



Warsaw University of Life Sciences

Institute of Human Nutrition Sciences

Kübra Küçükgöz

Development and Nutritional Assessment of Potentially Probiotic Non-Dairy Product – *In vitro* Research

Opracowanie i ocena wartości odżywczej potencjalnie
probiotycznego produktu niemlecznego – badania *in vitro*

Doctoral thesis

Rozprawa doktorska

Doctoral thesis prepared under the supervision of

Dr hab. Monika Trzaskowska, prof. SGGW

Department of Food Gastronomy and Food Hygiene

Warsaw 2024

Abstract

The dissertation aimed to assess the possibility of using non-dairy food matrices as carriers of probiotic bacteria and to evaluate the nutritional value of the obtained products based on an *in vitro* model of the human gastrointestinal tract. The influence of the composition on the growth stimulation and viability of probiotic strains, stabilization of pH change during storage and improvement of sensory properties of fermented products were analysed. In addition, the survival of selected potentially probiotic strains during *in vitro* digestion was studied. Furthermore, the impact of the designed products on the composition and functionality of the intestinal microbiota was assessed. In the work, products based on apple puree and ketchup with the addition of red beet were developed; both mixtures were fermented by the selected strains with probiotic properties.

The composition of the two dairy-free matrices was as follows: (1) apple puree, chia seeds and oat bran and (2) ketchup with beetroot, which included tomato paste, beetroot and spices. *Lactocaseibacillus rhamnosus* K3 or *Lactobacillus johnsonii* K4 strains were used for fermentation. The food matrix significantly affected probiotics' viability; in apple puree, the initial number of probiotic bacteria exceeded 9 log CFU/g and remained stable during storage. In fermented ketchup with beetroot, a high number of microorganisms was also found during storage. Sensory analysis of the products showed that fermentation improved the flavour, texture, and odour of both products tested.

Fermented products were characterized by increased amounts of organic acids, sugars and antioxidant activity, which emphasizes the importance of fermentation in improving nutritional value. In the experiment of probiotic survival during *in vitro* digestion, stability of survival was observed in the intestinal phases despite a decrease in their number after the gastric digestion phase.

Finally, *in vitro* colon fermentation studies showed that unfermented and fermented ketchup with beetroot promoted the growth of beneficial intestinal bacteria while limiting the number of potential pathogens. Increased production of short-chain fatty acids and phenolic metabolites was observed, which indicates complex interactions between food components and intestinal microbiota. These studies prove that dairy-free plant foods have the potential to act as probiotics and support gut health.

Keywords: non-dairy food, digestion, fermentation, gut microbiota, probiotics

Streszczenie

Celem rozprawy doktorskiej była ocena możliwości wykorzystania niemlecznych matryc żywnościowych jako nośników bakterii probiotycznych oraz ocena wartości odżywczej otrzymanych produktów w oparciu o model *in vitro* przewodu pokarmowego człowieka. Analizowano wpływ składu na stymulację wzrostu i żywotności szczepów probiotycznych, stabilizację pH podczas przechowywania oraz poprawę właściwości sensorycznych produktów fermentowanych. Ponadto, badano przeżywalność wybranych szczepów potencjalnie probiotycznych podczas trawienia *in vitro*. Dodatkowo oceniano wpływ zaprojektowanych produktów na skład i funkcjonalność mikrobioty jelitowej. W pracy opracowano produkty na bazie puree jabłkowego oraz ketchupu z dodatkiem czerwonego buraka, obydwie mieszaniny fermentowano z udziałem wyselekcjonowanych szczepów posiadających cechy probiotyczne.

Skład dwóch bezmlecznych matryc był następujący: (1) puree jabłkowe, nasiona chia i otręby owsiane oraz (2) ketchup z burakiem, w którego skład wchodził koncentrat pomidorowy, buraki i przyprawy. Do fermentacji wykorzystano szczepy *Lactocaseibacillus rhamnosus* K3 lub *Lactobacillus johnsonii* K4. Matryca żywnościowa miała istotny wpływ na żywotność probiotyków; w puree jabłkowym początkowa liczba bakterii probiotycznych przekraczała 9 log jtk/g i pozostała stabilna podczas przechowywania. W fermentowanym ketchupie z burakiem również stwierdzono wysoką liczbę mikroorganizmów w czasie przechowywania. Analiza sensoryczna produktów wykazała, że fermentacja poprawiała smak, teksturę i zapach, w obydwu badanych produktach.

Produkty fermentowane charakteryzowały się zwiększoną ilością kwasów organicznych, cukrów oraz aktywnością antyoksydacyjną, co podkreśla znaczenie fermentacji w poprawie wartości odżywczej.

W badaniach przeżywalności probiotyków podczas trawienia *in vitro* zaobserwowano stabilność przeżywalności w fazach jelitowych, mimo zmniejszenia ich liczby po fazie trawienia żołądkowego.

W badaniach fermentacji jelitowej *in vitro* wykazano, że niefermentowany i fermentowany ketchup z burakiem sprzyjał wzrostowi korzystnych bakterii jelitowych