

LIETUVOS SVEIKATOS MOKSLŲ UNIVERSITETAS
VETERINARIJOS AKADEMIJA

Jūratė Šlapkauskaitė

**AUGALŲ IR JŲ EKSTRAKTŲ
ANTIMIKROBINIŲ, FITOCHEMINIŲ
IR ANTIOKSIDACINIŲ SAVYBIŲ
ĮVERTINIMAS BEI PRITAIKYMAS
RAUGINTŲ PIENO PRODUKTŲ
SAUGAI**

Daktaro disertacija
Žemės ūkio mokslai,
veterinarija (02A)

Kaunas, 2016

Disertacija rengta 2011–2015 metais Lietuvos sveikatos mokslų universiteto Veterinarijos akademijoje, Gyvūninių maisto žaliavų saugos ir kokybės tyrimų laboratorijoje, Maisto saugos ir kokybės katedroje.

Mokslinė vadovė

Prof. dr. Dalia Sekmokienė (Lietuvos sveikatos mokslų universitetas, žemės ūkio mokslai, veterinarija – 02A).

Mokslinis konsultantas

Doc. dr. Antanas Šarkinas (Kauno technologijos universitetas, chemijos inžinerija, technologijos mokslai – 05T).

Disertacija ginama Lietuvos sveikatos mokslų universiteto Veterinarijos mokslo krypties taryboje:

Pirmininkė

Prof. dr. Jūratė Šiugždaitė (Lietuvos sveikatos mokslų universitetas, žemės ūkio mokslai, veterinarija – 02A).

Nariai:

prof. dr. Bronius Bakutis (Lietuvos sveikatos mokslų universitetas, žemės ūkio mokslai, veterinarija – 02A);

dr. Eglė Kudirkienė (Kopenhagos universitetas, žemės ūkio mokslai, veterinarija – 02A);

prof. habil. dr. Aniolas Sruoga (Vytauto Didžiojo universitetas, biomedicinos mokslai, biologija – 01B);

prof. dr. Gintarė Zaborskienė (Lietuvos sveikatos mokslų universitetas, žemės ūkio mokslai, veterinarija – 02A).

Disertacija bus ginama viešame Lietuvos sveikatos mokslų universiteto Veterinarijos akademijos Veterinarijos mokslo krypties tarybos posėdyje 2016 m. birželio mėn. 23 d. 10 val. Dr. S. Jankausko auditorijoje.

Adresas: Tilžės g. 18, 47181, Kaunas, Lietuva.

LITHUANIAN UNIVERSITY OF HEALTH SCIENCES
VETERINARY ACADEMY

Jūratė Šlapkauskaitė

**EVALUATION AND APPLICATION OF
ANTIMICROBIAL, PHYTOCHEMICAL
AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF
PLANTS AND THEIR EXTRACTS FOR
SAFETY OF FERMENTED DAIRY
PRODUCTS**

Doctoral Dissertation
Agricultural Sciences,
Veterinary (02A)

Kaunas 2016

Disertation has been prepared at the Laboratory of Animal Foodstuff Safety and Quality Research under the Department of Food Safety and Quality of Veterinary Academy of Lithuanian University of Health Sciences during the period of 2011-2015.

Scientific supervisor

Prof. Dr. Dalia Sekmokienė (Lithuanian University of Health Sciences, Agricultural Sciences, Veterinary – 02A)

Consultant

Assoc. Prof. Dr. Antanas Šarkinas (Kaunas University of Technology, Technological Sciences, Chemical Engineering – 05T)

Dissertation is defending at the Veterinary Research Council of Lithuanian University of Health Sciences.

Chairperson

Prof. Dr. Jūratė Šiugždaitė (Lithuanian University of Health Sciences, Agricultural Sciences, Veterinary – 02A).

Members:

Prof. Dr. Bronius Bakutis (Lithuanian University of Health Sciences, Agricultural Sciences, Veterinary – 02A);

Dr. Eglė Kudirkienė (University of Copenhagen, Agricultural Sciences, Veterinary – 02A);

Prof. Habil. Dr. Aniolas Sruoga (Vytautas Magnus University, Biomedical Sciences, Biology – 01B);

Prof. Dr. Gintarė Zaborskienė (Lithuanian University of Health Sciences, Agricultural Sciences, Veterinary – 02A).

Dissertation will be defended at the open session of the Veterinary Research Council of the Lithuanian University of Health Sciences, Veterinary Academy Dr. S. Jankauskas Auditorium at 10:00 a. m. on 23th of June, 2016

Address: Tilžės 18, LT-47181 Kaunas, Lithuania.

TURINYS

SUTRUMPINIMAI.....	9
IVADAS.....	11
Darbo tikslas ir uždaviniai.....	12
Darbo naujumas ir praktinė reikšmė	13
Darbo apimtis	13
1. LITERATŪROS APŽVALGA	14
1.1. Augalų panaudojimas maisto pramonėje	14
1.1.1. Augalų komponentų antimikrobinis aktyvumas.....	15
1.1.2. Augalų antioksidacinis aktyvumas ir jo pritaikymas.....	16
1.1.3. Augalai kaip biologiškai aktyvių medžiagų šaltinis.....	22
1.2. Augalų apdorojimo būdai panaudojant juos maisto pramonėje.....	23
1.2.1. Augalų ekstraktų gamyba	23
1.2.2. Fermentacija pieno rūgšties bakterijomis	24
1.3. Tiriamųjų augalų savybės	25
1.3.1. Tikroji ybiškė (<i>Hibiscus rosa-sinensis</i> L.)	25
1.3.2. Medaus krūmas (<i>Cyclopia intermedia</i>)	26
1.3.3. Topinambai (<i>Helianthus tuberosus</i> L).....	27
1.3.4. Geltnieji lubinai (<i>Lupinus luteus</i>)	28
1.3.5. Linų sėmenys (<i>Linum usitatissimum</i>)	31
1.3.6. Soja (<i>Glycine max</i>)	32
1.3.7. Juoduogis šėivamedis (<i>Sambucus nigra</i> L.)	33
1.3.8. Kvapusis bazilikas (<i>Ocimum basilicum</i>)	36
1.3.9. Kininis cinamonas (<i>Cinammonum aromaticum</i>)	36
1.4. Augalų panaudojimas pieno produktų gamyboje	38
2. METODAI IR MEDŽIAGOS	40
2.1. Tyrimų planas	40
2.2. Tyrimų objektai.....	40
2.3. Augalų ekstraktai	41
2.3.1. Augalų ekstraktų gamyba	41
2.3.2. Ekstrakcija skirtingo poliškumo tirpikliais.....	42
2.3.3. Komerciniai CO ₂ ekstraktai	42
2.4. Antioksidacinio aktyvumo nustatymas ekstraktuose.....	43
2.4.1. DPPH [•] radikalų surišimo metodas	43

2.4.2. ABTS ^{•+} radikalų-katijonų surišimo metodas	43
2.4.3. Deguonies radikalų absorbcijos pajėgumo nustatymas (ORAC)	43
2.4.4. Bendras fenolinių junginių kiekis (BFJK).....	44
2.4.5. QUENCHER metodas	44
2.4.6. Oksipreso metodas	44
2.4.7. Ekstraktų veiklių junginių identifikavimas naudojant ESC/MS metodą	45
2.5. Mikroorganizmai ir mitybos terpės	46
2.6. Antimikrobinio aktyvumo nustatymas ekstraktuose	48
2.6.1. Difuzijos į agarą metodas	48
2.6.2. Bakterijų skaičiaus pokyčiai varškėje.....	48
2.7. Varškės gamybos technologija.....	49
2.8. Augalinių produktų fermentacija	49
2.8.1. Mikroorganizmai ir jų auginimo sąlygos.....	50
2.8.2. Augalinių raugų gamyba.....	50
2.9. Pienas naudotas raugintų pieno produktų gamybai.....	50
2.9.1. Raugintų pieno produktų gamybos technologija	50
2.10. Fiziko-cheminiai tyrimai raugintuose pieno produktuose	51
2.10.1. Raugintų pieno produktų (rūgpienio) tekstūra.....	51
2.10.2. D(-)/L(+) pieno rūgšties izomerų nustatymas.....	51
2.10.3. Biogeninių aminių nustatymo metodas.....	51
2.10.4. Spalvos koordinačių nustatymas.....	52
2.11. Mikrobiologiniai tyrimai raugintų pieno produktų	52
2.11.1. Pieno rūgšties bakterijų skaičiaus nustatymas	52
2.11.2. Koliforminių bakterijų skaičiaus nustatymas	53
2.12. Raugintų pieno produktų juslinė-profilinė analizė.....	53
2.13. Statistinė duomenų analizė.....	54
3. REZULTATAI	55
3.1. Ekstraktų ir atskirų frakcijų antioksidacinių savybių įvertinimas..	55
3.1.1. Ekstraktų antioksidacinis aktyvumas.....	55
3.1.2. QUENCHER antioksidacinis įvertinimas.....	57
3.1.3. Skirtingų augalų ekstraktų įtaka oksidacijos procesui.....	58
3.1.4. Cheminis ybiškės ir medaus krūmo augalų ekstraktų sudėties tyrimas ESC metodu	59

3.2. Ekstraktų ir atskirų frakcijų antimikrobinių savybių įvertinimas ..	61
3.2.1. Ekstraktų antibakterinis poveikis.....	61
3.2.2. Fungicidinis ekstraktų poveikis	65
3.3. Bakterijų skaičiaus pokyčiai varškėje su medaus krūmo ir ybiškės ekstraktais	68
3.4. Fiziko-cheminių rodiklių tyrimai varškėje su ekstraktais	70
3.4.1. D(-)/L(+) pieno rūgšties izomerų skaičius varškėje	70
3.4.2. Biogeninių aminių kiekis varškėje.....	71
3.4.3. Spalvos koordinacių dinamika varškėje	72
3.4.4. Varškės su ekstraktais juslinė-profilinė analizė.....	73
3.5. CO ₂ ekstraktų antioksidacinis aktyvumas skirtingose <i>in vitro</i> modelinėse sistemose	75
3.5.1. CO ₂ ekstraktų stabilumas oksidacijai	77
3.6. Antimikrobinės CO ₂ ekstraktų savybės	77
3.6.1. CO ₂ ekstraktų antimikrobinis aktyvumas	77
3.6.2. CO ₂ ekstraktų fungicidinis poveikis	79
3.7. Bakterijų skaičiaus pokyčiai varškėje su CO ₂ ekstraktais	83
3.8. Fiziko-cheminiai tyrimai varškės su CO ₂ ekstraktų priedais	85
3.8.1. D(-)/L(+) pieno rūgšties izomerų kiekis varškėje.....	85
3.8.2. Biogeninių aminių formavimasis varškėje su CO ₂ ekstraktais ..	86
3.8.3. Spalvos koordinacių dinamika varškėje	87
3.9. Juslinė-profilinė analizė varškės su CO ₂ ekstraktais	88
3.10. Fermentuotų augalinių raugų įtaka rauginto pieno produktų fizikiniams rodikliams	89
3.10.1. Raugintų pieno produktų spalvos koordinacių nustatymas	89
3.11. Fermentuotų augalinių raugų įtaka raugintų pieno produktų cheminiams rodikliams.....	90
3.11.1. Raugintų pieno produktų reologinių savybių nustatymas	90
3.11.2. D(-)/L(+) pieno rūgšties izomerų nustatymas raugintuose pieno produktuose	92
3.11.3. Biogeninių aminių kiekis raugintuose pieno produktuose.....	93
3.12. Fermentuotų augalinių raugų įtaka raugintų pieno produktų mikrobiologiniams rodikliams.....	96
3.12.1. Bendrojo mezofilinių pieno rūgšties ir koliforminių bakterijų KSV/g produkto analizė	96

3.13. Raugintų pieno produktų juslinė-profilinė analizė	97
4. REZULTATŲ APTARIMAS	100
4.1. Ekstraktų antioksidacinis aktyvumas modelinėse sistemose	100
4.2. Ekstraktų antimikrobinis aktyvumas modelinėse sistemose	106
4.3. Ekstraktų įtaka raugintų pieno produktų kokybei	110
4.4. Fermentacijos įtaka raugintų pieno produktų saugai ir kokybei ..	111
IŠVADOS.....	118
REKOMENDACIJOS	119
LITERATŪROS ŠALTINIAI	120
PASKELBTOS PUBLIKACIJOS DISERTACIJOS TEMA.....	146
KITOS PASKELBTOS PUBLIKACIJOS	146
DALYVAVIMAS KONFERENCIJOSE	146
SUMMARY	181
GYVENIMO APRAŠYMAS	207
PADĖKA	208

SUTRUMPINIMAI

μl – mikrolitras

μmol – mikromoliai

AA - antioksidacinis aktyvumas

ABTS^{•+} - 2,2'-azino-bis-3-etilbenziazolin-6-sulfono rūgšties laisvasis radikalas

AE - acetoninis ekstraktas

BA – biogeniniai aminorai

DPPH[•] - 2,2-difenil-1-pikrilhidrazilo laisvasis radikalas

EE - etanolinis ekstraktas

ESC - efektyvioji skysčių chromatografija

g- gramai

GRE – galo rūgšties ekvivalentas

Y - ybiškė

IFV - vandeninis ekstraktas, išdžiovintas purkštuvinėje džiovyklėje

IP – indukcinis periodas

JŠ – juoduogių šeivamedis

KB – kvapusis bazilikas

KC – kininis cinamonas

KF – kietafazė fermentacija

KSV – kolonijas sudarantys vienetai

KTU – Kauno technologijos universitetas

L - lubinai

LFV - liofilizuotas vandeninis ekstraktas

Lg - logaritmai

LS – linų sėmenys

LSMU – Lietuvos sveikatos mokslų universitetas

mg – miligramai

MK - medaus krūmas

MS – masių spektrofotometrija

MSK – minimali slopinančioji koncentracija

NBS – Nacionalinis spalvų skiriamosios galios slenkstis (vienetas)

ORAC - deguonies radikalų absorbcijos pajėgumas

pH – aktyvusis rūgštingumas

PRB – pieno rūgšties bakterijos

QUENCHER - oksidacijos-redukcijos reakcija kietai frakcijai

RSG – radikalų sujungimo geba

S – soja

SM – sausosios medžiagos

T – topinambai
TE – trolokso ekvivalentas
TF – tradicinė fermentacija
UAT – ultra aukšta temperatūra
UV – ultravioletiniai spinduliai
VE - vandeninis ekstraktas
 χ^2 – chi kvadratas

IVADAS

Viena svarbiausių pieno pramonėje produktų kūrimo ir jų mokslinių tyrimų krypčių – praturtinimas įvairiomis veikliosiomis dalimis (Baladė and Morrow, 2013; Lonnerdal, 2004; Martin et al., 2012). Tai susiję su tuo, kad vartotojai nori išvengti su mityba susijusių klaidų, visuomenėje stiprėja mitybos ir sveikatos sąsajų suvokimas (Sharma et al., 2011). Labiausiai auganti veikliųjų dalių sritis – įvairių augalų ir prieskonių ekstraktai (Chandrani et al., 2012). Tai atsinaujinantis biologiškai aktyvių medžiagų šaltinis, pasižymintis aromatinėmis, antioksidacinėmis bei antimikrobinėmis savybėmis (Dai and Mumper, 2010). Nemažai augalų rūšių auginama ir naudojama kaip vertingos maisto ir vaistinių preparatų sudedamosios dalys. Tačiau kai kurie aromatiniai bei prieskoniniai augalai, tarp jų – *Hibiscus rosa-sinensis* L., *Cyclopia intermedia*, *Sambucus nigra* L., *Helianthus tuberosus* L., *Lupinus luteus* ir t.t. vartojami retai. Naujų ir biologiškai aktyvių maisto sudedamųjų dalių paieška lėmė biologinių išteklių rinkimo, tyrinėjimo, naudojimo ir pritaikymo galimybes. Daugelyje vaistinių, aromatinių bei prieskoninių augalų yra daug antioksidantų, kurie svarbūs žmogaus organizmui: jie sugeria ir neutralizuoja laisvuosius radikalus, suskaldo kenksmingus peroksidus ir pasižymi antimikrobinėmis savybėmis.

Pieno produktai labai svarbus maisto pramonės segmentas. Jų kokybės, saugos ir gerinimo tyrimai aktualūs. Pieno produktų praturtinimas augalų veikliosiomis dalimis – dar mažai ištyrinėta, tačiau perspektyvi sritis. Antioksidantų, bioflavanoidų gamtoje randama visas spektras ir jie pasižymi plačiu teigiamu poveikiu žmogaus organizmui. Tai ypač aktualu, kai žmogų dėl elektromagnetinių laukų, darbo su kompiuteriu, streso bei kitų neigiamų veiksnių veikia antioksidacinis stresas, trumpinantis žmogaus gyvenimą ir spartinantis onkologinių ligų atsiradimą. Bioflavanoidus svarbu įterpti į dažniausiai vartojamus maisto produktus. Daug įvairių biologiškai aktyvių medžiagų turi augalų bei prieskonių ekstraktai (Nath et al., 2015). Pageidautina, kad jie pasižymėtų geromis juslinėmis savybėmis. Ekstraktų dėka veikliąsias medžiagas galima standartizuoti, kas būtina produktų gamybai. Gerinant produktų kokybę ir saugą, reikia tirti ekstraktų savybes tiek specialiose modelinėse sistemose, tiek gaminant pačius pieno produktus bei įvertinti šių produktų pagrindinius kokybinius rodiklius.

Gaminant pieno produktus su raugais, o tai vienas pagrindinių jų gamybos būdų, naujausios mokslo tyrimų kryptys be probiotinių kultūrų, -specialių pienarūgščių bakterijų, kurios produkuoja bakteriocinus, pritaikymas pieno produktų gamyboje. Kartu fermentuojami augalai, kurie yra baltymų ir angliavandenių šaltinis ir po fermentacijos naudojami kaip raugai produktų

gamyboje (Ivey et al., 2013). Šis kietafazės fermentacijos būdas yra ekonomiškesnis ir saugesnis, lyginant jį su įprasta fermentacija skystoje fazėje, tačiau plačiau taikomas duonos ir mėsos pramonėje, o pieno produktų pramonėje beveik netyrinėtas.

Fermentacija yra vienas pagrindinių maisto produktų perdirbimo biotechnologinių veiksnių. Besivystant biotechnologijų mokslui stengiamasi atsisakyti sintetinių maisto priedų ir juos pakeisti natūraliais. Fermentuojant galima parinkti žmogui naudingiausią fermentuojamą substratą, unikalesnes bakterijas, kurios išskiria fermentus, gaminančius iš angliavandenių įvairias rūgštis, aromatinius junginius bei gleives. Labai svarbu parinkti tokį fermentacijos būdą, kuris pasižymėtų maksimaliu fermentų išskyrimu, jų glikolitiniu, proteolitiniu aktyvumu, kas leistų sukurti naujos kartos produktus, turinčius maksimalų kiekį biologiškai aktyvių junginių (Vidmantienė ir Juodeikienė, 2012; Rodríguez and Sanromán, 2006).

Labai svarbu su maistu gaunamų antioksidantų kiekį pagausinti vartojant natūralius produktus (augalus, ekstraktus) arba padidinti natūralių augalinės kilmės antioksidantų naudojimo galimybes gaminant įprastus maisto produktus. Tuo tikslu disertacija buvo skirta aromatinių, prieskoninių augalų ekstraktų fitocheminei sudėčiai ir antimikrobinėms savybėms bei fermentuotiems raugams, ir jų pritaikymui pieno produktų gamybos grandinėje.

Darbo tikslas

Įvertinti tiriamųjų augalų bei prieskonių ekstraktų antimikrobines, fitochemines, antioksidacines savybes raugintų pieno produktų saugai ir funkcionalumui didinti.

Uždaviniai:

1. Palyginti augalų ekstraktų pagamintų skirtingais metodais ir tirpikliais cheminę sudėtį ir išeigos pokyčius;
2. Nustatyti augalų ekstraktų, paruoštų skirtingais metodais antioksidacines ir antimikrobines savybes modelinėse sistemose;
3. Įvertinti augalų ekstraktų pritaikymą raugintų pieno produktų matricose;
4. Nustatyti augalinių produktų, fermentuotų bakteriocinus produkuojančiomis pieno rūgšties bakterijomis (*Pediococcus pentosaceus* KTU05-9, *Pediococcus acidilactici* KTU05-7, *Lactobacillus sakei* KTU05-6) įtaką raugintų pieno produktų kokybės rodikliams;

5. Įvertinti ir atrinkti perspektyviausius jusliškai priimtinus augalus, kurie didina raugintų pieno produktų saugą ir gerina kokybę.

Darbo naujumas ir praktinė reikšmė

Praktinis augalų ekstraktų pritaikymas pieno produktų gamyboje – didelio naujumo ir plačios apimties mokslinis darbas reikalaujantis įvertinti daugybę rodiklių. Iš atrinktų augalų skirtingais išskyrimo būdais pagaminti įvairūs maistiniai ekstraktai. Nustatytos ekstraktų pagrindinės biologiškai aktyvios medžiagos, antioksidacinis ir antimikrobinis aktyvumas modelinėse ir realiose pieno produktų sistemose ir jų juslinės savybės galutinio produkto priimtinumui.

Vieni pirmųjų ištyrėme kietafazės fermentacijos būdu skirtingomis pieno rūgšties bakterijomis fermentuotų augalinių raugų pritaikymą pieno produktų gamyboje.

Produktų praturtinimas augalų veikliosiomis dalimis (tiek ekstraktų ir raugų pavidalu) suteikia pieno pramonei naują marketingo potencialą. Mūsų tyrimai atveria kelius praktiniam pritaikymui – naujų funkcionaliųjų pieno produktų kūrimui.

Darbo apimtis

Darbą sudaro įvadas, literatūros apžvalga, tyrimų objektai ir metodai, tyrimų rezultatai, diskusija, išvados, rekomendacijos, publikacijų disertacijos tema sąrašas, dalyvavimas konferencijose, padėka, gyvenimo aprašymas, darbe naudoti literatūros šaltiniai (309 šaltiniai). Darbo apimtis 208 puslapiai, iliustruota 15 lentelių ir 39 paveikslų.

1. LITERATŪROS APŽVALGA

1.1. Augalų panaudojimas maisto pramonėje

Ivairūs aromatiniai, prieskoniniai augalai, jų ekstraktai ir eteriniai aliejai nuo seno naudojami liaudies medicinoje, maisto pramonėje, kosmetikoje ir farmacijoje kaip natūralios, aplinkai nekenksmingos medžiagos, pasižyminčios antimikrobinėmis savybėmis. Jie gali pakeisti prieskonius ir suteikti produktui naują skonį, o kartu slopinti nepageidaujamų mikroorganizmų dauginimąsi (Preethi et al., 2010; Sultanbawa, 2011). Augalai bei jų ekstraktai yra perspektyvūs natūralių antioksidantų ir biologiškai aktyvių medžiagų šaltiniai, nes papildo maistą sveikatai naudingais junginiais.

Prieskoninių augalų ekstraktams ir eteriniams aliejams būdingas stiprus aromatas dėl juose esančių lakiųjų junginių. Yra žinoma apie 2500 eterinius aliejus sukaupiančių augalų rūšių: notrelinių, salierinių, astrinių, erškėtinių, mirtinių, pušinių, kiparisinių, bastutinių ir kt. Šių augalų eteriniuose aliejuose identifikuota per 500 aromatų sudarančių medžiagų. Daugiausia eterinių aliejų sukaupia šilto klimato augalai (Djlani and Dicko, 2012).

Augalų ekstraktų ir eterinių aliejų, suteikiančių augalams charakteringą aromatą, cheminę sudėtį ir antimikrobinės savybės priklauso nuo augalo rūšies, porūšio, geografinės vietovės, vartojamo augalo dalies ir agrokultūrinių faktorių (klimatinių sąlygų, kuriose jis augo, dirvožemio, derliaus nuėmimo laiko) bei žaliavos paruošimo. Eterinių aliejų savybės taip pat lemia juose esančios funkcinės grupės, pvz., antimikrobinis aktyvumas glaudžiai siejasi su kintančių dalių santykiu aktyviuose eterinių aliejų komponentuose (Ozkan et al., 2003). Be to, nustatyta, jog augalų ekstraktų ir eterinių aliejų aromatas bei antimikrobinis poveikis gali kisti maisto produktų gamybos, ypač terminio apdorojimo metu (Ramya et al., 2008). Ne mažiau svarbu prieš naudojant eterinių aliejų komponentus atkreipti dėmesį į jų veikliųjų medžiagų aplikavimo metodus bei galimą sąveiką su maisto žaliavose esančiomis endogeninėmis ir egzogeninėmis medžiagomis (Jayakumararaj, 2008; Ponce et al., 2011).

Pastaruoju metu augalų ekstraktai ir eteriniai aliejai maisto pramonėje naudojami vis dažniau, siekiant apsaugoti maisto produktus nuo mikrobiologinio gedimo ir užtikrinti maisto saugą bei kokybę (Sacchetti et al., 2005). Tačiau mėsos pramonėje eterinių aliejų panaudojimas tebėra ribotas, daugiausia dėl intensyvaus aromato ir mėsos juslinių savybių pokyčių (Sacchetti et al., 2005).

Siekiant efektyviau panaudoti prieskonių ekstraktus maisto pramonėje – būtini išsamūs jų cheminės sudėties tyrimai. Tai suteiktų svarbios informacijos parenkant perspektyviausias augalų rūšis ir įgyvendinant konkrečius praktinius tikslus – siekiant papildyti maisto produktus biologiškai aktyviais komponentais, valdyti maisto oksidacinio ir mikrobiologinio gedimo procesus, išvengti kenksmingų junginių susidarymo maisto terminio apdorojimo metu (Huiyun, 2009).

1.1.1. Augalų komponentų antimikrobinis aktyvumas

Augalų antimikrobinis mechanizmas, augalų antimikrobinės savybės yra aromatinių, vaistinių ir prieskoninių augalų eterinių aliejų ir jų ekstraktų, kurie veikia ir stabdo mikroorganizmų augimą. Stipresnėmis antimikrobinėmis savybėmis prieš patogeninius ir maiste plintančius nepageidaujamus mikroorganizmus pasižymi tie aromatinių ir prieskoninių augalų ekstraktai ir eteriniai aliejai, kuriuose didesni fenolinių junginių, tokių kaip karvakrolis, eugenolis, timolis kiekiai (Munuswamy et al., 2013).

Pagrindinės augalų ekstraktų veikliosios medžiagos yra: bioflavonoidai, saponinai, fenoliniai junginiai, vitaminai ir mineralinės medžiagos, eteriniai aliejai, chlorofilas, polisacharidai, glikozidai, terpenai, rauginės medžiagos. Maisto produktų gamybos metu svarbu įvertinti šių veikliųjų medžiagų stabilumą. Sausoje augalų maseje vertingų komponentų kiekis gali siekti 1–3%, jie gana sunkiai atskiriami nuo natūralios matricos. Distiliuojant vandens garais išskiriamos medžiagos su žema virimo temperatūra, kur vyksta komponentų denatūracija ir kiti nenaudingi pokyčiai. Organiniai tirpikliai – acetonas, heksanas, izopropanolis, etanolis leidžia gauti vertingesnius pagal sudėtį ekstraktus, nes juose lieka daugiau įvairių medžiagų ir komponentų.

Viena geriausiai ištirtų augalų veikliųjų medžiagų yra antocianinai. Tai natūralūs flavonoidų grupės pigmentai, kurie savo ruožtu yra augalų metabolitai, turintys antioksidacinių savybių. Flavonoidų poveikis sveikatai buvo intensyviai tyrinėtas pastaruosius 10 metų, manoma, kad flavonoidai gali apsaugoti nuo pažeidimo, kurį kraujo kūneliuose sukelia cholesterolis. Flavonoidų yra daugelyje daržovių, vaisių, uogų ir gėrimų (arbatoje, vyne, vaisių sultyse) (Sekmokienė et. al., 2007).

Augalų ekstraktų ir eterinių aliejų antimikrobinės savybės vertinamos tiek laboratorinėmis sąlygomis su testavimo kultūromis, tiek tiriant jų konservuojantį poveikį maisto sistemose. Iš įvairių augalų gautų medžiagų baktericidinės savybės ir dozės yra labai nevienodos, o kai kurių augalų ekstraktų ir didesnės koncentracijos nėra efektyvios, todėl tiriamieji darbai nuolat atliekami, nustatomi veiksmingi augalų ekstraktai, bandomos jų tarpusavio kompozicijos ar mišiniai su kitomis medžiagomis, nes derinių

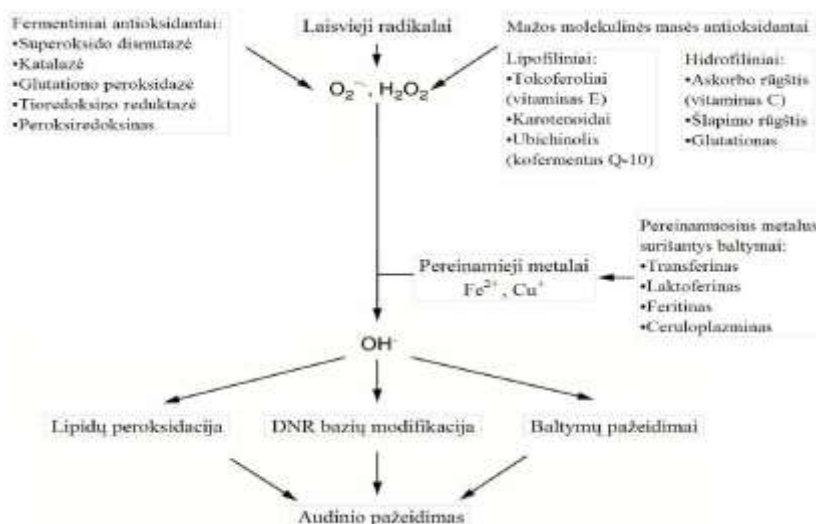
poveikis dažnai esti stipresnis. Rattanachaikunsopon su bendraautoriais (2010) nustatė, kad blakinės kalendros (*Coriander sativum*) aliejus bakteri-cidiškai veikė prieš *C. jejuni in vitro*. Produktų paviršiaus apdorojimas anti-mikrobinėmis medžiagomis padeda stabilizuoti mikrobiologinius rodiklius. Nors augalų komponentų poveikis plačiai apžvelgtas tam tikrų medžiagų ir sudėtinių komponentų, bet remiantis mokslinė literatūra sudėtinga įvertinti sąsają tarp konkrečių augalo junginių ir antimikrobinio aktyvumo.

1.1.2. Augalų antioksidacinis aktyvumas ir jo pritaikymas

Antioksidantas – tai medžiaga, kuri efektyviai redukuoja prooksidantą sudarydama netoksiškus arba mažai toksiškus junginius, taip išvengiami arba sumažinami biologinių taikinių oksidaciniai pažeidimai. Tikslesnį antioksidanto apibrėžimą pasiūlė Halliwell su mokslininkų grupe (1995). Jie teigia, kad antioksidantas tai tokia medžiaga, kurios net ir mažos koncentracijos, palyginus su oksiduojama medžiaga, geba reikšmingai sumažinti arba visiškai apsaugoti biologinius taikinius nuo oksidacijos. Taigi pagal šį apibrėžimą ne visi reduktoriai dalyvaujantys biocheminėse reakcijose yra antioksidantai. Tik tie junginiai, kurie geba apsaugoti biologinius taikinius, atitinka antioksidantui keliamus reikalavimus (Stanner et al., 2004). Antioksidantai žmogaus organizme sudaro sudėtingą daugiakomponentinę gynybinę sistemą, kuri užtikrina reaktyvias deguonies (ROS) ir azoto (RNS) radikalų ir neradikalų sujungimą, modifikaciją, slopinimą arba ardymą. Antioksidantinę ląstelės apsaugą sudaro: fermentiniai antioksidantai, pereinamuosius metalų jonus surišantys baltymai ir mažos molekulinės masės antioksidantai (1 pav.) (Young, 2001).

Daugelis ROS/RNS pažeidžia pačius fermentinius antioksidantus ir sutrikdo jų veiklą. Mažos molekulinės masės antioksidantai geba priimti arba atiduoti elektronus minėtoms ROS/RNS formoms ir sudaryti stabilūs, nežalingus bioproduktus. Tai labai svarbus antioksidantinės sistemos papildymas. Mažos molekulinės masės antioksidantai skirstomi į tirpius riebaluose (lipofilinius) ir tirpius vandenyje (hidrofilinius). Pagrindinis lipofilinis antioksidantas yra vitaminas E - apsaugo ląstelių membranas nuo oksidacijos (Halliwell, 2007). Karotenoidai – tai grupė riebaluose tirpių antioksidantų. Svarbiausias iš jų yra β -karotenas.(Garrett et al., 2010). Mažose deguonies koncentracijose jų aktyvumas panašus α -tokoferolio antioksidantinį aktyvumą. Tam tikri karotenoidai yra vitamino A (retinolio) prekursoriai. Vitaminas A taip pat turi antioksidantinių savybių, kurių efektyvumas nepriklauso nuo deguonies koncentracijos ląstelėje (Kazakevich and Lobrutto, 2007).

Daugelis mažos molekulinės masės antioksidantų (vitaminai E ir C, karotenoidai) žmogaus organizme nesintetinami. Jie gaunami su maistu. Augalinės kilmės maisto produktuose be minėtų antioksidantų gausu ir kitų biologiškai aktyvių medžiagų, kurių didžiąsą dalį sudaro fenoliniai junginiai (Liu, 2004). Pastaruoju metu didėja susidomėjimas fenolinių junginių antioksidantinėmis savybėmis. Kaip natūralūs priedai jie vis plačiau taikomi maisto ir kosmetikos pramonėje (Bouaziz et al., 2005).



1 pav. Pagrindiniai ląstelės antioksidantinės apsaugos komponentai.

Augalų antioksidantai ir jų poveikio mechanizmai.

Antioksidantai įvairiais veikimo mechanizmais geba neutralizuoti žalingas reaktyvias deguonies ir azoto formas. Jų vartojimas sustiprina ląstelės antioksidantinės apsaugos sistemas bei padeda atkurti pažeistas struktūras (Di Majo et al., 2011). Epidemiologiniais tyrimais įrodytas antioksidantų gebėjimas mažinti ar visai sustabdyti daugelio lėtinių ligų progresavimą (Surveswaran et al., 2007).

Preliminarūs augalinių žaliavų antioksidantinio aktyvumo tyrimai atliekami *in vitro* analitiniais metodais. *In vitro* modelinėse sistemose fenolinių junginių kaip potencialių antioksidantų savybės įvertinamos sąlyginai paprastose ir kontroliuojamų parametrų sąlygose, tik po to jie tiriama realiose organizmo terpėse *in vivo* (Haliwell, 2007). Taikomi įvairūs antioksidantinio aktyvumo įvertinimo metodai pagrįsti skirtingais veikimo mechanizmais.

Įvairių augalų tiek vaistinių ar prieskoninių antioksidacinis aktyvumas tiriamas panaudojant modelines sistemas su įvairiais radikalais. Literatūroje

minimos fenolinių junginių aktyvumo įvertinimo metodai (Balasundram et al., 2006):

1. ABTS^{•+} metodas (2,2-azino-bis(3-etilbenzotiazolinas)-6 sulfoninės rūgšties radikalo sujungimas);
2. DPPH[•] metodas (2,2-difenil-1-pikrihidrazilo radikalo sujungimas);
3. ORAC (deguonies radikalų absorbcijos geba);
4. Kraujo eritrocitų hemolizė (apsaugoti biologiniam bandiniui);
5. ESR (elektronų spinų rezonanso tiesioginiam laisvųjų radikalų įvertinimui);
6. FRAP (geležies redukcijos jėga) (angl. ferric reducing antioxidant power) ir kt.

Daugelis junginių priklausomai nuo pasirinktos metodikos rodo skirtingą aktyvumą. Belgijos mokslininkai penkiais skirtingais metodais palygino 25 junginių antioksidacinį aktyvumą, skirtingų metodų rezultatai buvo išreikšti Trolokso ekvivalentu (1 lentelė). Rezultatai rodo, kad junginių laisvųjų radikalų sujungimas skirtingais metodais reikšmingai skiriasi. Naringeninas su ABTS^{•+} ir DPPH[•] radikalais visiškai nerodė jokio aktyvumo. Su šiais radikalais flavonoidų antioksidacinis aktyvumas mažesnis lyginant su kitais radikalais. Chlorogeno ir galo rūgščių aktyvumas didesnis su ABTS^{•+} radikalu nei su DPPH[•] radikalu ar hemolizės atveju. Elago rūgštis rodo beveik vienodą aktyvumą su abejais radikalais (Balasundram et al., 2006).

Wojdylo su bendraautorais (2007) ištyrė 32 augalus iš 21 skirtingos augalų šeimos, o antioksidacinį aktyvumą nustatė - ABTS^{•+} ir DPPH[•] radikalais bei FRAP metodu. Įvertino atskiros augalo dalies antioksidacinį aktyvumą, rezultatai parodė, kad didžiausią aktyvumą parodo FRAP metodas, kurio rezultatai 65,7 μ M, o su ABTS^{•+} ir DPPH[•] radikalu, atitinkamai 12,3 μ M ir 34,3 μ M. Nustatyta stipri koreliacija tarp bendro fenolinių junginių kiekio (BFJK) ir skirtingų antioksidacinio įvertinimo metodų. Pavyzdžiui, *Labiatae* šeimos rūšims BFJK su ABTS^{•+}, DPPH[•] radikalais ir FRAP metodu, atitinkamai yra $r^2=0,93$, $r^2=0,84$ ir $r^2=0,91$, o *Compositae* šeimos rūšims analogiškai koreliacijos koeficientai yra 0,96, 0,67 ir 0,92.

Antioksidacinio aktyvumo įvertinimai atliekami modelinėse sistemose, t.y. *in vitro*, tačiau yra atliktų tyrimų ir su gyvais organizmais, sukeliant ląstelėse oksidacinį šoką natrio meta-arsenitu ir veikiant silimarino ekstraktais. Taip stebimas silimarino antioksidacinis poveikis (Beekwilder et al., 2005).

1 lentelė. Fenolinių junginių antioksidacinis aktyvumas išreikštas Trolokso ekvivalentu (mmol/TEmmol).

Junginys	ABTS ^{•+}	DPPH [•]	ORAC	Hemolizė	ESR
Kvercetas	1,8	0,9	4,2	1,6	16,0
Kampferolis	0,5	0,8	6,2	0,2	2,7
Rutinas	0,6	1,0	4,6	1,8	5,1
Naringeninas	0,0	0,0	5,6	1,6	0,2
Katechinas	1,1	0,8	7,9	1,7	0,2
Epikatechinas	1,3	1,0	5,1	1,5	11,5
Chlorogeno rūgštis	1,3	0,9	5,3	1,2	18,4
Elago rūgštis	0,7	0,8	2,9	0,2	13,5
Galo rūgštis	2,1	0,9	1,0	0,7	24,9

Populiariausi elektronų perdavimu pagrįsti antioksidantinio aktyvumo tyrimo metodai yra DPPH[•] radikalų ir ABTS^{•+} radikalų-katijonų surišimo įvertinimas bei FRAP ir CUPRAC jonų redukcijos antioksidantinės galios nustatymas (Wootton-Beard et al., 2011). Šiuose methoduose vyksta reakcija tarp tiriamo antioksidanto ir žinomo prooksidanto, kurios metu kinta tirpalo absorbcijos spektras regimosios šviesos srityje. Dažniausiai taikomas spektrofotometrinis absorbcijos pokyčio detekcijos būdas (Tawaha et al., 2007). Jo privalumai yra greita, paprasta ir patikima analizė. Tačiau, spektrofotometrinis metodas įvertinamas suminis visų sudėtinuose mišiniuose esančių aktyvių junginių antioksidacinis aktyvumas (Wojdylo et al., 2007). Kartu apimamos sąveikos (įvairios priemaišos, skatinantys ar slopinantys efektai) tarp skirtingų antioksidantų. Kiekvieno junginio atskyrimas ir jo individualus tyrimas yra brangus ir neefektyvus dėl didelio antioksidantų skaičiaus, įvairovės ir kompleksiskumo augalinėse žaliavose ir biologiniuose pavyzdžiuose.

Laisvieji radikalai modelinėse sistemose.

Laisvieji radikalai - aktyviosios molekulės, atakuojančios ląstelių membranas, DNR (genetinę ląstelių informaciją), sukeliančios vėžines bei degeneracines ligas (Alonso et al., 2005). Laisvieji radikalai ir aktyvios deguonies formos įvardijami kaip daugelio chroninių ligų pavojingiausi ir svarbiausi veiksniai (2 lentelė). Radikalai ir aktyvios deguonies formos yra tarpininkai tarp lėtinių, uždegiminių ir imuninių ligų, bei senėjimo procesų.

Daugelis laisvųjų radikalų yra nestabilūs, kadangi nesuporuoti elektronai linke, ieškodami elektrono - porininko, intensyviai reaguoti su kitomis molekulėmis. Imuninei sistemai laisvieji radikalai reikalingi tam, kad organizmas galėtų kovoti su bakterijomis ar virusais, tačiau jų perteklius organizmui žalingas, kadangi jie kenkia DNR, baltymams ir lipidams –

svarbiausioms žmogaus organizmo bio-molekulėms. Tokie žalingo pobūdžio oksidaciniai poveikiai yra antioksidantai įvairiais veikimo mechanizmais geba neutralizuoti žalingas ROS/RNS formas. Jų vartojimas sustiprina ląstelės antioksidantinės apsaugos sistemas bei padeda atkurti pažeistas struktūras (Devasagayam et al., 2004). Epidemiologiniais tyrimais įrodytas antioksidantų gebėjimas mažinti ar visai sustabdyti daugelio lėtinių ligų progresavimą (Surveswaran et al., 2007). Didėja susidomėjimas augaluose aptinkamų natūralių antioksidantų apsauginėmis savybėmis ir jų taikymu profilaktiniams tikslams (Yanishlieva et al., 2006).

Elektronų pernaša yra vienas svarbiausių procesų chemijoje ir biologijoje. Medžiaga, kuri geba prisijungti elektronus, yra oksidatorius ir cheminė reakcija vadinama redukcija. Priešingai, medžiaga atiduodanti elektronus – reduktorius, o cheminė reakcija apibrėžiama kaip oksidacija (Kohen and Nyska, 2002). Reduktoriaus elektronų perdavimas oksidatoriui lemia tai, kad reduktorius yra oksiduojamas, o oksidatorius – redukuojamas.

2 lentelė. Dažniausiai biologinėse sistemose sutinkami ROS/RNS radikalai ir neradikalai.

	Reaktyvios deguonies formos (ROS)		Reaktyvios azoto formos (RNS)	
Radikal	Hidroksilo r	HO [•]	Azoto monoksido r	NO [•]
	Superoksido r	O ₂ ^{•-}	Azoto dioksido r	NO ₂ [•]
	Alkoksilo r	RO [•]	-	-
	Peroksilo r	ROO [•]	-	-
Neradikalai	Vandenilio peroksidas	H ₂ O ₂	Diazoto trioksidas	N ₂ O ₃
	Singletinis deguonis	¹ O ₂	Peroksinitrito anijonas	ONOO ⁻
	Ozonas	O ₃	Peroksinitrito rūgštis	ONOOH
	Hipochlorito rūgštis	HOCl	Nitrozoperoksikarbonatas	ONOOOCO ₂ ⁻
	Hipobromito rūgštis	HOBr	-	-

Fenoliniai junginiai – augaliniai antioksidantai.

Fenoliniai junginiai arba polifenoliai yra augaluose vykstančių biocheminių procesų (pentozo fosfatų, šikimo rūgšties ir fenilpropanoidų metabolinių kelių) antriniai metabolitai (Balasundram et al., 2006). Juos taip pat sintetina kai kurios grybų, dumblių, bakterijų rūšys. Fenoliniai junginiai svarbūs augalų vystymuisi ir dauginimuisi. Jie kaip cheminiai signalai dalyvauja ląstelinių ir tarpląstelinių fiziologinių procesų valdyme, o kaip vaizdiniai signalai privilioja apdulkinančius vabzdžius. Polifenoliai apsaugo augalus nuo įvairių patogeninių mikroorganizmų, žalingo UV-B spindulių poveikio ir oksidacinio streso (Korkina, 2007).

Fenolinių junginių struktūrai būdinga nuo vieno iki kelių aromatinių žiedų, kurie turi vieną arba keletą funkcinių hidroksilo grupių. Augaluose

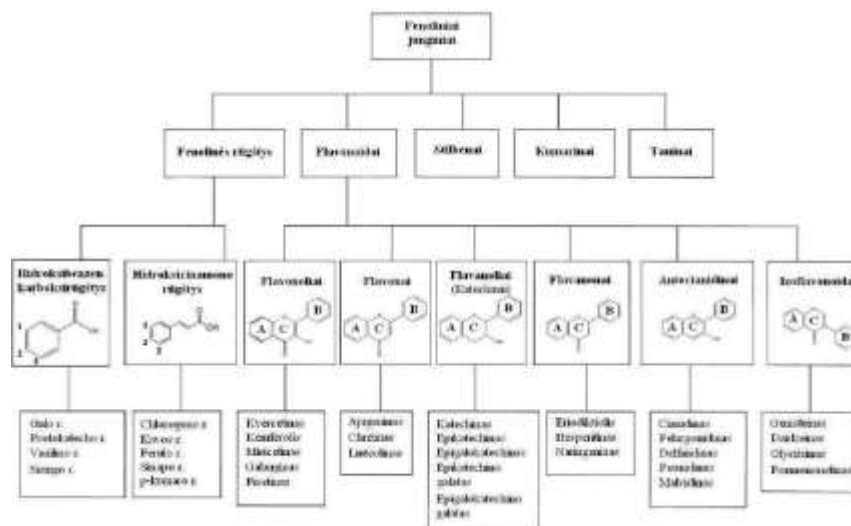
polifenoliai dažniausiai sutinkami konjuguoti su įvairiais mono- ar polisacharidais, prisijungę vieną ar kelias fenolines grupes, arba kaip funkciniai esterių ir metil-esterių dariniai (Korkina, 2007). Fenoliniai junginiai pagal molekulės struktūrą skirstomi į 5 klases: fenolinės rūgštys, flavonoidai, stilbenai, kumarinai ir taninai (2 pav). Fenolinės rūgštys ir flavonoidai daugiausia junginių turinčios ir labiausiai ištirtinės klasės (Bravo, 1998).

Flavonoidai sudaro didžiausią fenolinių junginių grupę. Jiems priskiriama daugiau kaip pusė visų žinomų polifenolių. Tai yra mažos molekulinės masės junginiai, sudaryti iš 15 anglies atomų ir charakteringos C₆-C₃-C₆ konfigūracijos.

Fenolinių junginių gausu vaisiuose, daržovėse, gėrimuose ir kituose augalinės kilmės maisto produktuose. Polifenoliai laikomi nemaistinais bioaktyviais mitybos komponentais, kurie pasižymi priešuždegiminiu, antialerginiu, antibakteriniu, priešvirusiniu, antioksidantiniu, antitrombogeniniu, priešvėžiniu poveikiu (Liu, 2004). Epidemiologiniais tyrimais įrodyta, kad didelis fenolinių junginių kiekis žmogaus mityboje mažina riziką susirgti lėtinėmis ligomis (Hollman, 2001). Polifenolių nauda sveikatai siejama su jų antioksidantinėmis savybėmis. Daugelio fenolinių junginių antioksidantinis aktyvumas yra daug didesnis nei gerai žinomų antioksidantų askorbo rūgšties ir vitamino E (Prior and Cao, 2000).

Fenolinių junginių antioksidantinis aktyvumas įrodytas daugybe *in vitro* tyrimų. Jie geba tiesiogiai surišti biologinėse sistemose aptinkamus žalingus O₂^{•-}, HO[•], ROO[•] ir NO[•] radikalus, neradikalinės prigimties ONOO⁻, O₂, H₂O₂ ir HOCl rūgštį (Christe et al., 2011), taip pat nefiziologinius radikalus, tokius kaip DPPH[•] ir ABTS^{•+}. Polifenolių gebėjimas sujungti pereinamųjų metalų jonus (ypatingai Fe²⁺ ir Cu⁺), apsaugo ląsteles nuo jų generuojamų laisvųjų radikalų sukkelto oksidacinio streso (Mira et al., 2002).

Fenolinių junginių struktūros - aktyvumo ryšys biologinėse sistemose tampa daug sudėtingesnis, kadangi antioksidantinis aktyvumas labai priklauso nuo jų pačių fiziko cheminių savybių. Polifenolių struktūros-aktyvumo ryšys priklauso ne vien tik nuo naudojamų modelių sistemų ir biologinių taikinių, bet ir nuo taikomų priemonių oksidacijai sukelti bei metodo oksidacijos mastui įvertinti. Augalinėse žaliavose aptinkama fenolinių junginių įvairovė pasižymi skirtingu antioksidantinio poveikio stiprumu ir įvairiais veikimo mechanizmais.



2 pav. Fenolinių junginių klasifikacija.

1.1.3. Augalai kaip biologiškai aktyvių medžiagų šaltinis

Augalai yra atsinaujinantis biologiškai aktyvių, antioksidacinėmis, antimikrobinėmis bei aromatinėmis savybėmis pasižyminčių junginių šaltinis. Polifenoliniai junginiai – svarbi augalinių biologiškai aktyvių junginių grupė (3 pav.), turinti organizmą stiprinantį poveikį ir sauganti nuo ligų (El Gharas, 2009). Daug epidemiologinių tyrimų įrodė reikšmingą koreliaciją tarp polifenolinių junginių turtingų maisto produktų vartojimo ir sumažėjusios rizikos sirgti širdies ir kraujagyslių, neurodegeneracinėmis ligomis, vėžiu (Burnette et al., 2012). Polifenoliniai junginiai lemia stiprų antioksidacinį, antimikrobinį, uždegimo slopinamąjį, antivirusinį, antialerginį, vazodilatacinį poveikį (Pandey and Rizvi, 2011). Jie slopina riebalų peroksidaciją, trombocitų agregaciją, mažina kapiliarų pralaidumą ir trapumą (Pandey et al., 2010).

Linalolis	1,8 cineolis	Karvakrolis	Tujonas	Terpinen-4-olis

3pav. Kai kurių grupių polifenoliniai junginiai ir jų cheminės formulės.

1.2. Augalų apdorojimo būdai panaudojant juos maisto pramonėje

Augalų, jų ekstraktų ir eterinių aliejų naudojimas maisto pramonėje laikomas efektyvia alternatyva cheminėms medžiagoms priskiriamos maisto konservantams. Augalai tai šaltinis natūralių antioksidantų, maisto papildų, kuris padeda išsaugoti ir pagerinti maisto produktų kokybę ir prailginti realizaciją (Rymbai et al., 2011). Natūralių augalų, kaip antimikrobinių medžiagų naudojimas gali būti puiki alternatyva mažinant priklausomybę antibiotikams, mažinti per maistą plintančių mikroorganizmų skaičių ir jų sukėlėjus (Voon et al., 2012).

Pagal taikomumą augalai yra aliejiniai, aromatiniai, dažiniai, dekoratyviniai, derviniai, maistiniai, narkotiniai, nuodingieji nektaringieji, pluoštiniai, prieskoniniai, saponiniai, stimuliuojantys, tanidiniai, techniniai (Rymbai et al., 2011).

1.2.1. Augalų ekstraktų gamyba

Maisto pramonėje dažniausiai naudojami augalų ekstraktai, kadangi juos galima standartizuoti pagal veikliąsias dalis, jie neturi mikrobinės taršos. Ekstrakcija – tai biologiška aktyvių junginių išskyrimas iš augalo, naudojant selektyvius tirpiklius ir standartines procedūras. Ekstrakcijos metu išgaunami tirpūs augalo metabolitai, o netirpi ląstelinė dalis paliekama. Produktas, gautas po augalo ekstrakcijos, dažniausiai – metabolitų mišinys, kuris esti skystos, pusiau kietos ar kietos (pašalinus tirpiklį) formos (Handa et al., 2008).

Skystieji ekstraktai - tai skystos frakcijos junginių mišinys išgautas iš augalo naudojant pasirinktą tirpiklį (vandeninį, lipidinį ar alkoholinį), kuriame ištirpsta augalo veiklieji junginiai (Koch and Malek, 2011). Pagrindiniai parametrai įtakoiantys ekstrakto kokybę, tai - žaliava, tirpiklis, ekstrakcijos technologija ir gamybos sąlygos (Odey et al., 2012).

Ekstrakcija organiniais tirpikliais populiari dėl savo paprastumo ir efektyvumo. Soksleto ekstrakcija gana ilgas procesas, ekstrahuojami junginiai turi pasižymėti terminiu stabilumu tirpiklio virimo temperatūroje (Subramaniam et al., 2008). Jų metu optimizuojami parametrai yra organinis tirpiklis, trukmė ir temperatūra. Šiais metodais dominančios analitės išekstrahuojamos selektyviai parinkus tirpiklį, pašalinamos priemaišos (pvz., lipidai, chlorofilas). Dažniausiai naudojamas tirpiklis yra metanolis.

Maceracijos būdu gaminami ekstraktai – žaliavą susmulkinus patalpinamas į uždara talpyklę ir paliekamas stovėti kelioms dienoms pasirinktame tirpiklyje. Gautas ekstraktas nukošiamas, pašalinama kieta medžiaga,

nufiltruojamas ar dekantuojamas. Pagrindinis maceracijos minusas – trukmė (Handa et al., 2008).

Perkoliacija – tai ekstrakcijos metodas, kurio metu naudojamas perkoliatorius, kuriame susmulkinta medžiaga sudrėkinama ir ekstrahuojama iki 4 valandų ekstrakciniame tirpiklyje. Paruošta medžiaga pa į perkloruojama, maceruojama ir surenkamas susidaręs skysčio kiekis, kuris koncentruojamas, dekanuojamas ir gaunamas galutinis ekstraktas. Priklausant nuo paruošimo būdo, ekstraktai turi apie 15 - 80% alkoholio, kuris apsaugo nuo mikroorganizmų dauginimosi bei tirpdo alkoholyje tirpius ekstraktyvus.

1.2.2. Fermentacija pieno rūgšties bakterijomis

Dažniausiai iš raugų išsiskiriančios PRB priklauso *Lactobacillaceae* šeimai. Šiai šeimai priklausančios bakterijos yra gramteigiamos, katalazei neigiamos, nesudaro sporų, aerotolerantiškos arba mikroaerofilinės, reiklios angliavandenių, aminorūgščių, peptidų, mineralinių medžiagų, nukleorūgščių ir vitaminų, atžvilgiu. Jų energijos pagrindinis metabolizmo produktas – pieno rūgštis. Svarbiausios: *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Lactococcus* ir *Streptococcus* genčiai priklausančios PRB (Pot and Tsakalidou, 2009).

PRB atsakingos už fermentacijos procesą, nes gamina natūraliems biokonservantams priskiriamus junginius, užtikrinančius produkto kokybę ir saugą. PRB pripažintos saugiomis, o jų gaminami bakteriocinai laikomai natūraliais inhibitoriais. PRB parenkamos pagal pageidaujamą gauti poveikį technologiniam procesui ir galutiniam produkto kokybei. Parinkus atitinkamas pradines kultūras, galima pagerinti produktų su PRB raugo aromatą, reologines ir juslines savybes (Juodeikienė et al., 2008), taip pat išvengti mikrobiologinio gedimo (Gerez et al., 2009).

Pirmą kartą PRB buvo išskirtos iš pieno ir nuo tada buvo rastos daugybėje fermentuotų maisto produktų: pieno produktuose, mėsoje, daržovėse, gėrimuose ir duonoje. PRB randamos ir natūraliai fermentuotame maiste, jų aptikta ir druskoje, vandenyje, mėšle, nuotekose ir gyvūnuose. Be to keletas PRB yra burnos mikrofloros dalis ir gali būti dantų karieso atsiradimo priežastimi. PRB bakterijos gali sugadinti tokius maisto produktus kaip mėsa, žuvis ar gėrimai. Jos gali būti naudojamos kaip skoninės ir tekstūrinės medžiagos ir konservantai.

Žemas pH ir didelis rūgštingumas padidina lipidų tirpumą ir difuziją per ląstelių membraną į citoplazmą. Taip pat PRB produkuoja acetaldehidą, H₂O₂, diacetilą, CO₂, polisacharidus ir bakteriocinus, iš kurių dalis gali veikti antimikrobiškai (Beasley, 2004).

1.3. Tiriamųjų augalų savybės

1.3.1. Tikroji ybiškė (*Hibiscus rosa-sinensis* L.)

Tikroji ybiškė arba kinrožė (*Hibiscus rosa-sinensis* L.) dedešvinių (*Malvaceae*) šeimos vaistinis-dekoratyvinis daugiametis augalas, kilusi iš atogrąžų Azijos. Nustatyta, kad *H. rosa-sinensis* biologiškai aktyvios medžiagos veikia, kaip stiprūs antioksidantai, todėl gali būti alternatyva farmakologijoje ir vėžio gydyme (Maganha et al., 2009), apsaugo nuo ultravioletinės spinduliuotės, vidurių užkietėjimui ir viduriavimui, širdies ligoms, amnezijai (Nade et al., 2011). Oboh and Shodehinde (2009) atlikti tyrimai parodė, kad turi biologiškai aktyvių medžiagų, kurios gali būti naudojamos daugelio ligų gydymui. Rosen (2001) atlikti tyrimai parodė, kad *H. rosa-sinensis* ekstraktai geba surišti laisvuosius radikalus, apsaugodami nuo oksidacinio streso, diabeto, hipertenzijos, uždegiminių procesų ir vėžio. Khan su bendraautoriais (2014) nustatė, kad metanoliniai ybiškės ekstraktai turi įtakos infekcinių ligų gydymui ir narkotinių medžiagų priklausomybei.

Maisto pramonėje naudojama dėl rūgštoko, malonaus skonio, ir sodrios rubino spalvos. Taip pat puikus vitamininis priedas, kuris turėdamas daug vitamino C, saugo organizmą nuo virusinių infekcijų, o žiedų ekstraktas naudojamas kaip rūgštingumą reguliuojanti ir dažanti medžiaga. Mokslininkai iš Egipto (Faten et al., 2012) nustatė, kad *H. rosa-sinensis* šaltinis natūralių antioksidantų, kurie gali sumažinti arba užkirsti kelią lipidų oksidacijos procesams, sumažinti toksinų išsiskyrimą ir pagerinti produktų kokybę bei prailginti realizacijos laiką.

Nustatyta, kad ybiškės etanoliniai ekstraktai stabdo plaukų augimą, todėl gali būti naudojamas kaip sudėtinė dalis kremų preparatuose nepageidaujamiems plaukams šalinti (Imation und Okunrobo, 2010). Įvertinus ybiškės žiedų ekstraktų antioksidacinį aktyvumą, nustatytas statistiškai patikimas ryšys lyginant su askorbo rūgštimi (Falade et al., 2005). Ištyrus *H. rosa-sinensis* lapų ir žiedų ekstraktus nustatyta, kad pasižymi labai stipriu antioksidaciniu aktyvumu lyginant su žiedais ir yra naudojami funkcionaliojo maisto ir odos priežiūros priemonėms gaminti (Divya et al., 2013).

Atlikti tyrimai rodo, kad *H. rosa-sinensis* augalai ir jų ekstraktai turi daug antioksidacinių, antimikrobinių savybių (Jo et al., 2012; Voon et al., 2012), pasižymi antispermatozogeniniu, androgeniniu aktyvumu (Sachdewa, Khemani, 2003), sudėtyje turi bioaktyvių komponentų ir rekomenduojama naudoti kaip augalinę – vaistažolinę alternatyvą daugelio ligų gydymui bei ajurvedinėje medicinoje. Sudėtyje esantys antocianinai, yra atsakingi už antioksidacinį poveikį (Gauthaman et al., 2006). Borhan su bendraautoriais

(2010) nustatė, kad ybiškės ekstraktai, kaip tradiciniai vaistai, turi terapinį potencialą, yra veikiantys antibakteriškai.

1.3.2. Medaus krūmas (*Cyclopia intermedia*)

Medaus krūmas (*Cyclopia intermedia*) – auga kalnų šlaituose Pietų Afrikoje, priklauso *Fabaceae* šeimai. Skirtingai nuo kitų vaistažolių arbatų, nėra plačiai auginamas. *Cyclopia* visuomenei žinoma – kaip medaus krūmo arbata, dėl savito aromato, saldaus ir švelnaus skonio. Sudėtyje gausu polifenolinių junginių, pinitolio, hesperitino ir mangiferino, kurie turi priešuždegiminių savybių, mažina cholesterolio kiekį, apsaugo neuronus smegenyse. Atliktų tyrimų duomenys parodė, kad *Cyclopia* spp. cheminę sudėtį sudaro šie pagrindiniai junginiai - magniferinas, hesperidinas (Le-Roux et al., 2007), hesperitinas, luteolis, naringerinas, eriodiktolis, formononetinas ir kt. (Ivanova et al., 2005). Medaus krūmo arbata pasižymi stipriomis antioksidacinėmis ir antimutageninėmis savybėmis dėl sudėtyje esančių fenolinių junginių (Verhoog et al., 2007), kurie turi įtakos ir biologinėms savybėms (pvz.: naringerinas, eriodiktolis ir liuteinas turi estrogeninį poveikį) (Mfenyana et al., 2008). Epidemiologiniais tyrimais nustatyta, kad Azijos gyventojams mažiau pasireiškia krūties ir prostatos vėžys, nes jų racione vyrauja daug fitoestrogenų turintys produktai – soja, *Cyclopia* spp. rūšys, kurių pagrindiniai komponentai izoflavanoidai ir genisteinai (Dixon and Ferreira, 2002).

Le Roux su bendrauatoriais (2008) nustatė, tris pagrindines fenolinių junginių grupes medaus krūmo arbatoje: ksantonai, magniferinas, hesperitinas, flavanoidai ir pinitolis. Medaus krūmo arbata yra geras tonikas, padedantis iš organizmo išvalyti toksinus (McKay and Blumberg, 2007), be kofeino, su nedideliu taninų kiekiu, antioksidantų flavonų, izoflavonų, luteolino, 4-hidroksicinamiko rūgšties, polifenolių ir ksantonų ir pasižyminti medaus skoniu (Joubert et al., 2011). Izoflavonai ir koumestanai klasifikuojami kaip fitoestrogenai - tokie patys, kaip ir sojos pupelių bei kitų ankštinių augalų ir naudojami menopauzės simptomams gydyti. Luteolinas yra geltonas gėlių pigmentas ir naudojamas kaip dažai.

Visos *Cyclopia* spp. rūšys morfologiškai, chemiškai yra panašios ir dauguma jų naudojamos arbatų gamybai, taip pat tai žaliava ir komercinei medaus krūmo arbatos gamybai. Mokslininkų atlikti tyrimai parodė, kad *Cyclopia* spp. (*C. genistoides*, *C. subternata*) ekstraktai gaminami kartu su mangiferinu aromatizuoja ir prailgina gaminių, į kuriuos jie įterpiami, realizacijos laiką. (Joubert et al., 2014). Visos rūšys, kaip pagrindinę fenolinę sudedamąją dalį, turi magniferiną, ksantonoidą, dominantį mediciniškai dėl

skrandžio gleivinę saugančio ir kitų farmakologinių poveikių (Carvalho et al., 2007).

1.3.3. Topinambai (*Helianthus tuberosus* L.)

Astrinių šeimos šiltųjų kraštų augalas, kilęs iš Pietų Amerikos, panašus į saulėgrąžą tik mažesniais žiedais, lapais augalas. Labai vertingas, bet Lietuvoje nėra populiarus. Pagal maistingumą lygiaverčiai bulvėms, turi inulino, natrio ir geležies, dėl to juos, kaip dietinius produktus užsienyje plačiai rekomenduoja sergantiems cukriniu diabetu (Radulovič and Dordevič, 2014). Šakniagumbinė saulėgrąža turi daug pavadinimų: topinambai, žemės kriaušė, žieminės bulvės, Jeruzalės artišokai.

Topinambai skiriasi nuo kitų šakniavaisių savo specifine chemine sudėtimi, t. y. turi daug inulino, kai dauguma šakniavaisių - krakmolo. Dėl šios priežasties topinambų šaknys pramonėje yra naudojamos kaip žaliava fruktozei gauti (Žaldarienė ir kt., 2012). Topinambuose yra nuo 20,4 iki 31,9% sausųjų medžiagų, kurių pagrindinę dalį sudaro angliavandeniai. Gumbuose esantis insulinas, veikiamas skrandžio rūgščių ir fermentų, virsta fruktozės molekulėmis, gebančiomis pakliūti į ląsteles ir neleisti cukraus kiekiui didėti. Likusi nepasisavinta fruktozės (insulino) dalis greitai pašalinama ir padeda pašalinti iš organizmo sunkiuosius metalus, cholesterolio perteklių, kancerogenus. Žaliųjų proteinų sausoje gumbų masėje yra beveik tiek, kiek aukštos kokybės maistinių kviečių grūduose (Rodrigues et al., 2007). Biologiškai aktyvios medžiagos, esančios šiuose augaluose, mineralinės druskos - geležies, silicio, cinko, magnio, kalio, fosforo, kalcio, įvairių C, B ir A grupės vitaminų - dėl ko geriau pasisavinama geležis, riebalų, biotino, pektinų, organinių bei amino rūgščių ir mažiau - baltymų (Danilčenko ir kt., 2013).

Biologiškai aktyvios medžiagos, esančios šiuose augaluose, valo ir skystina kraują, efektyvi profilaktinė priemonė nuo tromboflebito. Mineralinės kalio druskos – iš organizmo pašalina nereikalingą skystį (Xue et al., 2009). Mokslininkai, daugelį metų tyrę šį augalą, nustatė, kad reguliariai vartojami topinambai (arba jų užpilas, bulvinės saulėgrąžos žiedų ar lapų arbata) yra tarsi terapija sergant leukoze. Manoma, kad taip yra dėl šio augalo savybės valyti organizmą (Wang and Cantwell, 2015). Makroelementų ir mikroelementų pusiausvyrą topinambuose normalizuoja vandens ir druskų pusiausvyrą organizme.

Gali būti panaudojami daugelyje sričių, kaip žaliava žaliam pašarui arba silosui ruošti, cukraus ir inulino gamybai maisto pramonėje, žaliavai cheminių medžiagų gamyboje, kurios naudojamos farmacijoje ar pramonėje (Baldini et al., 2004). Juose yra didelis kiekis fruktanų, tikslingai naudojamų

žmonių mitybai, medicinos ir pramonės srityse. Tai alternatyvus produktas etanolio gamybai (Xiao et al., 2011).

Topinambai svarbūs žmogaus sveikatos profilaktikai ir pasižymi gydomosiomis savybėmis sergantiems cukriniu diabetu, taip pat atkuria natūralią žarnyno mikroflorą po disbakteriozės (Rakhimov et al., 2003). *H. tuberosus* L. gumbai vertinami, kaip geras maistinių skaidulų šaltinis, bei dietinis maistas, kuris turi mažai kalorijų. Jų gumbai gali būti labai plačiai naudojami žmonių maistui. Mokslininkai (Baldini et al., 2004) išstudijavę augalo sudėtį ir maistines savybes, buvo nustebinti vitaminų ir mikroelementų įvairove. Topinambų gumbuose daug kalio, cinko, geležies. Geležies kiekiu lenkia bulves, burokėlius, morkas. Be to, augalas turi baltymų, cukraus, įvairių amino rūgščių. *H. tuberosus* L. baltymų kiekis svyruoja 2-3% gumbuose esantys baltymai turi didelę maistinę vertę ne tik dėl esamų beveik visų amino rūgščių, bet taip pat dėl jų gero tarpusavio balanso. Tyrimais nustatyta, kad gumbuose labiausiai dominuojanti amino rūgštis – argininas ir glutamo rūgštis (Danilcenko ir kt., 2009).

Fitocheminių tyrimų rezultatai parodė, kad topinambuose gausu cheminių junginių tokių kaip kumarinas, nesočiosios riebalų rūgštys, poliacetilenas, ir seksviterpenai (Tassoni et al., 2010). Ekstraktai pagaminti iš topinambų gumbų pasižymi antimikrobiniu ir antigrybeliniu poveikiu (Chen et al., 2013).

Pektinas, esantis topinambų gumbuose šalina iš organizmo sunkiųjų metalų druskas, radionuklidus, mažina blogojo cholesterolio kiekį kraujyje. *H. tuberosus* L. unikalūs augalai, galintys apsisaugoti nuo žalingų medžiagų, nes nekaupia nitratų, sunkiųjų metalų ir radioaktyviųjų elementų, nekenksmingi aplinkai maisto produktai, vartotini įvairių ligų profilaktikai. Tassoni et al. (2010) nustatė, kad susmulkinti ir išdžiovinti topinambai išdžiovinti, t.y. topinambų gumbų milteliai gali būti laikomi ilgą laiką, jų maistinė vertė nesikeičia. Šiuo metu topinambų gumbų milteliai naudojami įvairių vaistų funkcionaliųjų ir dietinių maisto produktų gamyboje, taip pat diabetikams skirtų maisto produktų gamyboje (Slimestad, 2010).

Nustatyta, kad į mėsos pusgaminius pridėjus 14% topinambų gumbų lyginant su kontrole pasižymėjo padidintu Zn, Mn, Fe, Cu kiekiu, o po terminio apdorojimo išlaikė malonų skonį (Slimestad, 2010). Topinambų koncentrato naudojimas pagerina baltymų ir riebalų santykį, padidina kalio, kalcio, magnio, mangano, vario ir cinko kiekį produkte (Tassoni et al., 2010).

1.3.4. Geltonieji lubinai (*Lupinus luteus*)

Lubinai (*Lupinus*), tai ankštiniai javai, priklausantys pupinių Fabaceae (*Leguminosae*) augalų šeimai. Mokslininkai pateikia skirtingus lubinų genčiai priklausančių rūšių skaičius, kurie svyruoja nuo 120 iki 200 rūšių

(Villa-Ruano et al., 2012). Jie buvo žinomi jau prieš 4000 – 3000 metų kaip maistingi augalai, kurie naudojami gyvulių ir žmonių maistui (Lara-Cabrera et al., 2009).

Lubinų sėklos žinomos kaip baltymų šaltinis ir nuo seno naudojamos ne tik žmonių mitybai, sudėtyje yra alkaloidų, kurie vartojami dideliais kiekiais gali būti kenksmingi (Schumacher et al., 2011). Jų baltymai turi daug antioksidaciniu aktyvumu pasižyminčių medžiagų - karotenoidų, tokoferolių ir lecitino. Dėl šių komponentų, specifinių savybių ir cheminės sudėties lubinus rekomenduojama naudoti sveiko maisto gamybai (Ruiz-López et al., 2010). Ankštinių augalų sėklose randama 2–3 kartus daugiau baltymų nei varpinių javų grūduose, kurių biologinė vertė labai aukšta, nes į jų sudėtį įeina visos 8 nepakeičiamos aminorūgštys. Pagal lizino kiekį (6–8%) ankštinių augalų baltymai prilygsta gyvulinės kilmės baltymams. Pašariniuose lubinuose randamas toks aminorūgščių kiekis, (g/kg sėklų): lizino – 26, metionino – 5, cistino – 8, triptofano – 2; bendras nepakeičiamų aminorūgščių kiekis – 186 (Villa-Ruano et al., 2012). Pagal aminorūgščių kiekį ir kokybę lubinuose esantys baltymai prilygsta sojos baltymams, bet visų lubinų rūšių baltymuose randamas palyginti labai žemas baltymų – fermentų inhibitorių kiekis. Fermentų inhibitoriai yra baltyminės medžiagos, turinčios aktyvius centrus, prie kurių prijungiami fermentai. Su šiais baltymais sujungti fermentai tampa neaktyvūs, neatlieka savo funkcijų.

Be baltymų, ne mažiau svarbūs dėl savo unikalios sudėties ir funkcinių savybių yra lubinų angliavandeniai. Ne visos lubinų rūšys yra naudingos, kitos savo sudėtyje turi alkaloidų, kurie vartojami dideliais kiekiais gali būti kenksmingi. Alkaloidai randami *Lupinus*: lupininas, lupaninas, sparteinas, lupinidinas, hidroksilupaninas, anagirinas, monolupinas, termopsinas, puzilinas, angustifolinas ir kiti. Šių medžiagų toksiškumas nevienodas, toksiškiausias liupaninas, mažiau toksiškas - sparteinas ir liupininas. Geltonžiedžiuose lubinuose alkaloidų kiekis svyruoja nuo 0,005 iki 1,7% siauralapiuose – nuo 0,1 iki 2,8% baltuosiuose – nuo 0,001 iki 3,5% (Schumacher et al., 2011). Lubinų maistinė ir pašarinė vertė priklauso nuo alkaloidų kiekio sėklose. Alkaloidų kiekis sėklose priklauso nuo daugelio veiksnių: klimatinų, agrotechninių sąlygų, taip pat nuo lubinų rūšies ir lubinų veislės. Maistui tinka lubinai, kurių alkaloidingumas mažesnis nei 0,025%. Jie priskiriami prie be alkaloidžių lubinų ir jų pritaikymas žmogaus mityboje yra neribotas.

Prie pagrindinių lubinų sėklų komponentų priskiriami ir lipidai, kurių randama nuo 7 iki 14%. Didžiąją dalį riebalų sudaro polinesočiosios rūgštys. Pagal oleino, linolo ir linoleno rūgščių kiekį lubinų riebalai pranašesni už kitų ankštinių augalų riebalus, o geltonžiedžių lubinų riebalų cheminė sudėtis prilygsta sojos riebalams. Lubinų sėklose randama riebaluose tirpių vitaminų ir provitaminų: tokoferolių, sterolių ir karotinoidų, ir vandenyje tirpių

vitaminų: tiamino, riboflavino, piridoksino, biotino, folio rūgšties, askorbo rūgšties. Pagal B grupės vitaminų kiekį lubinai prilygsta sojai ir gerokai pranašesni už rugius ir kitas grūdines kultūras. β -karotino lubinų sėklose randama 0,30– 0,49 mg (javuose – 0,014–0,018 mg), tokoferolio 3,9– 16,2 mg (javuose 1,1–5,5 mg).

Lupinus dėl savo specifinių savybių ir cheminės sudėties, plačiai naudojami įvairiose maisto pramonės šakose, ypač duonos. Lubinų priedai - puiki priemonė duonos maistinei vertei didinti. Daug lizino ir mažai metionino turintys priedai, kvietinius miltus praturtina, nes pastarieji turi mažai lizino ir palyginti nedaug sieros turinčių amino rūgščių. Lubinuose pagrindinės apribotos rūgštys yra metioninas ir cisteinas, lyginant su valinu ir triptofanu (Sobotka et al., 2016).

Atlikti tyrimai parodė, kad lubinai gali būti panaudoti kai kuriems maisto produktams gaminti, pridedant jų net iki 20% į tokiu produktus kaip pasta ir vermišelių tipo makaronai ir kita (Sipsas, 2008). Lubinų sėklų koncentratas yra šviesiai gelsvos spalvos ir turi nežymų lubinams būdingą skonį ir kvapą, todėl turi įtakos produktų su lubinų sėklų koncentrato priedų juslinėms savybėms ir jų priimtinumui. Tirtos šio koncentrato funkcinės savybės ir jo panaudojimo galimybės maisto produktų, tarp jų duonos, gamyboje. Tuo tikslu analizuotas jo poveikis technologinio proceso eigai, produktų funkcinėms, maistinėms savybėms bei priimtinumui (Clark and Johnson, 2002).

Atlikti tyrimai rodo, kad mažinant riebalų kiekį ir siekiant išlaikyti gerą valgomųjų ledų tekstūrą bei užtikrinti geras fizikines chemines bei maistines savybes gali būti vartojamos lubinų skaidulos (Scarafoni et al., 2009). Nustatyta, kad šie funkcionalūs komponentai neturi neigiamos įtakos produktų kokybei (Kohajdova et al., 2011). Tyrimai rodo, kad lubinai turi gydomųjų savybių, t.y. mažina cholesterolio ir gliukozės kiekį kraujyje, užkerta kelią širdies ir kraujagyslių ligoms vystytis. Lubinais praturtinti maisto produktai gali slopinti apetitą, pagerinti žarnyno veiklą (Lee et al., 2006).

Nustatyta, kad baltieji lubinai yra tinkami baltyminių maisto papildų gamybai ir aukštos vertės baltymų koncentrato gamybai, kuris yra naudojamas kaip mėsos baltymo pakaitalas mėsos gaminiuose. Maisto produktai pagaminti su baltaisiais lubinais ženkliai pagerino juslines savybes. Lubinais praturtinti maisto produktai gali slopinti apetitą, pagerinti žarnyno veiklą (Lee et al., 2006). Aukšta maistine verte ir funkcionaliosiomis maisto savybėmis pasižymintys lubinai - labai vertinga maisto žaliava (Hudak, 2012).

1.3.5. Linų sėmenys (*Linum usitatissimum* L.)

Linai priklauso lininių šeimai (*Linaceae*), kuriai priklauso 22 gentys, iš jų svarbiausia žmonijos kultivuojamų kultūrų *Linum* gentis (Pali and Mehta, 2014) naudojama kaip ypač vertingas maisto produktas, o tradicinėje medicinoje kaip vaistinė žaliava (Kumar et al., 2015). Sėmenų luobelėje yra apie 5,1–11,7% angliavandenių gleivinių medžiagų, kurios lengvai išbrinksta vandenyje. Sėklaskiltėse sukauptos riebalų ir baltymų atsargos, t. y. vidutiniškai apie 25–45% riebalų ir iki 30% baltymų. Be jų, sėmenyse yra angliavandenių, fosforo junginių, savo sudėtimi artimų riebalams, pigmentų, karotino, glikozido linamarino, fermentų (lipazės, proteazės, linazės) bei kitų medžiagų.

Tyrimais nustatyta, kad sėmenyse yra vidutiniškai 28% dietinių skaidulų, 7,7% vandens, 3,4% pelenų (Rajwade et al., 2010), vertingų maistinių komponentų, tokių kaip, polinesočiųjų riebalų rūgščių, amino rūgščių, tirpių ir netirpių maistinių skaidulų, vitaminų ir mineralų, biologiškai aktyvių junginių – lignanų (Wang et al., 2007) ir jų maistinė vertė gali kisti, priklausomai nuo rūšies, auginimo sąlygų, apdorojimo būdo ir kitų faktorių (Rubilar et al., 2010).

Sėmenys gydymo tikslams labiausiai vertinami dėl gleivinių medžiagų, kurios lengvai išbrinksta vandenyje, glikozido linamarino, specifinės sudėties sėmenų aliejaus. Gydymui gali būti naudojamas sėmenų aliejus, sveiki sėmenys, susmulkinti sėmenys, sėmenų vandens ekstraktas, nuoviras, emulsija, pavilgai (Ribas et al., 2016). Sėmenų teigiama įtaka žmogaus sveikatai gali būti jaučiama ne tik tiesiogiai juos valgant, bet ir naudojant gyvulinės kilmės maistą. Pagal maistingumą ir įsisavinimą sėmenų išspaudos yra daug vertingesnės nei saulėgrąžų išspaudos.

Juose esančios fenolio rūgštys veikia kaip antioksidacinės, priešvėžinės ir antimikrobinės medžiagos. Linų sėmenų gleivinančios medžiagos, kurios sudarytos iš polimerinių angliavandenių, taip pat labai svarbios fiziologiniu aspektu. Sėmenys nuo seno labai vertinami ne tik dėl gleivinių medžiagų, lengvai išbrinkstančių vandenyje, bet ir glikozido – linamarino, specifinės sudėties sėmenų aliejaus (Mueller et al., 2010).

Perdirbant sėmenis naudojami įvairūs terminio apdorojimo būdai, todėl mitybos atžvilgiu aktualu, kad produkte, jei perdirbama nenuriebalinta augalinė žaliava, vyktų mažiausi riebalų rūgščių pokyčiai ir nesusidarytų didelis jų transizomerų kiekis. Teigiama, kad yra suvartojama gerokai per daug riebalų rūgščių transizomerų. Nustatyta, kad pastarieji širdies ir kraujagyslių sistemos ligų riziką didina labiau nei kiti maisto makrokomponentai, pvz., sotieji riebalai (Ludvikova and Griga, 2015). Todėl labai svarbu įvertinti, kuris sėmenų produktas, skirtas papildyti kvietinei

duonai, turi vertingiausią riebalų rūgščių sudėtį ir yra saugiausias riebalų rūgščių transizomerų susidarymo atžvilgiu, juo labiau, kad tokie kepiniai galėtų būti populiarūs ir skirti kasdieniam vartojimui.

Literatūroje nėra duomenų apie įvairiai technologiškai perdirbtų sėmenų įtaką galutinio produkto kokybei ir jos pokyčiams laikymo metu. Žinoma, kad viena iš efektyvių technologinių priemonių galutinio produkto kokybei pagerinti yra raugų naudojimas (Zannini et al., 2012).

1.3.6. Soja (*Glycine max*)

Priklauso pupinių (*Fabaceae*) šeimos *Faboideae* pošeimio augalų genčiai, vienametis žolinis augalas, panašus į pupelę. Soja yra vienas seniausiai žinomų augalų. Kinijoje maistui buvo vartojamas jau prieš 4 tūkstančius metų, o Europoje nuo XIX amžiaus antrosios pusės. Tai vertingas maistinis augalas, pramonės žaliava. Skirtingai nuo kitų augalinių produktų, sojos turi nedaug angliavandenių ir ląstelienos. Sojų sėklų sudėtis turi unikalią maistinio augalo reikšmę (Baroos et al., 2014), nes sudėtyje yra reikalingų maistinių medžiagų - baltymai 40%, riebalai 18% ir angliavandeniai, taip pat vitaminai ir mineralinės medžiagos 5%, tame tarpe folio rūgštis, kalcio, kalio ir geležies (Maidala et al., 2013). Sojų baltymai tirpūs vandenyje, kuriuos daug geriau pasisavina žmogaus organizmas, nes turi visas žmogaus organizmui būtinas aminorūgštis, tarp jų ir nepakeičiamas. Pagal nepakeičiamų aminorūgščių kiekį ir sudėtį, sojų baltymai yra labiausiai pilnaverčiai. Aminorūgščių sudėtis panaši į pieno ir mėsos, todėl ji labai populiari maisto produktų gamyboje. Sojų išspaudos naudojamos dirbtiniam pienui, varškei, sūriui, mėsai, grietinėlei, padažams, jogurtams, šokoladui "be pieno", ledams ir kitiems produktams gaminti. Labai vertingas sojų aliejus, jo maistinės savybės beveik atitinka sviesto. Tolumųjų Rytų tautų virtuvėse jos naudojamos kaip svarbus baltymų šaltinis, pakeičiantis pieną. Įvairiu pavidalu sojos vartojamos gaminant sriubas, garnyrus, antruosius patiekalus, desertus, gėrimus. Sojų baltymai dažnai naudojami kaip ingredientai skirtinguose maisto produktuose, siekiant pagerinti jų tekstūros savybes (Singh et al., 2008).

Pasižymi antidiabetiniu poveikiu, kuris siejamas su antioksidacinėmis augalų savybėmis. Sudėtyje turi fenolinių junginių, flavonoidų, saponinų, izoflavonų ir kt., kuriems būdingas antioksidacinis veikimas. Sojoje randama protokatechino, p-hidroksibenzoinės, vanilino rūgščių ir kt. (Nacer, 2015). Sojos ekstraktas veikia insulino išsiskyrimą, mažina suriebėjusių kepenų išsivystymo riziką (Ascencio). Gerai tirpių vandenyje sojos izoflavonų vartojimas skatina insulino sekreciją, 20 gerina glikemijos kontrolę, pasižymi antioksidaciniu poveikiu ir mažina cukrinio diabeto komplikacijų riziką.

Nustatyta, kad vartojant sojos izoflavonus sumažėjo tiriamųjų pelių mirtingumas ir sergamumas katarakta. Sojos ekstraktų vartojimas mažina toksinį MTL poveikį aortos endotelio ląstelėms, lipidų peroksidaciją ir MTL atsparumą oksidacijai. Be to, sojos izoflavonai mažina aortos pažeidimą, sukeltą aterosklerozės (Liu et al., 2008). Šis poveikis siejamas su antioksidacinėmis flavonoidų ir izoflavonų savybėmis (Wiseman et al., 2000). Sojoje esantys izoflavonai yra dviejų formų: aglikonų ir glikozidų. Nustatyta, kad izoflavonų glikozidai yra geriau ir didesniais kiekiais absorbuojami, nei aglikonai, todėl turi didesnę poveikį širdies ir kraujagyslių ligų profilaktikoje (Izumi et al., 2000).

1.3.7. Juoduogių šeivamedis (*Sambucus nigra* L.)

Juoduogis šeivamedis (*Sambucus nigra* L.) – priklauso ūksminių (*Adoxaceae*) šeimai. Pagal klasifikaciją priskiriami šeivamedžių (*Sambucaceae*) genčiai. Iš viso žinoma apie 30 auglų rūšių *Sambucus* genties, Lietuvoje natūraliai auga 3 rūšys – žolinis šeivamedis (*Sambucus ebulus*), juoduogis šeivamedis (*Sambucus nigra*), raudonuogis šeivamedis (*Sambucus racemosa*). Žieduose yra glikozido sambunigrino, hiperozido, izokvercitrino, kemferolio, nikotiflorino, kvercetino, astragalino, rutino, iki 0,32% eterinio aliejaus, gleivių, rauginių medžiagų, valerijono, kavos, acto, obuolių rūgšties; 82 mg% vitamino C, iki 9% mineralinių medžiagų - kalcio, vario ir geležies. Gausu fenolinių junginių - chlorgeninė rūgštis (iki 3% kavos ir ferulo rūgštys (daugiau kaip 3%) organinės rūgštys: acto, valerijonų, obuolių. Vaisiuose yra 5,3% cukraus (2,8% gliukozės ir 2,5% fruktozės), 1,1% organinių rūgščių (obuolių, acto, valerijono, citrinos, vyno), iki 49 mg% vitamino C, karotino, 0,3% rauginių ir 2,6% azotinių medžiagų; lapuose – eterinio aliejaus, glikozido sambunigrino, aldehydų, šviežiuose – 14 mg% karotino, iki 280 mg% vitamino C; žievėje – valerijono rūgšties, rauginių medžiagų, glikozido sambunigrino ir alkaloido konijino (Barnes et al., 2007; Ragažinskienė ir kt., 2005). Kislichenko and Velma (2006) aptiko 16 aminorūgščių iš kurių gausiausiai buvo alanino, glutamo ir asparaginės rūgščių, suminis jų kiekis 8,97%.

Liaudies medicinoje naudojami juoduogių šeivamedžių žiedai, vaisiai ir lapai. Žiedynai vartojami gydyti viršutinės kvėpavimo takų ligas ir burnos uždegimus, konjunktyvitą, apendicitą, šlapimo takų infekcijas, reumatą, galvos skausmą ir cukrinį diabetą (Meric et al., 2014). Vandeninė žiedų ištrauka išoriškai naudojama kaip priemonė minkštinanti odą, šviesinanti strazdanas ir pigmentines dėmes. Juoduogių šeivamedžių ir liepų žiedų mišinys naudojamas susirgus gripu ar esant peršalimui (Ragažinskienė ir kt., 2005). Juoduogių šeivamedžių žiedų ekstraktai įeina į tepalų, kremų ir losjonų,

šampūnų sudėtį. *Sambucus nigra* L. žiedai ir vaisiai plačiai naudojami ir maisto pramonėje kaip natūralūs dažikliai vynams, sultims, uogienėms gaminti (Tahseen and Mishra, 2013).

Įrodyta, kad flavonoidai pasižymi antivirusiniu poveikiu prieš kvėpavimo sincitinį, gripo ir paragripo virusus (Al-Jaber et al., 2011). Chen su bendraautoriais (2014) nustatė, kad *Sambucus nigra* L. ekstraktai slopina bronchito virusų sukėlėjus ankstyvuojančią replikacijos metu. Tyrimo metu buvo tiriamos rausvųjų radiolių (*Rhodiola rosea* L.), sėjamųjų juodrugių (*Nigella sativa* L.) ir *Sambucus nigra* L. ekstraktų antivirusinio ir antimikrobinio aktyvumo poveikiai, tačiau tik šėivamedžių ekstraktas slopino bronchito infekcijos patogenų sukelėjus. *In vivo* ir *in vitro* tyrimo duomenimis, *Sambucus nigra* L. preparatai efektyviai slopina gripo viruso A ir B tipo padermes (Sayin et al., 2013). Šis poveikis grindžiamas flavonoidų gebėjimu stimuliuoti imunitetą bei citokinų gamybą. Lobo su bendraautoriais (2010) įvertino Sambucol sirupo efektyvumą prieš gripo virusą. Nustatyta, kad vartojant juoduogių šėivamedžių sirupą tiriamajai grupei simptomai pagerėjo per 3-4 dienas, o placebo grupei tik po 7-8 dienų. Friel su kitais (2005) nustatė, kad vartojant po 15 ml - 3 dienas Sambucol sirupo gripo simptomų pagerėjimas pastebimas po 2 dienų - 93,3% pacientų ir visiškas pasveikimas - 90% dalyvių nustatytas po 3 dienų (Kabuce and Priede, 2006).

Sambucus nigra L. žiedai, esantys sudėtiniam preparate Sinupret, naudojami gydyti ūmiam ar lėtiniam sinusitui, siekiant efektyvesnio gydymo poveikio šį preparatą rekomenduojama vartoti kartu su antibiotikais. Nustatytas sekretolitinis, galvos skausmą, nosies užgulimą ir paburkimą mažinantis poveikis. 22 tyrimų meta analizės rezultatai parodė, kad po dviejų savaitių gydymo Sinupret preparatu 61,1% pacientų ligos simptomai išnyksta (Ulbricht et al., 2014). Mokslininkų grupė (Bădescu et al. 2008) nustatė, kad juoduogių šėivamedžių vandeniniai ekstraktai geba padidinti kaulų mineralinį tankį esant CD. Šių studijų rezultatai parodė reikšmingą antioksidacinio aktyvumo padidėjimą, dėl padidėjusios glutationo koncentracijos ir gliukuoto hemoglobino (HbA1c).

In vitro tyrimai parodė, kad *Sambucus nigra* L. žiedai pasižymi hipoglikeminiu poveikiu. Nustatyta, kad vandeniniai žiedų ekstraktai pagerina gliukozės apykaitą ir pasisavinimą raumenyse. Ištyrus žiurkių kasos ląsteles pastebėtas nuo dozės priklausomas atsakas, skatinantis insulino sekreciją. Tačiau nenustatyta cheminių junginių prigimtis, todėl turėtų būti atliekami tolimesni tyrimai norint išsiaiškinti hipoglikeminį mechanizmą (Morosanu et al., 2011). *Sambucus nigra* L. žiedai pasižymi antimikrobinio poveikiu prieš gramteigiamas ir gramneigiamas bakterijas, šį poveikį sukelia taninai (galo rūgšties dariniai, hidroksicynamono rūgštis, kavos rūgštis, chino rūgštis) ir triterpenai (β -amirino, eritrodioolio, oleanolinių, masri rūgščių) (Hearst et al.,

2010). Arjoon su mokslininkais (2012) nustatė, kad *Sambucus nigra L.* žiedų 380 mg/ml koncentracijos vandeniniai ekstraktai veikia bakteriostatiškai ir jų minimalios slopinimo koncentracijos prieš *M. mycoides capri* (0,38 mg/ml), *E. coli* (0,0038 mg/ml), *B. subtilis* (3,8 mg/ml). Salehzadeh et al. (2014) įvertinto antimikrobinį poveikį prieš 16 meticilinui rezistentiško auksinio stafilokoko (MRS) bakterijų su metanoliniu *Sambucus ebulus* lapų ekstraktu. Nustatė, kad MSK - 15 mg ekstrakto koncentracija slopino augimą *S. aureus* padermės. *S. ebulus* metanoliniai ekstraktai veikė visas tirtas MRS mikroorganizmų padermes.

Nustatyta, kad *Sambucus nigra L.* žiedų etanoliniai ekstraktai pasižymėjo stipresniu antimikrobinio poveikiu palyginus su uogomis ir lapais. *Sambucus nigra L.* inhibavo visų 13 tirtų hospitalinių infekcijų sukelėjų augimą. Žiedų ekstraktai slopino MRS augimą (17 mm), kurio poveikis buvo panašus kaip tyrime naudoto standarto ciprofloksacino 5 µg (22 mm). Juoduogių šėivamedžių žiedų ir uogų liofilizuoti koncentratai slopino stafilokokų rūšies, *B. cereus*, *S. Poona* ir *P. aeruginosa* hospitalinių infekcijų sukėlėjus. Manoma, kad juoduogių šėivamedžių žiedų ar uogų liofilizuoti milteliai naudojami gelių, emulsijų ar kremų pavidalu yra perspektyvūs antimikrobiniai agentai, gydant odos infekcijas (Ciocoiu et al., 2010). Avancini su mokslininkais (2008) antimikrobino tyrimo *in vitro* metu nustatė, kad *Sambucus nigra L.* vandeninis lapų ekstraktas santykiu 1:10 yra efektyvus gydant galvijų mastitą. Vandeninis ekstraktas pasižymėjo antimikrobinio aktyvumu prieš *S. aureus* ir *S. choleraesuis*. Karako su grupe (2012) atliktas tyrimas parodė, kad *Sambucus nigra L.* uogų ir lapų metanoliniai ir vandeniniai ekstraktai (80%) vidutiniškai slopino navikų augimą, o etanolinis ekstraktas veikė silpniau (63%).

In vivo tyrimo metu nustatytas *Sambucus nigra L.* flavonoido rutino sukeliamas priešūždegiminis poveikis, tiriant artritą modelyje su žiurkėmis. Pelėms leidžiant 0,5 ml žiedų frakcijos į papildvės ertmę padidėja fagocitozė. Įrodyta, kad 80% etanolinis VAŽ ekstraktas vidutiniškai slopina edemą. (Lu et al., 2010). *In vitro* tyrimai (atlikti su žiurkių klubine žarna, triušiu/jūrų kiaulyčių žarnomis) įrodė, kad lektinai išskirti iš *Sambucus nigra L.* pasižymi antispazminiu poveikiu (Barnes et al., 2007). *Sambucus nigra L.* žiedai naudojami kosmetikoje. Jų žiedų mišinių ekstraktų emulsijos su vienpiestėmis gudobelėmis (*Crataegus monogyna L.*), smiltyniniais šlamučiais (*Helichrysium arenarium L.*) apsaugo odą nuo ultravioletinių spindulių (Jarzycka et al., 2013). Įvertinus šėivamedžio ekstrakto antimikrobinį poveikį, buvo nustatyta, kad turi silpną poveikį prieš *E. coli* DSM 498, o išvalytas antocianinų mišinys testuojamų kultūrų augimo neslopino, nes inhibuojančiu poveikiu pasižymėjo kiti fitocheminiai junginiai (Tille et al., 2013).

1.3.8. Kvapusis bazilikas (*Ocimum basilicum*)

Bazilikas (*Ocimum L.*) – kvapus žolinis augalas, gentyje yra apie 60 rūšių, paplitusių daugiausia tropikuose. Lietuvoje auginama viena rūšis – kvapusis bazilikas (*Ocimum basilicum L.*). Tai notrelinių (*Laminaceae Lindl.*) šeimos vienametis augalas, labai jautrus šaloms. (Rajesh, 2014). Prieskoninei žaliavai naudojama bazilikų žolė. Žali ir džiovinti augalo lapai dedami į įvairius maisto produktus ir gėrimus ne tik skoniui pagerinti, bet ir dėl antioksidacinių jo savybių (Oliveira et al., 2009). Iš baziliko gautos eterinės medžiagos naudojamos kosmetikos, parfumerijos bei konditerijos pramonėje. Nuo senų laikų liaudies medicinoje augalas naudojamas dėl stimuliuojančių ir spazmus mažinančių savybių. Moksliniais tyrimais įrodyta, kad baziliko lapai turi antivėžinių bei insekticidinių savybių (Klimankova et al., 2008).

Bazilikas, turi daug vitamino K, kalcio bei aliejuje medžiagų, kurios veikia kaip antioksidantai padeda apsaugoti nuo streso sukeltų DNR pažeidimų. Baziliko flavanoidai (orientinas ir vicianinas) rūpinasi apsauga ląsteliniame lygmenyje. Baziliko flavanoidai yra tirpūs vandenyje, todėl yra labai didelis susidomėjimas, nes jo sudėtyje esantys flavanoidai saugo ląstelės struktūrą taip pat kaip chromosomas nuo radiacijos ir deguonimi pagrįsto pakenkimo (Danesi et al., 2008). Didelis antioksidantų kiekis turi įtakos širdies sveikatai. Nustatyta, kad baziliko lapų ekstraktas trukdo kauptis cholesteroliui organizme, nes padidinas cholesterolio naudojimą tulžies rūgšties gamybai (Suanarunsawat et al., 2011). Kitas tyrimas atskleidė, kad bazilikas gali padėti sumažinti kraujospūdį. Kinijos tyrėjai nustatė, kad žiurkės kasdien maitinęsi baziliko lapo ištraukomis keturias savaites ir sumažino sistolinį kraujospūdį 20 mmHg ir diastolinį kraujospūdį 15 mmHg (Umar et al., 2010). Baziliko aliejus turi antimikrobinių savybių, dėl jo sudėtyje esančių medžiagų – estragolo, cineolio, eugenolio, sabineno, rozmarino rūgšties, mirceno ir limoneno. Laboratoriniai tyrimai parodė, kad bazilikas pasižymi stipriu antimikrobiniu aktyvumu prieš *L. monocytogenes*, *S. aureus*, *E. coli*, *Y. enterocolitica*, *B. cereus* ir *P. aeruginosa* (Hussaina et al., 2008) ir *C. albicans* (Vlase et al., 2014) augimą.

1.3.9. Kininis cinamonas (*Cinnamomum aromaticum*)

Tai prieskonis, kuris gaunamas iš įvairių *Cinnamomum* genties medžių žievės. Cinamono kilmė europiečiams iki XVI a. buvo nežinoma, tėvyne laikoma Pietų ir Pietryčių Azija. Pagrindinės rūšys, iš kurių gaunamas cinamonas yra ceiloninis cinamonas, Burmano cinamonas, Saigono cinamonas, ir kininis cinamonas. Kininio cinamono žievėje yra šiek tiek nuodingos medžiagos kumarino, o kitose rūšyse jo kiekis labai nežymus. Nulupta ir

sudžiovinta cinamono žievė vėliau sumalama į miltelius, kurie ir naudojami kaip prieskonis. Būdingą kvapą suteikia eteriniai aliejai, sudarantys 0,5–1% žievės sandaros. Šiame aliejuje yra cinamoninio aldehido, etilo cinamato, eugenolio, beta kariofileno ir kitų junginių (Unlu et al., 2010).

Tyrimai parodė, kad cinamonas pasižymi farmakologiniu poveikiu sergant diabetu ir gali būti naudojamas veiksmingai mažinti gliukozės ir cholesterolio lygį kraujyje. Gliukozės kiekį kraujyje mažinančios galimybės ir farmakologinės cinamono savybės buvo įrodytos anksčiau *in vitro* ir *in vivo* su gyvūnais (Akilena et al., 2012). Cinamonas vaidina teigiamą vaidmenį, chemiko ir daktaro Andersono teigimu yra naudingas diabetikams, nes jis turi medžiagos – metilo hidroksilo chalkono polimerą (MHCP) ir ši medžiaga veikia kaip insulinas ir vartojant kasdien nedidelėmis dozėmis padeda subalansuoti gliukozės kiekį kraujyje. Taip pat stabdo vidinius kraujavimus, kadangi suteikia elastingumo kraujagyslių sienelėms.

Tyrimai parodė, kad cinamono aldehidas reguliuoja trombocitų kiekį kraujyje, nes sumažina trombocitų kiekį ir apsaugo nuo per didelio kraujo krešėjimo ir jo tirštumą, todėl yra labai naudingas skausmingų ir gausių menstruacijų metu, tinka trombozės profilaktikai (Flores et al., 2014). Dvylika savačių trukęs tyrimas (Ziegenfuss, 2006) parodė, kad cinamono ekstraktas vidutiniškai 8,4% sumažina gliukozės kiekį kraujyje (nevalgius iš ryto), taip pat sumažina kraujo spaudimą (3,8%) ir taip užkerta kelią dažniems infarktams.

Cinamono žievė žadina apetitą, gerina virškinimą, mažina dujų susidarymą ir skrandžio bei žarnyno skausmus. Padeda esant per dideliame rūgštingumui (Markey et al., 2011). Nustatyta, kad cinamono žievės etanolinė ištrauka stabdo *E. coli* dauginimąsi (Muthuswamy et al., 2008). Cinamaldehido slopinamieji mechanizmai susiję su bakterijų energijos gamybos slopinimu, slopina gliukozės įsisavinimą arba panaudojimą ir veikia membranos pralaidumą. Literatūros duomenimis maisto srityje cinamaldehido poveikis buvo tiriamas įvairių maisto produktų, įskaitant daržovių, vaisių, pieno produktų, žuvies ir mėsos išsaugojimui (Sheeladevi and Ramanathan, 2012). Buvo nustatyta, kad cinamono eterinis aliejus, geriau veikia daugelį bakterijų, lyginant su česnakais ir gvazdikėlių eteriniu aliejumi.

Tačiau tiriant *S. aureus*, *E. coli* ir *C. jejuni* buvo nustatyta, kad šios bakterijos yra jautriausios eterinių aliejų kompozicijai (česnakų, gvazdikėlių ir cinamono). Visos tirtos patogeninės bakterijos buvo jautrios cinamono eteriniam aliejui. *L. monocytogenes* cinamono eteriniam aliejui buvo jautresnė lyginant su *S. pyogenes*, *S. aureus*, *B. cereus* ir *S. typhimurium*. Palyginus kaip veikia *L. monocytogenes* česnako, gvazdikėlių ir cinamono eteriniai aliejai atitinkamai gauti tokie rezultatai (slopinimo zona): 17; 21; 25 mm (Jagadeesh et al., 2011). *Cinnamomum zeylanicum* gydomosios savybės

žinomos nuo Senovės Egipto laikų, kur jo buvo dedama į balzamavimo mišinius, taip pat plačiai naudojamas Ajurvedoje ir kinų medicinoje. Cinamonas pagardina įvairius patiekalus, naudojamos kosmetikos ir parfumerijos pramonėje, taip pat pasižymi antiseptinėmis savybėmis: naikina bakterijas, virusus, grybelius. Cinamono aliejus, kuriame gausu cinamaldehido ir eugenolio, yra stipri prieš grybelinę medžiagą, veikianti *Candida* ir *Aspergillus* grybus. Jis yra veiksmingas esant viduriavimui, tonizuojamai veikia virškinamąjį traktą (Saber et al., 2014).

1.4. Augalų panaudojimas pieno produktų gamyboje

Maisto produktai, be pagrindinės funkcijos – aprūpinti organizmą reikiamomis maistinėmis ir energinėmis medžiagomis, gali stiprinti žmogaus organizmą, veikti profilaktiškai, mažinti susirgimų riziką. Siekiant apsaugoti maisto žaliavas ir produktus nuo mikrobinio gedimo, be kitų priemonių (terminio apdorojimo, šaldymo, džiovinimo, produkto laikymo modifikuotoje atmosferoje, UV ir jonizuojančių spindulių) mikrobams sunaikinti ar sudaryti jiems nepalankias augimo sąlygas į juos gali būti dedami konservantai, skonį ir aromatą gerinantys priedai, produkto konsistenciją stabilizuojančios medžiagos ir t.y. cheminiai junginiai, kurių kiekis reglamentuojamas ir gali turėti neigiamos įtakos vartotojų sveikatai.

Konservantai – tai natūralios arba sintetinės kilmės cheminės medžiagos, apsaugančios maisto produktą nuo mikroorganizmų poveikio (bakterijos, mieliagrybiai, pelėsiniai grybai) ar nepageidaujamų cheminių virsmų (oksidacijos, fermentacijos skilimo procesų) tuo prailginančios realizacijos laiką, išlaikant kokybę ir saugumą, juslines savybes, tekstūrą, išsaugodamas maistinę vertę, spalvą (Singh et al., 2010). Jie skirstomi į dvi grupes: dirbtinius ir natūralius.

Dirbtiniai konservantai – tai grupė sintetinių cheminių medžiagų, kuri apsaugo produktus nuo mikrobiologinio gedimo ir tuo prailgina realizacijos laiką. Tai būtų: nitratai, sulfatai, natrio benzoatas, kalio sorbatas ir kiti. Natūralūs konservantai – išskiriami iš natūralių žaliavų (augalų, gyvūnų), kurių neįmanoma susintetinti ir apsaugo produktus nuo nepageidaujamų mikroorganizmų. Tai yra eterinių aliejų komponentai, flavanoidai, fenoliniai junginiai, ir kt. Natūralius konservantus galima priskirti vienai iš žemiau pateikiamų grupių:

- Augalinės kilmės medžiagos (prieskoniai, aromatinių augalų ekstraktai);

- Gyvūninės kilmės medžiagos (lizocimai, laktoperoksidazių sistemos, laktoferinai, laktofericiniai, taukai);
- Mikroorganizmų išskiriamos medžiagos, ir jų metabolitai leisti naudoti maisto produktuose (nizinas, pediocinas, kiti bakteriocinai);
- Antimikrobinės medžiagos leidžiamos naudoti maisto produktuose (lizocimas ir kt.)

Pagal veikimo pobūdį gali būti skiriami į tris grupes:

- Antimikrobinėmis savybėmis pasižymintys – slopina mieliagrybių, pelėsių ir bakterijų augimą;
- Antioksidacinėmis savybėmis pasižymintys – slopina oksidacijos procesus;
- Stabdo fermentinius procesus.

Perspektyviausi ir aktualiausi yra augalinės kilmės – aromatinių, prieskoninių ir medicininių augalų ekstraktai ir eteriniai aliejai, nes mikroorganizmų išskiriamos medžiagos pasižymi dar ir fitoncidinėmis savybėmis (Rukayadi et al., 2013).

2. MEDŽIAGOS IR METODAI

2.1. Tyrimų planas

Tyrimai atlikti LSMU Veterinarijos akademijos Maisto saugos ir kokybės katedroje, KTU Maisto mokslo ir technologijos katedroje ir KTU Maisto instituto Mikrobiologijos laboratorijoje 2011 – 2015 metais.

Siekiant įvertinti augalus, kaip biologiškai aktyvių junginių komponentus, svarbu pagaminti ir ištirti įvairius jų ekstraktus. Mūsų tyrimams buvo naudoti ybiškės, medaus krūmo augalai ir komerciniai CO₂ ekstraktai - juoduogių šėivamedžių, kvapiojo baziliko ir kininio cinamono. Ybiškės ir medaus krūmo augalai buvo susmulkinti ir iš jų pagaminti ekstraktai, kurie išgauti skirtingomis frakcijomis ir skirtingo poliškumo tirpikliais (acetonas, etanolis, vanduo). Įvertinome šių įvairių ekstraktų antimikrobines ir antioksidacines savybes modelinėse sistemose. Atrinkus priimtinausias jusliškai koncentracijas, raugintų pieno produktų (varškės) matricose įvertinome mikrobiologinius ir fiziko-cheminius rodiklius turinčius įtakos produkto saugai ir kokybei.

Į pieno produktus galima įterpti ne tik augalų ekstraktus, bet ir fermentuotus augalus, kuriuos galima naudoti kaip augalinius raugus. Raugintų produktų gamybai naudotos iš duonos raugų išskirtos ir atrinktos PRB: *P. pentosaceus* KTU05-9, *P. acidilactici* KTU05-7, *L. sakei* KTU05-6, kurios gamina bakteriocinus. Fermentuotų augalinių raugų gamybai naudoti augalai, kurie pasižymi dideliu baltymų ir fenolinių junginių kiekiu – topinambai, lubinai, soja ir linų sėmenys. Rauginti pieno produktai gaminti pridedant augalinių raugų ir įvertinant gauto rauginto pieno produkto (rūgpienio) saugos ir kokybės aspektus.

2.2. Tyrimų objektai

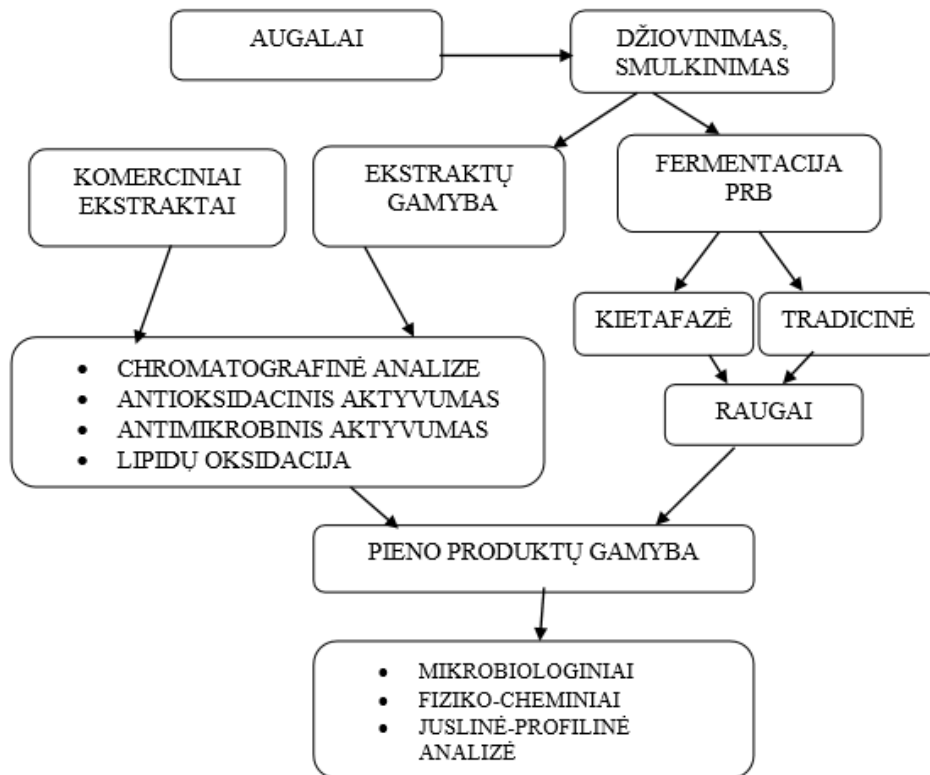
Tyrimams naudoti ybiškės žiedlapių (*Hibiscus rosa-sinensis* L.) (kilmės šalis Angola, gamintojas Vokietija) ir medaus krūmo žievės (*Cyclopia intermedia*) (kilmės šalis Pietų Afrika, gamintojas Vokietija) arbatos. Trys maistiniai, aromatiniai CO₂ ekstraktai: juoduogių šėivamedžių žiedų (*Sambucus nigra flos.*), kvapiųjų bazilikų (*Ocimum basilicum*) ir kininių cinamonų, kasijų (*Cinnamomum aromaticum*) (kilmės šalis, Vokietija).

Augalinių raugų gamyboje naudoti topinambai (*Helianthus tuberosus* L.), lubinai (*Lupinus luteus*) (2011 m. derliaus, gauti iš Lietuvos sodininkystės ir daržininkystės instituto bandomojo ūkio), soja (*Glycine max* L.) (gamintojas,

Čekijos Respublika) ir linų sėmenys (*Linum usitatissimum L.*) (gamintojas „Institute of Natural Fibres“, Lenkija). Tyrimų schema pateikta 4 paveiksle.

PRB- *Pediococcus pentosaceus* KTU05-9, *Pediococcus acidilactici* KTU05-7, *Lactobacillus sakei* KTU05-6 padermės.

Vietiniame prekybos centre įsigytas skirtingo riebumo (3,2%, 2,0% ir 0,5%).



4 pav. Tyrimų schema.

2.3. Augalų ekstraktai

2.3.1. Augalų ekstraktų gamyba

Augalų sausoji dalis (ybiškės ir medaus krūmo) prieš ekstrakciją buvo smulkinama laboratoriniame kūginiame malūne (Miag, Braunschweig, Vokietija) siekiant užtikrinti efektyvesnę ekstrahavimą. Mažinant dalelių dydį pasiekiami privalumai: didėja medžiagos ir tirpiklio kontaktavimo plotas, sutrumpėja ekstrahavimo laikas ir galima tikėtis didesnės ekstrakto išgavos, tačiau pernelyg didelis smulkinimo laipsnis gali turėti neigiamos įtakos dėl netolygaus tirpiklio pasiskirstymo tarp dalelių. Ybiškės ir medaus krūmo

smulkinimui naudotas 0,23 mm malimo sietas, malimo temperatūra neviršijo 30 °C. Ekstrakcija paruošta trimis skirtingais ekstrakcijos būdais.

2.3.2. Ekstrakcija skirtingo poliškumo tirpikliais

Soksleto ekstrakcija (Behr Labor-Technik, Düsseldorf, Vokietija) buvo atliekama taikant pakopinę ekstrakciją įvairaus poliškumo tirpikliais (acetonu, etanoliu, vandeniui). Atsveriamas 5 g žaliavos, dedama į patronus ir užpilama 200 ml 99,83% acetonu (AE). Procesas vyksta trimis ciklais, kiekvienas – trijų etapų: tirpiklio temperatūros kėlimas iki virimo; 2 val. ekstrakcija 75 °C temperatūroje ir vėsinimas iki 40 °C. Gauti ekstraktai koncentruoti vakuuminiame rotaciniame garintuve 40 °C temperatūroje. Vėliau ekstraktai išdžiovinti azoto srove. Taip visas ciklas kartojamas trimis etapais tik su skirtingais tirpikliais: acetonu (AE), etanoliu (EE), ir vandeniui (VE).

Vandeninė ekstrakcija padalinama į dvi frakcijas. Vandeniniai ekstraktai buvo paruošti iš 20 g susmulkintos žaliavos, ekstrahuotos purtyklėje du kartus po 2 val. su 200 ml 80 °C temperatūros vandeniui. Nufiltruoti Biuchnerio piltuvu vandeniniai ekstraktai buvo padalinti į dvi frakcijas. Viena dalis išpurkšta džiovvyklėje (Keison, Didžioji britanija) prie +160 °C temperatūros (gaunama išpurkšta vandeninė frakcija (IVF)) , o kita – liofilizuota (Zirbus technology, Vokietija) prie -80 °C temperatūros (gaunama liofilizuota vandeninė frakcija (LVF)). Ekstrakcijas kartojome tris kartus.

Visų ekstraktų antioksidacinis aktyvumas įvertintas trijose modelinėse sistemose (ORAC, DPPH[•] ir ABTS^{•+}), o bendras fenolinių junginių kiekis (BFJK) nustatytas Folin-Ciocalteu metodu. Visi eksperimentai kartojami po 3 kartus, o ekstraktų antioksidacinis aktyvumas (AA) išreiškiamas ORAC, DPPH[•] ir ABTS^{•+} trolokso ekvivalentu (TE) μmol/g, o bendras fenolinių junginių kiekis galo rūgšties ekvivalentu (GRE) mg/g ekstrakto. Nelakiųjų ekstraktų sudėtis tirta efektyviosios skysčių chromatografijos (ESC), masių spektrometrijos (MS) metodais ir ultravioletinės spinduliuotės (UV) detektoriumi, literatūros duomenis ir standartinių junginių sulaikymo laikus. Šių junginių kiekiai išreikšti santykiniais vienetais (s.v.) – efektyviosios skysčių chromatografijos pikų plotais arba standartinio junginio mg/g ekstrakto. Analizės kartojamos po 3 kartus..

2.3.3. Komerciniai CO₂ ekstraktai

Visų CO₂ ekstraktų (juoduogių šėivamedžių, kvapiojo baziliko ir kininio cinamono) AA įvertintas trijose modelinėse sistemose (ORAC, DPPH[•] ir ABTS^{•+}), o BFJK nustatytas Folin-Ciocalteu metodu. Visi eksperimentai

kartojami po 3 kartus, o eterinių aliejų antioksidacinis aktyvumas išreiškiamas ORAC, DPPH[•] ir ABTS^{•+} trolokso ekvivalentu (TE) μmol/g, o BFJK galo rūgšties ekvivalentu (GRE) mg/g ekstrakto.

2.4. Antioksidacinio aktyvumo nustatymas ekstraktuose

2.4.1. DPPH[•] radikalų surišimo metodas

AA buvo nustatytas tiriamuose valikliuose. Radikaliniam surišimui naudotas laisvasis radikalas DPPH[•] (*2,2-Difenil-1-pikrilhidrazilas*). Reaguojant DPPH[•] su antioksidantais, esančiais valikliais, jis atiduoda vieną vandenilio atomą ir tampa redukuotas. Tai rodo spalvos pasikeitimas iš tamsiai violetinės į blyškiai geltoną matuojant spektrofotometru.

AA matuojamas prie 515 nm bangos ilgio ir jam paruošiamas metanolinis DPPH[•] tirpalas, kuris ruošiamas - 0,001 g DPPH[•] sumaišant su 50 ml grynojo metanolio. Paliekama 15 min tamsoje. Matuojama 4 ml kiuvetėse. Palyginamasis DPPH[•] tirpalas: imama 4 ml DPPH[•] ir iškart matuojama jo absorbcija.

2.4.2. ABTS^{•+} radikalų-katijonų surišimo metodas

ABTS^{•+} radikalas gaunamas reaguojant ABTS^{•+} su kalio persulfatu pagal Re et al., 1999. Radikalas gaminamas laikant ABTS^{•+} ir K₂S₂O₈ mišinį tamsoje 16 valandų ir naudojamas kaip reagentas AA iširti. Katijoninė radikalo forma stabili išlieka 2 paras. Antioksidaciniam aktyvumui įvertinti ABTS^{•+} praskiedžiamas fosforo ir druskos buferiniu tiepalu (PBS). AA išreiškiamas ABTS^{•+} apskaičiuojamas pagal formulę:

$$I = \left[\left(A_B - \frac{A_A}{A_B} \right) \right] * 100, \%$$

A_B–Absorbcija blanko; A_A–absorbcija bandinio

2.4.3. Deguonies radikalų absorbcijos pajėgumo nustatymas (ORAC)

Deguonies radikalų absorbcinės gebos (ORAC) analizė lipofilinėms medžiagoms atliekama pagal Prior et al., (2003) metodą, naudojant fluoresceiną, kaip oksiduojamą substratą bei 2,2'-azobio (2-amidino-propano) dihydrochloridą (AAPH), kaip peroksilo radikalų generatorių, kuris slopina fluoresceino fluorescentinį signalą. Antioksidacinį mėgino potencialą parodo stabilesnis fluorescentinis signalas. Fluorescencinis matavimavimas atliekamas FLUOstar Omega tipo spektrofotometru 90 min, esant

sužaditimui 485 nm bei emisijai 520 nm. Eksperimentas atliekamas esant 37 °C temperatūrai. Galutinės ORAC vertės apskaičiuojamos naudojantis Trolox koncentracijos ir ploto regresijos lygtimi ($y = Ax + B$).

Plotas po kreive apskaičiuojamas pagal formulę:

$$AUC = 1 + f_1/f_0 + f_2/f_0 + f_3/f_0 + f_4/f_0 + \dots + f_n/f_0$$

Kai: f_0 – pradinis fluorescencijos matavimas 1 cikle; f_i – fluorescencijos matavimas cikle i . Tikroji AUCnet vertė gaunama atimant tuščią bandinį iš kiekvieno mėginio.

2.4.4. Bendras fenolinių junginių kiekis (BFJK)

BFJK nustatytas Follin-Ciocalteu metodu. 2,5 ml bisdistiliuoto vandens, 0,1 ml metanolinio ekstrakto ir 0,1 ml 2 N Folin-Ciocalteu reagento sumaišoma (Singleton and Rossi, 1965). Po 6 min įpilama 0,5 ml 20% natrio karbonato tirpalo. Paliekama 30 min kambario temperatūroje. Absorbacija matuojama prie 760 nm bangos ilgio. Tuščias bandinys paruošiamas su 0,1 ml metanolio vietoj ekstrakto. Matavimai kartoti tris kartus. Bendras fenolinių junginių kiekis išreikštas galo rūgšties ekvivalentu (GRE) (mg/g):

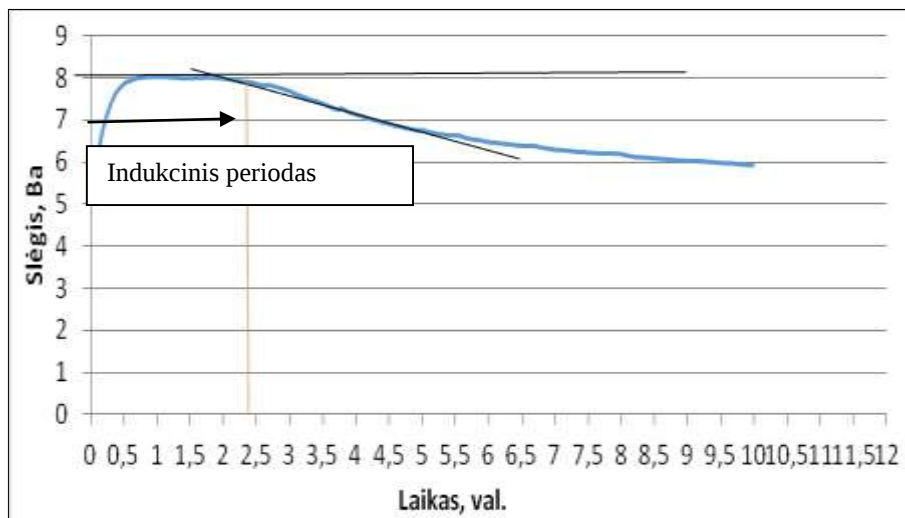
2.4.5. QUENCHER metodas

Augalų, gautų po vandeninių ir Soksleto tradicinių ekstraktų, AA tirtas įvairiais AA metodais, pritaikius QUENCHER procedūrą (Rohan et al., 2008), kuri pagrįsta oksidacijos-redukcijos reakcija kietos ir skystos fazių paviršiuje. Fluorescencinis matavimas atliekamas FLUOstar Omega tipo spektrofotometru 90 min, esant sužaditimui 485 nm bei emisijai 520 nm. Eksperimentas atliekamas esant 37 °C temperatūroje. Kalibracijai kreivei paruošiamas Trolox ($C_{14}H_{18}O_4$ $M_r=250,29$ g/mol), kurio koncentracijos ribos 100 μ M/l-2000 μ M/l. Trolox milteliai tirpinami tame, kame ištirpinti bandiniai. Galutinės QUENCHER vertės apskaičiuojamos naudojantis Trolox koncentracijos ir ploto regresijos lygtimi.

2.4.6. Oksipreso metodas

Riebalų stabilumas oksidacijai, priklausomai nuo priedų, tirtas instrumentiniu Oksipreso metodu („ML Oxipres“, Mikrolab Aarhus A/S, Danija), nustatant indukcinį periodą (IP, h) (5 pav.), parodantį riebalų patvarumą oksidacijai, valandomis. Riebalų oksidacija tirta 120 °C temperatūroje, mėginio masė 5 g, deguonies slėgis 5 bar (0,5 MPa). Prietaisas automatiškai nubrėžia deguonies slėgio kitimo kreivę ir apskaičiuoja IP.

Paruošti mėginiai su ekstraktų ir eterinio aliejaus priedu mėginiai su maistui tinkančiomis koncentracijomis 1%. Priedai įterpti maišant magnetine maišykle (23 ± 2) °C temperatūroje 5 min.



5 pav. Oksipresu užrašyta oksidacijos kinetikos kreivė ir indukcinio periodo nustatymo liestinės

2.4.7. Ekstraktų veikliųjų junginių identifikavimas naudojant ESC/MS metodą

Norint identifikuoti ekstraktuose esančius junginius, tam buvo naudojamas ESC–MS metodas. Analitinė sistema sudaryta iš ultra didelio efektyvumo skysčių chromatografo Waters Acquity, naudojama kolonėle C18, 2,1x100mm, kurios sorbento dalelių dydis 1,7 μ m (Waters, Milford, JAV) ir naudojamas PDA fotodiodų detektorius, registruojantis UV spektrus, bei Bruker Maxis 4G masių detektorius, registruojantis masių spektrus. Eliuentų tekėjimo greitis 0,4 ml/min, injektavimo tūris 2 μ l, ekstraktų tirpalų koncentracijos metanolyje 1mg/ml. Mobili fazė maišoma iš tirpiklių: A (0,4% skruzdžių rūgšties vandenyje) ir B (100% acetonitrilas).

Vykdamas eksperimentą taikomos šios gradientinės sąlygos: analizė pradedama maišant 95% A ir 5% B; tada eliuento B koncentracija per 3 minutes buvo padidinta iki 20%, o per kitas 2 minutes iki 50%, per sekantį 3 minučių intervalą eliuento B koncentracija buvo padidinta iki 100% ir 2 minutes buvo išlaikytos tokios sąlygos. Eliuento srautas iš DESC nukreipiamas į MaXis 4G QTOF MS (Bruker Daltonic, Bremen, Germany) veikiantį ESI neigiamos jonizacijos režimu. Vykstant eksperimentui azotas

buvo naudojamas kaip išpurškimo (slėgis 2,5 bar) ir džiovinimo dujos (10 l/min). Azotas taip pat buvo naudojamas MS fragmentavimo celėje.

Junginiai identifikuoti lyginant jų molekulinę masę ir UV spektrą, iš MS spektro apskaičiuotas molekulinės formules bei išėjimo laiką su junginių standartais ar literatūroje rasta duomenimis.

2.5. Mikroorganizmai ir mitybos terpės

Tyrimams naudoti mikroorganizmai atrinkti iš KTU Maisto instituto kolekcijos kultūrų ir jiems kultivuoti naudotos mitybos terpės pateiktos 3 lenletėje. Tyrimuose naudotos standartinės terpės buvo ruošiamos laikantis gamintojų rekomendacijų.

Visi sausi terpės komponentai pasverti $\pm 0,001$ g tikslumu ir pernešti be nuostolių į 500 ml stiklinius butelius, užpilti distiliuotu vandeniu ir gerai išmaišyti magnetine maišykle. Sterilizuoti 15 min. autoklave 121 °C temperatūroje. Paruoštos terpės pH $6,0 \pm 0,2$.

Terpės atvėsintos iki 44-47 °C temperatūros išpilstytos pipete po 15 ml į 90 mm skersmens sterilias Petri lėkšteles ir paliktos sustingti ant šalto lygaus paviršiaus. Terpės pH pakeistas (nustatant pH 5,4 ar 6,5) į terpę lašinant 1M druskos rūgšties arba 3M natrio šarmo tirpalus ir matuojant pH-metru. Tuomet sterilizuota autoklave 15 min. esant 121 °C temperatūrai.

Kiekvienos pieno rūgšties bakterijų padermės kultūra paruošta persėjant į sterilų pieną ir rauginant 30-40 °C temperatūroje 24 h. Raugai paruošti iš mezofilinių pieno rūgšties bakterijų kultūrų (*Lactococcus lactis* subsp. *Lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *Cremoris*, *Bifidobacterium*) kultivuoti 30 °C temperatūroje, iš termofilinių (*Streptococcus thermophyllus*, *Lactobacillus acidophilus*) – 37 °C temperatūroje.

Bakterijų ląstelių suspensijai paruošti bakterijų kultūros 18 h augintos 37 °C temperatūroje, (*Bacillus subtilis* ir *Bacillus cereus* 2 paras 30 °C temperatūroje) ant nuožulnios mitybinės terpės. Nuplauta bakterijų suspensija praskiesta pagal Ms Farland standartą Nr. 0,5.

Mielių kultūros augintos 25 °C temperatūroje 1 parą ant nuožulnaus bulvių-gliukozės agaro. Po 1 paros užaugusios mielių kultūros nuo agaro nuplautos steriliu fiziologiniu tirpalu ir paruošta ląstelių suspensija pagal Ms Farland Nr. 1.

Mikroskopinių grybų kultūros augintos 30 °C temperatūroje 7 paras ant Čiapeko mielių autolizės ekstrakto agarizuotos (CYA) terpės. Sporų suspensijai paruošti kultūros nuplautos nuo terpės paviršiaus 2,5 ml peptono vandens ir filtruotos į sterilų mėgintuvėlį per sterilią marlę. Sporų suspensija praskiesta iki 10^6 sporų/ml.

3 lentelė. Tyrimams naudoti mikroorganizmai, jų kultivavimo ir tyrimų terpės.

Mikroorganizmai	Padermė	Kultivavimo terpė
<i>Bacillus subtilis</i>		Plate Count Agar CM 325, Oxoid
<i>Bacillus cereus</i>	ATCC10876	
<i>Salmonella typhimurium</i>	ATCC14028	
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC25923	
<i>Listeria monocytogenes</i>	ATCC19117	
<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC29212	
<i>Escherichia coli</i>	ATCC25922	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		
<i>Klebsiella pneumoniae</i>		M17 broth, Difco
<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>Lactis</i>	INF L2	
<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>Cremoris</i>	INF 393	
<i>Streptococcus termophyllus</i>		
<i>Lactobacillus acidophilus</i>		MRS Agar, Oxoid
Komercinis pienarūgščių bakterijų raugas	Chr. Hansen	
<i>Bifidobacterium</i>		Bulvių-gliukozės agaras LAB 98, LAB M
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Išskirta iš maisto	
<i>Candida parapsilosis</i>	perdirbimo	
<i>Candida albicans</i>	įmonių	
<i>Rhodotorula rubra</i>	gamybinių	
<i>Torulaspora debrueckii</i>	patalpų oro,	
<i>Pichia kluyveri</i>	įrengimų	
<i>Kluyveromyces marxianus</i> var. <i>lactis</i>	nuoplovų, pieno produktų	Saburo dekstrozės agaras,
<i>Aspergillus niger</i>	IBT 10209	
<i>Aspergillus flavus</i>	IBT 21323	
<i>Mucor</i> spp.	IBT 2803	
<i>Penicillium</i> spp.	Išskirta iš maisto	
<i>Aspergillus fumigatus</i>	perdirbimo	
<i>Trichoderma</i> spp.	įmonių gamybinių patalpų oro, įrengimų nuoplovų, pieno produktų	

2.6. Antimikrobinio aktyvumo nustatymas ekstraktuose

2.6.1. Difūzijos į agarą metodas

Augalų ekstraktų ir eterinių aliejų antimikrobinis poveikis bakterijos, mielės nustatytas difūzijos į agarą metodu (Zaika et al., 1988). 1 ml paruoštos mikroorganizmų suspensijos įpiltos į 100 ml ištirpintos ir atvėsintos iki 47 °C temperatūros agarizuotos terpės ir dar kartą sumaišyta, kad ląstelės tolygiai pasiskirstytų. Tokiu būdu paruoštos mikroorganizmų suspensijos mišinys su terpe išpistytas po 10 ml į 90 mm skersmens Petri lėkšteles. Terpei sustingus, joje padarytos 4 apvalios įdubos (8 mm skersmens), į kurias pilta po 50 µl tiriamųjų ekstraktų ar etanolio/vandens (kontrolinis mėginys). Tiriamų medžiagų poveikis bakterijų kultūroms įvertintas po 24 h kultivavimo 37 °C temperatūroje, mielių kultūroms po 48 h kultivavimo 30 °C temperatūroje pagal skaidrių zonų, susidariusių aplink įdubas, skersmenį, išreikštą milimetrais. Jei aplink įdubas nesusidarė skaidrios zonos, daryta išvada, kad tirta ekstraktų koncentracija neturėjo antimikrobinio poveikio tiriamai kultūrai.

Mikroskopinių grybų kultūros augintos 25 °C temperatūroje 3-4 paras ant saburo dekstrozės agaro (LB Agar). Užaugusios kultūros nuplautos steriliu fiziologiniu tirpalu ir paruoštos suspensijos, kuriose mikroskopinių grybų sporų skaičius siekė 10^6 - 10^7 KSV/ml. Tokiu būdu paruoštos mikroorganizmų suspensijos mišinys su terpe išpistytas į 100 ml ištirpintas ir atvėsintas iki 45°C temperatūros saburo dekstrozės agarą ir gerai išmaišytas. Mikroskopinių grybų sporų suspensijos ir terpės mišinys išpistytas po 10 ml į Petri lėkšteles. Terpei sustingus, padaryta 1 įduba (8 mm skersmens) ir į ją įpilta po 50 µl ekstrakto. Fungicidinis aktyvumas įvertintas po 5 parų pagal skaidrių zonų, susidariusių aplink įdubas skersmenį, matuotą milimetrais. Jei aplink įdubas nesusidarė skaidrios zonos, daryta išvada, kad tirta ekstrakto koncentracija neturėjo fungicidinio poveikio.

2.6.2. Bakterijų skaičiaus pokyčiai varškėje

Tyrimams naudoti pienas (pienas UAT „Margė“) į sterilų 10 ml mėgintuvėlį su steriliu pieno pasėta 0,1 ml jaunos mikroorganizmų kultūros (kultivuotos ne ilgiau kaip 18-20 h) ir 0,1 ml komercinio pienarūgščių bakterijų mišinio (R-704, *Chr. Hansen*). Į mėgintuvėlius su mikroorganizmais pridėta kelių koncentracijų ekstraktų (ybiškės, medaus krūmo, juoduogių šėivamedžių, kvapiojo baziliko ir kininio cinamono). Ekstraktai ištirpinti etanolio tirpale. Ekstraktų kiekis atrinktas pagal MSK bandymo rezultatus. Paruošti trys kontroliniai mėginiai: 1) į mėgintuvėlį su

pienu pasėta 0,1 ml maistą gadinančių bakterijų (*E. coli*, *S. aureus*, *L. monocytogenes*) ir komercinio pienarūgščių bakterijų mišinio; 2) į mėgintuvėlį su pienu ir ekstraktais pasėta 0,1 ml maistą gadinančių bakterijų (*E. coli*, *S. aureus*, *L. monocytogenes*) ir komercinio pienarūgščių bakterijų mišinio; 3) į mėgintuvėlį su pienu pasėta 0,1 ml komercinio pienarūgščių bakterijų mišinio. Paruošti mėgintuvėliai inkubuoti su bakterijomis 30 °C ir 37 °C temperatūrose. Bakterijų skaičiaus pokyčių įvertinimui daryti sėjimai į lėkšteles ant atrankinių terpių iškart po mėginių paruošimo (0 h), po 5 h, 24 h kultivavimo su ybiškės ir medaus krūmo ekstraktais, o juoduogių šėivamedžių, kvapiojo baziliko ir kininio cinamono po (0 h), po 5 ir 7 dienų. Lėkštelės su sėjimais kultivuotos su bakterijomis 37 °C temperatūroje 24 h, 48 h ir 72 h.

2.7.Varškės gamybos technologija

Varškės gamybai buvo naudojamas vietiniame prekybos centre įsigytas „Margė“ UAT 3,2% riebumo karvių pienas. Pieną pašildome iki kambario temperatūros, įdedame raugo santykiu (1:0,1) 1 l pieno su 1000 µl liofilizuoto mezofilinių pieno rūgšties bakterijų raugo. Išmaišome stikline lazdele ir rauginame 12 valandų vandens vonelėje 28±2 °C temperatūroje. Traukinimas vyksta 2 valandas. Raugintas pienas sumaišomas su pagamintu augalo ekstraktu ir pašildomas ant elektrinės plytelės iki 55-60 °C temperatūros. Šildymo metu, lėtais sukamaisiais judesiais, maišoma medine mentele. Temperatūrai pakilus iki 45 °C pradeda skirtis išrūgos. Kai temperatūra pasiekia 55-60 °C temperatūros, puodas nuimamas ir paliekama šiek tiek atvėsti. Tada turinys supilamas į švarią sterilią marlę ir atskiriamos išrūgos. Paliekama nusivarvėti, atvėsti bei susipresuoti.

2.8. Augalinių produktų fermentacija

Fermentacijai naudoti topinambų gumbai (šaknys) prieš fermentaciją supjaustyti 1–2 mm storio griežinėliais ir išdžiovinti vakuuminėje džiovykloje 45 °C temperatūroje (Model SZG, Kinija), susmulkinti iki miltelių. Lubinų sėklos susmulkintos 0,8-1,2 mm dydžio laboratoriniu malūnu (LM 3100; Perten Instruments AB, Švedija). Susmulkinti ir išdžiovinti augalai (topinambai, lubinai, soja, linų sėmenys) buvo panaudoti kietafazėje ir tradicinėje fermentacijoje su PRB.

2.8.1. Mikroorganizmai ir jų auginimo sąlygos

Tyrimams pasirinktos PRB padermės - *Pediococcus pentosaceus* KTU05-9, *Pediococcus acidilactici* KTU05-7, *Lactobacillus sakei* KTU05-6 padermės, kurios išskirtos iš savaiminių ruginių duonos raugų (Digaitienė ir kt. 2006) ir saugomos KTU Maisto mokslo ir technologijos katedroje, „Grūdai ir grūdų produktai“ grupės kolekcijoje.

Iki eksperimentų PRB laikytos -70 °C temperatūroje MRS sultinyje (Oxidoid, Milan, Italija), papildytame 20% glicerolio. Prieš naudojimą PRB pagausintos MRS sultinyje - *L. sakei* KTU05-6 30 °C, *P. acidilactici* KTU05-7 32 °C, *P. pentosaceus* KTU05-9 35 °C temperatūroje, 48 h išlaikant termostate (Memmert, Vokietija). Prieš naudojimą į terpę buvo pridėta 40 mM/L fruktozės ir 20 mM/L maltozės. Prieš eksperimentą MRS sultinys su pagausintomis PRB buvo praskiestas fiziologiniu tirpalu iki 10⁸ KSV/ml PRB koncentracijos ir panaudotas (topinambų, lubinų, sojos ir linų sėmenų) fermentacijai.

2.8.2. Augalinių raugų gamyba

Topinambai, lubinai, soja, linų sėmenys ir grynų PRB kultūrų (*P. pentosaceus* KTU05-9, *P. acidilactici* KTU05-7, *L. sakei* KTU05-7), kietafaze fermentacija (KF) produktai buvo paruošti <50% drėgnio, o tradicine fermentacija (TF) >50% drėgnio, fermentuojant termostate (Binder, Vokietija) atitinkamai 35, 32 ir 30 °C temperatūroje 48 h. 30 °C. Gauti augaliniai fermentuoti produktai panaudoti raugintų pieno produktų gamybai.

2.9. Pienas naudotas raugintų pieno produktų gamybai

Naudotas vietiniame prekybos centre įsigytas skirtingo riebumo (3,2%, 2,0% ir 0,5%), atitinkamai, energinė vertė (60, 50 ir 36 kcal) pienas (3,2 g baltymų, 3,2 g riebalų, 4,7 g laktozės), pagamintas iš aukščiausios kokybės žaliavinio pieno, apdoroto ultra aukšta temperatūra (UAT).

2.9.1. Raugintų pieno produktų gamybos technologija

Pienas pašildytas iki kambario temperatūros ir į kiekvieną mėginį pridėta po 10% (m/m) paruoštų raugų, viskas gerai homogenizuota. Paruošta masė inkubuota kiekvienai PRB optimalioje temperatūroje 72 h. Rauginti produktai stabilizuoti, atvėsinti iki +4 °C temperatūros.

2.10. Fiziko-cheminiai tyrimai raugintuose pieno produktuose

2.10.1. Raugintų pieno produktų (rūgpienio) tekstūra

Įvertinti kaip kinta raugintų pieno produktų su skirtingais augaliniais fermentuotais priedais (10 g) reologinės savybės laikant, naudotas mechaninis tekstūros analizatorius *Stevens LFRA Texture Analyzer Mechtric Stevens*. Šiuo prietaisu potenciometrinio metodu įvertinome plunžerio smigimo gylį 10 mm, esant 1.0 mm/s greičiui. Analizei mechaniniu tekstūrografu rauginto pieno mėginiai pateikti plastikiniuose indeliuose, matavimai atlikti po 24 ir 48 valandų rauginimo termostate, kambario temperatūroje.

2.10.2. D(-)/L(+) pieno rūgšties izomerų nustatymas

Mėginiai homogenizuoti porcelianinėje lėkštelėje su atitinkamu distiliuoto vandens kiekiu. Nupilta 10 ml skysčio ir filtruota pro Whatman filtrinį popierių. Gautas filtratas supiltas į 100 ml matavimo kolbą, praskiestas iki žymės distiliuotu vandeniu. D(-) pieno rūgšties izomerų kiekis mėginiuose nustatytas spektrofotometru, įvertinus spalvų pokyčius, inicijuotus veikiant dviems fermentams, naudojant fermentinį testą K-DLATE 08/11 (Megazyme International Ireland Limited). Pirmoji reakcija katalizuojama D-laktato dehidrogenazės (D-LDH), kurios metu D(-) izomerai oksiduojasi iki piruvato, susidarant nikotinamido – adenino dinukleotidą (NAD^+). Antroji reakcija yra piruvato konversijos į D-alaniną ir 2-oksoglutaratą, ji vyksta veikiant fermentui D-glutamato-piruvato transaminazei (D-GPT). NADH kiekis, susidaręs šių reakcijų metu koreliuoja su D(-) pieno rūgšties izomerų kiekiu. NADH kiekis įvertinamas spektrofotometriškai esant 340 nm bangos ilgiui.

L(+) pieno rūgšties izomerų kiekis nustatytas vykdant oksidaciją iki piruvato su L-laktato dehidrogenaze (L-LDH), kurios metu susidaro nikotinamido-adenino dinukleotidas (NAD^+). Toliau veikiama D-GPT ir matuojama absorbcija esant 340 nm bangos ilgiui.

2.10.3. Biogeninių aminių nustatymo metodas

Mėginiams paruošti pasverta 5 g rauginto pieno produkto kontroliniam tyrimui, su vaistiniais – prieskoniniais augalais ir homogenizuota (homogenizatorius Bag Mixer®, Prancūzija). Biogeniniai aminai išskirti iš homogenizuoto bandinio ekstrahuojant 10 ml 0,4 mol/l perchloro rūgštimi centrifuguojant 2500 apsisukimų per minutę greičiu 10 min., tuomet 0,5 ml ekstrakto sumaišyta su 100 μl 2 M natrio hidroksido ir 120 μl prisotinto natrio

bikarbonato. Ekstraktas su 1ml dansilchlorido 45 min. Derivatizuotas 40 °C temperatūroje termostate (Binder, Vokietija). Mėginiai atvėsinti iki kambario temperatūros bei dansilchlorido likutis pašalintas 40 µl 25% amoniaku 30 min. laikant kambario temperatūroje. Mėginiai praskiesti 3,2 ml amonio acetatu (0,1 mol/l) ir acetonitrilo mišiniu (1:1). Filtruoti per 0,45 µm filtrą (Millipore Co., Bedford, MA, JAV) įšvirkšti pro 20 µl kilpą ir analizuoti efektyvaus slėgio skysčių chromatografijos (ESSC) metodu (Aligent 1200 Series, Vokietija). Kiekybinė analizė atlikta taikant vidinio standarto metodą, skaičiuotas smailės plotas apibrėžtam etaloninės medžiagos kiekiui.

2.10.4. Spalvos koordinacių nustatymas

Spalvos koordinatės vienodo kontrasto spalvų erdvėje buvo matuojamos spektrofotometru MiniScan XE Plus (Hunter Associates Laboratory, Inc., Reston, Virginia, USA). Šviesos atspindžio režime matuojami parametrai: L*, a* ir b* (atitinkamai šviesumas, raudonumo ir geltonumo koordinatės pagal CIE L* a* b* skalę). Prieš kiekvieną matavimų seriją spektrofotometras kalibruojamas šviesos gaudykle ir baltos spalvos standartu. Duomenys pateikti kaip trijų matavimų vidurkiai. Tyrimai vykdyti CIE L* a* b*-vienodo kontrasto spalvų erdvėje.

2.11. Mikrobiologiniai tyrimai raugintų pieno produktų

2.11.1. Pieno rūgšties bakterijų skaičiaus nustatymas

Tyrimų metu buvo atlikta bendro PRB KSV/g produkto analizė. Pirmasis skiedinys ir toliau sekantys dešimtkarčiai skiediniai atlikti remiantis standarte LST ISO 15214:2009 „Maisto produktų ir pašarų mikrobiologija. Bendrasis mezofilinių pieno rūgšties bakterijų skaičiavimo metodas. Kolonijų skaičiavimo metodas“ nurodyta metodika. Tyrimų metu buvo įvertintas pieno rūgšties bakterijų kiekis 1,0 g produkto. Mikroorganizmų skaičius apskaičiuojamas pagal formulę:

$$N = \frac{\sum a}{V \times [n_1 + (0,1 \times n_2)] \times d}, \text{ kur}$$

Σa- tai yra suma kolonijų suskaičiuotų ant lėkštelių dviejų praskiedimų; V- kiek ml pasėta į lėkštelę; n₁- lėkštelių skaičius pirmo praskiedimo; n₂ - lėkštelių skaičius antro praskiedimo; d - tai yra praskiedimo laipsnis pradedant pirmuoju pasirinktu praskiedimu.

2.11.2. Koliforminių bakterijų nustatymas

Koliforminių bakterijų skaičius tirtuose mėginiuose nustatytas remiantis LST ISO 4831:2006 „Maisto ir pašarų mikrobiologija. Bendrasis koliforminių bakterijų aptikimo ir skaičiavimo metodas. Labiausiai tikėtino skaičiaus būdas“. Tyrimų metu buvo įvertintas koliforminių bakterijų kiekis 1,0 g rauginto pieno produkto, taikoma aukščiau pateikta formulė.

2.12. Raugintų pieno produktų juslinė-profilinė analizė

Juslinis vertinimas atliktas LSMU Maisto saugos ir kokybės katedros laboratorijoje. Jusliniam vertinimui taikyti juslinių savybių skirtumų (profilinės-analizės) bei emocinis (priimtino) testai. Juslinės analizės tyrimuose vienu metu dalyvavo 7-10 vertintojų grupė. Vertintojai atrinkti ir apmokyti dirbti pagal LST ISO 8586:2012.

Vertinimui pateikti pieno produktai (raugintas pienas ir varškė) po 10 g, paruošti mėginiai sudėti į plastikinius indelius ir uždegti dangteliais. Dėžutės koduotos trijų atsitiktinių skaitmenų kodais. Vertinimui pateiktų mėginių temperatūra buvo apie 23 °C. Skonio neutralizavimui vertintojams pateiktas vanduo, balta kvietinė duona.

Mėginių pateikimo vertintojams tvarka. Tiriant priimtinumą vienu metu pateikti visi trys mėginiai, o atliekant profilinę analizę vertintojui pateikti du mėginiai vienu metu. Kiekvienoje sesijoje pateikti 3 mėginiai, po to vertintojų grupė darė 10 min. pertauką ir po jos vėl vertinti 3 mėginiai.

Priimtino testai taikomi, kai siekiama nustatyti produkto „emocinį statusą“, t.y., kaip labai jį mėgsta vartotojai. Šiuo atveju produktas lygintas su vertinimo dalyviams gerai žinomu produktu ir, naudota hedoninė skalė, nustatant nepriimtino/priimtino arba nepatikimo/patikimo laipsnius. Priimtino testo rezultatų analizei taikyti santykiniai balai, atitinkantys: *labai priimtinas* - 6, *priimtinas* – 5, *truputį priimtinas* – 4, *nei priimtinas, nei nepriimtinas* - 3, *truputį nepriimtinas* - 2, *labai nepriimtinas*.

Profilinės analizės esmę sudaro tai, kad vertintojui vienu metu pateikiami du mėginiai. Vertintojas turi nustatyti, kurio mėginio tirama savybė intensyvesnė. Profilinės analizės metu apskaičiuota, kiek kartų vertintojai labiau išreiškė vieną ar kitą savybę.

2.13. Statistinė duomenų analizė

Matematiškai duomenys apdorojami statistiniais, Microsoft Office Excel 2007, SPSS 17.0 programiniais paketais. Vertinant skirtumus tarp nepriklausomų, neparametrinius duomenis turinčių imčių, buvo skaičiuojamas chi-kvadratas (χ^2). Skirtumai tarp imčių besiskiriančių pagal vieną požymį buvo vertinami skaičiuojant vienfaktorinę ANOVA. Skirtumai tarp grupių ir faktorių buvo analizuoti, naudojant Bonferoni daugialypius palyginimus. Skirtumai buvo įvertinti statistiškai reikšmingi, kai $p \leq 0,05$.

3. REZULTATAI

3.1. Ekstraktų ir atskirų frakcijų antioksidacinių savybių įvertinimas

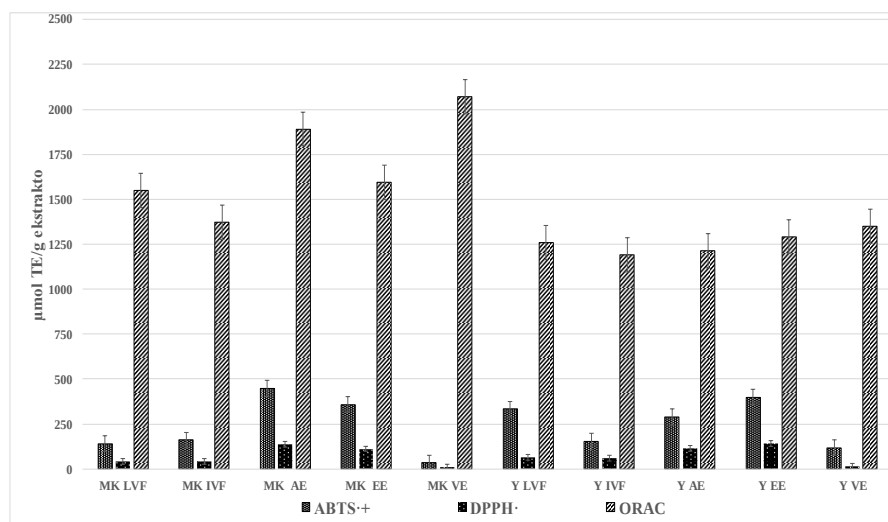
3.1.1. Ekstraktų antioksidacinis aktyvumas

Šiame tyrimų etape vertintas ybiškės ir medaus krūmo antioksidacinis aktyvumas įvairiose modelinėse sistemose. Antioksidacinėms savybėms įvertinti buvo pagaminti tiriamųjų augalų įvairūs ekstraktai – liofilizuotos ir išpurkštos vandeninės frakcijos (LVF ir IVF), etanoliniai (EE), acetoniniai (AE) ir vandeniniai (VE).

Nustatyta, kad visų tirtų augalų ekstraktų išeiga priklauso nuo ekstrakcijai pasirinkto tirpiklio. Didžiausios išeigos buvo gautos liofilizuojant iš vandeninės frakcijos vidutiniškai 51,0% (ybiškė) ir 13,5% (medaus krūmas), iš išpurkštos frakcijos – 16,2 ir 1,6%, ekstrahuojant acetonu – vidutiniškai 16,33–13,95%. EE ir VE ekstraktų išeigos buvo mažesnės, atitinkamai: etanoliniai – 14,87–10,91%, VE 6,12–2,4 %.

Įvertinus DPPH[•] RSG nustatyta, kad tirtuose ybiškės ir medaus krūmo ekstraktuose sudarė nuo 40,2 iki 135,76 μmol TE/g. ABTS^{•+} sistemoje atitinkamai nuo 33,60 iki 448 μmol TE/g. Iš pateiktų rezultatų matyti, kad ekstraktų antiradikalinės savybės priklauso nuo jų fitocheminės sudėties, ekstrakcijos būdo ir pasirinkto tirpiklio. Tiriamųjų augalų ekstraktai AE ir EE pasižymi stipresne RSG DPPH[•] ir ABTS^{•+} sistemose (6 pav.). Ybiškės LVF, EE, VE ir medaus krūmo AE ekstraktų stipresnės antioksidacinės savybės DPPH[•] ir ABTS^{•+} sistemose, o medaus krūmo IFV tik ABTS^{•+} sistemoje.

Įvertinus deguonies RSG (ORAC) nustatyta, kad didžiausia antiradikaline geba pasižymėjo medaus krūmo ekstraktai. Medaus krūmo ekstraktų AA buvo LVF - 18,72%, IFV – 13,16%, AE – 35,84%, EE – 18,88% ir VE – 34,80% didesnis lyginant su ybiškės ekstraktais.

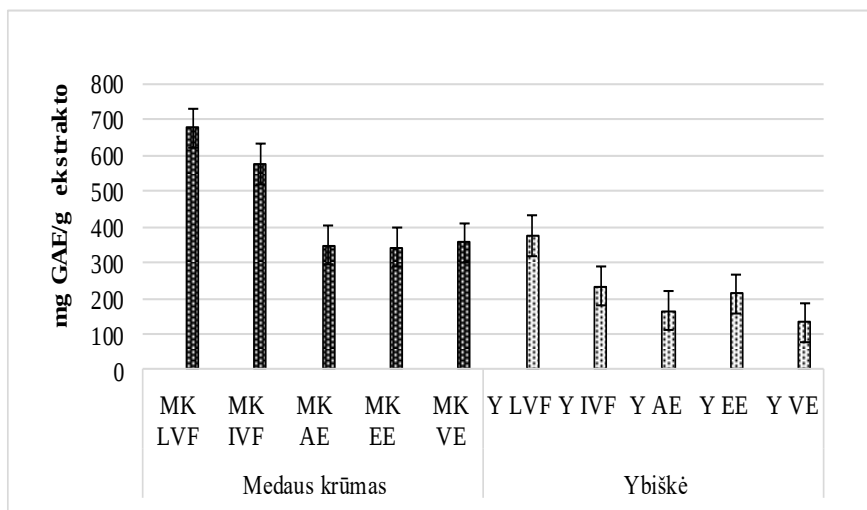


6 pav. Skirtingo poliškumo tirpikliais gautų ekstraktų radikalų sujungimo geba.

(Paaiškinimas: MK – medaus krūmas, Y – ybiškė; LVF – liofilizuota frakcija vandeninė; IFV – išpurkšta frakcija vandeninė; AE – acetoninis ekstraktas, EE – etanolinis ekstraktas; VE – vandeninis ekstraktas).

BFJK išreikštas galo rūgšties ekvivalentu ybiškės ir medaus krūmo ekstraktuose pavaizduotas 7 paveiksle. Mažiausias BFJK aptiktas AE ekstrakte su ybiške ir EE ekstrakte su medaus krūmu. Tarp BFJK ir DPPH[•] surišimo gebos nustatytas stiprus koreliacinis ryšys ($r^2=0,99$). Stipri teigiama koreliacija nustatyta ir tarp BFJK ir ABTS^{•+} surišimo gebos ($r^2=0,99$).

Apibendrinus tyrimų rezultatus, nustatėme, kad medaus krūmo ekstraktai pasižymi stipresnėmis antiradikalinėmis savybėmis ir BFJK. Nustatytas statistiškai reikšmingas ($p \leq 0,0001$) ryšys tarp augalo ir tirpiklio. Didele ORAC RSG (LVF -1549,79 ir IFV - 1373,14 μmol TE/g) ir BFJK (LVF-677,96; IFV-575,63 GAE mg/g) pasižymi liofilizuota ir išpurkšta vandeninė frakcijos, o šių dviejų tipų ekstraktų savybės panašios. Dėl šios priežasties, ateityje liofilizacijos metodas galėtų būti panaudojamas antioksidacinėmis savybėmis pasižyminčių junginių išskyrimui iš vandeninės frakcijos, kadangi kiti VE nepasižymi tokiomis stipriomis savybėmis.



7 pav. Ybiškės ir medaus krūmo ekstraktų bendras fenolinių junginių kiekis.

3.1.2. QUENCHER antioksidacinis įvertinimas

Kai kurios antioksidantų sudedamosios dalys gali būti stipriai surištos su kitomis augalų komponentų dalimis jų matricoje ir negali būti išekstrahuotos jokių organinių tirpiklių ar vandens. Tokie junginiai gali būti išsilaisvinti virškinamajame trakte su maistu žmogaus žarnyne. Tuo tikslu buvo sukurtas tiesioginis tiriamo objekto RSG matavimas (QUENCHER procedūra) imituojant viršinamojo trakto aplinkos sąlygas *in vitro*, kuris nustato visos augalo medžiagos antioksidanto veiklą, apimdama jos netirpią ir tirpią frakcijas.

Rezultatai rodo, kad visos medaus krūmo antioksidacinės vertės aukštesnės nei ybiškės tik išskyrus DPPH[•], kurių RSG buvo panaši (4 lentelė). RSG augalų ištraukų ir po Soksleto ekstrakcijos antioksidanto geba buvo žemesnė, lyginant su augalo pradinės žaliavos rezultatais. Medaus krūmo RSG ir AA buvo pastebimai didesnis lyginant su ybiškės ir skirtingų ekstraktų rezultatais. BFJK kiekis ybiškėje skyrėsi 2,7 karto.

Nustatyta stipri koreliacija tarp BFJK ir antioksidacinio aktyvumo nustatyto QUENCHER procedūra (tarp ABTS^{•+} $r^2=0.97$; ORAC $r^2=0.95$). Mūsų žiniomis tokie rezultatai nebuvo niekur publikuoti su šiais augalais naudojant QUENCHER metodą. Gauti rezultatai leidžia teigti, kad ne visos sudedamosios augalų dalys gali būti išekstrahuojamos tirpiklių pagalba.

4 lentelė. Ybiškės ir medaus krūmo antioksidacinis aktyvumas ir bendras fenolinių junginių kiekis

Augalas	ABTS ⁺	DPPH [•]	ORAC	BFJK
<i>Ybiškė</i>	3232,02±7,45*	84,33±0,35*	2272,08±0,71*	328,19±4,13*
<i>Ybiškė i</i>	3110,17±5,38*	70,65±6,88*	1794,70±5,63*	279,65±3,75*
<i>Ybiškė s</i>	2203,39±7,56*	68,36±4,38*	335,06±6,00*	181,39±3,13*
<i>M. krūmas</i>	3884,01±6,00*	144,24±9,75*	2272,08±0,10*	885,48±7,69*
<i>M. krūmas i</i>	2013,49±3,75*	112,23±1,56*	1958,00±3,63*	291,92±6,15*
<i>M. krūmas s</i>	1867,90±3,63*	95,13±4,88*	303,84±3,15*	148,68±4,98*

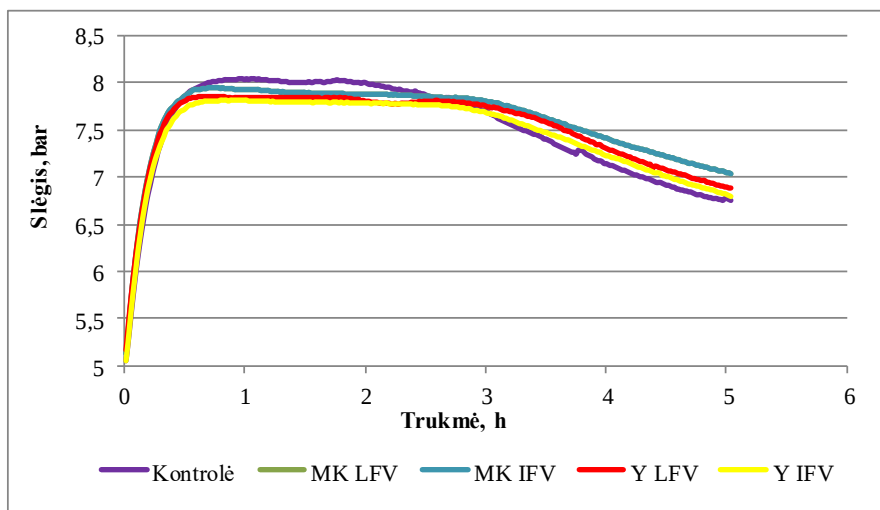
(Paaiškinimas: *Ybiškė i* – ištrauka, *Ybiškė s* – po Soksleto ekstrakcijos, *M. krūmas i* – ištrauka, *M. krūmas s* – po Soksleto ekstrakcijos).

3.1.3. Skirtingų augalų ekstraktų įtaka oksidacijos procesui

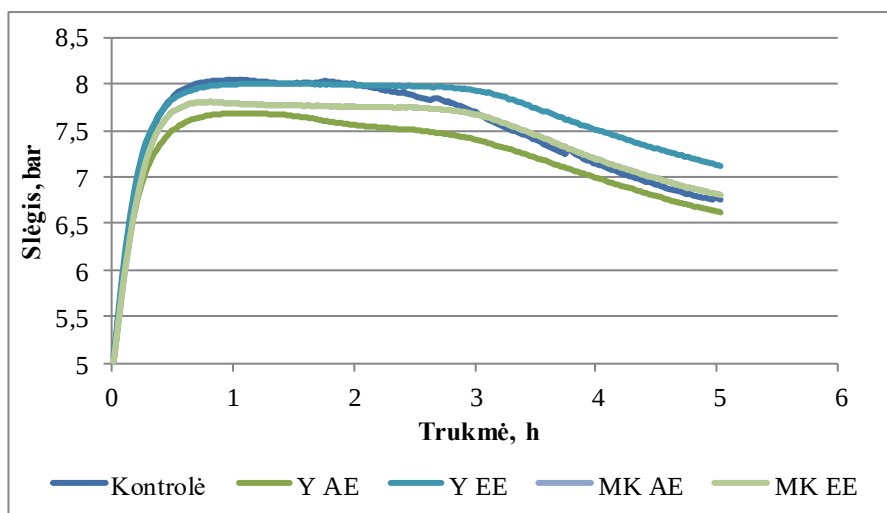
Gamtinės kilmės antioksidantai gali būti panaudoti kaip sintetinių maisto priedų pakaitalas. Todėl atsirinkome geriausiomis antioksidacinėmis savybėmis pasižyminčius ekstraktus iš kurių buvo ištirtas medaus krūmo ir ybiškės LFV, IFV, AE ir EE 1% koncentracijos priedų AA emulsijose 120 °C temperatūroje (8-9 pav.) Riebalų oksidacijos kinetika matuota instrumentiniu Naudojant Oksipreso metodu, naudojant emulsijų oksidacijos proceso indukcijos periodą (IP). Tiriamųjų ekstraktų AA buvo lyginamas su kontrole.

Įvertinus rezultatus nustatyta, kad visi tiriamieji ekstraktai darė tam tikrą stabilizuojamąjį poveikį emulsijoms. Vertinant augalų ekstraktus jų AA būtų galima išdėstyti taip: geriausias savybes stabilizuojant emulsijas turėjo ybiškės ir medaus krūmo AE, ybiškės LFV, medaus krūmo LFV, IFV, EE ir ybiškės EE priedai (8-9 pav.). Vertinant koreliacinę ryšį tarp BFJK ir RSG, nustatyta statistiškai patikima reikšmė ($p \leq 0,0001$; $r^2 = 0,98$).

Įvertinus tiriamųjų priedų įtaką, nustatėme, kad geriausiomis antioksidacinėmis savybėmis stabilizuojant emulsijas pasižymėjo visi tiriamieji ekstraktai. Įterpant šiuos priedus IP rodo, kad net jusliškai priimtinos koncentracijos maisto sistemose turi reikšmingos įtakos produktui ir prailgina jų realizacijos laiką bei užtikrina kokybę ir saugą. Šis tyrimas dar kartą patvirtino, kad oksipreso metodas yra greitas ir patikimas ekstraktų ekstraktų emulsijose įvertinimo metodas.



8 pav. *Vandeninių ekstraktų stabilumas oksidacijai*



9 pav. *Acetoninių ir etanolinių ekstraktų stabilumas oksidacijai*

3.1.4. Cheminis ybiškės ir medaus krūmo augalų ekstraktų sudėties tyrimas ESC metodu

ESC metodu išskirti ekstraktų junginiai buvo identifikuoti pagal jų sulaikymo kolonėlėje trukmę, UV ir MS spektrus lyginant su analogiškais standartų rodikliais (5 lentelė) - tai galo rūgštis, narirutinas, hesperitinas, hesperidinas, kvercetas, eriocitrinas, kamferolis, ergosterolis, magniferinas (10-11 pav.).

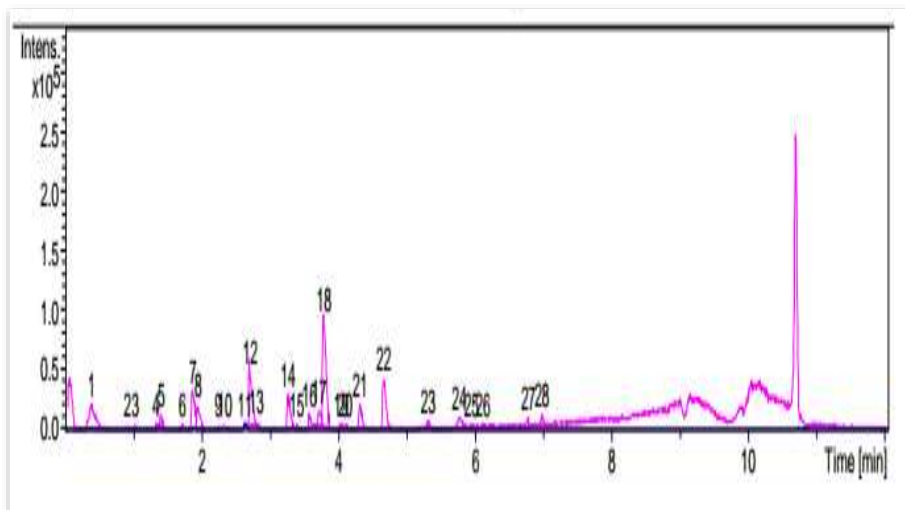
5 lentelė. Identifikuotų junginių charakteristikos.

Smailė	Junginys	ST, (min.)	Masė, g/mol
Ybiškės ekstraktai			
Kvercetas	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	4,09	302,24
Kampesterolis	C ₂₈ H ₄₈ O	7,84	414,72
Ergosterolis	C ₂₈ H ₄₄ O	7,63	396,65
Pelargonidinas	C ₁₅ H ₁₁ O ₅	3,19	271,24
Cianidinas	C ₁₅ H ₁₁ O ₆	6,66	287,24
Medaus krūmo ekstraktai			
Hesperitinas	C ₁₆ H ₁₄ O ₆	2,71	302,28
Hesperidinas	C ₂₈ H ₃₄ O ₁₅	3,55	610,56
Magniferinas	C ₁₉ H ₁₈ O ₁₁	4,61	422,34

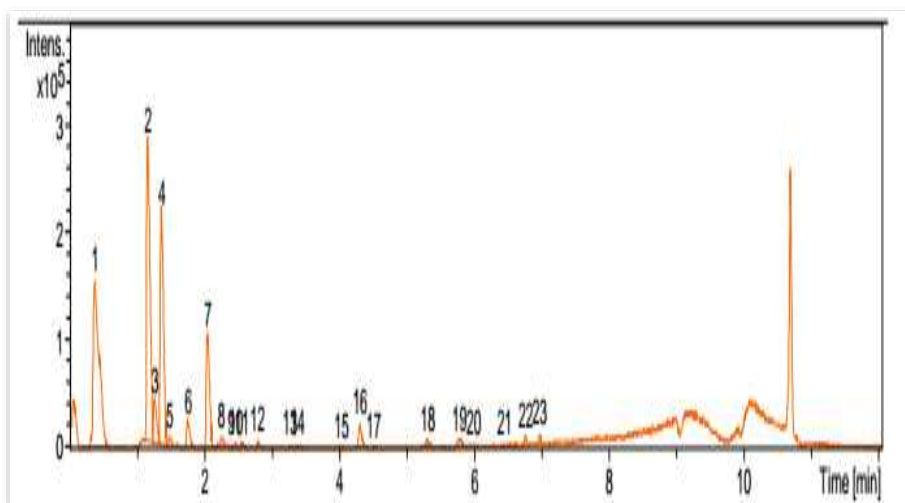
Hesperitinas, hesperidinas ir magniferinas nustatyti AE, EE ir VE medaus krūmo augalų ekstraktuose. Tačiau jų kiekis skirtingų rūšių ekstraktuose skyrėsi, pavyzdžiui: daugiausia hesperitino buvo nustatyta AE ekstraktuose (21,60 mg/g), mažiau – EE (8,32 mg/g), o mažiausiai - VE ekstraktuose (0,62 mg/g) (10-11 pav.). Hesperidino aptikta atitinkamai – medaus krūmo VE – 2,35 mg/g, AE – 0,98 mg/g, o EE – 14,34 mg/g. Magniferino junginių VE ekstraktuose – 0,63 mg/g, AE – 0,45 mg/g, EE – 7,94 mg/g.

Ybiškės augalų ekstraktuose identifikuoti 5 junginiai – kvercetas, kampesterolis, ergosterolis, pelargonidinas, cianidinas, tačiau jų koncentracija ekstraktuose buvo nevienoda. Didžiausia minėtų junginių koncentracija nustatyta AE ir EE ekstraktuose (5 lentelė). Taip pat buvo aptikta hibiscetino bei citrinų rūgšties, tačiau šių junginių buvo nedideli kiekiai. Citrinų rūgšties buvo rasta tik ybiškės VE ekstraktuose. Hibiscetino buvo nustatyta visuose ekstraktuose nežymūs kiekiai.

Galima teigti, kad didžiausi kiekiai identifikuotų junginių buvo aptikti EE medaus krūmo ekstraktuose, o kituose ekstraktuose jų buvo nežymūs kiekiai.



10 pav. Ybiškės etanolinio ekstrakto ESC/MS chromatograma



11 pav. Medaus krūmo acetoninio ekstrakto ESC/MS chromatograma

3.2. Ekstraktų ir atskirų frakcijų antimikrobinių savybių įvertinimas

3.2.1. Ekstraktų antibakterinis poveikis

Įvairiuose augalų ekstraktuose yra medžiagų, slopinančių mikroorganizmų augimą. Skirtingais būdais ir tirpikliais ekstrahuotose medaus krūmo ir ybiškės ekstraktuose nevienodas antioksidantų ir fenolinių junginių kiekis.

Todėl siekiant atrinkti antimikrobiškai aktyviausius augalų ekstraktus buvo pasirinktas difuzijos į agarą metodas – leidžiantis paprastai ir patikimai nustatyti mikroorganizmų jautrumą tiriamajai medžiagai. Ištyrėme įvairių koncentracijų (20%, 10%, 5%, 1%) ekstraktų tirpalus, kurie turi minimalų medžiagos kiekį turintį antibakterinį efektą. Buvo pasirinktos 4 gramneigiamos (*S. typhymurium*, *E. coli*, *P. aeruginosa* ir *K. pneumoniae*) ir 5 granteigiamos (*S. aureus*, *L. monocytogenes*, *B. cereus*, *B. subtilis* ir *E. faecalis*) bakterijų kultūros.

Atlikti tyrimai parodė, kad ybiškės ekstraktai pasižymėjo stipriomis antibakterinėmis savybėmis, bet nevienodai slopino tiriamųjų mikroorganizmų augimą (6 lentelė). Vandeninės ybiškės frakcijos ekstraktai (LFV ir IFV) slopino visų testavimo kultūrų augimą, bet sudarė mažesnes slopinimo zonas nei AE ir EE ekstraktai, atitinkamai. LFV ekstraktų visų koncentracijų tirpalai veikė testavimo kultūras, o IFV ekstraktų 1% koncentracijos tirpalai slopinimo zonų nesudarė prieš – *P. aeruginosa*, *B. subtilis*, ir 5% koncentracijos tirpalai – *K. pneumoniae* ir *E. faecalis*. Stipriausiomis antibakterinėmis savybėmis pasižymėjo AE ir EE ybiškės ekstraktai, jautriausia kultūra – *S. aureus* ir *E. coli*.

Medaus krūmo ekstraktai pasižymėjo silpnesnėmis antibakterinėmis savybėmis išskirti iš vandeninių frakcijų, mažiau veikė tiriamųjų mikroorganizmų augimą ir sudarė žymiai mažesnes skaidrias slopinimo zonas aplink įdubas. *E. faecalis* buvo visiškai nejautrus medaus krūmo LFV ir IFV ekstraktams. LFV ir IFV ekstraktų koncentracijos 1 ir 5% neslopino – *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *S. aureus* ir *B. subtilis* kultūrų. Vertinant AE ir EE ekstraktus nustatėme, kad *S. typhymurium* kultūra buvo jautri AE, o *B. cereus* – EE medaus krūmo ekstraktams.

Apibendrinus atlikto tyrimo rezultatus, galima teigti, kad ybiškės ekstraktai pasižymėjo stipresnėmis antibakterinėmis savybėmis. LFV ir IFV ekstraktų aktyvumas buvo labai panašus ir svyravo paklaidos ribose. Efektyvesni buvo ybiškės ir medaus krūmo AE ir EE ekstraktai, nors ir kai kurių bakterijų minimalios koncentracijos neslopino.

Įvertinus tiriamųjų ekstraktų įtaką 6 pieno rūgšties bakterijų kultūroms (*L. lactis* subsp. *lactis*, *L. acidophilus*, *L. lactis* subsp. *cremoris*, *L. bulgaricus*, *S. thermophilus*, *Bifidobacterium*) nustatytos skirtingos tendencijos (7 lentelė). Medaus krūmo LFV ir IFV ekstraktai neturėjo slopinamojo poveikio tiriamiesiems mikroorganizmams. Didžiausiu jautrumu medaus krūmo EE ekstraktams pasižymėjo – *L. acidophilus*, o AE – *Bifidobacteria* spp. Skaidriausios slopinimo zonos susidarė aplink visų tirtųjų koncentracijų ekstraktų tirpalus prieš – *L. lactis* ir *S. thermophilus*. Didžiausios skaidrios zonos buvo aplink įdubas su AE ekstraktu ir siekė iki 25 - 23 mm.

Vertinant skirtingais gamybos būdais ir tirpikliais pagamintų ybiškės ekstraktų įtaką, nustatyta, kad LFV ir IFV ekstraktai testavimo kultūrų beveik neslopino, tik 20% koncentracijos, išskyrus *L. acidophilus*. AE ir EE ekstraktų poveikis buvo stipresnis. Jautriausia kultūra - *S. thermophilus*, *L. lactis* ir *L. acidophilus*, slopinimo zonos svyravo nuo 9 iki 33 mm.

Išanalizavus gautus rezultatus matyti, kad vandeninės frakcijos (liofilizuotos ir išpurkštos) medaus krūmo ekstraktai neslopino PRB, o ybiškės ekstraktai slopino tik didžiausias koncentracijas ir sudarė skaidrias zonas 11-18 mm. AE ir EE ekstraktams testavimo kultūros buvo daugiau ar mažiau jautrios, jautriausios - *L. lactis* ir *S. thermophilus*.

6 lentelė. Ybiškės ir medaus krūmo ekstraktų antimikrobinis aktyvumas.

Ekstr. pav. ir konc., %		Mikroorganizmai/Slopinimo zonos, mm								
		<i>E. coli</i>	<i>P. aeau- rugi- nosa</i>	<i>S. typhy- mu- rium</i>	<i>K. pneu- mo- niae</i>	<i>S. au- reus</i>	<i>L. mo- nocy- toge- nes</i>	<i>B. cereus</i>	<i>E. fae- calis</i>	<i>B. subti- lis</i>
Ybiškės ekstraktai										
LFV	20	21±2,0	20±0,0	20±1,0	25±2,0	30±4,0	31±0,0	28±0,0	19±1,2	24±0,5
	10	17±0,0	16±1,0	15±0,0	19±1,0	24±0,0	25±2,2	25±0,0	15±0,0	16±0,0
	5	14±1,0	14±0,0	13±0,0	16±0,0	20±2,3	23±2,3	23±3,3	13±0,0	14±1,0
	1	10±1,0	9±1,0	9±0,0	13±0,0	11±0,0	13±0,0	13±0,0	10±0,8	11±0,5
IFV	20	21±0,9	20±3,3	20±0,0	22±0,0	31±0,0	31±0,0	30±0,2	17±0,0	17±0,2
	10	18±0,0	15±0,0	15±0,5	17±0,0	24±0,0	24±1,0	25±0,7	12±0,0	11±0,0
	5	16±1,0	10±0,0	13±0,0	0	20±0,0	21±0,0	23±0,0	0	9±0,0
	1	10±1,0	0	9±0,0	0	10±0,0	11±0,7	13±0,2	0	0
AE	20	25±1,0	28±0,5	32±0,0	31±0,0	25±0,0	32±0,0	36±0,0	29±3,3	36±0,4
	10	20±1,8	20±0,0	19±0,0	23±0,9	20±1,0	25±0,0	25±0,0	19±0,0	20±0,0
	5	17±1,6	18±0,0	16±0,0	20±1,0	12±0,0	21±0,5	21±0,0	14±0,4	18±0,6
	1	12±1,0	14±0,5	13±0,0	14±0,0	10±0,5	11±0,0	19±0,5	10±0,0	14±0,0
EE	20	25±1,0	26±0,0	32±4,2	23±0,0	24±3,2	22±2,2	30±0,0	22±1,4	30±0,0
	10	22±1,0	19±1,0	23±0,5	21±0,0	19±0,0	19±0,0	25±3,5	17±0,0	20±0,4
	5	19±1,0	17±0,0	19±0,6	19±0,0	17±1,0	12±0,0	20±0,8	13±0,0	18±0,0
	1	13±1,0	14±0,0	15±0,0	15±1,0	12±0,0	9±0,0	15±0,0	11±0,2	14±0,4
Medaus krūmo ekstraktai										
FV	20	18±1,9	13±1,0	18±0,0	22±0,0	14±0,0	18±0,5	18±0,0	0	13±1,0
	10	16±1,0	10±0,0	12±0,5	17±0,5	10±0,0	13±0,0	10±0,0	0	10±0,0
	5	12±1,0	0	10±0,0	0	0	10±0,0	0	0	0
	1	9±1,0	0	0	0	0	0	0	0	0
IFV	20	19±1,0	13±0,0	19±0,0	20±2,2	15±0,0	18±0,8	18±0,5	0	13±0,0
	10	15±1,5	10±0,0	12±0,5	15±0,0	9±0,0	13±0,0	10±0,0	0	10±0,0
	5	13±1,0	0	10±0,0	0	0	10±0,0	0	0	0
	1	10±0,0	0	0	0	0	0	0	0	0
AE	20	19±1,0	30±0,0	10±0,0	25±0,0	19±0,0	19±0,0	17±0,0	18±0,0	30±3,0
	10	17±0,2	25±0,5	0	17±0,0	17±0,0	16±0,0	15±0,0	16±0,7	25±3,2
	5	14±0,0	22±0,0	0	15±0,3	15±0,8	14±0,0	12±0,7	12±0,0	22±0,0
	1	11±0,0	18±0,0	0	10±0,0	12±0,0	9±0,5	10±0,0	9±0,0	18±0,0
EE	20	23±2,3	24±0,0	15±0,0	23±0,0	17±0,4	18±0,0	13±0,0	17±0,0	24±2,4
	10	20±0,4	17±0,8	13±0,0	20±0,4	15±0,0	15±0,0	0	13±0,0	17±0,0
	5	15±0,0	15±0,0	10±0,0	14±1,0	11±0,0	11±0,4	0	11±0,0	15±0,0
	1	12±0,0	12±0,0	0	11±0,9	9±0,0	9±0,0	0	9±0,0	12±0,0

7 lentelė. Ybiškės ir medaus krūmo ekstraktų įtaka pieno rūgšties bakterijoms.

Ekstr. ir konc., %		Mikroorganizmai/Slopinimo zonos, mm					
		<i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	<i>L. aci-dophilus</i>	<i>L. lactis</i> subsp. <i>cre-moris</i>	<i>L. bulgari-cus</i>	<i>S. ther-mophilus</i>	<i>Bifido-bacteria</i>
YBIŠKĖ LFV	20	12±0,0	18±0,5	15±0,0	13±0,0	0	12±0,0
	10	0	15±0,2	0	0	0	0
	5	0	0	0	0	0	0
	1	0	0	0	0	0	0
YBIŠKĖ IFV	20	12±0,0	23±0,0	0	11±0,0	0	13±0,2
	10	0	19±0,5	0	0	0	0
	5	0	12±0,1	0	0	0	0
	1	0	0	0	0	0	0
YBIŠKĖ AE	20	25±0,0	30±0,5	33±0,0	21±0,0	25±0,5	17±0,0
	10	20±0,5	18±0,0	22±0,0	12±0,2	20±0,2	13±0,0
	5	12±0,2	15±0,2	13±0,5	10±0,0	18±0,0	10±0,0
	1	9±0,0	11±0,0	0	0	10±	0
YBIŠKĖ EE	20	27±0,0	26±0,0	22±0,0	17±0,5	20±0,0	20±0,0
	10	22±0,5	17±0,0	20±0,5	9±0,2	15±0,5	17±0,0
	5	16±0,2	0	15±0,0	0	10±0,2	15±0,5
	1	13±0,8	0	0	0	0	0
M.KRŪ-MAS LFV	20	0	0	0	16±0,0	0	17±0,5
	10	0	0	0	0	0	12±0,2
	5	0	0	0	0	0	0
	1	0	0	0	0	0	0
M.KRŪ-MAS IF	20	0	0	0	14±0,0	0	16±0,5
	10	0	0	0	0	0	12±0,2
	5	0	0	0	0	0	0
	1	0	0	0	0	0	0
M. KRŪ-MAS AE	20	25±0,0	22±0,5	23±0,0	14±0,0	23±0,0	13±0,0
	10	20±0,0	13±0,0	14±0,0	12±0,2	18±0,0	0
	5	18±0,5	11±0,2	0	10±0,0	15±0,2	0
	1	16±0,2	0	0	0	12±0,5	0
M.KRŪ-MAS EE	20	31±0,0	17±0,0	19±0,0	16±0,5	20±0,0	20±0,0
	10	23±0,0	0	14±0,0	14±0,0	17±0,0	12±0,0
	5	20±0,0	0	0	11±0,0	15±0,0	0
	1	17±0,0	0	0	0	13±0,0	0

3.2.2. Fungicidinis ekstraktų poveikis

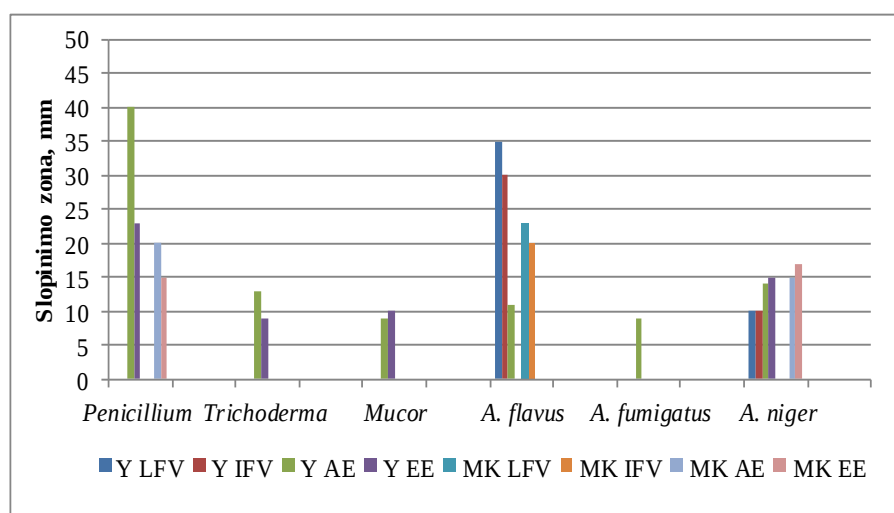
Šiame tyrimų etape tyrėme dažniausiai maisto produktuose aptinkamus mikroskopinius grybus (*Penicillium* spp., *Trichoderma* spp., *Mucor* spp., *A. flavus*, *A. fumigatus*, *A. niger*) ir mieles (*S. cerevisiae*, *C. parapsilosis*, *C.*

albicans, *R. rubra*, *K. marxianus* var. *Lactis*, *P. kluyveri*, *T. delbrueckii*) išskirtas iš maisto produktų, kaip jų gadintojas.

Tiriamieji ekstraktai nevienodai slopino skirtingų mikroskopinių grybų padermių augimą. Ybiškės vandeniniams ekstraktams jautriausios buvo *A. flavus* (slopinimo zonos LFV – 35 mm, IFV – 30 mm) ir *A. niger* (LFV ir IFV – 10 mm) padermės. LFV ekstraktams jautresnė – *A. flavus* padermė.

Ekstraktams ekstrahuotiems organiniais tirpikliais mikroskopiniai grybai buvo jautresni. EE neturėjo slopinančio poveikio – *A. fumigatus* ir *A. flavus* grybams. AE ekstraktams mikroskopiniai grybai buvo jautresni – *Penicillium* spp. – 40 mm, *Trichoderma* spp. – 13, *Mucor* spp. – 9, *A. flavus* – 11, *A. fumigatus* – 9 ir *A. niger* – 14 mm, EE atitinkamai – 23 mm, 9 mm, 10 mm ir 15 mm (12 pav.).

Medaus krūmo ekstraktai slopinančiai veikė LFV ir IFV – *A. flavus*, AE ir EE – *A. niger* ir *Penicillium* spp. gentis. Tačiau visiškai neslopino vandeninės frakcijos ekstraktai – *Penicillium* spp., *Trichoderma* spp., *Mucor* spp. ir *A. niger*, iš AE ir EE – *Trichoderma* spp., *Mucor* spp., *A. flavus* ir *A. fumigatus* mikroskopinių grybų.



12 pav. Ybiškės ir medaus krūmo ekstraktų fungicidinis poveikis.

Ištyrus mielių jautrumą tiriamiesiems ekstraktams (8 lentelė), nustatyta, kad vandeninių frakcijų ekstraktams mielės atsparios. Išsiskiria tik ybiškės AE ekstraktas – visų jo koncentracijų tirpalai slopino testavimo kultūrų augimą prieš *S. cerevisiae* ir EE ekstraktai, atitinkamai – *S. cerevisiae* ir *P. kluyveri*. Minimali slopinimo koncentracija sudarė apie 9-10 mm skersmens slopinimo zonas. Jautriausia kultūra – *S. cerevisiae* ir *C. parapsilosis*.

Apibendrinus gautus rezultatus galima teigti, kad mielės buvo mažiau jautrios ekstraktams ekstrahuotiems organiniais tirpikliais. Vandeniniai ekstraktai slopinamojo poveikio neturėjo. AE buvo efektyvesni nei EE.

8 lentelė. Ybiškės ir medaus krūmo ekstraktų poveikis mielėms.

Ekstr. ir konc., %		Mielės/Slopinimo zonos, mm						
		<i>S. cerevisiae</i>	<i>C. parapsilosis</i>	<i>C. albicans</i>	<i>R. rubra</i>	<i>K. m. var. lactis</i>	<i>P. kluyveri</i>	<i>T. delbrueckii</i>
YBIŠKĖ LFV	20	0	0	0	0	0	0	0
	10	0	0	0	0	0	0	0
	5	0	0	0	0	0	0	0
	1	0	0	0	0	0	0	0
YBIŠKĖ IFV	20	0	0	0	0	0	0	0
	10	0	0	0	0	0	0	0
	5	0	10±0,0	0	0	0	0	0
	1	0	0	0	0	0	0	0
YBIŠKĖ AE	20	26±0,0	24±0,5	20±0,0	18±0,0	16±0,5	21±0,0	20±0,0
	10	16±0,5	13±0,0	14±0,0	10±0,2	13±0,2	15±0,0	18±0,2
	5	14±0,2	10±0,2	10±0,5	0	10±0,0	0	10±0,5
	1	10±0,0	0	0	0	0	0	0
YBIŠKĖ EE	20	15±0,0	20±0,0	17±0,0	20±0,5	15±0,0	20±0,0	20±0,0
	10	9±0,5	16±0,0	12±0,5	14±0,2	13±0,5	16±0,0	18±0,0
	5	0	12±0,0	10±0,0	0	10±0,2	14±0,5	11±0,0
	1	0	10	0	0	0	10	0
M. KRŪMAS LFV	20	0	0	0	0	0	0	0
	10	0	0	0	0	0	0	0
	5	0	0	0	0	0	0	0
	1	0	0	0	0	0	0	0
M. KRŪMAS IFV	20	0	0	0	0	0	0	0
	10	0	0	0	0	0	0	0
	5	0	0	0	0	0	0	0
	1	0	0	0	0	0	0	0
M. KRŪMAS AE	20	15±0,0	15±0,5	23±0,0	14±0,0	22±0,0	15±0,0	13±0,0
	10	13±0,0	13±0,0	14±0,0	13±0,2	16±0,0	12±0,0	0
	5	11±0,5	0	0	10±0,0	12±0,2	10±0,0	0
	1	9±0,2	0	0	0	10±0,5	0	0
M. KRŪMAS EE	20	14±0,0	18±0,0	19±0,0	15±0,5	20±0,0	12±0,0	11±0,0
	10	10±0,0	12 0	14±0,0	11±0,0	14±0,0	10±0,0	0
	5	0	0	0	0	12±0,0	0	0
	1	0	0	0	0	10±0,0	0	0

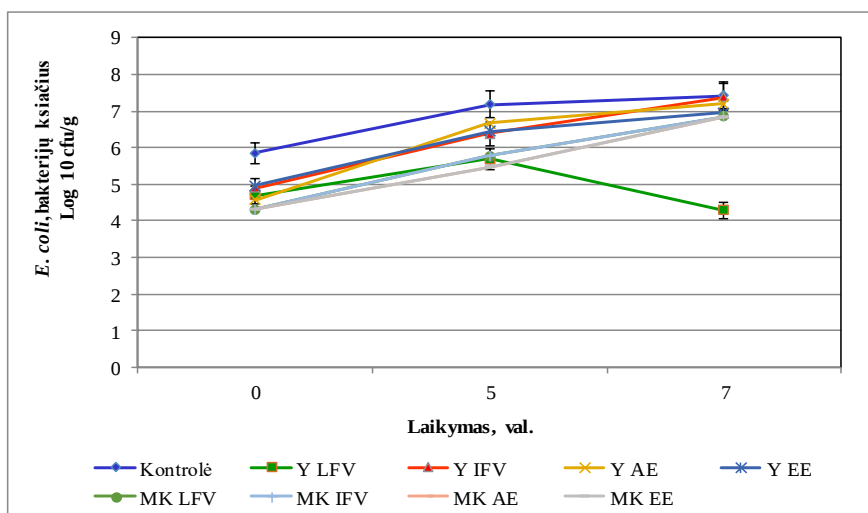
3.3. Bakterijų skaičiaus pokyčiai varškėje su medaus krūmo ir ybiškės ekstraktais

Įvertinus pieno produktuose nepageidaujamų bakterijų skaičiaus pokyčius varškėje, nustatyta, kad tyrimuose naudoti ekstraktai slopina tirtųjų bakterijų kultūrų – *E. coli*, *S. aureus*, *L. monocytogenes* augimą (13-16 pav.). Tyrimuose naudotos jusliškai priimtinos koncentracijos, t.y. 2% ekstraktų.

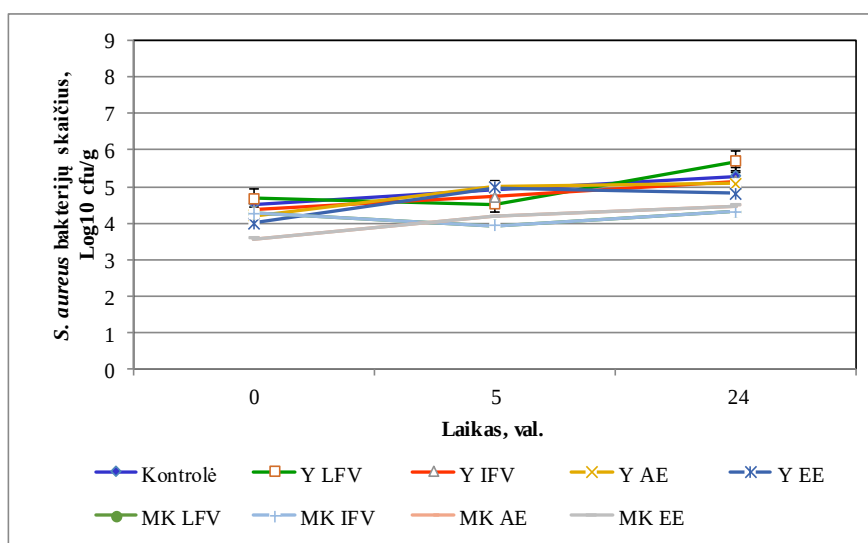
Tiriamieji ekstraktai slopina testavimo kultūrų augimą, tačiau ekstraktų efektyvumas priklauso nuo augalo rūšies, tirpiklio ir bakterijų. Kaip matyti iš pateiktų rezultatų visi ybiškės ekstraktai slopino mikroorganizmų dauginimąsi iškart pridėjus į varškę (su ybiškės ekstraktais varškės pH – 5,80, medaus krūmo ekstraktais pH – 6,40, o kontrolinės varkės pH – 6,60) ir po 5 val. išlaikymo. Mėginiuose su ekstraktais buvo nustatyta mažiau nuo 0,95 iki 1,55 lg *E. coli* kolonijas sudarančių vienetų grame (KSV/g) nei kontroliniame mėginyje. Laikymo metu *E. coli* skaičius didėjo kontroliniame ir mėginiuose su ekstraktais, (bet ekstraktas sulėtino *E. coli* dauginimąsi) turėjo slopinančio poveikio ($p \leq 0,01$). *S. aureus* pokyčiai varškėje su priedais slopinančiai veikė šių bakterijų augimą. Varškė su ybiškės AE iškart pridėjus neslopino, bet po 5 val. slopinimas buvo 0,36 lg KSV/g didesnis nei kontroliniame mėginyje, o po 24 val. sumažėjo 0,42 lg KSV/g. Varškėje su EE ir VE ybiškės ekstraktais *L. monocytogenes* bakterijų augimo slopinimas lyginant su kontrole, nustatytas po 5 ir 24 val. slopinimas buvo didesnis (0,24-0,07 ir 0,74-0,25 lg KSV/g, atitinkamai).

Varškės mėginiuose su medaus krūmo ekstraktais *E. coli* slopinimas buvo nustatytas iškart pridėjus ekstraktų, po 5 ir 24 val., ir siekė atitinkamai 0,21 lg, 0,26 lg ir 0,38 lg KSV/g. Vandeninių frakcijų ekstraktų priedas vienodai slopino mikroorganizmų dauginimąsi. *S. aureus* dauginimąsi varškėje slopinančiai veikė visi medaus krūmo ekstraktai. Medaus krūmo ekstraktas *L. monocytogenes* bakterijų augimo iškart pridėjus varškėje neslopino, bet po 24 val. buvo 0,44 lg KSV/g didesnis nei kontroliniame mėginyje.

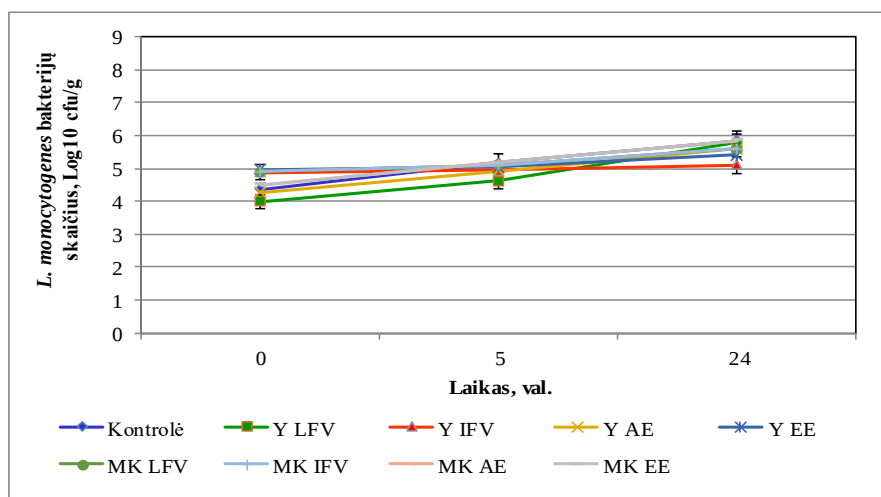
Pienarūgščių bakterijų dauginimąsi varškėje po 24 val. slopino ybiškės etanolinis ekstraktas 0,54 lg KSV/g ir vandeninių frakcijų ekstraktai ybiškės 0,11 lg KSV/g, medaus krūmo – 0,34 lg KSV/g, atitinkamai. Apibendrinus gautus rezultatus, nustatyta, kad nuo individualių testavimo kultūrų savybių priklauso jų jautrumas augalų ekstraktams, o antimikrobinio poveikio efektyvumas gali kisti nuo pačio produkto pH ar kitų priedų.



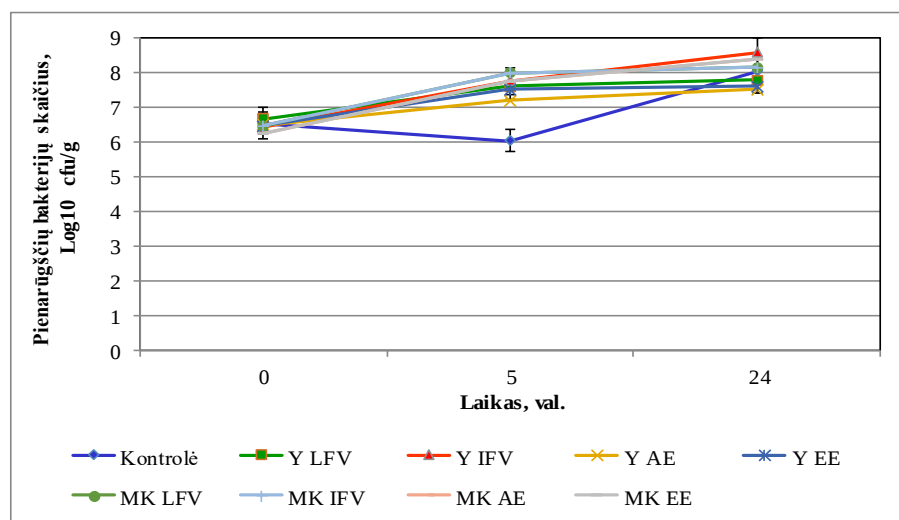
13 pav. E. coli skaičiaus pokyčiai varškėje



14 pav. S. aureus skaičiaus pokyčiai varškėje



15 pav. *L. monocytogenes* skaičiaus pokyčiai varškėje



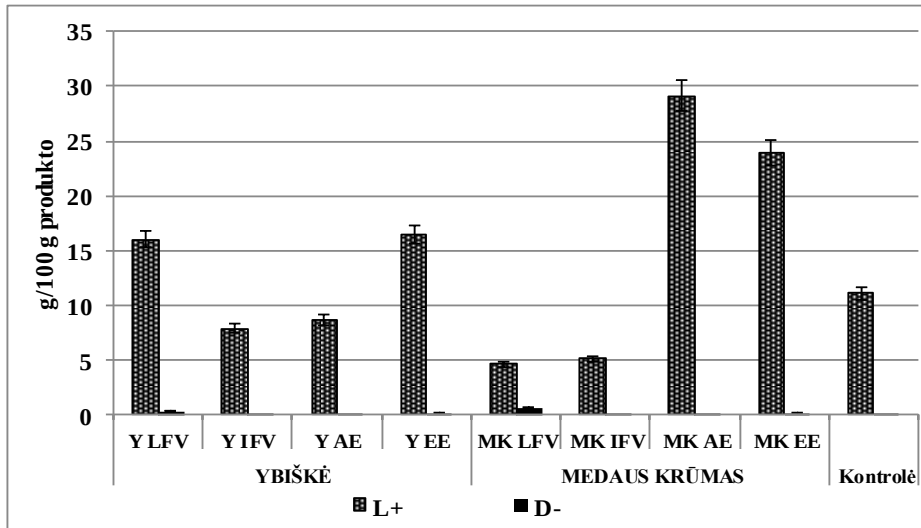
16 pav. Pieno rūgšties bakterijų skaičiaus pokyčiai varškėje

3.4. Fiziko-cheminių rodiklių tyrimai varškėje su ekstraktais

3.4.1. D(-)/L(+) pieno rūgšties izomerų skaičius varškėje

Tyrimo rezultatai parodė, kad visi varškės mėginiai turėjo fiziologiškai priimtina L(+) pieno rūgšties izomerą, o D(-) buvo labai nedidelė koncentracija (17 pav.). Ybiškės ir medaus krūmo priedai turėjo įtakos susidarant skirtingiems L(+) ir D(-) pieno rūgšties izomerų kiekiams. Daugiausia L(+) pieno rūgšties izomero buvo varškėje su medaus krūmo

ekstraktais – 29,15 g/100g (AE), 23,95 g/100g (EE), su ybiškės ekstraktais – 16,55 g/100g (EE) ir 16,03 g/100g (LFV), atitinkamai. Lyginant su kontroliniu mėginiu su medaus krūmo ekstraktu L(+) pieno rūgšties izomero susidarė 2,2-2,6 karto, o su ybiškės – 1,5 karto daugiau. D(-) pieno rūgšties izomero daugiausiai susidarė varškėje su liofilizuotu medaus krūmo ekstraktu – 0,64 g/100g ir su ybiškės – 0,32 g/100g.

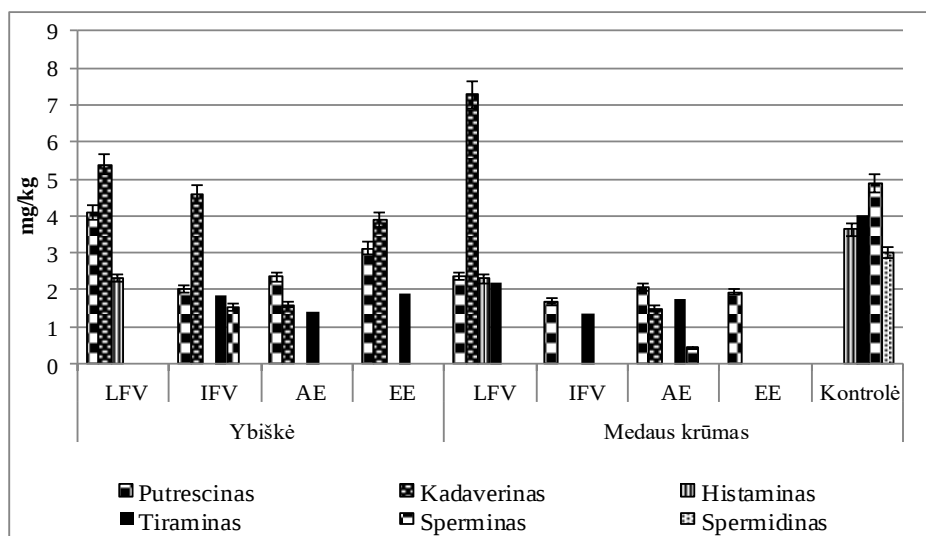


17 pav. D(-)/L(+) pieno rūgšties izomerų kiekis varškėje su medaus krūmo ir ybiškės ekstraktais.

3.4.2. Biogeninių aminių kiekis varškėje

Tyrimo metu nustatytas atskirų frakcijų ir bendras BA kiekis varškėje (18 pav.). Didžiausia putrescino koncentracija nustatyta varškėje su ybiškės LFV ekstraktu, o mažiausia – su medaus krūmo IFV ekstraktu. Kadaverinas buvo rastas visuose mėginiuose išskyrus – su medaus krūmo IFV, EE priedais ir kontroliniame mėginyje. Didžiausia koncentracija – varškėje su medaus krūmo LFV priedu (7,28 mg/kg), mažiausia – su medaus krūmo AE priedu (1,49 mg/kg). Taip pat buvo rastas nedidelės koncentracijos ir histamino mėginiuose su – ybiškės LFV ir medaus krūmo LFV priedais, lyginant su kontroliniu mėginiu. Tiramino koncentracija svyravo su ybiškės priedais buvo - 2,3 karto, o su medaus krūmo – 2,3 karto mažesnė nei kontroliniame mėginyje. Varškėje su ybiškės IFV ir medaus krūmo AE priedais buvo rastos nedidelės koncentracijos spermino. Spermidinas nustatytas kontroliniame mėginyje, jo koncentracija 3,0 mg/kg. Bendras BA kiekis neviršijo leistinos normos varškės produktuose su priedais.

Apibendrinus rezultatus matyti, kad naudojami priedai darė nedidelę įtaką BA formavimuisi varškėje. Didžiausias suminis kiekis BA nustatytas varškėje su medaus krūmo LFV (14,18 mg/kg) ir ybiškės LFV (11,80 mg/kg) priedais, o kontroliniame mėginyje (15,54 mg/kg).



18 pav. Biogeninių aminų kiekis (mg/kg) varškėje.

3.4.3. Spalvos koordinatėjų dinamika varškėje

Šio tyrimo metu nustatėme ekstraktų įtaką varškės spalvos koordinatėms. Skirtingi ekstraktai darė įtaką varškės šviesumui (L^*), raudonumui (a^*) ir geltonumui (b^*). Varškėje su ybiškės EE priedu nustatytos mažiausios šviesumo koordinatės (L^*), o šviesiausi mėginiai – kontroliniai ($L^* - 91,00$). Naudojant medaus krūmo ekstraktus visų varškės mėginių šviesumas buvo mažesnis lyginant su kontroliniu mėginiu. Nustatyti staistiškai reikšmingi skirtumai tarp naudotų ekstraktų ir kontrolinio mėginio ($p \leq 0,05$).

Įvertinus raudonumo koordinatas, nustatyta, kad reikšmingos įtakos turėjo ybiškės ekstraktai, kur raudonumo koordinatės svyravo nuo 13,53 NBS (LFV priedu) iki 0,67 NBS (AE priedu). Medaus krūmo ekstraktai varškėje su AE ir EE sudarė neigiamas raudonumo koordinatas. Raudonumo koordinatės labiausiai išreikštos su ybiškės LFV, IFV, EE priedais, bei medaus krūmo LFV ir IFV priedais.

Geltonumo koordinatės (b^*) labiausiai išreiktos varškėje su medaus krūmo ekstraktais ir svyruoja nuo 14,84 iki 19,14 NBS, o kontroliniame mėginyje 9,81 NBS. Varškėje su ybiškės LFV ekstraktu sumažėjo geltonumo

koordinates (b^* - -1,65 NBS), o AE priedas suintensyvino geltonumą 13,33 NBS.

Varškę praturtinus augalų ekstraktais, sumažėjo šviesumo koordinatės. Ybiškės priedai varškei suteikė daugiau raudonumo, o medaus krūmo – geltonumo. Skirtingi augalai, tirpikliai ir ekstrakcija turi reikšmingos įtakos varškės spalvos koordinatėms.

9 lentelė. *Ekstraktų įtaka spalvos koordinatėms varškėje.*

Varškė	Ekstraktai			
	LFV	IFV	AE	EE
L*				
Ybiškė	64,75±0,25	67,83±0,70	66,55±0,41	55,91±0,12
Medaus krūmas	78,42±0,10	77,98±0,15	86,07±0,52	68,77±0,20
Kontrolė	91,00±0,09			
a*				
Ybiškė	13,53±0,90	10,70±0,10	0,67±0,20	9,86±0,14
Medaus krūmas	5,48±0,10	5,50±0,20	-4,48±0,08	-2,08±0,10
Kontrolė	-2,20±0,30			
b*				
Ybiškė	-1,65±0,20	0,71±0,10	13,33±0,44	6,81±0,30
Medaus krūmas	16,57±0,18	16,49±0,15	19,14±0,56	14,84±0,10
Kontrolė	9,81±0,20			

*Statistiškai patikimi skirtumai, kaip $p \leq 0,05$.

3.4.4. Varškės su ekstraktais juslinė-profilinė analizė

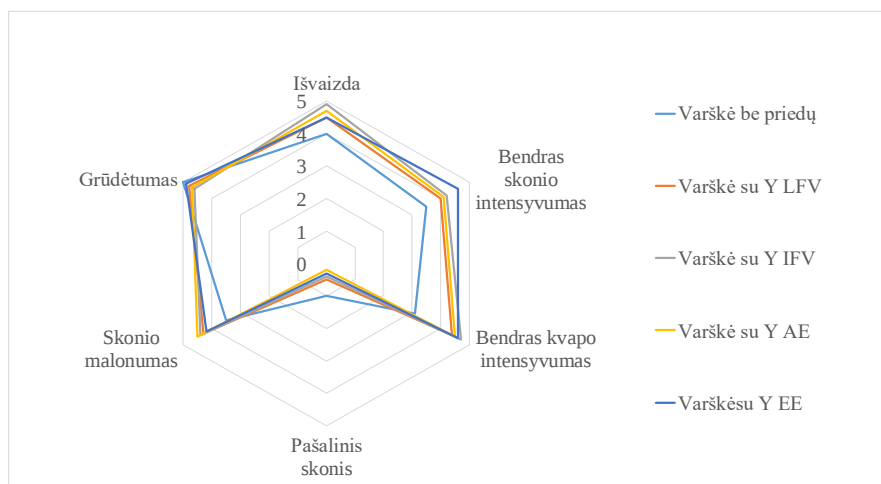
Šio tyrimo tikslas buvo ištirti medaus krūmo ir ybiškės ekstraktų įtaką varškės juslinei kokybei ir priimtinumui. Pradiniam tyrimų etape atliktas priimtino vertinimas, siekiant išsiaiškinti mėginių priimtinumą vartotojui, po to sudarytas jų juslinių savybių profilis. Kvapo, skonio ir tekstūros (grūdėtumas) priimtumas vertintas atskirai. Visų tirtų mėginių bendras priimtumas buvo vienodai priimtinas vartotojams ir priimtino vertinimai statistiškai reikšmingai nesiskyrė ($p \leq 0,05$) nuo kontrolinio mėginio.

Atlikus juslinę-profilinę analizę nustatyta, kad mėginiuose su varškė ir medaus krūmu bendras kvapo intensyvumas buvo stipriausiai išreikštas ir turėjo įtakos produktų išvaizdos savybėms, grūdėtumui ir bendram skonio intensyvumui. Bendras skonio intensyvumas buvo panašus, bet labiausiai išreikštas buvo medaus krūmo su EE, AE ir IFV ekstraktais ir neturėjo įtakos pašaliniam skoniui.

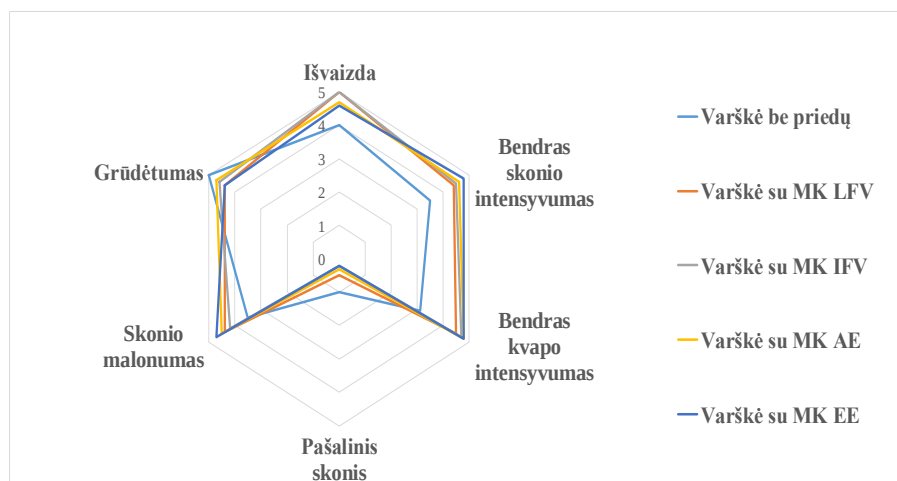
Varškės su ybiškės ekstraktų priedais juslinė-profilinė analizė parodė, kad didžiausios įtakos ekstraktų priedai turėjo – bendram skonio ir kvapo

intensyvumui, skonio malonumui ir grūdėtumui. Bendras kvapo ir skonio intensyvumas buvo jaučiamas varškėje su ybiškės EE priedu lyginant su kontroliniu mėginiu. Pašalinis skonis labiausiai išreikštas kontroliniame mėginyje, varškėje su priedais jis buvo nejaučiamas.

Apibendrinus gautuosius tyrimų rezultatus, galima daryti išvadą, kad ybiškės ir medaus krūmo ekstraktų priedai varškėje nesudarė vartotojams pašalinio skonio, kas padidino produkto bendrą skonio ir kvapo priimtinumą ir darė produktus vartotojams patrauklius.



19 pav. Juslinė-profilinė analizė varškės su ybiškės ekstraktų priedais.

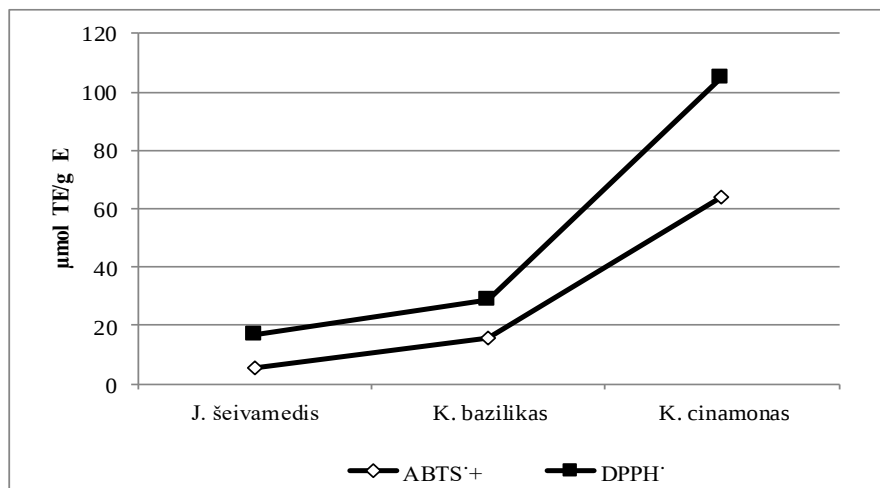


20 pav. Juslinė-profilinė analizė varškės su medaus krūmo ekstraktų priedais.

3.5. CO₂ ekstraktų antioksidacinis aktyvumas skirtingose *in vitro* modelinėse sistemose

Šios tyrimų dalies tikslas buvo ištirti komercinių CO₂ ekstraktų (*Sambucus nigra* L., *Ocimum basillicum* ir *Cinnamomum aromaticum*) įtaką antiradikaliniam aktyvumui (DPPH[•], ABTS^{•+}, ORAC sujungimo) ir BFJK.

Tiriant CO₂ ekstraktų RSG su DPPH[•] reagentu (21 pav.) nustatyta, kad didžiausiu antiradikalinio aktyvumu pasižymėjo kininis cinamonas (104,63 μmol TE/g), o mažiausiu juoduogių šėivamedis (16,64 μmol TE/g). Didžiausia ABTS^{•+} RSG pasižymėjo kininis cinamonas, o mažiausia juoduogių šėivamedis.



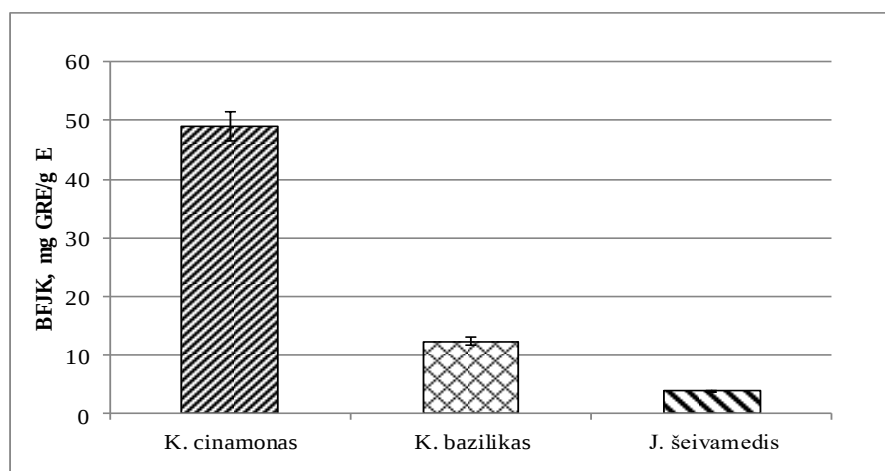
21 pav. Radikalų surišimo geba tiriamuosiuose CO₂ ekstraktuose

BFJK tirtuose ekstraktuose svyravo nuo 49,13 iki 3,9 mg GRE/g (22 pav.). Daugiausia BFJK nustatyta kininio cinamono (49,13 mg GRE/g), o mažiausiai - juoduogių šėivamedžio (3,9 mg GRE/g) ekstraktuose. Tarp BFJK ir DPPH[•] surišimo gebos nustatytas stiprus koreliacinis ryšys ($r^2=0,99$). Stipri teigiama koreliacija nustatyta ir tarp BFJK ir ABTS^{•+} surišimo gebos ($r^2=0,96$).

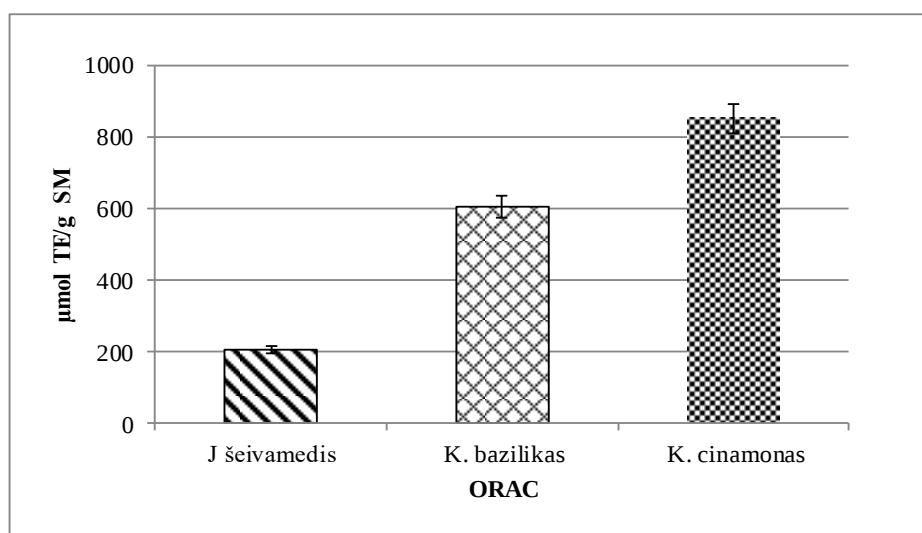
Kininio cinamono ir kvapiojo baziliko CO₂ ekstraktai pasižymėjo didžiausiu AA ir BFJK. Todėl galima teigti, kad BFJK gerai apibūdina šių ekstraktų *in vitro* antioksidacinį aktyvumą.

Įvertinus ORAC surišimo gebą svyravo nuo 206,41 iki 849,63 μmol TE/g (23 pav.). Mažiausiu AA pasižymėjo juoduogių šėivamedis, o didžiausiu kininis cinamonas.

Apibendrinus gautus tyrimų rezultatus, galima teigti, kad geriausiomis antioksidacinėmis savybėmis pasižymėjo kininio cinamono ir kvapiojo baziliko CO₂ ekstraktai jų RSG buvo apie 3-4 kartus didesnė lyginant su juoduogių šėivamedžio ekstraktu.



22 pav. Tiriųjų CO₂ ekstraktų bendras fenolinių junginių kiekis.



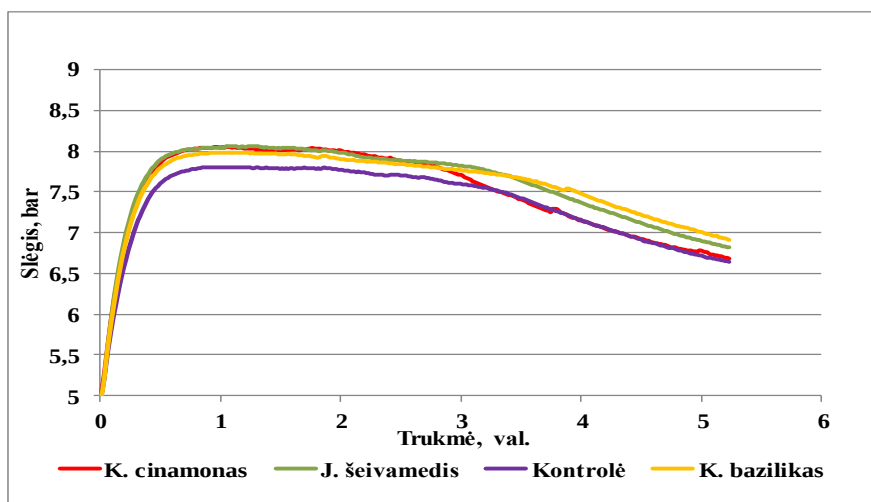
23 pav. CO₂ ekstraktų deguonies radikalo sujungimo geba (ORAC).

3.5.1. CO₂ ekstraktų stabilumas oksidacijai

Ištirtas tiriamųjų ekstraktų oksidacinis stabilumas emulsijose ir kaitinant aukštoje temperatūroje su natūralių augalinės kilmės antioksidantu – juoduogių šėivamedžių, kvapiojo baziliko ir kininio cinamono CO₂ ekstraktais – su priedais ir be jų siekiant padidinti produktų maistingumą ir patvarumą laikymo metu.

Gauti tyrimų rezultatai pateikti 24 paveiksle nustatyta, kad geriausias savybes stabilizuojant emulsijas turėjo kvapiojo baziliko ir juoduogių šėivamedžių priedai, kurių IP buvo atitinkamai 2,73 ir 2,49 val. (tuo tarpu kontrolės IP=2,01 val.). Silpniausiomis antioksidacinėmis savybėmis, palyginus su kontrole pasižymėjo kininio cinamono priedas (IP=2,44 val.).

Įvertinus tiriamųjų mišinių įtaką, nustatėme, kad geriausiomis antioksidacinėmis savybėmis stabilizuojant emulsijas pasižymėjo kvapiojo baziliko ir juoduogių šėivamedžių priedai. Įterpiant šiuos priedus prooksidacinis efektas rodo, kad net jusliškai priimtinos koncentracijos maisto sistemose turi reikšmingos įtakos patvarumo oksidacijai ir leidžia daryti prielaidą, kad prailgina jų galiojimo laiką bei užtikrina kokybę ir saugą.



24 pav. CO₂ ekstraktų stabilumas oksipreso metodu

3.6. Antimikrobinės CO₂ ekstraktų savybės

3.6.1. CO₂ ekstraktų antimikrobinis aktyvumas

Antimikrobinės savybės įvertintos difūzijos į agarą metodu. Pasirinktos 4 gramneigiamos, 5 gramteigiamos ir 6 pieno rūgšties bakterijų kultūros (10

lentelė). Naudota skirtingų koncentracijų (nuo 1 iki 20%) juoduogių šeivamedžio, kvapiojo baziliko ir kininio cinamono CO₂ ekstraktai.

Atlikti tyrimai parodė, kad visi trys CO₂ ekstraktai pasižymėjo antibakterinėmis savybėmis, tačiau nevienodai slopino tiriamųjų mikroorganizmų augimą. Geriausiomis antibakterinėmis savybėmis pasižymėjo kininio cinamono ekstraktas, iš tiriamųjų testavimo kultūrų stipriausiai veikė šias bakterijų kultūras - *S. typhimurium*, *K. pneumoniae*, *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *B. cereus* ir *B. subtilis*.

Kvapiojo baziliko ekstraktas, buvo efektyvesnis prieš – *E. coli*, *B. cereus*, *S. aureus* ir *L. monocytogenes*. *P. aeuruginosa* buvo visiškai nejautri kvapiojo baziliko ekstraktui (nesusidarė skaidrios zonos). *S. typhimurium*, *K. pneumoniae*, *E. faecalis* bakterijų kultūras veikė tik 20% ekstrakto tirpalas, kuris nežymiai (slopinimo zonos siekė apie 11, 11, 12 mm, atitinkamai) slopino. *B. subtilis* augimą slopino 20 ir 10% koncentracijos ekstrakto tirpalas (slopinimo zonos siekė 11 ir 9 mm).

Juoduogių šeivamedžio ekstraktas, lyginant su kvapiojo baziliko ir kininio cinamono mažiausiai veikė tiriamųjų mikroorganizmų augimą ir susidarė žymiai mažesnės skaidrios slopinimo zonos aplink įdubas. *P. aeuruginosa* buvo visiškai nejautri juoduogių šeivamedžio ekstraktui. Maksimali ekstrakto koncentracija (20%) buvo efektyvi ir sudarė skaidrias zonas su *S. typhimurium* ir *E. faecalis* bakterijų kultūromis (10 mm). Efektyviausiai šio ekstrakto koncentracijos (20, 10 ir 5%) slopino *E. coli*, *S. aureus* ir *L. monocytogenes* kultūras. Mažiausia ekstrakto koncentracija (1%) buvo neefektyvi tiriamosioms bakterijų kultūroms. Įvertinus antimikrobinį aktyvumą nustatyta, kad jautriausia mikroorganizmų kultūra buvo *P. aeuruginosa*. Visi pasirinkti ekstraktai gerai slopino – *E. coli*, *S. aureus* ir *L. monocytogenes* kultūrų augimą.

Skirtingos pieno rūgšties bakterijų kultūros skirtingai pasižymėjo jautrumu CO₂ ekstraktams. Jautriausia pienarūgščių bakterijų kultūra tiriamiesiems ekstraktams – *L. lactis*. Mažiausiai jautrios – *L. bulgaricus*, *S. thermophilus* ir *Bifidobacterium* spp. Juoduogių šeivamedžio ekstraktas jautrus buvo *L. bulgaricus* ir *Bifidobacterium* (skaidrių zonų aplink įdubas nesudarė), mažiau jautrus – *L. acidophilus*, *L. lactis cremoris* ir *S. thermophilus*, kur skaidrios zonos susidarė 10, 10 16 mm, atitinkamai. Ekstrakto 1% koncentracija efektyvi buvo prieš – *L. lactis*. Įvertinus kvapiojo baziliko ekstraktą nustatyta, kad jautriausios pienorūgšties bakterijų kultūros buvo – *L. lactis cremoris* (skaidrios zonos susidarė su visomis ekstrakto koncentracijomis), *L. lactis* ir *L. acidophilus* (skaidrios zonos susidarė su 20, 10 ir 5% koncentracijomis). Visos tirtosios pieno rūgšties bakterijų kultūros

buvo jautrios kininio cinamono įvairių koncentracijų tirpalams. Mažiausias skaidrias zonas sudarė – *L. bulgaricus* kultūra.

Apibendrinus tyrimo rezultatus, galima teigti, kad kininio cinamono ekstraktai pasižymėjo stipriomis antimikrobinėmis savybėmis. Juoduogių šėivamedžio ekstraktas pasižymėjo silpniausiomis antimikrobinėmis savybėmis, nors ir buvo bakterijų, kurių augimą slopino stipriai – *E. coli*, *S. aureus*, *L. monocytogenes* ir *L. lactis*.

3.6.2. CO₂ ekstraktų fungicidinis poveikis

Testavimo kukltūromis buvo pasirinktos mielės ir pelėsiniai grybai išskirti iš maisto produktų kaip jų gadintojos, todėl svarbi yra jų jautrumo tiriamiesiems ekstraktams analizė. Tyrimams buvo pasirinktos 7 mielių (*S. cerevisiae*, *C. parapsilosis*, *C. albicans*, *R. rubra*, *K. marxianus* var. *Lactis*, *P. kluyveri*, *T. delbrueckii*) ir 6 pelėsinų grybų (*Penicillium* spp., *Trichoderma* spp., *Mucor* spp., *A. flavus*, *A. fumigatus*, *A. niger*) kultūros.

Ištyrus mielių jautrumą tiriamiesiems ekstraktams, nustatyta, kad daugeliui iš jų atsparios (11 lentelė). Išsiskiria tik kininio cinamono ekstraktas, kuriam visi jo koncentracijų tirpalai slopino testavimo kultūrų augimą ir susidarė maksimalios slopinimo zonos, išskyrus – *R. rubra*, kur slopinimo zonų nesudarė nei su viena koncentracija. Kvapiojo baziliko ekstraktas taip pat slopino visų testavimo kultūrų augimą, nors ir skaidrios zonos nevisur susidarė didelės (apie 30 mm), o mažesnių koncentracijų tirpalai slopinimo zonų nesudarė. Jautriausia bakterijų kultūra – *T. delbrueckii*, slopinimo zonos siekė iki 62 mm (20%), 44 mm (10%) ir 16 mm (5%) koncentracijomis. Juoduogių šėivamedžių ekstraktui atsparios buvo – *K. marxianus* var. *Lactis*, *P. kluyveri*, *T. delbrueckii*, *C. parapsilosis* ir *C. albicans* kultūros. *R. rubra* sudarė skaidrias zonas su 20 ir 10% koncentracijos tirpalu (17 ir 13 mm, atitinkamai).

Apibendrinus tyrimų rezultatus galima teigti, kad mielės buvo mažai jautrios CO₂ ekstraktams, išskyrus kininio cinamono ekstraktą, kurio 1% tirpalai išsiskyrė ypač stipriu poveikiu.

Įvertinus ekstraktų įtaką pelėsiniams grybams nustatyta, kad kininio cinamono ekstraktas slopinančiai veikė visas testuojamas kultūras, tik 1% tirpalas slopinamojo poveikio *Mucor* padermei neturėjo. Kvapiojo baziliko ekstraktas nevienodai slopino skirtingų padermių mikroskopinių grybų augimą. *Trichoderma* spp. ir *A. flavus* ekstraktas buvo jautresnis nei *A. fumigatus* ir *A. niger*. Juoduogių šėivamedžio ekstraktas jautrus buvo *A. fumigatus* ir *A. niger* mikroskopinių grybų padermėms, o *Penicillium* spp., *Trichoderma* spp. ir *Mucor* spp. padermėms mažiau jautrus. Mažiausia koncentracija, kuri slopino mikroskopinių grybų augimą buvo 10% tirpalo. Iš

gautų rezultatų matyti, kad *Mucor* spp. padermei nevienodai jautrūs tiriamieji ekstraktai. Juoduogių šeivamedžių ekstraktas beveik neturėjo slopinančio poveikio testuojamos mikroskopinių grybų padermės.

10 lentelė. CO₂ ekstraktų antimikrobinis aktyvumas.

CO ₂ ekstraktai	Juoduogis šėivamedis				Kininis cinamonas				Kvapusis bazilikas			
Koncentracijos	20	10	5	1	20	10	5	1	20	10	5	1
Bakterijos												
<i>E. coli</i>	13±1,0	11±0,5	9±2,0	0	26±1,0	21±0,5	16±1,0	13±1,0	18±1,0	12±0,0	10±0,5	0
<i>P. aeruginosa</i>	0	0	0	0	23±0,0	17±0,0	13±0,0	0	0	0	0	0
<i>S. typhimurium</i>	10±0,0	0	0	0	37±0,0	30±0,0	17±0,5	10±0,0	11±0,5	0	0	0
<i>K. pneumoniae</i>	13±0,0	10±0,0	0	0	43±0,5	34±0,0	26±0,5	12±0,0	11±0,0	0	0	0
<i>S. aureus</i>	12±0,0	10±0,0	8±0,0	0	44±0,0	39±0,0	34±0,0	29±0,0	15±0,0	13±0,0	9±0,0	0
<i>L. monocytogenes</i>	17±0,0	14±0,0	9±0,0	0	47±0,0	40±0,0	36±0,0	28±0,5	15±0,0	12±0,0	9±0,0	0
<i>B. cereus</i>	11±0,0	9±0,0	0	0	36±0,0	28±0,0	24±0,0	20±0,0	17±0,0	15±0,0	13±0,5	11±0,0
<i>E. faecalis</i>	10±0,0	0	0	0	28±0,0	19±0,5	14±0,0	10±0,0	12±0,0	0	0	0
<i>B. subtilis</i>	11±0,0	9±0,0	0	0	35±0,0	20±0,0	15±0,0	10±0,5	11±0,0	9±0,0	0	0
Pieno rūgšties bakterijos												
<i>L. lactis</i>	18±0,0	14±0,0	12±0,0	10±1,0	60±0,0	43±0,0	38±0,0	24±1,0	37±0,0	20±0,0	13±0,0	0
<i>L. acidophilus</i>	10±0,5	0	0	0	35±0,0	22±0,0	15±0,0	10±0,0	21±0,0	17±0,0	12±0,0	0
<i>L. cremoris</i>	10±0,0	0	0	0	40±0,0	33±0,0	27±0,0	15±0,0	25±0,5	20±0,0	17±0,0	13±0,0
<i>L. bulgaricus</i>	0	0	0	0	28±0,0	24±0,0	15±0,0	10±0,5	10±2,0	0	0	0
<i>S. thermophilus</i>	16±0,0	0	0	0	55±0,0	35±0,5	19±0,0	17±0,0	22±0,0	0	0	0
<i>Bifidobacterium</i>	0	0	0	0	45±0,0	40±0,0	20±0,0	15±0,0	15±0,0	0	0	0

11 lentelė. Fungicidinis CO₂ ekstraktų poveikis

CO ₂ ekstraktai	Juoduogių šėivamedis				Kvapusis bazilikas				Kininis cinamonas			
Koncentracijos	20	10	5	1	20	10	5	1	20	10	5	1
Mielės												
<i>S. cerevisiae</i>	18±1,0	14±0,0	12±0,5	10±0,0	24±0,0	15±0,0	0	0	60±0,0	54±0,0	40±0,0	29±0,0
<i>C. parapsilosis</i>	0	0	0	0	34±0,0	20±0,0	12±0,5	0	69±0,0	50±0,0	44±0,0	40±0,0
<i>C. albicans</i>	0	0	0	0	33±0,0	15±0,0	0	0	45±0,0	36±0,0	24±0,0	20±0,5
<i>R. rubra</i>	17±0,5	13±0,0	0	0	40±0,0	23±0,0	15±0,0	9±0,0	0	0	0	0
<i>K. marxianus</i> var. <i>lactis</i>	0	0	0	0	23±0,0	13±0,0	0	0	40±0,0	34±0,0	26±0,0	20±0,5
<i>P.kluyveri</i>	0	0	0	0	27±0,0	14±0,0	0	0	50±0,0	34±0,5	30±0,0	26±0,0
<i>T. delbrueckii</i>	0	0	0	0	62±0,0	44±0,0	16±0,0	0	64±0,0	44±0,0	36±0,0	30±0,0
Mikroskopiniai grybai												
<i>Penicillium</i> spp.	9±0,0	0	0	0	30±0,0	0	0	0	64±0,0	53±0,0	40±0,0	25±0,0
<i>Trichoderma</i> spp.	14±0,0	9±1,0	0	0	26±0,0	20±0,0	12±0,0	0	40±0,0	29±0,0	15±1,0	10±0,0
<i>Mucor</i> spp.	10±0,5	0	0	0	10±0,0	0	0	0	45±0,0	14±0,0	10±0,0	0
<i>A. flavus</i>	0	0	0	0	20±0,0	18±0,0	11±0,0	0	30±0,0	27±0,0	22±0,5	15±0,0
<i>A. fumigatus</i>	0	0	0	0	20±0,0	11±0,0	0	0	45±0,0	30±0,0	20±0,0	15±0,0
<i>A. niger</i>	0	0	0	0	18±0,0	10±0,0	0	0	35±0,0	29±0,0	20±0,0	13±0,0

3.7. Bakterijų skaičiaus pokyčiai varškėje su CO₂ ekstraktais

Ivertinti maisto produktuose nepageidaujamų bakterijų skaičiaus pokyčiai varškėje, parodė, kad visi tyrimuose naudoti ekstraktai slopinančiai veikė tirtųjų bakterijų kultūrų – *E. coli*, *S. aureus*, *L. monocytogenes* augimą (25-28 pav.). Tyrimuose buvo naudotos jusliškai priimtinos koncentracijos, t.y. 2% ekstraktų. Tarp kontrolinio mėginio ir *E. coli* ir ekstraktų nustatytas statistiškai reikšmingas skirtumas ($p \leq 0,0001$) nuliniame taške, po 5 ir 7 dienų laikymo. Pagal tyrimų rezultatus kvapiojo baziliko ir kininio cinamono ekstraktai efektyviau slopino *E. coli* augimą, nei juoduogių šėivamedžio ekstraktas, lyginant su kontrole.

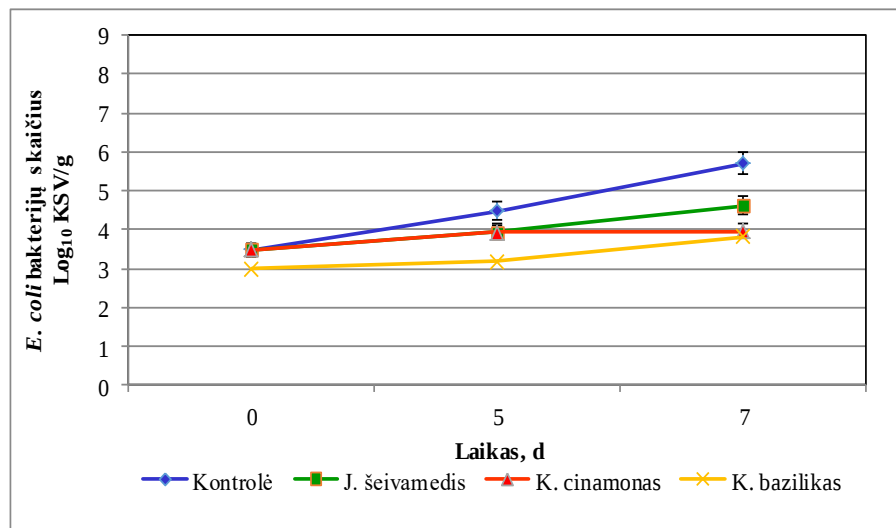
Po 5 dienų mėginiuose su kvapiuoju baziliku nustatytas žymus KSV/g sumažėjimas lyginant su kontroliniu mėginiu ($p \leq 0,0001$). Kaip matyti iš gautų rezultatų po 5 ir 7 dienų matyti žymus *E. coli* sumažėjimas lyginant su kontroliniu mėginiu.

S. aureus bakterijoms visi tiriamieji ekstraktai turėjo statistiškai reikšmingos įtakos po 5 dienų laikymo ($p \leq 0,001$) lyginant su kontrole KSV/g. Po 7 dienų kininio cinamono priedas labiausiai veikė slopinančiai šių mikroorganizmų augimą. Priedai su kininiu cinamonu ir kvapiuoju baziliku turėjo statistiškai reikšmingos įtakos ($p \leq 0,0001$) lyginant su kontrole.

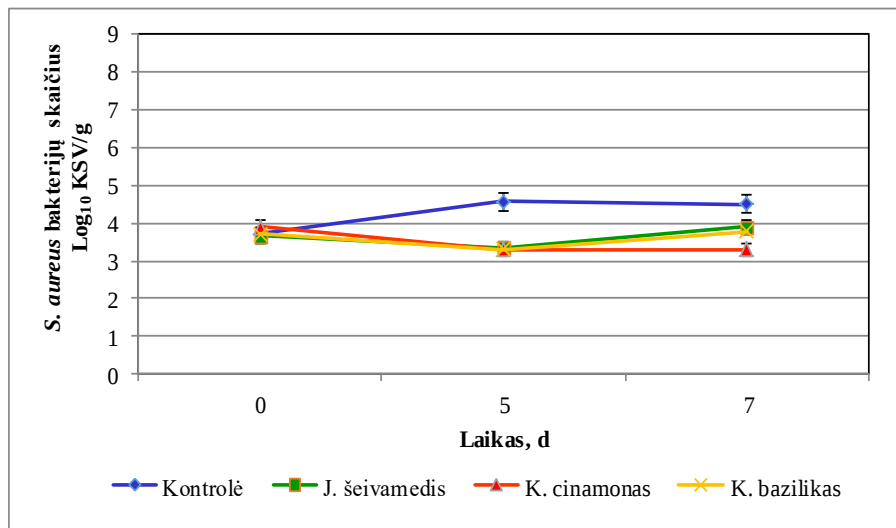
L. monocytogenes bakterijoms po 5 dienų priedai turėjo įtakos KSV/g mažėjimui, tik su kininiu cinamonu jis nežymiai padidėjo, o su kvapiuoju baziliku ir juoduogių šėivamedžiu sumažėjo, lyginant su kontrole ($p \leq 0,0001$). Po 7 dienų nustatyta, kad kvapiojo baziliko ir juoduogių šėivamedžių ekstrakto priedų slopinantis poveikis *L. monocytogenes* augimui yra panašus. Tačiau kininio cinamono antibakterinis priedas efektyvesnis ($p \leq 0,0001$).

Ekstraktų priedai turėjo įtakos ir PRB skaičiui KSV/g lyginant su kontroliniu mėginiu. Po 5 dienų PRB skaičius KSV/g buvo mažesnis lyginant mėginių su priedais. Po 7 dienų nustatyta, kad KSV/g didesnis visuose mėginiuose su ekstraktų priedais lyginant su kontrole, nustatyta statistiškai nereikšminga reikšmė ($p \geq 0,05$).

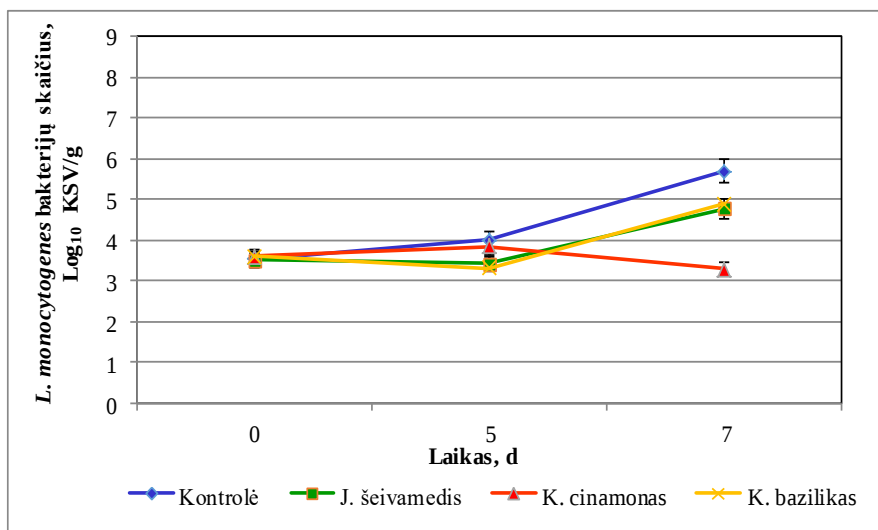
Apibendrinus gautus rezultatus, pastebėta, kad maiste nepageidaujami mikroorganizmai yra jautresni nei pienarūgštės bakterijos. Kininio cinamono ekstraktas buvo efektyviausia angtimikrobinė medžiaga prieš testavimo mikroorganizmus. Atlikti tyrimai su varške rodo, kad kininio cinamono ekstraktas efektyviai slopino *S. aureus*, *L. monocytogenes* augimą, o *E. coli* jautri buvo kvapiojo baziliko ir juoduogių šėivamedžio ekstraktams.



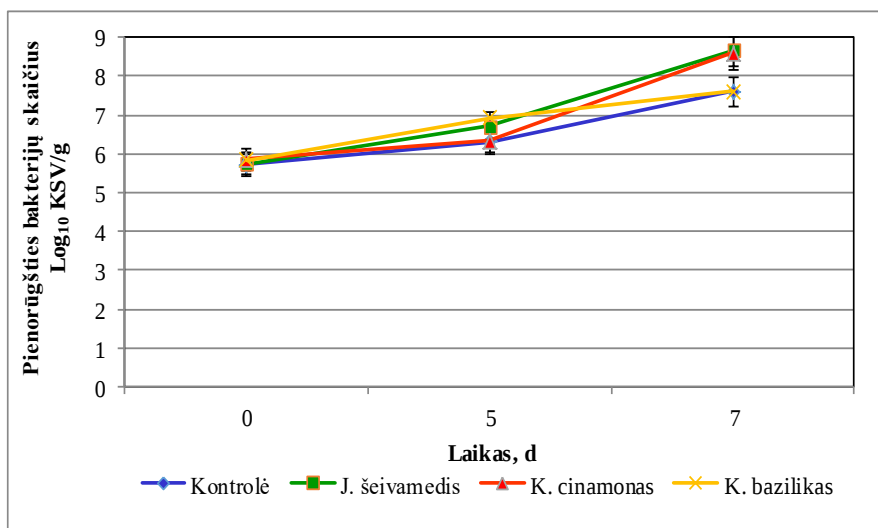
25 pav. *E. coli* skaičiaus pokyčiai varškėje.



26 pav. *S. aureus* skaičiaus pokyčiai varškėje.



27 pav. *L. monocytogenes* skaičiaus pokyčiai varškėje.



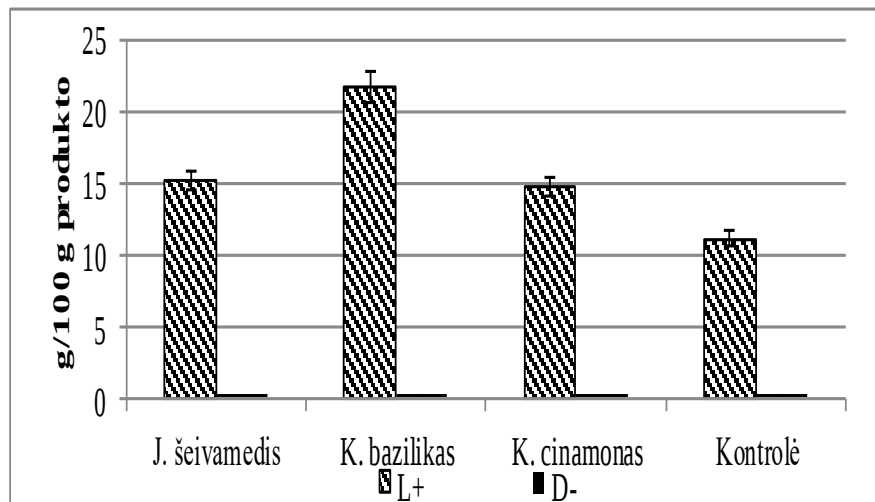
28 pav. Pieno rūgšties bakterijų skaičiaus pokyčiai varškėje.

3.8. Fiziko-cheminiai tyrimai varškės su CO₂ ekstraktų priedais

3.8.1. D(-)/L(+) pieno rūgšties izomerų kiekis varškėje

Pieno rūgšties izomerų kiekis nustatytas varškės mėginiuose su skirtingais priedais (29 pav.). Iš tirtųjų varškės mėginių nustatytas didžiausias D(-) pieno

rūgšties izomero kiekis – 0,096 (j. šeivamedžiu) ir 0,091 (k. baziliku) g/100g, kontroliniame mėginyje – 0,064 g/100g ($p \leq 0,05$). L (+) pieno rūgšties izomero buvo visuose mėginiuose daugiau nei kontroliniame. Didžiausias kiekis L(+) pieno rūgšties izomero 21,75 g/100g (k. baziliku), 15,19 g/100g (j. šeivamedžiu), 14,77 g/100g (k. cinamonu), o kontroliniame mėginyje – 11,12 g/100g.

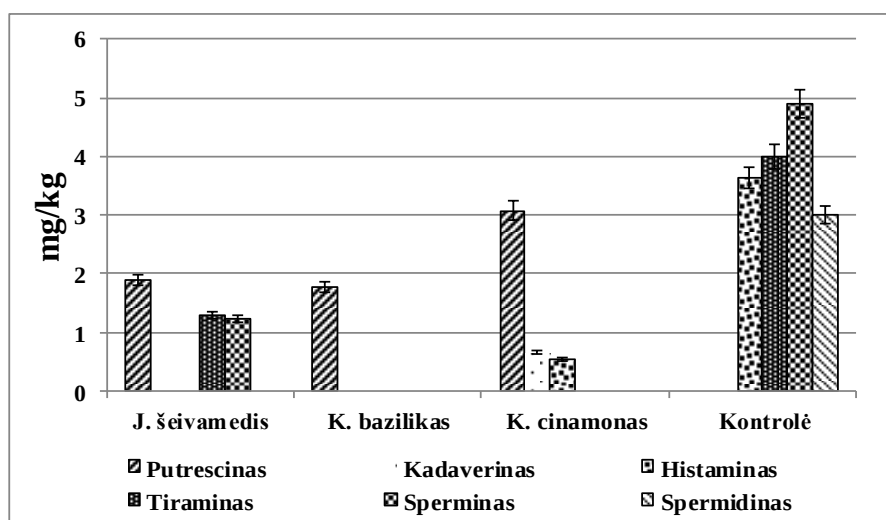


29 pav. Pieno rūgšties izomerų kiekis varškėje su priedais.

3.8.2. Biogeninių aminų formavimasis varškėje su CO₂ ekstraktais

Įvertinus BA formavimąsi varškėje su CO₂ ekstraktų priedais (30 pav.) nustatytas didžiausias putrescino kiekis varškėje su kininio cinamono priedu 1,7 karto daugiau nei varškėje su kvapiuoju baziliku, 1,6 karto su juoduogių šeivamedžiu. Kadaverinas nustatytas varškėje su kininiu cinamonu, o histaminas kontroliniame mėginyje ir varškėje su k. cinamonu. Kontroliniame mėginyje histamino buvo 3,11 mg/kg daugiau nei mėginyje su k. cinamono priedu. Tiramino ir spermino koncentracijos nustatytos mėginiuose su juoduogių šeivamedžio priedu ir kontroliniame mėginyje.

Įvertinus gaus tyrimo rezultatus, galime teigti, kad priedai daro nereikšmingą įtaką biogeninių aminų formavimuisi ir produktai yra saugūs vartojimui.



30 pav. Biogeninių aminių (mg/kg) kiekis varškėje su CO₂ ekstraktais

3.8.3. Spalvos koordinatėjų dinamika varškėje

Nustatytas spalvos koordinatėjų pokytis (12 lentelė) varškėje su priedais ir be jų. Didžiausios įtakos varškės šviesumo (L^*) koordinatėms turėjo j. šėivamedžio ir k. baziliko priedai, kurie produkto šviesumą sumažino 13,75 ir 13,01 NBS lyginant su kontroliniu mėginiu. Raudonumo (a^*) mažiausios koordinatės nustatytos varškėje su kininio cinamono priedu, lyginant su kontroliniu mėginiu ($p \leq 0,05$). Mėginiuose su j. šėivamedžiu ir k. baziliku raudonumo koordinatės buvo panašios. Geltonumo koordinatės visuose mėginiuose su priedais buvo panašios, tik mėginyje su k. cinamonu buvo didžiausios 19,31 NBS.

Gauti rezultatai rodo, kad didžiausios įtakos varškės spalvos koordinatėms turėjo kininio cinamono priedas, kuris pasižymėjo mažiausia raudonumo (a^*) ir didžiausia geltonumo (b^*) reikšme.

12 lentelė. Spalvos koordinatės varškėje su priedais.

Varškė	J. šėivamedis	K. bazilikas	K. cinamonas	Kontrolė
L^*	77,27±0,33*	77,90±0,63*	81,30±0,10*	91,00±0,09*
a^*	-3,73±0,20*	-3,54±0,10*	-4,18±0,10*	-2,20±0,30*
b^*	15,01±0,22*	15,62±0,09*	19,31±0,21*	9,81±0,20*

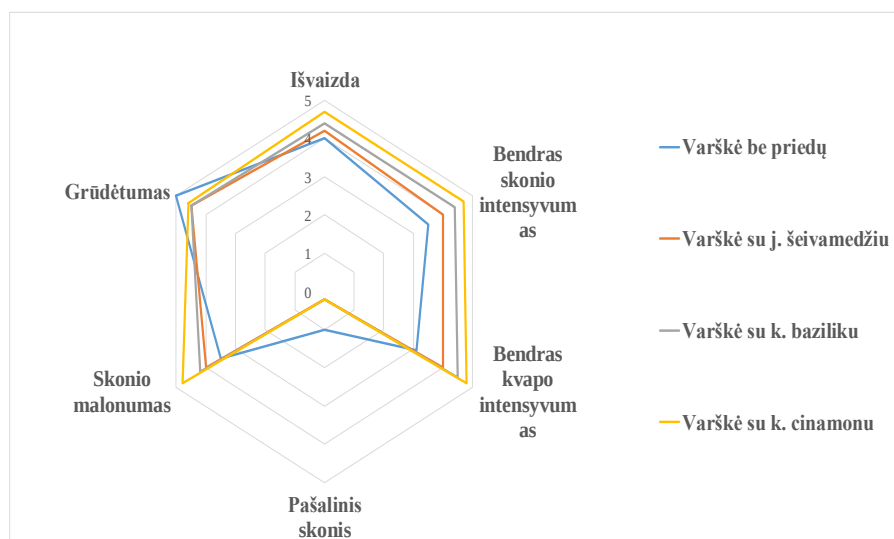
*Statistiškai patikima, kaip $p \leq 0,05$

3.9. Juslinė-profilinė analizė varškės su CO₂ ekstraktais

Įvertinus varškės su priedais įtaką juslinėms savybėms, nustatyta jog jie daro ne vienodą įtaką (31 pav.). Bendro priimtimumo testas parodė, kad varškė su priedais vartotojams daug priimtinesnė nei be jų. Priimtiniausias produktas buvo su k. cinamono priedu.

Atlikus atskirų savybių profilio analizę nustatyta, kad k. cinamono priedas turėjo didžiausios įtakos varškės – bendram skonio ir kvapo intensyvumui bei skonio malonumui lyginant su kontrole. Taip pat vartotojų gerai vertinama buvo varškė su k. baziliko ir j. šėivamedžio priedu. J. šėivamedžio priedas turėjo mažiausią įtaką bendram skonio ir kvapo intensyvumui ir skonio malonumui, išvaizda mažai skyrėsi nuo kontolinio mėginio ($p \leq 0,05$).

Apibendrinus tyrimų rezultatus, galima teigti, kad j. šėivamedžio priedas turėjo mažiausios įtakos varškės bendram skonio ir kvapo intensyvumui ir skonio malonumui. Geriausiai išreikštos savybės buvo varškės su k. cinamono priedu – mažiausiai jaučiamas pašalinis skonis ir didžiausias bendras skonio ir kvapo priimtimumas.



31 pav. Skirtingų ekstraktų įtaka varškės juslinei-profilinei analizei.

3.10. Fermentuotų augalinių raugų įtaka pieno produktų fizikinimas rodikliams

3.10.1. Raugintų pieno produktų spalvos koordinatinių nustatymas

Spalvos koordinatės pieno produktams vienas iš charakteringiausių rodiklių, labiausiai atspindinčių į produktą pridedamų priedų įtaką jo spalvos charakteristikoms. Kadangi pienas natūraliai neturi jokio maistinio dažo, todėl buvo vertintos raugintų pieno produktų spalvos koordinatės po 24 val. fermentacijos (13 lentelėje) ir nustatyta fermentuoto augalinio priedo įtaka rauginto pieno produkto spalvai.

Didesnis vandens kiekis TF būdu apdorotuose augaliniuose produktuose įtakojo rauginto pieno produkto šviesumo koordinatės L^* ir geltonumo koordinatės b^* mažėjimo tendenciją atitinkamai (šviesumo koordinatė L^* pieno su fermentuotais augaliniais priedais pridėjimo atveju praktiškai mažai kinta, sumažėja fermentuotant T su *L. sakei* KTU05-6 – 75,15 NBS, padidėja L fermentuojant su *P. acidilactici* KTU05-7, geltonumo koordinatė b^* didėja S ir L fermentuojant *P. acidilactici* KTU05-7, o mažėja (T fermentuojant *L. sakei* KTU05-6), bei raudonumo koordinatės a^* mažėjimo tendencija (raudonumo koordinatė a^* L fermentuotų *P. acidilactici* KTU05-7 padidėja (-1,92 NBS), o T fermentuotų *P. pentosaceus* KTU05-9 (-0,62 NBS) pridėjimo atveju praktiškai nekinta).

Įvertinus KF būdu fermentuotų pieno produktų spalvos koordinatės nustatyta, kad ženkliai mėginių spalva keitėsi pridedant fermentuotų L su visomis tirtosiomis PRB padermėmis. didžiausios šviesumo koordinatės L^* su *P. pentosaceus* KTU05-9, mažesnės *L. sakei* KTU05-7. Tuo tarpu geltonumo koordinatė b^* didėja S fermentuojant *P. pentosaceus* KTU05-9, mažėja T fermentuojant *P. acidilactici* KTU05-7. Raudonumo koordinatės a^* mažėjimo tendencija (raudonumo koordinatė a^* kinta priklausomai nuo pridedamo priedo, mažėja pridedant T priedo fermentuoto su *P. acidilactici* KTU05-7 ir *L. sakei* KTU05-6, bei didėja pridedant fermentuotų L *L. sakei* KTU05-6, *P. acidilactici* KTU05-7 ir *P. pentosaceus* KTU05-9).

Apibendinus gautus tyrimo rezultatus, galima teigti, kad spalvos charakteristikos ženkliai keitėsi rauginto pieno mėginių kurių augalinės žaliavos savo sudėtyje turėjo daugiau baltymų (soja ir lubinai).

13 lentelė. Raugintų pieno produktų spalvos koordinatų priklausomybė nuo augalinių raugų.

Pieno pro-duk-tai	<i>P. pentosaceus</i> KTU05-9		<i>P. acidilactici</i> KTU05-7		<i>L. sakei</i> KTU05-6	
	KF	TF	KF	TF	KF	TF
<i>L*</i>						
T	81,52±0,04	76,77±0,15	80,67±0,09	76,12±0,09	80,66±0,03	75,15±0,14
L	85,51±0,13	79,42±0,02	83,65±0,10	81,48±0,02	81,12±0,18	79,98±0,13
S	80,94±0,08	78,15±0,20	80,62±0,08	78,05±0,25	81,26±0,06	78,28±0,05
LS	80,96±0,09	77,90±0,13	81,46±0,06	79,30±0,15	77,62±0,02	77,08±0,05
<i>a*</i>						
T	-1,54±0,10	-0,62±0,10	-1,32±0,05	-0,75±0,13	-1,46±0,04	-0,82±0,0
L	-2,22±0,12	-1,79±0,09	-2,22±0,02	-1,92±0,16	-1,97±0,03	-1,81±0,10
S	-1,54±0,03	-1,02±0,05	-1,54±0,08	-1,42±0,18	-1,50±0,03	-0,70±0,06
LS	-1,82±0,01	-1,59±0,06	-2,06±0,02	-1,12±0,18	-1,95±0,08	-0,81±0,05
<i>b*</i>						
T	2,98±0,08	4,57±0,06	1,74±0,07	3,54±0,01	3,02±0,09	2,22±0,03
L	4,54±0,09	3,13±0,22	3,45±0,08	3,99±0,15	3,75±0,05	3,45±0,14
S	5,27±0,03	4,35±0,25	4,30±0,12	4,58±0,06	4,85±0,01	3,86±0,10
LS	3,45±0,08	3,53±0,08	3,69±0,01	2,80±0,02	2,64±0,08	2,99±0,11

*statistiškai patikimi skirtumai tarp stulpelių ($p \leq 0,05$)

3.11. Fermentuotų augalinių raugų įtaka raugintų pieno produktų cheminiams rodikliams

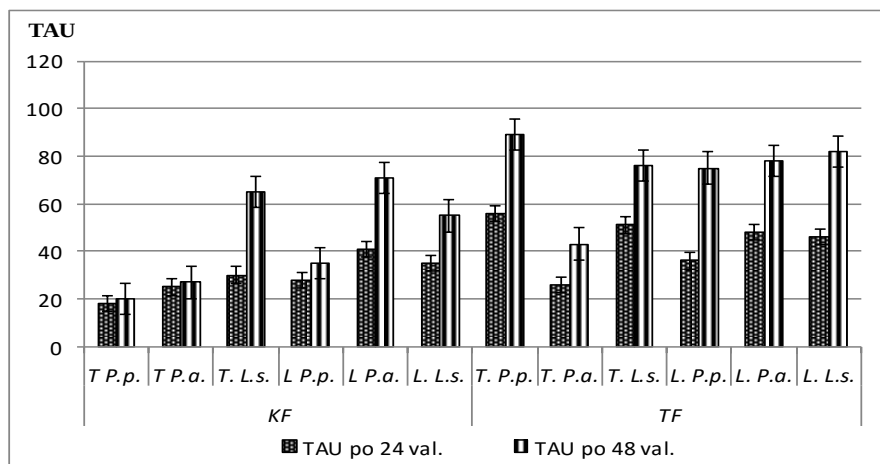
3.11.1. Raugintų pieno produktų reologinių savybių nustatymas

Duomenys rodo, kad TF būdu apdoroti augaliniai produktai rodo mažesnę išrūgų kiekį, o sausųjų medžiagų kiekis mažėja mėginiuose lyginant su KF. Vykstant sinerezei, sumažėja gelio tūris. Todėl sineretinėmis savybėmis suardytos sutraukos klampis turėtų būti mažesnis nei sutraukos su mažesne sinereze, ką parodo ir mūsų atlikti tyrimai (32-33 pav.).

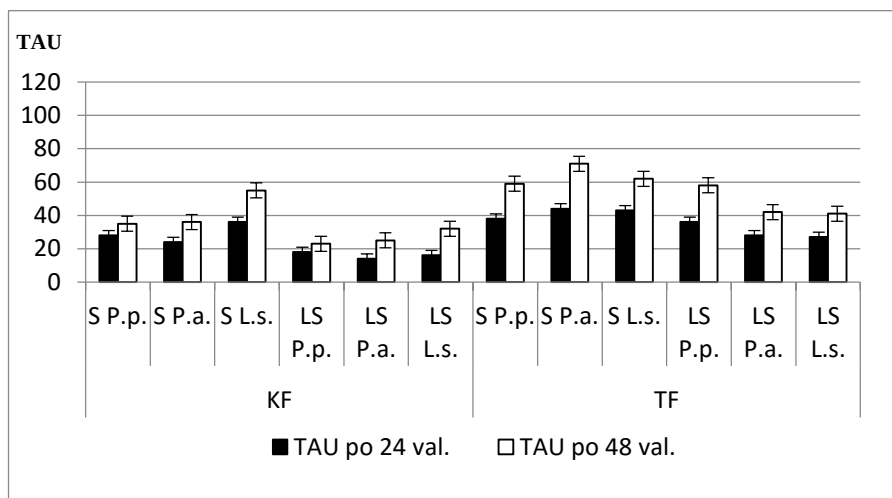
Tekstūros analizė raugintuose pieno produktuose yra svarbus rodiklis, turintis reikšmingos įtakos galutinio produkto priimtinumui ir kokybei. Nustatyta, kad skirtingi priedai turi nevienodą įtaką rauginto pieno tekstūros savybėms, stipriausiomis savybėmis pasižymėjo priedai su KF būdu fermentuotais LS (*P. acidilactici* KTU05-7) po 24 val ir TF būdu topinambais (*P. pentosaceus* KTU05-9). Iš pateikto grafiko (32 pav.) tvirčiausiomis tekstūros savybėmis po 24 val laikymo kambario temperatūroje pasižymėjo KF priedai su LS fermentuoti *P. acidilactici* KTU05-7, *L. sakei* KTU05-6 ir *P. pentosaceus* KTU05-9. Minkščiausiom savybėmis įtakos turėjo TF priedai (32 pav.) su T (*P. pentosaceus* KTU05-9 ir *L. sakei* KTU05-6) ir L (*P. acidilactici* KTU05-7 ir *L. sakei* KTU05-6).

Po 48 val. tendencija išliko panaši, tvirčiausiomis tekstūros savybėmis pasižymėjo KF priedai su T (*P. pentosaceus* KTU05-9), LS (*P. pentosaceus* KTU05-9 ir *P. acidilactici* KTU05-7), minkščiausiomis – TF priedai su T (*P. pentosaceus* KTU05-9 ir *L. sakei* KTU05-6) ir L (*P. acidilactici* KTU05-7 ir *L. sakei* KTU05-6).

Galima teigti, jog fermentacijos būdo pasirinkimas gali efektyviai spręsti produkto tvirtumo ir minkštumo problemas. Pieno produktai fermentuoti KF būdu pasižymėjo tvirčiausiomis savybėmis, kas turi įtakos produkto kokybiniais rodikliais.



32 pav. Raugintų pieno produktų su fermentuotais tekstūra (T ir L)



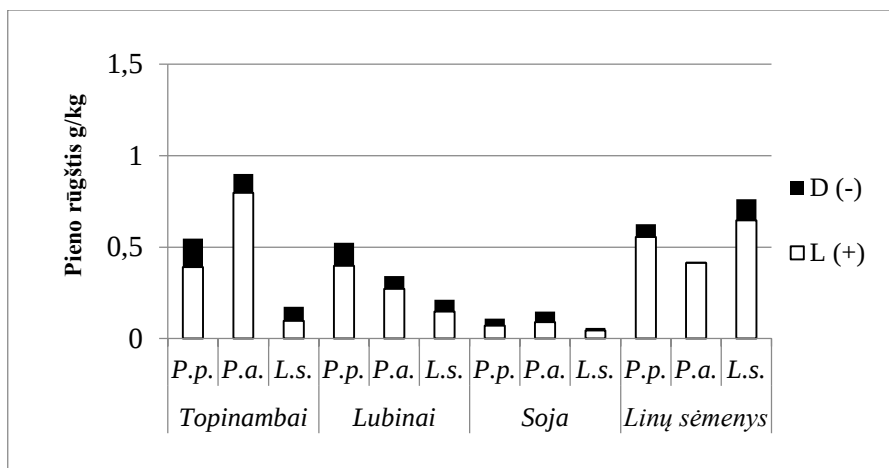
33 pav. Raugintų pieno produktų su fermentuota tekstūra (S ir LS)

3.11.2. D(-)/L(+) pieno rūgšties izomerų kiekio nustatymas raugintuose pieno produktuose

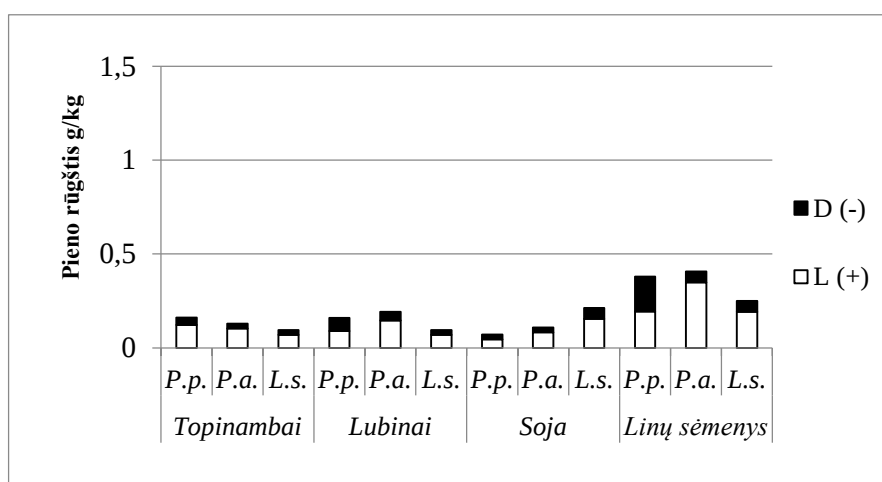
Pagrindinis PRB fermentacijos produktas, yra pieno rūgštis. Todėl labai svarbu, kad parenkant fermentacijos sąlygas galutiniame produkte susidarytų kuo mažesnis šio metabolito kiekis. Tyrimo metu buvo įvertintas L(+) ir D(-) pieno rūgšties izomerų kiekio susidarymas raugintuose pieno produktuose ir nustatyta, kad priedai, PRB ir fermentacijos būdas turėjo įtakos ($p \leq 0,05$) susidarant skirtingiems L(+) ir D(-) pieno rūgšties izomerų kiekiams (34-35 pav.). KF būdu raugintuose pieno produktuose su T, L, S ir LS pagrindinis pieno rūgšties izomeras buvo L(+), o D(-) izomero kiekiai nustatyti maži (iki 0,05 g/kg). Pienas su LS fermentuotais *P. pentosaceus* KTU05-9 D(-) pieno rūgšties izomero sudarė (0,18 g/kg). TF būdu raugintuose pieno produktuose su S ir LS susidarė mažiausias kiekis pieno rūgšties izomero D (-), kuris svyravo nuo 0,06 iki 0,039 g/kg. Tuo tarpu L(+) pieno rūgšties izomero didžiausi kiekiai buvo nustatyti piene su T, LS ir L, susidarė atitinkamai 0,797, 0,555 ir 0,397 g/kg. Fermentuojant *P. pentosaceus* KTU05-9 D(-) pieno rūgšties izomero kiekiai nustatyti didžiausi, lyginant su kitomis PRB (*P. acidilactici* KTU05-7 ir *L. sakei* KTU05-6), atitinkamai 0,098, 0,059 ir 0,068 g/kg.

Nustatyta, kad pieno fermentacijai augaliniai priedai fermentuoti su *L. sakei* KTU05-6 buvo tinkamiausi L(+) pieno rūgšties gamybai, fermentuojant ne tik T, L, S, bet ir LS tiek TF, tiek KF būdu, kuriuose L(+) pieno rūgšties kiekiai. D(-) izomero kiekiai sumažėjo ir buvo palyginus nedideli pieną fermentuojant KF būdu. Pieno produkte su fermentuota S D(-) pieno rūgšties izomero kiekiai buvo nežymūs ir priklausė nuo naudotos PRB padermės).

Apibendrinus tyrimų rezultatus, L(+) pieno rūgšties kiekis priklauso tiek nuo PRB padermės, fermentacijos būdo ir augalo rūšies. Gauti rezultatai rodo, kad analizuotas pienas su T, L, S ir LS priedais fermentuotais *P. acidilactici* KTU05-7 ir *L. sakei* KTU05-6 gamino didesnius L (+) pieno rūgšties kiekius, o su *P. pentosaceus* KTU05-9 D(-) izomero kiekiai susidarė nuo 0,186 iki 0,039 g/kg.



34 pav. Pieno rūgšties izomerų susidarymas tradicinės fermentacijos būdu



35 pav. Pieno rūgšties izomerų susidarymas kietafazės fermentacijos būdu

3.11.3. Biogeninių aminų kiekis raugintuose pieno produktuose

Atlikus rauginto pieno su fermentuotais priedais analizę nustatyta, kad suminis ir atskirų BA kiekio skirtumas buvo paklaidos ribose. Triptamino ir histamino KF būdu fermentuotuose produktuose nebuvo rasta, o TF būdu – triptamino ir putrescino (14 lentelė).

Piene su fermentuotais T nustatyta, kad ne tik fermentacijos būdas, bet ir PRB padermės daro įtaką BA kiekiui galutiniame produkte. Palyginus BA kiekį KF ir TF būdu rauginame piene nustatyta, kad fermentuojant P.

pentosaceus KTU05-9 BA susidaro 44,97 mg/kg ir 22,71 mg/g, *P. acidilactici* KTU05-7 - 37,45 mg/g ir 33,38 mg/g, *L. sakei* KTU05-6 - 98,37 mg/g ir 239,62 mg/g, atitinkamai. Vyraujantys BA feniletilaminas (KF – 25,31 mg/g ir TF – 48,10 mg/g) ir kadaverinas (KF – 72,53 mg/g ir TF – 119,31 mg/g), daugiausia nustatyta tiramino fermentuoto su *L. sakei* KTU05-6, KF – 78,88 mg/g ir TF 80,65 mg/g.

Suminis BA kiekis raugintame piene su fermentuotais lubiniais buvo KF 217,79 m/kg ir TF būdu 167,78 mg/kg. Mažiausias kiekis nustatytas spermidino (fermentuoto su *P. acidilactici* KTU05-7 ir *L. sakei* KTU05-6) ir spermino (fermentuoto su *P. pentosaceus* KTU05-9) TF būdu – 13,25 mg/kg, 19,03 mg/kg ir 10,98 mg/kg, atitinkamai.

Raugintame piene su fermentuota S suminis BA kiekis buvo išskirtinai didesnis nei su kitais priedais; 2,2 karto daugiau nei su T, 2,7 karto – L ir 1,3 karto – LS. Rauginant pieno produktus su S išryškėjo probleminiai baltymingos žaliavos TF aspektai, kur histamino kiekis fermentuojant su *P. acidilactici* KTU05-7 – 37,57 mg/kg ir *L. sakei* KTU05-6 – 30,97 mg/kg, putrescino KF (fermentuojant *L. sakei* KTU05-6) – 49,85 mg/kg. Toks BA kiekis raugintame piene su fermentuota S galėjo susidaryti dėl S sudėties specifikacijos t.y. didesnio baltymų kiekio nei visose kitose augalinėse žaliavose.

Išanalizavus BA susidarymo tendencijas raugintame piene su LS nustatyta, kad suminis BA kiekis juose mažesnis nei piene su fermentuota S – 1,3 karto, bet didesnis nei piene su fermentuotais T 1,7 karto, L – 2,1 karto. Pienas su LS ypač tinka būti fermentuotas *P. acidilactici* KTU05-7 paderme, nes palyginus su kitomis padermėmis nenustatytas – triptaminas, histaminas, tiraminas ir sperminas, kadaverino – 40,6 mg/kg (KF būdu), putrescino (KF būdu) – 13,09 mg/kg, feniletilamino ir spermidino – 3,18 ir 14,09 mg/kg (KF), 2,14 ir 20,68 mg/kg (TF).

Apibendrinus gautus rezultatus nustatyta, kad BA susidarymui raugintuose pieno produktuose įtaką daro skirtingi veiksniai, iš kurių svarbiausi yra žaliavos parinkimas ir jos biologinės savybės, parinkti mikroorganizmai ir fermentacijos būdas. Todėl norint užtikrinti BA koncentraciją galutiniam produkte reikėtų atkreipti dėmesį ir į fermentacijos sąlygų parinkimą, kurios galėtų užtikrinti BA kiekį produkte.

14 lentelė. Biogeninių aminių kiekis (mg/kg) raugintuose pieno produktuose.

Mėginiai	<i>P. pentosaceus</i>		<i>P. acidilactici</i>		<i>L. sakei</i>	
	KF	TF	KF	TF	KF	TF
Topinambai						
TRIP	-	-	-	-	-	-
FEN	19,88±0,23	8,24±0,15	5,29±0,02	19,98±0,25	0,14±0,03	19,88±0,04
PUT	-	-	-	-	-	-
KAD	25,09±0,02	14,47±0,08	28,09±0,09	17,47±0,14	19,35±0,01	87,37±0,30
HIS	-	-	-	-	-	18,87±0,04
TIR	-	-	-	-	78,88±0,05	80,65±0,02
SMD	-	-	-	-	-	-
SMN	-	-	-	-	-	32,85±0,09
Lubinai						
TRIP	-	-	-	-	-	-
FEN	91,44±0,02	16,29±0,10	-	5,38±0,05	78,13±0,04	18,59±0,05
PUT	-	15,4±0,02	2,21±0,01	-	-	-
KAD	-	15,83±0,04	22,62±0,03	17,36±0,04	-	11,75±0,01
HIS	-	-	-	-	-	-
TIR	-	-	23,36±0,15	23,92±0,07	-	-
SMD	-	13,25±0,06	-	19,03±0,23	-	-
SMN	-	10,98±0,17	-	-	-	-
Soja						
TRIP	-	-	-	-	-	-
FEN	43,39±0,11	12,34±0,15	43,39±0,04	12,64±0,06	68,36±0,07	13,01±0,17
PUT	-	-	-	-	49,85±0,11	-
KAD	-	76,08±0,16	-	58,83±0,13	88,8±0,01	55,17±0,05
HIS	-	-	-	37,58±0,10	-	30,97±0,08
TIR	-	-	-	-	-	-
SMD	46,09±0,09	34,75±0,09	46,09±0,01	34,85±0,17	73,01±0,09	35,12±0,09
SMN	46,73±0,06	-	46,70±0,01	23,02±0,02	46,73±0,02	15,81±0,01
Linų sėmėnys						
TRIP	-	-	-	-	-	-
FEN	138,84±0,23	62,35±0,13	3,18±0,27	2,14±0,09	20,78±0,05	10,95±0,02
PUT	-	-	-	13,09±0,25	-	106,79±0,02
KAD	-	32,01±0,10	40,60±0,14	-	42,92±0,03	143,44±0,01
HIS	-	-	-	-	-	80,52±0,05
TIR	-	-	-	-	-	-
SMD	14,09±0,05	20,12±0,18	14,09±0,04	20,68±0,18	16,29±0,13	15,36±0,08
SMN	-	-	-	-	-	-

Paaškinimas: TRIP- Triptaminas, FEN – Feniletilaminas, PUT – Putrescinas, KAD – Kadaverinas, HIS – Histaminas, TIR – Tiraminas, SPERMID – Spermidinas, SPERMIN – Sperminas

3.12. Fermentuotų augalinių raugų įtaka pieno produktų mikrobiologiniams rodikliams

3.12.1. Bendrojo mezofilinių pieno rūgšties ir koliforminių bakterijų KSV/g produkto analizė

Šio tyrimų etapo metu įvertintas raugintų pieno produktų bendras mezofilinių pieno rūgšties ir koliforminių bakterijų kiekis produkte po 24 val. rauginimo (15 lentelė).

Analizuojant raugintų pieno produktų mikrobiologinius rodiklius – bendrą PRB ir koliforminių bakterijų skaičių nustatyta, kad jis priklausė nuo fermentacijos būdo, PRB padermės ir individualių augalo savybių. Nustatyta, kad statistiškai reikšmingos įtakos raugintiems pieno produktams turėjo PRB padermė ($p \leq 0,001$).

Įvertinus PRB KSV/g analizę po 24 val. rauginimo nustatyta, kad PRB kiekis raugintuose pieno produktuose buvo nevienodas ir kito KF nuo $6,0 \times 10^4$ (L fermentuoti *P.pentosaceus* KTU05-9) iki $2,7 \times 10^9$ (T fermentuoti *P.acidilactici* KTU05-7), TF būdu nuo $1,7 \times 10^6$ (T fermentuoti *P.pentosaceus* KTU05-9) iki $2,6 \times 10^9$ (S fermentuota *L. sakei* KTU05-6).

Koliforminių bakterijų skaičius raugintuose pieno produktuose buvo nustatytas su *P.pentosaceus* KTU05-9 fermentuota bakterija visuose tirtuose mėginiuose nuo $2,5 \times 10^2$ (KF pienas su S priedu) iki $1,2 \times 10^2$ (TF pienas su S priedu).

Pagal gautus tyrimo rezultatus matyti, kad saugiausi rauginto pieno produktai yra su T, L, S ir LS priedais fermentuotais *P. acidilactici* KTU05-7 ir *L. sakei* KTU05-6 PRB padermėmis. Mažiaus saugūs su priedais fermentuotais *P.pentosaceus* KTU05-9 PRB paderme.

15 lentelė. Raugintų pieno produktų mikrobiologinių tyrimų rezultatai (KSV/g).

Raugintas pienas	Pieno rūgšties bakterijos		Koliforminės bakterijos	
	KF		TF	
<i>T. P. p.</i> KTU05-9	$9,6 \times 10^5$	$1,8 \times 10^2$	$1,7 \times 10^6$	$2,0 \times 10^2$
<i>T. P. a.</i> KTU05-7	$2,7 \times 10^9$	-	$5,9 \times 10^7$	-
<i>T. L. s.</i> KTU05-6	$1,5 \times 10^7$	-	$8,3 \times 10^8$	-
<i>L. P. p.</i> KTU05-9	$6,0 \times 10^4$	$1,5 \times 10^2$	$1,1 \times 10^7$	$2,5 \times 10^2$
<i>L. P. a.</i> KTU05-7	$8,0 \times 10^8$	-	$2,2 \times 10^9$	-
<i>L. L. s.</i> KTU05-6	$8,0 \times 10^7$	-	$2,4 \times 10^9$	-
<i>S. P. p.</i> KTU05-9	$5,9 \times 10^6$	$1,2 \times 10^2$	$1,1 \times 10^7$	$2,2 \times 10^2$
<i>S. P. a.</i> KTU05-7	$2,2 \times 10^8$	-	$2,3 \times 10^9$	-
<i>S. L. s.</i> KTU05-6	$2,1 \times 10^8$	-	$2,6 \times 10^9$	-
<i>LS. P. p.</i> KTU05-9	$8,6 \times 10^6$	$1,6 \times 10^2$	$1,7 \times 10^8$	$2,1 \times 10^2$
<i>LS. P. a.</i> KTU05-7	$1,3 \times 10^8$	-	$6,0 \times 10^7$	-
<i>LS. L. s.</i> KTU05-6	$1,0 \times 10^8$	-	$8,3 \times 10^7$	-

3.13. Raugintų pieno produktų juslinė-profilinė analizė

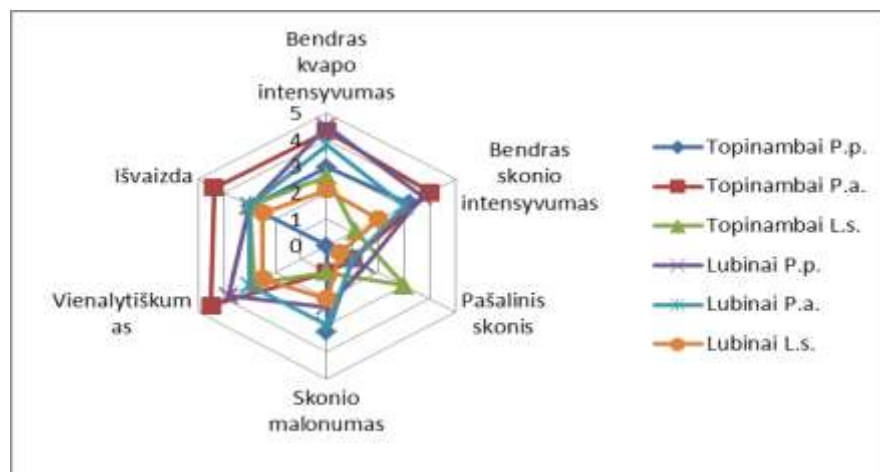
Įvertinant raugintų pieno produktų su skirtingais fermentuotais raugais juslines savybes, atlikta juslinė-profilinė analizė ir priimtinumų testas. Tarpusavyje lyginti skirtingi mėginiai, gauti skirtingais fermentacijos būdais ir su skirtingais priedais. Nustatyta, kad produktai, fermentuoti KF būdu, su topinambų, lubinų ir linų sėmenų priedu vertintojams buvo priimtinesni nei TF būdu. Tuo tarpu rauginti pieno produktai TF būdu su fermentuota S (*P. pentosaceus* KTU05-9 ir *P. acidilactici* KTU05-7) – 7,5 ir 8,2 balo atitinkamai, buvo priimtinesni nei KF būdu.

Priimtumas labai skirtingai vertintas fermentuotų priedų su skirtingomis PRB padermėmis. Priimtinausi buvo produktai fermentuoti su *P. pentosaceus* KTU05-9 ir *P. acidilactici* KTU05-7 bakterijomis KF būdu. TF būdu pienas su T ir LS priimtinesnis buvo su (*P. acidilactici* KTU05-7 ir *L. sakei* KTU05-6) – 7,5 ir 7,0; 8,4 ir 6,0, atitinkamai.

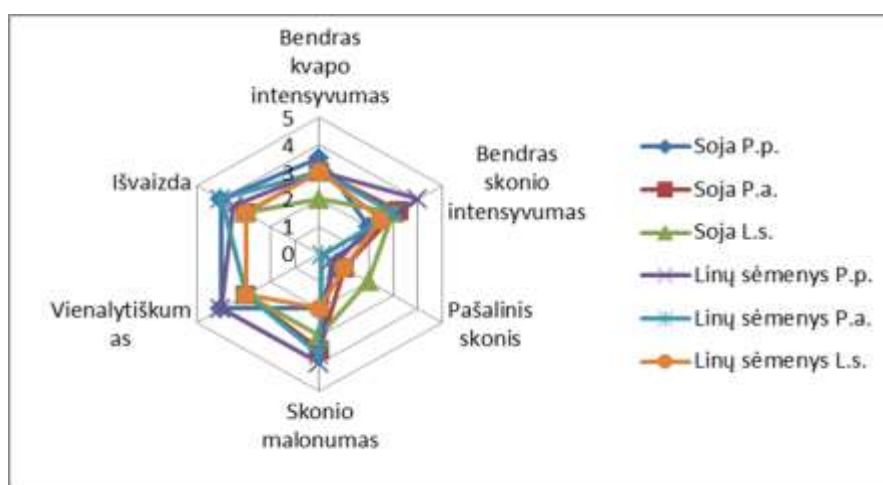
Siekiant nustatyti skirtingų fermentuotų raugų įtaką produkto priimtinumui buvo atlikta juslinė-profilinė analizė. Rezultatai parodė (36-39 pav.), kad KF būdu T (fermentuotų *P. pentosaceus* KTU05-9) ir L priedu fermentuotu *P. acidilactici* KTU05-7 ir *P. pentosaceus* KTU05-9 bendras kvapo intensyvumas buvo stipriausiai jaučiamas. Bendras skonio intensyvumas labiausiai išreikštas buvo T (fermentuotų *P. acidilactici* KTU05-7), L (*P. pentosaceus* KTU05-9), LS (*P. pentosaceus* KTU05-9 ir *L. sakei* KTU05-6) ir neturėjo įtakos pašaliniam skoniui. Pašalinis skonis stipriausiai išreikštas buvo – produkto gauto KF būdu fermentuotų T su *L. sakei* KTU05-6 bakterijomis ir TF būdu fermentuotų LS su *P. pentosaceus* KTU05-9.

TF būdu fermentuoti T, S ir LS augaliniai priedai pasižymėjo ryškesniu bendru kvapo intensyvumu lyginant su L priedais. Bendras kvapo ir skonio intensyvumas buvo jaučiamas T priedus fermentuojant su visomis PRB padermėmis – 4,0 balo, S (*P. acidilactici* KTU05-7) – 4,0 ir 3,0 balo bei LS (*P. acidilactici* KTU05-7) – 3,0; 3,0 ir 3,0 balo (su *L. sakei* KTU05-6). Labiausiai jaučiamas pašalinis skonis buvo pieno produktuose su LS priedu fermentuotu *P. pentosaceus* KTU05-9. Tekstūros (vienalytiškumo) savybių pokyčiams reikšmingesnė įtaka buvo pastebėta su S priedu (fermentuotu *P. acidilactici* KTU05-7) – 3,0 balo.

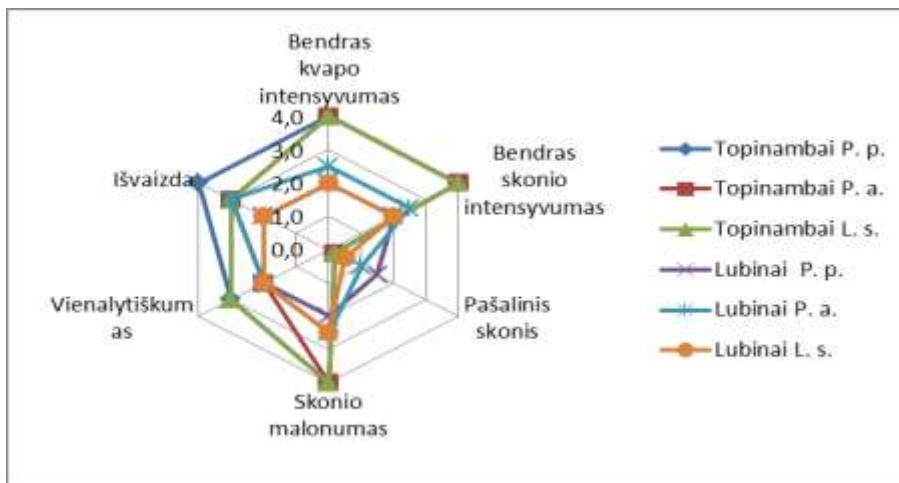
Apibendrinus gautuosius tyrimų rezultatus, galima daryti išvadą, kad KF su L ir TF LS (*P. pentosaceus* KTU05-9) priedais suteikė tiriamiesiems produktams per stiprų pašalinį skonį, kas mažino bendrą skonio ir kvapo priimtumą ir darė produktus vartotojams nepatrauklius.



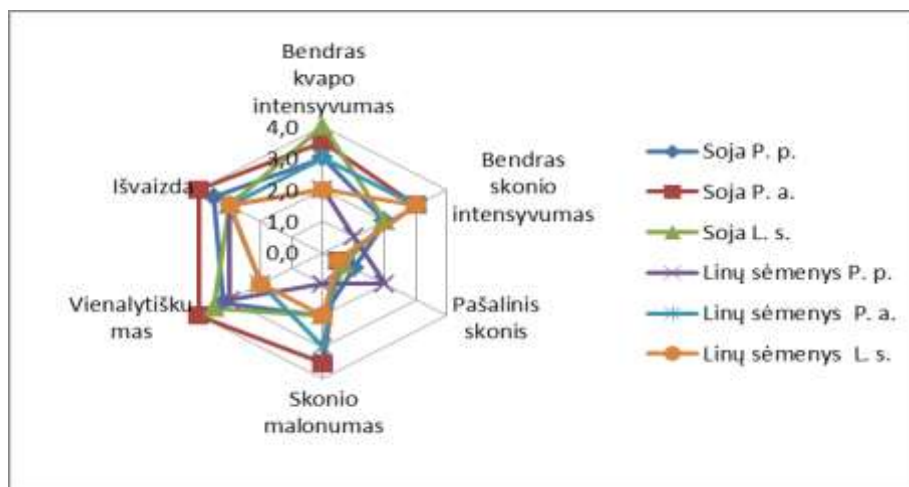
36 pav. Raugintų pieno produktų su topinambų ir lubinų priedais įtaka jusliniams rodikliams (KF būdu).



37 pav. Raugintų pieno produktų su sojos ir linų sėmenų priedais įtaka jusliniams rodikliams (KF būdu).



38 pav. Raugintų pieno produktų su topinambų ir lubinų priedais įtaka jusliniams rodikliams (TF būdu).



39 pav. Raugintų pieno produktų su sojos ir linų sėmenų priedais įtaka jusliniams rodikliams (TF būdu).

4. REZULTATŲ APTARIMAS

4.1. Ekstraktų antioksidacinis aktyvumas modelinėse sistemose

Klientų poreikių patenkinimas tiriant naujus produktus šiuolaikinėje rinkos ekonomikoje yra nuolatinis iššūkis mokslui ir jo - sąjungai su verslu. Nauja funkcionaliųjų (palankių sveikatai) produktų kategorija yra vienas iš stiprėjančių mūsų laikmečio vartojimo tendencijų t.y. sveikos gyvensenos ir mokslo įrodymų kombinacija. Šiandien maisto mokslo produktų kokybės gerinimo moksliniai projektai susiduria su sunkia užduotimi – pritaikyti tyrimų rezultatus pramonėje ir atlikti detalią jų analizę. Labai svarbu atrinkti kokybiškiausius ir labiausiai priimtinius augalus ir jų ekstraktus.

Mokslinės literatūros studijos padėjo atrinkti teoriškai priimtinausius augalus (medaus krūmą, ybiškę, cinamoną, baziliką ir šėivamedį, o fermentacijai - topinambus, lubinus, linų sėmenis ir soją). Medaus krūmo lapai, stiebai ir žiedai naudojami gaminti saldiems žolelių užpilams ar kompozicijoms. Žinomas kaip kofeino neturinti, su mažu taninų kiekiu aromatinių žolelių arbata (Joubert et al., 2011; Kokotkiewicz et al, 2015), kuri mažina riebalų ir cholesterolio kiekį (Joubert et al., 2014). *Cyclopia spp.* sudėtyje yra antioksidantų flavonų, izoflavonų, luteolino, 4-hidroksicynamiko rūgšties, polifenolių ir ksantonų. Ybiškės žiedai, augalinė-vaistažolinė žaliava turinti daug bioaktyvių savybių, pasižymi priešnavikiniu aktyvumu, antidiabetiniu poveikiu, plačiai taikoma ajurvedinėje medicinoje (Sachdewa and Khemani, 2003; Gauthaman et al., 2006). Ruošiant ybiškės ir medaus krūmo ekstraktus dažniausiai tirpikliu pasirenkamas vanduo, įvairių koncentracijų etanolio ar metanolio mišiniai su vandeniu, acetonas (Anokwuru et al., 2011; Wong et al., 2014). Kiekybiškai vertinant išekstrahuojamų junginių kiekį priklausomai nuo pasirinkto ekstrahento pastebima, jog fenolinių junginių kiekis mažėja atitinkamai tirpikliu pasirinkus: metanolį > etanolį > vandenį > acetoną.

Ekstraktų antioksidaciniam aktyvumui įvertinti naudoti įvairūs metodai DPPH[•] radikalo ir ABTS^{•+} katijono radikalo blukinimo, peroksido radikalo sulaikymo (ORAC), bendram fenolinių junginių kiekiui (BFJK) Folin-Ciocalteu's. Susmulkintų dalelių antioksidacinis aktyvumas įvertintas taikant QUENCHER procedūrą. Analizuojant ybiškės ir medaus krūmo augalus nustatyta, kad jų ekstraktų išeiga labai skiriasi ir kai kurių sausoji masė nesiekia 2,0% viso augalo masės. Tai reiškia, kad distiliacijos atliekos sudaro apie 98,0%. Ekstrakcijai didelės įtakos turi ekstrahentas, kuris pagal gautus tyrimo rezultatus statistiškai patikimai skyrėsi ($p \leq 0,0001$). Ekstrahuojant acetonu, etanoliu ir vandeniu Soksleto aparatu nustatytas trūkumas – ilga

ekstrakcijos trukmė (9 val.) sunaudojami dideli kiekiai tirpiklių, kuriuos sunku pilnai pašalinti iš ekstraktų. Nustatyta, kad didžiausia išeiga gauta iš kietosios frakcijos (vanduo su jame ištirpusiomis medžiagomis nukreipiamas į liofilizatorių) – kur gauti milteliai su vandenyje tirpiomis augalų medžiagomis. Naudojant džiovinimo metodus iš vandeninių frakcijų galima ženkliai pagerinti ekstrahavimo procesą, sumažinti tirpiklių sąnaudas bei kai kuriais atvejais gauti didesnes ekstraktų išeigas, tačiau labai svarbu pasirinkti pagrindinius proceso kintamuosius – ekstrakcijos trukmę ir temperatūrą. Sprendžiant pagal gautąsias ekstraktų išeigas, taikytas liofilizavimo metodas buvo adekvatus, tokiu būdu parodomas ryšys tarp ekstrakto išeigos ir naudotų nepriklausomųjų glaudumas.

Mažiausia išeiga gauta iš medaus krūmo ekstrakto naudojant išpurškimo metodą, dėl šios priežasties ateityje šis metodas neturėtų būti naudojamas medaus krūmo antioksidacinėmis savybėmis pasižyminčių junginių išskyrimui iš vandeninių frakcijų, nes nėra efektyvus, nors ir pigesnis už liofilizaciją. Atlikti distiliacijos atliekų tyrimai įrodė, kad juose yra vertingų fitokomponentų, todėl jie galėtų būti perdirbami į didesnės pridėtinės vertės produktus, kurie galėtų būti naudojami maisto, kosmetikos ar farmacijos pramonėje. Pagal gautus tyrimų rezultatus nustatyta, kad juose yra vertingųjų sudedamųjų dalių, tarp jų ir antioksidaciniu aktyvumu pasižyminčių junginių, kurių galia labai priklauso nuo fitocheminės sudėties – jų kiekio bei struktūros, ypač polifenolinių junginių, iš kurių svarbiausi flavanoidai ir fenolinės rūgštys.

Medaus krūmo LFV ir IFV ekstraktuose buvo daugiausiai fenolinių junginių, tačiau šie ekstraktai pasižymėjo mažesniu AA nei Soksleto būdu gauti ekstraktai. AE ir EE ekstraktai tarpusavyje skyrėsi nežymiai, tačiau lyginant su vandeninėmis frakcijomis jų aktyvumas buvo su ABTS^{•+} ir DPPH[•], ORAC apie 3 kartus didesnis. BFJK taip pat reikšmingai skyrėsi VE ir ekstrahuotais organiniuose tirpikliuose ekstraktais ($p \leq 0,0001$). Ybiškės ekstraktai pasižymėjo silpnesnėmis antioksidacinėmis savybėmis negu medaus krūmo ekstraktai. Stipri koreliacija nustatyta tarp BFJK ir ekstraktų antioksidacinių savybių: BFJK su ABTS^{•+} ($r^2=0,99$) ir BFJK su DPPH[•] ($r^2=0,99$) ir BFJK su ORAC ($r^2=0,95$).

Ekstraktų RSG vertės taikant tradicinę ABTS^{•+} ir DPPH[•] analizės procedūrą buvo 2 kartus didesnės negu atitinkamos vertės gautos taikant QUENCHER procedūrą. Minėtas skirtumas Soksleto būdu ekstrahuotiems ekstraktams buvo dar didesnis. Skirtumai tarp BFJK verčių buvo ne tokie žymūs su ybiškės ekstraktais. Šių skirtumų priežastys gali būti įvairios: kai kurie AA pasižymintys junginiai gali būti susijungę su kitais junginiais ir po ekstrakcijos likti matricoje; tyrimų procedūrų ypatumai gali turėti įtakos

reakcijos kinetikai; antioksidacinėmis savybėmis pasižymintys antocianinų pigmentai gali būti išplauti tirpikliu.

Taikant QUENCHER procedūrą taip pat pastebėtas stiprus koreliacinis ryšys tarp BFJK ir antioksidacinio aktyvumo verčių: BFJK su ABTS⁺ ($r^2=0,95$) ir BFJK su ORAC ($r^2=0,97$).

Medaus krūmo ir ybiškės sudėtis tirta chromatografijos metodu. Iš viso medaus krūmo ekstraktuose nustatyti 3, o ybiškėje 5 junginiai, palyginant jų sulaikymo laikus, tikslią molinę masę bei palyginant su atitinkamais etaloniniais tirpalais ir literatūroje rasta duomenimis. Nustatyta, kad hesperitinas medaus krūmo, o kvercetas – ybiškės anatomicinėse dalyse buvo dominuojantys junginiai. Identifikuotų junginių kiekių pokyčiai ybiškėje ir medaus krūme daugiausiai priklausė nuo pačio augalo rūšies ir ekstrahento. Pagal smailių plotus nustatyta, kad kiekybiškai hesperitino, hesperidino ir magniferino junginiai yra pagrindiniai medaus krūmo, o ybiškės – kvercetas, kampesterolis, ergosterolis, pelargonidinas, cianidinas, atitinkamai. Dėl sudėtingos ekstraktų kompozicijos visų užregistruotų smailių identifikuoti nepavyko. Didžiausias kiekis medaus krūmo ekstraktuose hesperitino junginių identifikuotas AE ir EE ekstraktuose, tuo tarpu LFV ir IFV ekstraktuose identifikuota mažiausias junginių kiekis. Ybiškėje didžiausias junginių kiekis identifikuotas taip pat – AE ir EE ekstraktuose. Hibiscetino bei citrinų rūgšties junginių buvo aptikti nedideli kiekiai.

Atliktuose tyrimuose ir literatūroje nustatyta, jog medaus krūme vyraujantys junginiai – hibiscetinas, hesperidinas ir magniferinas (Roux et al., 2012; Theron et al., 2014; Piccino et al., 2014; Pino, 2014). Hesperidinas – polifenolinis junginys, vienas iš bioflavonoidų, vandenyje tirpus antioksidantas. Hesperidinas didina vitamino C aktyvumą organizme, stiprina kraujagyslių sienelės, mažina kapiliarų pralaidumą, gerina kraujotaką. Yra duomenų, kad hesperidinas gali pamažinti kojų edemas, palengvina menopauzės simptomus, veikia prieš Herpes ir kvėpavimo takų infekcijas sukeliančius virusus, naudingas gydant lėtinį venų nepakankamumą. Taip pat buvo stebėta, kad hesperidininas pagerino mikrocirkuliaciją ir limfos nutekėjimą, pagreitino kojų opų gijimą. Todėl maisto papildus su hesperidinu naudinga vartoti kai yra kapiliarų trapumas, pasireiškiantis mažytėmis kraujosrūvomis, kai tinsta kojos, sergant kojų venų ligomis (Bartoszewski et al., 2014; Kokotkiewicz et al., 2013). Hesperitinas – flavonoidas, pasižymintis teigiamu poveikiu kovojant su navikinėmis ligomis. Pasižymi stipriomis antioksidacinėmis, antimutageninėmis ir antigenotoksinėmis savybėmis. Dėl šių biologinių savybių prevencija užtikrinama visose vėžio formavimosi stadijose. Tiesa, kol kas šis poveikis stebėtas *in vitro* graužikų ir žmonių ląstelėse (Mahomoodally, 2013). Magniferinas – tai polifenolis,

kuris pasižymi stipriomis antimikrobinėmis, antioksidacinėmis ir antimutageninėmis savybėmis (Bartoszewski et al., 2014).

Ybiškėje pagal gautus rezultatus ir literatūrą nustatyta, jog vyraujantys junginiai - kvercetas, kampesterolis, ergosterolis, pelargonidinas, cianidinas (Ruban and Gajalakshmi, 2012; Hu et al., 2014; Aguirre et al., 2014). Plačiai ištirtas flavonoido kverceto poveikis, kuris geba sunaikinti agresyvius elementus t.y. reaktyvias molekules, kurios žmogaus organizme sukelia uždegimus, paskatindamos mitochondrijas - energetinį ląstelių fabriką susinaikinti. Mokslininkų tyrimais įrodyta, kad į organizmą įterpus pažeistose vietose šio junginio žymai padidėjo junginio koncentracija, o kitose srityse jo nebeliko (Bai and Zhu, 2010). Kampesterolis – vienas iš stipriausių gamtoje randamų antioksidantų, tirpių bioflavonoidų, steroidų kurių aktyvumas naikinant laisvuosius radikalus yra nuo 20 iki 50 kartų didesnis, nei betakaroteno ar vitaminų C ar E (Gamboa-Gomez et al., 2015; Mazzio and Soliman, 2009) ir veiksmingai sumažina „blogą“ cholesterolio kiekį. Ergosterolis – polisacharidas, kuris pasižymi stipriu antioksidaciniu, antifungicidiniu poveikiu, efektyviai veikia kepenų fermentus, ir hepatito virusą (Bakhtiari et al., 2015). Cianidinas – ypač stipriu poveikiu pasižymintis antioksidantas, moksliniais tyrimais įrodyta kad net 4 kartus stipresnis už vitaminą E. Tai antocianinai, pigmentinis dažas E163a (raudonas) – kurio kiekinė sudėtis apsprendžia žaliavos kokybę. Pelargonidinas (E163d) – taip pat priklauso antocianinams, oranžinės spalvos pigmentas. Tiriant ybiškės antocianinus *in vivo* buvo nustatyta, kad duodant juos žiurkėms prieš tetrabutilo hidroperoksidazės gydymo dozę, yra žymiai sumažinamas kepenų fermentų žymenų (alanino ir aspartato aminotransferazių) lygis serume ir oksidacinė kepenų pažeida. Taip pat histopatologinė žiurkės kepenų analizė parodė, kad ybiškės pigmentai sumažino tetrabutilo hidroperoksidazės sukeltus kepenų pažeidimus, įskaitant uždegimą, leukocitų infiltraciją ir nekrozę (Wang et al., 2000).

Pengilly su bendraautorais (2008) teigia, kad veikliųjų medžiagų ir polifenolinių junginių kiekis po ekstrakcijos liekantis augale priklauso nuo pirminio žaliavos paruošimo. Mūsų tyrimai patvirtino Joubert et al. (2008) rezultatus, kad AE medaus krūmo ekstraktuose pagrindiniai biologiškai aktyvūs junginiai yra iš ksantonų - magniferinas ir izomagniferinas, iš flavonų – hesperidinas, hesperitinas, eriocitrinas, narirutinas ir kampesterolis. Kamara et al. (2003) įrodė, kad medaus krūmo ekstraktai turtingi flavanoidais, flavonais, izoflavonais ir polifenoliais. Joubert et al. (2008) nustatė, kad medaus krūmo vandeniniuose ekstraktuose magniferino yra 2,79%, izomagniferino nebuvo rasta, o hesperidino 1,12%, tuo tarpu mūsų rezultatai rodo, kad magniferino – 4,42, o hesperidino – 1,8 karto mažiau VE. Sissing et al. (2011) ištyrė, kad vandeninio medaus krūmo pagrindiniai biologiškai

aktyvūs junginiai – magniferinas, ksantonai, izomagniferinas, hesperitinas ir hesperidinas. Magniferino – 0,42 mg/g, hesperitino – 0,11 mg/g, tuo tarpu mūsų rezultatais 0,63 mg/g ir 0,62 mg/g, atitinkamai.

Literatūroje nurodoma, kad ybiškė turtinga flavanoidais, hibiscetinu, cianidinu, kampersteroliu, ergosteroliu ir antocianinų pigmentais (Ajay et al., 2007; Gauthaman et al., 2006; Gilani et al., 2005; Sachdewa and Khemani, 2003). Šių mokslininkų tyrimai patvirtino ir mūsų tyrimų rezultatus. Mokslininkai (Amin and Hamza, 2005, Lin et al., 2007; Wu et al., 2007; Faten et al., 2012) ištyrė VE ir EE ybiškės ekstraktų fitochemines savybes ir nustatė, kad šie augalai kaupia – antocianinus, hibiscetiną, flavanoidus, polifenolinius junginius. Pan et al. (2010) patvirtino, kad šie junginiai žinomi, kaip biologiškai aktyvūs ir yra atsakingi už AA įvertinimą. Fenoliniai junginiai, antocianinai esantys ybiškėje naudojami kaip maisto priedai įvairių produktų dažymui kartu suteikdami jiems biologinę vertę.

Mūsų atlikti tyrimai patvirtina kitų autorių rezultatus, kad vieni iš svarbiausių ybiškės junginių yra fenoliniai, kurių sudėtyje yra hidroksilo grupės, atsakingos už platų spektrą antioksidacinių savybių (Vundac et al., 2007). Autoriai nustatė ir patvirtino stiprią koreliaciją tarp BFJK ir augalo anti-radikalinių savybių (Cai et al., 2004; Pan et al., 2007; 2009; 2010; Faten et al., 2012). Sachin and Prachi (2013) tyrinėjo VE ir EE ekstraktus ir nustatė, kad ybiškės ekstraktai gali būti naudojami kaip natūralūs antioksidantai, nes efektyviai slopina oksidacijos procesus (vandeninis 47,06%, etanolinis 17,37%) ir geba surišti laisvuosius radikalus. Nustatyta, kad vandeniniai-etanoliniai ybiškės ekstraktai buvo efektyvus antioksidantas skirtinguose *in vitro* sistemose, tiriant radikalų surišimo metodus DPPH[•] ir ABTS^{•+}, ORAC ir lipidų oksidacijos procesus (Mandade et al., 2011).

AA tyrimai parodė statistiškai reikšmingą ($p \leq 0,0001$) ryšį tarp augalų ir tirpiklio, kas leido optimaliai įvertinti žaliavų kokybę atrenkant perspektyvias augalų rūšis kaupiančias didelius kiekius antioksidantų. Nustatytos junginių identifikavimo charakteristikos atveria naujas vaistinių-aromatinių augalinių žaliavų ir jų preparatų perspektyvas. Fitocheminiai tyrimai naudojant tam tikras žaliavas ir vertinant jų kiekybinę ir kokybę analizę svarbūs, nes padeda identifikuoti komponentus kurie turi biologinį aktyvumą, antioksidantų pasiskirstymą tarp atskirų augalų, užtikrinant augalinio ekstrakto AA. Augalai kaupiantys fenolinius junginius yra pirmo pasirinkimo natūralių antioksidantų šaltinis.

Superkritinės ekstrakcijos procesas yra pagrindinis specifinių junginių ar junginių grupių išskyrimo veiksnys, todėl CO₂ metodas vis plačiau taikomas didelės vertės gamtinės kilmės komponentų išskyrimui (Baysal et al., 2000). Įvertinome komercinių CO₂ ekstraktų - juoduogių šėivamedžių, kvapiojo baziliko ir kininio cinamono AA.

Ekstraktų AA buvo nuo 104,63 iki 16,64 $\mu\text{mol TE/g}$ (DPPH $\cdot$), 64,02 - 5,7 $\mu\text{mol TE/g}$ (ABTS $^{\cdot+}$), 206,41 iki 849,63 $\mu\text{mol TE/g}$ (ORAC) ir BFJK - 49,13 iki 3,9 mg GRE/g. Didžiausiu aktyvumu pasižymėjo kininio cinamono ekstraktai ir AA pasižyminčių junginių didžiausias kiekis išskiriamas - 206,41 $\mu\text{mol TE/g}$ ORAC metodu. Kininio cinamono sudėtyje esantys aktyvūs junginiai geriau tirpsta poliniuose tirpikliuose ir taip padidina antioksidaciniu aktyvumu pasižyminčių junginių išsiskyrimą. Stipri koreliacija pastebėta tarp BFJK ir ekstraktų antioksidacinio aktyvumo verčių; BFJK su DPPH $\cdot$ ($r^2=0,99$), BFJK su ABTS $^{\cdot+}$ ($r^2=0,96$), BFJK su ORAC ($r^2=0,98$). Galima teigti, kad BFJK gerai apibūdina tirtųjų ekstraktų *in vitro* antioksidacinį aktyvumą. Radikalų geba ir antioksidacinis aktyvumas reikšmingai priklauso nuo ekstrakto.

Mūsų duomenys sutampa su mokslininkais iš Taivano (Yang et al., 2012) patvirtino mūsų duomenis, kad kininio cinamono antioksidacinis aktyvumas netiesiogiai priklauso nuo BFJK kiekio ir nustatė reikšmingą ($p \leq 0,05$) skirtumą tarp antioksidacinio aktyvumo ir BFJK. Prasad et al. (2009) taip pat patvirtino, kad cinamono ekstrakto AA priklauso nuo BFJK. Mokslininkų grupės nustatė, kad cinamono CO₂ lapų ekstraktuose esantis biologiškai aktyvūs junginiai pasižymi stipriomis antioksidacinėmis savybėmis ir radikalų surišimo geba pasiskirstė atitinkamai – 0,072 mg/ml DPPH $\cdot$ ir 335,78 mg TE/g ABTS $^{\cdot+}$ (Lin et al., 2011; Lee et al., 2005). Tuo tarpu mūsų duomenimis ABTS $^{\cdot+}$ radikalų surišimo geba buvo 2,5 karto didesnė. Tai galima paaiškinti ir kitų autorių duomenimis, kad cinamono žievė pasižymi didesniu AA nei lapai ar pumpurai. Remiantis mūsų tyrimais ir išanalizavus literatūrą galima daryti prielaidą, kad tokį stiprų antioksidacinį cinamono aktyvumą sąlygoja aktyvūs junginiai, kaip cinnamaldehydas, kumarinas, rutinas, kvercetas ir kampesterolis.

Mokslininkai iš JAV (Kwee and Niemeyer, 2011) ištyrė 15 veislių baziliko ekstraktų antioksidacinį aktyvumą (FRAP ir DPPH $\cdot$ radikalų surišimo metodais) ir nustatė, kad antioksidacinis aktyvumas svyruoja nuo 0,28 iki 11,5 mg/ μg . Kiti mokslininkai nustatė, kad DPPH $\cdot$ radikalų surišimo metodu nustatytas 0,49% AA (Lagouri and Nisteropoulou, 2009). Barros et al. (2013), tyrimų duomenys rodo, kad baziliko ekstrakto AA DPPH $\cdot$ radikalų surišimo metodu buvo 83%, tokiam aukštam antioksidaciniam aktyvumui įtakos galėjo turėti įvairių ekstrakcijos proceso sąlygos. Baziliko ekstrakto antioksidacines ir antimikrobines savybes įtakoja biologiškai aktyvios medžiagos, kaip timolis ir oksiduoti monoterpenai (Chacon et al. 2006; Gunasekar et al., 2012). Vardapetyan su benraautorais (2014) nustatė, kad baziliko ekstraktas pasižymi silpnu antioksidaciniu aktyvumu - 4,95 mg/g (BFJK) ir 13,00 mg/ml (DPPH $\cdot$), tokius rezultatus patvirtino ir kiti mokslininkai (Lee et al., 2005; Sharma et al., 2010).

Christensen et al. (2010) ištyrė šeivamedžių žiedų ekstraktus ir nustatė, kad AA - 34,58% (DPPH[•]), o BFJK 3,18 mg/ml. Mūsų duomenimis šeivamedžių žiedų BFJK apie 3,9 mg GRE/g, o DPPH[•] - 16,64 μmol TE/g. Stoilova et al. (2007) nustatė stiprią koreliaciją tarp AA ir BFJK ($r^2=0,98$), BFJK buvo – 9,4 mg GRE/g, tai yra 2,4 karto didesnis nei mūsų duomenimis. AA nustatant ORAC metodu (Wu et al., 2004) rezultatai parodė kad šeivamedžio ekstraktai rodo didesnę AA nei kiti tirtieji ekstraktai. Buricova and Reblova (2008) pranešė, kad šeivamedžio ekstraktai pasižymi vidutiniu AA (DPPH[•]). Tyrimų duomenimis nustatyta, kad šeivamedžių žiedų ir vaisių ekstraktai yra geras biologiškai aktyvių polifenolių šaltinis ir maisto pramonėje gali praturtinti maisto produktus natūraliais maisto priedais – antocianiniais (Stoilova et al., 2007).

Įvertinus ekstraktų stabilumą oksidacijai nustatėme, kad tiriamieji ekstraktai panašiai pasižymėjo antioksidacinėmis savybėmis stabilizuojant riebalus. Nustatėme, kad įterpiant šiuos ekstraktus, jų riebaluose tirpių biologiškai aktyvių medžiagų antioksidacinės savybės labai priklauso nuo riebalų prigimties, sudėties, priedų ir jų savybių. Marnewick et al. (2005) nustatė medaus krūmo ekstrakto antioksidacinį aktyvumą - lipidų peroksidacijos slopinamąjį poveikį.

Vertingas augalų maistines savybes žinojo jau senosios civilizacijos. Besivystančios augalų auginimo technologijos, augalų genetikos tyrimai, naujų augalų paieška iš egzotiškų kraštų atvėrė galimybes seniau plačiai auginėti, bet „užmirštiems“ vertingiesiems augalams. Inovatyvių produktų kūrimas, taikant šiuolaikiškus efektyvius vertingų komponentų išskyrimo ir perdirbimo metodus, atveria geras perspektyvas atgaivinti ir plėtoti tokių augalų auginimą, perdirbimą, naudojimą ir pritaikymą. Šių augalų įvairiose anatininėse dalyse yra vertingų mitybos medžiagų, todėl išmanusis bei racionalusis perdirbimas ir pritaikymas būtinas siekiant efektyviai panaudoti visus vertingus augalo komponentus. Galime daryti prielaidą, kad maisto pramonėje būtina tirti augalų AA ir kuo plačiau pritaikyti pieno ir kitų produktų gamyboje.

4.2. Ekstraktų antimikrobinis aktyvumas modelinėse sistemose

Vis plačiau ekstraktai naudojami maisto pramonėje dėl jų baktericidinių savybių bei jų pritaikymo galimybių. Ištyrėme jog šios savybės priklauso nuo augalo rūšies, jo biologiškai aktyvių junginių kiekio ir ekstrahento. Šio tyrimo tikslas įvertinti tiriamųjų augalų ekstraktų antimikrobinį poveikį gramteigiamoms, gramneigiamoms, pienarūgštėms bakterijoms, mielių ir pelėsinų grybų kultūroms. Augalų ekstraktų antimikrobinį poveikį sudėtinga paaiškinti dėl augaluose esančių skirtingų junginių komplekso. Lyginant

mokslininkų gautus rezultatus, sudėtinga rasti tiesioginį ryšį tarp jų (Tiwari et al., 2015; Burt, 2004; Djeussi et al., 2013). Šiam skirtumui įtakos gali turėti morfologinės sandaros skirtumai tarp gramteigiamų ir gramneigiamų bakterijų. Gramteigiamos padermės buvo jautresnės tiriamųjų ekstraktų poveikiui nei gramneigiamos. Nėra tiksliai žinoma, kodėl ekstraktai skirtingai veikia gramteigiamas ir gramneigiamas patogeninių ir pienarūgščių bakterijų padermes, tačiau manoma, kad gramneigiamos padermės ne tokios jautrios dėl išorinės membranos struktūros, kurią sudaro 95% mureino ir 2,5% lipidų (Djeussi et al., 2013). Kiti autoriai teigia, kad ekstraktų antimikrobinis aktyvumas sąlyginai priklausyti gali nuo ekstrakcijai naudoto tirpiklio. Poliniai tirpikliai tirpūs vandenyje ir juose daugiau ištirpsta junginių nei nepoliniuose tirpikliuose (Wendakoon, 2012). Eloff (1998) tyrimais nustatė, kad biologiškai aktyvių medžiagų ekstrakcijai acetonas yra efektyviausias tirpiklis, kiek mažiau aktyvus metanolis ir jo mišinys su vandeniu, etanolis ir vanduo. Cowan (1999) teigia, kad fitocheminių medžiagų ekstrakcijai iš augalų metanolis yra efektyvesnis ekstrahentas nei acetonas.

Galima teigti, kad medaus krūmo augalų ekstraktai slopino tik tam tikrą dalį bakterijų padermių, o ybiškės ekstraktai turėjo stipresnį slopinamąjį poveikį. Palyginus mūsų tiriamuosius augalų ekstraktus nustatėme, jog ybiškės ekstraktai pasižymėjo stipresnėmis antibakterinėmis savybėmis lyginant su medaus krūmu. Mūsų atliktais tyrimais ir literatūros duomenimis tirtieji ekstraktai pasižymi antioksidacinėmis savybėmis ir stabdo peroksidų susidarymą riebaluose, dėl to gali būti naudojami stabilizuoti riebalams bei produktams, kurių sudėtyje gausu riebalų (Gerber et al., 2015; McKay and Blumberg, 2007; Saravanan et al., 2011). Antimikrobinių tyrimų metu nustatyta, kad tiriamieji AE ir EE ekstraktai stipriau veikė bakterijų, mielių ir pelėsinų grybų kultūras, nei vandeniniai ekstraktai. Todėl šie ekstraktai veikia mikroorganizmus, o slopinantis mikroorganizmų augimą poveikis priklauso nuo mikroorganizmų savybių.

Yra žinoma, kad mikroskopinių grybų vystymuisi gyvybiškai svarbi drėgmė ir temperatūra, optimaliausia 20-30 °C. Tyrimai su mielėmis parodė, kad VE ekstraktai neslopina, o kiti silpnai slopina jų augimą. Tiriant pieno pramonės įmonėse išskirtų mielių jautrumą nustatyti skirtumai tiek tarp augalo rūšių, tirpiklių efektyvumo, tiek ir atskirų mielių jautrumo skirtumai. Visų testavimo kultūrų augimą slopino ybiškės ir medaus krūmo AE ir EE ekstraktai, mažiausia slopinančioji koncentracija 5 ar 1%, o jų skersmuo siekė 10,00-14,00 mm. Tarp mielių kultūrų didžiausiu jautrumu pasižymėjo *S. cerevisiae* ir *K. marxianus* var. *Lactis*, kurių augimą slopino tiek ybiškės ir medaus ekstraktai, tiek CO₂ šėivamedžio, baziliko ir cinamono ekstraktai.

Lyginant ekstraktus tarpusavyje, matome, kad tirtųjų augalų CO₂ cinamono ekstraktas ir ybiškės AE buvo efektyviausias, o mažesniu

aktyvumu išsiskyrė baziliko CO₂ ir medaus krūmo AE ekstraktai, o vandeniniai ekstraktai beveik neslopino testuojamų kultūrų.

Ruban and Gajalakshmi (2012) gavo panašius duomenis įvertinus antimikrobinį aktyvumą, kad ybiškės vandeniniai ekstraktai slopinančiai veikė *S. aureus* – 11,00 mm (LFV), *E. coli* – 14,50 mm (LFV) ir 11,60 mm (IFV), *B. subtilis* – 17,00 mm (LFV), *Salmonella sp.* – 13,15 mm (LFV) ir 10,66 mm (IFV), *P. aeruginosa* – 14,00 mm (LFV). ILF ekstraktai neturėjo slopinančio poveikio *S. aureus* ir *P. aeruginosa* bakterijų kultūroms. Vandeniniai ybiškės augalų ekstraktai savo sudėtyje turi nemažai flavonoidų, taninų, alkaloidų ir kitų medžiagų kurios pasižymi antibakterinėmis savybėmis. Kitų autorių rezultatai patvirtina, kad ybiškėje esantys taninai pasižymi toksiškomis savybėmis ir gali būti farmakologiškai naudingi (Singh et al., 2008; 2011; De Britto et al., 2011; Banso and Adeyemo, 2007; SK Dey et al., 2010; Sukumaran et al., 2011; Kannathasan et al., 2011; Raja et al., 2011; Madhumitha et al., 2011; Johnson et al., 2011; Chatterjee et al., 2011; Mirdejad et al., 2011; Ani et al., 2011; Ezeani et al., 2011; Ruban and Gajalakshmi). Tiriamieji ybiškės ekstraktai pasižymėjo stipriu antibakteriniu aktyvumu prieš testuojamus patogeninius mikroorganizmus (*K. pneumoniae*, *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *B. cereus*, *B. subtilis* ir *E. coli*). Fullerton su bendraautorais (2011) ištyrė, kad ybiškės ekstraktai pasižymi antibakteriniu aktyvumu, o *E. coli* ir *B. subtilis* – jautriausios kultūros. Rao su mokslininkais (2013) nustatė, kad ybiškės ekstraktai pasižymėjo ir fungicidiniu poveikiu prieš *A. flavus* ir *C. albicans*.

Tuo tarpu mūsų tyrimų rezultatai rodo, kad ybiškės vandeniniai ekstraktai neturėjo slopinančio poveikio *C. albicans*, o *A. flavus* mielių kultūroms – buvo 2,5 karto didesnis nei kitų autorių. Nagarajappa su bendraautorais (2015) atliko tyrimus ir nustatė, kad ybiškės ekstrakto minimali slopinančioji koncentracija ($p \leq 0,05$) slopinančiai veikia *S. mutans* (6,25 µg/ml) ir *L. acidophilus* (25 µg/ml). Kiti autoriai nustatė, kad ybiškės EE ekstraktui jautrios *S. aureus* ir gramteigiamos bakterijų rūšys naudojant tiek 50 tiek 100 mg dozavimus, tai puikus antibakterinis preparatas, kurį galima panaudoti įvairių ligų gydymui sukeltų patologinių mikroorganizmų (Uddin et al., 2010). Nustatyta, kad ybiškės pigmentinės medžiagos baktericidiškai veikia prieš *Mycobacterium tuberculosis*, dėl gera antibakterine struktūra pasižyminčių veikliųjų medžiagų – flavanoidų, palargonidino, cianidino, kvercetino, antocianinų, kampesterolio, citrinų ir oksalo, vyno rūgšties ir kitų alkaloidų (Atwan and Saiwan, 2010).

Įvairiuose augaluose gausu antocianinų, kurių spalvos pigmentai varijuoja nuo tamsiai mėlynos iki juodos spalvos, ir turi slopinantį poveikį mikroorganizmų dauginimuisi (Vuorela et al., 2005). Antocianinų turtingi įvairūs ekstraktai slopina ne tik gramneigiamų, bet ir gramteigiamų bakterijų augimą.

Daugelis šių bakterijų yra normali žmogaus mikroflora, tačiau tam tikromis sąlygomis jos gali sukelti uždegimus ar net bendrinę infekciją. Nustatyta, kad šios veikliosios medžiagos slopina *Helicobacter pylori* (Nohynek et al., 2006), *E. coli* ir *S. aureus* kultūrų augimą (Puupponen-Pimiä et al., 2001) ir *S. enteritidis* (Puupponen-Pimiä et al., 2005; 2006).

Coetzee et al., (2008) įvertino medaus krūmo ekstraktų antibakterinį aktyvumą ir nustatė, kad turi bakterostatinį poveikį prieš *E. coli* ir *Botrytis cinerea* bakterijų kultūras, šis efektyvumas sujungtas su jų polifenoliniais junginiais, kurių aktyvumas gali mažėti dėl vykstančių oksidacijos procesų.

Nustatyta, kad cinamonas pasižymi stipriomis antibakterinėmis savybėmis (Singh, 2007). Cinamono ekstraktas *B. subtilis* vegetatyvines ląsteles veikia baktericidiškai, bet neužmuša šios bakterijos sporų. Gana efektyviai sumažina *S. typhymurium* skaičių, bet nenužudo *S. enteritidis*. Cinamono ekstraktas veiksmingas ir mielių kultūrų atžvilgiu, kultūrų augimą nuslopina su minimalia koncentracija (Omar et., 2006; Lucera et al., 2012). Cinamono CO₂ ekstraktai savyje turi daugiau cinamaldehido, nei kitais ekstrakcijos būdais išgauti ekstraktai – kas sąlygoja jo didelį antimikrobinį aktyvumą (Yang et al., 2012). Gauti tyrimų rezultatai su cinamono ekstraktu parodė ne tik gerus antioksidacinio aktyvumo tyrimus, bet ir antimikrobinis, dėl šios priežasties būtų galima jį naudoti kaip natūralų vaistą, maisto priedą ar farmacijoje kaip alternatyvą – navikams, surišant laisvuosius radikalus.

Bazilikas pasižymi antimikrobinėmis savybėmis, taip vyksta dėl jo sudėtyje esančių medžiagų - estragolo, cineolio, eugenolio, sabineno, rozmarino rūgšties, mirceno ir limoneno. Laboratoriniai tyrimai parodė, kad baziliko veiksmingumas riboja daugelio bakterijų, įskaitant *L. monocytogenes*, *S. aureus*, *E. coli*, *Y. enterocolitica*, *B. cereus* ir *P. aeruginosa* (Hussaina et al., 2008) ir *C. albicans* (Vlase et al., 2014) augimą. Werlein (2005) grupė tyrė šėivamedžio koncentratų ir iš jų išskirtų antocianinų poveikį gramneigiamų (*E. coli*) ir gramteigiamų (*S. aureus*, *E. faecium*) bakterijų ir mielių (*S. cerevisiae*) augimui ir nustatė, kad šių mikroorganizmų augimą silpnai veikė *E. coli*.

Apibendrinant tyrimų duomenis galime teigti, kad dauguma augalų ekstraktų pasižymi tiek antioksidacinėmis tiek antimikrobinėmis savybėmis, kas ypač svarbu maisto sauga, o kokybei – kuriant sveikesnius produktus be sintetinių konservantų. Mūsų duomenys parodo, kad juos galima plėtoti kombinuojant įvairias augalų rūšis, dėl joslinių savybių, didelio antioksidacinio ir antimikrobinio aktyvumo, spalvos koordinačių priimtumo bei savitų naudingųjų biologiškai aktyvių medžiagų juose.

4.3. Ekstraktų įtaka raugintų pieno produktų kokybei

Maisto pramonėje ybiškė naudojama dėl savo rūgštoko, malonaus skonio, sodrios rubino spalvos. Taip pat yra puikus vitamininis priedas, kuris turėdamas daug vitamino C, saugo organizmą nuo virusinių infekcijų. Dėl savo sodrios spalvos šis augalas naudojamas ruošiant gaivinančias arbatas, įvairius šaltus gėrimus. Žiedų ekstraktas naudojamas kaip rūgštingumą reguliuojanti ir ryškiai vyšnine spalva dažanti medžiaga. Ybiškėje esantys antocianinai yra ne tik dažai, bet ir vieni stipriausių antioksidantų. Kaip dažai – jie pridoda produktams malonią spalvą, o kitos sudėtinės dalys – malonų rūgštų skonį, o antioksidacinis ir antimikrobinis aktyvumas, mūsų nustatytas keliais metodais patvirtino tokio tipo augalų panaudojimo galimybes ir tinkamumą gaminant įvairius maisto produktus, jų tarpe pieno produktus. Medaus krūmas maisto pramonei naudojamas dėl savo saldaus medaus skonio ir funkcinį sudedamųjų savybių. Jo sudėtyje esantis liuteolinas yra stiprus antioksidantas, savo sudėtyje turintis geltonąjį pigmentą – kuris suteikia gražią sodrią geltoną spalvą.

Literatūros duomenimis neaptikome jokių tyrimų su ybiškės ir medaus krūmo augalų ar jų ekstraktų pritaikymu maisto produktams. Tačiau plečiantis vartotojų sąmoningumui jie nori tiek sveikesnių, tiek gurmaniškesnių produktų (ieško naujų skonio derinių). Medaus krūmas, ybiškė ir kiti augalų ekstraktai pagerina ir praturtina juslines savybes, suteikia produktams įvairesnį skonį, patenkina tų vartotojų poreikius, kurie ieško sveikesnių produktų (nes praturtinimas augalais padidina pieno produktų funkcionaliąją vertę). Šie produktai turi daug biologiškai aktyvių medžiagų, teigiamai veikiančių sveikatą. Labiausiai ištirtos aktyvios medžiagos (magniferinas, hesperitinas, hesperidinas, kvercetas, kampesterolis) pasižymi antioksidacinėmis ir antimikrobinėmis savybėmis.

Visi augalų ekstraktai buvo priimtino skonio. Svarbu, kad jusliškai optimalios koncentracijos pieno produktų modelinėse sistemose pasižymėjo antimikrobinio ir antioksidacinio poveikiu, kas būna retai maisto mokslo pramonėje. Mūsų vartotojams priimtinausias cinamono skonis, jo antibakterinis spektras ypač platus (Tayler et al., 2015; Zahra et al., 2012; Yadav et al., 2014), kas svarbu maisto saugos srityje. Medaus krūmas pasižymėjo ypač rafinuotu skonių, malonių, bet dar neatrastu mūsų vartotojams. Svarbu, kad šis augalas turi labai daug biologiškai aktyvių naudingųjų žmogui medžiagų (hespetitino, hesperidino, magniferino) kurias mes nustatėme, o mokslas ištyrė daug daugiau (Marnewick et al., 2009). Ybiškė dėl malonaus rūgštoko skonio ir spalvos labai priimtina vartotojams. Jos bioflavanoidai – antocianinai plačiai ištirti (Macuvele et al., 2016; Shewale et al., 2012). Visų šių savybių derinys pieno produktų matricose

atvertų galimybę gaminti netgi antocianiniais praturtintą natūraliais priedais rausvos spalvos varškę ar sūrius.

Mūsų darbo rezultatais galėtų pasinaudoti technologai. Jie turėtų pritaikyti baziliko, šeivamedžio ir cinamono ekstraktų kompozicijas, derinant jų kieki pagal skonį. Mūsų tyrimų ir literatūros analizės duomenimis (Kšonžekova et al., 2016; Dulf et al., 2015; Farrell et al., 2015) šeivamedis turi daug naudingų biologiškai aktyvių medžiagų, tačiau pasižymi mažu antioksidacinius ir antibakteriniu aktyvumu. Cinamonas pagerina ne tik skonį, bet ir pasižymi stipriu antioksidaciniu ir antimikrobiniu aktyvumu. O bazilikas turi išties unikalų skonį ir tiek darbo rezultatai, tiek kitų mokslininkų studijos (Radaelli et al., 2016; Snoussi et al., 2016) parodė, kad jų antimikrobinės ir antioksidacinės savybės gerinančios produktų saugą, tik šiek tiek mažesnes nei cinamono.

Atlikus tyrimus ir išanalizavus literatūrą konstatavome, kad pieno produktų praturtinimas augalais, jų ekstraktais yra mokslo naujovė, nors pačių augalų savybės ir jų pritaikymas kitose maisto pramonės srityse yra plačiai tyrinėjamas. Tyrimų duomenys parodė, kad ybiškės ir medaus krūmo ir CO₂ cinamono, šeivamedžio ir baziliko ekstraktai pagerino varškės juslines savybes praturtindami įvairiomis biologiškai veikliomis medžiagomis. Tuo būdu pagerino pridedamąją vertę, varškė tapo patrauklesnė vartotojams. Gaminant pieno produktus su įvairiais augalų ekstraktais geriau tenkinami vartotojų poreikiai, didėja pieno produktų asortimentas, gerėja jų kokybė.

Mūsų tyrimo duomenimis galėtų pasinaudoti vartotojai, medikai ir technologai, kuriantys funkcionaliojo maisto produktus. Šiuos ekstraktus galima išbandyti kuriant, gaminant kuo įvairesnius pieno produktus, t.y. tiek ledus, tiek sauso lieso pieno miltelius, nes augalus galima išdžiovinti, bandyti padaryti tirpias frakcijas, kas atverų naują perspektyvą mokslui, gamintojui bei vartotojų sričiai.

4.4. Fermentacijos įtaka raugintų pieno produktų saugai ir kokybei

Vartotojų paklausa saugesniam maistui mokslininkus skatina ieško naujų būdų ir technologijų maisto funkcionališkai vertei pagerinti iš maisto grandinės eliminuojant konservantus, sintetinius dažiklius ir skonio reguliavimo medžiagas. Maisto grandinėje atsakomybė už maisto saugą, maistingumą ir kokybę priklauso ne tik nuo produktų gamintojų, bet ir nuo perdirbėjų, svarbiausia - vartotojų.

Maisto kokybė – jo sudėtis, biologinė vertė bei vartojiškosios savybės turi didelę įtaką žmonių sveikatai, nuotaikai ir darbingumui. Pienas ir jo produktai – vieni populiariausių ir dažniausiai vartojamų, todėl svarbu pagaminti geros kokybės pieno produktus. Pienas – produktas, gausus maistinių junginių,

kurie technologiniu požiūriu gali būti įvairiai pakeisti, kad duotų geriausią naudą vartotojams. Pavyzdžiui, į raugą pridėjus proteolitinių fermentų, gauname virš trisdešimt įvairių biologiškai aktyvių peptidų (Park, 2009). Nauji, tarp jų sveikesni pieno produktai, medicinos ekspertų, dietologų, technologų ir mikrobiologų nuomone turėtų būti naudojami ne vien gydymui, bet ir kasdieniniam vartojimui (Nagpal et al., 2012). Fermentuoti pieno produktai, savo sudėtyje turintys probiotinių bakterijų, gali veikti prevenciškai onkologines ligas (Herbel et al., 2013).

Fermentacijos procesas gali būti vykdomas taikant kelias technologines schemas - tradicinę fermentaciją (TF) skystoje fazėje, kuri yra pagrįsta mikroorganizmų augimu skystyje, ir kietafazę fermentaciją (KF), kuri susideda iš mikroorganizmų augimo ir produktų susidarymo ant kietų dalelių savo substrate, kuriame yra pakankamas drėgmės kiekis mikroorganizmų vystimuisi ir medžiagų apykaitai (Pandey, 2003). Įrodyta, kad kietafazės fermentacijos metu skatinamas pienarūgščių bakterijų augimas, mažėja mielių, pelėsinų grybų, kitų nepageidaujamų mikroorganizmų vystimasis (Rodríguez and Sanromán, 2006). Todėl ši fermentacijos būdas sulaukia vis didesnio susidomėjimo, nes atlikti tyrimai rodo, kad jos taikymas gali įtakoti geresnes produkto savybes, ilgesnį realizacijos laiką, mažesnius gamybos kaštus palyginus su tradicine fermentacija (Nigam, 2009; Jiang et al., 2012).

Fermentacijos metu maisto produktų gamybos grandinėje įvairių komponentų susidarymą lemia ne tik pieno rūgšties bakterijų padermė, naudoti augaliniai produktai, bet ir temperatūra, pH, drėgmės kiekis ir kiti rodikliai. Pieno rūgšties bakterijos sudaro nepalankias sąlygas žalingai mikroflorai vystytis, jos išskiria organines rūgštis ir sumažina terpės pH, kuris dažniausiai yra nepalankus mikroorganizmams, kurie sukelia produkto gedimą. Taip pat yra atlikta tyrimų, kuriuose minima, kad sumažėjęs pH (tai yra padidėjęs rūgščių kiekis) gali slopinti maistu plintančius patogenus (Allende et al., 2007).

Dažniausiai iš raugų išskirtos PRB priklauso *Lactobacillaceae* šeimai, gramteigiamos, katalazei neigiamos, nesudarančios sporų. Šių bakterijų energijos šaltinis angliavandeniai, o pagrindinis metabolizmo produktas – pieno rūgštis. Svarbiausioms priklauso keletas rūšių skirtingų probiotinių bakterijų, tokių kaip *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Pediococcus* ir kitos, kurios išskiria bakteriocinus ir pasižymi antimikrobinėmis savybėmis (Altuntas et al., 2010; Pot and Tsakalidu, 2009). Bakteriocinai užtikrina fermentuotų augalinių produktų stabilumą, sumažina mikrobinį užteršimą fermentacijos metu, produkto gedimą ir užtikrina ilgesnį realizacijos laiką (Juodeikienė ir kt., 2009).

PRB atsakingos už fermentacijos procesą, nes gamina natūraliems biokonservantams priskiriamus antimikrobinį aktyvumą pasižyminčius

junginius, užtikrinančius produkto saugą ir kokybę. PRB parenkamos pagal pageidaujamą gauti poveikį technologiniam procesui ir gatavo produkto kokybei. Todėl parinkus atitinkamas pradines kultūras, galima pagerinti pieno produktų su PRB augaliniais raugais aromata, reologines ir juslines savybes, taip pat išvengti mikrobiologinio gedimo (Canas et al., 2008). Kuriant naujus saugesnius produktus maisto pramonėje svarbu atrinkti ir įvertinti augalinių raugų fermentuotų skirtingomis PRB veikimo mechanizmą raugintų produktų saugai ir kokybei.

Siekiant atrinkti saugius ir jusliškai priimtinius rauginto pieno produktus vertinome iš raugų išskirtų PRB (*P. pentosaceus* KTU05-9, *P. acidilactici* KTU05-7 ir *L. sakei* KTU05-6) fermentuotų topinambų (*Helianthus tuberosus* L.), lubinų (*Lupinus luteus*), sojos (*Glycine max.*) ir linų sėmenų (*Linum usitatissimum*) augalinių raugų įtaką raugintų produktų kokybės ir saugos rodikliams.

Rūgštingumo kitimas, fermentacijai naudojant PRB parodė, kad rūgštingumo kinetikai pieno riebumo svyravimai (3,2–0,5%) įtakos neturi. Todėl tolimesniems tyrimams buvo pasirinkas vartotojams priimtinausias 3,2% riebumo pienas. Nustatėme, kad mėginiai su *P. pentosaceus*, naudojant KF apdorotus raugus, rūgsta greičiau, negu su TF būdu apdorotais raugais. Kadangi šios bakterijos laktozės neraugina (Landete et al., 2007), rūgimui jos naudoja augaluose esančius angliavandenius - lubinuose, topinambuose - pagrinde inuliną, linų sėmenyse – maistines skaidulas, o sojoje – vandenyje tirpiuosius polisacharidus.

Nustatyta, kad pirmąsias valandas po raugo su *P. pentosaceus* pridėjimo pieno rūgštingumas nedidėjo ar net turėjo tendenciją mažėti. Tai galima paaiškinti tuo, kad topinambai savo sudėtyje turi šarminių druskų. Mes nustatėme, kad ilgėjant fermentacijos laikui pieno produktuose raugintuose su lubinų, sojos ir linų sėmenų raugu pH reikšmės mažėja, pradeda mažėti po 12 valandų, kas fermentuotiems produktams suteikia priimtinas vartotojams juslines savybes. Kartu susidariusios rūgštys slopina nepalankių bakterijų veiklą.

Spalvos koordinatės pieno produktams vienas iš charakteringiausių rodiklių, labiausiai atspindinčių į produktą pridamų priedų įtaką jo spalvos charakteristikoms. Kadangi pienas natūraliai neturi jokio maistinio dažo, todėl buvo vertintos raugintų pieno produktų spalvos koordinatės po 24 val. rauginimo ir nustatyta, kad fermentuotas augalinis raugas daro įtaką raugintų pieno produktų spalvai. Mažiausiai kintantys rodikliai buvo pieno produkto šviesumo koordinatės L^* ir raudonumo koordinatės a^* . Produktų šviesumas priklauso nuo dažančiųjų pigmentų koncentracijos jame ir gali turėti įtakos produkto prekiniam patrauklumui.

Sanchez-Moreno (2006) nustatė, kad spalvos koordinacių įvertinimas yra vienas iš produkto kokybę nusakančių rodiklių, kuris gali būti siejamas su biologiškai aktyvių komponentų stabilumu galutiniame produkte. Mūsų tiriamieji augaliniai raugai pasižymi dideliu antioksidaciniu aktyvumu, funkcinėmis savybėmis. Nustatyta, kad naudojant sojos priedą produktų gamyboje sustiprinamas šviesinimo efektas, nes fermentinėje sistemoje esanti lipoksigenazė katalizuoja nesočiųjų riebalų rūgščių oksidaciją oro deguonimi ir susidarę peroksidai pasižymi dideliu oksidaciniu aktyvumu ir duoda geltoną atspalvį suteikiančius pigmentus (Tivana et al., 2013).

Geltonumo koordinatėms įtakos turėjo pieno produktai su lubinų raugu, (dėl juose esančių baltymų). Lubinų priedas pasižymėjo dideliu antioksidaciniu aktyvumu dėl karotenoidų, tokoferolių ir lecitino sudedamųjų komponentų juose. Mažesnės šviesumo ir raudonumo vertės pieno produktuose gautos su TF būdu fermentuotais augaliniais raugais, todėl galima daryti prielaidą, kad fermentuojant augalus, nuo susidariusių rūgimo metu produktų (rūgščių, alkoholių ir kt.) ji gali šviesėti. Tačiau tam įtakos turi ir augalinės matricos specifika, nes ši tendencija pastebima su topinambų, sojos ir linų sėmenų augaliniais raugais, tačiau nenustatyta su lubinų raugu. Išanalizavus spalvos koordinacių rezultatus galima teigti, kad spalvos tonas priklauso ne tik nuo fermentacijos, bet nuo pasirinkto augalinio produkto pradinės spalvos ir sudėties ($p \leq 0,05$).

Raugintų pieno produktų cheminė sudėtis turi reikšmingos įtakos produkto realizacijai, priimtinumui, energinei ir maistinei vertei. Vis daugiau dėmesio skiriama moksliniams tyrimams ir naujoms technologijoms bei maisto saugos vystymo kryptims, siekiant sukurti mažesnės energinės vertės produktus, pvz., pakeičiant sacharozę alternatyviais ingredientais bei praturtinant gaminius skaidulinėmis medžiagomis. Svarbų vaidmenį fermentuotuose pieno produktuose vaidina angliavandeniai ir baltymai, kurie yra pagrindiniai ir plačiai naudojami kaip sveikatingumo komponentai specialios paskirties žmonių mityboje. Tyrimuose naudoti augaliniai raugai savo chemine sudėtimi rekomenduojami sveiko maisto gamyboje. Lubinai dėl savo specifinių savybių ir cheminės sudėties plačiai naudojami maisto pramonėje ir yra puiki priemonė maistinei vertei didinti, subalansuoti amino rūgščių santykį ir kaip baltymų pakaitalas.

Pagal gautus tyrimo rezultatus nustatyta, kad pieno produktuose su KF fermentuotais augaliniais raugais yra mažesnis kiekis drėgmės, bet didesnis kiekis angliavandenių, laktozės ir didesnė energinė vertė lyginant su pieno produktais pagamintais su TF būdu fermentuotais augaliniais raugais. Produktų maistinei vertei įtakos turėjo raugai su lubinai dėl savo specifinių savybių ir cheminės sudėties, dėl subalansuoto amino rūgščių santykio sojoje ir lubinuose. Mums prieinamoje literatūroje nepavyko aptikti duomenų, kad šie

specifiniai raugai su augalais ir atitinkamomis bakterijomis (*P. pentosaceus* KTU05-9, *P. acidilactici* KTU05-7, *L. sakei* KTU05-6) būtų naudoti pieno produktų gamybai. Todėl savo duomenų negalime palyginti su kitų autorių duomenimis. Tačiau pieno produktai su lubiniais buvo gaminti, Luckow et al. (2005) atlikti tyrimai parodė, kad žinant riebalų kiekį ir siekiant išlaikyti gerą valgomųjų ledų tekstūrą bei užtikrinti geras fizikines chemines ir maistines savybes gali būti vartojamos lubinų skaidulos, kurios neturi neigiamos įtakos produktų kokybei (Aleičikienė ir Miežilienė, 2005).

Fermentacijai naudotos PRB laktozės beveik neskaldo, ką patvirtina ir daugelis literatūros šaltinių (Fox, 2011). *L. sakei* bakterijos laktozės neskaldo, o mitybos terpei naudoja tik gliukozę ir ribozę. Kadangi mėsoje ir žuvies produktuose cukrus greitai suyra, *L. sakei* nukleotidas, adenosinas ir natūraliai organizme sintetinamas nukleozidas inoziną paverčia energijos šaltiniu (Chaillou et al., 2005). Shibby and Mishra (2013) teigia, kad fermentuoti pieno produktai padeda virškinimo procesui, sumažina cholesterolio kiekį kraujyje, rekomenduotini laktozės netoleruojantiems. Barros su bendraautoriais (2001) nustatė, kad *P. acidilactici* gali būti naudojamos, kaip probiotikas daržovių, pieno produktų ir mėsos fermentacijai. Duomenys rodo, kad raugų paruošimui naudotos PRB pieno sudėties rodikliams reikšmingos įtakos neturėjo. Nustatyta, kad tiek visi augalai, tiek fermentacijos būdas turėjo įtakos BTR po 24 val., bendram baltymų ir baltymų kiekiui ($p \leq 0,001$), pH po 24 val., ir laktozei ($p \leq 0,01$).

Nustatyta mūsų tyrimais ir kitų autorių, kad raugai su topinambais didina biologinę vertę, dėl juose esančių biologiškai aktyvių medžiagų. Kiti autoriai teigia, kad topinambai yra labai vertingi savo savita chemine sudėtimi. Danilčenko su bendraautoriais (2008; 2009; 2013) patvirtino, kad šie augalai yra labai maistingi bei jų sudėtyje yra įvairių sveikatą gerinančių komponentų. Fermentuotų augalinių raugų panaudojimas pieno pramonėje padeda sumažinti cholesterolio kiekį, dėl sudėtyje esančio inulino, kuris į kraują lėčiau išsiskiria gliukozę, užkerta širdies ir kraujagyslių ligų vystymąsi (Duranti, 2006), slopina apetitą ir gerina žarnyno veiklą (Lee et al., 2006). Įrodyta, kad fermentuoti produktai, savo sudėtyje turi daugiau mikroelementų, vitaminų, biologiškai aktyvių medžiagų, mažiau kaloringi ir greičiau pasisavinami organizmo (Sarkar and Mishra, 2001). Todėl, maisto produktai, kurių sudėtyje yra šių augalų ar jų produktų, rekomenduojami vartoti diabeto profilaktikai (Gedrovica et al., 2011), nes suteikia produktams savitą skonį, konsistenciją, spalvą, ir funkcinę naudą vartotojams. Nustatyta, kad augalai, PRB ir fermentacijos būdas patikimai įtakojo baltymų ir energinės vertės kiekių skirtumus ($p \leq 0,001$), riebalų ir angliavandenių kiekių skirtumus ($p \leq 0,05$). Augalo rūšis ir PRB įtakojo laktozės ir drėgmės skirtumus ($p \leq 0,001$) tirtuose produktuose.

Raugo kiekis, ypač jo kokybinė sudėtis, rauginant pieno produktus, turi įtakos ne tik rūgimo laikui, bet ir produktų reologinėms savybėms. Ozkan su bendraautoriais (2013) nustatė, kad tekstūros savybės turi įtakos ir raugintų pieno produktų jusliniam priimtinumui. Mūsų tyrimais nustatyta, kad augaliniai raugai fermentuoti su *P. acidilactici* KTU05-7 labiausiai tinka pieno produktų gamyboje ($p \leq 0,05$). Sodini su mokslininkais (2006) patvirtino, kad starterinės raugų kultūros daro reikšmingą įtaką produktų reologinėms savybėms. Nustatyta, kad tekstūros savybėms statistiškai reikšmingos įtakos turėjo fermentacijai naudojami augalai ir fermentacijos būdas ($p \leq 0,001$), bakterijos įtakos neturėjo.

PRB dažniausiai gamina L(+) ir D(-) pieno rūgšties izomerus. D(-) izomeras negali būti metabolizuojamas žmonių virškinamajame trakte, o suvartojus per didelį kiekį, gali sukelti acidozę, t.y., rūgščių ir šarmų pusiausvyros kraujyje sutrikimus. D(-) izomero toksiškumas kelia ypatingą susirūpinimą, nes jis ypač pavojingas nusilpusiems ir sergantiems vaikams (Ewaschuk et al., 2005). Pagal gautus tyrimo rezultatus, D(-) pieno rūgšties daugiau gaminosi mėginiuose fermentuotuose TF būdu su *P. pentosaceus* KTU06-9 bakterijų paderme. Bartkiene su bendraautoriais (2013) nustatė, kad KF būdu fermentuoti augaliniai raugai yra saugesni vartoti produktų gamyboje nei TF būdu, nes susidaro mažesnis nepageidaujamo D(-) pieno rūgšties izomero kiekis. D(-) pieno rūgšties izomerų formavimuisi neigiamą įtaką galėjo turėti pH artimas neutraliam, didelis angliavandenių kiekis ir augalas. Tai patvirtina ir mūsų rezultatai.

PRB taikymas fermentavimui yra efektyvus, nes įterpus PRB jos dominuoja ir mažina tų mikroorganizmų kiekį, kurie sukelia gedimą ir nepageidaujamus oksidacinius procesus. PRB pieno produktų gamyboje keičia ne tik pagrindinius pieno komponentus (laktozę, baltymus, riebalus) į junginius, lemiančius skonines ir aromatines savybes, bet ir jų maistinę, biologinę vertę; skatina traukinančių fermentų veiklą, sinerezę, nes keičia pH reikšmę į sritį, kurioje fermentas geriausiai veikia; sudaro nepalankias sąlygas žalingai mikrobiotai vystytis (Albano ir kt., 2007). Mūsų tyrimais nustatyta, kad fermentacijos būdas ir augalinių raugų pridėjimas nesudarė palankios terpės *Enterobacteriaceae* bakterijoms daugintis. Zhang et al. 2013 patvirtino, kad fermentacija pieno rūgšties bakterijomis slopina patogeninių mikroorganizmų, ypač *Enterobacteriaceae* augimą. Koliforminių bakterijų formavimosi neslopino *P. pentosaceus* KTU05-9 bakterijų kultūra ($p \leq 0,0001$). Shiling Lu su bendraautoriais (2014) nustatė, kad probiotinės kultūros (*Lactobacillus sakei*, *Staphylococcus xylosus*) slopina patogeninių bakterijų augimą, sumažina biogeninių aminių (triptamino, putrescino, kadaverino, histamino ir tiramino) kiekį laikymo metu. Tiramino formavimasis fermentuotose produktuose siejamas mikroorganizmų

dekarboksilinimu (*Lactobacillus*, *Enterococcus*), o putrescino - su *Pseudomonas*, kai kurių *Lactobacillus* ir įvairių *Enterobacteriaceae* šeimos genčių buvimu (Bhardwaj et al., 2010).

Biogeninių aminų susidarymui įtakos turi mikroflora, gamybos technologija, kurie gali suaktyvinti arba sureguliuoti mikroorganizmų dauginimąsi (temperatūra, drėgnis, maisto priedai), todėl tinkamas startinių mikroorganizmų parinkimas ir naudojimas, technologinių parametrų laikymasis, gali būti vieni iš palankiausių prevencinių priemonių, norint sumažinti biogeninių aminų susidarymą produktuose (Bartkienė ir kt., 2013). Tirtuose mėginiuose, pagamintuose su fermentuotais augaliniais raugais, nustatytos skirtingos biogeninių aminų formavimosi tendencijos. Biogeniniai aminai pasižymi sinergetiniu poveikiu ir gali padidinti vienas kito toksiškumą, todėl labai svarbus rodiklis jų suminis kiekis produkte. Mūsų tirtuose mėginiuose biogeniniai aminai neviršijo toksiškomis įvardijamų biogeninių aminų dozių. Didžiausias bendras putrescino (49,85 mg/g), spermidino (165,19 mg/g) ir spermino (140,16 mg/g) kiekis nustatytas pieno produktuose KF būdu fermentuotoje sojoje o TF būdu - kadaverino (190,09 mg/g) ir histamino (68,55 mg/g). Fenitelamino – KF būdu fermentuotose lubinuose (169,57 mg/g), o tiramino – TF būdu fermentuotose topinambuose (80,65 mg/g). Fermentacijai naudojamos kultūros neleidžia pernelyg didėti BA. Pieno produktuose fermentuotuose KF būdu susidaro mažesni suminiai BA kiekiai, tačiau kai kurie augaliniai raugai padidino kai kurių BA formavimąsi. Raugai su topinambais nesuformavo putrescino ir spermidino.

Juslinių tyrimų rezultatai parodė, kad pieno produktams fermentuoti raugai turėjo didelės įtakos jų priimtinumui ir atskiroms savybėms. Pieno produktų priimtumas priklauso ne tik nuo fermentacijos būdo, augalo individualių skoninių savybių, bakterijų ir vartotojo. Priimtinausi produktai buvo fermentuoti TF būdu su sojos ir linų sėmenų raugu (fermentuotų *P. acidilactici* KTU05-7 ir *L. sakei* KTU05-6 bakterijomis). Šių produktų priimtumą galėjo sąlygoti baltymų ir riebalų santykis, ne mažas angliavandenių ir laktozės kiekis.

Priimtumas ypač priklauso nuo pačio augalo skonio. Tirtųjų produktų priimtumas buvo (su fermentuotais topinambais KF būdu - 7,5, TF- 7,0; lubinai KF – 6,0, TF – 5,5; soja KF– 7,5, TF būdu – 8,2; linų sėmenimis – KF – 8,5, TF – 6,0) balus, tai yra didesnis nei vidutinis. Mūsų darbo tikslu nebuvo sukurti naujas technologijas, tačiau vidutinėmis skoninėmis savybėmis pasižyminčius produktus priimta pagardinti, pagerinti, jų juslines savybes, pridedant įvairių prieskonių, CO₂ ekstraktų. Naudoti augalai ir PRB pagerino produktų biologinę vertę, saugą, o juslines savybes galima pagerinti parenkant atitinkamas skonines medžiagas, kas nebuvo mūsų darbo tikslu.

IŠVADOS

1. Didžiausios ybiškės ir medaus krūmo ekstraktų išeigos gautos naudojant poliškus ir vidutinio poliškumo tirpiklius. Liofilizuota ir išpurkšta vandeninė medaus krūmo frakcija turi didesnę bendrą fenolinių junginių kiekį, bet silpnesnę antioksidacinę aktyvumą modelinėse ABTS^{•+}, DPPH[•] ir ORAC sistemose. Medaus krūmo ekstraktuose dominuojantis junginys – hesperitinas, o ybiškės – kvercetas.

2. Kininio cinamono ir kvapiojo baziliko ekstraktai pasižymėjo didesniu bendru fenolinių junginių kiekiu ir stipresnėmis antiradikalinėmis savybėmis modelinėse DPPH[•] ir ABTS^{•+} sistemose nei juoduogio šėivamedžio ekstraktas. Kininio cinamono ekstrakto priedas stabilizavo riebalų oksidaciją, o kiti ekstraktai oksidacijos procesą stabdė nežymiai.

3. Didžiausiu antibakteriniu aktyvumu pasižymėjo ybiškės acetoniniai, etanoliniai ir kininio cinamono ekstraktai. Jautriausios augalų ekstraktų 1% tirpalų poveikiui buvo – *Listeria monocytogenes*, *Klebsiella pneumoniae* ir *Enterococcus faecalis*.

4. Efektyviausiai mielių augimą slopino ybiškės, medaus krūmo acetoniniai, etanoliniai ir kininio cinamono 1% ekstraktų tirpalai (didžiausios slopinimo zonos susidarė, atitinkamai, 16-17 mm, 11-13 mm, 40 mm). Jautriausios tyrimuose naudotiems ekstraktams – *Rhodotorula rubra*, *Pichia kluyveri*. Kininio cinamono ekstraktas slopino mikroskopinių grybų augimą, o kiti ekstraktai slopino nežymiai.

5. Ybiškės ir kininio cinamono ekstraktai galėtų būti naudojami varškės gamyboje kaip natūralūs antimikrobiniai priedai, mažinantys *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* ir *Escherichia coli* KSV/g.

6. Naudojant augalinių priedų (topinambų, lubinų ir linų sėmenų) fermentacijai *Pediococcus acidilactici* KTU05-7 ir *Lactobacillus sakei* KTU05-6 bakterijų padermes produkuojama daugiau L(+) pieno rūgšties izomero. Mažiausias suminis biogeninių aminų kiekis gautas fermentuojant augalinius produktus su *Pediococcus acidilactici* KTU05-7. Rauginto pieno produktai su linų sėmenimis fermentuotais *Lactobacillus sakei* KTU05-6 buvo tvirčiausios tekstūros.

7. Varškė su tiriamaisiais augalų priedais buvo jusliškai priimtina. Medaus krūmo priedai turėjo didžiausios įtakos varškės juslinėms savybėms, dėl stipriai išreikšto malonaus skonio, kvapo, išvaizdos ir antioksidacinių savybių, kurio didina ir produkto funkcionalumą.

REKOMENDACIJOS

1. Maisto pramonės specialistai, remdamasi mūsų atliktais tyrimais, galėtų pritaikyti kvapiojo baziliko, juoduogių šėivamedžio ir kininio cinamono ekstraktų kompozicijas įvairių pieno produktų gamyboje, derinant jų kiekį pagal juslines savybes. Taip produktus praturtindami šėivamedžio biologiškai aktyviomis medžiagomis, cinamono ir baziliko skoninėmis savybėmis bei stipriu antioksidaciniu ir antimikrobiniu aktyvumu.

2. Rekomenduojame praturtinti varškę ir jos produktus įvairias ekstraktais, taip sukuriant naujus ir pajvairinant kitus desertinius varškės gaminius ar konditerijos gaminius su varške. Ybiškėje esantys antocianinai yra ne tik dažai, jie priduoja produktams malonią spalvą, o kitos sudėtinės dalys – malonų rūgštų skonį, pagerinamas šių produktų antioksidacinis ir antimikrobinis aktyvumas. Medaus krūmas dėl savo saldaus medaus skonio ir funkcinių sudedamųjų savybių, ir sudėtyje esančio liuteolino yra stiprus antioksidantas.

3. Norėdami praturtinti pieno produktus sojų, lubinų, linų sėmenų ir topinambų biologiškai aktyviomis medžiagomis ir gaminti saugesnius produktus technologai galėtų kombinuoti (daryti įvairias kompozicijas) iš įprastų liofilizuotų mikroorganizmų kultūrų (raugų) (TF) ir kietafaze fermentacija (KF) fermentuotų augalinių raugų. Taip tikslinga pagerinti produkto juslines savybes, panaudojant ir pritaikant įvairias modelines sistemas ar atskirus geromis juslinėmis savybėmis pasižyminčius augalų ekstraktus.

LITERATŪROS ŠALTINIAI

1. Aguirre L., Portillo M. P., Hijona E., Bujanda L. Effects of resveratrol and other polyphenols in hepatic steatosis. *World J Gastroenterol.* 2014. 20 (23). P. 7366–7380
2. Ajay M., Chai H.J., Mustafa A.M., Gilani A.H. and Mustafa M.R. Mechanisms of the anti-hypertensive effect of *Hibiscus sabdariffa* L. calyces. *J. Ethnopharmacol.* 2007. 109. P. 388-393
3. Akilena R., Tsiamia A, Devendrab D., Robinsonc N. Cinnamon in glycaemic control: Systematic review and meta analysis. *Clinical Nutrition*, 2012, 31 (5), P. 609 –615.
4. Albano H., Todorov S.D., Van Reenen C.A., Hogg T., Dicks L.M.T., Teixeira P. Characterization of two bacteriocins produced by *Pediococcus acidilactici* isolated from “Alheira”, a fermented sausage traditionally produced in Portugal. *Int. J. Food Microbiol.* 2007. 116. P. 239-247.
5. Aleičikienė G., Miežilienė A. Maistinių skaidulų įtaka valgomųjų ledų savybėms. *Maisto chemija ir technologija.* 2005. 39 (1). P. 5-11
6. Al-Jaber N.A., Awaad A.S., Moses J.E. Review on some antioxidant plants growing in Arab world. *Journal of Saudi Chemical Society* 2011; 15: P. 293–307.
7. Allende A., Martinez B., Selma V., Gil M.I., Suarez J.E. Growth and bacteriocin producín by lactic acid bacteria in vegetable broth and their effectiveness at reducing *Listeria monocytogenes* *in vitro* and fresh-cut lettuce. *Food Microbiology.* 2007. 24 (7-8). P. 759-766
8. Alonso A.M., Dominguez C., Guillen D.A., Barroso C.G. Determination of antioxidant power of red and white wines by a new electrochemical method and its correlation with polyphenolic content. *J Agric Food Chem* 2002; 50. P. 3112-3115
9. Altuntas E. G., Cosansu S., Ayhan K. Some growth parameters and antimicrobial activity of a bacteriocin-producing strain *Pediococcus acidilactici*. *International Journal of Food Microbiology.* 2010. 141. P. 28–31.
10. Amin A., Hamza A.A. Oxidative stress mediates drug-induced hepatotoxicity in rats: a possible role of DNA fragmentation. *Toxicology.* 2005. 208(3). P. 367-375.
11. Ani A.E., Diarra B., Dahle U.R., Lekuk C., Yetunde F., Somboro A.M. Identification of *mycobacteria* and other acid fast organisms associated with pulmonary disease. *Asian Pac J Trop Dis.* 2011.1(4). P. 259–262.
12. Anokwuru P., Esiaba I., Ajibaye O., Adesuyi O. Polyphenolic content and antioxidant activity of *Hibiscus sabdariffacalyx*. *Res. J. Med. Plant.* 2011. 5. P. 557-566

13. Arjoon AV, Saylor CV, May M. In Vitro efficacy of antimicrobial extracts against the atypical ruminant pathogen *Mycoplasma mycoides subsp. Capri*. BMC Complementary and Alternative Medicine 2012; 12 P. 169-174.
14. Asakavičiūtė R., Maknickienė Z., Kosychova L., Ragalevičienė V. Pakeistų 1,3,4,5,-tetrahidrato-1,5-benzodiazepin-2-ono darinių poveikis siauralapių lubinų (*Lupinus angustifolius L.*) vystymuisi in vitro. Cheminė technologija. 2014. 1 (65). P. 5-9
15. Atwan Z. W. and Saiwan F. The antibacterial activity of cold aqueous and pigment of *Hibiscus rosa-sinensis* extracts against grampositive and gramnegative bacteria. J.Vet.Res. 2010. 10 (2) P. 109-118.
16. Avancini C, Wiest J.M., Dall’agnol R., Haas J.S., Poser G.L. Antimicrobial Activity of Plants Used in the Prevention and Control of Bovine Mastitis in Southern Brazil. Lat. Am. J. Pharm. 2008. 27 (6). P. 894-899
17. Badescu L, Badulescu O, Badescu M, Ciocoiu M. Mechanism by *Sambucus nigra* Extract Improves BoneMineral Density in Experimental Diabetes. Hindawi Publishing Corporation. 2012. 2013. P. 1-6.
18. Baysal T., Ersus S., and Starmans D. A. J.. Supercritical CO₂ Extraction of β -Carotene and Lycopene from Tomato Paste Waste. J. Agric. Food Chem., 2000, 48 (11), P. 5507–551
19. Bakhtiari E., Hosseini A., Mousavi S. H. Protective effect of *Hibiscus sabdariffa* against serum/glucose deprivation-induced PC12 cells injury. Avicenna J Phytomed. 2015. 5(3). P. 231-237.
20. Balasundram N, Sundram K, Samman S. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: antioxidant activity, occurrence, and potential uses. Food Chem 2006. 99. P. 191-203
21. Baldini M, Danuso F, Turi M, Vannozzi P. Evaluation of new clones of Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus L.*) for inulin and sugar yield from stalks and tubers. Ind. Crop. Prod., 2004. 19(1). P. 25-40.
22. Banso A., Adeyemo S.O. Evaluation of antibacterial properties of tannins isolated from *Dichrostachys cinerea*. Afr J Biotechnol. 2007. 6 (15). P. 1785–1787.
23. Barnes J, Anderson L, Phillipson JD. Herbal medicines third edition. Elder. London Chikago pharmaceutical 2007, P. 237-39.
24. Barros R. R., Carvalho G. S., Peralta J. M., Facklam R. R., Teixeira L. M. Phenotypic and genotypic characterization of *Pediococcus* strains isolated from human clinical sources. Journal of Clinical Microbiology. 2001. 39 (4). P. 1241–1246.
25. Barros, F., Vinhos F., Rodrigues V.T., Barberena F.F.V.A., Fraga C.N., Pessoa E.M., Foster W. and. Menini-Neto L. Orchidaceae. In: Lista de espécies da flora do Brasil.2013.

26. Bartkienė E., Juodeikienė G., Zaborskienė G., Krunglevičiūtė V., Rekštytė T., Skabeikytė E. Biogeninių aminių susidarymas pašarams naudojamuose fermentiniuose augaliniuose produktuose. *Veterinarija ir Zootechnika*. 2013. 63 (85). P. 3-11
27. Bartkienė E., Skabeikytė E., Juodeikienė G., Vidmantienė D., Bašinskienė L., Maruška A., Ragažinskienė O., Krunglevičiūtė V. The use of solid state fermentation for food and feed plant material processing. *Veterinarija ir Zootechnika*. 2014. 66 (88). P. 3-11
28. Bartkienė E., Šernienė L., Juodeikienė G., Drungilas E., Valatkevičienė Ž. The safety, technology and sensory aspects of pasteurized and raw milk treated by solid-state fermented grain extrudates inoculated with certain lactobacilli. *Veterinarija ir Zootechnika*. 2014. 65 (87). P. 3-10
29. Bartoszewski R., Hering A., Marszał M., Stefanowicz Hajduk J., Bartoszevska S., Kapoor N., Kochan K., Ochocka R. Mangiferin Has an Additive Effect on the Apoptotic Properties of Hesperidin in *Cyclopia sp.* Tea Extracts *PLoS One*. 2014. 9(3): P. 921-928.
30. Beasley S.S, Manninen T.J, Saris P.E. Lactic acid bacteria isolated from canine faeces. *J. Appl. Microbiol.* 2006. 101. P. 131–138.
31. Beekwilder J, Jonker H, Meesters P, Hall RD, van der Meer IM, de Vos CHR. Antioxidants in raspberry: on-line analysis links antioxidant activity to a diversity of individual metabolites. *J Agric Food Chem* 2005. 53. P. 3313-3320
32. Bellaloui N., Arnold Bruns H., Hamed K. Abbas, Mengistu A., Daniel K. Fisher, and Reddy K.N. N.Agricultural practices altered soybean seed protein, oil, fatty acids, sugars, and minerals in the Midsouth USA. *Front Plant Sci.* 2015; 6. P. 1-14.
33. Bhardwaj A., Gupta H., Kapila S., Kaur G., Malik R.K. Safety assessment and evaluation of probiotic potential of bacteriocinogenic *Enterococcus faecium* KH 24 strain under in vitro and in vivo conditions. *International Journal of Food Microbiology*. 2010. 141. P. 156–164
34. Byron Burnette, Yang-Xin Fu, and Ralph R. Weichselbaum. The confluence of radiotherapy and immunotherapy. *Front Oncol.* 2012. 2. P. 143-149
35. Borhan U., Tareq H., Sudip P., Tanjir A., Taslima N., and Sohel A. Anti-bacterial activity of the ethanol extracts of *Hibiscus rosa-sinensis* leaves and flowers against clinical isolates of bacteria. *Bangladesh J. Life Sci.*, 2010. 22 (2). P. 65-73.
36. Bouaziz M, Grayer R.J, Simmonds M.S.J., Damak M, Sayadi S. Identification and antioxidant potential of flavonoids and low molecular weight phenols in olive cultivar chemlali growing in Tunisia. *J Agric Food Chem* 2005. 53. P. 236-41.

37. Bravo L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutr Rev* 1998. 56. P. 317-333
38. Buričová L., Réblová Z. Czech medicinal plants as possible sources of antioxidants. *Czech Journal of Food Sciences*. 2008. 26. P. 132–138
39. Burt S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *Int. J. Food Microbiol.* 2004. 94, P. 223–253
40. Cai Y.Z., Luo Q., Sun M. and Corke H. Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. *Life Sci.* 2004. 74. P. 2157–2184
41. Carvalho A., Guedes M., De Souza A., Trevisan M., Lima A., Santos F.V., Rao V., Gastroprotective effect of mangiferin, a xanthonoid from *Mangifera indica*, against gastric injury induced by ethanol and indomethacin in rodents. *Planta Medica* 2007. 73. P. 1372-1376
42. Chacon P.A., Buffo R.A., Holley R.A. Inhibitory effects of microencapsulated allylisothiocyanate (AIT) against *Escherichia coli* O157:H7 in refrigerated, nitrogen packed and finely chopped beef. *International Journal of Food Microbiology*. 2006. 107. P. 231–237
43. Chaillou S., Champomier-Vergès M. C., Cornet M., Crutz-Le Coq A. M., Dudez A. M., Martin V., Beauvils S., Darbon-Rongère E., Bossy R., Loux V., Zagorec M. The complete genome sequence of the meat-borne lactic acid bacterium *Lactobacillus sakei* 23K. *Nature Biotechnology*. 2005. 23 (12). P. 1527–1533.
44. Chandrani D., Lubaina S.Z., Soosamma M. A review of antifungal effect of plant extract vs chemical substances against *malassezia spp.* *International Journal of Pharma and Bio Sciences*. 2012. 3 (3). P. 773-780.
45. Chandrani D., Lubaina S.Z., Soosamma M. A review of antifungal effect of plant extract vs chemical substances against *malassezia spp.* *International Journal of Pharma and Bio Sciences*. 2012. 3 (3). P. 773-780.
46. Chatterjee S.K, Bhattacharjee I, Chandra G. Isolation and identification of bioactive antibacterial components in leaf extracts of *Vangueria spinosa* (Rubiaceae) *Asian Pac J Trop Med*. 2011. 4(1). P. 35–40.
47. Chen C, Zuckerman DM, Brantley S, Sharpe M, Childress K, Hoiczky E, Pendleton AR. *Sambucus nigra* extracts inhibit infectious bronchitis virus at an early point during replication. *BMC Veterinary Research* 2014; P. 10:24.
48. Chiste RC, Mercadante AZ, Gomes A, Fernandes E, Lima JLFC, Bragagnolo N. *In vitro* scavenging capacity of annatto seed extracts against reactive oxygen and nitrogen species. *Food Chem*. 2011. 127. P. 419-26.
49. Christensen K.B., Petersen R.K. Kristiansen K., Christensen L.P. Identification of bioactive compounds from flowers of black elder (*Sambucus nigra* L.) that activate the human peroxisome proliferator - activated receptor (PPAR) gamma. *Phytother Res*. 2010. 2. P.129-32.

50. Ciocoiu M, Serban D, Bădescu L, Tutunaru, D, Bădescu O, Bădescu M. The effects of *Sambucus nigra* extract in experimental arterial hypertension. *Annals of RSCB*. 2010; 15: P. 8791
51. Clark R.L., Johnson S.J. Sensory acceptability of foods with added lupin (*Lupinus angustifolius*) kernel fiber using pre-set criteria. *Journal of Food Science*. 2002. 67. P. 356–362.
52. Claudia I. Gamboa-Gómez, Nuria E. Rocha-Guzmán, J. Alberto Gallegos-Infante, Martha R. Moreno-Jiménez, Blanca D. Vázquez-Cabral, Rubén F. González-Laredo Plants with potential use on obesity and its complications. *EXCLI J*. 2015; 14. P. 809–831.
53. Coetzee G., Marx I.J., Pengilly M., Bushula V.S., Joubert E. and Bloom M. Effect of roibos and honeybush tea extracts against *Botrytis cinerea*. *S. Afr. J. Enol. Vltic.*, 2008. 29 (1), P. 33-38
54. Costa A., Conte A., and Matteo A. Food applications of natural antimicrobial compounds. *Del NobileFront Microbiol*. 2012. 3. P. 287.
55. Cowan, M.M. Plant products as antimicrobial agents. *Clin. Microbiol. Rev.*, 1999. 12. P. 564-582.
56. Dai J., and Mumper J.R. Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules*. 2010. 15. P. 7313-7352.
57. Danesi F., Elementi S., Neri R., Maranesi M., D'Antuono. L. F., Bordoni A. Effect of cultivar on the protection of cardiomyocytes from oxidative stress by essential oils and aqueous extracts of basil (*Ocimum basilicum* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2008, 56 (21), P. 9911 -9917
58. Danilčenko H., Jariene E., Aleknaviciene P., Gajewski M. Quality of Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) tubers in relation to storage conditions. *Not. Bot. Horti Agrobot. Cluj*. 2008. 36 (2), 23–27.
59. Danilčenko H., Jariene E., Gajewski M., Sawica B., Kulaitienė J., Černiauskienė J. Changes in amino acids content in tubers of Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) cultivars during storage. *Acta Sci. Pol. Hortorum Cultus*. 2013. 12 (2). P. 97-105
60. Danilčenko H., Jariene E., Tarasevičienė Ž., Aleknavičienė P., Kulaitienė J., Kita A., Gajewski M., Bliznikas S., Lukšienė Ž. Quality and safety aspects of some new generation food products in Lithuania. *Food Quality and Safety*. Wyd. UP Wrocław., 2009. 55–64
61. de Barros É. A., Broetto F., Bressan F. D., Sartori M. M.P., Costa V.E. Chemical composition and lipoxygenase activity in soybeans (*Glycine max* L. Merr.) submitted to gamma irradiation. *Radiation Physics and Chemistry*. 2014. 98. P. 29-32

62. Dey A SK, Debdulal BB, Sourav CA, Krishnendu BK. Antimicrobial activities of some medicinal plants of West Bengal. *Int J Pharm BioSci*. 2010. 1 (3). P. 1–10.
63. Devasagayam TP, Tilak JC, Boloor KK, Sane KS, Ghaskadbi SS, Lele RD. Free radicals and antioxidants in human health: current status and future prospects. *J Assoc Physicians India* 2004;52:794-804.
64. Di Majo D, La Neve L, La Guardia M, Casuccio A, Giammanco M. The influence of two different pH levels on the antioxidant properties of flavonols, flavan-3-ols, phenolic acids and aldehyde compounds analysed in synthetic wine and in a phosphate buffer. *J Food Compos Anal* 2011. 24. P. 265-9.
65. Divya M.J, Sowmia C, Dhanya K.P, Joona K. Screening of antioxidant, anticancer activity and phytochemicals in methanolic extract of *Hibiscus rosa-sinensis* leaf extract. *Res J Pharmaceut Biol Chem Sci*. 2013. 4. P. 1308-1316.
66. Dixon R.A. and Ferreira D. Genistein. *Phytochemistry*. 2002. 60, P. 205-211.
67. Djeussi, D. E., Noumedem, J. A., Seukep, J. A., Fankam, A. G., Voukeng, I. K., Tankeo, S. B. Antibacterial activities of selected edible plants extracts against multidrug-resistant Gram-negative bacteria. *BMC Complement. Altern. Med*. 2013. 13. P. 164.
68. Djilani A. and Dicko A. The Therapeutic Benefits of Essential Oils. *Nutrition, Well-Being and Health*. 2012. 7. P. 155-179.
69. Dulf FV, Vodnar DC, Dulf EH, Toşa MI.. Total phenolic contents, antioxidant activities, and lipid fractions from berry pomaces obtained by solid-state fermentation of two *Sambucus* species with *Aspergillus niger*. *J Agric Food Chem*. 2015. 63 (13). P. 3489-500.
70. Duranti M. Grain legume proteins and nutraceutical properties. *Fitoterapia*. 2006. 77(2). P. 67-82.
71. El Gharras, H., Polyphenols: food sources, properties and applications - a review. *International Journal of Food Science and Technology*, 2009. 44, 2512 - 2518.
72. Elizabeth A. Mazzio, Karam F. A. Soliman. *In Vitro* Screening for the Tumoricidal Properties of International Medicinal Herbs. *Phytother Res*. 2009. 23 (3). P. 385–398.
73. Eloff JN. Which extractant should be used for the screening and isolation of antimicrobial components from plants? *J Ethnopharmacol*. 1998. 60 (1). P. 1-8.
74. Ewaschuk J.B., Naylor J.M., Zello G.A. d-Lactate in human and ruminant metabolism. *Journal of Nutrition*. 2005. 135. P. 1619–1625

75. Ezeani M.C., Agba M.I., Onyenekwe C.C., Anahalu I., Azikiwe C.C., Unaezeb B.E. Aerobacteriology of laboratories and offices: Evidence of high risk exposure to immune complex formation in Nigeria. *Asian Pac J Trop Dis*. 2011.1(3). P. 131–136.
76. Falade, OS., Otemuyiwa, IO., Oladipo, A., Oyedapo, OO., Akinpelu, BA. and Adewusi, SR. The chemical composition and membrane stability activity of some herbs used in local therapy for anemia. *Journal of Ethnopharmacology*. 2005. 102 (1). P. 15-22.
77. Farrell N, Norris G, Lee SG, Chun OK, Blesso CN. Anthocyanin-rich black elderberry extract improves markers of HDL function and reduces aortic cholesterol in hyperlipidemic mice. *Food Funct*. 2015. 6 (4). P. 1278-87
78. Faten R., Abdel G., El-Elaimy I. *In vitro*, antioxidant and scavenging activities of *Hibiscus rosa sinensis* crude extract. *Journal of applied pharmaceutical science*. 2012. 02 (01). P. 51-58.
79. Fawzi M. M.. Traditional Medicines in Africa: An Appraisal of Ten Potent African Medicinal Plants. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2013. P. 617459
80. Flores K. E., Quinlan M. B. Ethnomedicine of menstruation in rural Dominica, West Indies. *Journal of Ethnopharmacology*. 2014. 1543 (3). P. 624-634
81. Fox O.F. Mammals, milk, molecules and micelles. *Annu. Rev. Food Sci. Technol*. 2011. 2. P. 1–19
82. Friel NP, Hinchcliffe C, Wright VJ. *Sambucus nigra* (Elderberry). *Alternative Medicine Review* 2005; 10: P. 51-54.
83. Fujia C., Xiaohua L., Mengni Y., Zhaopu L., Ling L., Hongbo S. Phenolics and antifungal activities analysis in industrial crop Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) leaves. *Industrial Crops and Products*. 2013. 47. P. 339– 345
84. Fullerton M., Khatiwada J., Johnson J.J., Davis S., Williams L.L. Determination of antimicrobial activity of sorrel (*Hibiscus sabdariffa*) on *Escherichia coli* O157:H7 isolated from food, veterinary and clinical samples. *J. Med Food*. 2011. 14 (9). P. 950-956.
85. Garrett AR, Murray BK, Robison RA, O'Neill KL. Measuring antioxidant capacity using the ORAC and TOSC assays. *Methods Mol Biol* 2010;594:251-62
86. Gauthaman K.K., Saleem M.T., Thanislas P.T., Prabhu V.V., Krishnamoorthy K.K., Devaraj N.S. and Somasundaram J.S. Cardioprotective effect of the *Hibiscus rosa-sinensis* flowers in an oxidative stress model of myocardial ischemic reperfusion injury in rat. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 2006. 6.P. 32.

87. Gauthaman K.K., Saleem M.T., Thanislas P.T., Prabhu V.V., Krishnamoorthy K.K., Devaraj N.S. and Somasundaram J.S. Cardioprotective effect of the *Hibiscus rosa-sinensis* flowers in an oxidative stress model of myocardial ischemic reperfusion injury in rat. BMC Complementary and Alternative Medicine. 2006; 6. P. 32-38.
88. Gedrovica, I. and Karklina, D. Influence of Jerusalem artichoke powder on dough rheological properties. Proceedings of the 6th Baltic Conference on Food Science and Technology; 5-6 May 2011; Jelgava, Latvia, P. 7-12.
89. Gerez, C. L., Torino, M. I., Rollan, G. and Font de Valdez, G. Prevention of bread mould spoilage by using lactic acid bacteria with antifungal properties. Food Control. 2009. 20. P. 144-148.
90. Gezina S. F. W. Gerber, Lizelle T. Fox, Minja Gerber, Jan L. du Preez, Sterna van Zyl, Banie Boneschans, and Jeanetta du Plessis Stability, clinical efficacy, and antioxidant properties of Honeybush extracts in semi-solid formulations. Pharmacogn Mag. 2015. 11 (2). P. 337-351
91. Gilani, A.H., Shah, A.J., Ghayur, M.N., Majeed, K. Pharmacological basis for the use of turmeric in gastrointestinal and respiratory disorders. Life Sciences. 2005. 76, P. 3089–3105
92. Gill A. O., Holley R. A. Mechanisms of bactericidal action of cinnamaldehyde against *Listeria monocytogenes* and of eugenol against *L. monocytogenes* and *Lactobacillus sakei*. Appl. Environ. Microbiol. 2004. 70, P. 5750–5755
93. Gunasekar M, Geemon K, Mariwala SJ. Health benefits of bioactive molecules from spices and aromatic plants. Journal of Spices and Aromatic Crops. 2012. 21. P. 87–101.
94. Halliwell B, Murcia MA, Chirico S, Aruoma OI. Free radicals and antioxidants in food and *in vivo*: what they do and how they work. Crit Rev Food Sci 1995. 35. P. 7-20.
95. Halliwell B. Dietary polyphenols: good, bad, or indifferent for your health? Cardiovasc Res 2007. 73. P. 341-7.
96. Handa S.S., Khanuja S.P.S, Longo G and Rakesh D.D. Extraction Technologies for medicinal and aromatic plants, international centre for science and high technology, Trieste. 2008. 2. P. 21 – 25
97. Hearst C, McCollum G, Nelson D, Ballard LM, Millar BC, Goldsmith CE, Rooney PJ, Loughrey A, Moore JE, Rao JR. Antibacterial activity of elder (*Sambucus nigra* L.) flower or berry against hospital pathogens. Journal of Medicinal Plants Research 2010; 4 (17): P. 1805-1809
98. Heinrich M, Barnes J, Gibbons S. Fundamentals of Pharmacognosy and Phytotherapy. Elsevier Churchill Livingstone. 2004

99. Herbel S., Lauzat B., Nickisch-Rosenegk von M., Kuhn M., Marugaiyan J., Wieler L.H. Species-specific quantification of probiotic *lactobacilli* in yogurt by quantitative real-time PCR. *Journal of Applied Microbiology and Epidemiology*. 2013. 115 (6). P. 7-13
100. Hyoung-Woo Bai, Bao T. Zhu. Myricetin and Quercetin Are Naturally-Occurring Co-substrates of Cyclooxygenases *In Vivo*. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 2010. 82 (1). P. 45
101. Hollman PCH. Evidence for health benefits of plant phenols: local or systemic effects? *J Sci Food Agric* 2001;81. P. 842-52.
102. Hu L., Yu W., Li Y., Prasad N., Tang Z. Antioxidant Activity of Extract and Its Major Constituents from Okra Seed on Rat Hepatocytes Injured by Carbon Tetrachloride. *Biomed Res Int*. 2014. 2014. P. 291-341
103. Hudák O., Girán L., Rácz L., Kiss A., and Csutorás C. development of white lupin based food products *CEFood*. 2012. P. 151.
104. Huiyun K. Reducing health disparities by improving food environments: Recommendations for the healthy food financing initiative. *Michigan Journal of Social Work and Social Welfare*. 2009. 2 (2). P. 107–114.
105. Hussain, A. I., Anwar, F., Sherazi, S. T. H., and Przybylski, R. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of basil (*Ocimum basilicum*) essential oils depends on seasonal variations. *Food Chemistry*. 2008. 108, P. 986–995
106. Yadav K., and Shukla S. Microbiological, physicochemical analysis and sensory evaluation of herbal yogurt. *The Pharma Innovation Journal*. 2014. 3 (10). P. 1-4
107. Yang C.-H., Li R.-X., and Chuang L.-Y. Antioxidant activity of various parts of *Cinnamomum cassia* extracted with different extraction methods. *Molecules*, 2012. 17 (6). P. 7294–7304.
108. Yanishlieva NV, Marinova E, Pokorny J. Natural antioxidants from herbs and spices. *Eur J Lipid Sci Technol* 2006;108. P. 776-93.
109. Imadfidon E.K., Okunrobo O.L. The effects of aqueous extracts of the leaves of *Hibiscus rosa-sinensis* Linn. On renal function in hypertensive rats. *African Journal of Biochemistry Research*. 2010. 4 (2). P. 43-46.
110. Young IS, Woodside JV. Antioxidants in health and disease. *J Clin Pathol* 2001. 54:. P. 176-182
111. Ivanova D., D. Gerova, T. Chervenkov, T. Yankova. Polyphenols and antioxidant capacity of Bulgarian medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*. Volume 96, Issues 1–2, 4 January 2005, P.145–150

- 112.Ivey M., Messel M., Phister T.G. Microbial interactions in food fermentation. Annual review of food science and technology. 2013. 4. P.141-162.
- 113.Ivey M., Messel M., Phister T.G. Microbial interactions in food fermentation. Annual review of food science and technology. 2013. 4. P.141-162.
- 114.Izquierdo Cañas P.M., García Romero E., Gómez Alonso S., Palop Herreros M.L.L. Changes in the aromatic composition of Tempranillo wines during spontaneous malolactic fermentation. Journal of Food Composition and Analysis. 2008. 21 (8). P. 724–730
- 115.Izumi, T., M.K. Piskula, S. Osawa, A. Obata and K. Tobe. Soy isoflavone aglycones are absorbed faster and in higher amounts than their glucosides in humans. J. Nutr., 200.130: P. 1695-1699.
- 116.JagadeeshBabu A., RupaSundari A., Indumathi J., Srujan R. V. N. and Sravanthi M. Study on the antimicrobial activity and minimum inhibitory concentration of essential oils of spices. Vet. World, 2011. 4(7). P. 311-316
- 117.Jarzycka A, Lewińska A, Gancarz R, Wilk KA. Assessment of extracts of *Helichrysum arenarium*, *Crataegus monogyna*, *Sambucus nigra* in photoprotective UVA and UVB; Photostability in cosmetic Emulsions. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology 2013
- 118.Jiang H., Lui G., Mei C., Yu S., Xiao X., Ding Y. Rapid determination of pH in solid-state fermentation of wheat straw by FT-NIR spectroscopy and efficient wavelengths selection. Analytical and Bioanalytical Chemistry. 2012. 404. P. 603–611.
- 119.Jo, Y. H., Seo, G. U., Yuk, H. G., Lee, S. C., Antioxidant and tyrosinase inhibitory activities of methanol extracts from *Magnolia denudata* and *Magnolia denudata* var. *Purpurascens* flowers. Food Research International. 2012. 47 (2). P. 197-200.
- 120.John De Britto A, Herin Sheeba Gracelin D, Azadiracta Indica A. A potential antimicrobial agent against *Xanthomonas campestris*. IJABPT. 2011. 3(2). P. 374–378
- 121.Johnson M, Wesely EG, Kavitha MS, Uma V. Antibacterial activity of leaves and inter-nodal callus extracts of *Mentha arvensis* L. Asian Pac J Trop Med. 2011. 4(3). P. 196–200.
- 122.Joubert E, de Beer D, Hernandez I, Munne-Bosch S. Accumulation of mangiferin, isomangiferin, iriflophenone-3-C-b-glucoside and hesperidin in honeybush (*Cyclopia genistoides* Vent.) in response to harvest time, harvest interval and seed source. Ind Crops Prod. 2014. 56. P. 74–82.
- 123.Joubert E, Joubert ME, Bester C, de Beer D, De Lange JH. Honeybush (*Cyclopia spp.*): from local cottage industry to global markets—the catalytic and supporting role of research. S Afr J Bot. 2011. 77. P. 887–907.

124. Joubert E., Gelderblom W.C.A., Louw A. South African herbal teas to a healthy diet. *Ant. Prod. Commun.* 2008. 119. P. 376-412.
125. Juodeikiene G., Šalomskienė J., Bašinskienė L., Vidmantienė D., Narbutaitė V., Kasnauskytė N. Naujų fermentuotų produktų įtaka kvietinių kepinų mikrobiologiniams rodikliams ir žiedėjimui. *Maisto chemija ir technologija*. 2009. 43 (2). P. 36–46.
126. Juodeikiene G., Šalomskienė J., Eidukonytė D., Vidmantienė D., Narbutaitė V., Vaičiulytė-Funk L. The impact of novel fermented products containing extruded wheat material on the quality of wheat bread. *Food technology -biotechnology*. 2011. 49 P. 502–510
127. Kabuce N, Priede A. Nobanis – Invasive Alien Species Fact Sheet *Sambucus nigra*. European Network on Invasive Alien Species – NOBANIS 2006; P. 1-9
128. Kamara, B.I., Brandt E. V., Ferreira D., Joubert E. Polyphenols from honeybush tea. *Journal Agricultural Food Chemistry*. 2003. 51(13). P. 3874-3879.
129. Kannathasan K., Senthilkumar A., Venkatesalu V. *In vitro* antibacterial potential of some *Vitex* species against human pathogenic bacteria. *Asian Pac J Trop Med*. 2011.4(8). P. 645–648.
130. Karakaş FP, Yildirim A, Turker A. Biological screening of various medicinal plant extracts for antibacterial and antitumor activities. *Turk J Biol* 2012; 36: P. 641-52.
131. Karunakaran K Gauthaman, Mohamed TS Saleem, Peter T Thanislas, Vinoth V Prabhu, Karthikeyan K Krishnamoorthy, Niranjali S Devaraj, and Jayaprakash S Somasundaram. Cardioprotective effect of the *Hibiscus rosa sinensis* flowers in an oxidative stress model of myocardial ischemic reperfusion injury in rat BMC Complement Altern Med. 2006; 6. P. 32.
132. Kazakevich Y, Lobrutto R. HPLC for pharmaceutical scientists. New Jersey: A John Wiley and Sons, Inc.; 2007. p. 15-197
133. Khan Z.A., Naqvi S.A.R., Mukhtar A., Hussain Z., Shahzad S.A., Mansha A., Ahmad M., Zahoor A.F., Bukhari I.H., Janjua M.R.S.A., Mahmood N., Yar M. Antioxidant and antibacterial activities of *Hibiscus Rosa-sinensis* Linn flower extracts. *Pak. J. Pharm. Sci.*, 2014. 27 (3). P. 469-474.
134. Kislichenko VS, Vel'ma VV. Amino-acid composition of flowers, leaves, and extract of *Sambucus nigra* flowers. *Chemistry of Natural Compounds*. 2006; 4. P. 125-6
135. Klimankova E, Holadova K, Hajslova J, Cajka T, Poustka J, Koudela M. Aroma profiles of five basil (*Ocimum basilicum* L.) cultivars grown under conventional and organic conditions. *Food Chem*. 2008;107. P. 464–72

- 136.Koch, E., & Malek, F. A. Standardized extracts from hawthorn leaves and flowers in the treatment of cardiovascular disorders--preclinical and clinical studies. *Planta Med*, 2011. 77(11), 1123-1128.
- 137.Kohajdova Z., Karovičova J., Schnidt Š. Lupin composition and possible use in bakery – a review. *Czech J. Food Sci*. 2011. 29 (3). P. 203-211.
- 138.Kohen R, Nyska A. Oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification. *Toxicol Pathol* 2002. 30. P. 620-50.
- 139.Kokotkiewicz A., Bucinski A., Luczkiewicz M. Xantone, benzophenone and bioflavonoid accumulation in *Cyclopia geniistoides* Vent. (honeybush) shoot cultures grown on membrane rafts and in a temporary immersion system. *Plant Cell Organ Cult*. 2015. 120. P. 373-378
- 140.Kokotkiewicz A., Luczkiewicz M., Kowalski W., Badura A., Piekus N., Bucinski A. Isoflavone production in *Cyclopia subternata* Vogel (honeybush) suspension cultures grown in shake flasks and stirred-tank bioreactor. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2013. 97(19). P. 8467–8477.
- 141.Kokotkiewicz, A., Luczkiewicz M. Honeybush (*Cyclopia* sp.) – A rich source of compounds with high antimutagenic properties. Review. *Fitoterapia*. 2009. 80 (1). P. 3-11
- 142.Korkina LG. Phenylpropanoids as naturally occurring antioxidants: from plant defense to human health. *Cell Mol Biol* 2007;53:15-25.
- 143.Kšonžeková P, Mariychuk R, Eliašová A, Mudroňová D, Csank T, Király J, Marcinčáková D, Pistl J, Tkáčiková L. In vitro study of biological activities of anthocyanin-rich berry extracts on porcine intestinal epithelial cells. *J Sci Food Agric*. 2016. 96 (4). P. 1093-100
- 144.Kumar S, You FM, Duguid S, Booker H, Rowland G, Cloutier S. QTL for fatty acid composition and yield in linseed (*Linum usitatissimum* L.). *Theor Appl Genet*. 2015 128 (5). P. 965-84.
- 145.Kwee E.M., Niemeyer E.D. Variations in phenolic composition and antioxidant properties among 15 basil (*Ocimum basilicum* L.) cultivars. *Food chemistry and biochemistry*. 2011. 111 (2). P. 165-172
- 146.Lagouri V., and Nisteropoulou E. Antioxidant properties of *O. Onites*, *T. Vulgaris* and *O. Basilicum* species grown in greece and their total phenol and rosmarin acid content. *Journal of food Lipids*. 2009. 16 (4). P. 484-498
- 147.Landete, J.M., de Las Rivas, B., Marcobal, A., and Munoz, R. Molecular methods for the detection of biogenic amine-producing bacteria on foods. *Int.J. Food Microbiol*. (2007). 117. P. 258–269.
- 148.Lara-Cabrera, S.I., Alejandre-Melena, N., Medina-Sánchez, E.I., and R. Linding-Cisneros. Genetic diversity in populations of *Lupinus elegans*

- Kunth*, implications for ecological restoration, *Rev. Fitotec. Mex.* 2009. 32, 7
149. Le Roux M, Cronje JC, Burger BV, Joubert E. Characterization of volatiles and aroma-active compounds in honeybush (*Cyclopia subternata*) by GC-MS and GC-O analysis *J Agric Food Chem.* 2012. 14, 60 (10). P. 2657-64.
 150. Le Roux M., Cronje J.C., Burger B.V., Joubert E. Chemical characterization of the constituents of the aroma of honeybush, *Cyclopia intermedia*. *South African Journal of Botany.* 2008. 74 (1). P. 139-143
 151. Le Roux M., Cronje J.C., Joubert E., Burger B.V. Chemical characterization of the constituents of the aroma of honeybush, *Cyclopia genistoides*. *South African Journal of Botany.* 2008. 74 (1), P. 139–143
 152. Lee H.C., Cheng S.S., and Chang S.T. Antifungal property of the essential oils and their constituents from *Cinnamomum Osmophloeum* leaf against tree pathogenic fungi. *Journal of the Science of Food and Agriculture.* 2005. 85, P. 2047-2053
 153. Lee Y.P., Mori T.A. and Sipsas S. Lupin-enriched bread increases satiety and reduces energy intake acutely. *Am. J. Clin. Nutr.* 2006. 84: 975-80
 154. Lee JY, Ristow M, Lin X, White MF, Magnuson MA and Hennighausen L. RIP-Cre revisited, evidence for impairments of pancreaticb-cell function. *Journal of Biological Chemistry.* 2006. 281. P. 2649–2653.
 155. Lin Y.T., Liao J.W., Chang S.T., and Wang S.Y. Antidyslipidemic activity of hot-water extracts from leaves of *Cinnamomum osmophloeum* Kaneh, *Phytochemistry Research.* 2011. 25, P. 1317-1322.
 156. Lin T-L, Lin H-H, Chen C-C, Lin M-C, Chou M-C, Wang C-J. *Hibiscus sabdariffa* extract reduces serum cholesterol in men and women. *Nutrition Research.* 2007. 27. P. 140–145.
 157. Liu RH. Potential synergy of phytochemicals in cancer prevention: mechanism of action. *J Nutr* 2004;134:3479S-3485S
 158. Liu X.B., Jin J., Wang G.H., Herbert S.J. Soybean yield physiology and development of high-yielding practices in Northeast China. *Field Crops Research,* 2008. 105: P. 157–171
 159. Lobo V, Patil A, Phatak A, Chandra N. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacogn rev.* 2010; 4: P. 118-26.
 160. Lonnerdal B. Human milk proteins: key components for the biological activity of human milk. *Advances in experimental medicine and biology.* 2004. 554. P. 11–25.

- 161.Lü JM, Lin PH, Chen C, Chen C. Chemical and molecular mechanisms of antioxidants: Experimental approaches and model systems. *J Cell Mol Med*. 2010; 14: P. 840-60.
- 162.Lu K., Li L., Zheng X., Zhang Z., Mou T., and Hu Z. Quantitative trait loci controlling Cu, Ca, Zn, Mn, and Fe content in rice grains. *J. Genet*. 2008. 87, P. 305–310.
- 163.Luckow T., Sheehan V., Delahunty C., Fitzgerald G. Determinating the odor and flavor characteristics of probiotic, health-promoting ingredients and the effects of repeated exposure on consumer acceptance. *Journal of Food Science*. 2005. 70 (1). P. 53-59
- 164.Ludvikova M., Griga M. Transgenic Flax/Linseed (*Linum usitatissimum* L.) – expectations and reality. *Czech j. genet. Plant breed.*, 2015. 51 (4). P. 123-141.
- 165.Macuvele DL, Sithole GZ, Cesca K, Macuvele SL, Matsinhe JV. Aqueous extracts of Mozambican plants as alternative and environmentally safe acid-base indicators. *Environ Sci Pollut Res Int*. 2016
- 166.Madhumitha G, Saral AM. Preliminary phytochemical analysis, antibacterial, antifungal and anticandidal activities of successive extracts of *Crossandra infundibuliformis*. *Asian Pac J Trop Med*. 2011;4 (3).P. 192–195.
- 167.Maganha E.G., Da costa H.R., Rosa R.M., Pegas H.O.A., Lia de paula R.A.L. and Saffi J. Pharmacological evidences for the extracts and secondary metabolites from plants of the genus *Hibiscus*. *Food Chem*. 2009; 118: 1-10
- 168.*Magnolia denudata* var. *purpurascens* flowers. *Food Research International* 2012. 47 (2). P.197-200.
- 169.Maidala A., Doma U.D. and Egbo L.M. Effects of Different Processing Methods on the Chemical Composition and Antinutritional Factors of Soybean (*Glycine max* (L.) Merrill. *Pakistan Journal of Nutrition*. 2013. 23 (12). P. 1057-1060.
- 170.Mandade R.J., Sreenivas S.A., Sakarkar D.M., Choudhury A. Pharmacological effect of aqueous – ethanolic extract of *Hibiscus rosa sinensis* on volume and acidity of stimulated gastric secretion. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*. 2011. P. 883-888.
- 171.Markey O, McClean CM, Medlow P, Davison GW, Trinick TR, Duly E, Shafat A. Effect of cinnamon on gastric emptying, arterial stiffness, postprandial lipemia, glycemia, and appetite responses to high-fat breakfast. *Cardiovasc Diabetol*. 2011;10. P. 78.
- 172.Marnewick J, Joubert E, Joseph S, Swanevelder S, Swart P, Gelderblom W. Inhibition of tumour promotion in mouse skin by extracts of rooibos (*Aspalathus linearis*) and honeybush (*Cyclopia intermedia*), unique South African herbal teas. *Cancer Lett*. 2005. 224: P. 193–202.

173. Marnewick JL, van der Westhuizen FH, Joubert E, Swanevelder S, Swart P, Gelderblom WC. Chemoprotective properties of rooibos (*Aspalathus linearis*), honeybush (*Cyclopia intermedia*) herbal and green and black (*Camellia sinensis*) teas against cancer promotion induced by fumonisin B1 in rat liver. *Food Chem Toxicol.* 2009. 47(1). P. 220-229.
174. Martin MA, Lassek WD, Gaulin SJ, Evans RW, Woo JG, Geraghty SR, Davidson BS, Morrow AL, Kaplan HS, Gurven MD. Fatty acid composition in the mature milk of Bolivian forager-horticulturalists: controlled comparisons with a US sample. *Matern Child Nutr.* 2012. 8(3). P. 404–418.
175. McKay D.L. and Blumberg J. B. A review of the bioactivity of South African herbal teas: Rooibos (*Aspalathus linearis*) and Honeybush (*Cyclopia intermedia*). *Phytotherapy research.* 2007. 21. P. 1-10
176. McKay, D.L.; Blumberg, J.B. A Review of the Bioactivity of South African Herbal Teas: Rooibos (*Aspalathus linearis*) and Honeybush (*Cyclopia intermedia*). *Phytotherapy Research.* 2007. 21: 1–16.
177. Meriç ZI, Bitis L, Birteksoz-Tan S. Antioxidant, antimicrobial and anticarcinogenic activities of *Sambucus ebulus* L. flowers, fruits and leaves. *Marmara Pharmaceutical Journal* 2014; 18: P. 22-25.
178. Mfenyana C, DeBeer D, Joubert E, Louw A. Selective extraction of *Cyclopia* for enhanced in vitro phytoestrogenicity and benchmarking against commercial phytoestrogen extracts. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2008. 112. P. 74-86.
179. Mira L, Fernandez MT, Santos M, Rocha R, Florencio MH, Jennings KR. Interactions of flavonoids with iron and copper ions: a mechanism for their antioxidant activity. *Free Radic Res* 2002. 36. P. 1199- 1208.
180. Mirnejad R, Jeddi F, Kiani J, Khoobdel M. Etiology of spontaneous bacterial peritonitis and determination of their antibiotic susceptibility patterns in Iran. *Asian Pac J Trop Dis.* 2011;1 (3). P. 116–118.
181. Moroşanu AI, Ciocoiu M, Bădescu L, Bădescu M. Antioxidant effect of Aronia versus Sambucus on murine model with or without arterial hypertension. *Annals of RSCB* 2011; 16: P. 222-26.
182. Mueller, K., Eisner, P., Yoshie-Stark, Y., Nakada, R., Kirchhoff, E. Functional properties and chemical composition of fractionated brown and yellow linseed meal (*Linum usitatissimum*), *J. Food Eng.* 2010. 98 (4), P. 453-460.
183. Munuswamy H., Thirumalai Thirunavukkarasu, Saranya Rajamani, Erusan Kuppan Elumalai, David Ernest. A review on antimicrobial efficacy of some traditional medicinal plants in Tamilnadu. *Journal of Acute Disease.* 2013. 2 (2). P. 99-105

- 184.Muthuswamy S. Rupasinghe H. P. V. and Stratton G. W. Antimicrobial effect of cinnamon bark extract on *E. coli* O 157: H7, *L. innocua* and fresh-cut apple slices. *Journal of Food Safety*, 2008, 28 (4), P. 534 –549
- 185.Nade V.S., Kanhere S.V., Kawale L. A. and Yadav A.V. Cognitive enhancing and antioxidant activity of ethyl acetate soluble fraction of the methanol extract of *Hibiscus rosa sinensis* in scopolamine-induced amnesia. *Indian Pharmacol.*2011;43(2): 137–142.
- 186.Nagarajappa R. B., Mehak S., Archana J. A., Kailash S., Sudhanshu D., Hemasha R., Gayathri. Antimicrobial Effect of *Jasminum grandiflorum* L. and *Hibiscus rosa-sinensis* L. Extracts Against Pathogenic Oral Microorganisms - An *In Vitro* Comparative Study. *Oral Health Prev Dent.* 2015. 13 (4). P 341-348
- 187.Nagpal R., Kumar M., Behare P.V., Jain S., Yadav H. Probiotics, their health benefits and applications for developing healthier foods: A review. *FEMS Microbiology Letters.* 2012. 334 (1). P. 1-15.
- 188.Nath A., Kanti M., Bhattacharjee K. Antimicrobial activity of ethnobotanical plant psidium gyajava. *bioRxiv*2015. P.1-15.
- 189.Nigam P. S. Production of bioactive secondary metabolites. *Biotechnology for Agro-Industrial Residues Utilization.* 1st ed. Netherlands. Springer, 2009. P. 129–145.
- 190.Nohynek L. J., Alakomi H. L., Kähkönen M. P., Heinonen M., Helander K. M., Oksman-Caldentey K. M., Puupponen-Pimiä R. H.. Berry phenolics: Antimicrobial properties and mechanisms of action against severe human pathogens. *Nutrition and Cancer-an International Journal.* 2006. 54. P. 18–32.
- 191.Obboh G. and Shodehinde S.A. Distribution of nutrients, polyphenols and antioxidant activities in the pilei and stipes of some commonly consumed edible mushrooms in Nigeria. *Bull. Chem. Soc. Ethiop.* 2009; 23 (3): 391-398
- 192.Odey M.O., Iwara I.A., Udiba U.U., Johnson J.T., Inekwe U.V., Asenye M.E., Victor O. Preparation of plant extracts from indigenous medicinal plants. *International Journal of Science and Technology.* 2012. 1 (12). P. 1-5.
- 193.Oliveira JS, Porto LA, Estevam CS, Siqueira RS, Alves PB, Niculau ES, et al. Phytochemical screening and anticonvulsant property of *Ocimum basilicum* leaf essential oil. *Bol. Latinoam. Caribe. Plant Med Aromat.* 2009; 8. P. 195–202
- 194.Olivia Ballard, JD, and Ardythe L. Morrow. Human Milk Composition: Nutrients and Bioactive Factors. *Pediatr Clin North Am.* 2013. 60(1). P. 49–74.

- 195.Omar, H. et al. Aporphine alkaloids from the leaves of *Phoebe grandis* (Nees) Mer. (*Lauraceae*) and their cytotoxic and antibacterial activities. *Molecules*. 2013.18. P. 8994-9009
- 196.Ozkan G., Sagdic O., Ozcan M. Inhibition of pathogenic bacteria by essential oils at different concentrations. *International Journal of Food Science of Technology*. 2003. 9. P. 85–88.
- 197.Pali Vikas, Mehta Nandan. Evaluation of Oil Content and Fatty Acid Compositions of Flax (*Linum usitatissimum* L.) Varieties of India. 2014. 6 (9). P. 198-207
- 198.Pan Y., He c., Wang H., Ji X., Wang K. and Lui P. Antioxidant activity of microwave-assisted extract of *Buddleia officinalis* and its major active component. *Food chem*. 2010 ; 121. P. 497-502.
- 199.Pan Y.M., Zhang X.P., Wang H.S., Liang Y., Zhu J.C., Li.H Y., Zhang Z. and Wu Q.M. Antioxidant potential of ethanolic extract of *Polygonum cuspidatum* and application in peanut oil. *Food Chem*.2007. 105. P.1518–1524
- 200.Pan Y.M., Zhu Z.R., Huang Z.L., Wang H.S., Liang Y., Wang K., Lei Q. and Liang M. Characterization and free radical scavenging activities of novel red pigment from *Osmanthus fragrans*’ seeds. *Food Chem*. 2009. 112. P. 909–913.
- 201.Pandey A. Solid state fermentation. *Biochemical Engineering Journal*. 2003. 13. P. 81–84.
- 202.Pandey K.B, Mishra N, Rizvi SI. Protein oxidation biomarkers in plasma of type 2 diabetic patients. *Clin Biochem* 2010;43. P. 508-11.
- 203.Pandey K.B., Rizvi S.I. Anti-oxidative action of resveratrol: Implications for human health. *Arabian Journal of Chemistry*. 2011. 4 (3). P. 293-298
- 204.Park J.E. Fermented characteristic and sensory evaluation of soybean cheese prepared using *Weissella koreensis* isolated from kimchi. *MS Thesis*. Yonsei University, Seoul, Korea. 2009.
- 205.Pengilly M., Joubert E., van Zyl., W.H. Botha, A. Bloom M. Enhancement of eooibos aqueous extract and antioxidant yield with fungal enzymes. *J. Agric. Food Chem*. 2008. 56. P. 4047-4053
- 206.Piccino, S., Boulanger, R., Descroix, F., and Shum Cheong Sing, A. Aromatic composition and potent odorants of the “specialty coffee ”brew“ Bourbon Pointu” correlated to its three trade classifications. *Food Research International*. 2014. 61, P. 264–271.
- 207.Pino, J. A. Odour-active compounds in papaya fruit cv. Red Maradol. *Food Chemistry*. 2014. 146, P. 120–126

208. Ponce A., Roura S. I., Moreira M. Essential oils as biopreservatives: different methods for the technological application in lettuce leaves. *Journal of Food Science*. 2011. 76. P. 34–40.
209. Pot B, Tsakalidou E: Taxonomy and metabolism of *Lactobacillus*. In: Ljungh Å and Wadström T (ed): *Lactobacillus* Molecular Biology. From Genomics to Probiotics. Caister Academic Press, Norfolk, UK, 2009. P. 205.
210. Prasad, K. N., Yang, B., Dong, X., Jiang, G., Zhang, H., Xie, H., and Jiang, Y. Flavonoid contents and antioxidant activities from *Cinnamomum* species, "Innovative Food Science and Emerging Technologies. 2009. 10, P. 627-632.
211. Preethi R., Vimal Devanathan V., and Loganathan M. Antimicrobial and Antioxidant Efficacy of Some Medicinal Plants Against Food Borne Pathogens. *Advances in Biological Research*. 2010. 4 (2). P. 122-125
212. Preťová A., Obert B., Bartošová Z. Flax. In: Pua E.Ch., Davey M.R. (eds): *Transgenic Crops VI. Series: Biotechnology in Agriculture and Forestry*. Heidelberg, Springer: 2007. P. 129–148
213. Prior RL, Cao G. Antioxidant phytochemicals in fruits and vegetables: diet and health implications. *Hortscience* 2000. 35. P. 588-92
214. Puupponen-Pimiä R., Nohynek L., Alakomi H. L., Oksman-Caldentey K. M.. Bioactive berry compounds – novel tools against human pathogens. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2005. 67. P. 8–18.
215. Puupponen-Pimiä R., Nohynek L., Hartmann-Schmidlin S., Kähkönen M., Heinonen M., Maatta-Riihinen K., Oksman-Caldentey K. M.. Berry phenolics selectively inhibit the growth of intestinal pathogens. *Journal of Applied Microbiology*. 2005. 98. P. 991–1000.
216. Puupponen-Pimiä R., Nohynek L., Meier C., Kähkönen M., Heinonen M., Hopia A., Oksman-Caldentey K.-M.. Antimicrobial properties of phenolic compounds from berries. *Journal of Applied Microbiology*. 2001. 90. P. 494–507.
217. Radaelli M, da Silva BP, Weidlich L, Hoehne L, Flach A, da Costa LA, Ethur EM. Antimicrobial activities of six essential oils commonly used as condiments in Brazil against *Clostridium perfringens*. *Braz J Microbiol*. 2016. 6. P. 61-70
218. Radulović NS, Đorđević MR. Chemical composition of the tuber essential oil from *Helianthus tuberosus* L. (Asteraceae). *Chem Biodivers*. 2014. 11(3). P. 427-37.
219. Ragažinskienė O, Rimkienė S, Sasnauskas V. Vaistinių augalų enciklopedija. Kaunas: Lututė; 2005. P. 356-58.
220. Raja RDA, Jeeva S, Prakash JW, Antonisamy JM, Irudayaraj V. Antibacterial activity of selected ethnomedicinal plants from South India. *Asian Pac J Trop Med*. 2011;4 (11). P. 375–378.

- 221.Rajesh K. Joshi. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Ocimum basilicum* L. (sweet basil) from Western Ghats of North West Karnataka, India. *Anc Sci Life*. 2014. 33 (3): P. 151–156.
- 222.Rajwade, A. V., Arora, R. S., Kadoo, N. Y., Harsulkar, A. M., Ghorpade, P. B., and Gupta, V. S. Relatedness of Indian flax genotypes (*Linum usitatissimum* L.): An Inter-Simple Sequence Repeat (ISSR) primer assay. *Mol. Biotechnol*. 2010. 45 , P. 161-170.
- 223.Rakhimov DA, Arifkhodzhaev AO, Mezhlumyan LG, Yuldashev OM, Rozikova UA, Aikhodzhaeva N , Vakil MM Carbohydrates and proteins from *Helianthus tuberosus*. *Chem. Nat. Comp*. 003. 39(3): P. 312- 313.
- 224.Ramya S., Kalaivani T., Rajasekaran C., Jepachanderamohan P., Alaguchamy N., Kalayansundaram M., Jayakumararaj R. Antimicrobial activity of aqueous extracts of bark, root, leaves and fruits of *Terminalia arjuna* wight and arn // *Ethnobotanical Leaflets*. 2008. Vol. 12. P. 1192–1197.
- 225.Rao S., Rasheed A., Bhargavi Ch., Prathusha R. Comparative in vitro study of different antifungal agents on selective pathogenic fungi. *Advance BioTech*. 2013. 13 (1). P. 1-6
- 226.Ribas S.A., Grando R.L., Zago L., Carvajal E., Fierro I.M. Overview of Flaxseed patent applications for the reduction of cholesterol levels. *Recent pat food nutr. Agri*. 2016.
- 227.Rymbai H., Sharma R.R., Srivasta M. Bio-colorants and its implications in health and food industry – a review. *International Journal of PharmaTech Research*, 2011. 3. P. 2228–2244
- 228.Rodrigues M. A., Sousa L., Cabanas J. E., Arrobas M. Tuber yield and leaf mineral composition of Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) grown under different cropping practices. *Spanish Journal of Agricultural Research*. 2007. 5 (4). P. 545-553.
- 229.Rodríguez C. S., Sanromán M. A. Application of solid-state fermentation to food industry: A review. *Journal of Food Engineering*. 2006. 76 (3). P. 291–302.
- 230.Rösen PP, Nawroth G, King W, Möller HJ, Tritschler L and Packer. The role of oxidative stress in the onset and progression of diabetes and its complications: A summary of a Congress Series sponsored by UNESCO-MCBN, the American Diabetes Association and the German Diabetes Society. *Diabetes Metab. Res Rev.*, 2001. 17: 189-212.
- 231.Ruban P, Gajalakshmi K. *In vitro* antibacterial activity of *Hibiscus rosa-sinensis* flower extract against human pathogens. *Asian Pac J Trop Biomed*. 2012. 2(5). P. 399-403.
- 232.Rubilar M., Gutiérrez C., Verdugo M., Shene C., Sineiro J. Flaxseed as a source of functional ingredients. *J. soil. Sci. Plant nutr*. 2010. 10 (3). P. 373-377

233. Ruiz-López, M.A., García-López, P.M., Rodríguez-Macías, R., Zamora-Nátera, J.F., Isaac-Virgen, M.L., and M. Múzquiz. Mexican wild lupines as a source of quinolizidine alkaloids of economic potential, *Polibotanica*. 2010. 29, P. 159-164.
234. Rukayadi Y., Lau K.Y., Zainin N.S., Zakaria M., Arbas F. Screening antimicrobial activity of tropical edible medicinal plant extracts against five Standard microorganisms for natural food preservative. *International Food Research Journal*. 2013. 20 (5). P. 2905-2910
235. Saber A. Sakr, Ashraf Y. Albarakai. Effect of *cinnamon* on cypermethrin-induced nephrotoxicity in albino rats. *International Journal of Advanced Research*. 2014, 2 (7), P. 578-586
236. Sacchetti G., Maietti S., Muzzoli M., Scaglianti M., Manfredini S., Radice M. Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods. *Food Chemistry*. 2005. 91. P. 621–632.
237. Sachdewa A, Khemani LD. Effect of *Hibiscus rosa sinensis* Linn. ethanol flower extract on blood glucose and lipid profile in streptozotocin induced diabetes in rats. *J Ethnopharmacol*. 2003. 89 (1). P. 61-66.
238. Sachin S., Prachi J. Study of antioxidant activity in vitro by aqueous, etanolic and ether extract of *Hibiscus rosa-sinensis* Linn. 2013. 3 (10). P.1-3
239. Sayin I, Cingi C, Oghan F, Baykal B, Ulusoy S. Complementary Therapies in Allergic Rhinitis. Hindawi Publishing Corporation 2013. P. 1-9.
240. Salehzadeh A, Asadpour L, Naeemi AS, Houshmand E. Antimicrobial activity of methanolic extracts of *sambucus ebulus* and *urtica dioica* against clinical isolates of methicillin resistant *staphylococcus aureus*. *Afr j tradit complement altern med*. 2014; 11 (5). P. 38-40.
241. Sanchez-Moreno C., Cano M.P., De Ancos b., Plaza L., Olmedilla B., Granado F., Martin A. Effect of orange juice intake on vitamin C concentrations and biomarkers of antioxidant status in humans. *American Journal of Clinical Nutrition*. 2003.78. P. 454-460
242. Saravanan D., Aparna lakshmi I., Gobinath M., Giriesh kumar B., Priya S., Syamala E., Rahamathbe K. Potentiel antioxidant, hypoglycemic and hypolipidemic effect of leaves of *Hibiscus platanifolius* Linn. *Int J. of Pharmaceautical Science and drug research*. 2011. 3 (3). P. 236-240.
243. Sarkar S., Mishra A. K. Biopreservation of milk and milk products. *Indian Food Industry*. 2001. 20. P. 74–77.
244. Scarafoni A., Ronchi A., Duranti M. A real-time PCR method for the detection and quantification of lupin flour in wheat flour-based matrices. *Food Chemistry*. 2009. 115 P. 1088–1093.
245. Schumacher H., Paulsen H. M., Gau A. E., Link W., Jürgens H. U., Sass O. and Dieterich R. Seed protein amino acid composition of important

- local grain legumes *Lupinus angustifolius* L., *Lupinus luteus* L., *Pisum sativum* L. and *Vicia faba* L. Plant Breeding. 2011. 130 (2). P. 156-164
- 246.Sharma S., Singh R., Rana S. Bioactive peptides:A review. Int. Bioautomation. 2011. 15 (4). P. 223-250.
- 247.Sharma S.K., Agrawal P.R., Sharma B.S., Chadha M.K., Khosla A., Saxena K. Cytotoxic and apoptotic activity of essential oil from *Ocimum viride* towards COLO 205 cells. Food Chem. Toxicol., 2010. 48. P. 336–344
- 248.Sheeladevi S., Ramanathan N. Antibacterial activity of plant essential oils against food borne bacteria. International journal of Pharmaceutical and Biological archives. 2012. 3 (5). P. 1106-1109
- 249.Shewale PB, Patil RA, Hiray YA. Antidepressant-like activity of anthocyanidins from *Hibiscus rosa-sinensis* flowers in tail suspension test and forced swim test. Indian J Pharmacol. 2012 44(4). P. 454-7
- 250.Shiby V. K., Mishra H. N. Fermented milks and products functional foods – a review. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 2013. 53 (5). P. 482–496.
- 251.Shiling L., Caihong J., Xinglian X., Chengjian X., Kaixiong L., Ruihua S. Improved screening procedure for biogenic amine production by lactic acid bacteria and Enterobacteria. Czech J. Food Sci. 2015. 33 (1). P. 19-26
- 252.Singh C, Sharma V, Naik PK, Khandelwal V, Singh H. Green biogenic approach for synthesis of gold and silver nanoparticles using *Zingiber officinale*. Dig. J. Nanomater. Bios. 2011. 6 (2). P. 535-542.
- 253.Singh DV, Gupta MM, Santha Kumar TR, Saikia D, Khanuja SPS. Antibacterial principles from the bark of *Terminalia arjuna*. Curr Sci. 2008; 94 (1). P. 27–29.
- 254.Singh G, Maurya S, De Lampasona MP, Catalan CA. A comparison of chemical, antioxidant and antimicrobial studies of cinnamon leaf and bark volatile oils, oleoresins and their constituents. Food Chem Toxicol. 2007. 45 (9). P. 1650-61.
- 255.Singh P., Kumar R., Sabapathy S. N., and Bawa A. S. Functional and Edible Uses of Soy Protein Products. Comprehensive Review in Food Science and Food Safety. 2008. 7 (1). P. 14-28.
- 256.Singh, A., Sharma, P. K. and Garg, G. Natural products as preservatives. International Journal of Pharmaceutical and Bio Science. 2010. 1. P. 601 – 612.
- 257.Sipsas S. Lupin products – concepts and reality. N J.A. Palta and J.B. Berger (eds). Lupins for Health and Wealth Proceedings of the 12th International Lupin Conference, 14-18 Sept. 2008, Fremantle, Western Australia.

258. Sissing, L., Marnewick, J., de Kock, M., Swanevelder, S., Joubert, E., and Gelderblom, W. Modulating effects of rooibos and honeybush herbal teas on the development of esophageal papillomas in rats. *Nutr. Cancer*. 2011. 63, P. 600–610.
259. Slimestad R, Seljaasen R, Meijer K, Skar SL. Norwegian-grown Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.): morphology and content of sugars and fructo-oligosaccharides in stems and tubers. *J. Sci. Food Agric.*, 2010. 90 (6). P. 956-964.
260. Snoussi M, Dehmani A, Noumi E, Flamini G, Papetti A. Chemical composition and antibiofilm activity of *Petroselinum crispum* and *Ocimum basilicum* essential oils against *Vibrio spp.* strains. *Microb Pathog.* 2016. 90. P. 13-21.
261. Sodini, I., J. Mattas and P.S. Tong. Influence of pH and heat treatment of whey on the functional properties of whey protein concentrates in Yoghurt. *Int. Dairy J.* 2006. 16. P. 1464-1469.
262. Soluble Cinnamon Extract on Body Composition and Features of the Metabolic Syndrome in Pre-Diabetic Men and Women. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*, 2006, 3 (2), P. 45 –53
263. Stanner SA, Hughes J, Kelly CN, Buttriss J. A review of the epidemiological evidence for the 'antioxidant hypothesis'. *Public Health Nutr* 2004;7: 407-22
264. Stoilova I., Wilker M., Stoyanova A., Krastanov A., Stanchev V. Antioxidant activity of extract from elder flower (*Sambucus nigra* L.). *Kerva polonika*. 2007. 53 (1) P. 45-54
265. Suanarunsawat T., Ayutthaya W. D., Songsak T., Thirawarapan S., Pongshompoo S.. Lipid-lowering and antioxidative activities of aqueous extracts of *Ocimum sanctum* L. leaves in rats fed with a high-cholesterol diet. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2011, P. 801 –811
266. Subramaniam, S., Subramaniam, R., Rajapandian, S., Uthrapathi, S., Gnanamanickam, V. R., and Dubey, G. P. (2011). Anti-Atherogenic Activity of Ethanolic Fraction of *Terminalia arjuna* Bark on Hypercholesterolemic Rabbits. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2011, 487916
267. Sukumaran S, Kiruba S, Mahesh M, Nisha SR, Miller PZ, Ben CP, et al. Phytochemical constituents and antibacterial efficacy of the flowers of *Peltophorum pterocarpum* (DC.) Baker ex Heyne. *Asian Pac J Trop Med*. 2011;4 (9). P. 735–738.
268. Sultanbawa Y. Plant antimicrobials in food applications: Minireview. *Formatex. Scienses against microbial pathogens: communicating current research and technological advances*. 2011. P. 1084-1093

269. Surveswaran S, Cai Y-Z, Corke H, Sun M. Systematic evaluation of natural phenolic antioxidants from 133 Indian medicinal plants. *Food Chem* 2007;102:938-53.
270. Tahseen MA, Mishra G. Ethnobotany and Diuretic Activity of Some Selected Indian Medicinal Plants: A Scientific Review. *The Pharma Innovation – Journal* 2013; 2. P. 109-21.
271. Tayel A.A, Hussein H, Sorour N.M, El-Tras W.F. Foodborne Pathogens Prevention and Sensory Attributes Enhancement in Processed Cheese via Flavoring with Plant Extracts. *J Food Sci.* 2015. 80 (12).P. 886-891.
272. Tassoni A, Bagni N, Ferri M, Franceschetti M, Khomutov A, Marques MP, Fiuza SM, Simonian AR, Serafini FD. *Helianthus tuberosus* and polyamine research: Past and recent applications of a classical growth model. *Plant Physiol. Bioch.*, 2010. 48 (7). P. 496-505.
273. Tawaha K, Alali FQ, Gharaibeh M, Mohammad M, El-Elmat T. Antioxidant activity and total phenolic content of selected Jordanian plant species. *Food Chem.* 2007;104:1372-8
274. Theron K.A., Muller M., van der Rijst M., Cronje J.C., leRoux M., Joubert E. Sensory profiling of honeybush tea (*Cyclopia species*) and the development of a honeybush sensory wheel. 2014. 66. P. 12-22
275. Tille P. Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology. *Staphylococcus, Micrococcus, and Similar Organisms.* 13th ed.; 2013. P. 230-33.
276. Tivana L.D., Dejmek P., Bergenstahl B. Effect of pH and soybean flour heat treatment on the texture and colour of fortified roasted shredded cassava roots (*garri*). *Biomedical Starch Research.* 2013. 65 (7-8). P. 628–636
277. Tiwari V., Roy R., and Tiwari M. Antimicrobial active herbal compounds against *Acinetobacter baumannii* and other pathogens. *Frontiers in microbiology.* 2015.6. P. 1-11
278. Uddin B., Tareq H., Sudip P., Tanjir A., Taslima N. and Sohel A. Antibacterial activity of the ethanol extracts of *Hibiscus rosa-sinensis* leaves and flowers against clinical isolated of bacteria. *Bangladesh J. Life Science.* 2010. 22 (2) P. 65-73
279. Ulbricht C, Basch E, Cheung L, Goldberg H, Hammerness P, Isaac R, Khalsa KP, Romm A, Rychlik I, Varghese M, Weissner W, Windsor RC, Wortley J. An Evidence-Based Systematic Review of Elderberry and Elderflower (*Sambucus nigra*) by the Natural Standard Research Collaboration. *Journal of Dietary Supplements* 2014; 11(1). P. 80–120
280. Umar A., Imam G., Yimin W., et al. Antihypertensive effects of *Ocimum basilicum* L. (OBL) on blood pressure in renovascular hypertensive rats. *Hypertension Research*, 2010. 33(7), P. 727 -730.

- 281.Unlu M., Ergene E., Vardar Unlu G., Sivas Zeytinoglu H., Vural N. Composition, antimicrobial activity and *in vitro* cytotoxicity of essential oil from *Cinnamomum zeylanicum* Blume (*Lauraceae*). Food and Chemical Toxicology. 2010. 48 (11). P. 3274-3280
- 282.Vardapetyan H., Tiratsuyan S., Hovhannisyan A. Antioxidant and antibacterial activities of selected armenian medicinal plants. Journal of experimental biology and agricultural sciences. 2014.(3). P. 300-307.
- 283.Verhoog NJ, Joubert E, Louw A. Evaluation of the phytoestrogenic activity of *Cyclopia genistoides* (honeybush) methanol extracts and relevant polyphenols. J Agric Food Chem. 2007. 55: 4371-4381
- 284.Vidmantienė D., Juodeikienė G. Kai kurie biologiniai grūdinės žaliavos fermentacijos procesų inhibitoriai ir jų vertinimo aspektai. Kaunas. 2012. P.1-120
- 285.Vidmantienė D., Juodeikienė G. Kai kurie biologiniai grūdinės žaliavos fermentacijos procesų inhibitoriai ir jų vertinimo aspektai. Kaunas. 2012. P.1-120
- 286.Villa-Ruano N., Pacheco-Hernandez Y., Rubio-Rosas E., Ruiz-Gonzalez N., Cruz-Duran R., Lozoya-Gloria E., Zutita-Vasquez G. and Franco-Monsereal J. Alkaloid profile, antibacterial and allelopathic activities of *Lupinus Jaimehintoniana* B.L. Turner (*Fabaceae*). Arch. Biol. Sci 2012. 64 (3). P. 1065-10
- 287.Vlase L, Benedec D, Hanganu D, Damian G, Csillag I, Sevastre B, Mot AC, Silaghi Dumitrescu R and Tilea I. Evaluation of antioxidant and antimicrobial activities and phenolic profile for *Hyssopus officinalis*, *Ocimum basilicum* and *Teucrium chamaedrys*. Molecules, 2014. 19 (5). P. 5490-5507.
- 288.Voon H.C., Bhat R., Gulam R. Flower extracts and their essential oils as potential antimicrobial agents. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 2012. 11 P. 34–55
- 289.Voon, H.C., Bhat, R., Gulam, R., Flower extracts and their essential oils as potential antimicrobial agents. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. 2012. 11, P. 34–55
- 290.Vundać V.B., Brantner H.A. and Plazibat M. Content of polyphenolic constituents and antioxidant activity of some Stachys taxa. Food Chem. 2007; 104. P. 1277–1288
- 291.Vuorela, S., Kreander, K., Karonen, M., Nieminen, R., Hamalainen, M., Galkin, A., Laitinen, L., Salminen, J.P., Moilanen, E., Pihlaja, K., Vuorela, H., Vuorela, P., Heinonen, M. Preclinical evaluation of rapeseed, raspberry and pine bark phenolics for health related effects. J. Agric. Food Chem. 2005. 53. P. 5922-5931
- 292.Wang CJ, Wang JM, Lin WL, Chu CY, Chou FP, Tseng TH. Protective effect of *Hibiscus anthocyanins* against tert – butyl hydroperoxide

– induced hepatic toxicity in rats. Food Chem. Toxicol. 2000. 38 (5). P. 411 – 416

293. Wang Q. and Cantwell M. Quality Changes and Respiration Rates of Fresh-Cut Sunchoke Tubers (*Helianthus tuberosus* L.). Journal of Food Processing and Preservation. 2015. 39 (6). P. 634-644.

294. Wang, B., Li, D., Wang, L. J., Huang, Z. G., Zhang, L., Chen, X. D., & Mao, Z. H. Effect of moisture content on the physical properties of fibered flaxseed. Int. J. Food Eng., 2007. 3(5), P. 1-11.

295. Wendakoon C. Evaluation of Selected Medicinal Plants Extracted in Different Ethanol Concentrations for Antibacterial Activity against Human Pathogens. Journal of Medicinally Active Plants. 2012. 1 (2). P. 60-68

296. Werlein H., Kutemeyer C., Schhatton G., Hubbermann E.M., Schawrz K. Influence of elderberry and blackcurrant concentrates on the growth of microorganisms. Food Control. 2005. 16. P. 729-733

297. Wiesław Sobotka, Maria Stanek, Jacek Bogusz. Evaluation of the Nutritional Value of Yellow (*Lupinus Luteus*) and Blue Lupine (*Lupinus Angustifolius*) Cultivars as Protein Sources in Rats. Ann. Anim. Sci. 2016. 16 (1). P. 197-207

298. Wiseman H, O'Reilly JD, Adlercreutz H, Mallet AI, Bowey EA, Rowland IR, and Sanders TA. Isoflavone phytoestrogens consumed in soy decrease F(2)-isoprostane concentrations and increase resistance of low-density lipoprotein to oxidation in humans. Am J Clin Nutr. 2000. 72, P.395-400.

299. Wojdylo A, Oszmianski J, Czemerys R. Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. Food Chem 2007;105:940-9.

300. Wong Y. H., Lau H. W., Tan C. P., Long K., Nyam K.L. Binary solvent extraction system and extraction time effects on phenolic antioxidants from kenaf seeds (*Hibiscus cannabinus* L.) extracted by a pulsed ultrasonic-assisted extraction. Science world journal. 2014. P. 1-7

301. Wootton-Beard PC, Moran A, Ryan L. Stability of the total antioxidant capacity and total polyphenol content of 23 commercially available vegetable juices before and after in vitro digestion measured 112 by FRAP, DPPH, ABTS and Folin–Ciocalteu methods. Food Res Int 2011;44. P. 217-24.

302. Wu L; Tang T., Zhou R., Shi S. PCR-mediated Recombination of the Amplification Products of the *Hibiscus tiliaceus* Cytosolic Glyceraldehyde-3-phosphate Dehydrogenase Gene. 2007. 40 (2). P.172-179.

303. Wu, X., L. Gu, R.L. Prior, and S. McKay. Characterization of anthocyanins and proanthocyanins in some cultivars of Ribes, Aronia, and Sambucus and their antioxidant capacity. J. Agr. Food Chem. 2004. 52. P. 7846–7856.

- 304.Xiao Y. M., Zhang L. H., Shao H. B., Xu G., Feng Zhang, Tai N. F. and M. Brestic. Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus*), a medicinal salt-resistant plant has high adaptability and multiple-use values *Review*. Journal of Medicinal Plants Research 2011. 5(8), P. 1272-1279,
- 305.Xue X., Liu A., Hua X. Proline accumulation and transcriptional regulation of proline biosynthesis and degradation in *Brassica napus*. BMB Rep. 2009. 42, 28–34
- 306.Zahra S. Ahmed and Ahmed M.S. Hussein. Utilization of *Cinnamon* and Orange Extracts to Improve the Microbial Quality and Shelf Life of Sponge Cakes. Australian Journal of Basic and Applied Sciences. 2012. 6(8). P. 665-672
- 307.Zannini E., Miller J.J., Renzetti S., and Arendt K. E. Functional Replacements for Gluten. Annual review of Food science and technology. 2012. 3. P. 227-245
- 308.Zhang T., Pan Y., Li B. Molecular cloning and antimicrobial activity of enterolysin A and helveticin J of bacteriolysin from metagenome of Chinese traditional fermented foods. Food Vontrol. 2013. 31 (2). P. 499-507
- 309.Ziegenfuss T. N., Hofheins J. E., Mendel R. W., Landis J. and. Anderson R. A. Effects of a Water

PASKELBTOS PUBLIKACIJOS DISERTACIJOS TEMA

Šlapkauskaitė J., Sekmokienė D., Bartkienė E., Juodeikienė G., Vidmantienė D., Barčauskaitė K., Garmienė G. „Kietafaze ir tradicine fermentacija apdorotų *Helianthus tuberosus* L. įtaka raugintų pieno produktų kokybei“ Maisto chemija ir technologija. 2013. 47:2, 83-89.

Šlapkauskaitė J., Kabašinskiienė A., Šlapkauskas A., Sekmokienė D. „Augalų ekstraktų ir eterinių aliejų antimikrobinio aktyvumo panaudojimas maisto pramonėje (apžvalga)“ Maisto chemija ir technologija. 2014. 48:2, 93-104.

Šlapkauskaitė J., Sekmokienė D., Kabašinskiienė A., Bartkienė E., Juodeikienė G., Šarkinas A. „Influence of lactic acid bacteria fermented *Helianthus tuberosus* L. and *Lupinus luteus* on quality of milk products“ CyTA Journal of Food. 2016. 14:3. 1-7.

KITOS PASKELBTOS PUBLIKACIJOS

Kabašinskiienė A., Liutkevičius A., Sekmokienė D., Zaborskienė G., Šlapkauskaitė J. "Evaluation of the physicochemical parameters of functional whey beverages" Food Technology and Biotechnology. 2015. 53(1):110-115.

DALYVAVIMAS KONFERENCIJOSE

Tarptautinės konferencijos:

1. 7th Baltic Conference on Food Science and Technology "Innovations for food science and product" Foodbalt 2012, Lietuva, Kaunas, Gegužės 17-18 d. Konferencijos metu pristatytas standinis pranešimas tema: **"The impact of fermented plants with lactic acid bacteria strains on the milk fermentation process"**

2. 18th international scientific conference of Humans and Nature safety, Kaunas, Lietuva, 2012 Gegužės 16-17 d. Konferencijos metu pristatytas standinis pranešimas tema: **„Rauginimo proceso ypatumai naudojant specialius raugus su *Helianthus tuberosus* L. ir *Lupinus luteus*“**

3. 9th Baltic Conference on Food Science and Technology "Food for consumer well-being" Foodbalt 2014 Gegužės 8-9, Jelgava, Latvija. Konferencijos metu pristatytas standinis pranešimas tema: **"Chemical and sensory properties of ricotta cheese"**

4. 20th Humans and Nature safety, Kaunas, Lietuva, 2014 Gegužės 07-09. Konferencijos metu pristatytas standinis pranešimas tema: **"Pienarūgštėmis bakterijomis apdorotų augalų panaudojimo galimybės pieno produktų vertei didinti"**

5. 2st International Conference on Agriculture and Food: Borgo, Bulgaria, 2014 Birželio 05-09. Konferencijos metu pristatytas standinis pranešimas tema: **"Production and characterization of cheese enriched with high biological value plants"**

6. 10th Baltic Conference on Food Science and Technology "Future Food: Innovations, Science and Technology" Foodbalt 2015, Kaunas, Lietuva, Gegužės 15–17. Konferencijos metu pristatytas standinis pranešimas tema: **„In vitro antibacterial and antioxidant activity of *Cyclopia intermerdia* and *Hibiscus rosa-sinensis* L. extract“**

7. 5th International Conference of PhD Students, Multidirectional research in agriculture and forestry, Krokua, Lenkija, 2015 Kovo 21-22. Konferencijos metu pristatytas standinis pranešimas, specialioje stendinių pranešimų diskusijų grupėje, tema: **„Antioxidant and antimicrobial properties of aqueous extracts against foodborne pathogens“**

8. 21th tarptautinės mokslinės-praktinės konferencijos programa Humans and Nature Safety, Kaunas, Lietuva. 2015 Gegužės 06–07. Konferencijos metu pristatytas standinis pranešimas, tema: **„Augalų ekstraktų įtaka varškės sūrių kokybės rodikliams“**

9. 21th tarptautinės mokslinės-praktinės konferencijos programa Humans and Nature Safety, Kaunas, Lietuva. 2015 Gegužės 06–07. Konferencijos metu pristatytas standinis pranešimas, tema: **„Technologinių parametru įtaka išrūgoms praturtintoms augalų ekstraktais,“**

10. VI International conference on Environmental, Industrial and Applied Microbiology – BioMicroWorld, Barselona, Ispanija, 2015 Spalio 28-30. **„Evaluation of antimicrobial activity of different solvents extracts of *Hibiscus rosa-sinensis* L. and *Cyclopia intermerdia*“**

11. IDF Pasaulinis pienininkystės kongresas – Tvarios pienininkystės svarba tenkinant mitybos poreikius. Vilnius, Lietuva, 2015 Rugsėjo 20-24. **„Impact of antimicrobial properties of essential oils on curd-type cheese quality“.**

Nacionalinės konferencijos:

1. 2-oji Jaunesniųjų mokslininkų konferencija: Jaunieji mokslininkai - žemės ūkio pažangai, Vilnius, Lietuva, 2013 Lapkričio 21. Konferencijos metu pristaciau žodinį pranešimą tema: **"Kietafazės fermentacijos būdu gautų raugų įtaka raugintų pieno produktų kokybei,“**

2. 3-oji Jaunesniųjų mokslininkų konferencija: Jaunieji mokslininkai - žemės ūkio pažangai, Vilnius, Lietuva, 2014 Lapkričio 06. Konferencijos metu pristaciau žodinį pranešimą tema: "**Augalinių ekstraktų *Cyclopia intermedia* ir *Hibiscus rosa-sinensis* antimikrobinės ir antioksidacinės savybės**"

Kietafaze ir tradicine fermentacija apdorotų *Helianthus tuberosus* L. įtaka raugintų pieno produktų kokybei

Jūratė Šlapkauskaitė, Dalia Sekmokienė, Elena Bartkienė

Lietuvos sveikatos mokslų universiteto Veterinarijos akademija, Tilžės g. 18, LT-47181 Kaunas; tel. (8-37) 362688; el. paštas elena.bartkiene@jva.lt

Grażina Juodeikienė, Daiva Vidmantienė

KTU Maisto produktų technologijos katedra, Radvilėnų pl. 19, LT-50254 Kaunas; tel. (8-37) 456557; el. paštas grazina.juodeikiene@ktu.lt

Karolina Barčauskaitė, Galina Garmienė

KTU Maisto institutas, Taikos pr. 92, LT-51180 Kaunas; tel. (8-37) 312540; el. paštas testlab@imai.lt

Darbo tikslas buvo įvertinti tradicine (TF) ir kietafaze fermentacija (KF) skirtingomis pienarūgštimis bakterijomis (PRB) (*Pediococcus pentosaceus*, *Pediococcus acidilactici*, *Lactobacillus sakei*) apdorotų topinambų (*Helianthus tuberosus* L.) įtaką pieno rūgimo proceso savybėms, raugintų pieno produktų kokybei bei maistinei vertei.

Ekspimento metu ištirtas rauginto pieno rūgštingumas (pH), bendras titruojamasis rūgštingumas (BTR), PRB kolonijas sudarančių vienetų skaičius (KSV/g) sutraukioje, sutraukios sineretinės, juslinės savybės bei maistinė vertė. Taip pat nustatytas laktozės kiekis pieno produktuose po 24 h rauginimo.

Nustatyta, kad pieno produktų su TF bei KF apdorotais *Helianthus tuberosus* L. produktais rūgštingumo kinetika kito paklaidų ribose, nepriklausomai nuo fermentuotų produktų gamybos technologijos. Naudojant TF ir KF skirtingomis PRB apdorotus *Helianthus tuberosus* L. pieno rauginimui, bendras rūgštingumas didėja nepakankamai intensyviai (pienas per 12 h nuo užraugimo nesurūgsta), laktozės kiekis nepakinta (siekia nuo 4,6 iki 7,0 %), gautų produktų juslinis priimtumas yra mažas (3,5–5,5 balai iš 10-ties).

Tačiau, siekiant padidinti raugintų pieno produktų maistinę ir funkcionaliąją vertę, *P. pentosaceus*, *P. acidilactici* ir *L. sakei* TF ir KF apdorotų *Helianthus tuberosus* L. produktai gali būti dedami į pieno produktus po jų surauginimo tradiciniais, raugintų pieno produktų gamyboje naudojamais, raugais.

Raktažodžiai: fermentacija, pieno rūgšties bakterijos, pieno rūgimas, *Helianthus tuberosus* L.

Įvadas

Fermentacija yra vienas pagrindinių maisto produktų perdirbimo biotechnologinių veiksnių. Besivystant biotechnologijų mokslui stengiamasi atsisakyti sintetinių maisto priedų ir juos pakeisti natūraliais. Fermentacijos procesas unikalus tuo, kad galima parinkti žmogui naudingiausią fermentuojamą substratą (mūsų darbe – augalinę kultūrą, turinčią savo sudėtyje prebiotikų – inulino (*Helianthus tuberosus* L.), unikalesnes bakterijas, kurios išskiria fermentus, gaminančius iš angliavandenių įvairias rūgštis, aromatinius junginius bei gleives; taip pat parinkti tokį fermentacijos būdą, kuris pasižymėtų maksimaliu fermentų išskyrimu, jų glikolitiniu, proteolitinu aktyvumu. Tai leistų sukurti naujos kartos produktus, turinčius maksimalų kiekį biologiškai aktyvių junginių [1, 2].

Fermentacijos procesas gali būti vykdomas taikant kelias technologines schemas: tradicinę fermentaciją skystoje fazėje, kuri yra pagrįsta mikroorganizmų augimu skystyje, ir kietafazę fermentaciją, kuri susideda iš mikroorganizmų augimo ir produktų susidarymo ant kietų dalelių savo substrate, kuriame yra pakankamas drėgmės kiekis mikroorganizmų vystymuisi ir medžiagų apykaitai [3]. Kietafazė fermentacija sulaukia vis didesnio susidomėjimo, nes atlikti tyrimai rodo, kad jos taikymas gali įtakoti geresnes produkto savybes, ilgesnį realizacijos laiką, mažesnius gamybos kaštus palyginus su tradicine fermentacija [4, 5].

Pieno rūgšties bakterijoms priklauso keletas rūšių skirtingų probiotinių bakterijų, tokių kaip *Lactobacillus*, *Lactococcus* ir kitos, kurios išskiria bakteriocinus ir pasižymi antimikrobinėmis savybėmis [6]. Bakteriocinai užtikrina fermentuotų augalinių produktų stabilumą, sumažina mikrobinių

užtersimą fermentacijos metu, produkto gedimą ir užtikrina ilgesnį realizacijos laiką [7].

Kietafazė fermentacija – tai paprastas fermentacijos procesas, kurio metu vyraujantys mikroorganizmai auga ant kietųjų dalelių substrate, naudojant minimalų kiekį vandens, kaip mitybinių medžiagų šaltinį panaudodami jame ištirpusias *Helianthus tuberosus* L. maistines medžiagas ir turėdami labai mažai drėgmės dauginimuisi „ekstremaliomis“ sąlygomis išskiria papildomus fermentų kiekius [1]. Kietafazės fermentacijos metu skatinamas pienarūgščių bakterijų augimas, mažėja mielių, pelėsių grybų, kitų nepageidaujamų mikroorganizmų vystymasis [2].

Pienas – produktas, gausus maistinių junginių, kurie technologiniu požiūriu gali būti įvairiai pakeisti, kad duotų geriausią naudą vartotojams. Pavyzdžiui, į raugą pridėjus proteolitinį fermentą, gauname virš trisdešimt įvairių biologškai aktyvių peptidų [8]. Nauji, tarp jų sveikesni pieno produktai, medicinos ekspertų, dietologų, technologų ir mikrobiologų nuomone turėtų būti naudojami ne vien gydymui, bet ir kasdieniniam vartojimui [9].

Fermentuoti pieno produktai, savo sudėtyje turintys probiotinių bakterijų, gali prevenciškai veikti onkologines ligas [10].

Topinambai (*Helianthus tuberosus* L.) arba bulvinė saulėgrąža – aštrinių šeimos šiltųjų kraštų augalas. Topinambų šakniagumbiuose gausu sausųjų medžiagų, kurių pagrindinę dalį sudaro angliavandeniai, iš jų net 70–90 % inulinas ir jo dariniai fruktooligosacharidai, gliukozė, fruktozė ir sacharozė. Taip pat gausu vitaminų – kalcio, kalio, fosforo, geležies, cinko ir šiek tiek mažiau magnio, natrio, vario ir mangano [11].

Išauginta žaliava tinka naudoti biokuro pramonei, o šakniagumbiai, kaip netradicinė žaliava, naujų maisto produktų gamybai [12, 13].

Inulinas atrankiai stimuliuoja naudingų bakterijų augimą, todėl visuotinai pripažintas kaip prebiotikas. Prebiotikai yra įvardijami kaip ingredientai, gerinantys žarnyno mikrofloros veiklą ir tuo būdu žmonių savijautą bei sveikatą [14]. Dėl šių pagrindinių priežasčių topinambų kaip fermentuotų produktų panaudojimas būtų perspektyvus naujų maisto produktų gamyboje.

Mūsų darbo tikslas buvo pritaikyti skirtingomis pieno rūgšties bakterijomis (PRB) fermentuotus *Helianthus tuberosus* L. raugintų pieno produktų gamybai, siekiant pagerinti jų maistinę vertę ir kokybę.

Medžiagos ir metodai

Augaliniai produktai ir jų paruošimas fermentacijai. Eksperimentui naudoti topinambai (*Helianthus tuberosus* L.) (2011 m. derliaus, gauti iš

Lietuvos sodininkystės ir daržininkystės instituto bandomojo ūkio). Fermentacijai naudoti topinambų gumbai (šaknys) prieš fermentaciją supjaustyti 1–2 mm storio griežinėliais ir išdžiovinti vakuuminėje džiovykloje 45 °C temperatūroje (Model SZG, Kinija).

Augalinių produktų fermentacija. PRB (*Lactobacillus sakei*; *Pediococcus acidilactici*; *Pediococcus pentosaceus*), kurios gamina bakteriocinus, buvo gautos iš Kauno technologijos universiteto Maisto produktų technologijos katedros. Iki eksperimento PRB buvo laikytos -70 °C temperatūroje apsauginėje terpėje (*Microbank* sistemoje). Atgaivintos PRB ir pagausintos de Mann Rogosa Sharpe sultinyje (MRS) (CM 0359, Oxoid Ltd, Hampshire, Jungtinė Karalystė): *L. sakei* 30 °C, *P. acidilactici* 32 °C, *P. pentosaceus* 35 °C temperatūroje, 48 h išlaikant termostate (Memmert, Vokietija). Prieš naudojimą į terpę buvo pridėta 40 mM/L fruktozės ir 20 mM/L maltozės. Prieš eksperimentą MRS sultinys su pagausintomis PRB buvo praskiestas fiziologiniu tirpalu iki 10⁸ KSV/ml PRB koncentracijos ir panaudotas *Helianthus tuberosus* L. fermentacijai.

Helianthus tuberosus L. ir grynų PRB kultūrų (*L. sakei*, *P. acidilactici*, *P. pentosaceus*) KF produktai buvo paruošti <50 % drėgnio, o TF >50 % drėgnio, fermentuojant termostate atitinkamai 30, 32 ir 35 °C temperatūroje 48 h. Kontroliniai (savaiminiai) raugai paruošti 48 h augalinę žaliavą fermentuojant termostate (Binder, Vokietija) 30 °C. Gauti augaliniai fermentuoti produktai panaudoti raugintų pieno produktų gamybai.

Pienas, naudotas raugintų produktų gamybai. Naudotas vietiniame prekybos centre įsigytas skirtingo riebumo (3,2 % (mėginys A), 2,0 % (mėginys B) ir 0,5 % (mėginys C), atitinkamai, energinė vertė (60 kcal, 50 kcal ir 36 kcal) pienas (3,2 g baltymų, 4,7 g angliavandenių), pagamintas iš aukščiausios kokybės žaliavinio pieno, apdoroto ultra aukšta temperatūra (UAT).

Rauginto pieno produktų gamybos technologija. Pienas pašildytas iki kambario temperatūros ir į kiekvieną mėginį pridėta po 10 % (m/m) paruoštų raugų bei homogenizuota. Paruošta masė inkubuota kiekvienai PRB optimalioje temperatūroje 72 h. Rauginti produktai stabilizuoti, atvėsinti iki +4 °C temperatūros. Raugintų produktų rūgimo kinetika įvertinta po 0; 6; 12; 24; 48 ir 72 h. Sinerezės proceso kinetika įvertinta po 24; 48 ir 72 h, laktozės, PRB kolonijas sudarančių vienetų skaičius (KSV/g) sutraukioje, maistinės vertės ir juliniai rodikliai įvertinti po 24 h.

Fermentuotų produktų pH buvo nustatytas potenciometrinio metodu, naudojant pH-metrą su stiklo elektrodu „Sartorius Professional Meter PP-15“ (Germany).

Mėginių bendras titruojamasis rūgštingumas (BTR) nustatytas titravimo metodu, naudojant indikatorius fenolfaleiną, mėginių tirpalus titruojant 0,1 mol/l NaOH tirpalu. Rūgštingumas įvertintas Ternerio laipsniais (°T) (LST ISO/TS 11869:2013)¹.

Mėginių išrūgų sineretinės savybės. 15 g rauginto pieno mėginio buvo centrifuguojama 10 min 1500×g greičiu. Išsiskyrusios išrūgos nufiltruotos ir pasvertos. Sineretė apskaičiuota pagal formulę ir išreikšta procentine dalimi:

$$\text{sineretė} = (m_{\text{išrūgų}}/m_{\text{gelio}}) \times 100 \%,$$

čia: $m_{\text{išrūgų}}$ – išrūgų masė (g);
 m_{gelio} – gelio masė (g).

Mikrobiologinių rodiklių tyrimo metodai

Bendro mezofilinių PRB KSV/g produkto nustatymo metodika. Bendrasis mezofilinių PRB skaičius (KSV/g) nustatytas sėjimo į petri lėkšteles metodu MRS agarė (*Biolife*, katalogo Nr. 4017282) į terpę pridedant 0,1 % cikloheksimido (*Biolife*, katalogo Nr. 421520), 30 °C temperatūroje, inkubuojant 72 h anaerobinėmis sąlygomis.

Maistinė ir energetinė vertė nustatyta įprastiniais pieno gaminių tyrimo metodais.

Laktozės tyrimo metodas

10 g mėginio ir 25 ml distiliuoto vandens gerai išmaišomas cheminėje stiklinėje. Mėginys termostatuojamas 15 min 60 °C temperatūros vandens vonioje. Po to atvėsinaamas iki 20 °C temperatūros ir įpilama po 2,5 ml specifinių Carrez I ($K_4[Fe(CH_3)_6] \times 3H_2O$) ir Carrez II ($ZnSO_4 \times 7H_2O$) tirpalų. Mėginys kiekybiškai perkeliamas į 50 ml matavimo kolbą ir distiliuotu vandeniu praskiedžiamas iki žymės. Filtruojamas per 0,45 μm porų dydžio membraninį filtrą ir analizuojamas skysčių chromatografijos metodu. Chromatografinės analizės darbo sąlygos: judančiosios fazės tekėjimo greitis – 1,2 ml/min; injekcijos tūris 20 μl; kolonėlės temperatūra 28 °C; detekcijai naudojamas garinantis šviesos išbarstymo detektorius, eliuacija – izokratinė, judančioji fazė acetonitrilo ir vandens mišinys (75:25 pagal tūrį).

Laktozės kiekis nustatytas išorinio standarto metodu pagal smailių sulaukymo laiką. Naudojama

Shimadzu chromatografinė sistema (Tokyo, Japonija), turinti du detektorius: diodų matricos ir garinantį šviesos išbarstymo detektorių (angl. ELSD – evaporative light scattering detector). Analizių išskirtymui naudota kolonėlė Pack Polyamine II su prieškolone, kurios užpildo dalelių dydis 5 μm, porų dydis 12 Å.

Statistinė analizė

Matematinė statistinė duomenų analizė atlikta „Prism 3.0“ statistinės programos paketu. Apskaičiuoti duomenų aritmetiniai vidurkiai, skirtumų tarp vidutinių rezultatų reikšmių patikimumas (P). Faktoriaus reikšmingumo lygmuo nustatytas pagal Fisherio kriterijų, kai patikimumas 95 %.

Tyrimų rezultatai ir aptarimas

Rūgštingumo tyrimai atlikti po 0; 6; 12; 24; 48 ir 72 h rauginimo. Rūgštingumo kitimas, fermentacijai naudojant *P. pentosaceus*, parodė, kad rūgštingumo kinetikai nedideli pieno riebumo svyravimai (3,2–0,5 %) įtakos neturi. Nustatyta tendencija (statistiškai nepatikima), kad mėginiai su *P. pentosaceus*, naudojant KF apdorotus raugus, rūgsta greičiau, negu kontrolinis mėginys. Kadangi šios bakterijos laktozės neraugina [1, 14, 15], rūgimui jos naudoja augaluose (mūsų darbe – topinambuose) esančius angliavandenius, daugiausia inuliną. Nustatyta, kad pirmąsias valandas po raugo su *P. pentosaceus* pridėjimo pieno rūgštingumas nedidėjo ar net turėjo tendenciją mažėti. Tai galima paaiškinti tuo, kad *Helianthus tuberosus* L. savo sudėtyje turi šarminių druskų. Atlikome eksperimentą, kurio metu į distiliuotą vandenį įdėjome *Helianthus tuberosus* L. (tik išdžiovinus miltelius, tiek tarkuotą šaknį) 10 % augalo. Po valandos brinkimo tarkuota šaknis pašarmina distiliuoto vandens pH iki 8. Pagrindinė *Helianthus tuberosus* L. veiklioji dalis – inulinas, yra gera terpė, prebiotikas PRB, pats augalas tiek dėl savo sudėties, tiek dėl specifinės raugui panaudotos bakterijos *P. pentosaceus*, lėtina pieno sutraukos susidarymą. Šį raugą geriau naudoti sūrių gamyboje, kur jo savybės reiškiasi lėto nokinimo metu [14].

Naudojant raugus su *P. acidilactici*, skirtingai nuo *P. pentosaceus*, pieno produktų rūgštingumas didėjo tolygiai. Literatūroje nepavyko rasti duomenų apie šių bakterijų panaudojimą pieno rauginimui, todėl šių skirtumų paaiškinimas – skirtingas PRB KSV/g raugo, ką patvirtino vėlesni tyrimai.

¹ LST ISO/TS 11869:2013 Fermentuotas pienas. Titruojamojo rūgštingumo nustatymas. Potenciometrinis metodas (tapatus ISO/TS 11869:2012).

1 lentelė. Pieno rūgšties bakterijų skaičius (KSV/g) sutraukioje po 24 h rauginimo
Table 1. Lactic acid bacteria count (CFU/g) in the curd after 24 h fermentation

Tiriamasis mėginys	Pieno rūgšties bakterijų skaičius, KSV/g					
	Kietafazė fermentacija			Tradicinė fermentacija		
	Topinambams fermentuoti naudotos PRB					
	<i>P. pentosaceus</i>	<i>P. acidilactici</i>	<i>L. sakei</i>	<i>P. pentosaceus</i>	<i>P. acidilactici</i>	<i>L. sakei</i>
A pienas	(9,6±0,23)10 ⁵	(2,9±0,40)10 ⁹	(1,0±0,10)10 ⁸	(6,0±0,10)10 ⁶	(7,5±0,02)10 ⁷	(1,0±0,01)10 ⁸
B pienas	(9,2±0,26)10 ⁵	(2,4±0,20)10 ⁹	(1,0±0,03)10 ⁷	(5,5±0,02)10 ⁶	(7,0±0,01)10 ⁷	(1,0±0,05)10 ⁷
C pienas	(8,6±0,10)10 ⁶	(1,1±0,09)10 ⁹	(5,9±0,09)10 ⁷	(1,5±0,33)10 ⁷	(3,0±0,35)10 ⁷	(7,1±0,33)10 ⁷

1 lentelės duomenys rodo, kad didžiausias PRB KSV/g buvo sutraukioje, su KF *P. acidilactici* apdorotu raugu. Greičiausiai rūgo riebesnis (A ir B) pienas, fermentuotas *L. sakei*. Rūgštingumo kinetika, rauginant pieną TF ir KF paruoštais raugais statistiškai patikimai nesiskyrė. Nors PRB KSV/g produkto tiek mūsų tyrimuose, tiek literatūros duomenimis [6] yra didesnis KF paruoštuose rauguose. Apibendrintai galima teigti, kad raugai su *Helianthus tuberosus* L. fermentuoti bakterijomis *P. pentosaceus* ir *L. sakei* netinka pieno rauginimui. Juos galima papildomai dėti kartu su tradiciniais raugais pienui rauginti. Tokio pridėjimo tikslas – natūralių prebiotikų pridėjimas į pieno produktus. Raugų paruošimui augalinė žaliava turi būti labai gerai homogenizuota, nes mūsų eksperimento metu žaliavos homogenizacijos laipsnis turėjo įtakos gautos sutraukos sineretiškumui bei tekstūros savybėms. Sinerezės proceso intensyvumas tirtuose mėginiuose buvo analogiškas visuose mėginiuose, atskiros bakterijų rūšys ar fermentacijos būdas šioms savybėms įtakos neturėjo. Didžiausiu išsiskyrusiu išrūgų kiekiu pasižymėjo mėginiai su *P. acidilactici* fermentuotais produktais (2 lent.).

Raugintų pieno produktų technologinėms savybėms ir produktų kokybei didelės reikšmės turi

sutraukos savybės. Cheminė pieno sudėtis, pieno pH, homogeninacijos procesas ir jo sąlygos, mikroorganizmų rūšis, temperatūrų svyravimai ir kt. rodikliai turi įtakos sutraukos klampumui ir sineretiškumui savybėms.

Sineretinių savybių duomenys pateikti 2 lentelėje. Duomenys parodo išsiskyrusį mažesnį išrūgų kiekį bandomuose mėginiuose lyginant su kontrole. Naudojant TF apdorotus *Helianthus tuberosus* L. produktus, išskiriamų išrūgų kiekis didėja, tačiau sausųjų medžiagų mažėja. Nustatyta, kad vidutiniškai iš rauginto pieno produkto išsiskyrusių išrūgų kiekis su *P. acidilactici* ir *L. sakei* yra mažesnis, lyginant su kontrole, o su *P. pentosaceus* yra didesnis.

Vykstant sinerezei, sumažėja gelio tūris. Todėl sineretiškumui savybėms suardytos sutraukos klampis turėtų būti mažesnis nei sutraukos su mažesne sinereze, ką parodo ir mūsų atlikti tyrimai.

Mokslininkai [15] nustatė, kad *P. pentosaceus* medžiagų apykaitos galutinis produktas yra pieno rūgštis, kuri gaunama fermentuojant įvairiuose substratuose esančius angliavandenius. Todėl ši PRB gali būti naudojama daržovių, mėsos ir sūrinių produktų fermentacijai [16].

2 lentelė. Sinerezės proceso kinetika raugintame pieno produkte KF ir TF
Table 2. Kinetics of the syneresis process in the fermented milk products SSF and TF

Tiriamasis mėginys	Sinerezė, proc.					
	Po 24 h	Po 48 h	Po 72 h	Po 24 h	Po 48 h	Po 72 h
	KF			TF		
Kontrolė (savaiminiai raugai ir pienas A)	27,13±0,01	33,73±0,02	41,80±0,01	32,96±0,03	38,63±0,03	45,20±0,02
<i>L. sakei</i> ir pienas A	20,73±0,01	23,73±0,02	23,80±0,02	22,73±0,02	26,80±0,02	27,01±0,02
<i>P. acidilactici</i> ir pienas A	19,20±0,02	25,73±0,01	31,20±0,01	22,30±0,01	28,92±0,02	35,45±0,03
<i>P. pentosaceus</i> ir pienas A	29,93±0,01	34,20±0,03	37,93±0,02	30,11±0,02	36,03±0,03	43,56±0,03

L. sakei naudojama žuvies ir mėsos fermentacijoje, nes prailgina produkto tinkamumo vartoti terminą ir pagerina jausines savybes [17].

Nustatyta, kad pieno produktuose su KF fermentuotais raugais yra daugiau sausųjų medžiagų ir didesnė energinė vertė (3 lentelė).

Fermentuoti produktai, savo sudėtyje turi daugiau mikroelementų, vitaminų, biologiškai

aktyvių medžiagų, mažiau kaloringi ir greičiau pasisavinami organizmo [18].

Mokslininkai [19] teigia, kad fermentuoti pieno produktai padeda virškinimo procesui, sumažina cholesterolio kiekį kraujyje, rekomenduotini laktosės netoleruojantiems.

Barros ir kt. [20] nustatė, kad *P. acidilactici* gali būti naudojamos, kaip probiotikas daržovių, pieno produktų ir mėsos fermentacijai.

3 lentelė. KF *Helianthus tuberosus* L. raugintų pieno produktų maistinės vertės rodikliai
Table 3. Nutritional values of SSF *Helianthus tuberosus* L. fermented milk products

Rodikliai	KF			TF		
	<i>P. pentosaceus</i>	<i>P. acidilactici</i>	<i>L. sakei</i>	<i>P. pentosaceus</i>	<i>P. acidilactici</i>	<i>L. sakei</i>
Bendras riebalų kiekis, proc.	2,90±0,06	2,90±0,09	2,90±0,18	2,91±0,02	2,91±0,07	2,91±0,06
Baltymų kiekis, proc.	3,15±0,04	3,13±0,07	3,08±0,16	3,18±0,05	3,14±0,04	3,10±0,10
Pelenų kiekis, proc.	0,74±0,01	0,76±0,02	0,82±0,03	0,76±0,01	0,80±0,02	0,83±0,03
Sausosios medžiagos, proc.	12,22±0,09	12,20±0,06	12,28±0,08	10,90±0,08	10,77±0,05	10,95±0,07
Angliavandeniai, proc.	5,45±0,04	5,41±0,07	5,48±0,16	4,05±0,02	3,92±0,05	4,11±0,05
Energetinė vertė, kcal	60,50±0,02	60,26±0,01	60,34±0,01	55,11±0,03	54,43±0,03	55,03±0,02

4 lentelė. Laktozės kiekis raugintuose pieno produktuose su KF ir TF
Table 4. Content of lactose in fermented milk products with SSF and TF

Tiriamasis mėginys	Laktozės kiekis, proc.							
	Kontrolė		<i>P. pentosaceus</i>		<i>P. acidilactici</i>		<i>L. sakei</i>	
	KF	TF	KF	TF	KF	TF	KF	TF
A pienas	4,60±0,04	4,64±0,02	5,74±0,09	6,77±0,23	6,34±0,08	6,74±0,23	6,06±0,06	6,45±0,15
B pienas	5,20±0,07	4,45±0,15	6,02±0,09	6,00±0,18	5,99±0,05	6,50±0,02	6,70±0,05	6,70±0,35
C pienas	5,24±0,08	4,51±0,18	6,22±0,10	6,05±0,23	6,10±0,08	6,59±0,35	6,73±0,06	6,78±0,49

Duomenys rodo, kad raugų paruošimui naudotos PRB pieno sudėties rodikliams įtakos neturėjo. Laktozės tyrimai rodo (4 lentelė), kad naudotos PRB laktozės beveik neskaldė, ką patvirtina daugelis literatūros šaltinių [21].

Atlikti tyrimai rodo, kad *L. sakei* bakterijos laktozės neskaldė, o mitybos terpei naudoja tik gliukozę ir ribozę. Kadangi mėsoje ir žuvies produktuose cukrus greitai suyra, *L. sakei*

nukleotidus, adenosiną ir inoziną paverčia energijos šaltiniu [22].

Vertinant produktų priimtumą dešimtbaleje sistemoje (5 lent.), nustatyta, jog mėginiai fermentuoti KF su *P. acidilactici* ir TF su *P. pentosaceus* surinko virš 5 balų iš 10-ies galimų. Tiriami mėginiai pasižymėjo stipriu skoniu (3–4 balai iš 5 galimų). Mėginio su *L. sakei* skonis įvertintas 1,0, o priimtumas – 3,5 balo. Tai rodo, kad šio mėginio skonis vartotojams nepriimtinas.

5 lentelė. Juslinių rodiklių įvertinimas balais (priimtumas 1–10, kiti rodikliai 1–5 balų sistemoje)
Table 5. Organoleptic characteristics value (acceptability 1–10, other indicators under the 1–5 point based system)

Rodikliai	Kietafazė fermentacija			Tradicinė fermentacija		
	<i>P. pentosaceus</i>	<i>P. acidilactici</i>	<i>L. sakei</i>	<i>P. pentosaceus</i>	<i>P. acidilactici</i>	<i>L. sakei</i>
Priimtumas	4,0±0,03	5,5±0,15	3,5±0,01	5,5±0,01	4,5±0,01	4,5±0,15
Skonis	3,0±0,02	4,0±0,03	1,0±0,02	4,0±0,02	4,0±0,02	4,0±0,02
Kvapą	2,5±0,15	4,0±0,05	2,5±0,01	4,0±0,02	4,0±0,01	4,0±0,01
Konsistencija	2,5±0,25	4,0±0,02	2,5±0,15	3,0±0,02	2,0±0,02	3,0±0,01
Išvaizda	3,0±0,01	4,0±0,02	2,5±0,17	4,0±0,01	3,0±0,02	3,0±0,03

5,5 balais įvertinti pieno produktais su KF *P. acidilactici* apdorotais raugais. Penkiabaleje sistemoje vertinant šio mėginio skonį, kvapą ir išvaizdą, jie įvertinti 4,0 balais, tai yra nežymus nuokrypis nuo labai gerų savybių (maksimumas 5,0 balai) turinčio gaminio. Kitomis bakterijomis fermentuoti gaminiai (KF) buvo įvertinti mažiau nei 5,0 balais priimtumo skalėje iš 10-ties, todėl rinkoje dėl skoninių savybių būtų nepaklausūs.

Išvados

1. Rūgštingumo kitimas, rauginant pieną TF ir KF paruoštais *Helianthus tuberosus* L. raugais, statistiškai patikimai nesiskyrė.
2. Rūgštingumo kinetika stabiliausia naudojant KF *P. acidilactici* fermentuotus produktus. Šie raugai turėjo didžiausią PRB KSV/g produkto, raugų sinerezė buvo nedidelė.
3. Raugai su *Helianthus tuberosus* L., fermentuoti *P. pentosaceus* ir *L. sakei*, netinka pieno rauginimui, nes pieno rūgštingumas rauginimo metu kyla lėtai ir laktozės kiekis po rauginimo nepakinta, taip pat prastos juslinės savybės.
4. KF fermentuotose produktuose vidutiniškai yra 12,23 % sausųjų medžiagų, o TF - 10,87 %; KF fermentuotų produktų vidutinė energinė vertė 60,37 kcal, o TF - 54,86 kcal.
5. *P. acidilactici* fermentuoti *Helianthus tuberosus* L. yra intensyviausio ir maloniausio skonio, geros išvaizdos, vienalytiški.
6. Šiuos raugus rekomenduojama papildomai dėti kartu su tradiciniais raugais pienui rauginti. Tokio pridėjimo tikslas – natūralių prebiotikų pridėjimas į pieną.
7. Vartotojų poreikiams tenkinti reikia plačiau ištyrinėti *P. acidilactici* pritaikymą įvairiems pieno produktams gaminti.

Padėka: autoriai dėkoja Lietuvos mokslo tarybai už finansinę paramą, vykdančią projekto „Vertingusių

ir saugesnių maisto produktų kūrimas taikant kietafazę fermentaciją“ (Projektas SVE-09/2011) tyrimus.

Literatūra

1. Vidmantienė D., Juodeikiene G. The quality of feed grain: endoxylanase and endoxylanase inhibition activity levels in triticale // Veterinarija ir Zootechnika. 2011. Vol. 53, No. 75. P. 76–83.
2. Rodríguez C. S., Sanromán M. A. Application of solid-state fermentation to food industry: A review // Journal of Food Engineering. 2006. Vol. 76, No. 3. P. 291–302.
3. Pandey A. Solid state fermentation // Biochemical Engineering Journal. 2003. Vol. 13. P. 81–84.
4. Nigam P. S. Production of bioactive secondary metabolites // Biotechnology for Agro-Industrial Residues Utilization. 1st ed. Netherlands: Springer, 2009. P. 129–145.
5. Jiang H., Lui C., Mei C., Yu S., Xiao X., Ding Y. Rapid determination of pH in solid-state fermentation of wheat straw by FT-NIR spectroscopy and efficient wavelengths selection // Analytical and Bioanalytical Chemistry. 2012. Vol. 404. P. 603–611.
6. Altuntas E. G., Cosansu S., Ayhan K. Some growth parameters and antimicrobial activity of a bacteriocin-producing strain *Pediococcus acidilactici* // International Journal of Food Microbiology. 2010. Vol. 141. P. 28–31.
7. Juodeikiene G., Salomskiene J., Bašinskienė L., Vidmantienė D., Narbutaitė V., Kasnauskytė N. Naujų fermentuotų produktų įtaka kvietinių kepinų mikrobiologiniams rodikliams ir žiedėjimui // Maisto chemija ir technologija. 2009. T. 43, Nr. 2. P. 36–46.
8. Bioactive Components in Milk and Dairy Products. Young W. Park (ed.). Wiley-Blackwell, 2009. 440 p.
9. Nagpal R., Behare P. V., Kumar M., Mohania D., Yadav M., Jain S., Menon S., Parkash O., Marotta F., Minelli E., Henry C. J. K., Yadav H. Milk, milk products, and disease free health: an updated overview // Food Science and Nutrition. 2012. Vol. 52. P. 321–333.
10. Stefan I., Bavan T., Oberli A., Roetschi A., Badertscher R., Guggenbühl B., Berthoud H. Catabolism of Serine by *Pediococcus acidilactici* and

- Pediococcus pentosaceus* // Applied and Environmental Microbiology. 2013. Vol. 79, No. 4. P. 1309–1315.
11. Gibson G. R., Probert H. M., Van Loo J., Rastall R. A., Roberfroid M. B. Dietary modulation of the human colonic microbiota: updating the concept of prebiotics // Nutrition Research Review. 2004. Vol. 17. P. 259–275.
 12. Graham T. L., Kinghorn A. D., Pan L., Sinden M. R., Kennedy A. H., Chai H. Bioactive constituents of *Helianthus tuberosus* L. (Jerusalem artichoke) // Phytochemistry Letters. 2009. Vol. 2. P. 15–18.
 13. Nemeth G. I. Z. Macro and microelement content and uptake of Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) // Cereal Research Communication. 2006. Vol. 34. P. 597–600.
 14. Landete J. M., De las Rivas B., Marcobal A., Munoz R. Molecular methods for the detection of biogenic amine-producing bacteria foods // Journal of Food Microbiology. 2007. Vol. 17. P. 258–269.
 15. Osmanagaoglu O., Beyatli Y., Gunduz U. Isolation and characterization of pediocin producing *Pediococcus pentosaceus* Pepl from vacuum-packed sausages // Turkish Journal of Biology. 2001. Vol. 25. P. 133–143.
 16. Lee C., Dobrogosz W. Oxidative metabolism in *Pediococcus pentosaceus* // Journal of Bacteriology. 1965. Vol. 90, No. 3. P. 653–660.
 17. *Lactobacillus sakei*: a Bacterium Beneficial to Meat Storage // INRA. October 2005. Prieiga per internetą, http://www.international.inra.fr/research/some_exam_ples/lactobacillus_sakei.
 18. Sarkar S., Mishra A. K. Biopreservation of milk and milk products // Indian Food Industry. 2001. Vol. 20. P. 74–77.
 19. Shiby V. K., Mishra H. N. Fermented milks and products functional foods – a review // Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 2013. Vol. 53, No. 5. P. 482–496.
 20. Barros R. R., Carvalho G. S., Peralta J. M., Facklam R. R., Teixeira L. M. Phenotypic and genotypic characterization of *Pediococcus* strains isolated from human clinical sources // Journal of Clinical Microbiology. 2001. Vol. 39, No. 4. P. 1241–1246.
 21. Guinee T. P., O'Brien B. The quality of milk for cheese manufacturing // Technology of Cheesemaking Barry A. L., Tamime A. Y. (eds). 2nd ed. 2010. P. 1–67.
 22. Chaillou S., Champomier-Vergès M. C., Cornet M., Crutz-Le Coq A. M., Dudez A. M., Martin V., Beaufils S., Darbon-Rongère E., Bossy R., Loux V., Zagorec M. The complete genome sequence of the meat-borne lactic acid bacterium *Lactobacillus sakei* 23K // Nature Biotechnology. 2005. Vol. 23 (12). P. 1527–1533.

Pateikta spaudai 2013-09

J. Šlapkauskaitė, D. Sekmokienė, E. Bartkienė,
G. Juodeikienė, D. Vidmantienė, K. Barčauskaitė,
G. Garmienė

IMPACT OF STARTERS WITH *HELIANTHUS TUBEROSUS* L. OBTAINED BY SOLID-STATE AND TRADITIONAL FERMENTATION ON THE QUALITY OF FERMENTED MILK PRODUCTS

Summary

The aim of the present study was to evaluate the impact of traditional (TF) and solid state fermentation (SSF) on the process of milk fermentation, the properties of fermented dairy products, their quality and nutritional value using different lactic acid bacteria (LAB) (*Pediococcus pentosaceus*, *Pediococcus acidilactici*, *Lactobacillus sakei*) treated with Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) cultures.

During the experiment, the kinetics of cultured milk fermentation (pH), total titratable acidity (TTA), value of LAB (CFU/g), the sineretic and sensory properties of the texture, as well as nutritional value of what fermented milk products were investigated. Also, the amount of lactose in dairy products was tested after 24 h of fermentation.

We found that the kinetics of acidity in milk cultured with TF and SSF Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.), limited margin of error, was not influenced by the method of fermentation technology used. According to the results, the TF and SSF technologies with different LAB treated with *Helianthus tuberosus* L. cultures are not suitable for milk fermentation. During fermentation, the total acidity increases insufficiently (after 12 h, the media was not fermented); the lactose content remained unchanged and varied from 4.6 to 7.0 percent; the sensory acceptability of the product was low (3.5–5.5 points out of 10).

However, in order to increase the nutritional value of fermented dairy products, it is recommended to use *P. pentosaceus*, *P. acidilactici* and *L. sakei* lactic acid bacteria with TF and SSF-treated *Helianthus tuberosus* L. This procedure should be carried out during conventional fermentation, after fermentation with traditional sourdoughs.

Keywords: fermentation, lactic acid bacteria, milk fermentation, *Helianthus tuberosus* L.

Augalų ekstraktų ir eterinių aliejų antimikrobinio aktyvumo panaudojimas maisto pramonėje (apžvalga)

Jūratė Šlapkauskaitė¹, Aistė Kabašinskienė¹, Algimantas Šlapkauskas², Dalia Sekmokienė¹

¹Lietuvos sveikatos mokslų universitetas, Veterinarijos akademija, Maisto saugos ir kokybės katedra; Tilžės g. 18, LT-47181 Kaunas; tel. (8-37) 362688; el. paštas slapkauskaite@jva.lt

²Aleksandro Stulginskio universitetas, Energetikos ir biotechnologijų inžinerijos institutas, Studentų g. 15, LT-53362 Akademija, Kauno r.

Augalai, jų ekstraktai ir eteriniai aliejai pasižymi įvairiomis biologiškai aktyviomis savybėmis. Jau nuo neatmenamų laikų žinomas jų antimikrobinis poveikis, todėl augalai panaudojami įvairių ligų profilaktikai ir gydymui. Ilgainiui augalų ekstraktai ir eteriniai aliejai pradėti naudoti maisto pramonėje, kaip natūralios konservuojančios medžiagos. Mokslinių tyrimų duomenimis bioaktyvūs junginiai, gauti iš augalų, įvairiose maisto sistemose pasižymi skirtingu antimikrobinio poveikiu, kadangi jų aktyvumą lemia tiek šių augalų augimo, paruošimo ir biologiškai aktyvių junginių išskyrimo sąlygos, tiek paties maisto sudėtis, tiek veikiami mikroorganizmai. Neretai nesutampa tyrimų rezultatai, gauti *in vitro* ir *in vivo*. Be to, susiduriama su nepageidaujamu kai kurių augalų poveikiu maisto juslinėms savybėms. Tačiau mokslinių tyrimų šioje srityje tik daugėja, biologiškai aktyvių medžiagų išskyrimo metodai tobulėja, o šių medžiagų pritaikymo galimybės plečiasi. Pasaulyje plačiai tyrinėjamos įvairių augalų ekstraktų ir eterinių aliejų antimikrobinės savybės, dėl kurių mažinamas gedimo ir patogeninių mikroorganizmų augimas maisto produktuose. Pastaruoju metu augalų biologiškai aktyvios medžiagos vis dažniau naudojamos ne tik kaip vertingos maisto sudedamosios dalys, tačiau įterpiamos ir į maisto pakuotes. Todėl vartotojams, vertinantems maisto produktus, papildytus natūraliomis medžiagomis, padidinančiomis maisto saugą ir kokybę, tai puikus pasirinkimas, o gamintojams – alternatyva sintetiniams konservantams panaudoti. Šiame straipsnyje siekėme apžvelgti natūralių komponentų, gautų iš skirtingų šaltinių – augalų ekstraktų ir eterinių aliejų, pritaikymą maisto produktuose, kaip potencialią panaudojant jų antimikrobinį aktyvumą.

Raktažodžiai: augalų ekstraktai, eteriniai aliejai, antimikrobinis aktyvumas

Įvadas

Įvairūs augalai, jų ekstraktai ir eteriniai aliejai nuo seno naudojami liaudies medicinoje, maisto pramonėje, kosmetikoje ir farmacijoje kaip natūralios, aplinkai nekenksmingos medžiagos, pasižyminčios antimikrobinėmis savybėmis. Jie gali pakeisti prieskonius ir suteikti produktui naują skonį, o kartu slopinti nepageidaujamų mikroorganizmų dauginimąsi [1–3].

Prieskoniai, aromatiniai ir medicininiai augalai bei jų ekstraktai yra perspektyvūs natūralių antioksidantų ir biologiškai aktyvių medžiagų šaltiniai. Jie papildo maistą sveikatai naudingais junginiais, daugelis jų pasižymi ne tik antioksidacinėmis, tačiau ir antimikrobinėmis savybėmis [4]. Eteriniai aliejai gaunami iš įvairių augalo dalių (gėlių, pumpurų, sėklų, lapų, šakų, žievės, vaistinių augalų, medžio, vaisių ir šaknų) [5], taip pat pasižymi plačiu antimikrobinio veikimo spektru: antibakterinėmis, antivirusinėmis [6], antimikrobinėmis [7], antitoksinėmis,

insekticidinėmis ir antiparazitinėmis [8] savybėmis. Dėl šių savybių, eteriniai aliejai gali būti naudojami kaip natūralūs maisto produktų konservantai [9].

Stipriu antimikrobinio aktyvumu pasižymi čiobrelių, mairūnų, raudonėlio, kedro, eukalipto, ramunėlių ir kiti eteriniai aliejai [10, 11]. Tai lemia augalų sudėtyje esančios įvairios biologiškai aktyvios medžiagos. Pvz., vien tik čiobrelių (*Thymus ezigii*) eteriniame aliejuje, identifikuoti 39 komponentai sudaro 93,7 % sausųjų medžiagų, o daugiausiai aptinkama timolio (30,6 %), karvakrolio (26,1 %), *p*-cimeno (13,0 %) [12].

Prieskonių augalų ekstraktams ir eteriniams aliejams būdingas stiprus aromatas dėl juose esančių lakiųjų junginių. Yra žinoma apie 2500 eterinius aliejus sukaupiančių augalų rūšių: notrefinių, salierinių, astrinių, erškėtinių, mirtinių, pušinių, kiparisinių, bastutinių ir kt. Šių augalų eteriniuose aliejuose identifikuota per 500 aromatai sudarančių medžiagų. Daugiausia eterinių aliejų sukaupia šilto klimato augalai [13].

Augalų ekstraktų ir eterinių aliejų, suteikiančių augalams charakteringą aromatą, cheminė sudėtis ir antimikrobinės savybės priklauso nuo augalo rūšies, porūšio, geografinės vietovės, vartojamo augalo dalies ir agrokultūrinių faktorių (klimatinių sąlygų, kuriose jis augo, dirvožemio, derliaus nuėmimo laiko) bei žaliavos paruošimo [14]. Eterinių aliejų savybės taip pat lemia juose esančios funkcinės grupės [15], pvz., antimikrobinis aktyvumas glaudžiai siejasi su kintančių dalių santykiu aktyviuose eterinių aliejų komponentuose [16]. Be to, nustatyta, jog augalų ekstraktų ir eterinių aliejų aromatas bei antimikrobinis poveikis gali kisti maisto produktų gamybos, ypač terminio apdorojimo metu [17]. Ne mažiau svarbu prieš naudojant eterinių aliejų komponentus atkreipti dėmesį į jų veikliųjų medžiagų aplikavimo metodus bei galimą sąveiką su maisto žaliavose esančiomis endogeninėmis ir egzogeninėmis medžiagomis [18, 19].

Pastaruoju metu augalų ekstraktai ir eteriniai aliejai maisto pramonėje naudojami vis dažniau, siekiant apsaugoti maisto produktus nuo mikrobiologinio gedimo ir užtikrinti maisto saugą bei kokybę [20, 21]. Tačiau mėsos pramonėje eterinių aliejų panaudojimas tebėra ribotas, daugiausia dėl intensyvaus aromato ir mėsos jausinių savybių pokyčių [22].

Siekiant efektyviau panaudoti prieskonių ekstraktus maisto pramonėje – būtini išsamūs jų cheminės sudėties tyrimai. Tai suteiktų svarbios informacijos parenkant perspektyviausias augalų

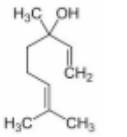
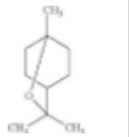
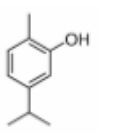
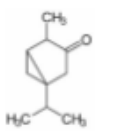
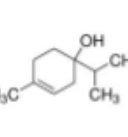
rūšis ir įgyvendinant konkrečius praktinius tikslus – siekiant papildyti maisto produktus biologiškai aktyviais komponentais, valdyti maisto oksidacinio ir mikrobiologinio gedimo procesus, išvengti kenksmingų junginių susidarymo maisto terminio apdorojimo metu [23].

Todėl mūsų darbo tikslas buvo išanalizuoti augalų ekstraktų ir eterinių aliejų pritaikymą maisto pramonėje, siekiant užtikrinti mikrobiologinę produktų saugą.

Maisto pramonei aktualios augalų ekstraktų ir eterinių aliejų antimikrobinės medžiagos

Augalų ekstraktų ir eterinių aliejų panaudojimas maisto pramonėje susijęs su daugeliu neišspręstų problemų: kartais juos sudaro net keli šimtai cheminių junginių, kurių sudėtis priklauso nuo augalų augimo vietos, todėl identifikuoti jų sudėtį ir standartizuoti gana sudėtinga [24, 25]. Augalų ekstraktuose ir eteriniuose aliejuose aptinkamos veikliosios medžiagos pasižymi antibakteriniu, antigrybiniu, antiparazitiniu ir/ar antivirusiniu poveikiu. Veikliausiems fitochemikalams priskiriami timolis, karvakrolis, *p*-cymenas, γ -terpinenas, 1,8-cineolis, *cis*-ocimenas, kamparas, linalolis, terpinen-4-olis, tujonas, limonenas, α -bisabololis ir chamazulenolis (1 lent.) [26]. Kiti, mažiau aktyvūs fitochemikalai, pasižymintys antimikrobinio poveikiu yra eugenolis, perilaldehidai, cinamaldehydai ir cinamo rūgštis [27].

1 lentelė. Kai kurių augaluose dažniausiai aptinkamų veikliųjų medžiagų cheminė formulė
Table 1. Chemical formula of some biologically active compounds, found in plants more often

				
Linalolis	1,8 cineolis	Karvakrolis	Tujonas	Terpinen-4-olis

Iš įvairių augalų išskirti biologiškai aktyvūs junginiai, gali būti klasifikuojami į skirtingas grupes, priklausomas nuo jų cheminės struktūros, turinčios reikšmingos įtakos šių augalų antimikrobiniam aktyvumui. Pagrindinės augalų fitocheminės grupės pateiktos 2 lentelėje.

Vieni iš labiausiai mėsos pramonėje naudojamų fitochemikalų yra svogūnų ir česnakų ekstraktai ir eteriniai aliejai. Antimikrobinis svogūninių augalų aktyvumas daugiausiai siejamas su įvairių rūšių

alk(en)il tiosulfinitais ir jų junginiais [42]. Tokie junginiai slopina mikroorganizmų augimą veikdami ląstelių baltymų sulfhidrilines grupes. Svogūnuose yra 0,4–2,0 % eterinio aliejaus, susidedančio iš 25 polisulfidinių junginių, taip pat 0,06% riebalų, cukraus, fitosterinų, azotinių medžiagų, 10 mg% vitamino C, karotino, B grupės vitaminų (B1, nikotino rūgšties amido), inulino, jodo ir kitų medžiagų [43].

2 lentelė. Pagrindinės augalų veikliosios medžiagos ir jų antimikrobinis aktyvumas
Table 2. Antimicrobial spectrum of the major groups of plant antimicrobials

Nr.	Cheminiai junginiai	Grupės	Mikroorganizmai	Šaltinis
1.	Flavonoidai	Flavonai (apigeninas, chrisinas) Flavonoidai (naringeninas, hesperetinas) Katechinai (katechinas, epikatechinas) Antocianinai (cianidinas, petunidinas)	<i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Escherichia coli</i> O157:H7, <i>Salmonella enterica</i> , <i>Vibrio cholerae</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Acinetobacter baumannii</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Aspergillus flavus</i> , <i>Penicillium spp.</i> , <i>Cladosporium spp.</i>	[28, 29, 30, 31]
2.	Kvinonai	Antrakvinonai Benzokvinonai Prirokvinoilino kvinonas	<i>S. aureus</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Cryptococcus neoformans</i>	[32, 33]
3.	Taninai	Tanino rūgštis, Galo rūgštis, Proantocianidai	<i>S. aureus</i> , <i>B. cereus</i> , <i>L. monocytogenes</i> , <i>S. enterica</i> , <i>Campylobacter jejuni</i>	[34]
4.	Kumarinas	Ostrutinas Antogenolis	<i>S. aureus</i> , <i>L. monocytogenes</i> , <i>E. coli</i> O157:H7, <i>Salmonella typhimurium</i> , <i>S. enteritidis</i> , <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	[35, 36, 37]
5.	Terpenoidai	Karotenoidai Terpinenai	<i>S. aureus</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>Vibrio cholerae</i> , <i>Salmonella typhi</i>	[38, 39]
6.	Lecitinas ir polipeptidai	Konkanavalinas A	<i>S. aureus</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>E. coli</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>Candida albicans</i>	[40, 41]

Šviežioje česnakų ropelėse yra apie 60 % vandens, 15 % cukrų, iki 0,3 % glikozido alijino, kuris veikiant fermentui alijinazai, skyla į aliciną, pirovynuogių rūgštį ir amoniaką [44]. Alicinas (dialil disulfido oksidas), viena iš pagrindinių česnako sudedamųjų dalių, pasižyminti antimikrobinėmis savybėmis prieš gram-teigiamas ir gram-neigiamas bakterijas [45]. Tai svarbiausias skonį lemiantis junginys, kuris fermentinio proceso metu pasigamina iš alijino (S-2-propenil-L-cisteino sulfoksido). Dialildisulfidas inaktyvuoja aliciną, todėl smulkiai sukapotas česnakas, jei tuojau pat nesuvartojamas, keičia aromata [43]. Alicinas pasižymi ne vien tik antibakteriniu, tačiau ir antivirusiniu bei antigrybiniu poveikiu [46]. Česnakų eteriniame aliejuje, gautame garų distiliavimo būdu, dialil disulfido (60 %) aptinkama kartu su dialil trisulfidu (20 %), dialil sulfidu, alijinu ir nedideliu kiekiu kitų di- ir polisulfidų. Eterinis aliejus labai stipriai kvepia, yra antiseptinis ir bakteriostatinis [44].

Mokslininkų grupei [47] atlikus tyrimus, buvo nustatyta, kad svogūnų laiškuose vyrauja tokie flavonoidai, kaip kvercetas (1497,5 mg/kg), luteolinas (391,0 mg/kg), ir kempferolis (832,0 mg/kg). Šie flavonoidai taip pat aptinkami aitriojoje paprikoje (1663,0 mg/kg), juodojoje arbatoje (1491,0 mg/kg), papajose (1264,0 mg/kg) ir guajavoje (1128,5 mg/kg).

Su augalų antimikrobinio aktyvumu siejami ir fenoliniai junginiai. Antocianinai, polifenolių klasės junginiai yra vienos iš geriausiai ištirtų augalų

veikliųjų medžiagų. Lietuvoje plačiausiai tyrinėti *Ribes*, *Vaccinium* ir *Rubus* genčių augalų uogų antocianinai [48]. Plačiau ištirinti pietiniuose kraštuose augančių vyšnių uogų antocianinai ir jų aglikonai [49]. Tyrimais nustatyta, kad juodųjų serbentų, paprastųjų vyšnių ir sodinių šilauogių ekstraktų antioksidacinio aktyvumo ir kitimo rodikliai priklauso nuo įvairių rūšių, genčių ir veislių augaluose sukauptų antocianinų ir aglikonų kiekio bei sudėties [50]. Įvairių rūšių augaluose antocianinų kiekis pasiskirstęs nevienodai, pvz., aviečių uogose jų randama 365 mg/100g, mėlynėse iki 700 mg/100g, vyšniose 28–450 mg/100g, sodinėse šilauogėse 25–500 mg/100g, juoduosiuose serbentuose 130–589 mg/100g [51].

Literatūros šaltiniuose yra duomenų apie alyvuogių aliejaus antimikrobinį poveikį. Antimikrobinio poveikio pasižymi alyvuogių aliejuje esančios veikliosios medžiagos: oleuropeinas, oleuropeino aglikonai, elenoinė rūgštis ir oleokantalinas [52].

Augaluose taip pat gaminasi nemažai antimikrobinų peptidų, kurie gali būti klasifikuojami į skirtingas klases: treoninai, defensinai, lipidus pernešantys proteinai, ciklotidai [53]. Taip pat randama ir antigrybinių poveikiu pasižyminčių proteinų ir peptidų: chitinazių, gliukanazių, i taumatiną ir i ciklofiliną panašių proteinų [54].

Gliukozinolatai, randami garstyčiose, ridikuose ir kituose stiprų skonį turinčiuose augaluose, pasižymi

antimikrobinėmis savybėmis, efektyviausiai veikia sulfarofanas [55].

Eterinių aliejų antimikrobinės savybės pasireiškia naudojant 0,01 % koncentracijos etanolinius tirpalus, o žaliava išlaiko būdingas savybes net ir ilgai jas laikant. Yra duomenų, jog eterinis aliejus, pagamintas iš kmynų sėklų, išlaikytų 36 metus, pasižymėjo jam būdingu aromatu, jame identifiukuota bent 60 lakių komponentų. Aliejus efektyviai slopino *Aspergillus brasiliensis*, *B. subtilis*, *S. epidermidis*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida albicans* [56].

Gvazdikėlio (*Eugenia caryophyllus*) antimikrobinį poveikį lemia jo veikioji sudedamoji dalis eugenolis [57]. Rozmarinų eterinis aliejus yra aštraus kvapo, todėl veikia stimuliuojamai. Jame yra kelių rūšių aktyviųjų medžiagų, o svarbiausios – cineolis ir kamparas. Šalavijo lapuose yra iki 2,5 % antimikrobinio poveikio pasižyminčio eterinio aliejaus (cineolis, tujonas, tujolis, pinenas, salvenas, borneolis ir kt.), rauginių medžiagų, kartumynų, flavonoidų, vitaminų, organinių rūgščių, fitoncidų [58]. Antimikrobiškai veikia ir pipirmėtės lapų aliejuje esantis metanolis. Tačiau pagrindinis eterinių

aliejų komponentas ir aktyvioji dalis yra karvakrolis, kurio kiekis įvairiuose augaluose svyruoja nuo 53,3 iki 86,9 % [5]. Karvakrolis ir timolis sudaro daugiau nei 60 % čiobrelio (*Thymus vulgaris*) veikliųjų medžiagų. Karvakrolis, kartu su timoliu ir linaloliu taip pat lemia raudonėlio (*Origanum Vulgare*) eterinio aliejaus antibakterines savybes.

Tačiau augalų antimikrobinį aktyvumą lemia ne vien jų veikliosios medžiagos. Įtakos turi pasirinkta maisto matrica (jos cheminė sudėtis, pridėtos konservuojančios medžiagos), temperatūra, inkubacijos laikas ir sąlygos deguonies atžvilgiu, terpės pH, taip pat bakterijų kultūrų amžius ir kitos savybės.

Augalų ekstraktų ir eterinių aliejų antimikrobinio aktyvumo tyrimų apžvalga

Augalų ekstraktų ir eterinių aliejų antimikrobinis aktyvumas sukėlė didelį susidomėjimą jų panaudojimu įvairių maisto produktų biokonservavimui. Pasaulyje plačiai tyrinėjamos įvairių augalų antimikrobinės savybės (3 lent.).

3 lentelė. Įvairių augalų ir jų produktų antimikrobinis aktyvumas

Table 3. Antimicrobial activity of different plants and their products

Antimikrobinis aktyvumas			
Nr.	Augalinė žaliava	Patogeniniai mikroorganizmai	Šaltinis
1.	Garstyčios	<i>B. subtilis</i> , <i>E. coli</i> , <i>L. monocytogenes</i> , <i>Pseudomonas fluorescens</i> , <i>S. aureus</i>	[60, 61]
2.	Garstyčių milteliai	<i>E. coli</i> O157:H7	[62, 63]
3.	Citrinžolė	<i>Paenibacillus validus</i> , <i>Lysinibacillus fusiformis</i> , <i>Bacillus licheniformis</i> , <i>Pseudomonas putida</i> , <i>Microbacterium oleivorans</i> , <i>Serratia plymuthica</i> , <i>Listeria spp.</i>	[64, 65, 66]
4.	Čiobrelis, gvazdikėlis	<i>L. monocytogenes</i>	[67, 68]
5.	Česnakas, imbieras	<i>E. coli</i> , <i>S. typhimurium</i>	[69, 70, 71]
6.	Čiobrelis	<i>L. monocytogenes</i> , <i>S. aureus</i> , <i>S. epidermidis</i> , <i>E. coli</i> , <i>Klebsiella spp.</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>Enterococcus aerogenes</i> , <i>Proteus vulgaris</i> , <i>Enterobacter sakazakii</i>	[72, 73, 74]
7.	Raudonėlis	<i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i> , <i>E. coli</i> O157:H7, <i>P. aeruginosa</i> , <i>Lactobacillus plantarum</i>	[75, 76, 77]
8.	Raudonėlis, čiobrelis	<i>P. aeruginosa</i> (konc. 1500-2500 ppm), <i>L. monocytogenes</i> , gedimo mikroorganizmai	[78, 79, 80]
9.	Paprastasis pankolis	<i>F. oxysporum</i> (40 ppm visiškai micelio augimo slopinimas), gram-teigiamos bakterijos	[81, 82]
10.	Paprastoji trikažolė	<i>S. aureus</i> , <i>S. albus</i> , <i>S. typhimurium</i> , <i>E. coli</i> , <i>L. monocytogenes</i> , <i>A. niger</i> , <i>Acari parasitus</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>Proteus morgani</i>	[83]
11.	Paprastoji kraujažolė	<i>E. coli</i> , <i>Candida albicans</i>	[84]
12.	Greipfrutų sėklų ekstraktas	<i>Pseudomonas spp.</i>	[85]
13.	Žaliosios arbatos ekstraktas	<i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i> , <i>L. monocytogenes</i> , <i>Bacillus coagulans</i> , <i>Shigella flexneri</i>	[86]
14.	Paprikų ekstraktas	<i>P. aeruginosa</i> (konc. 3000 ppm)	[87]

Nustatyta, jog 0,05–0,1 % eterinių aliejų koncentracijos maisto produktuose slopina augimą tokių patogenų, kaip *S. typhimurium*, *E. coli* O157:H7, *L. monocytogenes*, *B. cereus* ir *S. aureus*. Tačiau neretai antimikrobinio poveikio pasizymi didesnės augalų ekstraktų ar eterinių aliejų koncentracijos, nei yra dedamos į maisto produktus – pagerinti. Padidinus šių junginių koncentracijas – maisto įdangų savybės vartotojams gali tapti nepriimtinos [59].

Pastaruoju metu vykdomi augalų ekstraktų ir eterinių aliejų pritaikymo įvairių maisto produktų konservavimui tyrimai. Tokiomis fitocheminėmis medžiagomis bandoma konservuoti įvairių vaisių sultis ar netgi apipurkšti uogas ir vaisius, siekiant sulėtinti jų nokimo procesą ir apsaugoti nuo godimo, pvz., eugenolis, mentolis ir timolis buvo panaudoti braškių galiojimo laikui prailginti [88].

Tačiau daugiausiai įvairių augalų biologškai aktyvios medžiagos panaudojamos mėsos pramonėje. Išskirtinėmis antimikrobinėmis savybėmis pasižymi česnako ekstraktas. Daugelis tyrimų parodė, kad česnako ekstraktas efektyviai slopina daugelio patogenų vystymąsi: *S. aureus*, *S. albus*, *S. typhimurium*, *E. coli*, *L. monocytogenes*, *A. niger*, *P. aeruginosa*, *P. smorgani* [45, 89]. Buvo nustatyta, jog vandeninis česnako ekstraktas slopino fakultatyvių aerobų, mezofilų, ir fekalinių koliformų, esančių ant sušaldytos naminių paukščių mėsos paviršiaus vystymąsi [90]. Park ir Kim [91] nustatė, jog į šalto rūkymo dešras įterpus 1 ir 3 % koncentracijos česnako sulčių – aerobinių kolonijų skaičius sumažėjo.

Įvertinus kelių tipų svogūnų ir česnakų eterinių aliejų ekstraktus, nustatytas skirtingas poveikis, tačiau visi jie veikė prieš bakterijas ir mikromicetus, todėl gali būti naudojami kaip maisto konservantai. Jų naudojimą gali riboti tik būdingas šiems augalams stiprus kvapas [92].

Cwikla ir kt. [93] ištyrė 21 hidroetanolinių augalinių ekstraktų ir 4 aliejų poveikį *C. jejuni* *in vitro*. Tyrimo metu nustatyta, kad efektyviausiai veikė vaistinė medetka (*Calendula officinalis*) ir tikrasis imbieras (*Zingiber officinale*) (20 mg/ml sauso svorio su 3,6 % etanolio), vaistinė ramunėlė (*Matricaria recutita*), vaistinis šalavijas (*Salvia officinalis*) ir paprastasis pankolis (*Foeniculum vulgare*) (20 mg/ml sauso masės su 2,4 % etanolio) bei tikrasis margainis (*Silybum marianum*) (40 mg/ml sauso svorio su 2,8 % etanolio).

Augalinių aliejų poveikį prieš *C. jejuni* *in vitro* analizavo Friedman ir kt. [94]. Ištyrus 96 aliejų poveikį nustatyta, jog efektyviausi *Campylobacter* spp augimą slopino medetka, imbiero šaknys, jazminas, pačulė, gardenija, kedro žievė, morkų sėklos, saliero sėklos, paprastojo kiečio, nardo,

karčiųjų apelsinų aliejus koncentracijomis nuo 0,003 iki 0,009 %. Nei vienas iš šių aliejų efektyviai neslopino *E. coli* ir *S. enterica* augimo, o *L. monocytogenes* augimą efektyviai slopino tik pačulė ir gardenija. Riedel ir kt. [95] nustatė, jog 1,6 % koncentracijos greipfrutų sėklų ekstraktas *C. jejuni* skaičių vištienos paviršiuje sumažino 3,5 log₁₀ KSV/g, mirkant 1 min.

Rattanachaikunsopon ir kt. [96] nustatė, kad 0,03–0,06 % koncentracijos blakinės kalendros (*Coriander sativum*) aliejus baktericidiškai veikė prieš *C. jejuni* *in vitro*. Didesnė, 0,5 %, koncentracija veikė baktericidiškai prieš *Campylobacter* spp vištienoje ir jautienoje, 4 °C ir 32 °C temperatūrose. Rossi su bendraautorais [97] nustatė, kad paprastosios morkos (*Daucus carota* L.) aliejus pasižymi inhibiciniu poveikiu prieš *C. jejuni*. Mokslininkų grupė [94] ištyrė 23 augalinių aliejų komponentų poveikį *C. jejuni* *in vitro* ir nustatė, jog patys veiksmingiausi (esant 0,003–0,034 % koncentracijai) buvo estragolis, karvakrolis, benzaldehidai, citrinos rūgštis, timolis, eugenolis, perillaldehidai, karvonas R, geranil-acetatas, cinnamaldehydai. Svarbu tai, kad tik šiek tiek didesnės nei kurių iš šių medžiagų (cinnamaldehydai, karvakrolis, timolis, estragolis, eugenolis, perillaldehidai) koncentracijos (0,019–0,43 %) taip pat efektyviai slopino *E. coli*, *L. monocytogenes* ir *S. Enterica* augimą.

Timolio poveikis *C. jejuni* buvo tirtas *in vitro* [98]. 1,0 μmol/ml timolio koncentracija *Campylobacter* spp augimą terpeje be pašalinės mikrofloros per 24 h nuslopino daugiau nei 5,0 log₁₀ KSV/g. Ta pati koncentracija, esant pašalinei mikroflorai, *Campylobacter* spp augimą nuslopino daugiau 3,0 log₁₀ KSV/g. Si ir kt. [99] nustatė, kad timolio MIC 0,66, 1,10 ir 1,55 μmol/ml koncentracijos atitinkamai efektyviai slopino *E. coli* K88, *E. coli* O157:H7 ir *S. typhimurium* DT104 augimą.

Lui ir kt. [100] *in vitro* tyrė cinnamaldehydo ir karvakrolio poveikį trimis *C. jejuni* padermėms, pasižyminčioms skirtingu atsparumu antibiotikams. Buvo nustatyta, kad cinnamaldehydas veikė efektyviau nei karvakrolis: efektyviausia 0,02 % cinnamaldehydo koncentracija 100 % slopino *C. jejuni*. Du su bendraautorais [101] ištyrė cinnamaldehydo ir karvakrolio poveikį vištienos skerdenėlėse trimis *C. jejuni* padermėms, pasižyminčioms skirtingu atsparumu antibiotikams. Nustatyta, kad cinnamaldehydas efektyviausiai veikė 23 °C temperatūroje ir *Campylobacter* spp skaičių sumažino žemiau aptikimo ribos. Engels ir kt. [102] nustatė, kad *C. jejuni* augimui ant paukštienos slopinti galima naudoti iš mango vaisių išskirtus galotanus, kurie baktericidiškai veikė ir kitų rūšių

bakterijas (*B. subtilis*, *B. cereus*, *Clostridium botulinum*, *L. monocytogenes*, *S. aureus*). Tačiau paaiškėjo, kad pieno rūgšties bakterijos yra natūraliai atsparios galotaninams.

Įvairių augalų eteriniai aliejai taip pat vis plačiau naudojami mėsos gaminių pramonėje. Mokslininkai įvertino keletą augalų eterinių aliejų: gvazdikėlių, eukalipto, citrinų, mėtų, pušų, rozmarino, baziliko, arbatžolių poveikį *E. coli* kultūrų augimui ir gyvybingumui slopinti mėsos produktams. Tyrimai atlikti taikant difuzijos į agarą metodą bei nustatant minimalią slopinančią (MIC) ir baktericidinę koncentracijas. Difuzijos į agarą metodu nustatyta, kad visų kultūrų jautrumas buvo panašus. Stipriausiu poveikiu pasižymėjo gvazdikėlių eterinis aliejus, jo MIC ir baktericidinė koncentracija siekė atitinkamai 0,25 % ir 0,3 ml/100ml [103].

Fasseas ir kt. [104] nustatė, kad raudonėlio eterinis aliejus (su 3,0 % raudonėlio), prailgino vištienos krutinės galiojimo laiką, mažindamas mikroorganizmų vystymąsi. Kiti autoriai [105] taip pat nustatė, jog raudonėlio eterinio aliejaus 0,05, 0,5 ir 1,0 % koncentracijos sustabdė mikroorganizmų vystymąsi ir sumažino gedimo mikroorganizmų skaičių paukštienoje. Tačiau paaiškėjo, kad 1,0 % raudonėlio eterinis aliejus pasižymėjo nepriimtinais juslinėmis savybėmis [106, 107]. Mokslininkų grupė iš Vokietijos [108] analizavo skirtingų augalinių eterinių aliejų veiksmingumą ir nustatė, kad čiobrelės eterinis aliejus vištienoje efektyviausiai slopino *B. amyloliquefaciens* augimą. Čiobrelės ir lauro lapų aliejus baktericidiškai veikė ir prieš *C. jejuni*, *S. enteritidis*, *E. coli*, *S. aureus* bei *L. monocytogenes in vitro*.

Mytle ir kt. [109] vertino skirtingų koncentracijų (su 1,0 ir 2,0 % gvazdikėlių) aliejų poveikį ir nustatė, jog šis aliejus slopino *L. monocytogenes* vystymąsi rūkytose dešrelėse laikant jas 5 °C ir 15 °C temperatūroje, o 0,5 ir 1,0 % gvazdikėlio aliejaus koncentracijos sustabdė *L. monocytogenes* vystymąsi kapotoje avienoje [110]. Gvazdikėlių aliejus efektyviai naikino ir kitus maiste aptinkamus patogenus: *C. jejuni*, *S. enteritidis*, *E. coli* ir *S. aureus* [111]. Literatūroje minima, kad fenoliniai junginiai, ypač rozmarinų rūgštis, pasižymi antiseptinėmis savybėmis [112]. Sebranek ir kt. [113] pranešė, kad, pridėjus rozmarino ekstrakto į kiaulienos dešras iki 2500 ppm lygmens, pailgėjo dešrų galiojimo laikas. Kymų sėklų eterinis aliejus efektyviai slopino *A. niger*, *B. subtilis*, *S. epidermidis*, *S. cerevisiae*, *C. albicans* [56].

Remiantis antimikrobinio poveikio tyrimais, atliktais su pražangialapės mirtinės (*Malaleuca alternifolia*) ir tikrojo imbiero (*Zingiber officinale*) eteriniais aliejais, nustatyta, kad eteriniams aliejams labiau jautrios gram-teigiamos bakterijos [114, 115].

Mažesni gram-neigiamų bakterijų jautrumą eteriniams aliejams galima paaiškinti skirtinga bakterijų ląstelių sienelės membranos sandara [116]. Panašius rezultatus gavo ir Šarkinas ir kt. [5], nustatę, jog gram-neigiamos bakterijų kultūros gali būti jautresnės už gram-teigiamas bakterijų kultūras.

Mokslininkų nustatyta, jog antimikrobiškai veikia ir įvairiose uogose esantys antocianinai. Vyšnių antocianinų daug turintys vaisių ekstraktai (nokimo pradžioje – 82 µg/100µl C-3-G, esant techninei brandai – 250 µg/100µl C-3-G) slopino *S. aureus* augimą [117]. *S. typhimurium* 18 h kultūros ir 5 paras išlaikytos 17–20 °C temperatūroje kultūros jautrumas mėlynų, spanguolių, juodųjų serbentų uogų ir išspaudų antocianinams skiriasi – jaunos kultūros jautresnės [118].

Tyrinėjamos ne tik augalų ekstraktų, bet ir jų kompozicijų antimikrobinės savybės. Augalų kompozicijų slopinantis efektas paprastai stipresnis [119]. Taip pat išbandomi ekstraktų deriniai su įvairiomis cheminėmis medžiagomis: pvz., iš prieskonių išskirtų antimikrobinų medžiagų kompozicijos su organinėmis rūgštimis efektyviai slopino *C. perfringens* augimą [120]. Nustatyta, jog tiek vienas šalavijo ekstraktas, tiek jo junginys su natrio izoaskorbinu sumažino koliforminių bakterijų skaičių vakuume supakuotuose kalakutienos faršo kukuliuose, ir pagerino virtų mėsos kukulių juslines savybes [121].

Pastaruoju metu aktyviai ieškoma pžangesnių maisto produktų pakavimo būdų, todėl biologiškai veiklias augalų medžiagas bandoma pritaikyti ir šioje srityje. Į pakuotes įterptos tokios medžiagos pamažu išsiskiria į atmosferą ir veikia kaip maisto konservantai. Tokios antimikrobiškai aktyvios pakuotės gali prailginti produktų galiojimo laiką ir apsaugoti vartotojus slopinant ar sustabdant nepageidaujamų mikroorganizmų augimą [122]. Tuo tikslu ypač tinka panaudoti eterinius aliejus, kurie yra lakūs ir netgi tiesiogiai nekontaktuodami su produktu gali veikti antimikrobiškai. Be to, panaudojami tokiu būdu eteriniai aliejai neturi įtakos produkto juslinėms savybėms [123].

Išvados

Įvairūs augalų ekstraktai ir eteriniai aliejai veikia antimikrobiškai *in vitro*, o kai kurių junginių šios savybės pritaikomos ir maisto pramonėje. Augalų ekstraktų ir eterinių aliejų panaudojimą maisto pramonėje lemia veikliųjų medžiagų įvairovė ir jų kiekiai, kurie gali kisti priklausomai nuo augalų augimo sąlygų, koncentracijos, kurios turėtų būti didesnės nei nustatytos *in vitro* sąlygomis ir poveikis skirtingoms bakterijų rūšims. Visame pasaulyje atlikti tyrimai parodė, jog gram-teigiami mikroorganizmai yra ženkliai jautresni

antimikrobiniam fitochemikalų poveikiui nei gramneigiami. Atsižvelgiant į išaugusį vartotojų susidomėjimą natūraliais maisto ingredientais, tikėtina, jog šių natūralių maisto konservantų panaudojimo galimybės ateityje tik didės, o kartu tai taps ir atskira mokslinių tyrimų sritimi. Tačiau šiandien dar egzistuoja problemų, trukdančių kasdieniniam šių biologiškai aktyvių junginių panaudojimui. Viena iš jų – poveikis maisto juslinėms savybėms. Dėl nepriimtinių juslinių savybių suteikimo – augalų eteriniai aliejai ir jų koncentracijos turėtų būti parenkami itin kruopščiai. Atsižvelgiant į tobulėjančias maisto gamybos ir pakavimo technologijas labai svarbu įdiegti natūralių konservuojančių ingredientų panaudojimo galimybes, tokiu būdu išsaugant ne tik maisto šviežumą, užtikrinant jo kokybę, apsaugant vartotoją, bet ir tenkinant vartotojų poreikius įsigyti natūralesnių gaminių.

Literatūra

1. Elgayyar M., Draughon F. A., Golden D. A., Mount J. R. Antimicrobial activity of essential oils from plants against selected pathogenic and saprophytic microorganisms // *Journal of Food Protection*. 2001. Vol. 64. P. 1019–1024.
2. McCrory D. F., Hobbs P. J. Additives to reduce ammonia and odor emissions from livestock wastes: a review // *Journal of Environmental Quality*. 2001. Vol. 30. P. 345–355.
3. Singh G., Kapoor I. P., Pandey S. K., Singh U. K. Studies on essential oils: part 10; antibacterial activity of volatile oils of some spices // *Phytotherapy Research*. 2002. Vol. 16. P. 680–682.
4. Ibrahim A. Al Mofleh. Spices, herbal xenobiotics and the stomach: Friends or foes? // *World Journal of Gastroenterology*. 2010. Vol. 16, No. 22. P. 2710–2719.
5. Šarkinas A. Bakterijų jautrumo antimikrobinėms medžiagoms priklausomybė nuo kultūrų fiziologinės būklės ir kultivavimo temperatūros // *Maisto chemija ir technologija*. 2005. T. 39, Nr. 1. P. 76–81.
6. Canillac N., Mourey A. Effects of several environmental factors on the anti-*Listeria monocytogenes* activity of an essential oil of *Picea excelsa* // *Internacional Journal of Food Microbiology*. 2004. Vol. 92, No. 1. P. 95–103.
7. Rau J., Maris B., Kinget R., Samyn C., Van Den Mooter G., Stoltz A. Enhanced anaerobic degradation of polymeric azo compounds by *Escherichia coli* in the presence of low-molecular-weight redox mediators // *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2002. Vol. 54, No. 11. P. 1471–1479.
8. Pessoa L. M., Morais S. M., Bevilacqua C. M., Luciano J. H. Anthelmintic activity of essential oil of *Ocimum gratissimum* Linn. and eugenol against *Haemonchus contortus* // *Veterinary Parasitology*. 2002. Vol. 109, No. 1–2. P. 59–63.
9. Ozkan G., Baydar H., Erbas S. The influence of harvest time on essential oil composition, phenolic constituents and antioxidant properties of Turkish oregano (*Origanum onites* L.) // *Journal Science Food Agriculture*. 2010. Vol. 90, No. 2. P. 205–209.
10. Baydar H., Sagdic O., Ozkan G., Karadogan T. Antibacterial activity and composition of essential oils from *Origanum*, *Thymbra* and *Satureja* species with commercial importance in Turkey // *Food Control*. 2004. Vol. 15, No. 3. P. 169–172.
11. Marino M., Bersani C., Comi G. Antimicrobial activity of the essential oils of *Thymus vulgaris* L. using a bioimpedometric method // *Journal of Food Protection*. 1999. Vol. 62. P. 1017–1023.
12. Tepe B., Daferera D., Sokmen M., Polissiou M., Sokmen A. In vitro antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils and various extracts of *Thymus ezigii* M. Zohary et P. H. Davis // *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 2004. Vol. 52, No. 5. P. 1132–1137.
13. Šarkinas A. Augalų eterinių aliejų ir ekstraktų lakių junginių antimikrobinės savybės // *Maisto chemija ir technologija*. 2008. T. 2, Nr. 42. P. 104–105.
14. Guynot M. E., Ramos A. J., Seto L., Purroy P., Sanchis V., Marin S. Antifungal activity of volatile compounds generated by essential oils against fungi commonly causing deterioration of bakery products. // *Journal of Applied Microbiology*. 2003. Vol. 94. P. 893–899.
15. Pengelly A. The Constituents of Medicinal Plants. Allen & Unwin, Ozkan, 2003.
16. Ozkan G., Sagdic O., Ozcan M. Inhibition of pathogenic bacteria by essential oils at different concentrations. // *International Journal of Food Science of Technology*. 2003. Vol. 9. P. 85–88.
17. Ramya S., Kalaivani T., Rajasekaran C., Jeyachandramohan P., Alaguchamy N., Kalayansundaram M., Jayakumararaj R. Antimicrobial activity of aqueous extracts of bark, root, leaves and fruits of *Terminalia arjuna* wight and arn // *Ethnobotanical Leaflets*. 2008. Vol. 12. P. 1192–1197.
18. Ponce A., Roura S. L., Moreira M. Essential oils as biopreservatives: different methods for the technological application in lettuce leaves // *Journal of Food Science*. 2011. Vol. 76. P. 34–40.
19. Tiwari B. K., Valdramidis V. P., O'Donnell C. P., Muthukumarappan K., Bourke P., Cullen P. J. Application of natural antimicrobials for food preservation // *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 2009. Vol. 57. P. 5987–6000.
20. Basbulbul G., Ozmen A., Biyik H. H., Ozge S. Antimitotic and antibacterial effects of the *Primula veris* L. flower extracts // *Caryologia*. 2008. Vol. 61, No. 1. P. 88–91.
21. Rababah T., Hettiarachchy N. S., Eswaranandam S., Meullenet J. F., Davis B.

- Sensory evaluation of irradiated and nonirradiated poultry breast meat infused with plant extracts // *Journal of Food Science*. 2005. Vol. 70, No. 3. P. 228–235.
22. Sacchetti G., Maietti S., Muzzoli M., Scaglianti M., Manfredini S., Radice M. Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods // *Food Chemistry*. 2005. Vol. 91. P. 621–632.
23. Huiyun K. Reducing health disparities by improving food environments: Recommendations for the healthy food financing initiative // *Michigan Journal of Social Work and Social Welfare*. 2009. Vol. 2, No. 2. P. 107–114.
24. Liu H. M., Akiyama T., Sugimoto N., Maitani T. Isolation and identification of main constituents in an enzymatically hydrolysed licorice extract sweetener // *Food Additives and Contaminants*. 2001. Vol. 18, No. 4. P. 281–284.
25. Giese J. Dietary supplement analysis // *Food Technology*. 2003. Vol. 57, No. 8. P. 92–94.
26. Svoboda K., Brooker J. D., Zrstova, J. Antibacterial and antioxidant properties of essential oils: Their potential applications in the food industries. // *Acta Horticulturae (ISHS)*. 2006. Vol. 709. P. 35–44.
27. Burt S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in food – a review // *International Journal of Food Microbiology*. 2004. Vol. 94. P. 223–253.
28. Chye F. Y., Hoh S. N. Antimicrobial activity of flavonoid extracts from Sabah tea (*Camellia sinensis*) against *Escherichia coli* and *Listeria monocytogenes* // *Journal of Tropical Food Science*. 2007. Vol. 35. P. 245–251.
29. Orhan D. D., Ozcelik B., Ozgen S., Ergun F. Antibacterial, antifungal, and antiviral activities of some flavonoids // *Microbiological Research*. 2010. Vol. 165, No. 6. P. 496–504.
30. Rattanachaiakunson P., Phumkhachorn P. Contents and antibacterial activity of flavonoids extracted from leaves of *Psidium guajava* // *Journal of Medicinal Plants Research*. 2010. Vol. 4, No. 5. P. 393–396.
31. Ozcelik B., Orhan D. D., Ozgen S., Ergun F. Antimicrobial activity of flavonoids against extended-spectrum β -lactamase (ESBL)-producing *Klebsiella pneumoniae* // *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. 2008. Vol. 7. P. 1151–1157.
32. Ignacimuthu S., Pavunraj M., Durairaj V., Raja N., Muthu C. Antibacterial activity of a novel quinone from the leaves of *Pergularia daemia* // *Asian Journal of Traditional Medicines*. 2009. Vol. 4. P. 36–40.
33. Singh D. N., Verma N., Raghuvanshi S., Shukla P. K., Kulshreshtha D. K. Antifungal anthraquinones from *Saprosma fragrans* // *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*. 2006. Vol. 16, No. 17. P. 4512–4514.
34. Engels C., Knodler M., Zhao Y. Y., Carle R., Ganzle M. G., Schieber A. Antimicrobial activity of gallotannins isolated from mango (*Mangifera indica* L.) kernels // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2009. Vol. 57, No. 17. P. 7712–7718.
35. Basile A., Sorbo S., Spadaro V. Bruno M., Maggio A., Faraone N., Rosselli S. Antimicrobial and antioxidant activities of coumarins from the roots of *Ferulago campestris* (Apiaceae) // *Molecules*. 2009. Vol. 14, No. 3. P. 939–952.
36. Venugopala K. N., Rashmi V., Odhav B. Review on natural coumarin lead compounds for their pharmacological activity // *BioMed Research International*. 2013. Vol. 16. P. 1–14.
37. Saleem M., Nazir M., Ali M. S., Hussain H., Lee Y. S., Riaz N., Jabbar A. Antimicrobial natural products: an update on future antibiotic drug candidates // *Natural Product Reports*. 2010. Vol. 27, No. 2. P. 238–254.
38. Bach S., Fortuna M. A., Attarian R., de Trimarco J. T., Catalán C. A., Av-Gay Y., Bach H. Antibacterial and cytotoxic activities of the sesquiterpene lactones cnicin and onopordopicrin // *Natural Product Communications*. 2011. Vol. 6, No. 2. P. 163–166.
39. Mathabe M. C., Hussein A. A., Nikolova R. V., Basson A. E., Meyer J. J. M., Lall N. Antibacterial activities and cytotoxicity of terpenoids isolated from *Spirostachys africana* // *Journal of Ethnopharmacology*. 2008. Vol. 116, No. 1. P. 194–197.
40. Petnual P., Sangvanich P., Karachanatat A. A lectin from the rhizomes of turmeric (*Curcuma longa* L.) and its antifungal, antibacterial, and α -glucosidase inhibitory activities // *Food Science and Biotechnology*. 2010. Vol. 19, No. 4. P. 907–916.
41. Kheeree N., Sangvanich P., Puthong S., Karachanatat A. Antifungal and antiproliferative activities of lectin from the rhizomes of *Curcuma amarissima* Roscoe // *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 2010. Vol. 162, No. 3. P. 912–925.
42. Kyung K. H. Antimicrobial properties of allium species // *Current Opinion of Biotechnology*. 2012. Vol. 23. P. 142–147.
43. Wangang Z., Shan X., Himali S., Lee E. J., Dong U. A. Improving functional value of meat products // *Meat Science*. 2010. Vol. 86. P. 15–31.
44. Park W. Y., Kim Y. J. Effect of garlic and onion juice addition on the lipid oxidation, total plate counts and residual nitrite contents of emulsified sausage during cold storage // *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*. 2009. Vol. 29. P. 612–618.
45. Maidment D. C. F., Dembay Z., Harding C. A study into the antibiotic effect of garlic *Allium sativum* on *Escherichia coli* and *Staphylococcus albus* // *Nutrition and Food Science*. 1999. Vol. 4. P. 170–172.

46. Lissiman E., Bhasale A. L., Cohen M. Garlic for the common cold (Review) // Cochrane Database of Systematic Reviews. 2012. Vol. 3. P. 1–18.
47. Issa M., Karabet F., Aljoubbeh M. Total polyphenols, flavonoid content, kaempferol concentration and antioxidant activity of two onion Syrian // International Journal of ChemTech Research. 2013. Vol. 5, No. 5. P. 2375–2380.
48. Viškelis P., Bobinaite R., Rubinskienė M. Biochemical composition and antioxidant properties of raspberries during ripening // Sodininkystė ir daržininkystė. 2007. Vol. 26, No. 4. P. 161–173.
49. Lee J., Rennaker C., Wrolstad R. E. Correlation of two anthocyanin quantification methods: HPLC and spectrophotometric methods // Food Chemistry. 2008. Vol. 110. P. 782–786.
50. Fleschhut J., Kratzer F., Rechkemmer G. Stability and biotransformation of various dietary anthocyanidins *in vitro*. // European Journal of Nutrition. 2006. Vol. 45. P. 7–18.
51. Lee B. B., Cha M. R., Kim S. Y. Antioxidative and anticancer activity of extracts of cherry (*Prunus serrulata* var. *Spontanea*) blossoms // Plant Foods for Human Nutrition. 2007. Vol. 62. P. 79–84.
52. Cicerale S., Lucas L. J., Keast R. S. J. Antimicrobial, antioxidant and anti-inflammatory phenolic activities in extra virgin olive oil // Current Opinion in Biotechnology. 2012. Vol. 23. P. 129–135.
53. Padovan L., Scocchi M., Tossi A. Structural aspects of plant antimicrobial peptides // Current Protein and Peptide Science. 2010. Vol. 11. P. 210–219.
54. Ng T. B. Antifungal proteins and peptides of leguminous and non-leguminous origins // Peptides. 2004. Vol. 25. P. 1215–1222.
55. Mican K. H., Mohamed S. Flavonoid (*Myricetin*, *Quercetin*, *Kaempferol*, *Luteolin*, and *Apigenin*) content of edible tropical plants // Journal of Agriculture and Food Chemistry. 2001. Vol. 49, No. 6. P. 3106–3112.
56. Jirovetz L., Wlcek K., Buchbauer G., Stoilova I., Atanasova T., Stoyanova A., Krastanov A., Schmidt E. Chemical composition, olfactory evaluation and antioxidant effects of essential oil from *Mentha canadensis* // Natural Production Communications. 2009. Vol. 4, No. 7. P. 1011–1016.
57. Cort W. M. Hemoglobin peroxidation test screens antioxidants // Food Technology. 1974. Vol. 28. P. 60–66.
58. Cuvelier M., Berset C., Richard H. Antioxidant constituents in sage (*Salvia officinalis*) // Journal of Agriculture and Food Chemistry. 1994. Vol. 42. P. 665–669.
59. Bagamboula C. F., Uyttendaele M., Debevere J. Inhibitory effect of thyme and basil essential oils, carvacrol, thymol, estragol, linalol and p-cymene towards *Shigella sonnei* and *S. flexneri* // Food Microbiology. 2004. Vol. 21. P. 33–42.
60. Cordeiro R. P., Wu C., Holley R. A. Contribution of endogenous plant myrosinase to the antimicrobial activity of deodorized mustard against *Escherichia coli* O157:H7 in fermented dry sausage // International Journal of Food Microbiology. 2014. Vol. 189. P. 132–138.
61. Graumann G. H., Holley R. A. Inhibition of *Escherichia coli* O157:H7 in ripening dry fermented sausage by ground yellow mustard // Journal of Food Protection. 2008. Vol. 71, No. 3. P. 486–493.
62. Luciano F. B., Belland J., Holley R. A. Microbial and chemical origins of the bactericidal activity of thermally treated yellow mustard powder toward *Escherichia coli* O157:H7 during dry sausage ripening // International Journal of Food Microbiology. 2011. Vol. 145. P. 69–76.
63. Luciano F. B., Holley R. A. Bacterial degradation of glucosinolates and its influence on the growth of *E. coli* O157:H7 in a dry-fermented sausage mode // Fleischwirtschaft International. 2010. Vol. 25, No. 6. P. 67–70.
64. Trivedi P., Spann T., Wang N. Isolation and characterization of beneficial bacteria associated with citrus roots in Florida // Microbiology and Ecology. 2011. Vol. 62. P. 324–336.
65. Vinda-Martos M., Ruiz-Navajas Y., Fernández-López J., Pérez-Álvarez J. A. Effect of added citrus fibre and spice essential oils on quality characteristics and shelf-life of mortadella // Meat Science. 2010. Vol. 85. P. 568–576.
66. Sendra E., Fayos P., Lario Y., Fernandez-Lopez J., Sayas-Barbera E., Perez-Alvarez J. A. Incorporation of citrus fibers in fermented milk containing probiotic bacteria // Food Microbiology. 2008. Vol. 25. P. 13–21.
67. Solomakos N., Govarisa P., Koidish A., Botsoglou N. The antimicrobial effect of thyme essential oil, nisin, and their combination against *Listeria monocytogenes* in minced beef during refrigerated storage // Food Microbiology. 2008. Vol. 25. P. 120–127.
68. Solomakos N., Govaris A., Koidis P., Botsoglou N. The antimicrobial effect of thyme essential oil, nisin and their combination against *Escherichia coli* O157:H7 in minced beef during refrigerated storage // Meat Science. 2008. Vol. 80. P. 159–166.
69. Viswanathan V., Phadattare A. G., Mukne A. Antimycobacterial and antibacterial activity of *Allium sativum* bulbs // Indian Journal of Pharmacology Science. 2014. Vol. 76, No. 3. P. 256–61.
70. EL-Mahmoud M. A. Efficacy of crude extracts of garlic (*Allium sativum* Linn.) against nosocomial *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae* and *Pseudomonas aeruginosa* // Journal of Medicinal Plants Research. 2009. Vol. 3. P. 179–85.

71. Ross Z. M., O'Gara E. A., Hill D. J., Sleightolme H. V., Maslin D. J. Antimicrobial properties of garlic oil against human *enteric* bacteria: Evaluation of methodologies and comparisons with garlic oil Sulfides and garlic powder // *Applied Environmental Microbiology*. 2009. Vol. 67. P. 475–80.
72. Martins N., Barrosa L., Santos-Buelga C., Silva S., Henriques M., Ferreira I. C. F. R. Decoction, infusion and hydroalcoholic extract of cultivated thyme: Antioxidant and antibacterial activities, and phenolic characterisation // *Food Chemistry*. 2015. Vol. 167. P. 131–137.
73. Fatma G., Mouna B. F., Mondher M., Ahmed L. In-vitro assessment of antioxidant and antimicrobial activities of methanol extracts and essential oil of *Thymus hirtus* spp. Algeriensis // *Lipids in Health and Disease*. 2014. Vol. 13, No. 114. P. 1–12.
74. Rivas L., McDonnell M. J., Burgess C. M., O'Brien Martin, Navarro-Villa A., Fanning S., Duffy G. Inhibition of verocytotoxigenic *Escherichia coli* in model broth and rumen systems by carvacrol and thymol // *International Journal of Food Microbiology*. 2010. Vol. 139. P. 70–78.
75. Zhou F., Ji B., Zhang H., Jiang H., Yang Z., Li J., Li J., Ren Y., Yan W. Synergistic effect of thymol and carvacrol combined with chelators and organic acids against *Salmonella Typhimurium* // *Journal of Food Protection*. 2007. Vol. 70. P. 1704–1709.
76. Hart K. J., Yáñez-Ruiz D. R., Duval S. M., McEwan N. R., Newbold C. J. Plant extracts to manipulate rumen fermentation // *Animal Feed Science and Technology*. 2008. Vol. 147. P. 8–35.
77. Hernández-Hernández E., Regalado-González C., Vázquez-Landaverde P., Guerrero-Legarreta I., García-Almendárez B. E. Microencapsulation, chemical characterization, and antimicrobial activity of Mexican (*Lippia graveolens* H.B.K.) and European (*Origanum vulgare* L.) oregano essential oils // *Scientific World Journal*. 2014. Vol. 2014. P. 1–12.
78. Sung S. H., Kim K. H., Jeon B. T., Cheong S. H., Park J. H., Kim D. H. et al. Antibacterial and antioxidant activities of tannins extracted from agricultural by-products // *Journal of Medicinal Plants Research*. 2012. Vol. 6, No. 15. P. 3072–3079.
79. Busatta C., Vidal R. S., Popielski A. S., Mossi A. J., Dariva C., Rodrigues M. R. A., Corazza F. C., Corazza M. L., Vladimir Oliveira J., Cansian R. L. Application of *Origanum majorana* L. essential oil as an antimicrobial agent in sausage // *Food Microbiology*. 2008. Vol. 25. P. 207–211.
80. de Las Mercedes Oliva M., Carezzano M. E., Giuliano M., Daghero J., Zygadlo J., Bogino P., Giordano W., Demo M. Antimicrobial activity of essential oils of *Thymus vulgaris* and *Origanum vulgare* on phytopathogenic strains isolated from soybean // *Plant Biology*. 2014. Vol. 59, No. 1–2. P. 35–38.
81. Senatore F., Oliviero F., Scandolera E., Tagliatela-Scafati O., Roscigno G., Zaccardelli M., De Falco E. Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of anethole-rich oil from leaves of selected varieties of fennel // *Fitoterapia*. 2013. Vol. 90. P. 214–219.
82. Özcan M. M., Chalchat J. C., Arslan D., Ates A., Ünver A. Comparative essential oil composition and antifungal effect of bitter fennel (*Foeniculum vulgare* ssp. *piperitum*) fruit oils obtained during different vegetation // *Journal of Medicinal Food*. 2006. Vol. 9, No. 4. P. 552–561.
83. Signorello C., Marchi A., Bertoni A., Burlacchini G., Milli A., Tessarolo F. et al. Effects of mushroom and chicory extracts on the shape, physiology and proteome of the cariogenic bacterium *Streptococcus mutans* // *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 2013. Vol. 29. P. 213–217.
84. Kazemi M., Rostami H. Chemical composition and biological activities of Iranian *Achillea wilhelmii* L. essential oil: a high effectiveness against *Candida* spp. and *Escherichia strains* // *Natural Product Research*. 2014. Vol. 11. P. 1–3.
85. Bevilacqua A., Ficelo S., Corbo M. R., Sinigaglia M. Bioactivity of grapefruit seed extract against *Pseudomonas* spp. // *Journal of Food Processing and Preservation*. 2010. Vol. 34, No. 3. P. 495–507.
86. Sung S., Kim H., Jeon K. H., Cheong B. T., Park S. H., Kim J. H. et al. Antibacterial and antioxidant activities of tannins extracted from agricultural by-products // *Journal of Medicinal Plants Research*. 2012. Vol. 6, No. 15. P. 3072–3079.
87. Teixeira B. N., Ozdemir N., Hill L. E., Gomes C. L. Synthesis and characterization of nano-encapsulated black pepper oleoresin using hydroxypropyl beta-cyclodextrin for antioxidant and antimicrobial applications // *Journal of Food Science*. 2013. Vol. 78, No. 12. P. 1913–1920.
88. Wang C. Y., Wang S. Y., Yin J. J., Parry J. Yu L. L. Enhancing antioxidant, antiproliferation, and free radical scavenging activities in strawberries with essential oils // *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 2007. Vol. 55, No. 16. P. 6527–6532.
89. Kumar M., Berwal J. S. Sensitivity of food pathogens to garlic (*Allium sativum*) // *Journal of Applied Microbiology*. 1998. Vol. 84. P. 213–215.
90. Oliveira K. A. M., Santos-Mendonça R. C., Gomide L. A. M., Vanetti M. C. D. Aqueous garlic extract and microbiological quality of refrigerated poultry meat // *Journal of Food Processing and Preservation*. 2005. Vol. 29. P. 98–108.
91. Park W. Y., Kim Y. J. Effect of garlic and onion juice addition on the lipid oxidation, total plate

- counts and residual nitrite contents of emulsified sausage during cold storage // *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*. 2009. Vol. 29. P. 612–618.
92. Benkeblia N. Antimicrobial activity of essential oil extracts of various onions (*Allium cepa*) and garlic (*Allium sativum*) // *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*. 2004. Vol. 37, No. 2. P. 263–268.
 93. Cwikla C., Schmidt K., Matthias A., Bone K. M., Lehmann R., Tiralongo E. Investigations into the antibacterial activities of phytotherapeutics against *Helicobacter pylori* and *Campylobacter jejuni* // *Phytotherapy Research*. 2010. Vol. 24, No. 5. P. 649–656.
 94. Friedman M., Henika P. R., Mandrell R. E. Bactericidal activities of plant essential oils and some of their isolated constituents against *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, and *Salmonella enterica* // *Journal Food Protection*. 2002. Vol. 65, No. 10. P. 1545–1560.
 95. Riedel C. T., Brøndsted L., Rosenquist H., Haxgart S. N., Christensen B. B. Chemical decontamination of *Campylobacter jejuni* on chicken skin and meat // *Journal Food Protection*. 2009. Vol. 72, No. 6. P. 1173–1180.
 96. Rattanachaikunsopon P., Phumkhachorn P. Potential of coriander (*Coriandrum sativum*) oil as a natural antimicrobial compound in controlling *Campylobacter jejuni* in raw meat // *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*. 2010. Vol. 74, No. 1. P. 31–35.
 97. Rossi P. G., Bao L., Luciani A., Panighi J., Desjober J. M., Costa J., Casanova J., Bolla J. M., Berti L. (E)-Methylisoeugenol and clemicin: antibacterial components of *Daucus carota* L. essential oil against *Campylobacter jejuni* // *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 2007. Vol. 55, No. 18. P. 7332–7336.
 98. Anderson R. C., Flythe M. D., Krueger N. A., Callaway T. R., Edrington T. S., Harvey R. B., Nisbet D. J. Decreased competitiveness of the foodborne pathogen *Campylobacter jejuni* during co-culture with the Hyper-Ammonia producing anaerobe *Clostridium aminophilum* // *Folia Microbiology*. 2010. Vol. 55, No. 4. P. 309–311.
 99. Si W., Gong J., Chanas C., Cui S., Yu H., Caballero C., Friendship R. M. *In vitro* assessment of antimicrobial activity of carvacrol, thymol and cinnamaldehyde towards *Salmonella serotype Typhimurium* DT104: effects of pig diets and emulsification in hydrocolloids // *Journal Applied Microbiology*. 2006. Vol. 101, No. 6. P. 1282–1291.
 100. Liu L., Wei F. X., Zhang Y. Q., Wang S. Q., Guang C., Hong G., Zhang H. Y., Shang L., Yuan X. H., Wang Y. C. The antiadenovirus activities of Cinnamaldehyde in vitro // *Labmedicine*. 2009. Vol. 40, No. 11. P. 670–674.
 101. Du W., Olsen C. W., R. J. Fridman M., MxHugh T. T. Physical and antibacterial properties of edible films formulated with apple skin polyphenols // *Journal of Food Science*. 2011. Vol. 76, No. 2. P. 149–155.
 102. Engels C., Schieber A., Gänzle M. G. Inhibitory spectra and modes of antimicrobial action of gallotannins from mango kernels (*Mangifera indica* L.) // *Applied and Environmental Microbiology*. 2011. Vol. 77, No. 7. P. 2215–2230.
 103. Soares M. C., Damiani C. E., Moreira C. M., Stefanon L., Vassallo D. V. Eucalyptol, an essential oil, reduces contractile activity in rat cardiac muscle // *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. 2005. Vol. 38, No. 3. P. 453–461.
 104. Fasseas M. K., Mountzouris K. C., Tarantilis P. A., Polissiou M., Zervas G. Antioxidant activity in meat treated with oregano and sage essential oils // *Food Chemistry*. 2008. Vol. 106, P. 1188–1194.
 105. Skandamis P. N., Nychas G. J. E. Effect of oregano essential oil on microbiological and physico-chemical attributes of minced meat stored in air and modified atmospheres // *Journal of Applied Microbiology*. 2001. Vol. 91. P. 1011–1022.
 106. Burt S. Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods – A review // *International Journal of Food Microbiology*. 2004. Vol. 94, P. 223–253.
 107. Chouliara E., Karatapanis A., Savvaidis I. N., Kontominas M. G. Combined effect of oregano essential oil and modified atmosphere packaging on shelf-life extension of fresh chicken breast meat stored at 4 °C // *Food Microbiology*. 2007. Vol. 24. P. 607–617.
 108. Geng W., Co M., Song C., Xie H., Yang C., Feng J., Zhang W., Jin Y., Wang S. Complete genome sequence of *Bacillus amyloliquefaciens* LL3, which exhibits glutamic acid-independent production of poly-γ-glutamic acid // *Journal of Bacteriology*. 2011. Vol. 193, No. 13. P. 3393–3394.
 109. Mytle N., Anderson G. L., Doyle M. P., Smith M. A. Antimicrobial activity of clove (*Syzygium aromaticum*) oil in inhibiting *Listeria monocytogenes* on chicken frankfurters // *Food Control*. 2006. Vol. 17. P. 102–107.
 110. Menon K. V., Garg S. R. Inhibitory effect of clove oil on *Listeria monocytogenes* in meat and cheese // *Food Microbiology*. 2001. Vol. 18. P. 647–650.
 111. Palmer S. A., Stewart J., Fyfe L. Antimicrobial properties of plant essential oils and essences against five important food-borne pathogens // *Letters in Applied Microbiology*. 1998. Vol. 26. P. 118–122.
 112. Rice-Evans C. A., Miller N. J., Paganga G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids // *Free Radical Biology and Medicine*. 1996. Vol. 207. P. 933–956.
 113. Sebrancek J. G., Sewalt V. J. H., Robbins K. L., Houser T. A. Comparison of a natural rosemary

- extract and BHA/BHT for relative antioxidant effectiveness in pork sausage // *Meat Science*. 2004. Vol. 69. P. 289–296.
114. **Ruberto G., Baratta M. T., Deans S. G., Dorman H. J. D.** Antioxidant and antimicrobial activity of *Foeniculum vulgare* and *Crithmum maritimum* essential oils // *Planta Medicina*. 2000. Vol. 66. P. 687–693.
 115. **Senatore F., Napolitano F., Ozcan M.** Composition and antibacterial activity of the essential oil from *Crithmum maritimum* L. growing wild in Turkey // *Flavour and Fragrance Journal*. 2000. Vol. 15. P. 186–189.
 116. **Ratledge C., Wilkinson S. G.** An overview of microbial lipids // Ratledge C., Wilkinson S. G., eds. *Microbial Lipids*. Academic Press Limited, London, 1988. P. 3–22.
 117. **Liėgiūtė S., Majienė D., Trumbeckaitė S., Liobikas J., Bendokas V., Stanys V., Kopustinskiėnė D. M., Šikšnianas T., Anisimovienė N.** Vyšnios (*Prunus cerasus* L.) vaisių ekstraktų antocianinų sudėtis ir antimikrobinis aktyvumas // *Žemdirbystė-Agriculture*. 2009. Vol. 96, No. 3. P. 141–148.
 118. **Sarkinas A., Jasutienė I.** Bakterijų ir mielių testavimo kultūrų lėstelių jautrumas uogų etanolinių ir vandeninių ekstraktų bei sulčių priedams // *Veterinarija ir zootechnika*. 2007. Vol. 37, No. 59. P. 79–85.
 119. **Yasar S., Sagdic O., Kisioglu A. N.** In-vitro antibacterial effect of single or combined plant extracts // *Journal for Food, Agriculture and Environment*. 2005. Vol. 3, No. 1. P. 39–43.
 120. **Pichner R.** Mikrobiologie von Fleisch und Fleischerzeugnissen // *Fleischwirtschaft*. 2005. No. 3. P. 108–110.
 121. **Karpinska-Tymoszczyk M.** Effects of sage extract (*Salvia officinalis* L.) and a mixture of sage extract and sodium isoascorbate on the quality and shelf life of vacuum-packaged turkey meatballs // *Journal of Muscle Foods*. 2007. Vol. 18. P. 420–434.
 122. **Seydim A.C., Sarikus G.** Antimicrobial activity of whey protein based edible films incorporated with oregano, rosemary and garlic essential oils // *Food Research International*. 2006. Vol. 39, No. 5. P. 639–644.
 123. **Becerril R., Gómez-Lus R., Goñi P., López P., Nerin C.** Combination of analytical and microbiological techniques to study the antimicrobial activity of a new active food packaging containing cinnamon or oregano against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. // *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2007. Vol. 388. No. 5–6. P. 1003–1011.

Pateikta spaudai 2014-10

J. Šlapkauskaitė, A. Kabašinskiėnė, A. Šlapkauskas, D. Sekmokienė

ANTIMICROBIAL ACTIVITY PERSPECTIVES OF PLANT EXTRACTS AND ESSENTIAL OILS IN FOOD INDUSTRY

Summary

Plants, their extracts and essential oils have different biologically active characteristics. Their antimicrobial activity has been known for years, therefore plants have been started to use for disease prophylaxis and treatment long ago. Eventually, plant extracts and essential oils were started to use in food industry as natural preservatives. According research, bioactive plant compounds have different antimicrobial activity in various food systems because their activity is influenced by their growing and preparation circumstances, extraction way of biologically active compounds, food composition and target microorganisms as well. However, the results *in vitro* and *in vivo* are not always the same. Furthermore, some plants have undesirable effect on sensory parameters of food. Nevertheless, the number of research in this area is increasing, methods of obtaining biologically active substances are improving, and the possibilities of the use of these substances are expanding. The antimicrobial characteristics of plant extracts and essential oils, related to growth inhibition of spoilage and pathogenic microorganisms in food are analysed worldwide. Lately, biologically active plant compounds are not only used as food constituents, but have been started to use in package materials as well. Therefore, there is a suitable choice for consumers who appreciate natural food products enriched with natural ingredients enhancing food safety and quality and for producers – like an alternative to artificial preservatives. In this article we aimed to review application possibilities of natural components, such as plant extracts and essential oils, extracted from different sources in food products using their antimicrobial activity.

Keywords: plant extracts, food industry, essential oils, antimicrobial activity.

Evaluation of the Physicochemical Parameters of Functional Whey Beverages

Aistė Kabašinskiė^{1*}, Algirdas Liutkevičius², Dalia Sekmokienė¹,
Gintarė Zaborskienė^{1,2} and Jūratė Šlapkauskaitė¹

¹Lithuanian University of Health Sciences, Department of Food Safety and Quality, Tilzes Str. 18,
LT-47181 Kaunas, Lithuania

²Kaunas University of Technology, Food Institute, Taikos Av. 92, LT-51180 Kaunas, Lithuania

Received: June 10, 2014

Accepted: October 22, 2014

Summary

The objective of this study is to determine the impact of the key technological parameters on the quality indices of functional beverages produced from whey and enriched with 0.2 % of cold-pressed flaxseed oil, rich in ω -3 fatty acids. The amount of fatty acids, peroxide and anisidine values, fatty acidity, sedimentation and sensory parameters of whey beverages were estimated. It was found that the addition of flaxseed oil affected the sensory, physical and chemical properties of the beverages. High quantities of oleic and α -linolenic fatty acids (18.97 and 54.82 %, respectively) and negligible amounts of palmitic and myristic acids (4.79 and 0.04 %, respectively) were found in the product. On the basis of the obtained results, the beverages from whey enriched with flaxseed oil had a favourable ratio of n-6/n-3 polyunsaturated fatty acids and atherogenic and thrombogenic indices. The addition of a stabiliser and the pasteurisation of whey beverages with flaxseed oil did not affect the sensory parameters and the acidity of the products. The highest peroxide value (2.36 meq O₂/kg) and acidity (0.34 %) were found in the samples with pH=4.0 after 30-day storage at (6±1) °C. A strong negative correlation was estimated between the amount of polyunsaturated fatty acids and anisidine value ($R=-0.871$; $p<0.05$), peroxide value ($R=-0.728$; $p<0.05$) and fatty acidity ($R=-0.948$; $p<0.05$).

Key words: whey, flaxseed oil, beverages, ω -3 fatty acids, oxidation

Introduction

Whey is a by-product of the manufacture of cheese or curd. It has been used in the food industry for about 20 years; however, interest in the use of whey has recently increased owing to its high nutritional and functional properties. Whey contains a large quantity of nutritionally rich components (1). Biologically active whey proteins, minerals, water-soluble vitamins and lactose remain in whey after processing (2). Many easily digestible bioactive components derived from whey are under study for their ability to offer specific health benefits (3,4).

Whey proteins are of special importance. They represent about 20 % of milk proteins and are characterised by

a high digestibility, amino acid score and contain high percentage of branched-chain amino acids (BCAAs), such as leucine, isoleucine and valine. High amounts of these amino acids have long been popular in the industry as a muscle-building supplement for athletes during intensive exercise. Consequently, whey proteins provide excellent nutritional value in foods formulated for kids, adults and elderly people, or as supplements for body health maintenance. β -Lactoglobulin (β -Lg) and α -lactalbumin (α -La) are of the greatest importance and compose more than a half of total whey proteins (50 % β -Lg and 12 % α -La); the rest are: immunoglobulins 10 %, serum albumin 5 % and proteose peptones 0.23 %, lactoferrin (LF) and lactoperoxidase (LP) (1).

*Corresponding author: Phone: +370 600 40 545; Fax: +370 37 362 417; E-mail: aiste@lva.lt

Whey proteins as functional ingredients reflect a wide range of potential therapeutic applications. Individual whey protein components and their peptide fragments stimulate the immune system, anticarcinogenic activity and other metabolic features (5). Graf et al. (6) identified 25 intervention trials examining chronic and/or acute effects of whey protein supplementation on lipid and glucose metabolism, blood pressure, vascular function and on the musculoskeletal system. However, the evaluation of the efficacy of bioactive proteins/peptides in animal model and human clinical studies is needed to fully substantiate their role (7).

The nutritional and functional properties of whey are of great significance for the formulation of food products. Whey and whey-derived products, apart from being nutritional ingredients in various foods, can also be used as functional ingredients providing flavour, texture, colour and aeration properties in a variety of foods (1). Whey proteins can be used as supplements as well as food ingredients due to their unique effect on food texture (8,9). Their concentrates are used in the processing of meat and milk products. Soluble whey proteins are used in the manufacture of dietary products. Acid whey is useful for making milk desserts and other confectionary products. Hydrolysed condensed whey is important in the industries of cheese (ricotta, mizithra), confectionary and bread baking, while whey and egg protein concentrate is produced as well (1). Fresh whey is also used as a stock for acidic, hydrolysed and pasteurised drinks (kvass, fizzy drinks, koumiss, etc.), enriched with different additives (sugar, raisins, vegetable oil, syrups, fruit juices, aromatic substances, stabilisers, milk proteins and ω -3 polyunsaturated fatty acids (PUFA)) which are added before pasteurisation (2). Introducing a hydrolysed whey protein concentrate with antihypertensive peptides into beverages appears to create an excellent link between food science and therapeutic nutrition (7).

The physiological function of PUFA is related to heart and vascular diseases. The ω -3 fatty acids are known to be essential for proper development and functioning of brain, retina and nervous system (10). Due to the low current intake levels of ω -3 fatty acids through diet, there is a need for fortified products that can deliver substantial amounts of ω -3 fatty acids (11).

Flaxseed oil is rich in unsaturated fatty acids, recognized as one of the greatest sources of ω -3 fatty acids in nature and having a positive effect on human health. Their role in reducing the risk of cardiovascular diseases has been increasingly recognized (12,13). As only three of the saturated fatty acids (SFA) are in fact hypercholesteremic, the PUFA/SFA ratio is not a particularly suitable measure of the atherogenicity or thrombogenicity of the foods (14). The ratio of oleic to palmitic acid (monounsaturated fatty acids (MUFA)/SFA) in dietary fats has a regulatory influence on certain thrombogenic and fibrinolytic markers during the postprandial state in healthy subjects (15). Consequently, lipid quality indicators that depend on the relative contents of particular groups of fatty acids are atherogenic (AI) and thrombogenic (TI) indices, indicating the global dietetic quality of lipids.

In order to increase the assortment of functional beverages, whey can be used as a source of proteins, and flax-

seed oil as a source of ω -3 fatty acids. Thus, the aim of this study is to create a functional whey beverage enriched with ω -3 fatty acids and to evaluate its quality.

Materials and Methods

Materials

Whey beverages containing cold-pressed flaxseed oil with dominant ω -3 α -linolenic fatty acid (C18:3n-3) were used in the experiment. The production of beverages from fresh sour whey, obtained in the manufacture of curd, was done at the technological laboratory of the Food Institute at Kaunas University of Technology, Lithuania, and was approved by milk enterprises: JSC Rivona (Vilnius, Lithuania) and JSC Venitas (Vilnius, Lithuania).

The whey was produced from pasteurised milk, using a starter consisting of mesophilic cultures of *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris*, *Lactococcus lactis* ssp. *lactis*, *Leuconostoc mesenteroides* ssp. *cremoris* and *Lactococcus lactis* ssp. *diacetylactis* (FD-DVS Flora Danica, Chr. Hansen, Hørsholm, Denmark), characterised by fast production of lactic and citric acids. The fraction of starter added to the milk was 0.015 %. The composition of fresh whey was as follows (in %): dry matter 6.42, lactose 4.4, protein 0.53 and fat 0.05, pH=3.8–4.2.

The model system of whey and flaxseed oil was made by enrichment of the whey with 0.2 % of flaxseed oil (JSC Aletovis, Šakiai, Lithuania) containing high amounts of α -linolenic (58 %), linoleic (14 %) and oleic (19 %) fatty acids and by the addition of a stabiliser No 5834 (Palsgaard Industry A/S, Juelsminde, Denmark) consisting of cellulose and pectin in equal parts. The stabiliser was used to prevent precipitation of whey protein in beverages during their thermal treatment. Before its introduction into beverages, the dry mix of stabiliser and sugar in a ratio of 1:10 was dissolved in hot water (70 ± 5 °C). The content of sugar in final beverages was 7.0 %. The processed beverages, pasteurised at (85 ± 2) °C and cooled to (10 ± 2) °C, were filled into 0.5-litre clear glass bottles and stored in refrigerator at (6 ± 1) °C for 30 days for further analyses.

Methods

The sensory parameters (colour, odour and taste) of the prepared whey beverages were evaluated by a panel of eight judges following a five-point hedonic scale (where 1 point means bad, 2 satisfactory, 3 good, 4 very good and 5 excellent) on the 1st, 14th and 30th day of storage. The panellists were selected and instructed according to ISO 8586:2012 (16). The samples were served to the panellists in one session. The acceptability of the beverages was rated based on a scale of points ranging from 'like extremely' to 'dislike extremely' according to ISO 4121:2004 (17).

The fatty acid oxidation level was established by peroxide (ISO 3960:2007 (18)) and anisidine (LST ISO 6885:2000 (19)) values. The acidity (LST EN ISO 660:2009 (20)) was measured with Calimatic pH meter 766 (Knick Elektronische Messgeräte GmbH & Co. KG, Berlin, Germany).

Viscosity was analysed with Hüppler viscometer KF10 (RheoTec Messtechnik GmbH, Ottendorf-Okrilla, Germa-

ny). The mixture was emulsified by using laboratory mixer (IKA, Labortechnik, Staufen, Germany), at the revolution of 225 s⁻¹ and treatment time of 5 min.

Sedimentation of prepared beverages was monitored according to Towler (21). It was done by centrifugation at 3000×g for 20 min at ambient temperature. Sediment was calculated as a percentage of the total fluid mass according to the following equation:

$$\frac{\text{Sediment in tube} - (\text{sediment after 24 h/fluid total mass}) \times 100}{\text{}} \quad [1]$$

The mass fraction of fatty acids in processed whey beverages with flaxseed oil was determined with gas chromatography method, using a flame ionization detector. Samples for analysis were prepared according to the standard ISO 12966-2:2011 (22). Fatty acids were methylated using anhydrous KOH methanol solution. Chromatographic analysis of fatty acid methyl esters was performed using a gas chromatograph Shimadzu GC-2010 (Shimadzu Corporation, Tokyo, Japan), fitted with flame ionization detector. Methyl esters of fatty acids were separated on a BPX-70, column length 120 m (Part No 054624, Scientific Instrument Services, Inc., Ringoes, NJ, USA) following the methodology established in ISO 15304:2003/AC:2005 (23).

The analytical conditions were: column temperature of 60 °C for 2 min, then 13 °C/min to 230 °C, maintaining the temperature for 45 min, carrier gas was nitrogen, injector temperature was held at 250 °C, and flame ionization detector temperature was held at 270 °C.

For the identification of fatty acids, 47885-U Supelco® 37 Component FAME Mix (Sigma-Aldrich Co.) was used. The peaks were identified by comparison of their retention times with those of the standard fatty acid methyl esters. The relative fraction of each fatty acid was expressed as the percentage of the sum of total fatty acids.

Lipid quality indices, i.e. atherogenic index (AI) and thrombogenic index (TI), were calculated according to Ulbricht and Southgate (14) and Jankowska *et al.* (24) using the following formulae:

$$\frac{AI = [C12:0 + (4 \cdot C14:0) + C16:0] / [n-6 \text{ PUFA} + n-3 \text{ PUFA} + MUFA]}{\quad} \quad [2]$$

$$\frac{TI = [C14:0 + C16:0 + C18:0] / [(0.5 \cdot MUFA) + (0.5 \cdot n-6 \text{ PUFA}) + (3 \cdot n-3 \text{ PUFA}) + n-3/n-6 \text{ PUFA}]}{\quad} \quad [3]$$

Statistical analysis

All the tests were repeated three times. Data were processed using descriptive and statistical analysis methods of SPSS statistical package (SPSS Inc., v. 17, IBM Corporation, Armonk, New York, NY, USA). The number of variables (*N*), arithmetic averages, their standard deviations (S.D.) and the minimum (min) and maximum (max) values were calculated using descriptive analysis. Statistical processing of scores obtained by sensory evaluation, was done using Excel 2007 (Microsoft Corporation, Redmond, WA, USA) and paired *t*-test. For all statistical analyses *p* ≤ 0.05 was considered statistically significant.

Results and Discussion

As stabiliser was used in processing of the whey beverages with added flaxseed oil, the influence of stabiliser on the sensory and physicochemical properties of prepared beverages was analysed. Table 1 shows that the impact of stabiliser on the viscosity and taste of the beverages was statistically significant (*p* < 0.05). However, the added mass fraction of the stabiliser had no effect on colour, odour and active acidity of the beverages.

The optimal mass fraction of the stabiliser that ensured the stability of whey protein phase during heat treatment and provided the most acceptable taste of beverages was 0.2 %. The viscosity of the beverages after adding 0.2 % of the stabiliser increased by 3.6 mPa·s compared with a product without a stabiliser. The taste of the beverages with stabiliser was more acceptable than the watery taste of the product without a stabiliser. This mass fraction of the stabiliser also ensured the absence of sedimentation.

The ω-3 fatty acids are susceptible to oxidation due to the double bonds present in the molecular structure. Therefore, it is important to evaluate the quantitative changes of fatty acids of flaxseed oil-enriched beverages during storage. Table 2 shows the quantitative changes of

Table 1. Influence of stabiliser on sensory and physicochemical properties of whey beverages with added flaxseed oil

Indicator	w(stabiliser)/%					
	0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5
Sensory parameter/score:						
colour (0–5)	5	4.9	5	4.9	4.6	4.5
odour (0–5)	5	4.9	5	4.8	4.8	4.7
taste (0–5)	4.3*	4.2*	4.3*	4.2*	3.8*	3.6*
Active acidity, pH:						
before pasteurisation	3.82±0.01	3.81±0.01	3.83±0.02	3.81±0.01	3.82±0.02	3.83±0.01
after pasteurisation	3.63±0.02	3.67±0.02	3.72±0.01	3.71±0.02	3.77±0.01	3.82±0.02
after 24-hour storage	4.02±0.01	4.14±0.02	4.07±0.01	4.06±0.03	4.11±0.02	4.19±0.01
Viscosity at 20 °C/(mPa·s)	(1.20±0.04)**	(3.40±0.03)*	(4.80±0.02)*	(6.80±0.01)*	(9.40±0.03)*	(9.90±0.02)**
Sedimentation/%	0.060	0.055	NS	NS	NS	NS

Values for pH and viscosity are expressed as mean±S.D.; differences between columns: **p* < 0.05, ***p* < 0.01; NS—no sedimentation

Table 2. Quantitative changes of fatty acids in whey beverages with added flaxseed oil during storage at (6±1) °C

Fatty acid	<i>w</i> (FA)/(g/100 g)		
	1st day (directly after making)	14th day of storage	30th day of storage
Saturated fatty acids	8.90±0.09	9.06±0.09	8.93±0.08
Lauric (C12:0)	0	0	0
Myristic (C14:0)	0.04±0.01	0.04±0.01	0.04±0.01
Palmitic (C16:0)	4.79±0.04	4.92±0.04	4.98±0.03
Margaric (C17:0)	0.09±0.01	0.09±0.01	0.05±0.01
Stearic (C18:0)	3.83±0.02	3.85±0.02	3.81±0.02
Arachidic (C20:0)	0.15±0.01	0.16±0.01	0.15±0.01
Oleic (C18:1 (<i>cis</i> -isomer))	18.97±0.09	19.03±0.09	19.14±0.08
Eicosenoic (C20:1)	0.18±0.02	0.15±0.01	0.2±0.01
Erucic (C22:1)	0.04±0.01	0.05±0.01	0.06±0.01
Linoleic (C18:2n-6)	16.58±0.07	16.37±0.06	16.37±0.06
α-Linolenic (C18:3n-3)	54.8±0.2	54.7±0.2	54.6±0.1
Polyunsaturated fatty acids	71.5±0.3	71.2±0.2	71.1±0.2
MUFA	19.2±0.1	19.2±0.1	19.4±0.1
PUFA	71.5±0.3	71.2±0.2	71.1±0.2
n-6/n-3 PUFA ratio	0.30	0.30	0.30
AI	0.05	0.06	0.06
TI	0.04	0.05	0.05

Values for fatty acid mass fraction are expressed as mean±S.D.; PUFA–polyunsaturated fatty acids, MUFA–monounsaturated fatty acids, AI–atherogenic index, TI–thrombogenic index

different fatty acids found in whey beverages with flaxseed oil at (6±1) °C.

The main PUFA of the flaxseed oil is α-linolenic fatty acid C18:3. Its determined mass fraction in the fresh oil was 54.8 %. It is known that the increase of human cholesterol levels is influenced by the amount of fatty acids, in this case, myristic, palmitic and lauric acids have the highest impact. The data presented in Table 2 show that there were 4.79 % of palmitic acid and 0.04 % of myristic acid detected in fresh flaxseed oil samples; however, lauric acid was not detected. The fresh whey beverages also contained 18.97 % of physiologically beneficial oleic acid. The levels of ω-6 fatty acids, including linoleic and arachidonic acids, were lower: 16.58 and 0.06 % respectively. The composition of fatty acids showed that PUFAs were predominant and that the ratio of n-6/n-3 was favourable (0.3).

No significant quantitative changes of fatty acids were detected when the beverages were stored for 14 and 30 days at (6±1) °C. Such results could be the consequence of a low storage temperature and especially of the pH of the medium, as lipases are known to be passive in acid medium.

From a nutritional viewpoint, it can be assumed that the prepared beverages are a good source of whey proteins and ω-3 fatty acids (containing more than 70 % of PUFAs) and according to the results, no oxidation took place during 30 days at refrigeration temperature. Similar results were obtained by Gad *et al.* (25), who analysed the stability of whey and mango beverages at refrigerator temperature for 15 days.

Incorporation of flaxseed oil into beverages is particularly attractive for development of beverages with specific

health advantages. The flaxseed oil was reported to reduce susceptibility to cardiovascular diseases and hypertension (26). After the evaluation of fatty acid composition in whey beverages with flaxseed oil and calculation of AI and TI indices, it was found that AI and TI values were low, which indicates high quantities of fatty acids with antiatherogenic properties in the oil. These indices demonstrate the relationship between fatty acids in food and their contribution to the prevention of coronary diseases (27). Atherogenic index shows the relationship between the sum of the main saturated and that of the main unsaturated fatty acids, the former being considered pro-atherogenic (favouring the adhesion of lipids to cells of the immunological and circulatory systems), and the latter antiatherogenic (inhibiting the aggregation of plaque and diminishing the levels of esterified fatty acids, cholesterol and phospholipids by preventing the appearance of micro- and macrocoronary diseases). Thrombogenic index indicates the tendency to form clots in the blood vessels. This is defined as the relationship between the fatty acids with prothrombogenic (saturated) and antithrombogenic (MUFAs, n-6 PUFAs and n-3 PUFAs) properties (14,28). However, in our case, the atherogenic and thrombogenic indices of prepared whey beverages with flaxseed oil were lower than in the muscles (intramuscular lipids) of different domestic and wild animal species (29), in fish and fish products (30–32) and in olive oil (14).

The oxidation processes of fatty acids in the beverages and their dependence on the active acidity were analysed as well. The fatty acids were analysed directly after making of beverages (1st day) and after storage for 14 and 30 days at (6±1) °C (Table 3).

Table 3. Dependence of the oxidation and sensory parameters of whey beverages with added flaxseed oil on the storage time at (6±1) °C

<i>t</i> (storage) day	AV	PV meq O ₂ /kg	Fatty acidity %	Colour (0–5)	Odour (0–5)	Taste (0–5)
1	0.65±0.05	(1.46±0.06)*	0.33±0.02	5	5	4.3
14	0.70±0.06	(1.47±0.05)*	0.33±0.02	5	4.7	4.2
30	0.80±0.04	(1.56±0.05)*	0.34±0.02	5	4.5	4.0
Freshly pressed flaxseed oil	0.50±0.06	(1.90±0.05)*	0.11±0.01			

Values for AV, PV and fatty acidity are expressed as mean±S.D.; differences between rows: **p*<0.05; AV–anisidine value, PV–peroxide value

After storage of the beverages at refrigeration temperature for 30 days, no statistically significant changes were detected in the oxidation indices (anisidine value (AV) and fatty acidity), although the tendency of increase of peroxide value (PV) was observed. After 30 days of storage, PV reached 1.56 (*p*<0.05); however, the maximum limit established by the Order of the Minister of Agriculture of Lithuania No 155, 1999 was not exceeded.

A medium positive correlation was found between the AV and PV (*R*=0.651; *p*<0.05). With the increased AV, the fatty acidity also increased (*R*=0.677; *p*<0.05). A strong positive correlation was determined between the PV and fatty acidity (*R*=0.900; *p*<0.05) during 30 days of storage as well.

During storage for 30 days, the amount of PUFA decreased and the PV and AV increased as a result of weak oxidation process. A strong negative correlation was observed between the amount of PUFA and the anisidine value (*R*=−0.871; *p*<0.05), peroxide value (*R*=−0.728; *p*<0.05) and the fatty acidity (*R*=−0.948; *p*<0.05). To summarise, we can conclude that whey beverages containing flaxseed oil remain stable at pH=4.0 and oxidation after storage for 30 days at (6±1) °C is weak.

Sensory parameters are the first attributes to judge the acceptability and overall quality of beverages by consumers. It was found that sensory parameters of the beverages remained acceptable during all 30 days of storage: values of the colour did not change and values of the odour and taste slightly decreased. Similar results were obtained in newly prepared whey beverages analysed by Gad *et al.* (25). The sensory evaluation study suggests that whey beverages with flaxseed oil retain the overall acceptability with good sensory quality and can be successfully stored at refrigeration temperature.

Conclusions

The analysis showed that functional beverages from whey enriched with flaxseed oil could be produced in milk industry. The use of flaxseed oil containing α-linolenic fatty acid (54.8 % of total fatty acids) and a stabiliser (0.2 %) had the most positive impact on the sensory properties and physicochemical parameters of functional whey beverages at pH=4.0 during 30 days of testing period. Enrichment of beverages with flaxseed oil may provide the required components for optimum health. Whey beverages as a source of products with low atherogenic index could be useful for human health and are especially rec-

ommended for the prevention of cardiovascular diseases. The consumption of whey beverages with flaxseed oil as a product rich in n-3 PUFA may considerably increase in human diets nowadays.

Acknowledgements

This research was funded by a grant from the Research Council of Lithuania (nr. SVE-08/2012).

References

- Jain S, Gupta R, Jain S. Development of low cost nutritional beverage from whey. *J Environ Sci Toxicol Food Technol.* 2013;5:73–88.
<http://dx.doi.org/10.9790/2402-0517388>
- Sekmokienė D, Šemienė I, Liutkevičius A. Innovative re-casting methods of milk, buttermilk and whey. *Food Chem Tech.* 2008;42:89–92 (in Lithuanian).
Aleph ID: KTU02-000042879
- Frid AH, Nilsson M, Holst JJ, Björck IM. Effect of whey on blood glucose and insulin responses to composite breakfast and lunch meals in type 2 diabetic subjects. *Am J Clin Nutr.* 2005;82:69–75.
- Ha E, Zemel MB. Functional properties of whey, whey components, and essential amino acids: mechanisms underlying health benefits for active people. *J Nutr Biochem.* 2003;14: 251–8.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0955-2863\(03\)00030-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0955-2863(03)00030-5)
- Gobetti M, Stepaniak L, DeAngelis M, Corsetti A, Cagno RD. Latent bioactive peptides in milk proteins: Proteolytic activation and significance in dairy processing. *Crit Rev Food Sci.* 2002;42:223–39.
<http://dx.doi.org/10.1080/10408690290825538>
- Graf S, Egert S, Heer M. Effects of whey protein supplements on metabolism: evidence from human intervention studies. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2011;14:569–80.
<http://dx.doi.org/10.1097/MCO.0b013e32834b89da>
- Rhicha S, Radha C, Kaul P. Whey protein hydrolysate: Functional properties, nutritional quality and utilization in beverage formulation. *Food Chem.* 2007;101:1484–91.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.04.021>
- Siso MG. The biotechnological utilization of cheese whey: a review. *Bioresour Technol.* 1996;57:1–11.
[http://dx.doi.org/10.1016/0960-8524\(96\)00036-3](http://dx.doi.org/10.1016/0960-8524(96)00036-3)
- Ji T, Haque ZU. Cheddar whey processing and source: I. Effect on composition and functional properties of whey protein concentrates. *Int. J Food Sci Tech.* 2003;38:453–61.
<http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-2621.2003.00704.x>
- Ruxton C, Reed S, Simpson M, Millington K. The health benefits of omega-3 polyunsaturated fatty acids: a review of the evidence. *J Hum Nutr Diet.* 2004;17:449–59.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-277X.2004.00552.x>

11. Moore RL. Antioxidant protection of an ω -3 fatty acid fortified dairy-based beverage [Master's thesis]. Blacksburg, VA; USA: Virginia Polytechnic Institute and State Univ. 2009.
12. Kuhn KR, Cunha RL. Flaxseed oil – Whey protein isolate emulsions: Effect of high pressure homogenization. *J Food Eng.* 2012;111:449–57. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2012.01.016>
13. Zhao G, Etherton TD, Martin KR, Gillies PJ, West SC, Kris-Etherton PM. Dietary α -linolenic acid inhibits proinflammatory cytokine production by peripheral blood mononuclear cells in hypercholesterolemic subjects. *Am J Clin Nutr.* 2007;85:385–91.
14. Ulbricht TLV, Southgate DAT. Coronary disease seven dietary factors. *Lancet.* 1991;338:985–92. [http://dx.doi.org/10.1016/0140-6736\(91\)91846-M](http://dx.doi.org/10.1016/0140-6736(91)91846-M)
15. Pacheco YM, Bermúdez B, López S, Abia R, Villar J, Muriana FJG. Ratio of oleic to palmitic acid is a dietary determinant of thrombotic and fibrinolytic factors during the postprandial state in men. *Am J Clin Nutr.* 2006;84:342–9.
16. ISO 8586:2012. Sensory analysis – General guidelines for the selection, training and monitoring of selected assessors and expert sensory assessors. Geneva, Switzerland; 2012.
17. LST ISO 4121:2004. Guidelines for the use of quantitative response scales (ISO 4121:2003); 2004 (in Lithuanian).
18. ISO 3960:2007. Animal and vegetable fats and oils – Determination of peroxide value – Iodometric (visual) endpoint determination. Geneva, Switzerland; 2007.
19. LST ISO 6885:2000. Animal and vegetable fats and oils. Determination of anisidine value; 2000 (in Lithuanian).
20. LST EN ISO 660:2009. Animal and vegetable fats and oils – Determination of acid value and acidity (ISO 660:2009); 2009 (in Lithuanian).
21. Towler C. Sedimentation in a cultured milk beverage. *NZ J Dairy Sci Technol.* 1984;19:205–11.
22. LST EN ISO 12966-2:2011. Animal and vegetable fats and oils – Gas chromatography of fatty acid methyl esters – Part 2: Preparation of methyl esters of fatty acids (ISO 12966-2:2011); 2011 (in Lithuanian).
23. LST EN ISO 15304:2003/AC:2005. Animal and vegetable fats and oils – Determination of the content of trans fatty acid isomers of vegetable fats and oils – Gas chromatographic method (ISO 15304:2002/Cor.1:2003); 2005.
24. Jankowska B, Zakeš Z, Zmijewski T, Szczepkowski M. Fatty acid profile of muscles, liver and mesenteric fat in wild and reared perch (*Perca fluviatilis* L.). *Food Chem.* 2010;118:764–8. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.05.055>
25. Gad AS, Emam WH, Mohamed GE, Sayd AF. Utilization whey in production of functional healthy beverage 'Whey-mango beverages'. *Am J Food Tech.* 2013;8:133–48. <http://dx.doi.org/10.3923/ajft.2013.133.148>
26. Breslow JL. n-3 Fatty acids and cardiovascular disease. *Am J Clin Nutr.* 2006;83:1477–82.
27. Turan H, Sönmez G, Kaya Y. Fatty acid profile and proximate composition of the thorn-back ray (*Raja clavata* L. 1758) from the Sinop coast in the Black Sea. *Fisheries Sci.* 2007;1:97–103. <http://dx.doi.org/10.3153/jfscom.2007012>
28. Senso I, Suarez MD, Ruiz-Cara T, Garcia-Gallego M. On the possible effects of harvesting season and chilled storage on the fatty acid profile of the fillet of farmed gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *Food Chem.* 2007;101:298–307. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.01.036>
29. Razmaitė V, Švirnickas J, Štukščiū A, Šveistienė R. Comparative characterization of fatty acid profiles in intramuscular lipids from different domestic and wild monogastric animal species. *Vet Med Zoot.* 2011;53:45–50.
30. Garaffo MA, Vassallo-Agius R, Nengas Y, Lembo F, Rando R, Maisano R, et al. Fatty acids profile, atherogenic (IA) and thrombotic (IT) health lipid indices, of raw roe of blue fin tuna (*Thunnus thynnus* L.) and their salted product 'Bottarga'. *Food Nutr Sci.* 2011;2:736–43. <http://dx.doi.org/10.4236/fns.2011.27101>
31. Barra A, Garau VL, Dessi A, Sarais G, Ceretti E, Alorio M, et al. Chemical characterization and DNA tracking of Sardinian bottarga by *Mugil cephalus* from different geographical origins. *J Agric Food Chem.* 2008;56:10847–52. <http://dx.doi.org/10.1021/jf802363k>
32. Scano P, Rosa A, Mereu S, Piras C, Atzeri A, Dessi MA. Multivariate fatty acid and fatty alcohol profile of mullet bottarga. *Eur J Lipid Sci Tech.* 2010;112:1369–74. <http://dx.doi.org/10.1002/ejlt.201000321>

Influence of lactic acid bacteria-fermented *Helianthus tuberosus* L. and *Lupinus luteus* on quality of milk products

Jurate Slapkauskaitė^a, Dalia Sekmokienė^a, Aiste Kabasinskiene^a, Elena Bartkiene^a, Grazina Juodeikiene^b and Antanas Sarkinas^{b,c}

^aDepartment of Food Safety and Quality, Veterinary Academy, Lithuanian University of Health Sciences, Kaunas, Lithuania; ^bDepartment of Food Technology, Faculty of Chemical Technology, Kaunas University of Technology, Kaunas, Lithuania; ^cMicrobiological Research Laboratory, Food Institute of Kaunas University of Technology, Kaunas, Lithuania

ABSTRACT

In order to improve the nutritional value and quality of milk products, *Helianthus tuberosus* L. (HT) and *Lupinus luteus* (LL) fermented with lactic acid bacteria (LAB) (*Pediococcus pentosaceus* KTU05-9, *P. acidilactici* KTU05-7 and *Lactobacillus sakei* KTU05-6) were used, and the quality parameters (physicochemical, microbiological and sensory) of new fermented milk products were evaluated for the first time ever. Chemical analysis of fermented milk products showed a positive effect of the edible plants. The safety profile and nutritional value were higher in milk-LL products compared with fermented milk-HT products. Fermented milk-HT products were more acceptable because of higher taste pleasure, lower smoothness and external taste compared to fermented milk-LL products. The results clearly indicated that HT rich in inulin and LL rich in proteins can be used with selected LAB to improve the nutritional value and increase the assortment of fermented milk products.

ARTICLE HISTORY

Received 2 October 2015
Accepted 22 December 2015

KEYWORDS

Milk; *Helianthus tuberosus* L.; *Lupinus luteus*; lactic acid bacteria; fermentation

PALABRAS CLAVE

Leche; *Helianthus tuberosus* L.; *Lupinus luteus*; bacteria ácido-láctea; fermentación

Influencia de la bacteria ácido-láctica fermentada *Helianthus tuberosus* L. y *Lupinus luteus* en la calidad de los productos lácteos

RESUMEN

Se utilizaron *Helianthus tuberosus* L. (HT) y *Lupinus luteus* (LL) fermentadas con bacteria ácido-láctica (*Pediococcus pentosaceus* KTU05-9, *Pediococcus acidilactici* KTU05-7 y *Lactobacillus sakei* KTU05-6) para mejorar el valor nutricional y la calidad de los productos lácteos, además de los parámetros de calidad (físicoquímicos, microbiológicos y sensoriales) de productos lácteos fermentados nuevos que fueron evaluados por primera vez. El análisis químico de los productos lácteos fermentados mostró un efecto positivo en las plantas comestibles. El perfil de seguridad y el valor nutricional fueron mayores en los productos lácteos con LL en comparación con los productos lácteos fermentados con HT. Los productos lácteos fermentados con HT tuvieron una mayor aceptación debido a su gusto placentero, menor homogeneidad y mejor sabor en comparación con los productos lácteos fermentados con LL. Los resultados indicaron claramente que HT rica en inulina y LL rica en proteínas pueden utilizarse con las LAB seleccionadas para mejorar el valor nutricional y aumentar la variedad de productos lácteos fermentados.

1. Introduction

Functional milk products enriched with different ingredients become more popular. Producers are looking for a possibility to create products not only acceptable by sensory properties, but also rich in biological active substances. Two edible plants, *Helianthus tuberosus* L. (HT) and *Lupinus luteus* (LL), were fermented with lactic acid bacteria (LAB) (*Pediococcus pentosaceus* KTU05-9, *P. acidilactici* KTU05-7, *Lactobacillus sakei* KTU05-6). These edible plants were never used for milk fermentation before and there are no data about processing of milk products using these plants, fermented with LAB. The study was performed for the first time ever and preliminary research analysis was performed.

L. luteus L. (LL) is a genus of Fabaceae (Leguminosae) family and is widely used in human nutrition and animal feeding since long time (Pedersen & Gylling, 2000). Lupine seeds are rich in proteins and represent a good nutritional

balance of essential amino acids. Lupine contains high amounts of carotenoids, tocopherols and lecithin that are characterised as antioxidants (Kohajdova, Karovicova, & Schmidt, 2011; Lampart-Szczapa, Korczak, Nogala-Kalucka, & Zawirska-Wojtasiak, 2003).

The perennial herbaceous plant *H. tuberosus* L. (HT), also known as Jerusalem artichoke, is a widely available non-grain raw material (Swanton, Calvers, Clements, & Moore, 1992). It is rich in carbohydrate inulin (70–300 g kg⁻¹ of wet weight and around 500 g kg⁻¹ of dry weight), a polymer of the monosaccharide fructose (Rubel, Pérez, Genovese, & Manrique, 2014). Inulin consists of fructose units, terminated by a glucose unit, and can be readily hydrolysed to fructose and glucose. HT provides an assortment of health advantages. For instance, HT lowers blood pressure and decreases blood cholesterol level (Oliveira, Perego, Oliveira, & Converti, 2012). It is high in iron, potassium, protein, magnesium and

CONTACT Jurate Slapkauskaitė  Jurate.Slapkauskaites@smuni.lt  Department of Food Safety and Quality, Veterinary Academy, Lithuanian University of Health Sciences, Kaunas, Lithuania

© 2016 The Author(s). Published by Taylor & Francis.

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

fibre as well (Kim, Faqih, & Wang, 2001). Inulin is used in food industry as dietary fibre with probiotic properties (Roberfroid, 2000), fat replacer (Kim et al., 2001) and probiotic food carrier (Mantzouridou, Spanou, & Kiosseoglou, 2012).

LAB are used widely in the production of different foods. These bacteria are often used as starter cultures in the production of fermented meat and dairy products. Lactic acid is a key metabolite produced during fermentation and in food products it usually serves either as a preservative or as a flavouring agent (Vuyst & Vancanneyt, 2007; Widyastuti, Rohmatussolihat, & Febrisiantosa, 2014). On the other hand, microbiologically produced lactic acid is usually a mixture of α (+) and α (-) isomers. As the latter cannot be metabolised by humans and can result in acidosis, it is important to assess the content of α (-) lactic acid in fermented foods (Bartkiene, Seriene, Juodeikiene, Drungilas, & Valatkeviciene, 2014).

Sensory properties, such as specific odour, texture and taste, of fermented milk products are greatly influenced by LAB (Sobrinho-López & Martín-Belloso, 2008). LAB are not only grown easily and on inexpensive media but also produce secondary metabolites such as bacteriocin-like inhibitory substances, which are able to inhibit the growth of spoilage bacteria and foodborne pathogens (Simova, Beshkova, & Dimitro, 2009). LAB are considered as safe food preservatives, which are easily degraded by gastrointestinal proteases (Facklam & Elliott, 1995). LAB are normally found in nutrient-rich environments and require fermentable carbohydrates, amino acids, fatty acids, salts and vitamins for their growth (Saeed & Salam, 2013).

The aim of this study was to investigate the quality of milk products enriched with *H. tuberosus* L. and *L. luteus* L. fermented with LAB (*P. pentosaceus* KTU05-9, *P. acidilactici* KTU05-7, *L. sakei* KTU05-6) and to analyse the influence of such edible plants on the quality parameters of fermented milk products.

2. Materials

2.1. Edible plant materials

Tubers of HT (protein 114 g kg⁻¹, moisture 192 g kg⁻¹, fat 10 g kg⁻¹, ash 58 g kg⁻¹, inulin 42 g kg⁻¹, etc.) were taken from the Lithuanian Institute of Horticulture (Babtai, Lithuania) in 2013. Seeds of LL (protein 424 g kg⁻¹, moisture 86 g kg⁻¹, fat 64 g kg⁻¹, starch 49 g kg⁻¹, oligosaccharides 109 g kg⁻¹, etc.) with low alkaloid content (<1 g kg⁻¹) were taken from the Lithuanian Institute of Agriculture (Vokė, Lithuania) in 2013. Before subjecting to fermentation, tubers of HT were cut into 1–2 mm slices, dried in the vacuum oven (Model SZG, China) at +45°C and ground to powder. Seeds of LL were ground in a laboratory mill (LM 3100; Perten Instruments AB, Sweden) to pass a 0.8–1.2 mm screen. The powder of dried HT and LL were used for solid state fermentation (SSF) with selected LAB.

2.2. Fermentation of plant material

For fermentation of HT and LL, different LAB were obtained from the Department of Food Science and Technology of Kaunas University of Technology (*P. pentosaceus* KTU05-9, *P. acidilactici* KTU05-7, *L. sakei* KTU05-6), which were previously isolated from fermented rye (Digaitiene, Hansen, Juodeikiene, & Josephsen, 2005). LAB were stored at –80°C

and cultured at +30°C for 48 h in MRS broth (CM0359, Oxoid Ltd, Hampshire, UK), adding 40 mmol L⁻¹ of fructose and 20 mmol L⁻¹ of maltose prior to use. After enrichment, strains were diluted with saline up to 10⁸ (CFU mL⁻¹). Three hundred grams of plant material were mixed with 450 mL of water and 5 mL of pure cultures of microorganisms and fermented for 24 h at temperatures 30°C (*L. sakei* KTU05-6), 32°C (*P. acidilactici* KTU05-7) and 35°C (*P. pentosaceus* KTU05-9).

2.3. Fermentation of milk with fermented plant material

For milk fermentation, 10% of fermented plants were added into the samples of milk (UHT, 32 g kg⁻¹ fat, 32 g kg⁻¹ protein, 47 g kg⁻¹ lactose, 60 kcal). Milk HT and milk LL samples were incubated for 24 h at temperatures 35°C (*P. pentosaceus* KTU05-9), 32°C (*P. acidilactici* KTU05-7) and 30°C (*L. sakei* KTU05-6).

2.4. Determination of total titratable acidity, pH and lactic acid isomers

Total titratable acidity (TTA) of fermented milk samples was determined according to ISO Method No. 11869, 2013.

The pH value of fermented milk samples was measured with a pH meter (PP-15, Sartorius, Germany).

α (+) and α (-) lactic acid concentrations in fermented milk samples were determined by an enzyme test kit (R-Biopharm AG – Roche, Germany) (de Lima, Coelho, Blanco, & Contiero, 2009).

2.5. Determination of fat, ash and moisture content

Fat content of fermented milk samples was determined according to a gravimetric method (ICC Standard No. 1211, 2010). Briefly, the samples (5 g) were boiled in diluted hydrochloric acid, filtered, dried and extracted with petroleum ether. The residues of minerals were weighed and total ash content (g 100 g⁻¹) was calculated.

For evaluation of moisture content, all samples (5 g) were dried at 105°C to constant weight (g 100 g⁻¹). The moisture content was determined according to the ICC Standard Method 110/1 (ICC-Standard No.110/1, 1976).

2.6. Determination of total carbohydrates and lactose concentration

Total carbohydrates and lactose concentration were measured using high-pressure liquid chromatography (HPLC) method (Zeppa, Conterno, & Gerbi, 2001). Chromatographic separation was performed at a temperature of 65°C with a mobile phase of 0.01 mol L⁻¹ H₂SO₄ at a flow rate of 0.6 mL min⁻¹ on an Aminex HPX-87 H column (300 × 7.8 mm) equipped with a cation H⁺ micro-guard cartridge (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, USA). HPLC equipment consisted of a quaternary pump, an online degasser (Series 200) and a refractive index detector (Series Flexar; Perkin Elmer, Norwalk, CT, USA). Data were collected and processed on a computer with the software Chromera[®] (Perkin Elmer). For HPLC analysis, 5 g of fermented milk sample was dispersed in 0.01 mol L⁻¹ H₂SO₄ and adjusted to a final volume of 50 mL. The suspension

was homogenized and centrifuged at 15,000 g for 20 min at 4°C. The supernatant was filtered through 0.45 µm membranes (Millex, Millipore, Sao Paulo, Brazil) and injected into the chromatograph, using a loop of 60 µL. Quantification was based on the external method using lactose (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) as standard to obtain the calibration curve.

2.7. Calculation of energy value

Energy value of fermented milk samples was calculated based on the calories provided by the amount of proteins (4 kcal g⁻¹), carbohydrates (4 kcal g⁻¹) and fat (9 kcal g⁻¹).

2.8. Microbiological analysis of LAB

For calculation of LAB, 10 g of fermented milk samples were homogenized with 90 mL of saline (sodium chloride physiological solution 9 g kg⁻¹) and serial dilutions (1 mL) 10⁻⁴–10⁻⁸ were inoculated on lactobacilli MRS agar (deMan, Rogosa, Sharpe, Oxoid Microbiology Products, Oxoid LTD, Basingstoke, Hampshire, UK). The plates were incubated under anaerobic conditions at temperatures 30°C (for *L. sakei* KTU05-6), 32°C (for *P. acidilactici* KTU05-7) and 35°C (for *P. pentosaceus* KTU05-9) for 72 h and the LAB (CFU mL⁻¹) were calculated.

2.9. Analysis of texture profile (firmness)

Texture profile analysis of fermented milk products (10 g) was conducted using Stevens LFRA Texture Analyzer as a constant speed cone penetrometer (Voland Corp., New York, NY, USA) using 10 mm penetration depth and 1.0 mm s⁻¹ speed and the force exerted on the probe. Fermented milk samples were stored at room temperature (23°C) prior to testing and the results were expressed in texture analysis units.

2.10. Sensory analysis of milk products

Sensory analysis was carried out by 10 panellists—experts of age 30–55 at the Sensory laboratory of Lithuanian University of Health Sciences. They were selected and taught to work according to ISO 8586–1 and had practical skills to evaluate milk products. Sensory profile of fermented milk products (20 g) was analysed using 10-point rating scale: ranging from 1 (the lowest intensity) to 10 (the highest intensity). Attributes such as overall smell and taste, external taste, taste pleasure, smoothness and appearance (referred to colour intensity and absence of defects) were evaluated.

Preliminary sensory acceptability of the products was scored using 9 mm score hedonic line scale, ranging from 1 (dislike extremely) to 9 (like extremely).

2.11. Statistical analysis

All the tests were repeated three times. In total, 24 samples of fermented milk were tested. Statistical data analysis was conducted using a Microsoft Excel'07 (Microsoft Corporation, Redmond, WA, USA) and the SPSS programme (Ver.17.0, 2006; SPSS Inc., Chicago, IL, USA) was used for the descriptive analysis (*N*, mean ± standard deviation), General Linear Modelling and ANOVA. Calculated mean values were compared using Bonferroni's multiple range tests. For all statistical analyses, *p* ≤ 0.05 was considered as statistically significant.

3. Results and discussion

3.1. The impact of fermentation on pH, TTA and formation of lactic acid isomers

The pH values of analysed milk samples after 12 and 24 h of fermentation differed marginally (Table 1). After 12 h fermentation, the maximum pH drop (by 0.60) was seen in milk-LL samples fermented with *P. acidilactici*, whereas the least (by 0.10) pH changes were found in milk-HT samples fermented with *P. acidilactici*. After 24 h fermentation, milk-LL samples fermented with *L. sakei* stayed the most acidic, whereas milk-HT samples fermented with *P. pentosaceus* were the least acidic. However, *L. sakei* caused the lowest pH in fermented milk HT samples as well. A high pH drop was observed in milk-HT and milk-LL samples after fermentation with milk-LL exhibiting lower pH values in the presence of LAB. The drop of pH showed that the LAB inoculated into the UHT milk was able to carry out acid fermentation which resulted in the production of lactic acid.

TTA was assessed throughout the fermentation period. The results showed that TTA values of fermented milk samples ranged from 21.0 (milk-HT with *L. sakei*) to 33.0 (milk-LL with *L. sakei*) at the beginning of the experiment. The TTA values of all samples increased with fermentation. The highest TTA values were seen in both: milk-HT and milk-LL samples after 24 h fermentation with *L. sakei*. Fermentation phases are strongly dependent on the properties of the plant, fermentation conditions and types of bacteria in the inoculum (Szambelan, Nowak, & Chrapkowska, 2004). Research by Bartkiene, Skabickyte, Juodeikienė, Vidmantienė, and Bašinskienė (2014) reported that fermentation in the SSF of the *L. luteus* and *H. tuberosus* L. is

Table 1. Influence of fermentation on pH and TTA of milk product samples.

Tabla 1. La influencia de la fermentación en el pH y TTA de las muestras de productos lácteos.

Parameter	Milk-HT			Milk-LL		
	<i>P. pentosaceus</i>	<i>P. acidilactici</i>	<i>L. sakei</i>	<i>P. pentosaceus</i>	<i>P. acidilactici</i>	<i>L. sakei</i>
pH initial	5.70 ± 0.06	5.70 ± 0.03	5.80 ± 0.05	5.50 ± 0.06	5.70 ± 0.10	5.10 ± 0.09
pH after 12 h	5.60 ± 0.31*	5.60 ± 0.24	5.60 ± 0.09*	5.10 ± 0.73*	5.10 ± 0.40	4.80 ± 0.40*
pH after 24 h	5.30 ± 0.07***	5.00 ± 0.12	5.00 ± 0.34	4.60 ± 0.46***	4.60 ± 0.54	4.30 ± 0.40
TTA initial	21.20 ± 0.50	21.20 ± 1.00	21.00 ± 1.20	45.00 ± 5.00	28.20 ± 3.15	33.00 ± 1.50
TTA after 12 h	25.20 ± 9.83	27.10 ± 6.95**	27.00 ± 1.72	46.28 ± 12.88	30.60 ± 9.80**	68.30 ± 7.13
TTA after 24 h	48.70 ± 4.76	63.40 ± 5.77**	65.30 ± 21.73	60.89 ± 9.13	74.80 ± 6.97**	85.20 ± 15.90

Differences in columns between different fermentation within the same bacteria are significant (**p* ≤ 0.05; ***p* ≤ 0.01; ****p* ≤ 0.001).

Las diferencias en las columnas entre las distintas fermentaciones en la misma bacteria son significativas (**P* < 0,05; ***P* < 0,01; ****P* < 0,001).

Table 2. Amount of $\alpha(-)$ and $\alpha(+)$ lactates in fermented milk product samples.

Tabla 2. Cantidad de lactatos D (-) y L (+) en las muestras de productos lácteos fermentados.

Fermented milk samples		Lactic acid isomers (g/100 g of product)	
		$\alpha(-)$	$\alpha(+)$
Milk HT	<i>P. pentosaceus</i>	0.250 $\pm$ 0.015**	0.317 $\pm$ 0.003**
	<i>P. acidilactici</i>	0.103 $\pm$ 0.015**	0.405 $\pm$ 0.003**
	<i>L. sakei</i>	0.234 $\pm$ 0.016**	0.126 $\pm$ 0.002**
Milk LL	<i>P. pentosaceus</i>	0.308 $\pm$ 0.015	0.469 $\pm$ 0.002
	<i>P. acidilactici</i>	0.244 $\pm$ 0.015	0.271 $\pm$ 0.005
	<i>L. sakei</i>	0.304 $\pm$ 0.016	0.469 $\pm$ 0.005

Differences between $\alpha(+)$ and $\alpha(-)$ within the same bacteria and fermentation are significant (** $p \leq 0.01$).Las diferencias entre L(+) y D(-) en la misma bacteria y fermentación son significativas (** $p \leq 0.01$).

effective when moisture of the substratum is less than 500 g kg^{-1} , pH is lower and the LAB count is higher. In our research, lactic acid produced by LAB starters induced lower pH and higher TTA of fermented LL. The higher TTA could be ascribed to lower pH due to a higher fermentation activity of the LAB used (Bello, Clarke, & Ryan, 2007). It could be assumed that oligosaccharides in milk LL samples induced more intensive fermentation leading to higher amounts of lactic acid, which are reflected in values of TTA and pH (Table 1).

Analysing the effect of lactic acid isomers $\alpha(-)/\alpha(+)$ formation in fermented milk samples, we saw that the highest amount of lactic acid isomer $\alpha(-)$ was reached in milk LL samples fermented with *P. pentosaceus* (Table 2). The amount of lactic acid isomer $\alpha(-)$ ranged from 0.103 $\pm$ 0.015% (in milk-HT with *P. acidilactici*) to 0.308 $\pm$ 0.015% (in milk-LL with *P. pentosaceus*). The amount of lactic acid isomer $\alpha(+)$ ranged from 0.126 $\pm$ 0.002% (in milk-HT with *L. sakei*) to 0.469 $\pm$ 0.002% and 0.469 $\pm$ 0.005% (in milk-LL with *P. pentosaceus* and *L. sakei*, respectively). We have also found that milk-LL samples produced more $\alpha(+)$ than $\alpha(-)$ isomers compared to milk-HT samples. It could be assumed that production of lactic acid depends on the strain and substrate used (Mirdamadi et al., 2002). In our study, milk-LL with *L. sakei* and *P. pentosaceus* could be assigned as the most active $\alpha(+)$ lactic acid producers. However, in industrial fermentations, the use of various species of *Lactobacillus* is preferred, owing to higher rates of metabolism (John, Anisha, Madhavan, & Ashok, 2009). The $\alpha(+)$ lactic acid is the predominant metabolite formed during milk fermentation and has the same configuration as the lactic acid produced by the human body. Substantial quantities of $\alpha(-)$ lactic acid were also found in our research. The $\alpha(-)$ isomer reduces cell metabolism and causes acidosis in humans (Gurukripa Kowligi & Chhabra, 2015). Because of the lower rate of metabolism of $\alpha(-)$ compared to $\alpha(+)$ lactic acid and effects mentioned, the World Health Organization has recommended restriction in consumption of products containing high $\alpha(-)$ lactic acid. The recommended $\alpha(-)$ lactic acid intake is 650 g kg^{-1} human body weight (Park, Lee, Kim, Jung, & Yang, 2012). Thus, our fermented milk products could be assumed as safe because of the higher amount of $\alpha(+)$ isomer and not exceeded daily intake of $\alpha(-)$ isomer.

3.2. Composition of fermented milk products

One of the tasks of the study was to estimate and compare the composition of fermented milk HT and milk LL samples.

Carbohydrates and proteins are the principal components of food products and play an important role in fermented dairy products, which are widely used as healthy food and considered as important part of the diet (La Torre, 2003).

Chemical analysis of fermented milk product samples showed that the milk-LL samples were more nutritious and had lower moisture content compared to milk-HT samples (Table 3). Many other studies confirm the high nutritive value of lupine seeds, with the highest nutrient profile and fat content (Campos-Andrada, Santana, Felgueiras, Mimoso, & Empis, 1999; Dolezal, 2002; Gilbert, Särkilahti, Apajalahti, Acamovic, & Bedford, 2000; Kohajdova, Korovičova, & Schmidt, 2011). In our study, the highest fat content was seen in milk LL samples fermented with *P. acidilactici*. It was higher by 0.14% and 0.15% ($p \leq 0.05$) compared to fermented milk-HT samples.

The nutritional value of legumes is related to the high protein content of the seeds. In our study, higher protein content was observed in milk LL samples compared to milk HT samples. Protein content in milk-LL samples fermented with *P. pentosaceus* was higher by 1.62 ($p \leq 0.05$), 1.63 ($p \leq 0.01$) and 1.64% ($p \leq 0.01$) compared with milk-HT samples.

Our results are in agreement with the findings of Ibeawuchi and Daylop (1995), who stated that crude protein content increased after fermentation of pasteurized milk with starter culture. Martínez-Villaluenga, Frias, and Vidal-Valverde (2006) also indicated white lupine (*Lupinus albus*) as one of the potential plants with high protein content. Hence, rich in proteins, *L. luteus* can be useful as a protein source for fermented milk products.

Total ash and carbohydrate content of fermented milk-LL samples was significantly ($p \leq 0.01$) higher compared with milk HT samples. Amount of carbohydrates in milk LL samples ranged from 6.24% to 6.26% and was higher (about 0.73%) than in milk-HT samples where amount of carbohydrates ranged from 5.46% to 5.51%. The moisture content of fermented milk-HT samples was significantly higher than that of fermented milk LL samples ($p < 0.05$). The moisture content of fermented milk-HT (87.76 $\pm$ 0.04) samples was significantly higher than that of milk-LL samples (85.23 $\pm$ 1.34) ($p \leq 0.05$).

Compositional analysis of fermented milk products indicated that there were significant differences ($p \leq 0.05$) between fat, moisture, total carbohydrates and pH after 12 h and between above-mentioned indexes and texture after 48 h fermentation (Tables 1 and 3). Significant differences were seen between TTA after 12 h and 24 h, between total ash and total protein content ($p \leq 0.001$) and between pH after 24 h and lactose (Figure 1) concentration ($p \leq 0.01$). As there were no significant differences between fermentation conditions, it could be assumed that the composition of fermented milk samples was mostly influenced by edible plant material. Therefore, *L. luteus* seeds could be the main plant source of proteins in the human diet as it can improve the nutritional quality of the products (Gomez, Oliete, Rosell, Pando, & Fernandez, 2008). Also, lupine does not contain gluten and it could be used as a functional ingredient in gluten free foods (Scarafoni, Ronchi, & Duranti, 2009).

Fermentation with different LAB cultures caused significantly different ($p \leq 0.001$) lactose values of fermented milk samples (Table 3). It was found that lactose values of the tested samples depended on the substrate used. In

Table 3. Parameters of fermented milk products.

Tabla 3. Parámetros de productos lácteos fermentados.

Parameters	Fermented milk products					
	Milk-HT			Milk-LL		
	<i>P. pentosaceus</i>	<i>P. acidilactici</i>	<i>L. sakei</i>	<i>P. pentosaceus</i>	<i>P. acidilactici</i>	<i>L. sakei</i>
Fat (%)	2.87 ± 0.05*	2.86 ± 0.05*	2.87 ± 0.01*	2.88 ± 0.76*	3.01 ± 0.05**	2.99 ± 0.05*
Protein (%)	3.11 ± 0.05**	3.10 ± 0.05**	3.12 ± 0.01*	4.74 ± 0.36*	4.72 ± 0.05*	4.70 ± 0.03*
Ash (%)	0.77 ± 0.04**	0.78 ± 0.05**	0.77 ± 0.01**	0.81 ± 0.03*	0.82 ± 0.01*	0.80 ± 0.03*
Molécule (%)	87.75 ± 0.01*	87.75 ± 0.01*	87.75 ± 0.01*	85.23 ± 1.34*	85.20 ± 0.05**	85.25 ± 0.05*
Total carbohydrates (%)	5.49 ± 0.11**	5.51 ± 0.05**	5.49 ± 0.02*	5.44 ± 0.86**	6.24 ± 0.01*	6.26 ± 0.01*
Lactose (%)	4.60 ± 0.03***	4.63 ± 0.03***	4.65 ± 0.03***	4.10 ± 0.80***	4.20 ± 0.80***	4.40 ± 0.36***
Energy value (kcal)	60.29 ± 0.21	60.26 ± 0.01	60.26 ± 0.02	70.70 ± 5.43	70.69 ± 0.05	70.65 ± 0.03
LAB count (CFU mL ⁻¹)	9.6 × 10 ⁸ ± 0.6 × 10 ^{8**}	2.7 × 10 ⁸ ± 0.7 × 10 ^{8***}	1.5 × 10 ⁸ ± 0.5 × 10 ⁷	6.0 × 10 ⁸ ± 1.2 × 10 ^{8**}	8.0 × 10 ⁸ ± 0.9 × 10 ^{8***}	8.0 × 10 ⁸ ± 0.8 × 10 ⁸

Differences within the same bacteria between different fermentation (milk-HT and milk-LL) are significant (*p ≤ 0.05; **p ≤ 0.01; ***p ≤ 0.001).

Las diferencias en la misma bacteria entre las diferentes fermentaciones (leche con HT y leche con LL) son significativas (*p ≤ 0.05; **p ≤ 0.01; ***p ≤ 0.001).

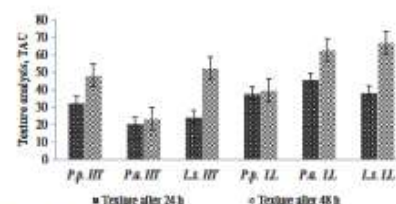


Figure 1. Changes of texture of fermented milk product samples.

Figura 1. Cambios en la textura de las muestras de productos lácteos fermentados.

P.p.: *P. pentosaceus*; P.a.: *P. acidilactici*; L.s.: *L. sakei*; HT: *Helianthus tuberosus* L.; LL: *Lupinus albus* L.

fermented milk HT samples, lactose concentration was higher compared to milk-LL samples. Whereas the decrease of lactose value could be due to lactic acid formation. The highest lactose values were found in milk-HT and milk-LL samples fermented with *L. sakei* (4.65 ± 0.30 and 4.40 ± 0.36 , respectively). Erbas, Certel, and Uslu (2005) reported that lupine seeds contain high amounts of sugar (5.82%). In our study, the most intensive breakdown of carbohydrates was seen in milk-LL samples fermented with *P. pentosaceus*.

The energy value of fermented milk samples ranged from 60.24 ± 0.01 kcal (milk-HT, with *P. acidilactici*) to 70.70 ± 5.43 kcal (milk-LL with *P. pentosaceus*). In our opinion, the higher energy value in milk-LL samples resulted from a high content of proteins and total carbohydrates in milk-LL samples.

3.3. Microbiological analysis of LAB

LAB can play an important role in milk fermentation process. LAB growth and metabolic activities are needed to assure a high quality of the final product. These microorganisms produce lactic acid via lactose fermentation, which leads to a rapid decrease in pH. Cheese and fermented milk products depend largely on this fermentation process, which is also crucial for ensuring control of pathogenic and spoilage microorganisms (Mariáñez, Moineau, & Quiberon, 2012).

The microbiological analysis of fermented milk samples showed that LAB count varied from 9.6×10^5 to 2.7×10^9 (milk-HT) and from 6.0×10^8 to 8.0×10^8 CFU mL⁻¹ (milk-LL), respectively (Table 3). The highest LAB count was found using *P. acidilactici* for fermentation in the presence of both edible plants, whereas the count of *P. pentosaceus* was the least. Thus, it is possible to state that *P. acidilactici* growth in milk media is the most intensive regardless of the edible plant used. In other substrates, for example, in bread sourdough, the growth of *P. acidilactici* was more intensive than that of *L. sakei* (Bartkiene et al., 2013).

Different cultures (a single strain or a mixture of several strains) of microorganisms can be added into milk in order to provide specific characteristics of finished fermented milk product in a controlled and predictable manner. Despite the primary function of lactic acid starters to ferment lactose into lactic acid, they may also contribute to flavour, aroma and alcohol production while inhibiting spoilage microorganisms (Panesar, 2011).

Table 4. Influence of HT and LL on sensory attributes of fermented milk products.

Tabla 4. La influencia de HT y LL en los atributos sensoriales de los productos lácteos fermentados.

Fermented milk product	Sensory attributes						
	Overall acceptability	Overall smell	Overall taste	External taste	Taste pleasure	Smoothness	Appearance
HT <i>P. pentosaceus</i>	7.00 ± 0.10	6.00 ± 0.50	6.40 ± 0.50	2.00 ± 0.10	6.60 ± 0.20	2.60 ± 0.10	5.80 ± 0.10**
HT <i>P. acidilactici</i>	5.50 ± 0.10**	8.60 ± 0.60	8.00 ± 0.20***	2.00 ± 0.10***	2.00 ± 0.30***	9.00 ± 0.30	8.80 ± 0.10**
HT <i>L. sakei</i>	4.50 ± 0.20***	5.20 ± 0.50	2.20 ± 0.30***	6.00 ± 0.20***	2.00 ± 0.10***	5.60 ± 0.20	6.00 ± 0.20
LL <i>P. pentosaceus</i>	6.00 ± 0.50	9.00 ± 0.50*	7.40 ± 0.20	3.00 ± 0.20*	4.60 ± 0.10	5.60 ± 0.10	6.00 ± 0.30
LL <i>P. acidilactici</i>	6.00 ± 0.50*	7.60 ± 0.30*	6.00 ± 0.50*	2.00 ± 0.30	6.00 ± 0.20	6.00 ± 0.20	6.00 ± 0.10
LL <i>L. sakei</i>	5.00 ± 0.10	4.20 ± 0.20*	4.00 ± 0.10*	1.00 ± 0.20*	4.00 ± 0.20	5.00 ± 0.20	5.00 ± 0.10

Differences within the same bacteria between different fermentation (milk-HT and milk-LL) are significant (* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$). *Significantly ($p < 0.05$), **significantly ($p < 0.01$), ***significantly ($p < 0.001$) different.

Las diferencias en la misma bacteria entre las diferentes fermentaciones (leche con HT y leche con LL) son significativas (* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$). *Significativamente ($P < 0.05$), **significativamente ($P < 0.01$), ***significativamente ($P < 0.001$) diferente.

3.4. Texture analysis

Texture analysis of fermented milk products is an important attribute, characterizing the quality of the products. It is related to sensory perception of the product as well (Ozcan, 2013; Sodini, Remeuf, Haddad, & Corrieu, 2004). The strongest texture after 24 h storage at room temperature was detected in milk HT with *P. acidilactici* (20.56 ± 5.03), whereas the softest texture was detected in milk-LL with *P. acidilactici* (45.78 ± 20.60) (Figure 1). After 48 h fermentation, the strongest texture was detected in milk HT with *P. acidilactici*. This could mean that the texture of fermented milk products is influenced by the edible plant used and fermentation with *P. acidilactici* is the most suitable for production of fermented milk. Sodini, Lucas, Oliveira, Remeuf, and Corrieu (2002) confirm that starter cultures have influence on rheological parameters of fermented milk products as well.

3.5. Sensory analysis

The changes during fermentation affect products' physical properties such as appearance, texture, flavour, aroma, acidity and overall acceptability (Ghosh & Chattopadhyay, 2012). After the analysis of the sensory attributes, it was found that milk-HT samples fermented with *P. pentosaceus* were the most acceptable (7.0 ± 1.0 points) and this could be explained by the highest taste pleasure, the lowest smoothness and external taste of the final product (Table 4). Despite the low evaluation of appearance, these products were more palatable to consumers. This confirms the fact that fermented milk-HT has a great potential in food applications, especially in the development of functional foods, including functional milk products.

Milk-HT samples fermented with *L. sakei* were the least acceptable and this could be influenced by the highest external taste. The increased external taste could be influenced by the plant's aromatic characteristic that had lowered the overall acceptability of the final product.

Sensory analysis has shown that acceptability of fermented products was influenced not only by edible plant material used but also by LAB used for fermentation. The LAB used in this study also had an influence on odour and flavour intensity, taste pleasure, smoothness and appearance of the final product.

To our knowledge, there are no studies present in the literature concerning fermented milk products made with *H. tuberosus* L. and *L. luteus*. In most other investigations, LAB

and plants (HT and LL) were used in different alimentary matrices (Bartkiene et al., 2014; Bello et al., 2007). Hence, it is difficult to compare our results with those reported for products from the same category, due to differences in the applied experimental conditions, raw materials and strains of LAB used for fermentation. Our data are valuable and show that HT and LL fermented via solid-state fermentation can be used as pre-ferment in the processing of milk products.

4. Conclusions

In this study, three LAB strains (*P. pentosaceus*, *P. acidilactici* and *L. sakei*) were applied to a novel fermentation medium of milk with a perspective of industrial production of fermented milk products.

Chemical analysis of fermented milk products showed that addition of *L. luteus* L. had a positive effect on energy value, fat, protein, ash and total carbohydrate content. The products were more nutritious and had lower moisture content, softer texture and higher acidity. Milk-LL fermented with *L. sakei* and *P. pentosaceus* produced more i(+) than o(-) isomers than those of milk-HT products, whereas the higher amounts of L(+) and the lower amounts of o(-) isomers formed during milk-HT fermentation with *P. acidilactici* ($p < 0.01$).

Milk-HT-fermented products were more acceptable and palatable because of the higher taste pleasure, lower smoothness and external taste compared to milk-LL-fermented products. The acceptability of fermented milk products is dependent on the LAB used as well. Thus, milk fermented with *P. acidilactici* was more acceptable because of texture and appearance. In addition, the highest amount of LAB was found in milk-HT fermented with *P. acidilactici* compared to milk-LL products.

This investigation has demonstrated that some plants which are part of our diet can be used in combination with LAB for the production of novel fermented milk products. Advantages of the novel fermented milk products are their high nutritional value, low D(-) lactic acid content and high sensory attributes. Continuous growth of the milk industry may depend largely upon the introduction of new milk fermented products with creative concepts, which are built on consumer appeal.

Disclosure statement

No potential conflict of interest was reported by the authors.

References

- Bartkieni, E., Schleinig, G., Reksyto, T., Krungelvičutė, V., Juodėkienė, G., Vaidulytė-Funk, L., & Maknickienė, Z. (2013). Influence of the addition of lupin sourdough with different lactobacilli on dough properties and bread quality. *International Journal of Food Science & Technology*, 48, 2613–2620. doi:10.1111/ijfs.12257
- Bartkieni, E., Semėienė, L., Juodėkienė, G., Drungilas, E., & Valatkeviciene, Z. (2014). The safety, technology and sensory aspects of pasteurized and raw milk treated by solid-state fermented grain extrudates inoculated with certain lactobacilli. *Veterinarija ir Zootechnika*, 65, 3–10.
- Bartkieni, E., Skalskiytė, E., Juodėkienė, G., Vidmantienė, D., & Išorinskienė, L. (2014). The use of solid state fermentation for food. *Veterinarija ir Zootechnika*, 66, 1–11.
- Bello, D., Clarke, F., & Ryan, C. (2007). Improvement of the quality and shelf life of wheat bread by fermentation with the antifungal strain *Lactobacillus plantarum* F51 1.7. *Journal of Cereal Science*, 45, 309–318. doi:10.1016/j.jcs.2006.09.004
- Campos-Andrade, M.P., Santana, F.M.C., Felgueiras, L., Mimosa, M.J., & Empis, J.M.A. (1999, June). Nutritional value of *Lupinus angustifolius* and *L. cosentinii* accessions with diverse genetic origin. In *Proceedings of the 9th International Lupin Conference*. Germany
- de Lima, C.J.B., Coelho, L.F., Blanco, K.C., & Contiero, J. (2009). Response surface optimization of D(-) lactic acid production from *Lactobacillus* SM88 using corn steep liquor and yeast autolysate as nitrogen sources. *African Journal of Food Science*, 3, 257–261. doi:10.4314/ajfs.v8i2.66061
- Digaitienė, A., Hansen, A., Juodėkienė, G., & Josephsen, J. (2005). Microbial population in Lithuanian spontaneous rye sourdoughs. *Ekologia i Technika*, 5, 193–198.
- Dokosz, P. (2002). Effect of supplements of *Lactobacillus plantarum* DSM 12271 on the quality of ensiled alfalfa and grass with a high content of dry matter. *Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno*, 5, 37–44.
- Ertas, M., Ceylan, M., & Uslu, M.K. (2005). Some chemical properties of white lupin seeds (*Lupinus albus* L.). *Food Chemistry*, 89, 341–344. doi:10.1016/j.foodchem.2004.02.040
- Facklam, R., & Elliott, J.A. (1995). Identification, classification and clinical relevance of catalase-negative, gram-positive cocci excluding the streptococci and enterococci. *Clinical Microbiology Reviews*, 8, 479–495.
- Ghorib, D., & Chattopadhyay, P. (2012). Application of principal component analysis (PCA) as a sensory assessment tool for fermented food products. *Journal of Food Science and Technology*, 49, 328–334. doi:10.1007/s13197-011-0280-9
- Gilbert, C., Sirkilähti, L., Apajalahti, J., Acamovic, T., & Bedford, M.R. (2000). Microbial populations in caecal contents from chicks fed lupin-based diets, with and without enzyme supplementation. In *Proceedings of 100 World's Poultry Congress (ICP)*. Montreal, Canada.
- Gomez, M., Ollero, B., Rosell, C.M., Pando, V., & Fernandez, E. (2008). Studies on cake quality made of wheat – chickpea flour blends. *Food Science and Technology*, 41, 1701–1709. doi:10.1016/j.jwt.2007.11.024
- Gurukripa Kowlgi, N., & Chhabra, L. (2015). D-lactic acidosis: An under-recognized complication of short bowel syndrome. *Gastroenterology Research and Practice*, 2015, 1–8. doi:10.1155/2015/476215
- Ibesawuchi, J.A., & Daylop, D.M. (1995). Composition and quality of fresh cow milk offered for sale in plateau State Nigeria. *Nigerian Journal of Animal Production*, 22, 81–85.
- John, R.P., Anisha, G.S., Madhavan, N.K., & Ashok, P. (2009). Direct lactic acid fermentation: Focus on simultaneous saccharification and lactic acid production. *Biotechnology Advances*, 27, 145–152. doi:10.1016/j.biotechadv.2008.10.004
- Kim, Y., Fujih, M.N., & Wang, S.S. (2001). Factors affecting gel formation of inulin. *Carbohydrate Polymers*, 46, 135–145. doi:10.1016/S0144-8617(00)00296-4
- Kolajdova, Z., Karcovicova, J., & Schmidt, S. (2011). Lupin composition and possible use in bakery – A review. *Czech Journal of Food Science*, 29, 203–211.
- La Torre, L. (2003). Rheology and sensory profiling of set-type fermented milks made with different commercial probiotic and yogurt starter cultures. *International Journal of Dairy Technology*, 56, 163–170. doi:10.1046/j.1471-0307.2003.00098.x
- Lampart-Szczapa, E., Korczak, J., Nogala-Kalucka, M., & Zawirska-Wojtasik, R. (2003). Antioxidant properties of lupin seed products. *Food Chemistry*, 83, 279–285. doi:10.1016/S0308-8146(03)00091-8
- Mantzouridou, F., Spanou, A., & Kiosseoglou, V. (2012). An inulin-based dressing emulsion as a potential probiotic food carrier. *Food Research International*, 46, 260–269. doi:10.1016/j.foodres.2011.12.016
- Mariñeş, B.M., Moineau, S., & Quiberon, A. (2012). Bacteriophages and dairy fermentations. *Bacteriophage*, 2, 149–158. doi:10.4161/bact.21868
- Martinez-Villalunga, C., Frías, J., & Vidal Valverde, C. (2006). Functional lupin seeds (*Lupinus albus* L. and *Lupinus luteus* L.) after extraction of α-galactosides. *Food Chemistry*, 98(1), 291–299.
- Mirdamadi, S., Sadeghi, H., Shazafi, N., Fallahpour, M., Mohseni, A.F., & Bakhtiari, M.R. (2002). Comparison of lactic acid isomers produced by fungal and bacterial strains. *Iranian Biomedical Journal*, 6, 69–75.
- Oliveira, R.P.S., Perego, P., Oliveira, M.N., & Conventi, A. (2012). Effect of inulin on the growth and metabolism of a probiotic strain of *Lactobacillus rhamnosus* in co-culture with *Streptococcus thermophilus*. *LWT – Food Science and Technology*, 47, 358–363. doi:10.1016/j.lwt.2012.01.031
- Ozcan, T. (2013). Determination of yogurt quality by using rheological and textural parameters. *2nd International Conference on Nutrition and Food Sciences (ICNFS)*. doi:10.7763/ICNFS.2013.V53.23
- Panesar, P.S. (2011). Fermented dairy products: starter cultures and potential nutritional benefits. *Food and Nutrition Sciences*, 2, 47–51. doi:10.4236/fns.2011.21006
- Park, S.J., Lee, S.Y., Kim, T.W., Jung, Y.K., & Yang, T.H. (2012). Biosynthesis of lactate-containing polyesters by metabolically engineered *Escherichia coli*. *Biotechnology*, 7, 199–212. doi:10.1002/biot.201100070
- Pedersen, S.M., & Gylling, M. (2000). Lupin proteins for fermentation – economic and technology assessment. In *Proceedings of 1st World Conference on Biomass for Energy and Industry*. London: James and James (Science Publishers) Ltd.
- Robertfroid, M. (2000). Non digestible oligosaccharides. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 40, 461–480. doi:10.1080/10408690091189239
- Rubel, I.A., Pérez, E.E., Genovese, D.B., & Manrique, G.D. (2014). In vitro probiotic activity of inulin-rich carbohydrates extracted from Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) tubers at different storage times by *Lactobacillus paracasei*. *Food Research International*, 62, 59–65. doi:10.1016/j.foodres.2014.02.004
- Saeed, A.H., & Salam, A.I. (2013). Current limitations and challenges with lactic acid bacteria: A review. *Food and Nutrition Sciences*, 4, 73–87. doi:10.4236/fns.2013.411A010
- Scarafoni, A., Ronchi, A., & Duranti, M. (2009). A real-time PCR method for the detection and quantification of lupin flour in wheat flour-based matrices. *Food Chemistry*, 115, 1088–1093. doi:10.1016/j.foodchem.2008.12.087
- Simova, E.D., Beshkova, D.B., & Dimitrova, Z.P. (2009). Characterization and antimicrobial spectrum of bacteriocins produced by lactic acid bacteria isolated from traditional Bulgarian dairy products. *Journal of Applied Microbiology*, 106, 692–701. doi:10.1111/j.1365-2672.2008.04052.x
- Sobrinho-López, A., & Martín-Belloso, O. (2008). Use of nisin and other bacteriocins for preservation of dairy products. *International Dairy Journal*, 18, 329–343. doi:10.1016/j.idairyj.2007.11.009
- Sodini, I., Lucas, A., Oliveira, N., Remeuf, F., & Corrieu, G. (2002). Effect of milk base and starter culture on acidification, texture, and probiotic cell counts in fermented milk processing. *Journal of Dairy Science*, 85, 2479–2488. doi:10.3168/jds.S0022-0302(02)4330-0
- Sodini, I., Remeuf, F., Haddad, S., & Corrieu, G. (2004). The relative effect of milk base, starter, and process on yogurt texture: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 44, 113–137. doi:10.1080/10408690490424793
- Swanton, C.J., Calvers, P.B., Clements, D.R., & Moore, M.J. (1992). The biology of Canadian weeds. 101. *Helianthus tuberosus* L. *Canadian Journal of Plant Science*, 72, 1367–1382. doi:10.4141/cjps92-169
- Szambelan, K., Nowak, J., & Chrapkowska, K.J. (2004). Comparison of the bacterial and yeast ethanol fermentation yield from Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) tubers, pulp and juice. *Acta Scientiarum Poloniarum. Technologia Alimentaria*, 3, 45–53.
- Vayns, I.D., & Vancanneght, M. (2007). Biodiversity and identification of sourdough lactic acid bacteria. *Food Microbiology*, 24, 120–127. doi:10.1016/j.fm.2006.07.005
- Widyasutji, Y., Rohmatussolihat, & Febriansantosa, A. (2014). The role of lactic acid bacteria in milk fermentation. *Food & Nutrition Sciences*, 5, 435–442. doi:10.4236/fns.2014.54051
- Zeppa, G., Contiero, L., & Gerbi, V. (2007). Determination of organic acids, sugars, diacetyl, and acetoin in cheese by high-performance liquid chromatography. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 2722–2726. doi:10.1021/jf0009403

SUMMARY

Introduction

One of the most important research areas in the dairy industry regarding the development of dairy products and their scientific research is the enrichment of the products with various active components (Ballard and Morrow, in 2013; Lonnerdal, 2004; Martin et al., 2012). This is related to the fact that consumers tend to avoid nutrition related mistakes since public awareness as to the connection of nutrition and health is increasing (Sharma et al., 2011). Extracts of various plants and spices is the area of focus of the above-mentioned active components (Chandrani et al., 2012). This is a renewable source of biologically active substances characterised by aromatic and anti-oxidizing and anti-microbial properties (Dai and Mumper, 2010). A number of plant species are grown and used as valuable components of food and medicinal preparations. However, some aromatic herbs and spices including *Hibiscus rosa-sinensis* L., *Cyclopia intermedia*, *Sambucus nigra* L., *Helianthus tuberosus* L., *Lupinus luteus*, etc. are rarely used. Search for new and biologically active food components contributed to the investigation of the potential biological sources, their use and application possibilities. Many medicinal, aromatic and culinary herbs are rich in antioxidants, which are important for the human body: they absorb and neutralise free radicals which split the harmful peroxides and possess anti-microbial properties

Milk products is a very important segment of the food industry. Therefore, research on their quality, safety and improvement is particularly essential. Although the enrichment of dairy products by active components has been insufficiently investigated yet, but it is a promising area. A whole spectrum of antioxidants and bioflavonoids occur naturally and they have a huge positive impact on the human body, which is extremely important when a human is affected by antioxidant stress due to electromagnetic fields, computer work and other negative factors which shortens a person's life' or even causes oncological diseases. Thus it is very important to insert bioflavonoids into most commonly used food products. Many various biologically active substances are contained in plants and spice extracts (Nath et al., 2015). Besides, it is desirable that they be characterized by good organoleptic properties. Because of the extracts, the active substances can be standardized, which is necessary in the manufacture of food products. By improving a product quality and safety, it is necessary to investigate the characteristics of both extracts in specific model systems and in the production of most dairy products as well as to assess the key qualitative indicators of the products.

By manufacturing milk products with strains, which is one of the main methods of production, the latest areas of scientific research, beside the probiotic cultures, i.e., special lactic acid bacteria that produce bacteriocins, are applied in the production of dairy foods. Alongside, plants are fermented, which is the source of proteins and carbohydrates and used after fermentation as starters in the manufacture of products (Ivey et al., 2013). This a solid phase fermentation method which is more economical and safer compared to the usual fermentation in a liquid phase. However, it is more widely applied in the bread and meat industry, while in the dairy industry it has not been sufficiently investigated yet (Ivey et al., 2013). Fermentation is one of the main biotechnological factors of food processing. In the development of the science of biotechnology, attempts are being made to abandon synthetic food additives by replacing them with natural ones. By fermenting, it is possible to choose the most useful fermentation substrate that is more favorable to a person, unique bacteria which release enzymes that produce carbohydrates from various acids, aromatic compounds and mucus. It is essential to choose such a fermentation method that can exhibit a maximum enzyme exclusion, their glycolytic and proteolytic activity, which would enable to produce a new generation of products with the maximum amount of biologically active compounds (Vidmantienė and Juodeikiene, 2012; Rodríguez and Sanromán, 2006).

It is therefore very important to increase the amount of antioxidants received with food and increase them by using natural products (plants and extracts) or to increase the possibilities of using natural antioxidants of plant origin while producing an ordinary food. For this purpose, the dissertation was designated to investigate the phytochemical composition and antimicrobial properties of spicy plant extracts and to study fermented enzymes and their application in the chain of manufacturing dairy products.

Aim and objectives

Aim of the study:

To evaluate the antimicrobial, antioxidative, phytochemical and functional characteristics of the extracts of some plants and spices seeking to adapt them as a potential source of biologically active substances for the safety of dairy products.

Objectives:

1. Establish the antioxidative and antimicrobial properties of plants their extracts in model and real systems of dairy products;

2. Compare the yield of and chemical composition of plant and their extracts produced by different methods and solvents;
3. Evaluate the application of plant and spice extracts in real systems of milk products;
4. Determine the impact of vegetable products fermented by lactic acid bacteria (*Pediococcus pentosaceus* KTU05-9, *Pediococcus acidilactici* KTU05-7, *Lactobacillus sakei* KTU05-6) producing bacteriocines on the quality indicators of dairy products;
5. Evaluate and select the most prospective and organoleptically acceptable plants which increase the quality and safety of milk products.

Scientific novelty and practical significance

The practical application of plant extracts in the production of dairy products is a highly innovative and a widely-ranging scientific work requiring the assessment of many indicators.

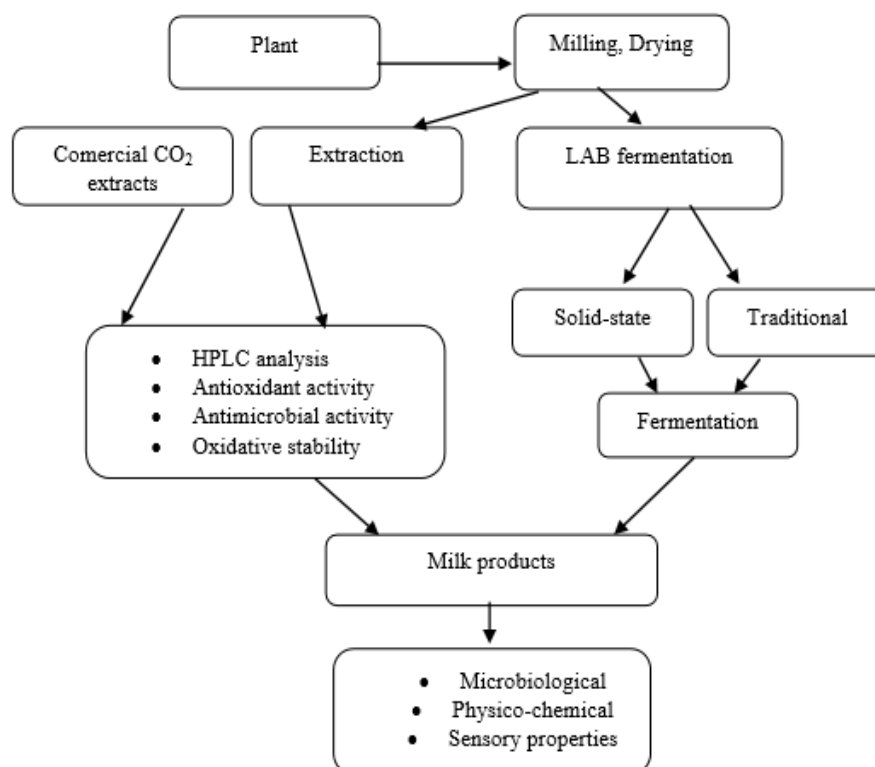
From the selected plants, by means of different methods of extraction, a variety of food extracts were produced. The main biologically active substances of the extracts, their antioxidant and antimicrobial activity in model and real systems of milk products as well as their sensory properties were identified regarding the acceptability of the final product.

In another part of the work, among the first researchers, using the solid phase fermentation, we studied the application of strain of plant origin, fermented by lactic acid bacteria in the production of dairy products. Meeting consumer needs in the development of new dairy products in the modern market economy is an ongoing scientific challenge. Product enrichment with active parts of plants (both in the form of extracts and strain) provides a new marketing potential to the dairy industry. Our research opens the new ways for practical applications - the development of new functional dairy products.

Materials and methods

The work was carried out at the Department of Food Safety and Quality of Lithuanian University of Health Sciences within period of 2011–2015. The study was carried out in four stages (Fig. 1):

We used chinese hibiscus (*Hibiscus rosa-sinensis* L.) and honeybush (*Cyclopia intermedia*) plant for preparation of extracts with different methodology and polarity of solvents and evaluate their antimicrobial and antioxidant activity in model systems.



1 Fig. The design of the study

The commercial CO₂ extracts – elderberry (*Sambucus nigra* L.), sweet basil (*Ocimum basilicum*) and chinese cinnamon (*Cinammonum aromaticum*) for their antimicrobial and antioxidant activity in model systems. In real systems of milk products as well as their sensory properties were identified regarding the acceptability, microbiological and physico-chemical properties of the final product. For fermentation of jerusalem artichokes (*Helianthus tuberosus* L.), yellow lupine (*Lupinus luteus*), soybeans (*Glycine max*) and linseed (*Linum usitatissimum* L.), different LAB (*Pediococcus pentosaceus* KTU05-9, *Pediococcus acidilactici* KTU05-7, *Lactobacillus sakei* KTU05-6) which were previously isolated from fermented rye and produce bacteriocin. Investigate the quality of fermented milk products and analyse the influence of such edible plants.

Plant material

Chinese hibiscus (*Hibiscus rosa-sinensis* L.) and honeybush (*Cyclopia intermedia*) plant material was used for extraction with organic solvents. All

solvents used for extractions were of analytical grade and those used for analysis were of chromatography grade.

The commercial CO₂ extracts of elderberry (*Sambucus nigra* L. SNCOSE-1-2), sweet basil (*Ocimum basilicum* BN 801027/2) and chinese cinamon (*Cinnamomum aromaticum* BN221208) were obtained from Flavex, GmbH, Germany.

Preparation of extracts

Different extraction procedures were used for the extraction of bioactive compounds of the plants. Plants were milled in a laboratory mill (Miag, Braunschweig, Germany) using 0,23 mm hole size sieve. Extraction were performed from 20 g ground material with 200 mL water. Extracts were left for 4 h constant shakin. The solvent were filtered using 0,3 µm filter and concentrated in a rotary evaporator Büchi, Rotavapor R-114 (Büchi Flavi, Switzerland) in vacuum (0,06 MPa) at 40°C temperature. After each step the extract were concentrated in a freeze dryer.

Soxhlet extraction (Behr Labor-Technik, Düsseldorf, Germany) was used as a Standard technique according to the AOAC reference method (1995) using acetone, food grade ethanol and water as a solvents. Twenty grams of ground material loaded into a cellulose thimble and inserted into the inner tube of the aparatus. The rate of extraction was 3 cycle per 3 h. The solvent was remove in a rotary vacuum evaporator at 40°C and the residue was weighed by analytical balances.

UPLC/MS analysis

An Acquity UPLC system (Waters, Milford, MA, USA) combined with a Bruker maXis UHR-TOF mass spectrometer (Bruker Daltonics, Bremen, Germany) was used. The Acquity UPLC was equipped with a binary solvent delivery system, an autosampler with a 10 µL sample loop, a photodiode array (PDA) detector, a column manager, and a data station running the Compass acquisition and data software. An Acquity BEH C18 column (1.7 µm, 50×2.1 mm, i.d.) was used for separation of compounds at 25 °C. The mobile phase was initially composed of 95%eluent A - acetic acid (0.4%v/v acetic acid solution in ultra pure water) and 5%B (acetonitrile), followed by a gradient 0–8.5 min, from 5–25% of B; 8.5–10 min, from 25–100% of B; 10–12 min, from 100% of B. In the PDA detector the effluent was monitored at 254 nm and further was introduced directly into the UHR-TOF mass spectrometer equipped with an ESI source at the flow rate of 0.3 mL/min. Analysis were achieved using the Compass 1.3 (HyStar 3.2 SR2) software. MS experiments

were performed in negative ionization mode. The capillary voltage was +4000 V with the end plate offset -500 V. Nitrogen was used as the drying and nebulizing gases at a flow rate of 10.0 L/min and a pressure of 2.0 bar. It was introduced into the collisional cell as the collision gas. The peaks were identified by the characteristic MS fragmentation patterns and accurate masses.

Measurements of antioxidant and radical scavenging activity

ABTS^{•+} radical cation decolorization assay

This antioxidant analysis method employing potassium persulfate to generate in ABTS^{•+} radical was developed by Re (1999) with slight modifications. The assay is based on decolourisation of the ABTS^{•+} radical possessing characteristic absorption maximum at 734 nm in the presence of antioxidants. The working solution of ABTS^{•+} was produced by reacting 7 mM ABTS^{•+} stock solution with 2.45 mM potassium persulphate; two stock solutions were mixed in equal quantities and kept for 14-16 h. The working solution was further diluted with a mixture of ethanol:water (50:50 v/v) to obtain the absorbance of 0.70 ± 0.02 at 734 nm.

Plant extracts or trolox solutions (3 µl) were reacted with 300 µl of the ABTS^{•+} solution during 30 min and the absorbance was read at 734 nm in a FLUOstar Omega reader. A series of trolox solutions (150–1500 µM) were used for calibration. The TEAC values were calculated from the calibration curve and the RSC values were expressed in µmol Trolox equivalents (TE) per g dry weight (DW) plant material and extract (µmol TE/g).

DPPH• radical scavenging assay

DPPH• assay is based on radical by the antioxidant, which results in a decrease in absorbance at 515 nm (1995). Briefly, 3 µl of extracts or trolox solutions were mixed in the microplate wells with 300 µl of DPPH• solution. The measurements were performed after 30 min at 515 nm wavelength using a FLUOstar Omega reader. Plant extracts were diluted with methanol to the final concentration of 1–3%. A series of trolox solutions (50–1000 µM) were used for calibration and the final results were expressed in µmol TE/g.

The percentage RSC of ABTS^{•+} was calculated by the formula:

$$[(\text{Abs}_{\text{control}} - \text{Abs}_{\text{sample}}) / (\text{Abs}_{\text{control}})] \times 100,$$

where $\text{Abs}_{\text{control}}$ and $\text{Abs}_{\text{sample}}$ are the absorbances of ABTS^{•+} in control mixture with methanol and the extract, respectively.

ORAC Assay

The advantage of ORAC assay is that it uses a biologically relevant radical source. The reaction was carried out in 75 mM phosphate buffer (pH 7.4); a stock solution of fluorescein was prepared according to Prior et al. (2003), the samples were prepared by dissolving plant extracts in methanol. Prepared samples or trolox (25 µl) and fluorescein (120 µl; 14 µM) solutions were placed in the 96 wells black opaque microplates with transparent flat-bottom. The microplates were sealed and incubated for 15 min at 37 °C. After incubation AAPH solution as a peroxy radical generator (25 µl; 240 mM) was added manually with a multichannel pipette. The microplate was immediately placed in the FLUOstar Omega fluorescent reader. The plate with the samples was shaken prior to each reading. Fluorescence measurements (excitation wavelength 485 nm; emission wavelength 510 nm) were read every 66 s, in total 90 cycles. Raw data were analyzed using software Mars (BMG Labtech GmbH, Offenburg, Germany). Fluorescein and AAPH solutions were prepared fresh daily. Aqueous solutions of trolox were used for calibration (12–200 µM). Antioxidant curves (fluorescence versus time) were normalized and the area under the fluorescence decay curve (AUC)

The final ORAC values were calculated by using a regression equation between the trolox concentration and the net area under the curve (AUC). The antioxidant activity was expressed in µmol trolox equivalent antioxidant capacity per g extract.

Measurement of Total Phenols Content (TPC)

The TPC was determined in the extracts using the method of Singleton and Rossi (1965) with slight modifications. Ten µl of appropriate dilutions of the extracts or gallic acid solutions were oxidized with 190 µl Folin-Ciocalteu's reagent solution in deionized water (1:13). The reagents were mixed, allowed to stand for 3 min and then neutralized with 100 µl of 7% Na₂CO₃. The mixture was vortexed for 90 min and the absorbance was measured at 765 nm in the FLUOstar Omega reader. The TPC was calculated using gallic acid calibration curve and expressed in mg gallic acid equivalents per g extract (mg GAE/g).

Assessment of Antioxidant Capacity by QUENCHER Assay

The measurements of the total antioxidant capacity using modified ABTS•+, DPPH•, ORAC and TPC methods were applied directly to the solid

particles of plant as described by Pastoriza et al. (2011). All assays were carried in the same way as described for the extracts isolated with solvents. In ABTS•+ scavenging assay 10 mg of the powdered sample were weighed in a testing tube and diluted with 40 µl of methanol. The reaction was started by adding 5 ml of ABTS•+ reagent. The mixture was vortexed for 2 min, centrifuged at 10500 g for 3 min, and 300 µl of optically clear supernatant was transferred to the microplate. The DPPH• scavenging assay was performed similarly to the ABTS•+ assay. In ORAC assay, 10 mg of the powdered sample was transferred to a test tube and the reaction was started by adding 5 ml of fluorescein. The mixture was kept at 37 °C for 15 min and then 175 µl of prepared solution was transferred to the microplate and 25 µl of AAPH solution added. For TPC, 10 mg of the sample were transferred to test tube with 2.9 ml Folin-Ciocalteu's reagent solution. The reagents was mixed and allowed to stand for 3 min. Then the mixture was neutralized with 2.1 ml of 7% Na₂CO₃, vortexed for 77 min and centrifuged at 10500g for 3 min; the absorbance was measured at 765 nm.

In all methods, when the samples exerted too high antioxidant activity, they were diluted with microcrystalline cellulose as an inert material. The samples of cellulose-reagent mixture were prepared as control in all measurements using microcrystalline cellulose. Trolox solutions were used to prepare the calibration curve, using microcrystalline cellulose as well. The results are expressed in µmol equivalents of Trolox per g of DW.

Antimicrobial activity

Microorganisms

The food spoilage bacteria (*Bacillus cereus* (ATCC10876), *Salmonella typhimurium* (ATCC14028), *Escherichia coli* (ATCC25922), *Staphylococcus aureus* (ATCC25923), *Listeria monocytogenes* (ATCC19117), *Enterococcus faecalis* (ATCC29212), *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*) and fungi (*Aspergillus niger*, *A. flavus*, *A. fumigatus*, *Penicillium* spp., *Mucor* spp, *Trichoderma* spp.) were used in this study.

The agar well diffusion method

The antimicrobial properties of plant and CO₂ extracts were evaluated by the agar well diffusion method (Zaika et al. 1988). Pure ethanol was used as control in blank samples for bacteria and yeast at the same conditions. It was determined that ethanol did not influence the growth of microorganisms.

Bacteria growth assessment in curd

The suspensions of 0.1 ml overnight cultures in 10 g of sterile curd were prepared. Were added 1% concentration of extracts. Inoculated suspensions without extracts served as control. After inoculation (0 h) and after 5 and 7 day incubation at 30°C and 37°C, serial dilutions were plated on M17 agar and selective media. The plates with starter cultures were incubated at 30 °C for 72 h and 48 h, respectively. The plates with pathogenic bacteria (*E. coli*, *S. aureus* and *L. monocytogenes*) were incubated at 30 and 37 °C for 24h.

Analysis of texture profile (firmness)

Texture profile analysis of fermented milk products (10 g) was conducted using Stevens LFRA Texture Analyzer as a constant speed cone penetrometer (Volland Corp., New York, NY, USA) using 10 mm penetration depth and 1.0 mm s⁻¹ speed and the force exerted on the probe. Fermented milk samples were stored at room temperature (23°C) prior to testing and the results were expressed in texture analysis unit

Sensory analysis of fermented milk products

Sensory analysis was carried out by 10 panellists—experts of age 30-55 at the Sensory laboratory of Lithuanian University of Health Sciences. They were selected and taught to work according to ISO 8586 – 1 and had practical skills to evaluate milk products. Sensory profile of fermented milk products (20 g) was analysed using 10-point rating scale ranging from 1 (the lowest intensity) to 10 (the highest intensity). Attributes such as overall smell and taste, external taste, taste pleasure, smoothness and appearance (referred to colour intensity and absence of defects) were evaluated. Preliminary sensory acceptability of the products was scored using 9 mm score hedonic line scale, ranging from 1 (dislike extremely) to 5 (like extremely)

Statistical analysis

Obtained data was analyzed with SPSS 17.0 software with analysis. The results are given as mean values and standard deviations, which were calculated from at least three replicate measurements using MS Excel 2007. Analysis of variance (spss 17.0) was used to test any differences in antioxidant activities, followed by the Bonferroni post hoc test to compare the means that showed significant variation ($p < 0.05$)

Results

Antioxidant activity of plant extracts

The antioxidant properties were measured for extracts and also calculated for the initial dried chinese chibiscus and honeybush material (Fig. 1). RSC of extracts varied in a wide range; in the DPPH[•] reaction system LFW at the applied concentration scavenged from 40,20 to 142,36 $\mu\text{mol TE/g}$, while in the ABTS^{•+} reaction system the RSC was from 33,60 till 448 $\mu\text{mol TE/g}$ (Fig. 1). LFW, SFS, AE and EE extracts were remarkably stronger antioxidants than EW extracts in DPPH[•] and ABTS^{•+}. LFW extracts of chinese hibiscus and honeybush were strongest antioxidants than SFW extracts; while both extract types from AE, EE and EW extraction had similar antioxidant activity in the DPPH[•]. Comparing different plants, the RSC of LFW and SFW extracts was highest for chinese hibiscus, while AE and EE extracts were the strongest radical scavenging in the honeybush.

The evaluation of the oxygen radical scavenging capacity (ORAC) in honeybush LFW extracts varied in the range 137314 – 2070,02 $\mu\text{mol TE/g}$ and in chinese hibiscus extracts 1192.38 - 1349.69 $\mu\text{mol TE/g}$. The highest amount of ORAC was in honeybush LFW extracts 18,72%, SFW – 13,16%, AE – 35,84%, EE – 18,88% and EW - 34.80% compared to chinese hibiscus extracts.

The total amount of phenolic compounds, expressed in gallic acid equivalents, in LFW varied in the range of 375,35 – 677,96 mg/g; SFW, 234,53 – 575,63 mg/g; AE, 165,14 – 348,11 mg/g; EE, 213,04-343,43 mg/g and EW, 132,26 – 356,01 mg/g (Fig. 2). The lowest amount of phenolic compounds as well as RSC in both DPPH[•] and ABTS^{•+} were found for the EW extracts (Fig. 1; 2); however, the concentration of phenolic compounds in LFW extracts from chinese hibiscus and honeybush was comparatively high. Best correlations between were found the total content of phenolics and RSC in DPPH[•] and ABTS^{•+} (0,99 and 0,99, respectively).

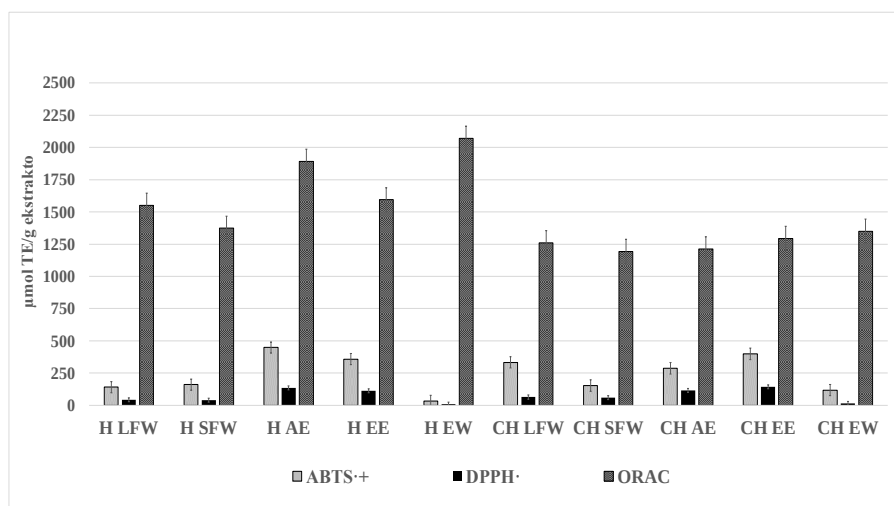


Fig. 1. RSC of chinese hibiscus and honeybush extracts measured in the DPPH•, ABTS•+ and ORAC.

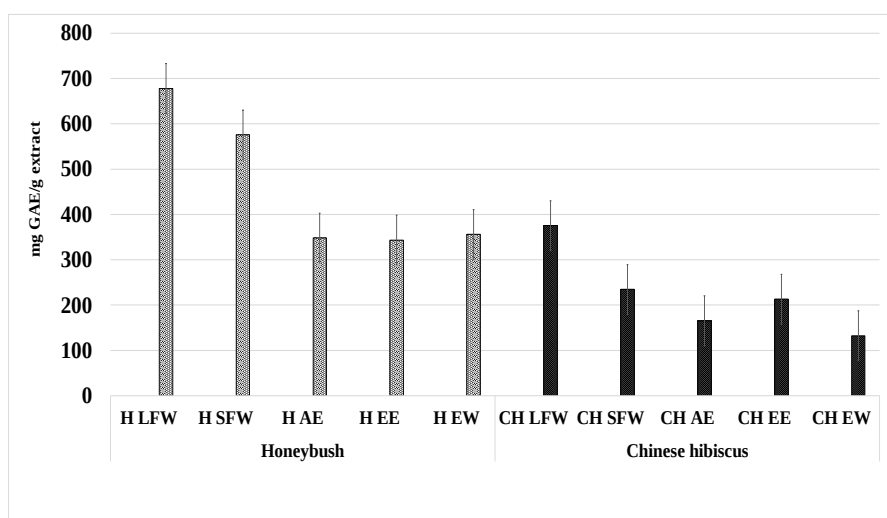


Fig. 2. Total amount of phenolic compounds of chinese hibiscus and honeybush extracts.

Direct Evaluation of Antioxidant Capacity by QUENCHER Method

It may be observed that all QUENCHER values for the honeybush were higher than chinese hibiscus, except for ABTS•+, when RSC were similar (Table 1). The RSC and antioxidant activity of an aqueous and an organic extract were remarkably lower. However, comparing QUENCHER results with those obtained by analyzing the extracts some interesting observations

can be noticed. The sum of RSC obtained in ABTS•+ and DPPH• assay by analyzing the extracts isolated by both extraction was approximately two times lower than the relevant values obtained by a QUENCHER assay. This difference for seeds was even higher. The sum of values obtained in ORAC assay by analyzing the extracts isolated by both solvents and was even more times higher in case of QUENCHER assay; however, the differences in TPC values were less. Several reasons may be raised to explain these differences. First of all, as it was already mentioned, some part of antioxidatively active compounds may remain in the matrix after extraction because they are bound to other constituents. Some classes of compounds, e.g., antioxidatively active proteins and carbohydrates may be insoluble in the used solvents while in QUENCHER assay their active sites in the structures may participate in antioxidant processes. Finally, the systems of assay are different and the differences in the assay matrix may influence reaction kinetics. A strong correlation between TPC and antioxidant activity measured by a QUENCHER method was also observed: TPC vs. ABTS•+, $R^2=0.97$; TPC vs. ORAC, $R^2=0.95$. To the best of our knowledge no results have ever been published on evaluating chinese hibiscus and honeybush extracts using QUENCHER method.

Table 1. Antioxidant activity ($\mu\text{mol TE/g}$) and total phenols content (mg GAE/g) of chinese hibiscus and honeybush obtained by QUENCHER procedure.

Samples	ABTS ^{•+}	DPPH [•]	ORAC	TPC
Chinese hibiscus	3232,02±7,45*	84,33±0,35*	2272,08±0,71*	328,19±4,13*
Chinese hibiscus aqueous	3110,17±5,38*	70,65±6,88*	1794,70±5,63*	279,65±3,75*
Chinese hibiscus organic	2203,39±7,56*	68,36±4,38*	335,06±6,00*	181,39±3,13*
Honeybush	3884,01±6,00*	144,24±9,75*	2272,08±0,10*	885,48±7,69*
Honeybush aqueous	2013,49±3,75*	112,23±1,56*	1958,00±3,63*	291,92±6,15*
Honeybush organic	1867,90±3,63*	95,13±4,88*	303,84±3,15*	148,68±4,98*

Preliminary characterization of honeybush and chinese hibiscus phytochemicals by UPLC/MS analysis

For preliminary phytochemical screening of extracts they were analyzed by UPLC/MS. The following compounds were identified in extracts by measuring their accurate mass and retention time: in honeybush - hesperitin, hesperidin and magniferin; in chinese hibiscus - quercetin, campesterol, ergosterol, pelargonidin and cyanidin. Detailed information on the

identification of honeybush and chinese hibiscus compounds is presented in additional data given in Table 2. It may be clearly observed that hesperitin (in honeybush) and quercetin (in chinese hibiscus) is the major quantitatively constituent. On the other hand, a large number of recorded peaks on the chromatograms indicate that the extracts are complex mixtures of compounds; however, exact mass data obtained by UPLC/MS was not sufficient for their identification, because mass spectral libraries give too many candidate structures for the measured masses.

Table 2. UPLC/MS/MS analysis of honeybush and chinese hibiscus extracts.

Tentative identification	Formula (M)	Retention time (min)	MS (M-H), g/mol
Chinese hibiscus extracts			
Quercetin	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	4,09	302,24
Campesterol	C ₂₈ H ₄₈ O	7,84	414,72
Ergosterol	C ₂₈ H ₄₄ O	7,63	396,65
Pelargonidin	C ₁₅ H ₁₁ O ₅	3,19	271,24
Cyanidin	C ₁₅ H ₁₁ O ₆	6,66	287,24
Honeybush extracts			
Hesperitin	C ₁₆ H ₁₄ O ₆	2,71	302,28
Hesperidin	C ₂₈ H ₃₄ O ₁₅	3,55	610,56
Magniferin	C ₁₉ H ₁₈ O ₁₁	4,61	422,34

Antimicrobial properties of plant extracts

The agar well diffusion tests have shown that all extracts that differ only in their extraction parameters have antibacterial properties (Table 3). It has been noted that the chinese hibiscus extract differed from the other extracts in its antibacterial effect. This extract had stronger effect on five out of nine sample cultures – *Esherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* and *Bacillus cereus*. The aqueous Chinese hibiscus extracts (LFW and SFW) inhibited the growth of test cultures, but the concentration of 1% and 5% solution havin't inhibition effect on - *P. aeruginosa*, *B. subtilis* and *K. pneumoniae*, *E. faecalis*, respectivelity. The strongest antibacterial properties characterized by AE and EE Chinese hibiscus extracts, the most sensitive culture - *S. aureus* and *E. coli*.

Honeybush extracts characterized by lower antibacterial properties. The aqueous (LFW and SFW) extract had a slight inhibitory effect (inhibitory zones reached 13.0 mm) on the growth of *P. aeruginosa*, *B. subtilis* and *S. aureus*. LFW and SFW extract solution of 1 and 5% inhibit – *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *S. aureus* and *B. subtilis*, but did not inhibited *E. faecalis*.

The evaluation of the AE and EE extracts - *S. typhimurium* culture was sensitive to AE, and *B. cereus* - EE honeybush extracts.

Table 3. Antimicrobial properties of chnese hibiscus and honeybush extracts.

Extr- act, conc.		Microorganisms/Inhibition zone, mm								
		<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. typhimurium</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>S. aureus</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>B. cereus</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>B. subtilis</i>
CH - LFW	20	21	20	20	25	30	31	28	19	24
	10	17	16	15	19	24	25	25	15	16
	5	14	14	13	16	20	23	23	13	14
	1	10	9	9	13	11	13	13	10	11
CH - SFW	20	21	20	20	22	31	31	30	17	17
	10	18	15	15	17	24	24	25	12	11
	5	16	10	13	0	20	21	23	0	9
	1	10	0	9	0	10	11	13	0	0
CH - AE	20	25	28	32	31	25	32	36	29	36
	10	20	20	19	23	20	25	25	19	20
	5	17	18	16	20	12	21	21	14	18
	1	12	14	13	14	10	11	19	10	14
CH - EE	20	25	26	32	23	24	22	30	22	30
	10	22	19	23	21	19	19	25	17	20
	5	19	17	19	19	17	12	20	13	18
	1	13	14	15	15	12	9	15	11	14
H - LFW	20	18	13	18	22	14	18	18	0	13
	10	16	10	12	17	10	13	10	0	10
	5	12	0	10	0	0	10	0	0	0
	1	9	0	0	0	0	0	0	0	0
H - SFW	20	19	13	19	20	15	18	18	0	13
	10	15	10	12	15	9	13	10	0	10
	5	13	0	10	0	0	10	0	0	0
	1	10	0	0	0	0	0	0	0	0
H - AE	20	19	30	10	25	19	19	17	18	30
	10	17	25	0	17	17	16	15	16	25
	5	1	22	0	15	15	14	12	12	22
	1	11	18	0	10	12	9	10	9	18
H - EE	20	23	24	15	23	17	18	13	17	24
	10	20	17	13	20	15	15	0	13	17
	5	15	15	10	14	11	11	0	11	15
	1	12	12	0	11	9	9	0	9	12

The results have shown that the inhibitory effect were different on extracts EW of Chinese hibiscus were more sensitive to *A. flavus* (inhibitory zone of LFW – 35 mm, SFW – 30 mm) and *A. niger* (LFW and SFW – 10 mm) culture. LFW extracts more sensitive to *A. flavus* culture. Fungi were more sensitive for AE and EE extracts. EE extracts had no inhibitory effect on *A. fumigatus* and *A. flavus* culture. AE extracts were more sensitive on *Penicillium spp.* - 40 mm, *Trichoderma spp.* - 13, *Mucor* - 9, *A. flavus* - 11, *A. fumigatus* - 9 and *A. niger* - 14 mm, respectively EE - 23 mm, 9 mm, 10 mm and 15 mm (Fig. 3).

Honeybush extracts effectively inhibited the growth of *A. flavus* (LFW and SFW), *A. niger* and *Penicillium sp* (AE and EE). However, aqueous extracts did not inhibit - *Penicillium spp.*, *Trichoderma sp.*, *Mucor*, and *A. niger*, and AE and EE - *Trichoderma spp.*, *Mucor*, *A.flavus* and *A. fumigatus* fungi, respectively.

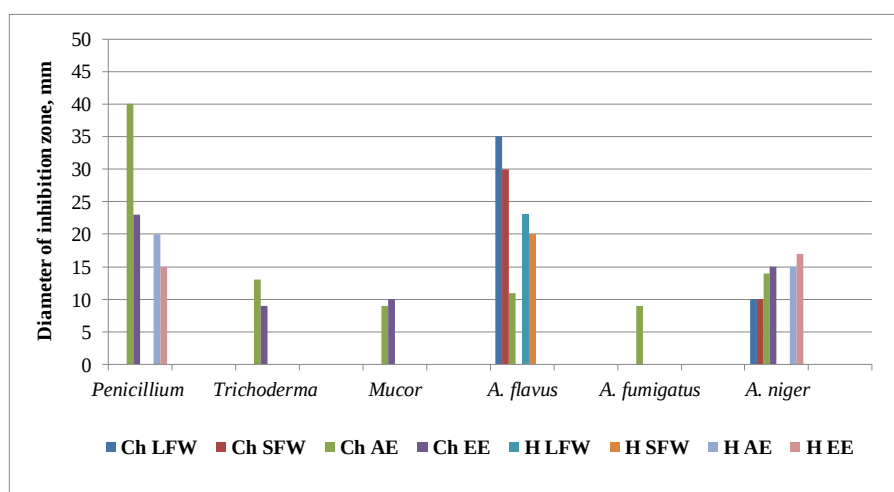


Fig. 3. Antifungal properties of chinese hibiscus and honeybush extracts.

Influence of elderberry, sweet basil and chinese cinnamon CO₂ extracts of the growth of microorganisms in curd

Initial tests have shown that chinese cinnamon and sweet basil CO₂ extracts had inhibitory effects on the growth of a majority of test microorganisms. However, the strongest antimicrobial effect was observed on the chinese cinnamon extract. As a result, this extract was chosen for further experiments (i.e. determination of its effect on microorganisms in curd). The results (Fig. 4) show that chinese cinnamon CO₂ extract inhibited the activity of microorganisms immediately when extracts were added to curd and after 5 and 7 days.

Samples with extracts had less colony-forming units, when compared to the control sample. However, after 5 and 7 incubation days, when the number of viable microorganism cells in curd reached 6 lg, chinese cinnamon extract was very effective.

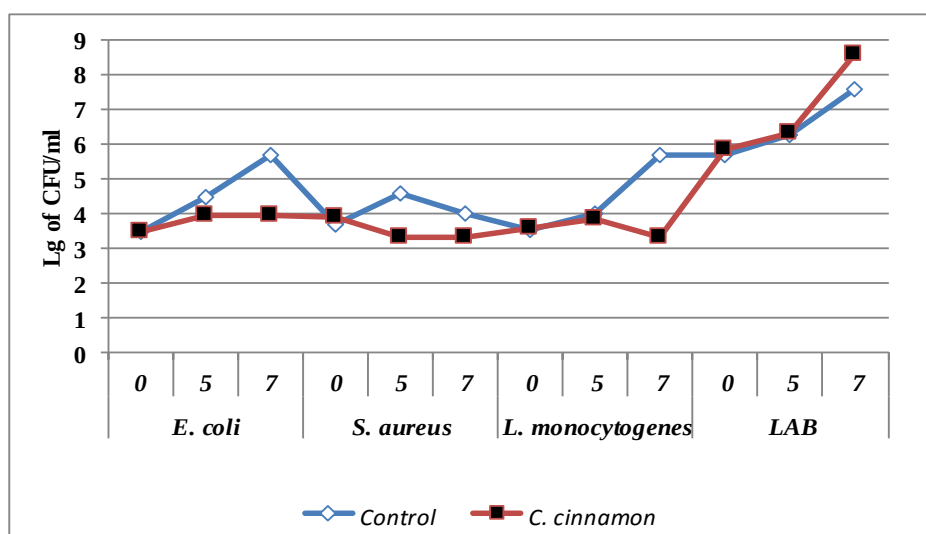


Fig. 4. Changes in the count of bacteria in curd with CO₂ extract of chinese cinnamon.

Fermented milk products physico-chemical and sensory properties

The strongest texture after 24 h storage at room temperature was detected in milk -Jerusalem artichoke and Lupinus with *L. sakei* KTU05-6. After 48 h fermentation, the strongest texture was detected in milk - Jerusalem artichoke with *P. pentosaceus* KTU05-9 and teh softer milk – Lupinus *P. acidilactici* KTU05-7 and *L. sakei* KTU05-6. This could mean that the texture of fermented milk products is influenced by the edible plantused and fermentation.

Sensory analysis (Fig. 5-6) has shown that acceptability of fermented milk products was influenced not only by edible plant material used but also by LAB used for fermentation. The LAB used in this study also had an influence on odour and flavour intensity, taste pleasure, smoothness and appearance of the final product. Milk - Jerusalem artichoke and milk - Linseed samples fermented with *L. sakei* KTU05-6 were the least acceptable and this could be influenced by the highest external taste. The increased external taste could be influenced by the plant 's aromatic characteristic that had lowered the overall acceptability of the final product. Milk - Jerusalem artichoke and milk - Soy

fermented products were more acceptable and palatable because of the higher taste pleasure, lower smoothness and external taste compared to milk-LL and milk-LS fermented products. The acceptability of fermented milk products is dependent on the LAB used as well. Thus, milk fermented with *P. acidilactici* was more acceptable because of texture and appearance.

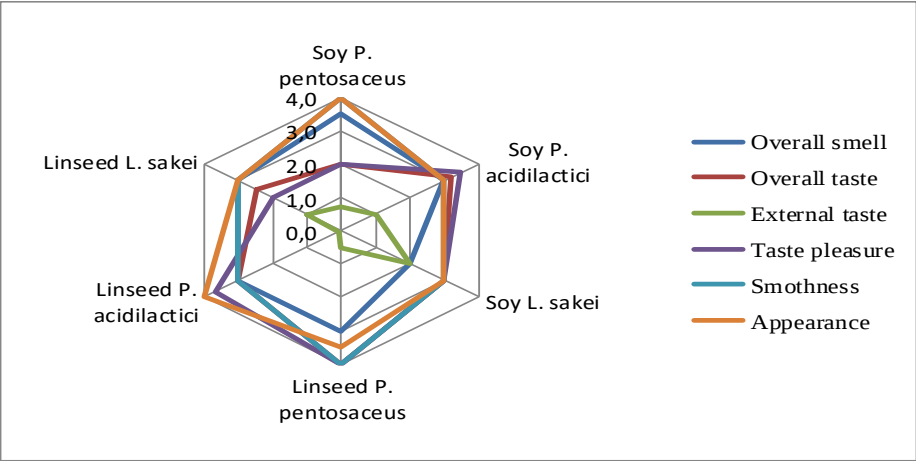


Fig 5. Influence of fermeted milk products on sensory attributes.

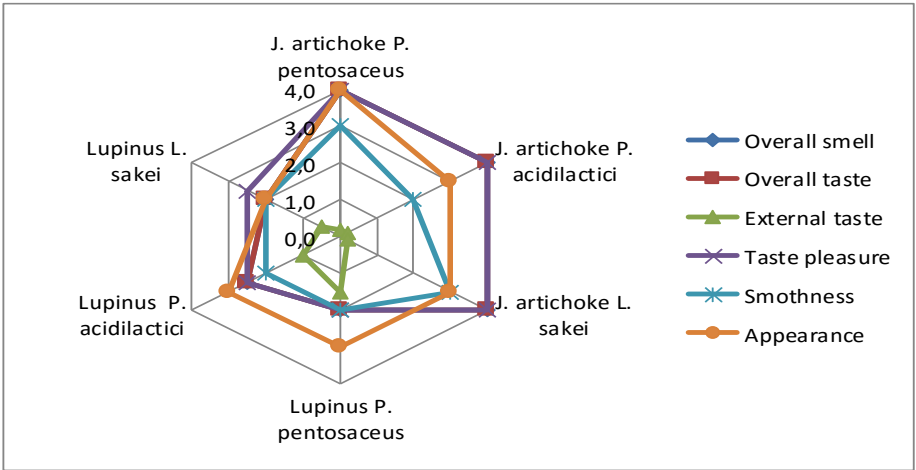


Fig 6. Influence of fermeted milk products on sensory attributes.

To our knowledge, there are no studies present in the literature concerning fermented milk products made with Jerusalem artichoke, Linseed, Soy and Linseed. Hence, it is difficult to compare our results with those reported for products from the same category, due to differences in the applied

experimental conditions, raw materials and strains of LAB used for fermentation. Our data are valuable and show that Jerusalem artichoke, Linseed, Soy and Linseed fermented via solid-state fermentation can be used as pre-ferment in the processing of milk products.

Discussion

Antioxidant properties of plant extracts

There are many assays for the assessment of antioxidant properties of plant extracts, the majority of them are based on electron/hydrogen atom transfer reactions. Huang et al. (2005) concluded that ORAC, TPC and one of the electron/hydrogentransfer assays should be recommended for a representative evaluation of antioxidant properties of foods. DPPH• assay is mainly attributed to the electron transfer assays, however the quenching of DPPH• radical. Other electron transfer based methods include the TPC assay by Folin-Ciocalteu reagent and ABTS•⁺ decolorization assay. Following the above mentioned recommendation all these methods were applied for assessing antioxidant potential of plant extracts in our study. However, it should be noted that the Folin-Ciocalteu reagent actually measures the reducing capacity of a sample, which is not reflected in the name “total phenolic assay” (Huang et al., 2005). Therefore, the TPC values as a measure of the phenolics which has been used in overwhelming majority of previously published articles should be regarded rather conditionally.

The highest concentration of phenolic compounds were found in aqueous extracts, followed by acetone and ethanol extracts. The findings are in disagreement with the fact that phenolic compounds are better extracted with organic solvents of higher polarity. However the concentration of phenolic in LFW and SFW extracts was remarkably higher as compared with AE, EE and EW fractions. Our study showed that the content of phenolics in Chinese hibiscus and honeybush extracts correlated with their anticadical activity; strong correlation was observed between total phenolics and DPPH• ($r^2=0.99$), also we found correlation between TPC and ABTS•⁺ assay ($r^2=0.99$), confirming that phenolic compounds are important contributors to the antioxidant properties of these extracts. However, the correlations between TPC, DPPH• and ABTS•⁺ in Chinese hibiscus extracts and honeybush were very weak. Pengley et al. (2008) found that the level of total phenols varied depending on the type of plant tissue and sample treatment methods (solvent extraction/solvent type). Joubert et al (2008) reported that in honeybush AE extract biological active compounds are magniferin, izomegniferin and hesperidin, hesperitin, eriocitrin, narirutin and

campesterol. Kamara et al. (2003) reported that honeybush extracts rich in flavonoids, flavones and polyphenols. Sissing et al. (2011) reported that the aqueous honeybush extracts biologically active compounds - magniferin, xanthones, izomagniferin, hesperitin and hesperidin.

Our research confirm the other authors results, that some of the most active chonese hibiscus compound are phenolics and they are respons for the wide range of antioxidant properties (Vundac et al., 2007). Cai et al., (2004) and Faten et al. (2013) reported that correlation coefficient of chinese hibiscus RSC and TPC was similar as in our study. Pan et al. (2010) reported that RSC and TPC of chinese hibiscus correlation coefficient was high.

Plant preparations are high complexity containing large numbers of bioactive compounds. This makes the discovery of new compounds from natural sources challenging. When an active extract had been detected, the first task is the identification of bioactive phytochemicals. The results showed that major active compounds from chinese hibiscus extract was quercetin, but in honeybush hibescetin. The phytochemical composition of plant's secondary metabolites depends on several factors, such as cultivation area, climatic conditions, vegetation phase, genetic modifications, part of plants and other; therefore evaluation of plant properties from different geographical regions, or extraction metadology. In general it can be concluded that studied of chinese hibiscus and honeybush species are richer source of bioactive compounds.

Some antioxidatively active constituents may be strongly bound to other components in plant material matrix and are not extracted by organic solvents or water. Such compounds may be released in human intestinal tract during digestion. Recently a QUENCHER method was developed, which determines the antioxidant activity of the whole plant material including its insoluble fraction. According to Serpen et al. (2007), the values obtained by using QUENCHER method for insoluble food components show a significant antioxidant activity, which in many cases remarkably higher than those obtained by the traditional extraction procedures. They hypothesized that free functional groups on the surface of insoluble particles quench with radicals.

Antimicrobial properties of plant extracts

Spoilage of food products is one of the most important problems related to food production and consumption, especially considering nutritional value, food safety and economical aspects. Each year million tons of products are destroyed due to microbiological spoilage. Besides, there is a danger of microbial food poisoning. Finally, people suffer from economical losses. Therefore, ensuring food safety is a relevant topic in the food industry.

In order to protect food ingredients and food products from microbial spoilage, a variety of different food preservatives and food processing methods are used. However, consumers are increasingly becoming unsatisfied with the dominance of synthetic food additives. Together with the increasing living standards consumers start paying more attention to healthy lifestyle. As a result, an increasing interest is focused in the search for natural ingredients isolated from plants that could at least partially replace synthetic food additives. The possibility to use them in industry also receives greater attention.

It has already been noted that several spices and aromatic plants increase shelf-life, protect food from microbial spoilage and slow the development of pathogenic bacteria. Manufacture of such natural and antimicrobial ingredients is constantly being improved and developed. Earlier various organic solvents, including acetone, ethanol, etc. and water were used in order to isolate plant extracts.

The antibacterial and antifungal properties of various extracts have recently produced great interest in the food and pharmaceutical industries. Bacterial growth can be attributed to the presence of different phenolics (Kraft et al. 2008). Literature records provide data about different effect of extracts in nutrition media and food products. Some authors note that *B. cereus*, *S. aureus* and *Pseudomonas* were more sensitive to savory in tests carried out in nutrition media than in real food products. Besides, antimicrobial activity of the analysed extract reduced due to low solubility of antimicrobial substances in food fats. Finally, it is thought that fat found in food form protective layer round bacteria. That is how the possibility of antibacterial substances to enter a cell is reduced.

Coetzee et al. (2008) reported that honeybush extracts have antibacterial activity against – *E. coli* and *Botrytis cinerea*.

The impact of fermentation on milk products quality and safety

Functional milk products enriched with different ingredients become more popular. Producers are looking for a possibility to create products not only

acceptable by sensory properties, but also rich in biological active substances. Four edible plants, *Helianthus tuberosus* L. (HT), *Lupinus luteus* (LL), *Glycine max* (S) and *Linum usitatissimum* (LS) were fermented with lactic acid bacteria (LAB) (*Pediococcus pentosaceus* KTU05-9, *P. acidilactici* KTU05-7, *Lactobacillus sakei* KTU05-6). These edible plants were never used for milk fermentation before and there are no data about processing of milk products using these plants, fermented with LAB. The study was performed for the first time ever and preliminary research analysis was performed.

LAB are used widely in the production of different foods. These bacteria are often used as starter cultures in the production of fermented meat and dairy products. Lactic acid is a key metabolite produced during fermentation and in food products it usually serves either as a preservative or as a flavouring agent (Vuyst and Vancanneyt, 2007; Widyastutiet al., 2014). On the other hand, microbiologically produced lactic acid is usually a mixture of L (+) and D (–) isomers. As the latter cannot be metabolised by humans and can result in acidosis, it is important to assess the content of D(–) lactic acid in fermented foods (Bartkiene et al., 2014).

Sensory properties, such as specific odour, texture and taste, of fermented milk products are greatly influenced by LAB (Sobrino-López and Martín-Belloso, 2008). LAB are not only grown easily and on inexpensive media but also produce secondary metabolites such as bacteriocin-like inhibitory substances, which are able to inhibit the growth of spoilage bacteria and foodborne pathogens (Simova et al., 2009). LAB are considered as safe food preservatives, which are easily degraded by gastrointestinal proteases (Facklam and Elliott, 1995). LAB are normally found in nutrient – rich environments and require fermentable carbohydrates, amino acids, fatty acids, salts and vitamins for their growth (Saeed and Salam, 2013).

Our results are in agreement with the findings of Ibeawuchi and Daylop (1995), who stated that crude protein content increased after fermentation of pasteurized milk with starter culture. Martínez-Villaluenga et al. (2006) also indicated white lupine (*Lupinus albus*) as one of the potential plants with high protein content. Hence, rich in proteins, *L. luteus* can be useful as a protein source for fermented milk products. Compositional analysis of fermented milk products indicated that there were significant differences ($p \leq 0.05$) between fat, moisture, total carbohydrates and pH after 12 h and between above-mentioned indexes and texture after 48 h fermentation. Significant differences were seen between TTA after 12 h and 24 h, between total ash and total protein content ($p \leq 0.001$) and between pH after 24 h and lactose concentration ($p \leq 0.01$). As there were no significant differences between fermentation conditions, it could be assumed that the composition of fermented milk samples was mostly influenced by edible plant material.

This investigation has demonstrated that some plants which are part of our diet can be used in combination with LAB for the production of novel fermented milk products. Continuous growth of the milk industry may depend largely upon the introduction of new milk fermented products with creative concepts, which are built on consumer appeal.

Conclusions

1. The highest yield of Chinese hibiscus and honeybush extracts were obtained using polar and medium polar solvents. Lyophilized and sprayed aqueous fraction of honeybush is characterized by a higher amount of phenolic compounds but weaker antioxidative activity in DPPH, ABTS⁺ and ORAC systems. Hesperitin is predominant in honeybush and quercetin - in Chinese hibiscus.

2. The extracts of Chinese cinnamon and sweet basil were characterised by a higher amount of total phenolic compounds and higher antiradical activity in model systems ABTS, DPPH and ORAC compared to elderberry. Addition of Chinese cinammon stabilized fat oxidation in emulsions, while the effect of other extracts on oxidation process was slight.

3. The highest antibacterial activity was determined for Chinese hibiscus (acetone and ethanol) and Chinese cinnamon extracts. *L. monocytogenes*, *K. pneumoniae* and *E. faecalis* were the most sensitive to 1% plant extract solutions.

4. The most effective inhibition of yeast growth was reached using 1% plant extract solutions of Chinese hibiscus, honeybush (methanol and ethanol) and Chinese cinnamon (the largest inhibition zones were 16-17 mm, 11-13 mm and 40 mm respectively). *R. rubra* and *P. kluyveri* were the most sensitive. The extract of Chinese cinammon inhibited the growth of microscopic fungi however inhibitory effect of other extracts was weak.

5. Chinese hibiscus and Chinese cinnamon extracts could be used in curd production as natural antimicrobial additives against *L. monocytogenes*, *S. aureus* and *E. coli*.

6. Using *Pediococcus acidilactici* KTU05-7 and *Lactobacillus sakei* KTU05-6 for plant (Jerusalem artichoke, linseed and lupines) fermentation, production of L(+) lactic acid isomer is more intensive. The least total amount of biogenic amines (BA) was estimated using *P. acidilactici* KTU05-7 for fermentation. Milk products, enriched with linseeds fermented with *Lactobacillus sakei* KTU05-6 were characterised as having the strongest texture.

7. Sensory indices of the curd with plant additives were acceptable for consumption. Addition of honeybush had the greatest impact on flavor

properties of the curd because of well expressed pleasant taste, odour, appearance and antioxidant properties, which increase functionality of the product.

Recommendations

1. Based on our studies, the professionals of the food industry, can apply the compositions of aromatic basil adapt the compositions of sweet basil, elderberries and the Chinese cinnamon in the production of various dairy products by combining their amounts according to the organoleptic properties and thus enriching the products with biologically active substances of elderberries, basil and cinnamon taste characteristics and active antioxidation and antimicrobial activity.

2. We recommend to enrich cheese curd and its products with various extracts, thus creating new and enriching other curd dessert products as well as other confectionery products with curd. Anthocyanins contained in Chinese hibiscus are not only a food dye, they add a product a pleasant color, while other components provide a pleasant sour taste, thus improving the products with antioxidation and antimicrobial activity. The honey bush is a potential antioxidant because of its sweet honey taste and functional properties of its constituents and luteolin.

3. To enrich dairy products with biologically active substances of soybean, lupine, flax seed and Jerusalem artichoke and to produce safer products, technologists could combine (do various compositions) from conventional lyophilized microorganism cultures strains by (TF) and by solid fermented strains of plant origin. This way, it is purposeful to improve the organoleptic characteristics of the product, using and applying various model systems or individual plant extracts with good organoleptic characteristics.

Publications

1. Šlapkauskaitė J., Sekmokienė D., Bartkienė E., Juodeikienė G., Vidmantienė D., Barčauskaitė K., Garmienė G. „Impact of starters with *Helianthus tuberosus* L., obtained solid-state and traditional fermentation on the quality of fermented milk products“. Food Chemistry and Technology. 2013. 47-2:83-89.

2. Šlapkauskaitė J., Kabašinskiienė A., Šlapkauskas A., Sekmokienė D. „Antimicrobial activity perspectives of plant extracts and essential oils in food industry“ Food Chemistry and Technology. 2014. 48-2:93-104.

3. Šlapkauskaitė J., Sekmokienė D., Kabašinskiienė A., Bartkienė E., Juodeikienė G., Šarkinas A. „Influence of lactic acid bacteria fermented

Helianthus tuberosus L. and *Lupinus luteus* on quality of milk products“
CyTA Journal of Food. 2016. 14:3. 1-7.

Other publications

1. Kabašinskiienė A., Liutkevičius A., Sekmokienė D., Zaborskienė G., Šlapkauskaitė J. "Evaluation of the physicochemical parameters of functional whey beverages" Food Technology and Biotechnology. 2015. 53(1):110-115.

Presentations in conferences

International conferences:

1. 7th Baltic Conference on Food Science and Technology "Innovations for food science and product" Foodbalt 2012, Lithuania, Kaunas, May 17-18 d. **"The impact of fermented plants with lactic acid bacteria strains on the milk fermentation process"**

2. 18th International scientific conference of Humans and Nature safety, Kaunas, Lithuania, 2012 May 16-17 d. **„Effect of *Helianthus tuberosus L.* ir *Lupinus luteus* in ferment for fermentation process“**

3. 9th Baltic Conference on Food Science and Technology "Food for consumer well-being" Foodbalt 2014 May 8-9, Jelgava, Latvija. **"Chemical and sensory properties of ricotta cheese"**

4. 20th Humans and Nature safety, Kaunas, Lithuania, 2014 May 07-09. **"Effect of lactic acid bacteria fermented plants on the nutritional value of dairy products"**

5. 2st International Conference on Agriculture and Food: Borgo, Bulgaria, 2014 June 05-09 d. **"Production and characterization of cheese enriched with high biological value plants"**

6. 10th Baltic Conference on Food Science and Technology "Future Food: Innovations, Science and Technology" Foodbalt 2015, Kaunas, Lithuania, May 15–17 d. **„In vitro antibacterial and antioxidant activity of *Cyclopia intermedia* and *Hibiscus rosa-sinensis L.* extract“**

7. 5th International Conference of PhD Students , Multidirectional research in agriculture and forestry, Cracow, Poland, 2015 March 21-22 d. **„Antioxidant and antimicrobial properties of aqueous extracts against foodborne pathogens“**

8. 21th International scientific conference of Humans and Nature safety, Kaunas, Lithuania. 2015 May 06–07 d. „**The influence of plant extracts on curd type cheese quality**“

9. 21th international scientific conference of Humans and Nature safety, Kaunas, Lithuania. 2015 May 06–07 d. „**The influence of technological parameters on quality of beverages contained with plant extracts**„

10. VI International conference on Environmental, Industrial and Applied Microbiology – BioMicroWorld, Barcelona, Spain, 2015 October 28-30 d. „**Evaluation of antimicrobial activity of different solvents of *Hibiscus rosa-sinensis* L. and *Cyclopia intermedia***“

11. IDF World Dairy Summit „Closing the Nutritional Gap with Sustainable Dairy“, Vilnius, Lithuania, 2015 September 20-24 d. „**Impact of antimicrobial properties of essential oils on curd-type cheese quality**“.

National conferences:

1. 2th conference of junior researchers – in progress of agriculture Lithuania, Vilnius, Lithuania, 2013 11 21. „**The influence of solid-state fermentation on fermented milk products quality**“

2. 3th conference of junior researchers – in progress of agriculture Lithuania, Vilnius, Lithuania, 2014 11 06. „**Antimicrobial and antioxidant activity of *Cyclopia intermedia* ir *Hibiscus rosa-sinensis* extracts**“

Curriculum vitae

Jurate Slapkauskaite was born on the 13th of December, in 1984, in Kaunas, Lithuania. She leaved Noreikiskiu secondary school, in 2003, in Kaunas, Akademija. In 2008, Jurate completed undergraduate studies at the Faculty of Animal Hunbandry Technology, Lithuanian Veterinary Academy and obtained bachelor diploma. She studied at the Lithuanian Veterinary Academy from 2008 to 2010 and obtained the Master's degree. In 2011, Jurate started the PhD studies at the Department of Food Safety and Quality, Veterinary Academy, Lithuanian University of Health Sciences.

GYVENIMO APRAŠYMAS

Jūratė Šlapkauskaitė gimė 1984 m. gruodžio 13 d. Kaune. 2003 m. baigė Noreikiškių vidurinę mokyklą. 2003 m. įstojo į Lietuvos Veterinarijos Akademiją, Gyvulininkystės technologijos fakultetą kurį baigė 2008 m. ir įgijo gyvulininkystės technologo specialybę. 2010 m. įgijo magistro laipsnį. 2011 m. įstojo į doktorantūrą Lietuvos sveikatos mokslų universitete, Veterinarijos akademiją, Maisto saugos ir kokybės katedrą.

PADĖKA

Nuoširdžiai dėkoju darbo vadovei prof. dr. Daliai Sekmokienei už suteiktas mokslines žinias, patirtį studijų metu, vertingus patarimus, nuoširdų palaikymą, kantrybę ir pasitikėjimą.

Dėkoju konsultantui doc. dr. Antanui Šarkinui už vertingus mokslinius patarimus, rūpestį ir sudarytas sąlygas atlikti mokslinius tyrimus.

KTU Maisto instituto darbuotojai Daivai Jasinauskienei už nuoširdų ir draugišką bendravimą, žinias, konsultacijas.

KTU Maisto mokslo ir technologijų katedros prof. dr. Petrui Rimantui Venskutoniui ir doktorantei Vaidai Kraujalienei už sudarytas geras darbo sąlygas, suteiktą metodinę pagalbą ir sudarytas sąlygas atlikti mokslinius tyrimus.

Dėkoju savo šeimai už jų meilę, supratimą ir pagalbą bet kokioje situacijoje. Šalia manęs esančių žmonių paskatinimai bei tikėjimas suteikė jėgų nesustoti, judėti į priekį, daryti, bei tikėti tuo ką darai. Ačiū visiems, buvusiems ir esantiems šalia už doktorantūros studijų metu įgytas žinias ir už suteiktą galimybę būti tuo kuo šiandiena esu.