych w temp. -18 °C przez 28 dni.

W mieszance lodowej oznaczano: skład chemiczny z użyciem aparatu do analizy mleka i przetworów Bentley B-150 (Bentley, USA), zawartość kwasu mlekowego według Jemaa i wsp. [17] oraz mierzono wartość pH za pomocą pH-metru (FiveEasy Mettler Toledo, Szwajcaria). Ponadto oznaczano liczbę żywych komórek *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* BB-12 metodą płytkową w inoculum po jednym dniu i po 28 dniach od zamrożenia [30].

W tych samych terminach w lodach A i B po roztopieniu w łaźni wodnej oznaczano wartość pH oraz zawartość kwasu mlekowego metodami stosowanymi do mieszanek lodowych [17]. Określano puszystość lodów (wyrażoną w %) jako stosunek objętości powietrza zawartego w zamrożonych lodach do objętości stopionych lodów [2]. Dokonywano również pomiaru topliwości, tj. czasu, który upłynął do momentu spłynięcia pierwszej kropli z lodów [2].

Przeszkolony zespół (10 kobiet i 10 mężczyzn w wieku od 20 do 24 lat) przeprowadzał ocenę sensoryczną lodów po jednym i po 28 dniach przechowywania. Próbki oznaczone trzycyfrowym kodem poddawano ocenie w indywidualnych kabinach.

Oceny dokonywano przy użyciu 9-punktowej skali liniowej ustrukturyzowanej i z określeniami brzegowymi, w której strona lewa oznaczała cechy lodów: niewyczuwalne (wszystkie wyróżniki smaku oraz zapachu), ciemna barwa, natychmiastowa rozpuszczalność, piaszczyste (gładkość), miękkie (twardość) i mało charakterystyczny wygląd. Po prawej stronie skali określono cechy lodów: bardzo intensywne (wszystkie wyróżniki smaku oraz zapachu), jasna barwa, opóźniona rozpuszczalność, bardzo gładkie, twarde, bardzo charakterystyczny wygląd [6].

Lody wykonano w dwóch niezależnych terminach, wybierając losowo do oceny w każdym terminie po 5 próbek z każdej grupy (A i B). Z zebranych wyników obliczono wartości średnie i odchylenia standardowe w programie Statistica v.13.1 (Stat-Soft, Polska). Wykonano jednoczynnikową analizę wariancji, a istotność różnic pomiędzy średnimi weryfikowano testem RIR Tukeya przy $p \leq 0,05$.

Wyniki i dyskusja

W tab. 1. przedstawiono wartości pH i skład chemiczny mieszanek lodowych przed fermentacją.

Tabela 1. Skład chemiczny i pH mieszanki lodowej przed fermentacją

Table 1. Chemical composition and pH of ice cream mix prior to fermentation

Wyróżnik Parameter	Mieszanka lodowa niskolaktózowa Low-lactose ice cream mix	Mieszanka lodowa laktozowa Lactose containing ice cream mix
Białko / Protein [%]	0,99 ^a ± 0,02	0,99 ^a ± 0,07
Tłuszcz / Fat [%]	13,86 ^a ± 0,29	13,68 ^a ± 0,76
Cukry / Sugars [%]	18,84 ^a ± 0,13	18,64 ^a ± 0,26
pH	6,18 ^a ± 0,02	6,19 ^a ± 0,04

Objaśnienia / Explanatory notes:

W tabeli przedstawiono wartości średnie ± odchylenia standardowe / Table shows mean values ± standard deviations; n = 10; a, b – wartości średnie w wierszach oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie ($p \leq 0,05$) / mean values in rows denoted by different letters differ statistically significantly ($p \leq 0,05$).

Wartości pH mieszanki poddanej hydrolizie laktozy i z tradycyjną jej zawartością nie różniły się statystycznie istotnie. Nie stwierdzono także różnic w składzie chemicznym mieszanek, tj. zawartości białka, cukru i tłuszczu. W przypadku mieszanek niskolaktózowych ważnych informacji dostarcza określenie zawartości laktozy, która w tych badaniach była mniejsza od 0,01 %.

Według Florowskiej i wsp. [15] parametry jakościowe lodów są nie tylko uzależnione od przebiegu procesu technologicznego lodów, ale przede wszystkim ściśle związane ze składem chemicznym mieszanki używanej do ich produkcji. Mleczne lody tradycyjne zawierają według Bulwarskiej i Florowskiej [7]: 8 ÷ 12 % tłuszczu, 9 ÷ 12 % suchej masy beztłuszczowej mleka, 3 ÷ 4 % białka. W badaniach Clarka [8] standardowe lody mleczne produkowane były z mieszaniny zawierającej: 7 ÷ 15 % tłuszczu, 4 ÷ 5 % białka, 5 ÷ 7 % laktozy, 12 ÷ 16 % cukrów, 0,5 % emulgatorów i aromatów, 28 ÷ 40 % suchej masy, 60 ÷ 72 % wody. W produkcji lodów istotną rolę odgrywa dodatek cukru lub inuliny jako zamiennika cukru w mieszance lodowej. Składnik ten ma ogromne znaczenie w stabilizowaniu piany i emulsji oraz zwiększaniu lepkości [21]. Inulina jest frukto-oligosacharydem zbudowanym z fruktozy i glukozy. Zalicza się ją do prebiotyków. Akbari i wsp. [4] wskazują, że inulina może być też doskonałym zamiennikiem tłuszczu w lodach.

Mieszanki po przeprowadzonej dziesięciogodzinnej fermentacji przez *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* Bb-12 poddawano ocenie jakości, a wyniki przedstawiono w tab. 2. Istotnie wyższą wartość pH oznaczono w mieszance niskolaktosowej w porównaniu z mieszanką z laktozą i są to wyniki zbliżone do wartości pH, które uzyskali w mieszankach lodowych Traugut i Cakmakci [29]. Również w mieszance niskolaktosowej oznaczono istotnie mniej kwasu mlekowego (0,30 g/l) niż w mieszance z laktozą (0,44 g/l). Przeprowadzona fermentacja mlekowa przez szczep *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* Bb-12 przyczyniła się do wytworzenia kwaśnych metabolitów, takich jak: kwas mlekowy, octowy, mrówkowy i etanol i tym samym wpłynęła na intensywność zapachu [16]. Liczba komórek *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* Bb-12 w mieszance z laktozą wynosiła $9,40 \log \text{ jtk} \cdot \text{g}^{-1}$, a w mieszance niskolaktosowej – $9,36 \log \text{ jtk} \cdot \text{g}^{-1}$. W ten sposób spełnione zostały wymagania stawiane produktom probiotycznym, tzn. liczba komórek bakterii powinna wynosić minimum $6 \log \text{ jtk} \cdot \text{g}^{-1}$. Wyprodukowane do badań mieszanki lodowe przekroczyły nawet to minimum o ok. $3 \log \text{ jtk} \cdot \text{g}^{-1}$.

Wpływ różnych źródeł węgla na wzrost szczepów *Bifidobacterium* badali Trojanová i wsp. [28]. Udowodnili, że szczepy *Bifidobacterium animalis* wykazują nietypowy wzrost i szybkie wykorzystanie cukrów złożonych, a powolne – cukrów prostych, jakimi są glukoza i galaktoza pochodzące z hydrolizy laktozy. W tym przypadku enzymatyczny rozkład laktozy nie miał istotnego wpływu na wzrost komórek *Bifidobacterium*, ponieważ do mieszanek dodano także inne węglowodany, tj. sacharozę i inulinę, które stanowiły źródło węgla dla tego szczepu. Według Śliwińskiej i Lesiowa [27] ogromne znaczenie dla wzrostu komórek probiotycznych *Bifidobacterium* ma wartość pH. Optymalne pH dla rozwoju tych szczepów mieści się w przedziale 6,0 ÷ 7,0. Uzyskane w badaniach własnych wartości pH są niższe o 0,5 ÷ 1,0 jednostki od optymalnych (tab. 2).

Tabela 2. Kwasowość, pH i liczba komórek *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* Bb-12 po fermentacji mieszanki lodowejTable 2. Acidity, pH and count of *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* Bb-12 cells in ice cream mix after fermentation

Wyróżnik Parameter	Mieszanka lodowa niskolaktózowa Low-lactose ice cream mix	Mieszanka lodowa laktozowa Lactose containing ice cream mix
pH	5,59 ^b ± 0,04	5,01 ^a ± 0,01
Kwas mlekowy Lactic acid [g/l]	0,30 ^a ± 0,01	0,44 ^b ± 0,01
<i>Bifidobacterium animalis</i> ssp. <i>lactis</i> Bb-12 [log jtk·g ⁻¹]	9,36 ^a ± 0,29	9,40 ^a ± 0,35

Objaśnienia jak pod tab. 1. / Explanatory notes as in Tab. 1.

W tab. 3. przedstawiono wyniki określające właściwości fizykochemiczne lodów oraz liczbę komórek *Bifidobacterium* po jednym i dwudziestu ośmiu dniach przechowywania. Pod względem wartości pH lodów należy stwierdzić, że utrzymała się różnica, którą zaobserwowano w mieszankach lodowych po fermentacji. W obu terminach badań w lodach niskolaktózowych wartość pH była wyższa niż w lodach z tradycyjną zawartością laktozy. Po jednym dniu przechowywania lodów wartość pH wynosiła od 5,59 – w niskolaktózowych do 5,00 – w lodach z laktozą. Wraz z wydłużaniem czasu przechowywania do 28 dni wartość pH wzrosła o 0,04 jednostki w lodach z laktozą i o 0,13 – w niskolaktózowych.

W lodach probiotycznych z różnymi substancjami słodzącymi (w tym poliolami) Kalicka i wsp. [18] wykazali wartości pH w zakresie 5,80 ÷ 6,10. W innych badaniach [14] wartość pH lodów mlecznych standardowych wynosiła 7, a wydłużenie czasu do trzydziestu dni przechowywania w temp. -18 °C nie wpłynęło na jego zmianę. Zawartość kwasu mlekowego, podobnie jak w mieszance lodowej po fermentacji, była większa w lodach z laktozą (0,46 g/l) niż w lodach niskolaktózowych (0,35 g/l). Wraz z wydłużaniem czasu przechowywania nadal utrzymywała się różnica stężenia kwasu mlekowego w lodach, jednak czas przechowywania okazał się czynnikiem nieistotnym. Porównywalne wartości zawartości kwasu mlekowego w przedziale 0,37 ÷ 0,46 g/l zaobserwowali Kalicka i wsp. [18] po dwudziestu ośmiu dniach przechowywania lodów w temp. -22 °C.

Niezwykle ważną cechą jakości lodów stanowi puszystość, czyli stopień ich napowietrzenia, który odpowiada za uczucie zimna podczas spożywania lodów. Po jednym dniu przechowywania zaobserwowano istotne różnice pomiędzy puszystością lodów, w których przeprowadzono hydrolizę laktozy (29,05 %) i lodów z laktozą (35,19 %). Alkin i wsp. [5] uzyskali puszystość lodów w przedziale 25,55 ÷ 30,60 %, natomiast Kalicka i wsp. [18] osiągnęli puszystość na poziomie 49 % w lodach z róż-

nyimi substancjami słodzącymi. W badaniach własnych stwierdzono, że czas przechowywania istotnie wpłynął na puszystość lodów (tab. 3). W lodach niskolaktózowych stopień napowietrzenia po 28 dniach był niższy o 1,04 % w porównaniu z pierwszym dniem. Natomiast w lodach z laktozą zmniejszył się, aż o 6,61 %.

Tabela 3. Właściwości fizykochemiczne lodów i liczba komórek bakterii *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* Bb-12

Table 3. Physical-chemical properties of ice cream and count of *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* Bb-12 cells

Wyróżnik Parameter	Czas przechowywania Storage time [dni / days]	Lody niskolaktózowe Low lactose ice cream	Lody z laktozą Ice cream with lactose
pH	1	5,51 ^{ba} ± 0,11	5,00 ^{aa} ± 0,05
	28	5,64 ^{ba} ± 0,03	5,04 ^{aa} ± 0,04
Kwas mlekowy Lactic acid [g/l]	1	0,35 ^{aa} ± 0,02	0,46 ^{ba} ± 0,01
	28	0,36 ^{aa} ± 0,01	0,46 ^{ba} ± 0,01
Puszystość Fluffiness [%]	1	29,05 ^{aa} ± 1,36	35,19 ^{bb} ± 1,05
	28	28,09 ^{aa} ± 2,62	28,58 ^{aa} ± 1,91
<i>Bifidobacterium animalis</i> ssp. <i>lactis</i> Bb-12 [log jtk·g ⁻¹]	1	9,14 ^{ab} ± 0,37	9,16 ^{aa} ± 0,17
	28	8,72 ^{aa} ± 0,58	9,10 ^{ba} ± 0,54
Czas pierwszej kropli First drop time [min]	1	30 ^{aa} ± 0,5	32 ^{bb} ± 0,5
	28	18 ^{aa} ± 1,0	20 ^{ba} ± 0,5

Objaśnienia / Explanatory notes:

W tabeli przedstawiono wartości średnie ± odchylenia standardowe / Table shows mean values ± standard deviations; n = 10; a, b – wartości średnie w wierszach oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie ($p \leq 0,05$) / mean values in rows denoted by different letters differ statistically significantly ($p \leq 0,05$); A, B – wartości średnie dla danego parametru w kolumnach oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie ($p \leq 0,05$) / mean values of a given parameter as shown in columns denoted by different letters differ statistically significantly ($p \leq 0,05$).

Po jednym dniu przechowywania liczba komórek *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* Bb-12 w lodach niskolaktózowych i z tradycyjną zawartością laktozy obniżyła się tylko o 0,22 ÷ 0,24 log jtk·g⁻¹ w porównaniu z mieszankami lodowymi po fermentacji. Oznacza to, że proces mrożenia mieszanki lodowej nie powodował istotnej redukcji populacji bakterii, co potwierdza wyniki badań lodów z udziałem bakterii probiotycznych (*Lactobacillus acidophilus* i *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* Bb-12) i dodatkiem oligofruktozy podczas przechowywania zamrażalniczego, które przeprowadzili Akalin i wsp. [2].

Po 28 dniach przechowywania nastąpiła redukcja liczby komórek bakterii w lodach niskolaktózowych o 0,42 log jtk·g⁻¹, natomiast w tradycyjnych lodach z laktozą – o 0,06 log jtk·g⁻¹ w porównaniu z pierwszym dniem przechowywania. Tylko w przy-

padku lodów niskolaktozowych wydłużenie czasu przechowywania istotnie obniżyło liczbę komórek *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* Bb-12. Redukcję populacji żywych komórek probiotycznych *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* Bb-12 w ciągu całego okresu przechowywania wykazali Kalicka i wsp. [18]. Natomiast szczepy bakterii probiotycznych *Lactobacillus rhamnosus* i *Lactobacillus casei* w lodach badanych przez Criscio i wsp. [10] charakteryzowały się dużą przeżywalnością w obecności inuliny podczas przechowywania w temp. $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ przez szesnaście tygodni. Podobnie w badaniach Szydłowskiej i Kołożyn-Krajewskiej [26] dodatek inuliny do sorbetów pozytywnie wpłynął na przeżywalność *Lactobacillus rhamnosus*.

Szybkość topnienia określa się jako czas spłynięcia pierwszej kropli lodów w temp. $25\text{ }^{\circ}\text{C}$. Po jednym dniu czas spłynięcia pierwszej kropli lodów niskolaktozowych był istotnie krótszy (30 min) niż lodów z laktozą (32 min). Istotną różnicę wykazano jednak po 28 dniach przechowywania, gdyż szybkość topnienia lodów niskolaktozowych skróciła się do 18 min, a lodów laktozowych – do 20 min (tab. 3). W obu przypadkach różnica wynosiła 12 min. Wartości te są zbliżone do wartości przedstawionych przez Lomolino i wsp. [20] w odniesieniu do lodów wegańskich – pierwsza kropla spłynęła po 20 min, ale z lodów tradycyjnych dopiero po 45 min.

Wyniki oceny sensorycznej lodów po jednym i dwudziestu ośmiu dniach przechowywania przedstawiono w tab. 4. Według oceniających lody z tradycyjną zawartością laktozy oraz lody niskolaktozowe charakteryzowały się zbliżonym wyglądem, twardością, barwą, rozpuszczalnością, oraz wyróżnikami smaku i zapachu. Enzymatyczny rozkład laktozy przyczynił się do zwiększenia intensywności smaku słodkiego w lodach niskolaktozowych, zarówno po jednym, jak i po dwudziestu ośmiu dniach przechowywania. Również w lodach niskolaktozowych oceniający wskazali na intensywniejszy smak i zapach dodatku mango – maracuja wraz z wydłużeniem czasu przechowywania do dwudziestu ośmiu dni. W lodach nie stwierdzono smaku i zapachu obcego. W lodach niskolaktozowych i z laktozą czas przechowywania statystycznie istotnie kształtował ich gładkość. Gładszą konsystencją charakteryzowały się lody niskolaktozowe oraz z tradycyjną zawartością laktozy po dwudziestu ośmiu dniach przechowywania w porównaniu z lodami po jednym dniu przechowywania.

Rezultaty badań Adapa i wsp. [1] wskazują, że zawartość tłuszczu istotnie wpływa na temperaturę topnienia, gładkość, zwiększa lepkość oraz korzystnie kształtuje puszystość. Na puszystość ma wpływ zwłaszcza stosunek zawartości tłuszczu i białka. Jak podają Koxholt i wsp. [19], szybkość topnienia lodów zależy od wielkości kuleczek tłuszczowych oraz wielkości aglomeratu tłuszczu zawartego w lodach. Akbari i wsp. [3] podkreślają, że tłuszcz pozytywnie wpływa na postrzeganie smaku i zapachu lodów. Pełnotłuste lody w badaniach Danesh i wsp. [11] również zostały wyżej ocenione przez panel oceniający za smak i kremowość. Florowska i wsp. [15] podają, że

inulina poprzez zwiększenie gęstości mieszanki lodowej wpływa negatywnie na napowietrzenie lodów, zwiększając tym samym ich twardość.

Tabela 4. Ocena sensoryczna lodów podczas przechowywania
Table 4. The sensory evaluation of ice cream during storing

Wyróżnik Parametr	Czas przechowywania Storage time [dni / days]	Lody niskolaktosowe Low lactose ice cream	Lody z laktozą Ice cream with lactose
Wygląd Appearance	1	7,33 ^{aA} ± 2,12	7,70 ^{aA} ± 2,11
	28	7,56 ^{aA} ± 0,73	7,90 ^{aA} ± 1,10
Twardość Hardness	1	5,67 ^{aA} ± 1,94	6,40 ^{aA} ± 2,12
	28	5,00 ^{aA} ± 1,12	5,90 ^{aA} ± 1,28
Barwa Colour	1	7,56 ^{aA} ± 1,94	7,50 ^{aA} ± 1,12
	28	8,11 ^{aA} ± 0,93	7,70 ^{aA} ± 0,82
Gładkość Smoothness	1	4,00 ^{aA} ± 1,00	4,70 ^{aA} ± 1,50
	28	6,67 ^{aB} ± 1,94	6,10 ^{aB} ± 1,13
Rozpływalność Melting	1	4,22 ^{aA} ± 1,99	4,70 ^{aA} ± 1,98
	28	3,33 ^{aA} ± 1,50	3,70 ^{aA} ± 1,83
Smak słodki Sweet taste	1	7,33 ^{bA} ± 0,66	6,30 ^{aA} ± 0,89
	28	7,11 ^{bA} ± 0,28	6,50 ^{aA} ± 0,75
Smak dodatków Taste of additives	1	6,89 ^{aA} ± 1,09	7,00 ^{aA} ± 1,05
	28	7,67 ^{aA} ± 1,00	7,20 ^{aA} ± 0,92
Smak obcy Off taste	1	1,11 ^{aA} ± 0,33	1,10 ^{aA} ± 0,32
	28	1,00 ^{aA} ± 0,00	1,10 ^{aA} ± 0,32
Zapach dodatków Odour of additives	1	4,33 ^{aA} ± 1,87	4,50 ^{aA} ± 1,90
	28	5,11 ^{aA} ± 1,09	4,10 ^{aA} ± 1,23
Zapach obcy Off odour	1	1,11 ^{aA} ± 0,33	1,00 ^{aA} ± 0,00
	28	1,00 ^{aA} ± 0,00	1,00 ^{aA} ± 0,00

Objaśnienia / Explanatory notes:

n = 40. W tabeli przedstawiono wartości średnie ± odchylenia standardowe / Table shows mean values ± standard deviations; a, b – wartości średnie w wierszach oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie ($p \leq 0,05$) / mean values in rows denoted by different letters differ statistically significantly ($p \leq 0,05$); A, B – wartości średnie w kolumnach oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie ($p \leq 0,05$) / mean values in columns denoted by different letters differ statistically significantly ($p \leq 0,05$).

Wnioski

1. Mleczne lody niskolaktosowe są produktem odpowiadającym na oczekiwanie konsumentów z nietolerancją laktozy i hipolaktazją. Zwiększenie asortymentu lodów o produkt niskolaktosowy z inuliną i bakteriami probiotycznymi przyczyni się do zwiększenia konsumpcji lodów, które można zaliczyć do żywności funkcjonalnej.

2. W procesie produkcji mlecznych lodów niskolaktózowych enzymatyczny rozkład laktozy nie ma wpływu na wzrost liczby komórek bakterii *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 podczas fermentacji mieszanki oraz zamrażania i przechowywania lodów. Tylko w przypadku lodów niskolaktózowych wydłużenie czasu zamrażalniczego przechowywania do 28 dni skutkuje istotną redukcją liczby komórek *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12.
3. Lody z laktozą charakteryzuje większa puszystość niż lody niskolaktózowe tylko po jednym dniu przechowywania. Po 28 dniach puszystość lodów niskolaktózowych i z laktozą jest zbliżona.
4. W przypadku lodów niskolaktózowych należy uwzględnić ich intensywniejszy smak słodki niż lodów z laktozą. Można zatem proporcjonalnie zmniejszyć dodatek sacharozy do lodów niskolaktózowych i uzyskać zbliżony smak słodki jak w lodach z laktozą. Ponadto lody niskolaktózowe charakteryzują się szybszą rozpuszczalnością w ustach, potwierdzonym szybszym topnieniem i krótszym czasem spłynięcia pierwszej kropli w obu terminach.
5. Do produkcji lodów mlecznych niskolaktózowych z inuliną i *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* BB-12 można stosować β -D-galaktozydazę, która skutecznie hydrolizuje laktozę.

Literatura

- [1] Adapa S., Dingeldein H., Schmidt K.A., Herald T.J.: Rheological properties of ice cream mixes and frozen ice creams containing fat and fat replacers. *J. Dairy Sci.*, 2000, 83 (10), 2224-2229.
- [2] Akalin A.S., Erisir D.: Effects of inulin and oligofructose on the rheological characteristics and probiotic culture survival in low-fat probiotic ice cream. *J. Food Sci.*, 2008, 73 (4), 184-188.
- [3] Akbari M., Eskandari M.H., Davoudi Z.: Application and functions of fat replacers in low-fat ice cream: A review. *Trends Food Sci. Technol.*, 2019, 86, 34-40.
- [4] Akbari M., Eskandari M.H., Niakosari M., Bedeltavana M.: The effect of inulin on the physicochemical properties and sensory attributes of low-fat ice cream. *Int. Dairy J.*, 2016, 57, 52-55.
- [5] Alkin A.S., Kesencas H., Dinkci N., Unal G., Ozer E., Kinik O.: Enrichment of probiotic ice cream with different dietary fibers: Structural characteristics and culture viability. *J. Dairy Sci.*, 2018, 101 (1), 37-46.
- [6] Baryłko-Pikielna N., Matuszewska I.: Sensoryczne badania żywności. Podstawy. Metody. Zastosowania. Wyd. II. Wyd. Nauk. PTTŻ, Kraków 2014.
- [7] Bulwarska M., Florowska A.: Lody z dodatkami prozdrowotnymi. *Przem. Spoż., Handel Wewn.*, 2011, 65 (9), 22-24.
- [8] Clarke Ch.: *The Science of Ice Cream*. RSC Publishing, London, UK, 2015.
- [9] Codex Alimentarius: Milk and milk products. WHO and FAO, Rome 2011, pp. 6-7.
- [10] Criscio T.D., Fratianni A., Mignogna R., Cinquanta L., Coppola R., Sorrentino E., Panfili G.: Production of functional probiotic, prebiotic, and synbiotic ice creams. *J. Dairy Sci.*, 2010, 93, 4555-4564.

- [11] Danesh E., Goudarzi M., Jooyandeh H.: Short communication. Effect of whey protein addition and transglutaminase treatment on the physical and sensory properties of reduced-fat ice cream. *J. Dairy Sci.*, 2017, 7, 5206-5211.
- [12] Dec B.: Technologia produkcji nisko- i bezlaktozowych produktów mleczarskich. *Przegl. Mlecz.*, 2011, 5 (11), 8-14.
- [13] Deng Y., Misselwitz B., Dai N., Fox M.: Lactose intolerance in adults: Biological mechanism and dietary management. *Nutrients*, 2015, 7 (9), 8020-8035.
- [14] Fiol C., Prado D., Romero C., Laburu N., Mora M., Inaki Alava J.: Introduction of a new family of ice creams. *Int. J. Gastron. Food Sci.*, 2017, 7, 5-10.
- [15] Florowska A., Wójcik E., Florowski T., Dłużewska E.: Wpływ dodatku preparatów błonnikowych na wybrane wyróżniki jakości lodów. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.*, 2013, 574, 11-18.
- [16] Jędrzejczak-Krzepitowska M., Bielecki S.: Bifidobakterie i stymulujące ich wzrost fruktany typu inuliny. *Postępy Biochemii*, 2011, 57 (4), 392-400.
- [17] Jemaa M.B., Falleh H., Neves M.A., Isoda H., Nakajima M., Ksouri R.: Quality preservation of deliberately contaminated milk using thyme free and nanoemulsified essential oils. *Food Chem.*, 2017, 217, 726-734.
- [18] Kalicka D., Znamirska A., Pawlos M., Buniowska M., Szajnar K.: Physical and sensory characteristics and probiotic survival in ice cream sweetened with various polyols. *Int. J. Dairy Technol.*, 2019, 72 (3), 456-465.
- [19] Koxholt M.M.R., Eisenmann B., Hinrichs J.: Effect of the fat globule sizes on the meltdown of ice cream. *J. Dairy Sci.*, 2001, 84 (1), 31-37.
- [20] Lomolino G., Zannoni S., Zabra A., Da Lio M., De Iseppi A.: Ice recrystallisation and melting in ice cream with different proteins levels and subjected to thermal fluctuation. *Int. Dairy J.*, 2020, 100, 104-557.
- [21] Meyer D., Bayarri S., Tárrega A., Costell E.: Inulin as texture modifier in dairy products. *Food Hydrocoll.*, 2011, 25, 1881-1890.
- [22] O'Callaghan A., van Sinderen D.: Bifidobacteria and their role as members of the human gut microbiota. *Front. Microbiol.*, 2016, 7 (925), 1-23.
- [23] Palka A.: Zmiany w preferencjach konsumentów na rynku lodów. *Przem. Spoż., Handel Wewn.*, 2015, 2 (355), 308-319.
- [24] Pawlos M., Znamirska A., Kluz M., Szajnar K., Kowalczyk M.: Low-lactose goat fermented milks with *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* Bb-12. *J. Microbiol., Biotechnol. Food Sci.*, 2020, 9, (4), 751-755.
- [25] Woźniak B.: Dyrektor generalny PPL Koral: Konsumpcja lodów będzie mocno rosła w kolejnych latach. [on line]. [portalspozywczy.pl](https://www.portalspozywczy.pl/slodycze-przekaski/wiadomosci/dyrektor-generalny-ppl-koral-konsumpcja-lodow-bedzie-mocno-rosla-w-kolejnych-latach,165140.html). Dostęp w Internecie [19.11.2019]: <https://www.portalspozywczy.pl/slodycze-przekaski/wiadomosci/dyrektor-generalny-ppl-koral-konsumpcja-lodow-bedzie-mocno-rosla-w-kolejnych-latach,165140.html>
- [26] Szydłowska A., Kołożyn-Krajewska D.: Development of potentially probiotic and synbiotic pumpkin frozen desserts. *CYTA J. Food*, 2019, 17 (1), 251-259.
- [27] Śliwińska A., Lesiów T.: Lody jako żywność funkcjonalna – badania konsumenckie. *Nauki Inż. Technol.*, 2013, 1 (8), 65-76.
- [28] Trojanová I., Vlková E., Rada V., Marounek M.: Different utilization of glucose and raffinose in *Bifidobacterium breve* and *Bifidobacterium animalis*. *Folia Microbiol.*, 2006, 51 (4), 320-324.
- [29] Turgut T.I., Cakmakci S.: Investigation of the possible use of probiotics in ice cream manufacture. *Int. J. Dairy Technol.*, 2009, 62 (3), 444-455.
- [30] Znamirska A., Buniowska M., Szajnar K.: Zastosowanie koncentratu i izolatu białek serwatkowych w produkcji mleka fermentowanego przez *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* BB-12. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2019, 4 (121), 77-88.

AN ATTEMPT TO USE β -D-GALACTOSIDASE IN THE PRODUCTION OF PROBIOTIC MILK ICE CREAM

Summary

The objective of the research study was to assess the possibility of using β -D-galactosidase in the production of milk ice cream with inulin and *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* BB-12.

The research included the determination of the acidity and chemical composition of mixes, the physical-chemical and sensory properties and the count of bacteria in milk ice cream during frozen storage. There were no statistically significant differences between the pH values of mixes with hydrolysed lactose and with traditional content of lactose. Nor were any differences found between the chemical compositions of those mixes, i.e. between the contents of protein, sugar and fat therein. Products are regarded as probiotic provided the count of bacterial cells therein is $6 \log \text{cfu} \cdot \text{g}^{-1}$ at a minimum. The ice cream mixes produced met this criterion and they even exceeded this minimum by about $3 \log \text{cfu} \cdot \text{g}^{-1}$. After the first day of storing ice cream, the pH was from 5.51 in low-lactose ice cream to 5.00 in ice cream with lactose. Extending the storage period from 1 to 28 days caused the pH value to increase by 0.04 units in ice cream with lactose and by 0.13 units in low-lactose ice cream. The enzymatic breakdown of lactose did not affect the increase in the number of *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* BB-12 during fermentation of the mixes and during freezing and storing ice cream. Only in the case of low-lactose ice cream, extending the freezing storage time to 28 days resulted in a significant reduction in the count of *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* BB-12. Only after the first day of storage, the lactose containing ice cream was characterised by a better fluffiness than the low-lactose ice cream. When producing the low-lactose ice cream, there should be considered their more sweet taste compared to the lactose containing ice cream. This suggests it could be possible to proportionally reduce the amount of sucrose to be added to low-lactose ice cream while obtaining a similar sweet taste as that of the ice cream with lactose.

Key words: probiotic ice cream, *Bifidobacterium* BB-12, inulin, lactase, β -D-galactosidase 