



**KAUNO TECHNOLOGIJOS UNIVERSITETAS
CHEMINĖS TECHNOLOGIJOS FAKULTETAS**

Aistė Šidlauskaitė

***LACTOBACILLUS* GENTIES BAKTERIJŲ ATRANKA IR JŲ
PANAUDOJIMO GALIMYBĖ Kietųjų Sūrių Gamyboje**

Baigiamasis magistro projektas

Vadovas

habil. dr. Joana Šalomskienė

Kaunas, 2017

KAUNO TECHNOLOGIJOS UNIVERSITETAS
CHEMINĖS TECHNOLOGIJOS FAKULTETAS

LACTOBACILLUS GENTIES BAKTERIJŲ ATRANKA IR JŲ
PANAUDOJIMO GALIMYBĖ Kietųjų SŪRIŲ GAMYBOJE

Baigiamasis magistro projektas

Maisto mokslas ir sauga (kodas 621E40001)

Vadovas

(parašas) Habil. dr. Joana Šalomskienė
(data)

Recenzentas

(parašas) Doc. dr. Aušra Šipailienė
(data)

Projektą atliko

(parašas) Aistė Šidlauskaitė
(data)

KAUNAS, 2017



KAUNO TECHNOLOGIJOS UNIVERSITETAS

Chemijos fakultetas

(Fakultetas)

Aistė Šidlauskaitė

(Studento vardas, pavardė)

Maisto mokslas ir sauga, 621E40001

(Studijų programos pavadinimas, kodas)

„*Lactobacillus* genties bakterijų atranka ir jų panaudojimo galimybė kietųjų sūrių gamyboje“

AKADEMINIO SAŽININGUMO DEKLARACIJA

20 ____ m. _____ d.
Kaunas

Patvirtinu, kad mano, **Aistės Šidlauskaitės**, baigiamasis projektas tema „*Lactobacillus* genties bakterijų atranka ir jų panaudojimo galimybė kietųjų sūrių gamyboje“ yra parašytas visiškai savarankiškai ir visi pateikti duomenys ar tyrimų rezultatai yra teisingi ir gauti sąžiningai. Šiame darbe nei viena dalis nėra plagijuota nuo jokių spausdintinių ar internetinių šaltinių, visos kitų šaltinių tiesioginės ir netiesioginės citatos nurodytos literatūros nuorodose. Įstatymų nenumatytų piniginių sumų už šį darbą niekam nesu mokėjęs.

Aš suprantu, kad išaiškėjus nesąžiningumo faktui, man bus taikomos nuobaudos, remiantis Kauno technologijos universitete galiojančia tvarka.

(vardą ir pavardę įrašyti ranka)

(parašas)

TURINYS

IVADAS.....	1
1. LITERATŪROS APŽVALGA	3
1.1. Pieno rūgšties bakterijų savybės	3
1.2. Starterinių kultūrų naudojimas kietųjų sūrių gamyboje	5
1.3. Pieno rūgšties bakterijų reikšmė sūrių gamyboje.....	7
1.4. <i>Lactobacillus</i> genties bakterijų savybės	9
1.4.1. <i>Lactobacillus helveticus</i>	10
1.4.2. <i>Lactobacillus helveticus</i> proteolitinis aktyvumas	12
1.4.3. <i>Lactobacillus helveticus</i> antimikrobinis aktyvumas	13
2. MEDŽIAGOS IR TYRIMŲ METODAI	17
2.1. Darbo organizavimas ir tyrimo objektas	17
2.2. Pieno rūgšties bakterijų išskyrimas iš savaiminio rūgimo maisto produktų	17
2.2.1. Grynų kultūrų išskyrimas	17
2.2.2. Mikrobiologiniai metodai.....	18
2.2.3. Biocheminiai metodai	19
2.2.4. Fiziologinių savybių nustatymas.....	20
2.2.5. Rūgšties sudarymo aktyvumas ir juslinis įvertinimas	20
2.2.6. Genetiniai metodai	20
2.3. Fungicidinis aktyvumas.....	22
2.4. Raugo ruošimo būdo parinkimas.....	22
2.5. Bandomųjų ir kontrolinių sūrių tyrimo metodai	23
2.5.1. Kietųjų sūrių gamybos technologija.....	23
2.5.2. Mikrobiologiniai tyrimų metodai	24
2.5.3. Cheminiai metodai	25
2.5.4. Jusliniai metodai.....	25
2.6. Statistinė analizė.....	26
3. REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS	27
3.1. Išskirtų kultūrų savybių tyrimai	27
3.2. Motininio raugo ruošimas sūrio gamybai.....	40
3.2.1. Motininio raugo sudarymas iš kultūrų mišinio	41
3.3. Kietojo fermentinio sūrio bandomoji gamyba	43
3.3.1. Kontrolinio ir bandomojo kietojo fermentinio sūrio juslinis vertinimas.....	46
IŠVADOS.....	47

LITERATŪROS SĀRAŠAS.....	49
PRIEDAI.....	54

SUTRUMPINIMAI

CEP – ląstelių apvalkalų proteinazės;

DNR – deoksiribonukleorūgštis;

GRAS – gaminiai pripažinti saugiais;

MA – mielių autoizoliatas;

MMO – Europos pieno rinkos stebėjimo centras;

MRS – Man, Rogosa, Sharpe terpė;

PRB – pieno rūgšties bakterijos;

VRBL – Violet red bile lactose agar.

Šidlauskaitė Aistė. *Lactobacillus* genties bakterijų atranka ir jų panaudojimo galimybė kietųjų sūrių gamyboje. *Magistro* baigiamasis projektas / vadovas habil.dr. Joana Šalomskienė; Kauno technologijos universitetas, Cheminės technologijos fakultetas.

Mokslų kryptis ir sritis: Technologijos mokslai, Maisto technologijos

Reikšminiai žodžiai: pieno rūgšties bakterijos, *Lactobacillus helveticus*, kietasis sūris, priešgrybinis aktyvumas.

Kaunas, 2017. 87p.

SANTRAUKA

Darbo tikslas buvo pagerinti kietųjų sūrių kokybę, panaudojant šalia įprastinio raugo išskirtas iš fermentinių sūrių, pagamintų su spontaniniu raugu, grynas termofilinių pieno rūgšties lazdelių kultūras ir kultūras su priešgrybinėmis savybėmis. Tyrimo objektas buvo pieno rūgšties bakterijų kultūros, išskirtos iš kietųjų fermentinių sūrių, pagamintų iš žalio pieno. Sūrių mėginiai termofilinių pieno rūgšties bakterijų išskyrimui (*Permigiano Reggiano*, *Grana Padano*, *Tete de Moine*) įsigyti prekybos centre.

Iš sūrių mėginių buvo išskirtos 27 pieno rūgšties bakterijos. Jų savybėms įvertinti buvo atliekami mikrobiologiniai, cheminiai, biocheminiai ir jusliniai tyrimai. Pieno rūgšties bakterijų rūšims identifikuoti buvo atliekama genetinė analizė.

Atlikus savybių tyrimus, paaiškėjo, kad jos būdingos *Lactobacillus helveticus* ir *Lactobacillus casei*. Išskirtų atrinktų pieno rūgšties bakterijų kultūrų numanomos rūšys patvirtintos pirosekvenavimo metodu pagal rDNR 16S geno V1, V2 ir V3 regionų sekas: 23 kultūros priskirtos *Lactobacillus helveticus*, 4 – *Lactobacillus casei*. Remiantis genetinių tyrimų, angliavandenių skaidymo ir kitais anksčiau gautais rezultatais, tolimesniam darbui atrinktos 7 *Lactobacillus helveticus* kultūros. Buvo parinktas raugo sudarymo būdas kietajam fermentiniam sūriui gaminti. Atlikus pagamintų kietųjų fermentinių sūrių mikrobiologinius tyrimus, nustatyta, kad *Lactobacillus helveticus* kultūrų panaudojimas eksperimentinių kietųjų sūrių gamyboje sumažino mielių skaičių lyginant su kontroliniais sūriais. Pirmosios gamybos metu mielių skaičius nežymiai sumažėjo nuo $5,1 \cdot 10^2$ iki $1,1 \cdot 10^2$, antrosios gamybos metu – nuo $5,4 \cdot 10^2$ iki $1,0 \cdot 10^2$. Apibendrinus juslinės analizės rezultatus nuspręsta, kad antrosios gamybos metu gaminti eksperimentiniai sūriai pasižymėjo geresnėmis juslinėmis savybėmis, nei pirmosios gamybos metu. Tačiau, lyginant su kontroliniais sūriais, neišvengta technologinių defektų. Tam įtakos galėjo turėti tai, kad eksperimentiniai sūriai buvo gaminami pusiau gamybinėmis sąlygomis, todėl nebuvo galima griežtai prisilaikyti technologinio režimo.

Šidlauskaitė Aistė. *Selection of Lactobacillus Genus Bacteria and Possibility of Their Use In the Manufacture of Hard Cheeses: Master's thesis in Food Science and Safety / supervisor assoc. prof. Joana Šalomskienė. The Faculty of Chemical Technology, Kaunas University of Technology.*

Research area and field: Technological Sciences, Food Technology

Key words: lactic acid bacteria, *Lactobacillus helveticus*, hard cheese, antifungal activity.

Kaunas, 2017. 87 p.

SUMMARY

The aim of the work was to improve the quality of hard cheeses using pure thermophilic *Lactobacillus* cultures isolated from cheeses made with spontaneous fermentation, together with usual starters and cultures with antifungal activity. The object of the study was lactic acid bacteria strains isolated from the hard cheeses made from raw milk. Cheese samples (*Permigiano Reggiano*, *Grana Padano*, *Tete de Moine*) were purchased at the supermarket for isolation of thermophilic lactic acid bacteria.

27 lactic acid bacteria cultures were isolated from cheese samples. Microbiological, chemical, biochemical and sensory analysis was accomplished to evaluate their properties. Genetic analysis was accomplished to identify lactic acid bacteria species.

Study showed that the properties are typical to *Lactobacillus helveticus* and *Lactobacillus casei*. Isolated and selected lactic acid bacteria implied species confirmed pyro-sequencing method by regions of sequences of 16S rDNA gene V1, V2 and V3: 23 cultures assigned to *Lactobacillus helveticus*, 4 – *Lactobacillus casei*. 7 *Lactobacillus helveticus* cultures were selected for further work based on genetic analysis, division of carbohydrates and other earlier results. The manner of forming the starter has been selected for hard cheese producing. The use of *Lactobacillus helveticus* cultures reduces the number of yeasts as compared to the control cheeses. At the first cheese production number of yeasts decreased from $5,1 \cdot 10^2$ to $1,1 \cdot 10^2$, at the second – from $5,4 \cdot 10^2$ to $1,0 \cdot 10^2$. Summarizing the results of sensory analysis showed, that cheeses of the second production were characterized by better sensory properties than cheeses of the first production. However, compared to the control cheese, there were technological defects. Semi-industrial conditions could influence some technological defects of experimental cheeses, as it was not possible to follow strict technological regime.

ĮVADAS

Sūriai gali būti gaminami iš karvės, buivolų, ožkų pieno. Sūriai gali būti skirstomi pagal gamybos būdą, technologijos ypatumus, raugo sudėtį. Sūriai dėl įvairaus skonio ir tekstūros yra plačiausiai vartojami fermentuoti maisto produktai visame pasaulyje. Remiantis Europos pieno rinkos stebėjimo (MMO) duomenimis, sūrių vartojimas Europoje kasmet po truputį didėja – 0,1 %, lyginant 2015 – 2016 metus su 2016 – 2017 [1]. Remiantis 2015 metų duomenimis, europiečiai sūrius vartoja beveik kasdien įvairiais būdais. Europoje beveik 65 % patiekalų receptų sūriai yra naudojami asuteikti išskirtiniam skoniui ir tekstūrai. Sūriai yra vieni svarbiausių ingredientų įvairiuose Europos šalių patiekaluose, todėl tai yra viena iš priežasčių, kodėl jų rinka ateityje tik didės [2].

Šilto klimato šalyse kai kurios kietųjų sūrių rūšys gaminamos iš žalio pieno su natūraliai žaliavoje esančiomis pieno rūgšties bakterijomis, t. y. su spontaniniu raugu. Taip gaminami sūriai pasižymi geromis skonio bei tekstūros savybėmis. Pavyzdžiui, taip gaminamas itališkas sūris „*Parmigiano Reggiano*“. Šis sūris pasižymi tamsiai geltona, pereinančia į rudumą spalva, primenančia vašką. Sūriui būdingas intensyvus kvapas, jame intensyviausiai jaučiamas džiovinto varškės sūrio, džiovintų vaisių pikantiškas kvapas bei skonis [3]. Lietuvoje gaminamas kietasis fermentinis sūris „*Džiugas*“ yra vienas iš populiariausių tokio tipo sūrių. Šis sūris pasižymi neryškia geltona su pilkšvu atspalviu spalva ir gaiviu skoniu. Jo tekstūra minkštesnė, skonis švelnesnis nei itališko sūrio, todėl, norint priartinti prie šio sūrio skonio Lietuvoje gaminamų fermentinių kietųjų sūrių skonį, galima į raugų sudėtį papildomai įtraukti termofilinių PRB, paprastai natūraliai esančių šilto klimato šalių karvių piene. *Lb. helveticus* – viena iš geriausių savybių turinti termofilinė PRB, tinkanti kietųjų sūrių gamybai. Be to, *Lb. helveticus* pasižymi slopinančiu poveikiu prieš pelėsinis grybus, kas yra svarbu tiems vartotojams, kurie vengia maisto produktų su cheminiais maisto priedais. Panaudojant *Lb. helveticus* raugų gamybai būtų galima to išvengti.

Darbo tikslas – pagerinti kietųjų sūrių kokybę, panaudojant šalia įprastinio raugo išskirtas iš fermentinių sūrių, pagamintų su spontaniniu raugu, grynas termofilinių pieno rūgšties lazdelių kultūras ir kultūras su priešgrybinėmis savybėmis.

Darbo uždaviniai:

1. Išskirti iš kieto fermentinio sūrio, pagaminto iš žalio pieno, būdingas šios grupės sūrių raugams pieno rūgšties bakterijų kultūras.
2. Identifikuoti išskirtas kultūras ir atrinkti tolimesniam darbui.

3. Nustatyti atrinktų kultūrų antimikrobines savybes.
4. Sudaryti raugą, panaudojant išskirtas kultūras (*Lactobacillus* spp.).
5. Atlikti bandomąsias kietojo sūrio gamybas, palyginti eksperimentinius mėginius su kontroliniais mėginiais.

1. LITERATŪROS APŽVALGA

1.1. Pieno rūgštis bakterijų savybės

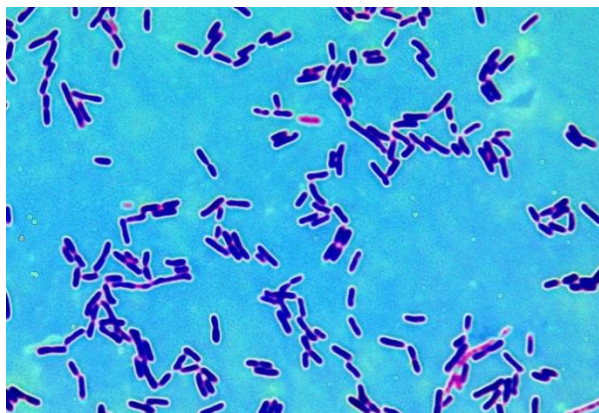
Susidomėjimas pieno rūgštis bakterijomis (PRB) kaip organizmų grupe pradėjo augti 1900 m. pradžioje. Pirmą gryną kultūrą (*Bacterium lactis*, dabar žinomą kaip *Lactococcus lactis*) Listeris išskyrė 1873 m. [4]. PRB apibūdinamos kaip visur aptinkamos heterogeninės bakterijos, kurios gali fermentuoti įvairias medžiagas iki pieno rūgštis [5]. Jos aptinkamos aplinkoje, kurioje gausu angliavandenių substratų – maiste ir pašaruose, taip pat žmonių bei gyvūnų organizmuose, nuotekose [6]. Tradiciškai PRB buvo vadinamos „pieną rauginančiais mikroorganizmais“ ir dažnai buvo siejamos su maisto bei pašarų nuostoliais dėl fermentacijos proceso. Vis dėlto PRB pastaruoju metu yra laikomos naudingomis, jos plačiai naudojamos įvairiose pramonės šakose, pradedant raugo kultūromis pieno pramonėje ir baigiant probiotikų gamyba [7]. Kai kurios PRB gamina antagonistines medžiagas, vadinamas bakteriociniais, kurios net ir mažais kiekiais yra aktyvios prieš patogenines bakterijas [8].

PRB skirstomos į du tipus Firmicutes ir Actinobacteria. Pagrindinės PRB Firmicutes tipo gentys yra šios: *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactosphaera*, *Leuconostoc*, *Melissococcus*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* ir *Weissella* (žr. 1 pav.) [9]. Actinobacteria tipui priklauso šios gentys: *Microbacterium*, *Propionibacterium* ir *Bifidobacterium* [10]. PRB sistematika iki galo nėra sudaryta, nes auginant jau žinomas padermes ant skirtingų terpių ir skirtingomis sąlygomis, nuolat keičiasi daugelis jų savybių.

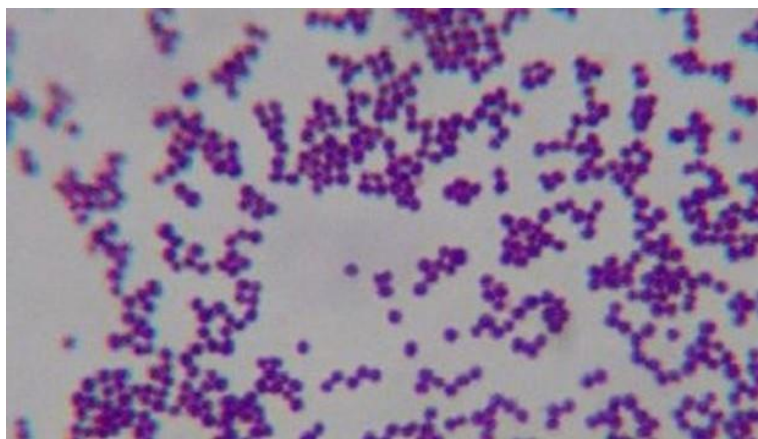


1 pav. PRB (Firmicutes tipo) pagrindinių genčių biologinė klasifikacija [9]

Pieno rūgšties bakterijos yra Gramteigiamos, mikroaerofilinės, rūgštį toleruojančios, sporų nesudarančios lazdelės (žr. 2 pav.) ar kokai (žr. 3 pav.), kurie gali gyventi įvairiomis sąlygomis. Katalazės reakcija neigiama (nors kai kurios padermės gali sukelti pseudokatalazės reakciją). Pagal galutinį gliukozės fermentacijos produktą pieno rūgšties bakterijos skirstomos į dvi grupes: homofermentinės (*Lactobacillus*, *Streptococcus*) pagamina tik pieno rūgštį, heterofermentinės (*Leuconostoc* ir *Weissella*) pakeičia gliukozės molekulę į pieno rūgštį, CO₂, etanolį ir/arba acto rūgštį labai mažais kiekiais (iki 50 proc. pieno rūgšties) [11].



2 pav. Lazdelės formos pieno rūgšties bakterijų (*Lactobacillus helveticus*) mikroskopinis vaizdas, 1000 kartų [12]



3 pav. Kokų formos pieno rūgšties bakterijų (*Lactococcus lactis* subsp. *lactis*) mikroskopinis vaizdas, 1000 kartų [13]

1.2. Starterinių kultūrų naudojimas kietųjų sūrių gamyboje

Sūrių gamyba remiasi panaudojimu grynų PRB, kurios sukelia greitą pieno rūgštingumo kilimą dėl pieno rūgšties susidarymo ir sumažina pH, o tai lemia sūrio gamybos procesą ir kokybę [14]. Anksčiau gaminti sūrio produktai buvo paremti spontanine fermentacija, kurią sukeldavo natūraliai piene esanti ir iš aplinkos patekusi mikroflora, todėl galutinė produkto kokybė buvo priklausoma nuo mikroorganizmų, esančių žaliavoje. Toks fermentavimo procesas vėliau buvo optimizuojamas. Gaminant sūrį, papildomai buvo įmaišomos išrūgos, likusios iš ankstesnio sūrio fermentavimo proceso. Sūrio savybės priklausydavo nuo geriausiai prisitaikiusių dominuojančių padermių. Šiomis dienomis tokia fermentacija dar yra naudojama gaminant kai kurių rūšių sūrius su saugoma kilmės nuoroda (pvz. itališkas sūris „*Parmigiano Reggiano*“) [15].

Raugas – pats svarbiausias faktorius sūrio gamyboje, kur jis atlieka kelias funkcijas. Į sūrio gamybą įeina starterinių kultūrų, kurios atsakingos už pieno rūgštingumo kilimą ir specifinių savybių atsiradimą brandinimo metu, įdėjimas. Mikroorganizmai, dalyvaujantys sūrių gaminimo procese, gamina įvairius lakius komponentus, kurie suteikia būdingą aromatą ir skonį [16].

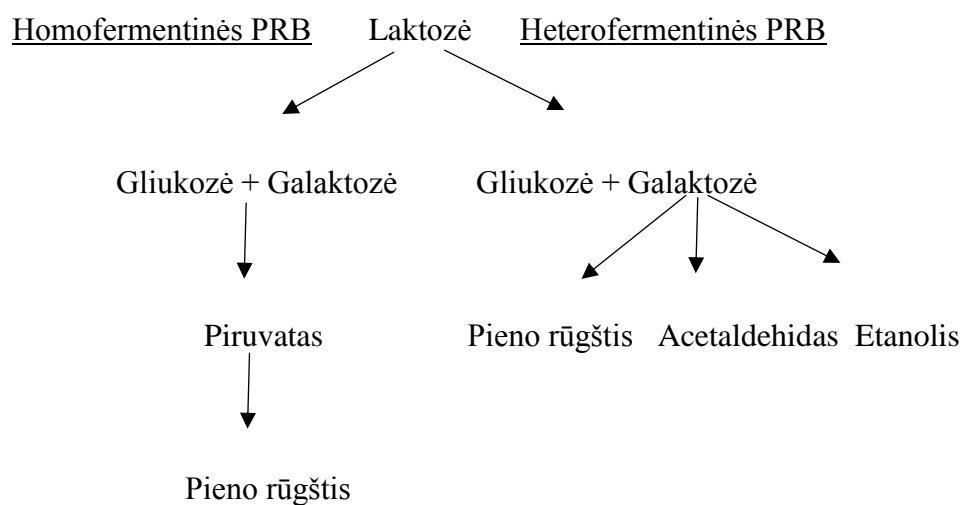
Kietųjų sūrių gamyboje yra naudojamos dvi pagrindinės PRB grupės: mezofilinės, kurių optimali augimo temperatūra yra 20 – 40 °C (*Lactococcus* spp. ir *Enterococcus* spp.), ir termofilinės, kurių optimali augimo temperatūra yra 45 °C (*S. thermophilus* ir įvairios *Lactobacillus* rūšys). Būtent kietųjų sūrių gamyboje dažniausiai naudojami *S. thermophilus* ir *Lb. helveticus* [17]. Dėl savo fiziologijos šios kultūros yra ypač tinkamos sūrio masei [18].

Dažniausiai naudojami raugai būna įvairių kultūrų mišinys, kuriame būna dvi ar daugiau mezofilinių ir termofilinių kultūrų, kurios pasižymi simbiotiniu veikimu, t.y. teikia vienos kitoms

abipusę naudą (*L. lactis* subsp. *cremoris*, *L. lactis* subsp. *lactis*). Šios PRB ne tik gamina pieno rūgštį, bet ir suteikia aromatą ir išskiria CO₂. Anglies dioksidas yra labai svarbus akytumo atsiradimui sūriuose. Tokiuose kaip *Gouda*, *Manchego*, *Tilsiter* tipo iš mezofilinių kultūrų bei *Emmenthal* ir *Gruyere* iš termofilinių kultūrų. Vienos padermės kultūrų raugai yra naudojami tuo atveju, kai norima, kad susidarytų daugiau rūgšties, kuri sukeltų baltymų skilimą (čederio sūris) [19]. PRB raugui būdingos trys pagrindinės savybės: gaminti pieno rūgštį, skaidyti baltymus ir, kai reikia, gaminti CO₂ [20].

Mezofilinių bakterijų raugas dažnai naudojamas kietųjų sūrių gamyboje Šiaurės Europos šalyse. Jei sūrio gamybai naudojamas tik termofilinių kultūrų raugas, į jį dažniausiai įeina mišiniai: termofilinės PRB (*Lb. helveticus*, *Lb. delbrueckii* subsp. *lactis*) ir termofiliniai streptokokai (*S. thermophilus*). Šios kultūros užtikrina homofermentinį laktozės skilimą į laktatus (> 90 %). Streptokokai produkuoja tik L– pieno rūgštį, o *Lb. delbrueckii* subsp. *lactis* laktozę paverčia D– laktatu. Abu izomerus produkuoja *Lb. helveticus*. Laktozė visiškai hidrolizuojama per 4 – 6 h nuo PRB įdėjimo, ir pieno rūgšties fermentacija baigiama per 24 h. Norint išvengti nepageidaujamos fermentacijos, po pieno rūgšties fermentacijos galaktozės liekanų neturėtų likti. Termofilinių bakterijų raugų proteolitinis aktyvumas paprastai yra didesnis lyginant su mezofilinių kultūrų raugu [21].

Remiantis galutiniu gliukozės metabolizmo produktu, raugai yra skirstomi į homofermentinius ir heterofermentinius. Heterofermentinės PRB produkuoja ir kitus junginius, tokius kaip anglies dioksidas, acto rūgštis ir etanolis. Homofermentinės bakterijos produkuoja pieno rūgštį kaip pagrindinį metabolizmo galutinį produktą (žr. 4 pav). Pagrindinis iššūkis gamyboje yra PRB gyvybingumas kietųjų fermentinių sūrių gamybos proceso ir laikymo metu [22].



4 pav. PRB skirstymas ir jų produkuojamos medžiagos [23]

Kietųjų sūrių gamybos procesui būtina naudoti kruopščiai atrinktas starterines kultūras, kurios gali vystytis ir išlikti gyvybingos aukštoje temperatūroje bei per trumpą laiką įvykdyti savo funkcijas. Tinkamas parinkimas leidžia gauti reikiamą sūrio skonį bei aromatą, konsistenciją, kuriuos lemia kazeino skaidymas, lakiosios rūgštys, esteriai ir kiti skonio bei aromato junginiai. Dėl šių priežasčių, labai svarbu užtikrinti reikiamą *S. thermophilus* ir *Lb. helveticus* raugų santykį. Mezofiliniai raugai (*Lc. lactis* subsp. *cremoris*) veikia sūrių gamybos pradžioje, stimuliuodami *S. thermophilus*. Po antrojo pašildymo mezofilinės PRB tampa nebegyvybingos. *S. thermophilus* atlieka pagrindinį vaidmenį rūgimo procese. *Lactobacillus bulgaricus* išskiria amino rūgštis, kurios stimuliuoja *S. thermophilus* vystymąsi. *Lb. helveticus* užbaigia rauginimo procesą, suskaidydami likusius cukrus (laktozę ir galaktozę) [24].

Kita svarbi pieno rūgšties bakterijų funkcija – slopinti bakterijas, išlikusias po pasterizacijos ar patekusias antrinio užteršimo metu. Šioms bakterijoms reikia laktozės, kurią suvartoja starterinės bakterijos ir pašalinė mikroflora nebegali augti. Pieno rūgšties bakterijos pasižymi ir antimikrobinu poveikiu [24]. Rūgšties gamyba sustoja, kai visa laktozė sūryje yra suskaidoma (išskyrus minkštuosius sūrius). Pieno rūgšties fermentavimas paprastai yra greitas procesas. Kai kuriuose sūriuose, tokiuose kaip čederio, šis procesas turi būti baigtas prieš sūrio presavimą, kitų rūšių – per savaitę. Jei į raugo sudėtį įeina bakterijos, gaminančios CO₂, masės rūgštėjimą lydi CO₂ išskyrimas. Raugo mišinio kultūros su galimybe produkuoti CO₂ yra būtinos sūriams, kuriems būdinga struktūra su apvaliomis ar netaisyklingomis akimis. Išsiskiriančios dujos iš pat pradžių ištirpsta drėgmės fazėje, tačiau kai tirpalas tampa sotus, dujos išsiskiria ir suformuoja akis [25].

Pernelyg didelė rūgšties gamyba gali neigiamai paveikti kietųjų sūrių gaminimą. Todėl labai svarbu kontroliuoti bakterijų augimą, kad būtų užkirstas kelias bakterijoms, kurios gali sukelti karčiųjų peptidų kaupimąsi, kurie neigiamai paveikia sūrio skonį ir sumažina komercinę vertę. Taip pat manoma, kad ląstelinės peptidazės, išlaisvintos iš starterinių kultūrų bakterijų brandinimo metu, turi galimybę skaidyti karčiuosius peptidus į mažesnius, nekarčius peptidus ir amino rūgštis [26].

1.3. Pieno rūgšties bakterijų reikšmė sūrių gamyboje

Iš pat pradžių pagrindinis PRB tikslas sūrio gamyboje buvo prailginti sūrio tinkamumą vartoti ir išsaugoti maistingus pieno komponentus. Didžiuliai PRB kiekiai išlieka sūryje viso nokinimo metu ir vaidina svarbią rolę brandimo procese. Sūrio mikroflora gali būti suskirstyta į dvi grupes: starterines PRB ir nestarterines PRB. *L. lactis*, *S. thermophilus*, *Lb. helveticus* ir *L.*

delbrueckii dalyvauja rūgšties gaminimo procese ir prisideda prie nokinimo, todėl vadinamos starterinėmis kultūromis. Starterinės PRB gali būti apibrėžiamos kaip izoliatai, kurie produkuoja pakankamai rūgšties, kad sumažintų pieno pH. Nestarterinės PRB, patekusios iš aplinkos, koliforminės bakterijos, mielės ir/ar pelėsiniai grybai, patogenai yra antriniai mikroorganizmai. Jie taip pat gali šiek tiek prisidėti prie rūgšties produkavimo gamybos metu, tačiau svarbiausią vaidmenį vaidina nokinimo metu [6].

Pieno rūgšties bakterijos sūrių gamyboje atlieka šias funkcijas:

- Keičia pagrindinius pieno komponentus (pieno cukrų, baltymus, riebalus) į junginius, lemiančius skonines ir aromatines sūrių savybes, jų maistinę ir biologinę vertę;
- Skatina šliužo ir kitų pieną traukinančių fermentų veiklą ir sutraukos sinerezę, nes pakoreguoja pH reikšmę, kurioje šliužo fermentas veiktų geriausiai;
- Dalyvauja sūrio konsistencijos susidarymo ir išakijimo procesuose;
- Sudaro nepalankias sąlygas žalingai mikroflorai vystytis;
- Skaido pieno riebalus, kurių hidrolizės produktai yra svarbūs sūrio skoniui, aromatai ir konsistencijai susidaryti [27].

Daugelis PRB gamina egzopolisacharidus, kurie gali suteikti sūriui klampumą, stabilumą ir vandenį surišantį efektą. Auganti natūralių ir sveikų produktų, maisto su mažu riebalų bei cukraus kiekiu paklausa paskatino maisto perdirbimo įmones daugiau domėtis pieno rūgšties bakterijų išskiriamomis medžiagomis bei jų suteikiamomis savybėmis [28]. Tyrimai taip pat parodė, kad naudojant egzopolisacharidus ir PRB, galima padidinti mažo riebumo sūrių funkcines ir vandens surišimo savybes, o drėgmės sulaikymas gali pagerinti mažo riebumo *Mozzarella* sūrio lydymosi savybes. Šios suteikiamos savybės parodė, kad egzopolisacharidai turi platų techninį pritaikymą naujiems, patobulintiems produktams su pagerintu stabilumu bei skoniu [27].

Gaminant sūrius, mikrobiologiniai procesai užima vieną iš svarbiausių vietų. Iš jų būtų galima išskirti PRB vykdomus procesus. PRB produkuojama pieno rūgštis žmogaus organizme atlieka tokias naudingas funkcijas kaip: a) pagerina pieno baltymų virškinamumą, b) gerina kalcio, geležies ir fosforo pasisavinimą, c) stimuliuoja skrandžio sulčių sekreciją [29].

Kietųjų sūrių gamybai naudojamas sudėtinis raugas, į kurio sudėtį paprastai įeina termofilinės pieno rūgšties lazdelės *Lb. helveticus*, termofiliniai streptokokai (*S. thermophilus*) ir propiono rūgšties bakterijos (mezofiliniai laktokokai gali įeiti arba neįeiti). Šio tipo sūrių gamyboje antrasis sūrių pašildymas paprastai vyksta 54 – 56 °C temperatūroje, ir po jo išlieka tik termofilinės pieno rūgšties bakterijos – lazdelės *Lb. helveticus* ir streptokokai *S. thermophilus*.

Šios bakterijos toliau dauginasi sūrio galvoje ir suteikia jam būdingą skonį ir kvapą. Nuo PRB, įeinančių į raugų sudėtį, savybių labai priklauso technologinio proceso eiga, taip pat ir sūrio savybės, todėl nuolat vykdoma naujų padermių paieška [5, 30].

Termofilinės pieno rūgšties lazdelės yra Gramteigiamos, sporų nesudarančios lazdelės. Jos būna įvairaus ilgio (1,0 – 10,00 μm) ir pločio (0,5 – 1,2 μm), išsidėsčiusios atskiromis ląstelėmis arba grandinėlėmis. Daugeliu atvejų ląstelių struktūra negrūdėta. Termofilinės pieno rūgšties lazdelės yra fakultatyviniai anaerobai, kartais mikroaerofilai. Optimali jų augimo temperatūra – 37 – 45 $^{\circ}\text{C}$. Neauga 15 $^{\circ}\text{C}$, gerai auga 45 $^{\circ}\text{C}$ temperatūroje, nesudaro NH_3 iš arginino. Identifikuojamos pagal angliavandenių skaidymo rezultatus. Didžiausias rūgštingumas – 300 $^{\circ}\text{T}$ [30].

Termofiliniai streptokokai – Gramteigiami kokai, gana įvairių dydžių, formos ir ląstelių išsidėstymo. Daugelio termofilinio streptokoko kultūrų ląstelės yra 0,7 – 1,0 μm skersmens, apvalios, ovalinės formos 0,5 – 0,8 x 0,7 – 1,0 μm , išsidėsčiusios po vieną, įvairaus ilgio grandinėlėmis ar netaisyklingais kaupiniais. Didžiausias rūgštingumas – 110 – 120 $^{\circ}\text{T}$. Augimo temperatūra yra 40 – 45 $^{\circ}\text{C}$, minimali – 15 $^{\circ}\text{C}$. Optimali augimo temperatūra 37 $^{\circ}\text{C}$, sparčiai auga piene, suformuodamos tvirtą struktūrą, nesudarydamos dujų. Šio mikroorganizmo proteolitinė sistema yra ribotesnė nei kitų, todėl įprasta *S. thermophilus* naudoti kartu su kitomis laktobacilomis, kad būtų pasiekta maksimali pieno rūgšties gamyba. *S. thermophilus* nesugebėjimas skaidyti galaktozės lemia jos išsiskyrimą iš ląstelės, kas gali sukelti skonio ir struktūros ydas sūriams. *S. thermophilus* išskiriami egzopolisacharidai yra svarbūs jogurtų gamybai, todėl *S. thermophilus* tradiciškai naudojami kartu su kitomis laktobacilomis kaip starterinės kultūros jogurto, o taip pat ir sūrio gamyboje [30].

1.4. *Lactobacillus* genties bakterijų savybės

Pirmą kartą *Lactobacillus* gentis buvo apibūdinta 1901 metais Beijerinck'o. *Lactobacillus* gentis yra didžiausia PRB grupė, ją sudaro 158 rūšys, 7 iš jų suskirstytos į 18 porūšių. *Lactobacillus* bakterijos gali būti apibūdinamos pagal tai, iš kokio šaltinio buvo išskirtos. Jos gali būti išskirtos iš pieno produktų, mėsos, vyno, augalų, gyvūnų virškinimo trakto, raugo. Laktobacilų gentis yra didžiausia PRB grupė ir apima svarbiausias rūšis maisto mikrobiologijoje. Keletas *Lactobacillus* genties rūšių yra svarbios kaip konservantai ir kaip starterinės kultūros fermentacijos procesuose. Kai kurios rūšys taip pat naudojamos kaip probiotikai. Daugelis šios genties rūšių yra įtrauktos į GRAS sąrašą [31].

Lactobacillus gentis susideda iš Gramteigiamų, sporų nesudarančių lazdelių, dažniausiai yra nejudrios ir gali redukuoti nitratus. Katalazės reakcija neigiama. Paprastai sunaudoja gliukozę fermentacijos ar glikolizės metu. Taip pat gali būti homofermentinės (gaminti daugiau nei 85 % pieno rūgšties iš gliukozės) arba heterofermentinės (gaminančios pieno rūgštį, CO₂, etanolį ir/arba acto rūgštį ekvimoliniais kiekiais) [32].

Pagal susidariusius fermentacijos produktus laktobacilos skirstomos į griežtas homofermentines (*L. plantarum*, *L. acidophilus*, *L. casei*, *L. salivarium*), griežtas heterofermentines ir fakultatyvines heterofermentines. Homofermentinės laktobacilos skaldo gliukozę, fruktozę, galaktozę, maltozę, sorbitą ir fermentacijos metu susidaro apie 85 proc. pieno rūgšties. Heterofermentinės laktobacilos skaldo gliukozę, ksilozę, arabinozę, ramnozę ir tuomet susidaro mažesnis kiekis pieno rūgšties (50 proc.). Fakultatyvinės heterofermentinės laktobacilos užima tarpinę padėtį. Jos skaldo pentozes (arabinozę, ksilozę ir kt.) ir heksozes (gliukozę, fruktozę, maltozę ir kt.), susidaro pieno rūgštis, o kai trūksta gliukozės, skaldo ją iki acto rūgšties ir spirito [33].

Laktobacilos yra išrankios terpei – jų auginimui reikalinga turtingos sudėties terpė. *Man*, *Rogosa*, *Sharpe* terpė (*MRS*) yra tinkamiausia, tačiau Liew`as ir kt. [34] nustatė, kad mielių ekstrakto, gliukozės, vitaminų priedai padidino gyvybingų ląstelių skaičių, lyginant su *MRS*. Siūloma terpes laktobacilų auginimui papildyti gliukoze, mėsos ekstraktu, K₂HPO₄, natrio acetatu, amonio citratu [23].

1.4.1. *Lactobacillus helveticus*

Lb. helveticus priklauso PRB. Šis mikroorganizmas yra pripažintas kaip saugus ir yra įtrauktas į GRAS sąrašą. *Lb. helveticus* pasižymi savybėmis, kurios yra ypač pageidaujamos pieno produktų gamybai. *Lb. helveticus*, kai kuriais atvejais su *S. thermophilus* ir *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, naudojamos kartu kaip starterinės kultūros daugiausiai aukštoje temperatūroje gaminamiems sūriams gaminti: šveicariško tipo, ilgo brandinimo itališkiems tokiems kaip *Emmental*, *Gruyere*, *Grana Padano* ir *Parmigiano Reggiano* ir fermentuotiems pieno gėrimams. Pagamintas čederio sūris turi kartų skonį, todėl *Lb. helveticus* pieno rūgšties bakterijos dedamos, kad panaikintų kartumą, jos taip pat suteikia išskirtinį skonį. Dėl šių priežasčių *Lb. helveticus* yra svarbi starterinių kultūrų sudėtinė dalis [35].

Vartotojų susidomėjimas funkciniu maistu skatina ieškoti, kokie bioaktyvūs komponentai susidaro fermentuotuose pieno produktuose, veikiant PRB, ypač *Lb. helveticus*, taigi *Lb. helveticus* bakterija yra svarbi gerinant sveikatą [25].

Lb. helveticus Gramteigiama, katalazei neigiama, sporų neformuojanti, lazdelės formos (0,5 – 1,1 µm) termofilinė PRB. Anksčiau buvo žinoma kaip *Thermobacterium helveticus*. *Lb. helveticus* daugiausiai išskiriama iš pieno ir ypač iš sūrių. Jos gerai auga esant 45 °C temperatūroje. *Lb. helveticus* yra homofermentinės bakterijos, daugiausiai fermentuojančios heksozes iki pieno rūgšties. Nefermentuoja pentozės ir gliukonato. Visos padermės fermentuoja laktozę, galaktozę ir gliukozę, o kai kurios ir fruktozę, maltozę, manozę [42].

Gaminti sūriams naudojamos natūralios išrūgų starterinės kultūros. Jos ruošiamos iš ankstesnio sūrio gaminimo išrūgų, kurios laikomos žemoje temperatūroje [36]. Mikrobinė sudėtis gali būti gana įvairi ir priklausyti nuo aplinkos sąlygų, tačiau dažniausiai dominuojanti tampa *Lb. helveticus*, kurios prisideda prie įvairių skonių sukūrimo daugelyje sūrių.

Lb. helveticus bakterijos, kai yra naudojamos kaip starterinės kultūros, prisideda ne tik prie rūgšties gamybos, tačiau ir prie skonio, kvapo ir tekstūros susidarymo brandinimo metu. *Lb. helveticus* prisideda prie skonio formavimosi dėl amino rūgščių katabolizmo, kuris prasideda transaminacija į alfa keto rūgštis, kurios toliau suskaidomos į lakiuosius skonio junginius ar į silpnesnio skonio ir mažesnio aktyvumo hidroksi- rūgštis. Aukštas hidroksi- rūgšties dehidrogenazės aktyvumas gali sumažinti lakiųjų skonio komponentų kiekį ir formavimąsi iš alfa keto rūgščių. *Lb. helveticus* išlaisvina viduląstelinius fermentus, tokius kaip peptidazės [6].

Lb. helveticus autolizė yra svarbus faktorius, kuris prisideda prie proteolizės iniciacijos ir skonio suteikimo [37]. *Lb. helveticus* autolizė yra pagrindinis veiksnys, kuris išlaisvina viduląstelinius fermentus. Tai sukelia greitesnį nokimą ir pagerina skonines savybes. *Lb. helveticus* išlaisvina didelius kiekius citoplazminių fermentų, tokių kaip laktato dehidrogenazė [38].

Lb. helveticus, lyginant su kitomis laktobacilomis, gana lengvai prisitaiko prie skirtingų augimo sąlygų. Todėl bakterijos fermentuoja daug įvairių angliavandenių ir proteolizės metu suskaido baltymus. Lyginant su kitomis laktobacilomis, *Lb. helveticus* geriau toleruoja didesnes pieno rūgšties ir deguonies koncentracijas. Šios savybės leidžia labiau pritaikyti *Lb. helveticus* maisto pramonėje, nei kitas laktobacilas. *Lb. helveticus* yra pagrindinis proteolitinis agentas kietuosiuose sūriuose ir gali produkuoti aukšto lygio vidutinio dydžio ir mažus peptidus, taip pat laisvas amino rūgštis sūrio brandinimo metu. PRB sukeliama amino rūgščių ir sieros katabolizmas vaidina labai svarbų vaidmenį skoniui susidaryti sūrio brandinimo metu [27].

Skirtingai nuo kitų PRB, *Lb. helveticus* gali valdyti ląstelių apvalkalų proteinazes (CEP), pavadintas PrtH2 ir PrtH. Šios CEP parodo kitokią skilimo specifiką, veikiant gryną alfa s1-kazeiną, tačiau lieka neišnagrinėtas klausimas dėl jų veiksmų sūryje ir galimo indėlio į

tamprumą. *Lb. helveticus* padidina tamprumo savybes lyginant su kitomis termofilinėmis laktobacilomis, tokiomis kaip *L. delbueckii subsp. lactis* [37].

1.4.2. *Lactobacillus helveticus* proteolitinis aktyvumas

Vartotojų susidomėjimas funkciniu maistu skatina ieškoti, kokie bioaktyvūs komponentai susidaro fermentuotuose pieno produktuose, veikiant PRB, ypač *Lb. helveticus*, taigi *Lb. helveticus* svarbus ir gerinant sveikatą [25].

Proteolizė yra laikoma vienu iš svarbiausių biocheminių procesų, vykstančių fermentuotų pieno produktų gamyboje. Taip pat tai pats svarbiausias procesas aromato formavimuisi kietuosiuose sūriuose brandinimo metu. Amino rūgštys, susidariusios proteolizės metu, yra pagrindiniai specifinių aromato junginių pirmtakai: alkoholiai, aldehidai, rūgštys, esteriai ir sieros junginiai [28].

PRB proteolitinė sistema susideda iš trijų pagrindinių komponentų: 1) ląstelių sienelės proteinazių, kurios inicijuoja kazeino skilimą į oligopeptidus, 2) peptidų transporterių, kurie gali pernešti peptidus į ląstelę, 3) įvairios viduląstelinės peptidazės, kurios skaido peptidus į trumpesnius peptidus ir amino rūgštis. Taip pat pieno rūgšties bakterijos turi daug prolino peptidazių, o kazeine gausu prolino, todėl šios bakterijos geba juos skaidyti [39].

Lb. helveticus bakterijos buvo laikomos labai svarbiomis PRB kietųjų sūrių gamyboje dėl savo gebėjimo pagerinti sūrio kokybę. Per pastaruosius 20 metų *Lb. helveticus* bakterijos vis dažniau naudojamos dėl savo gebėjimo gaminti biologiškai aktyvius junginius pieno fermentacijos metu. *Lb. helveticus* svarba sūrių gamyboje priklauso nuo šios PRB proteolitinės sistemos efektyvumo, kuri, kaip teigiama, yra efektyviausia ne tik tarp įvairių *Lb. helveticus* padermių, tačiau ir tarp visų PRB. *Lb. helveticus* autolizės metu išsiskiria viduląsteliniai fermentai, kurie turi daug įtakos sūrio brendimui. Tokiu atveju išlaisvinti proteolitiniai fermentai sumažina kartumą ir taip pagerina sūrio skonines savybes [17].

Atlikta daug tyrimų, susijusių su *Lb. helveticus* proteolitinė sistema, tačiau būtini tolimesni tyrimai. Pavyzdžiui, mažai žinoma apie ląstelių apvalkalų proteazių specifiškumą kazeinui, transportinę peptidų sistemą, ir faktorius, kurie gali paveikti atskirus proteolitinės sistemos elementus ir visą sistemą. Įvairių skirtingų padermių variacijos proteolitinėje sistemoje gali nebūti lemiančiu veiksniumi *Lb. helveticus* augimui, bet gali turėti didelį poveikį bioaktyvių peptidų gamybai [33].

Lb. helveticus gali greitai daugintis piene dėl savo aukšto proteolitinio aktyvumo, kuris leidžia panaudoti hidrolizės metu iš pieno baltymų išlaisvintus mažesnius peptidus ir amino

rūgštis. Greitą *Lb. helveticus* augimą piene lemia veiksmingų CEP efektyvumas, dėl subtilizino tipo serino proteazės. Šie fermentai taip pat yra labai svarbūs susidarant tekstūrai ir formuojant skonį kietajame sūryje, taip pat susidarant biologiškai aktyviems peptidams [40].

Naudojant genetines ir biochemines priemones, įmanoma inicijuoti proteolitinę sistemą, kuri gali sukelti ypač svarbių biologiškai aktyvių peptidų ar fermentų, išskirtų iš reikiamo mikroorganizmo, kuris gali būti naudojamas atskirai, gamybą [41].

Kai kurių sūrių gamyboje, tokių kaip šveicariško tipo, stengiamasi proteolizę stabdyti nokinimo metu. Todėl *Lb. helveticus* tampa nepageidaujama PRB tokių sūrių gamyboje, nes turi ypač stiprias proteolitines savybes [29].

Vartotojų susidomėjimas funkciniu maistu motyvuoja mokslininkus susikoncentruoti ties biologiškai aktyvių komponentų susidarymu pieno fermentacijos metu pieno produktuose dėl PRB veiklos, tokių kaip *Lb. helveticus*. Pieno baltymai yra laikomi svarbiausiu bioaktyvių peptidų šaltiniu. Bioaktyvūs peptidai gali būti gaunami hidrolizės metu iš proteolitinių mikroorganizmų tokių kaip *Lb. helveticus*. Pieno fermentavimo metu tik 1 – 2 % pieno baltymų „atlaiko“ proteolizę. Proteolizės efektas yra tas, kad fermentuotas pienas turi didesnę kiekį baltymų ir laisvųjų amino rūgščių, ypač valino, histidino, serino ir prolino, nei nefermentuotas pienas [42, 43]. PRB pasikliauja savo proteolitinės sistemos kompleksu gauti visas reikiamas laisvasias amino rūgštis, reikalingas augti piene. Todėl *Lb. helveticus* padermės yra vienos iš labiausiai maistinės medžiagos išrankių PRB ir yra įvardijamos kaip keleto amino rūgščių auksotrofai. Siekiant užtikrinti savo mitybos reikalavimus, kai auga piene, *Lb. helveticus* proteolizės metu suskaido baltymus į mažesnius peptidus ir išlaisvina amino rūgštis iš kazeino matricos. Tai paaiškina, kodėl *Lb. helveticus* turi didesnę proteolitinę aktyvumą iš visų kitų laktobacilų ir kodėl hidrolizuoja daugiau kazeino augimui skirtose terpėse, nei kitos rūšys [42].

1.4.3. *Lactobacillus helveticus* antimikrobinis aktyvumas

Vartotojai vis daugiau dėmesio skiria savo mitybai bei maisto produktų sudėčiai. Renkasi produktus, kuriuose yra mažesnis cheminių maisto priedų kiekis, tačiau tuo pat metu nori ir aukštos produkto kokybės ir ilgo tinkamumo vartoti termino. Visi tai skatina ieškoti išeičių bei būdų, kaip patenkinti vartotojų poreikius [44].

Maisto užterštumas įvairiais toksiniais pelėsiniais grybais šiuo metu yra didžiulė problema. Siūliniai grybai ir mielės yra pagrindiniai gedimą sukeliančios organizmai kietuosiuose sūriuose. Pelėsinų grybų augimas sukelia pakitimus tekstūroje ir pablogina prekinę išvaizdą, o tai lemia ekonominius nuostolius. 5 – 27 % visos maisto produkcijos JAV yra prarandama dėl pelėsinų

grybų veiklos. Toksiški ir gedimą sukeliantys grybai yra atsakingi už įvairias ligas ir sveikatos sutrikimus, dėl gaminamų mikotoksinų ar alerginių konidijų, sporų ir micelių [44].

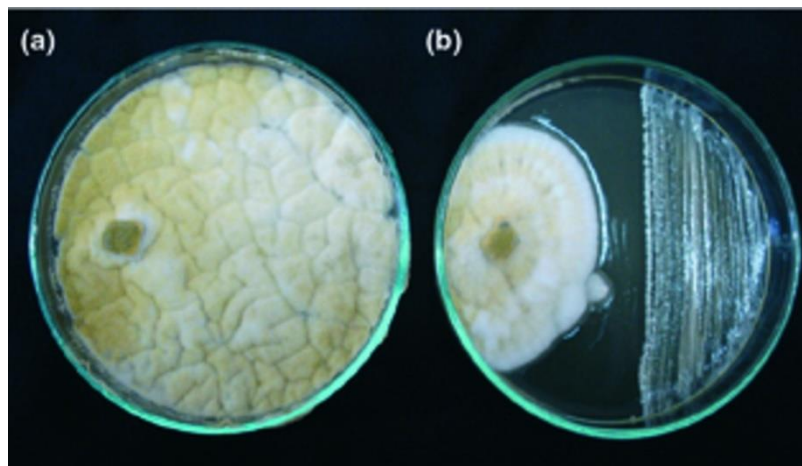
Kietieji sūriai yra gaminami taikant aukštą antro pašildymo temperatūrą, todėl patogeninės bakterijos proceso metu yra inaktyvuojamos. Tačiau pelėsinių grybų sporos gali išlikti arba pelėsiniai grybai gali atsirasti sūrių nokinimo metu. Todėl labai svarbi PRB *Lb. helveticus* savybė – antigrybinis veikimas prieš pelėsinius grybus [45].

PRB gamina antagonistines medžiagas, kurios geba kontroliuoti patogeninių bakterijų ir nepageidaujamų, gedimą sukeliančių, pelėsinių grybų augimą fermentacijos metu (žr. 4 pav.). Jų antimikrobinis aktyvumas, augimo savybės ir įvairios medžiagos, kurios yra gaunamos fermentacijos metu, yra labai vertinamos. Tačiau yra gana mažai mokslinių darbų apie PRB veikimą prieš pelėsinius grybus sūrių gamyboje ir labai mažai komercinių patikimų kultūrų yra prieinamų rinkoje [46]. Nors didelis mokslinių darbų skaičius patvirtina, kad kai kurios PRB turi stiprų aktyvumą prieš pelėsinius grybus laboratorinėmis sąlygomis, nėra informacijos apie PRB naudojimą prieš konkretų pelėsinį grybą konkrečioje sūrio gaminimo sistemoje. Priešgrybinis PRB poveikis sūrio gamyboje turi būti kruopščiai nagrinėjamas [41].

Dėl rūgšties produkavimo produkto pH sumažėja, todėl yra slopinamas patogeninių bakterijų, kurios gali sukelti maisto gedimą, apsinuodijimą ir įvairias ligas, augimas. Pavyzdžiui, PRB pasižymi stipriu poveikiu prieš pelėsinius grybus. Naudojant jas, kietųjų fermentinių sūrių tinkamumo vartoti terminas yra pailginamas. Tai vyksta todėl, kad pageidaujamų bakterijų spartus augimas maiste nukonkuruoja, užgožia kitų, nepageidaujamų bakterijų augimą. Taigi, PRB fermentuotas maistas turi pieno rūgšties, kaip pagrindinio konservanto, nes PRB augimą lydi pieno rūgšties ir acto rūgšties susidarymas su žemėjančiu pH ir didėjančiu titruojamu rūgštingumu. Naudoti PRB pieno produktų fermentacijai yra naudinga tuo, kad tai švelnesnis konservavimo metodas [43].

Lb. helveticus turi galimybę gaminti dideliais kiekiais pieno rūgštį ar kitas medžiagas su stipriomis prieš pelėsinius grybus veikiančiomis savybėmis. Daugiausiai nustatytų tokių medžiagų yra mažos molekulinės masės medžiagos, įskaitant ir organines rūgštis, vandenilio peroksidą, baltyminius junginius, hidroksi- riebalų rūgštis ir fenolinius junginius [47]. Heterofermentinės bakterijos produkuoja propiono rūgštį mažais kiekiais. Propiono rūgštis apibūdinama kaip turinti aktyvumą, nukreiptą į membraną Z, kur pagrindinė jo funkcija – veikti prieš bakterijas ir pelėsinius grybus. Propiono rūgštis įsiterpia į membraną ir taip neutralizuoja elektrocheminį protonų gradientą, sukeldama bakteriofazę ar fungistazę. Tačiau acto ir propiono rūgšties efektas dažniausiai priklauso nuo pH sumažėjimo, kurį sukelia pieno rūgštis. Moon`as teigia, kad pieno, acto ir propiono rūgšties mišinys drastiškai sumažina mielių augimą, nors

mielės vis tiek gali gerai augti ypatingai aukštoje (100mmol/l) acetato koncentracijoje [48]. Propionatas buvo labiau slopinantis nei acetatas ar laktatas [49, 46].



4 pav. (a) Pelėsinių grybų (*Aspergillus flavus*) augimas neslopinamas; (b) PRB (*Lactobacillus rhamnosus*) slopinantis poveikis prieš pelėsinius grybus (*Aspergillus flavus*) [49]

Šalomskienė ir kt. [50] teigia, kad *Lactobacillus* genties bakterijų aktyvumas prieš *C. herbarum* daugiausiai buvo fungicidinis, t.y. mikromiceto augimas visiškai stabdomas, tik *Lb. helveticus* 148/3 pasižymėjo fungistatinu poveikiu, t.y. slopino mikromiceto sporuliaciją. Visos tirtos PRB prieš *S. brevicaulis* veikė tik fungicidiškai (žr. 1 lent.).

Kiti autoriai taip pat nurodo dažnesnį fungistatinį negu fungicidinį PRB poveikį mikromicetams. Nustatyta, kad prieš *P. chrysogenum* veikė tik *Lb. helveticus* 14 supernatantai. Galima spręsti, kad supernatantuose esančios biologiškai aktyvios medžiagos daro didesnę įtaką sporų susidarymo procesui, negu micelio augimui [50].

Yra duomenų, kad PRB supernatantai buvo efektyvesni prieš *P. nordicum*, negu PRB ląstelių suspensijos MRS sultinyje. Dar mažiau iš tirtų PRB padermių supernatantų veikė *A. brasiliensis* ir *A. versicolor* augimą ir sporuliaciją. Prieš *A. brasiliensis* veikė tik *Lb. helveticus* supernatantai [50].

1 lentelė. PRB aktyvumas prieš mikromicetus [56]

Pelėsiniai grybai		PRB padermės	<i>Lb. helveticus</i> 14	<i>Lb. helveticus</i> 3	<i>Lb. helveticus</i> 148/3
Slopinimo zonos skersmuo, mm	<i>C.herbarum</i> SR-11	PRB ląstelių suspensija MRS sultinyje	24,0±1,0	20,0±1,0	14,7±1,0*
		Super-natantas	15,3±0,6	19,0±1,0	14,0±0,0*
	<i>P.chrysogenum</i> SR-12	PRB ląstelių suspensija MRS sultinyje	16,0±0	0	0
		Super-natantas	14,3±0,6*	0	0
	<i>S. brevicaulis</i> Mi-Gr-5	PRB ląstelių suspensija MRS sultinyje	0	19,3±0,6	20,0±0,6
		Super-natantas	0	19,3±0,6	18,0±1,0
	<i>A. brasiliensis</i> Mi-G-21	PRB ląstelių suspensija MRS sultinyje	0	0	0
		Super-natantas	14,2±0,1*	0	0
	<i>A. versicolor</i> Mi-Pr-4	PRB ląstelių suspensija MRS sultinyje	0	0	0
		Super-natantas	0	0	0

2. MEDŽIAGOS IR TYRIMŲ METODAI

2.1. Darbo organizavimas ir tyrimo objektas

Darbas atliktas Kauno technologijos universiteto Maisto instituto mikrobiologijos mokslo laboratorijoje 2015 – 2017 m.

PRB kultūros (*Lb. helveticus* 14, *Lb. helveticus* 3, *Lb. helveticus* 148/3) gautos iš KTU MI kolekcijos.

Eksperimentiniai kietieji fermentiniai sūriai buvo gaminami vienoje iš Lietuvoje veikiančių sūrių gamyklų pusiau gamybinėmis sąlygomis. Kontroliniai mėginiai buvo gaminami gamybinėmis sąlygomis.

Darbo tikslas – pagerinti kietųjų sūrių kokybę, panaudojant šalia įprastinio raugo išskirtas iš fermentinių sūrių, pagamintų su spontaniniu raugu, grynas termofilinių pieno rūgšties lazdelių kultūras ir kultūras su priešgrybinėmis savybėmis.

Tyrimo objektas – pieno rūgšties bakterijų kultūros, išskirtos iš kietųjų fermentinių sūrių, pagamintų iš žalio pieno. Sūrių mėginiai termofilinių PRB kultūrų gavimui (*Permigiano Reggiano* – 2 vnt., *Grana Padano* – 1 vnt., *Tete de Moine* – 1 vnt.) įsigyti prekybos centre.

2.2. Pieno rūgšties bakterijų išskyrimas iš savaiminio rūgimo maisto produktų

2.2.1. Grynų kultūrų išskyrimas

Kietųjų fermentinių sūrių mėginiai (*Permigiano Reggiano* – 2 vnt., *Grana Padano* – 1 vnt., *Tete de Moine* – 1 vnt.) termofilinių PRB kultūrų gavimui pasėti paviršiniu būdu į *MRS agar with Tween* (*Biolife*, Italija) (žr. 1 lent.) terpę (sėti 10^{-7} – 10^{-10} skiediniai po 0,1 ml). Paviršinis sėjimo būdas parinktas dėl stambesnių kolonijų terpės paviršiuje gavimo. Inkubuota 37 °C temperatūroje anaerobinėmis sąlygomis. Kolonijos brūkšniavimo būdu į tą pačią terpę persėtos dar 2 kartus kultūrų išgryninimui. Iš išskirtų kultūrų kolonijų paruoštų tepinėlių mikroskopinis vaizdas stebėtas ir vertintas biologiniu mikroskopu (Laboval) naudojant 1000 kartų didinimą.

Tyrimo objektai – pieno rūgšties bakterijų (PRB) kultūros, išskirtos iš prekybos centre įsigytų kietųjų fermentinių sūrių:

1. „*Permigiano Reggiano*“ (PR1); 125 g; tinkamas vartoti iki 2016 07 12, Italija.
2. „*Permigiano Reggiano*“ (PR2); 200 g; tinkamas vartoti iki 2016 09 08, Italija.
3. „*Grana Padano*“ (GP3); 200 g; tinkamas vartoti iki 2016 09 18, Italija.
4. „*Tete de Moine*“ (TM4); 795 g; tinkamas vartoti iki 2016 10 29, Šveicarija.

2.2.2. Mikrobiologiniai metodai

Pieno rūgšties lazdelių skaičius nustatytas *MRS agar with Tween* (*Biolife*, Italija) (žr. 2 lent.) terpėje anaerobinėmis sąlygomis, inkubuota 72 h 37 °C temperatūroje [50].

S. thermophilus skaičius nustatytas *M17* terpėje (*Biolife*, Italija) (žr. 3 lent.) aerobinėmis sąlygomis, inkubuota 48 h 37 °C temperatūroje [51].

Mikroskopavimo metodas aprašytas [52].

Išskirtos grynos kultūros laikytos minus 72 – 74 °C temperatūroje VIABANK (*MWE* medical wire) sistemoje. Kultūros atgaivintos *MRS* sultinyje (*Biolife*, Italija).

PR1, PR2, GP3, TM4 pasėliai inkubuoti anaerobinėmis sąlygomis.

2 lentelė. *MRS agar with Tween* terpės sudėtis

Sudėtis	Kiekis (g/l)
Jautienos ekstraktas	10,0
Mielių ekstraktas	5,0
Peptonas	10,0
Gliukozė	20,0
Tween 80	1 ml
Diklio hidrofosfatas	2,0
Amonio citratas	2,0
Natrio acetatas	5,0
Magnio sulfatas	0,2
Mangano sulfatas	0,05
Agaras	15,0

MRS agar with Tween terpės pH po sterilizavimo turi būti $5,4 \pm 0,1$, esant 25 °C temperatūrai. Terpė sterilizuojama 15 min autoklave 121 °C \pm 1 °C.

3 lentelė. *M17* agaro terpės sudėtis

Sudėtis	Kiekis (g/l)
Sojos peptonas	5,0
Mėsos peptonas	2,5
Kazeino peptonas	2,5
Mielių ekstraktas	2,5
Mėsos ekstraktas	5,0
Laktozė	5,0
Peptonas	2,5
Askorbino rūgštis	0,50
Magnio sulfatas	0,25
Dinatrio – beta - glycerofosfatas	19,0
Agaras	12,75

M17 agarų terpės pH po sterilizavimo turi būti $6,8 \pm 0,1$, esant $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūrai. Terpė sterilizuojama 15 min autoklave $121\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$.

2.2.3. Biocheminiai metodai

Titruojamasis rūgštingumas nustatytas titruojant 0,1 M NaOH 10 ml tiriamojo produkto ir išreiškiant $^{\circ}\text{T}/100\text{ ml}$ produkto.

Angliavandenių skaidymo savybės nustatytos API 50 CH testais (*bioMerieux*), skirtais pieno rūgšties lazdelių savybių tyrimui. Šiam tyrimui atlikti be API 50 CH testų dar reikalingas API 50 CHL Medium (*bioMerieux*) (skiediklis). Skiediklis (žr. 4 lent.) buvo ruošiamas laboratorijoje. Sudėtinės medžiagos sumaišomos ir ištirpinamos. Nustatomas pH 6,7 – 7,1. Išpilstoma po 10 ml. Sterilizuojama $121\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūroje 15 min. [53].

4 lentelė. Skiediklio sudėtis

Sudėtis	Kiekis (g/l)
Bromkrezol purpurinis	0,17
Peptonas	10,0
Mielų ekstraktas	5,0
Tween 80	1,0
K_2HPO_4	2,0
Natrio acetatas	5,0
MgSO_4	0,20
MnSO_4	0,05
Vanduo	1000

Šviežiai užauginta kultūra naudojama tirštai suspensijai paruošti 2 ml fiziologiniame tirpale (8,5 g NaCl/1000 ml vandens). Toliau ruošiamas suspensija pagal MacFarlando standartą Nr. 2, lašinant tirštą suspensiją iš 2 ml į 5 ml fiziologinį tirpalą.

Į 10 ml violetinės spalvos API 50 CHL Medium pasiruošto skiediklio įlašinama 2 kartus tiek tirštos suspensijos lašų iš 2 ml tūrio, kiek buvo lašinta, ruošiant 5 ml suspensijos pagal MacFarlando standartą Nr. 2. Suspensija homogenizuojama ir naudojama tuoj pat po paruošimo.

Į API 50 CH penalų šulinėlius pilama gautos violetinės spalvos suspensijos pagal MacFarlando standartą Nr. 2 iki ruoželių. Iki šulinėlio viršaus užpilama mineralinės alyvos. Inkubuojama $36\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ 48 h ± 6 h.

Rezultatai vertinami po 48 h. Teigiama reakcija (+) geltona spalva (Nr. 25 + juoda spalva); neigiama reakcija (-) violetinė spalva.

Rezultatai apdorojami, naudojantis *bioMerieux* duomenų baze.

2.2.4. Fiziologinių savybių nustatymas

Lactobacillus savybių nustatymas atliktas pagal [51]:

- Katalazės reakcija – 7.2.2.2 p.;
- Augimas MRS sultinyje 15 °C ir 45 °C – 7.2.2.3 p.;
- CO₂ susidarymas – 7.2.2.4 p.;
- Augimas MRS sultinyje su 2 %, 4 %, 6,5 % NaCl.

Streptokokų savybių nustatymas atliktas pagal [51]:

- Katalazės reakcija – 7.3.2.2 p.;
- Augimas *M17* sultinyje su 6,5 % NaCl 7.3.2.5 p.;
- Augimas 10 °C, A pr.;
- Augimas 45 °C, A pr.

2.2.5. Rūgšties sudarymo aktyvumas ir juslinis įvertinimas

Pienas, išpilstytas po 50 ml į buteliukus ir termiškai apdorotas tekančiais garais autoklave, atšaldytas iki 40 °C temperatūros, tada užraugtas 3 % atitinkamos kultūros (piene). Inkubuota termostate 38 – 40 °C temperatūroje [54].

Pažymėta sutraukos susidarymo trukmė, iš kurios sprendžiama apie kultūros rūgšties išsvystymo aktyvumą, nustatytas titruojamasis rūgštingumas. Susidarius sutraukai, mėginiai buvo paliekami 1 – 2 h kambario temperatūroje, po to laikomi 3 – 5 °C temperatūroje. Kitą dieną mėginiai degustuoti. Vertinta sutraukos išvaizda, skonis ir aromatas, konsistencija.

2.2.6. Genetiniai metodai

Naudota įranga genetiniams tyrimams: nukleorūgščių skyrimo automatas „QIAcube“, amplifikavimo įranga „GTQ – Cyler 96“ ir genetinis analizatorius su kompiuterine programa mikroorganizmams identifikuoti „PyroMarkt Q24 system“.

Naudoti reagentai genetiniams tyrimams:

- *QIAamp DNA Mini kit (Qiagen)*, katalogo Nr. 51304.

- *3B Blacklight sepsis bacterial kit (3B BlackBio Biotech, India Ltd.)*, katalogo Nr. 3B351.
- *PyroMark Gold Q24 reagents (Qiagen)*, katalogo Nr. 970802.
- *PyroMark Denaturation solution (Qiagen)*, katalogo Nr. 979007.
- *PyroMark Binding buffer (Qiagen)*, katalogo Nr. 979006.
- *PyroMark Annealing buffer (Qiagen)*, katalogo Nr. 979009.
- *PyroMark Wash buffer (Qiagen)*, katalogo Nr. 979008.
- *Streptavidin sepharose High performance (Sweden, GE Healthcare)*.
- *PyroMark Q24 Plate (Qiagen)*, katalogo Nr. 979201.
- *PyroMark Q24 Cartridge (Qiagen)*, katalogo Nr. 979202.

Tyrimų metodika

Iš tirtų kietųjų fermentinių sūrių išskirtos pieno rūgšties bakterijos buvo identifikuotos pagal 16S ribosominės DNR (rDNR) genų sekas. Iš pieno rūgšties bakterijų ląstelių išskirtos DNR buvo amplifikuotos polimerazės grandinine reakcija (PGR), o nukleotidų sekos nustatytos pirosekvenavimo metodu.

DNR išskyrimui 1 ml užaugintos *MRS* sultinyje 24 h kultūros centrifuguotas 15 min. 5000g greičiu. Mėgintuvėlis su nuosėdomis perkeltas į *QIACube* aparatą, kuriame, naudojant reagentų *QiaAmp DNA mini (Qiagen)* rinkinį, DNR išskirta automatiškai. Išskirta DNR laikyta minus 20 °C temperatūroje iki PGR reakcijos atlikimo.

DNR pagausinimas atliktas naudojant *3B Blacklight sepsis bacterial kit (3B Blackbio Biotech, India, Ltd.)* rinkinį, kuriame yra trys (V1, V2 ir V3) universalūs, tinkami bakterijų DNR pagausinimui, pradmenys. PGR reakcijos mišinys: 25 µl 2X amplifikacijos mišinio, 10 µl 5X pradmens (V1/V2/V3), 13 µl sterilaus vandens ir 2 µl išskirtos DNR. Mėgintuvėliai patalpinti į PGR GTQ-Cycler 96 (*Hain lifescience*) termociklerį. PGR protokolas: 1 ciklas – 5 min 94 °C; 35 ciklai – 20 s 94 °C, 20 s 54 °C ir 30 s 72 °C, 1 ciklas – 5 min 72 °C, atvėsinama iki 10 °C. Pasibaigus PGR reakcijai, mėginiai iki analizės laikyti minus 20 °C temperatūroje.

Sekvenavimo reakcijai į 200 µl mėgintuvėlį pilta 40 µl surišimo buferio (*Qiagen*) (angl., binding buffer), 4 µl streptavidino sefarozės dalelių (*GE Healthcare*) ir 20 µl PGR produkto, viskas gerai suspenduota. Paruošti mėgintuvėliai uždengti dangteliais ir įdėti į 14000 min⁻¹ purtyklę 5 – 10 min. Į sekvenavimo plokštelės mėginių šulinėlius pilta 20 µl hibridizacijos buferio (angl. *annealing* buffer) ir 4 µl sekvenavimo pradmens. Mėgintuvėliai su PGR produktu ir sekvenavimo plokštelė perdėti ant rezervuaro. Specialia darbo „ranka“, sujungta su vakuumu,

susiurbtas PGR produktas, „ranka“ 5 s įdėta į etanolį, 10 s į denatūracijos tirpalą, 10 s plaunama plovimo buferyje (angl. *wash buffer*) ir perkelta į sekvenavimo plokštelę. Sekvenavimo plokštelė su PGR produktu kaitinta 80 °C temperatūroje 2 min ir atvėsinta kambario temperatūroje. Pirosekvenavimui automatinio PyroMark Q24 (*Qiagen*) aparatu naudotas *Gold24* reagentų (*Qiagen*) rinkinys (dATPαS, dCTP, dGTP, dTTP, fermentų ir substratų mišiniai).

Tirtų kultūrų gautos nukleotidų sekos analizuotos PyroMark Q24 programine įranga (*Qiagen*). Nustatytos kokybiškos pieno rūgšties bakterijų kultūrų DNR nukleotidų sekos buvo lyginamos su tarptautinio biotechnologijos informacijos centro (angl. *National Center for Biotechnology Information* (NCBI)) bakterijų banko sekomis. Identifikuojamos bakterijos priskirtos atitinkamai mikroorganizmo rūšiai, kai bakterijų banke pateikti parametrai buvo maksimaliausi, t.y. sunormuoti sekų panašumo įverčiai buvo didžiausi, panašumo aptikimo atsitiktinumai – mažiausi, sekų persidengimas ir identiškumas – 95 – 100 %. Tirti izoliatai identifikuoti kaip pieno rūgšties bakterijų padermės, jei bent du 16S geno pagausinti regionai bakterijų banke rodė tokią pačią rūšį.

2.3. Fungicidinis aktyvumas

Iš KTU MI mikroorganizmų kolekcijos parinktos PRB kultūros (*Lb. helveticus* 14, *Lb. helveticus* 3, *Lb. helveticus* 148/3), kurių fungicidinės savybės nustatytos projekto „Antimikrobiškai aktyvių pieno rūgšties bakterijų filogenetinė analizė ir atranka raugų gamybai“ Nr. SVE-12005 metu. *Lb. helveticus* 14 ir *Lb. helveticus* 148/3 pasižymėjo fungistatinium poveikiu, o *Lb. helveticus* 148/3 ir *Lb. helveticus* R – fungicidiniu poveikiu prieš pelėsinis grybus [50].

2.4. Raugo ruošimo būdo parinkimas

Atskiros kultūros buvo atgaivintos skystoje *MRS* terpėje, po to 2 kartus persėtos į sterilų pieną su 2 % mielių autolizato (MA).

1 – 6 variantai – sterilus pienas užraugas 4 % kiekvienos atskiros kultūros, o 7 – 9 variantai – dviejų kultūrų (50 % : 50 %), išskirtų iš to paties objekto, 4 % mišinio. Inkubuota 37 °C temperatūroje.

Motininio raugo mišiniai ruošti 2 būdais: iš 2-o persodinimo kultūrų steriliame piene su 2% MA, ir iš kultūrų, išskirtų iš prekybos centre įsigytų kietųjų fermentinių sūrių ir atgaivintų *MRS* sultinyje. Toliau persėti į termiškai apdorotas skystas išrūgas, atgamintas iš sausų.

21 lentelėje pateikti raugų mišinių ruošimo I ir II būdu tyrimo rezultatai. I būdo 1 ir 2 variantai sudaryti iš trijų objektų išskirtų 3-jų raugų kultūrų mišinio, o 3 variantas sudarytas iš 6-ių kultūrų mišinio.

Pirmu būdu raugta 400 ml išrūgų 0,1 % raugo (analogiški raugo kiekiai ir sudėtis naudojami gamybinėmis sąlygomis).

II būdo 1, 2 ir 3 variantai sudaryti iš trijų objektų išskirtų 3-jų raugų kultūrų mišinio. 400 ml išrūgų raugta trimis skirtingais kiekiais raugų: 1, 2 ir 3 variante, atitinkamai, 0,1 %, 0,5 % ir 1%.

2.5. Bandomųjų ir kontrolinių sūrių tyrimo metodai

PRB kultūros, išskirtos iš prekybos centre įsigytų kietųjų fermentinių sūrių, su paruoštomis raugo sudarymo metodikomis buvo perduotos Lietuvoje veikiančiai sūrių gamyklai bandomajai kietojo fermentinio sūrio gamybai. Bandomoji sūrių gamyba buvo vykdoma 2016 01 28 ir 2016 02 12.

Motininio ir gamybinio raugų, naudojamų kietojo fermentinio sūrio gamybai, duomenys pateikti 22 ir 23 lentelėse.

Tam, kad išsiaiškintume, ar gautos kultūros veikia antigrybiškai, buvo gaminamas eksperimentinis kietasis sūris. 2016 01 28 gamyboje naudotas gamybinis 1-as raugas, gautas iš stipriu antigrybiniu poveikiu pasižyminčių *Lb. helveticus* kultūrų, o 2016 02 12 gamyboje – 2-as. Kultūros buvo maišomos su tikruoju kontrolinio kietojo fermentinio sūrio gamybinio raugu santykiu 1:1.

2.5.1. Kietųjų sūrių gamybos technologija

Kietieji sūriai savo sudėtyje turi mažiau drėgmės ir gaminami aukštesnėje temperatūroje nei kiti sūriai. Dėl gaminimo technologijos kietiesiems sūriams yra taikoma aukšta antro pašildymo temperatūra. Dėl ilgo sūrių brandinimo susidaro gurgždi, kruopėta konsistencija, kieta struktūra ir ryškus skonis.

Kietųjų fermentinių sūrių gamybos technologijos proceso eiga:

- žaliavų ir pagrindinių medžiagų priėmimas;
- pieno šaldymas, sukaupimas, ir laikymas;
- pieno brandinimas;

- pieno šiluminis apdorojimas; kietajam fermentiniam sūriui gaminti pienas pasterizuojamas 15 – 20 s 70 – 72 °C temperatūroje;
- pieno mechaninis apdorojimas;
- pieno užraugimas: pieno mišinys pašildomas iki 33 – 34 °C temperatūros ir užraugiamas gamybiniu termofilinių pieno rūgšties bakterijų raugu;
- pieno fermentinis traukinimas: pienas traukinamas 30 – 33 °C temperatūroje, 30 – 40 min.
- sutraukos apdorojimas: sutraukos apdorojimo metu ji yra pjaustoma ir gaunami grūdėliai, vėliau maišoma. Po to seka antrasis pašildymas 56 °C temperatūroje, 10 – 15 min. Antrojo pašildymo temperatūra ir trukmė turi didelę reikšmę sūrių mikrobiologiniams ir biocheminiams procesams, o kartu ir pagaminto produkto juslinėms savybėms. Gaunamų grūdelių dydis 2 mm, pjaustymo trukmė 10 – 15 min.
- sutraukos formavimas;
- sutraukos presavimas: taikomas 150 kPa slėgis, trukmė 72 val., gauto sūrio pH=4,7; drėgmė 40 – 42.
- sūrių sūdyimas: sūris sūdomas 20 – 22 % sūrymo koncentracijoje, 8 – 14 °C temperatūroje, sūdyimo trukmė iki 3 savaičių.
- sūrių nokinimas: sūrių nokinimo trukmė nuo 3 iki 12 mėn. ir daugiau, palaikant 80 – 85 % santykinę drėgmę, 10 – 14 °C temperatūroje [55].

2.5.2. Mikrobiologiniai tyrimų metodai

Bandiniai mikrobiologiniams tyrimams buvo imami, vadovaujantis standartu [56].

PRB skaičiui nustatyti buvo naudojamos terpės: *M17* agaras (žr. 3 lent.), lėkštelės inkubuotos 48 h 37 °C temperatūroje ir *MRS agar with Tween* pH 5,4 (žr. 2 lent.), lėkštelės inkubuotos 72 h 37 °C temperatūroje.

Koliforminių bakterijų skaičiui nustatyti buvo naudojama Violet red bile lactose agar (VRBL) (*Liofilchem*, Italija) (žr. 5 lent.). Lėkštelės inkubuotos 24 h 30°C temperatūroje.

Mielėms ir pelėsiniams grybams nustatyti buvo naudojama Dichloran-glycerol (DG18) agar base (*Liofilchem*, Italija) (žr. 6 lent.). Lėkštelės inkubuotos 5 paras 25 °C temperatūroje.

5 lentelė. *VRBL* agaro terpės sudėtis

Sudėtis	Kiekis (g/l)
Peptonas	7,0
Laktozė	10,0
Natrio chloridas	5,0
Mielių ekstraktas	3,0
Tulžies druskos	1,5
Neutralus raudonasis	0,03
Kristalinis violetinis	0,002
Agaras	14,0

VRBL agaro terpės pH po virimo $7,4 \pm 0,2$, esant $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūrai. Terpė nesterilizuojama.

6 lentelė. *Dichloran-glycerol (DG18)* agaro terpės sudėtis

Sudėtis	Kiekis (g/l)
Triptonas	5,0
Gliukozė	10,0
Kalio dihidrofosfatas	1,0
Magnio sulfatas	0,5
Dichloranas	0,002
Glicerolis	220,0
Chloramfenikolis	0,1
Agaras	15,0

Dichloran-glycerol (DG18) agaro terpės pH po sterilizavimo turi būti $5,6 \pm 0,2$, esant $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūrai. Terpė sterilizuojama 15 min autoklave $121\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$.

2.5.3. Cheminiai metodai

Titruojamasis rūgštingumas – titruojant 0,1 M NaOH 10 ml tiriamojo produkto ir išreiškiant °T/100 ml produkto.

Sūrio drėgmė nustatyta pagal [57].

2.5.4. Jusliniai metodai

Pusiau gamybinėmis sąlygomis pagaminto kietojo fermentinio sūrio juslinėms savybėms įvertinti buvo organizuojamos degustacijos KTU Maisto institute. Mėginiai jusliniam įvertinimui

buvo ruošiami remiantis ISO 22935-2|IDF 99-2, vertintojai apmokyti pagal ISO 22935-3|IDF 99 – 3.

Mėginiai vertinimui buvo ruošiami nuo sūrio galvos nupjovus 1 cm storio požievinį sluoksnį. Atpjovus 1 cm storio riekele, iš jos išpjautas 2,2×7,5×1 cm mėginys, dėtas į plastikinį indelį ir uždengtas dangteliu. Indeliai koduoti trijų atsitiktinių skaitmenų kodais.

Vertintojų skonio receptoriams atstatyti vartota šilta silpna arbata. Parinkus skales savybių intensyvumui vertinti, produkto kiekvienos savybės intensyvumas vertinamas atskiroje skaleje. Kiekvienam produktui sudaromas juslinių savybių profilis, išreiškiantis kiekvienos savybės intensyvumą. Produktai palyginami pagal atskiras savybes bei jų intensyvumą.

Analizę atliko 8 vertintojų grupė. Prieš atliekant degustaciją vertintojų grupė buvo supažindinta su pieno produktų vertinimu. Aptariant atrinktas juslines savybes ir jas apibūdinančias sąvokas, visoms sūrių grupėms buvo nustatyta tokia savybių pajautimo ir suvokimo seka: 1 – kvapas; 2 – spalva bei išvaizda; 3 – tekstūra vertinant pirštais; 4 – skonis, 5 – tekstūra, pajaučiama burnoje, ir 6 – savybės, apibūdinančios liekamąjį skonį [58, 59].

2.6. Statistinė analizė

Mikrobiologiniai ir cheminiai tyrimai kartoti 3 kartus.

Standartiniai nuokrypiai apskaičiuoti EXCEL (version 11; Microsoft, JAV) programa. Palyginamieji tyrimų duomenys apdoroti naudojant statistinių duomenų paketą SPSS 16. Esminiam skirtumui ($p < 0,05$) tarp gautų tyrimo rezultatų nustatyti buvo naudojamas Tjukio HSD kriterijus.

3. REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS

3.1. Išskirtų kultūrų savybių tyrimai

Iš kietųjų fermentinių sūrių mėginių, įsigytų prekybos centre (PR1, PR2, GP3, TM4), išskirtų 27 PRB kultūrų savybės aprašytos 7 – 10 lentelėse.

7 lentelė. Išskirtų kultūrų mikroskopinis vaizdas

Mėginio Nr.	Skiedinys	Kolonijos			Mikroskopinis vaizdas
		Jų skaičius skiedinyje	Nr.	Išvaizda	
PR1	10 ⁻⁷	436	1 - 4	Balta, iškili, blizgi, 2 mm skersmens	Vidutinio ilgio ir storio L*, sukibę po dvi Labai smulkios L
	10 ⁻⁸	44	5	Smulki, 0,5 mm skersmens, iškilios	
PR2	10 ⁻⁶	122	1 - 4	Balta, iškili, blizgi, 2,5 mm skersmens	Vidutinio ilgio ir trumpos storos L Vidutinio ilgio ir trumpos storos L
	10 ⁻⁷	14	5	Smulki, balzgana, 0,5 mm – 1,0 mm skersmens	
GP3	10 ⁻⁶ 10 ⁻⁷	158	1 - 10	Balta, iškili, blizgi, 2,5 mm skersmens	Vidutinio ilgio, nestoros L, yra trumpų
TM4	10 ⁻⁶ 10 ⁻⁷	283 52	1 - 7	Balta, iškili, blizgi, 2,0 – 3,0 mm skersmens	Įvairaus ilgio (vidutinės ir trumpos) plonos L

*lazdelės

Remiantis 7 lentelės duomenimis, visos iš kietųjų fermentinių sūrių (PR1, PR2, GP3, TM4) išskirtos PRB buvo lazdelės formos. Lazdelių dydis svyravo nuo 0,5 mm iki 3 mm.

8 lentelė. Išskirtų kultūrų surūgimo piene trukmė ir juslinės savybės

Nr.		Sutraukos susidarymo trukmė, h (37 °C)	Titruojamasis rūgštingumas, °T	Sutrauka			
Mėginio	Kolonijos			Išvaizda	Skonis	Aromatas	Konsistencija
PR1	1	40	252	Paišrūgavusi	Grynas, labai rūgštus	Pienarūgštis	Tvirta
	2	22	90	„-“	Grynas, nerūgštus	„-“	Skysta
	3	40	98	„-“	„-“	„-“	Tvirta
	4	40	98	„-“	„-“	„-“	Tvirta
	5	40	110	„-“	„-“	„-“	Tvirta
PR2	1	20	226	Be išrūgų	Grynas, rūgštokas	Pienarūgštis	Tvirta
	2	20	280	„-“	„-“	„-“	„-“
	3	20	260	„-“	„-“	„-“	„-“
	4	20	252	„-“	„-“	„-“	„-“
	5	20	246	„-“	„-“	„-“	Skystesnė už 1 – 4

8 lentelė. (tęsinys)

Nr.		Sutraukos susidarymo trukmė, h (37 °C)	Titruojamasis rūgštingumas, °T	Sutrauka			
Mėginio	Kolonijos			Išvaizda	Skonis	Aromatas	Konsistencija
GP3	1	20	298	Paišrūgavusi	Grynas, rūgštus	Pienarūgštis	Tvirta
	2	20	220	„-“	„-“	„-“	„-“
	3	20	280	„-“	„-“	„-“	„-“
	4	20	294	„-“	„-“	„-“	„-“
	5	20	272	„-“	„-“	„-“	„-“
	6	20	280	„-“	„-“	„-“	„-“
	7	20	276	„-“	„-“	„-“	„-“
	8	20	264	„-“	„-“	„-“	„-“
	9	20	286	„-“	„-“	„-“	„-“
	10	20	298	„-“	„-“	„-“	„-“
TM4	1	20	252	Paišrūgavusi	Grynas, rūgštus	Pienarūgštis	Tvirta
	2	20	254	„-“	„-“	„-“	„-“
	3	20	250	„-“	„-“	„-“	„-“
	4	20	252	„-“	„-“	„-“	„-“
	5	20	254	„-“	„-“	„-“	„-“
	6	20	262	„-“	„-“	„-“	„-“
	7	20	250	„-“	„-“	„-“	„-“

Pagal 8 lentelės duomenis matome, kad išskirtos PRB kultūros turėjo PRB būdingą išvaizdą, skonį, aromatą bei konsistenciją piene, išskyrus mėginio PR1 antrą koloniją, kuri nesudarė tvirtos konsistencijos piene, ir skonis buvo silpnai rūgštus.

9 lentelė. Išskirtų kultūrų fiziologinės savybės

Mėginio kodas	Katalazės reakcija	Augimas		CO ₂ susidarymas	Augimas, esant NaCl koncentracijai		
		15 °C	45 °C		2%	4%	6,5%
PR1	0 (iš 5)	0 (iš 5)	5 (iš 5)	0 (iš 5)	5 (iš 5)	5 (iš 5)	5 (iš 5)
PR2	0 (iš 5)	0 (iš 5)	5 (iš 5)	0 (iš 5)	5 (iš 5)	0 (iš 5)	0 (iš 5)
GP3	0 (iš 10)	0 (iš 10)	10 (iš 10)	0 (iš 10)	10 (iš 10)	2 (iš 10)	0 (iš 10)
TM4	0 (iš 7)	0 (iš 7)	7 (iš 7)	0 (iš 7)	7 (iš 7)	7 (iš 7)	0 (iš 7)

Ištirus išskirtų kultūrų fiziologines savybes (žr. 9 lent.) pastebėta, kad iš PR1, PR2, GP3 ir TM4 išskirtos kultūros turėjo termofilinių lazdelių savybes. PR1 kultūros buvo atsparios 6,5% NaCl koncentracijai, kas būdinga *L. casei*. Tik dvi (3-ia ir 8-a) GP3 kultūros bei visos TM4 kultūros buvo atsparios 4 % NaCl koncentracijai, kas būdinga *Lb. helveticus* kultūroms.

Išskirtoms kultūroms buvo suteikti kodai, sudaryti iš išskyrimo šaltinio kodo ir kolonijos numerio, kad būtų galima atsekti visus tyrimo rezultatus. Pvz., „PR1/1“ reiškia, kad išskyrimo šaltinio kodas PR1, o kolonijos Nr. 1.

Angliavandenių skaidymo rezultatai pateikti 10.1 – 10.27 lentelėse, virš kiekvienos iš jų užrašytas išskirtos pieno rūgšties bakterijų kultūros kodas (10.2 – 10.27 lentelės pateiktos priede Nr. 1). Kultūrų angliavandenių skaidymo duomenys apdoroti naudojantis *bioMerieux* API 50 CH sistemos duomenų baze, ir identifikavimo rezultatai pateikti 11 lentelėje.

10.1 lentelė. PR1/1 (vertinimas po 48 h)

0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
'	'	'	'	'	'	'	'	'	'	'	'	~	'	'	'	'	'	'	'	'	'	'	'	'	'
0	GLY	ERY	DARA	LARA	RIB	DXYL	LXYL	ADO	MDX	GAL	GLU	FRU	MNE	SBE	RHA	DUL	INO	MAN	SOR	MDM	MDG	NAG	AMY	ARB	ESC

26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	
'	~	'	'	'	+	~	'	'	'	'	'	'	+	'	'	'	'	'	'	'	'	'	'	'
SAL	CEL	MAL	LAC	MEL	SAC	TRE	INU	MILZ	RAF	AMD	GLYG	XLT	GEN	TUR	LYX	TAG	DFUC	LFUC	DARL	LARL	GNT	2KG	5KG	

11 lentelė. Išskirtų kultūrų identifikavimo rezultatai, gauti apdorojus API 50 CH testų duomenis *bioMerieux* duomenų bazėje

Išskyrimo šaltinis	Išskirtos kultūros kodas	Numanoma rūšis	Tikimybė, proc.
PR1	PR1/1	<i>Lactobacillus delbrueckii</i> ssp. <i>delbrueckii</i> <i>Leuconostoc mesenteroides</i> ssp. <i>cremoris</i>	92,8 6,3
	PR1/2	<i>Lactobacillus paracasei</i> ssp. <i>paracasei</i> 3 <i>Lactobacillus acidophilus</i> 1	99,5 0,2
	PR1/3	<i>Lactobacillus paracasei</i> ssp. <i>paracasei</i> 3 <i>Lactobacillus brevis</i> 1	98,9 0,8
	PR1/4	<i>Lactobacillus paracasei</i> ssp. <i>paracasei</i> 3 <i>Tetragenococcus halophilus</i>	99,7 0,1
	PR1/5	<i>Lactobacillus paracasei</i> ssp. <i>paracasei</i> 3 <i>Lactobacillus paracasei</i> ssp. <i>paracasei</i> 1 <i>Lactobacillus brevis</i> 1	86,4 13,3 0,2
PR2	PR2/1	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> ssp. <i>cremoris</i> <i>Lactobacillus delbrueckii</i> ssp. <i>delbrueckii</i>	98,7 0,5
	PR2/2	Nepavyko identifikuoti	

11 lentelė. (tęsinys)

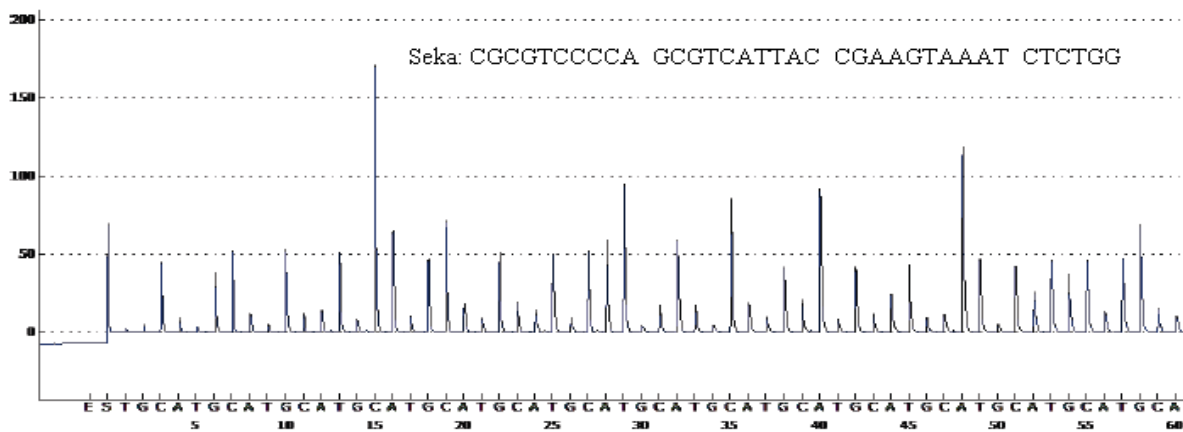
Išskyrimo šaltinis	Išskirtos kultūros kodas	Numanoma rūšis	Tikimybė, proc.
PR2	PR2/3	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> ssp. <i>cremoris</i>	60,6
		<i>Lactobacillus delbrueckii</i> ssp. <i>delbrueckii</i>	21,8
		<i>Lactobacillus fructivorans</i>	10,0
<i>Lactobacillus helveticus</i>		3,7	
<i>Pediococcus damnosus</i>		2,3	
	PR2/4	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> ssp. <i>cremoris</i>	93,1
		<i>Lactobacillus helveticus</i>	6,3
	PR2/5	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> ssp. <i>cremoris</i>	93,7
		<i>Lactobacillus helveticus</i>	5,7
GP3	GP3/1	<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>cremoris</i> 2	90,0
		<i>Lactobacillus delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i>	3,5
	GP3/2	<i>Lactobacillus delbrueckii</i> ssp. <i>delbrueckii</i>	80,1
		<i>Lactobacillus acidophilus</i> 3	19,7
	GP3/3	<i>Lactobacillus acidophilus</i> 3	68,0
		<i>Lactobacillus delbrueckii</i> ssp. <i>delbrueckii</i>	31,5
	GP3/4	<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>cremoris</i> 2	90,0
		<i>Lactobacillus delbrueckii</i> ssp. <i>delbrueckii</i>	3,7
	GP3/5	<i>Lactobacillus helveticus</i>	56,2
		<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>cremoris</i> 2	29,1
<i>Lactobacillus delbrueckii</i> ssp. <i>delbrueckii</i>		13,9	
GP3/6	<i>Lactobacillus delbrueckii</i> ssp. <i>lactis</i> 1	33,5	
	<i>Streptococcus thermophilus</i>	21,2	
	<i>Lactobacillus delbrueckii</i> ssp. <i>delbrueckii</i>	17,8	
	<i>Lactobacillus acidophilus</i> 3	17,3	
GP3/7	<i>Lactobacillus helveticus</i>	7,3	
	<i>Lactobacillus acidophilus</i> 3	67,5	
	<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>cremoris</i> 2	23,3	
GP3/8	<i>Lactobacillus delbrueckii</i> ssp. <i>delbrueckii</i>	5,0	
	<i>Lactobacillus delbrueckii</i> ssp. <i>lactis</i> 1	44,0	
	<i>Lactobacillus acidophilus</i> 3	17,4	
	<i>Lactobacillus helveticus</i>	12,8	
	<i>Lactobacillus delbrueckii</i> ssp. <i>delbrueckii</i>	9,7	
GP3/9	<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>cremoris</i> 2	6,6	
	<i>Lactobacillus acidophilus</i> 3	84,3	
GP3/10	<i>Lactobacillus delbrueckii</i> ssp. <i>delbrueckii</i>	11,5	
	<i>Lactobacillus acidophilus</i> 3	55,3	
		<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>cremoris</i> 2	39,5

Išskyrimo šaltinis	Išskirtos kultūros kodas	Numanoma rūšis	Tikimybė, proc.
TM4	TM4/1	<i>Lactobacillus helveticus</i> <i>Lactobacillus delbrueckii</i> ssp. <i>lactis</i> 1 <i>Leuconostoc lactis</i>	71,3 26,5 1,0
	TM4/2	<i>Lactobacillus acidophilus</i> 3 <i>Aerococcus viridans</i> <i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>cremoris</i> 2 <i>Lactobacillus delbrueckii</i> ssp. <i>delbrueckii</i> <i>Lactobacillus delbrueckii</i> ssp. <i>lactis</i> 1	65,7 15,0 7,7 6,5 2,7
	TM4/3	<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>cremoris</i> 2 <i>Pediococcus damnosus</i> <i>Lactobacillus helveticus</i>	80,3 18,7 0,5
	TM4/4	<i>Pediococcus damnosus</i> 1 <i>Lactobacillus acidophilus</i> 3 <i>Lactobacillus delbrueckii</i> ssp. <i>delbrueckii</i>	60,8 24,6 5,8
	TM4/5	<i>Pediococcus damnosus</i> 1 <i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>cremoris</i> 2 <i>Lactobacillus curvatus</i> ssp. <i>curvatus</i>	58,3 22,5 16,1
	TM4/6	<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>cremoris</i> 2 <i>Pediococcus damnosus</i> 1 <i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>cremoris</i> 1	78,9 18,4 1,3
	TM4/7	<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>cremoris</i> 1 <i>Lactobacillus acidophilus</i> 3	46,9 40,3

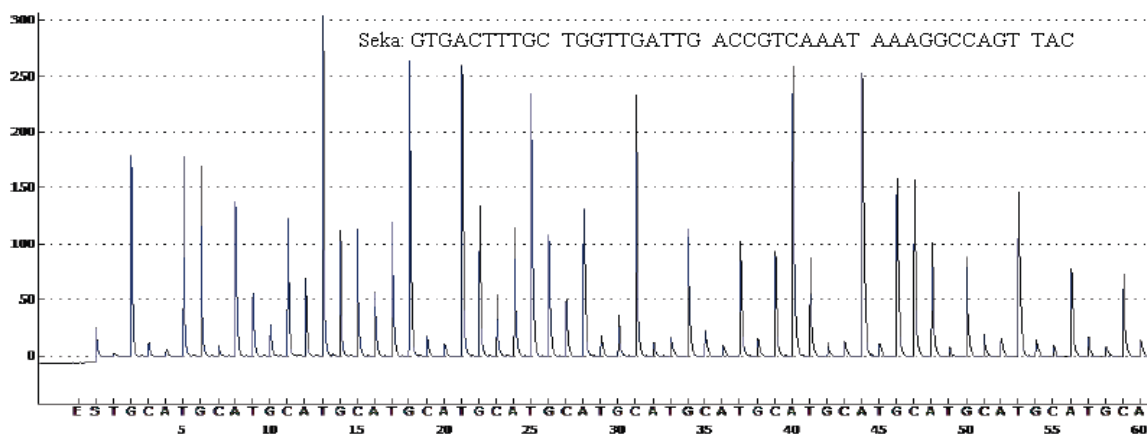
Išnagrinėjus 11 lentelės duomenis, paaiškėjo, kad jų nepakanka garantuotam kultūrų identifikavimui. Mikroskopiniai vaizdai daugeliu atvejų nesutapo su kultūros priskyrimu rūšiai (pvz., mikroskopinis vaizdas – lazdelės, o pagal angliavandenių skaidymo rezultatus – laktokokai), be to, duomenų bazė siūlė keletą rūšių variantų su skirtingomis tikimybėmis, todėl buvo sunku pasirinkti. Dėl šių priežasčių nuspręsta tęsti išskirtų kultūrų identifikavimą genetiniais metodais.

Genetiniams tyrimams buvo atrinktos 27 numanomų pieno rūgšties lazdelių kultūros, iš PR1 – 5; iš PR2 – 5; iš GP3 – 10; iš TM4 – 7.

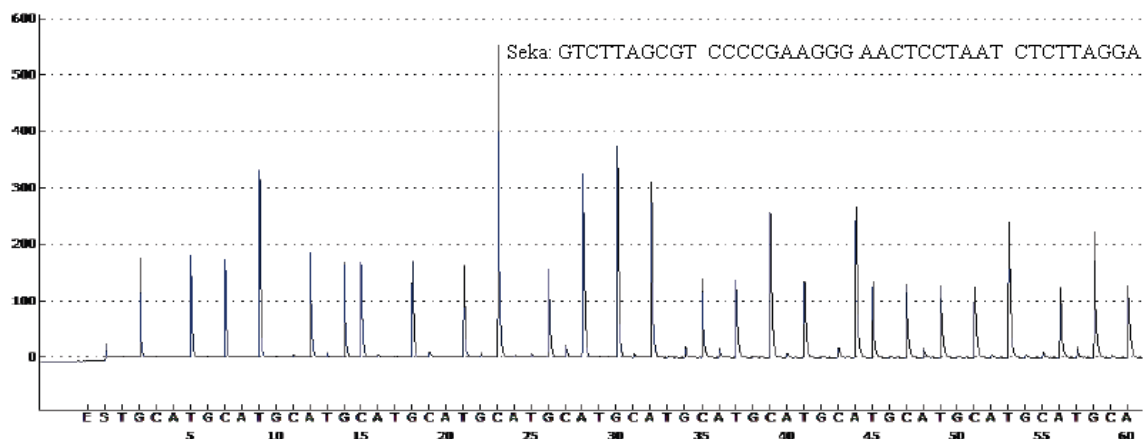
Mikroorganizmų genomų nukleotidų sekos yra savitosios, todėl jų nustatymas išskirtoje kultūroje padeda greitai surasti ir atpažinti mikroorganizmus. Pagausus tiriamų bakterijų DNR polimerazės grandininės reakcijos metodu, pirosekvenavimo metu buvo gautos 16S geno V1, V2 ir V3 regionų 23 – 51 nukleotidų sekos (žr. 5 pav.).



A



B



C

5 pav. Tiriamosios pieno rūgšties bakterijos (PR2/2)16S geno V1 (A), V2 (B) ir V3 (C) regionų pirogramos ir nusekvenuotos nukleotidų sekos.

Palyginus nustatytas tiriamųjų pieno rūgšties bakterijų nukleotidų sekas su tarptautinio biotechnologijos informacijos centro (NCBI) bakterijų banko sekomis (žr. 6 pav.), buvo gautas 95 – 100 % pieno rūgšties bakterijų rūšių panašumo procentas. Nustatytų DNR sekų sulyginimas su palyginamosiomis sekomis genų banke pateiktas 7 pav.

Sequences producing significant alignments:

Select: [All](#) [None](#) Selected: 1

Alignments Download GenBank Graphics Distance tree of results

	Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Max ident	Accession
<input checked="" type="checkbox"/>	Lactobacillus helveticus DPC 4571 strain DPC 4571 16S ribosomal RNA, complete sequence	77.8	77.8	100%	1e-14	100%	NR_075047.1
<input type="checkbox"/>	Uncultured Lactobacillus sp. gene for 16S ribosomal RNA, partial sequence, clone C3-35	77.8	77.8	100%	1e-14	100%	AB749388.1
<input type="checkbox"/>	Uncultured Lactobacillus sp. gene for 16S ribosomal RNA, partial sequence, clone C3-20	77.8	77.8	100%	1e-14	100%	AB749387.1
<input type="checkbox"/>	Uncultured Lactobacillus sp. gene for 16S ribosomal RNA, partial sequence, clone C3-8	77.8	77.8	100%	1e-14	100%	AB749386.1
<input type="checkbox"/>	Uncultured Lactobacillus sp. gene for 16S ribosomal RNA, partial sequence, clone C2-24	77.8	77.8	100%	1e-14	100%	AB749384.1
<input type="checkbox"/>	Uncultured Lactobacillus sp. gene for 16S ribosomal RNA, partial sequence, clone C2-18	77.8	77.8	100%	1e-14	100%	AB749383.1
<input type="checkbox"/>	Uncultured Lactobacillus sp. gene for 16S ribosomal RNA, partial sequence, clone C2-13	77.8	77.8	100%	1e-14	100%	AB749381.1
<input type="checkbox"/>	Uncultured Lactobacillus sp. gene for 16S ribosomal RNA, partial sequence, clone C1-57	77.8	77.8	100%	1e-14	100%	AB749379.1
<input type="checkbox"/>	Uncultured Lactobacillus sp. gene for 16S ribosomal RNA, partial sequence, clone A2-27	77.8	77.8	100%	1e-14	100%	AB750698.1
<input type="checkbox"/>	Uncultured Lactobacillus sp. gene for 16S ribosomal RNA, partial sequence, clone A2-25	77.8	77.8	100%	1e-14	100%	AB750697.1
<input type="checkbox"/>	Uncultured Lactobacillus sp. gene for 16S ribosomal RNA, partial sequence, clone A2-19	77.8	77.8	100%	1e-14	100%	AB750695.1
<input type="checkbox"/>	Uncultured Lactobacillus sp. gene for 16S ribosomal RNA, partial sequence, clone A2-13	77.8	77.8	100%	1e-14	100%	AB750694.1
<input type="checkbox"/>	Uncultured Lactobacillus sp. gene for 16S ribosomal RNA, partial sequence, clone A2-11	77.8	77.8	100%	1e-14	100%	AB750692.1
<input type="checkbox"/>	Uncultured Lactobacillus sp. gene for 16S ribosomal RNA, partial sequence, clone A1-21	77.8	77.8	100%	1e-14	100%	AB750690.1
<input type="checkbox"/>	Uncultured Lactobacillus sp. gene for 16S ribosomal RNA, partial sequence, clone A1-19	77.8	77.8	100%	1e-14	100%	AB750689.1
<input type="checkbox"/>	Uncultured Lactobacillus sp. gene for 16S ribosomal RNA, partial sequence, clone A1-17	77.8	77.8	100%	1e-14	100%	AB750688.1
<input type="checkbox"/>	Uncultured Lactobacillus sp. gene for 16S ribosomal RNA, partial sequence, clone A1-14	77.8	77.8	100%	1e-14	100%	AB750687.1

6 pav. Tiriamosios pieno rūgšties bakterijos PR2/2 DNR sekos palyginimas genų banke: kultūra identifikuojama kaip *Lactobacillus helveticus*

16S geno V1 regiono sekos palyginimas genų banke:

Lactobacillus helveticus DPC 4571 strain DPC 4571 16S ribosomal RNA, complete sequence
Sequence ID: [ref|NR_075047.1|](#) Length: 1573 Number of Matches: 1

Range 1: 81 to 112 [GenBank](#) [Graphics](#) ▼ Next Match ▲ Previous Match

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
63.9 bits(32)	2e-10	32/32(100%)	0/32(0%)	Plus/Minus

```
Query 1 CGCGTCCCCAGCGTCATTACCGAAGTAAATCT 32
      |||
Sbjct 112 CGCGTCCCCAGCGTCATTACCGAAGTAAATCT 81
```

16S geno V2 regiono sekos palyginimas genų banke:

Lactobacillus helveticus culture-collection IMAU:80414 16S ribosomal RNA gene, partial sequence
Sequence ID: [gb|HM058673.1|](#) Length: 1487 Number of Matches: 1

Range 1: 457 to 498 [GenBank](#) [Graphics](#) ▼ Next Match ▲ Previous Match

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
61.9 bits(31)	8e-10	41/43(95%)	1/43(2%)	Plus/Minus

```
Query 1 GTGACTTTGCTGGTTGATTGACCGTCAAATAAAGGCCAGTTAC 43
      |||
Sbjct 498 GTGACTTTCCTGGTTGATT-ACCGTCAAATAAAGGCCAGTTAC 457
```

16S geno V3 regiono sekos palyginimas genų banke:

Lactobacillus helveticus DPC 4571 strain DPC 4571 16S ribosomal RNA, complete sequence
Sequence ID: [ref|NR_075047.1|](#) Length: 1573 Number of Matches: 1

Range 1: 1030 to 1068 [GenBank](#) [Graphics](#) ▼ Next Match ▲ Previous Match

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
77.8 bits(39)	1e-14	39/39(100%)	0/39(0%)	Plus/Minus

```
Query 1 GTCTTAGCGTCCCCGAAGGGAACCTCCTAATCTCTTAGGA 39
      |||
Sbjct 1068 GTCTTAGCGTCCCCGAAGGGAACCTCCTAATCTCTTAGGA 1030
```

7 pav. Tiriamosios pieno rūgšties PR2/2 bakterijos nustatytų DNR sekų sulygiavimas genų banke

Nustatytų tirtų PRB kultūrų būdingos 16S geno V1, V2 ir V3 regionų nukleotidų sekų variacijos pateiktos 12 – 15 lentelėse.

12 lentelē. Išskirtu iš PR1 pieno rūgšties bakteriju kultūroms būdingos nukleotidų sekos

Kultūros kodas	Pradmuo	16S rDNR geno sekos	Padermių Nr. NCBI banke
PR1/1	V1	CGCGTCCCCAGCGTCATTACCGAAGTAAATCTGCTGG	NR_075047.1
	V2	GTGACTTTCTGGTTGATTACCGTCAAATAAAGGCCAGTTAC	KC166236.1
	V3	GTCTTAGCGTCCCCGAAGGGAACCTCCTAATCTCTTAGGA	NR_075047.1
PR1/2	V1	CGTTTTTAAAGTTCAGAATCTCAGATGCAAGCCACCTGCTTCATCA	CP000033.3
	V2	GTGGCTTTCTGGGTTGGATAGCCGCTCACGCCGACAACAG	JQ412726.1
	V3	GTCATTTTGCCCCGAAGGGGAAACCTGATCTCTCAGGTGATCAAAAGAATG	AJ272201.1
PR1/3	V1	CGTTTTTAAAGTTCAGAATCTCAGATGCAAGCCACCTGCTTCATCA	HE970764.1
	V2	GTGGCTTTCTGGTGGATACCGTCACGCCGACAACAG	KC456366.1
	V3	GTCATTTTGCCCCGCAAGGGGAAAAGCC	JQ436724.1
PR1/4	V1	CGTTTTAAAGTTCATGCAAATCCATCCAATGGCAATTGGCCAAAAAGGC	CP001084.1
	V2	GTGGCTTTCTGGTTGGATACCGTCACGCCGACAACAG	KC456366.1
	V3	GTCATTTTGCCCCGAAGGGGAAACCTGATCTCTCAGGTGATCAAAGATG	JN560924.1
PR1/5	V1	CGTTTTAAGTCAAATCTCAGAGCAACACTCTC	HM070025.1
	V2	GTGGCTTTCTGGTGGATACCGTCACGCCGACAACAG	KC456366.1
	V3	–	–

13 lentelē. Išskirtu iš PR2 pieno rūgšties bakteriju kultūroms būdingos nukleotidų sekos

Kultūros kodas	Pradmuo	16S rDNR geno sekos	Padermių Nr. NCBI banke
PR2/1	V1	CCGTCCCCAGCGTCATTACCGAAGTAAATCTCTGG	JN620212.1
	V2	GTGACTTTGCTGGTTGATTGACCGTCAAATAAAGGCCAGTTAC	HM058673.1
	V3	GTCTTAGCGTCCCCGAAGGGAACCTCCTAATCTCTTAGGA	NR_075047.1
PR2/2	V1	CGCGTCCCCAGCGTCATTACCGAAGTAAATCTCTGG	NR_075047.1
	V2	GTGACTTTGCTGGTTGATTGACCGTCAAATAAAGGCCAGTTAC	HM058673.1
	V3	GTCTTAGCGTCCCCGAAGGGAACCTCCTAATCTCTTAGGA	NR_075047.1
PR2/3	V1	CCGTCCCCAGCGTCATTACCGAAGTAAATCTGCTGG	JN620212.1
	V2	GTGACTTTCTGGTTGATTACCGTCAAATAAAGGCCAGTTAC	KC166236.1
	V3	GTCTTAGCGTCCCCGAAGGGAACCTCCTAATCTCTTAGGA	NR_075047.1
PR2/4	V1	CCGTCCCCAGCGTCATTACCGAAGTAAATCTGCTGG	JN620212.1
	V2	GTGACTTTCTGGTTGATTGACCGTCAAATAAAGGCCAGTTAC	KC166236.1
	V3	GTCTTAGCGTCCCCGAAGGGAACCTCCTAATCTCTTAGG	NR_075047.1
PR2/5	V1	CCGTCCCCAGCCGTCATTACCGAAGTAAATCTCTGG	JN620212.1
	V2	–	–
	V3	GTCTTAGCGTCCCCGAAGGGAACCTCCTAATCTCTTAGGA	NR_075047.1

14 lentelė. Išskirtų iš GP3 pieno rūgšties bakterijų kultūroms būdingos nukleotidų sekos

Kultūros kodas	Pradmuo	16S rDNR geno sekos	Padermių Nr. NCBI banke
GP3/1	V1	CGCGTCCCCAAGCCGTCATTACCGAAGTAAATCTCTGG	KC561113.1
	V2	GTGACTTTCTGGTTGATTACCGTCAAATAAAGGCCAGTTAC	KC166236.1
	V3	GTCTTAGCGTCCCCGAAGGGAACCTAATCTCTTAGGA	NR_075047.1
GP3/2	V1	CGCGTCCCCAGCGTCATTACCGAAGAATCTGCTGG	NR_075047.1
	V2	GTGACTTTCTGGTTGATTACCGTCAAATAAAGGCCAGTTAC	KC166236.1
	V3	GTCTTAGCGTCCCCGAAGGGAACCTAATCTCTTAGGA	NR_075047.1
GP3/3	V1	CGCGTCCCCAGCGTCATTACCGAAGTAAATCTGCTGG	NR_075047.1
	V2	GTGACTTTCTGGTTGATTACCGTCAAATAAAGGCCAGTTAC	KC166236.1
	V3	GTCTTAGCGTCCCCGAAGGAACTCCTAATCTCTTAGGA	HM534794.1
GP3/4	V1	CGCGTCCCCAGCGTCATTACCGAAGTAAATCTGCTGG	NR_075047.1
	V2	GTGACTTTCTGGTTGATTACCGTCAAATAAAGGCCAGTTAC	KC166236.1
	V3	GTCTTAGCGTCCCCGAAGGAACTCCTAATCTCTTAGGA	NR_075047.1
GP3/5	V1	GCGTCCCCAGCGTCATTACCGAAGTAAATCTGCTGG	NR_075047.1
	V2	GTGACTTTCTGGTTGATTACCGTCAAATAAAGGCCAGTTAC	KC166236.1
	V3	GTCTTAGCGTCCCCGAAGGGAAGCATCCTCAATCATTCTTCATGGAA	AB362691.1
GP3/6	V1	CGCGTCCCCAGCGTCATTACCGAAGTAAATCTGCTGG	NR_075047.1
	V2	GTGACTTGCTGGTTGATTGACCGTCAATAAGCCAGTAC	CP003043.1
	V3	GTCTTAGCGTCCCCGAAGGGAACCTAATCTCTTAGGA	NR_075047.1
GP3/7	V1	CGCGTCCCAGCGTCATTACCGAAGTAAATCTGCTTGGG	FJ861101.1
	V2	GTGATCATTTGGCATGGGTTTGGCATTTTGGCAATGCCCCGGCTTCCAAAATTA AAAAGGGCCCAAAGGCTTTAATCC	–
	V3	GTCTTAGCGTCCCCGAAGGGAACCTAATCTCTTAGGA	NR_075047.1
GP3/8	V1	CGCGTCCCCAGCGTCATTACCGAAGTAAATCTGCTGG	NR_075047.1
	V2	GTGACTTTCTGGTTGATTACCGTCAAATAAAGGCCAGTTAC	KC166236.1
	V3	GTCTTAGCGTCCCCGAAGGGAACCTAATCTCTTAGGA	NR_075047.1
GP3/9	V1	CGCGTCCCCAGCGTCATTACCGAAGTAAATCTGCTGG	NR_075047.1
	V2	GGTTGGATCATTTGGCATGGGTTTGCATTTGGGCAAGCCCCGGTTCAAAATAAAAAGGGCCAGGTTTACC	–
	V3	GTCTTAGCGTCCCCGAAGGGAACCTAATCTCTTAGGA	NR_075047.1
GP3/10	V1	CGCGTCCCCAGCGTCATTACCGAAGTAAATCTGCTGGG	DQ123572.1
	V2	GTGACTTTGCTGGTTGATTGACCGTCAATAAAGGCCAGTTAC	HM058673.1
	V3	GTCTTAGCGTCCCCGAAGGGAACCTAATCTCTTAGGA	NR_075047.1

15 lentelė. Išskirtų iš TM4 pieno rūgšties bakterijų kultūroms būdingos nukleotidų sekos

Kultūros kodas	Pradmuo	16S rDNR geno sekos	Padermių Nr. NCBI banke
TM4/1	V1	TTTTTTTTTTTCCCCTTCTTCCACCTCTCCATCCATGCCATGCCAAT TGCCAATTTGCCCAATTTGGGCCCAAAA	–
	V2	TTTTCTTTTGGATTGATCTTTCTTGGTTGATTAATCCATGCTCAA	CP002764.1
	V3	GTCTTAGCGTCCCCGAAGGGAAGTAAATCTCTTAGGAA	NR_075047.1
TM4/2	V1	CGCGTCCCCAGCGTCATTACCGAAGTAAATCATGCTGG	NR_075047.1
	V2	GTGACTTTCTGGTTGATTACCGTCAAATAAAGGCCAGTTAC	KC166236.1
	V3	GTCTTAGCGTCCCCGAAGGGAAGTAAATCTCTTAGGA	NR_075047.1
TM4/3	V1	CGCCGGTCCCCAAGCCGTCATTACCGAAGTAAATCTGCTGG	NR_075047.1
	V2	GTGACTTTCTGGGTTGGATTTGAGCCCGGTCCAAAATAAAAGGGC CCAAGGTTTACC	–
	V3	GTCTTAGCGTCCCCGAAGGGAAGTAAATCTCTTAGGA	NR_075047.1
TM4/4	V1	CGCGTCCCCAGCGTCATTACCGAAGTAAATCTGCTGG	NR_075047.1
	V2	GTGACTTTCTGGTTGATTACCGTCAAATAAAGGCCAGTTAC	KC166236.1
	V3	GTCTTAGCGTCCCCGAAGGGAAGTAAATCTCTTAGGA	NR_075047.1
TM4/5	V1	CGCGTCCCCAGCGTCATTACCGAAGTAAATCTGCTGG	NR_075047.1
	V2	GTGACTTTCTGGTTGATTGACCGTCAAATAAAGGCCAGTTAC	KC166236.1
	V3	GTCTTAGCGTCCCCGAAGGGAAGTAAATCTCTTAGGA	NR_075047.1
TM4/6	V1	CGCGTCCCCAGCCGTCATTATCCCGCAAGCATGCAAAATTCC ATTGCCATTGGGCCA	–
	V2	GTGACTTTCTGGTTGATTACCGTCAAATAAAGGCCAGTTAC	KC166236.1
	V3	GTCTTAGCGTCCCCGAAGGGAAGTAAATCTCTTAGGA	NR_075047.1
TM4/7	V1	CGCGTCCCCAGCCGTCATTACCGAAGTAAATCATGCTGGG	NR_075047.1
	V2	GTGACTTTCTGGTTGATTACCGTCAAATAAAGGCCAGTTAC	KC166236.1
	V3	GTCTTAGCGTCCCCGAAGGGAAGTAAATCATCTTTATGGAA	NR_075047.1

Identifikuojamos pieno rūgšties bakterijos priskirtos atitinkamai mikroorganizmo rūšiai, kai bakterijų banke sunormuoti sekų panašumo įverčiai (*Max score*), sekų persidengimas (*Query cover*) ir identiškumas (*Max ident*) buvo didžiausi, o panašumo aptikimo atsitiktinumai (*E value*) – mažiausi (16 – 19 lent.).

16 lentelė. Išskirtų iš PR1 pieno rūgšties bakterijų identifikacija

Kultūros kodas	Mikroorganizmo rūšis pagal 16S geno regionus	Bakterijų banko pateikti parametrai				Identifikuotas mikroorganizmas
		Max score	Query cover, %	E value	Max ident, %	
PR1/1	V1: <i>Lb. helveticus</i>	73.8	100	4e-11	100	<i>Lactobacillus helveticus</i>
	V2: <i>Lb. acidophilus</i>	81.8	100	2e-13	100	
	V3: <i>Lb. helveticus</i>	77.8	100	3e-12	100	
PR1/2	V1: <i>L. acidophilus</i>	32.2	100	0.82	100	<i>Lactobacillus casei</i>
	V2: <i>L. casei</i>	48.1	100	1e-05	95	
	V3: <i>L. casei</i>	89.8	94	4e-18	100	
PR1/3	V1: <i>L. casei</i>	32.2	100	0.82	100	<i>Lactobacillus casei</i>
	V2: <i>L. casei</i>	73.8	100	2e-13	100	
	V3: <i>L. paracasei</i>	42.1	86	4e-04	96	
PR1/4	V1: <i>L. casei</i>	32.2	100	0.90	100	<i>Lactobacillus casei</i>
	V2: <i>L. casei</i>	73.8	100	2e-13	100	
	V3: <i>L. casei</i>	95.3	100	8e-20	100	
PR1/5	V1: <i>L. casei</i>	34.2	78	0.11	92	<i>Lactobacillus casei</i>
	V2: <i>L. casei</i>	73.8	100	2e-13	100	
	V3: –	–	–	–	–	

17 lentelė. Išskirtų iš GP3 pieno rūgšties bakterijų identifikacija

Kultūros kodas	Mikroorganizmo rūšis pagal 16S geno regionus	Bakterijų banko pateikti parametrai				Identifikuotas mikroorganizmas
		Max score	Query cover, %	E value	Max ident, %	
GP3/1	V1: <i>L. crispatus</i>	42.1	55	6e-04	100	<i>Lactobacillus helveticus</i> *
	V2: <i>L. acidophilus</i>	81.8	100	8e-16	100	
	V3: <i>Lb. helveticus</i>	77.8	100	1e-14	100	
GP3/2	V1: <i>Lb. helveticus</i>	52.0	100	6e-07	95	<i>Lactobacillus helveticus</i>
	V2: <i>L. acidophilus</i>	81.8	100	8e-16	100	
	V3: <i>Lb. helveticus</i>	77.8	100	1e-14	100	
GP3/3	V1: <i>Lb. helveticus</i>	73.8	100	2e-13	100	<i>Lactobacillus helveticus</i> **
	V2: <i>L. acidophilus</i>	81.8	100	8e-16	100	
	V3: <i>L. gasseri</i>	46.1	75	4e-05	96	
GP3/4	V1: <i>Lb. helveticus</i>	73.8	100	2e-13	100	<i>Lactobacillus helveticus</i>
	V2: <i>L. acidophilus</i>	81.8	100	8e-16	100	
	V3: <i>Lb. helveticus</i>	56.0	87	5e-08	97	
GP3/5	V1: <i>Lb. helveticus</i>	67.9	91	1e-11	100	<i>Lactobacillus helveticus</i> ***
	V2: <i>L. acidophilus</i>	81.8	100	8e-16	100	
	V3: <i>L. vaccinostercus</i>	38.2	46	0.015	96	
GP36	V1: <i>Lb. helveticus</i>	58.0	100	1e-08	97	<i>Lactobacillus helveticus</i>
	V2: <i>L. buchneri</i>	32.2	94	0.60	100	
	V3: <i>Lb. helveticus</i>	77.8	100	1e-14	100	
GP3/7	V1: <i>Lb. helveticus</i>	52.0	76	7e-07	97	<i>Lactobacillus helveticus</i>
	V2: neranda panašumo	–	–	–	–	
	V3: <i>Lb. helveticus</i>	77.8	100	1e-14	100	
GP3/8	V1: <i>Lb. helveticus</i>	73.8	100	2e-13	100	<i>Lactobacillus helveticus</i>
	V2: <i>L. acidophilus</i>	81.8	100	8e-16	100	
	V3: <i>Lb. helveticus</i>	77.8	100	1e-14	100	
GP3/9	V1: <i>Lb. helveticus</i>	73.8	100	2e-13	100	<i>Lactobacillus helveticus</i>
	V2: neranda panašumo	–	–	–	–	
	V3: <i>Lb. helveticus</i>	77.8	100	1e-14	100	
GP3/10	V1: <i>Lb. helveticus</i>	75.8	100	4e-14	100	<i>Lactobacillus helveticus</i>
	V2: <i>Lb. helveticus</i>	46.1	100	5e-05	93	
	V3: <i>Lb. helveticus</i>	77.8	100	1e-14	100	

* *Lb. helveticus*, nes duomenų bazėje lyginant visų V1, V2 ir V3 regionų sekas bendrai, pateikia šią rūšį ([NR_075047.1](#)), esant parametrams: max score - 76.8, query cover – 67 %, E value - 3e-11, max ident - 100%.

** *Lb. helveticus*, nes duomenų bazėje lyginant visų V1, V2 ir V3 regionų sekas bendrai, pateikia šią rūšį ([NR_075047.1](#)), esant parametrams: max score - 76.8, query cover – 68 %, E value - 3e-11, max ident - 100%.

*** *Lb. helveticus*, nes duomenų bazėje lyginant visų V1, V2 ir V3 regionų sekas bendrai, pateikia šią rūšį ([NR_075047.1](#)), esant parametrams: max score - 76.8, query cover – 59 %, E value - 3e-11, max ident - 100%.

18 lentelė. Išskirtų iš PR2 pieno rūgšties bakterijų identifikacija

Kultūros kodas	Mikroorganizmo rūšis pagal 16S geno regionus	Bakterijų banko pateikti parametrai				Identifikuotas mikroorganizmas
		Max score	Query cover, %	E value	Max ident, %	
PR2/1	V1: <i>Lb. helveticus</i>	54.0	79	1e-07	100	<i>Lactobacillus helveticus</i>
	V2: <i>Lb. helveticus</i>	46.1	100	5e-05	93	
	V3: <i>Lb. helveticus</i>	77.8	100	1e-14	100	
PR2/2	V1: <i>Lb. helveticus</i>	63.9	88	2e-10	100	<i>Lactobacillus helveticus</i>
	V2: <i>Lb. helveticus</i>	61.9	100	8e-10	95	
	V3: <i>Lb. helveticus</i>	77.8	100	1e-14	100	
PR2/3	V1: <i>Lb. helveticus</i>	71.9	100	6e-13	100	<i>Lactobacillus helveticus</i>
	V2: <i>L. acidophilus</i>	81.8	100	8e-16	100	
	V3: <i>Lb. helveticus</i>	77.8	100	1e-14	100	
PR2/4	V1: <i>Lb. helveticus</i>	71.9	100	6e-13	100	<i>Lactobacillus helveticus</i> *
	V2: <i>Lb. acidophilus</i>	67.9	100	1e-11	98	
	V3: <i>Lb. helveticus</i>	75.8	100	4e-14	100	
PR2/6	V1: <i>Lb. helveticus</i>	40.1	80	0.002	96	<i>Lactobacillus helveticus</i>
	V2: –	–	–	–	–	
	V3: <i>Lb. helveticus</i>	77.8	100	1e-14	100	

* *Lb. helveticus*, nes duomenų bazėje lyginant visų V1, V2 ir V3 regionų sekas bendrai, pateikia šią rūšį ([NR_075047.1](#)), esant parametrams: max score - 76.8, query cover – 64 %, E value - 3e-11, max ident - 100%.

19 lentelė. Išskirtų iš TM4 pieno rūgšties bakterijų identifikacija

Kultūros kodas	Mikroorganizmo rūšis pagal 16S geno regionus	Bakterijų banko pateikti parametrai				Identifikuotas mikroorganizmas
		Max score	Query cover, %	E value	Max ident, %	
TM4/1	V1: neranda panašumo	–	–	–	–	<i>Lactobacillus helveticus</i>
	V2: <i>L. kefiranofaciens</i>	32.2	100	0.82	100	
	V3: <i>Lb. helveticus</i>	63.9	97	2e-10	98	
TM4/2	V1: <i>Lb. helveticus</i>	61.9	81	7e-10	100	<i>Lactobacillus helveticus</i>
	V2: <i>L. acidophilus</i>	81.8	100	8e-16	100	
	V3: <i>Lb. helveticus</i>	77.8	100	1e-14	100	
TM4/3	V1: <i>Lb. helveticus</i>	52.0	63	7e-07	100	<i>Lactobacillus helveticus</i>
	V2: neranda panašumo	–	–	–	–	
	V3: <i>Lb. helveticus</i>	77.8	100	1e-14	100	
TM4/4	V1: <i>Lb. helveticus</i>	73.8	100	2e-13	100	<i>Lactobacillus helveticus</i>
	V2: <i>L. acidophilus</i>	81.8	100	8e-16	100	
	V3: <i>Lb. helveticus</i>	77.8	100	1e-14	100	
TM4/5	V1: <i>Lb. helveticus</i>	73.8	100	2e-13	100	<i>Lactobacillus helveticus</i> *
	V2: <i>L. acidophilus</i>	67.9	100	1e-11	98	
	V3: <i>L. fermentum</i>	77.8	100	1e-14	100	
TM4/6	V1: neranda panašumo	–	–	–	–	<i>Lactobacillus helveticus</i>
	V2: <i>L. acidophilus</i>	81.8	100	8e-16	100	
	V3: <i>Lb. helveticus</i>	77.8	100	1e-14	100	
TM4/7	V1: <i>Lb. helveticus</i>	48.1	80	1e-05	97	<i>Lactobacillus helveticus</i>
	V2: <i>L. acidophilus</i>	81.8	100	8e-16	100	
	V3: <i>Lb. helveticus</i>	48.1	72	1e-05	97	

* *Lb. helveticus*, nes duomenų bazėje lyginant visų V1, V2 ir V3 regionų sekas bendrai, pateikia šią rūšį ([NR_075047.1](#)), esant parametrams: max score - 73.1, query cover – 64 %, E value - 4e-10, max ident - 100%.

Remiantis genetinių tyrimų, angliavandenių skaidymo ir kitais anksčiau gautais rezultatais, tolesniam darbui buvo atrinktos šios 7 kultūros:

PR1/1 *Lb. helveticus*

PR2/1 *Lb. helveticus*

PR2/2 *Lb. helveticus*

GP3/4 *Lb. helveticus*

GP3/10 *Lb. helveticus*

TM4/2 *Lb. helveticus*

TM4/4 *Lb. helveticus*

3.2. Motininio raugo ruošimas sūrio gamybai

Iš išskirtų PRB kultūrų ir PRB kultūrų, gautų iš KTU MI kolekcijos (*Lb. helveticus* 14, *Lb. helveticus* 3, *Lb. helveticus* 148/3), buvo bandoma sudaryti raugą, kuris tiktų kietųjų fermentinių sūrinių gamybai. Buvo sudaromos įvairios PRB kultūrų variacijos, kad būtų atrinktas geriausiomis savybėmis pasižymintis raugas (žr. 20 lent.).

20 lentelė. Raugo ruošimo būdo parinkimas

Vari- anto Nr.	Kultūros Nr. ir rūšis	Titruojamasis rūgštingumas, °T	Pieno rūgštis lazdelių skaičius, KSV/ml	Mikroskopinis vaizdas
1.	TM4/2 <i>Lb. helveticus</i>	220	$4,7 \cdot 10^6$	Plonos įvairaus ilgio lazdelės, pavienės ir grandinėlėmis
2.	TM4/4 <i>Lb. helveticus</i>	246	$1,3 \cdot 10^7$	Plonos įvairaus ilgio lazdelės, pavienės ir grandinėlėmis
3.	GP3/4 <i>Lb. helveticus</i>	286	$2,0 \cdot 10^6$	Plonos įvairaus ilgio lazdelės, pavienės ir grandinėlėmis
4.	GP3/10 <i>Lb. helveticus</i>	280	$1,0 \cdot 10^5$	Plonos įvairaus ilgio lazdelės, daugiau trumpų lazdelių grandinėlių
5.	PR2/1 <i>Lb. helveticus</i>	250	$1,5 \cdot 10^6$	Plonos įvairaus ilgio lazdelės, išsidėsčiusios ilgomis grandinėlėmis
6.	PR2/2 <i>Lb. helveticus</i>	292	$1,0 \cdot 10^5$	Plonos įvairaus ilgio lazdelės, išsidėsčiusios ilgomis grandinėlėmis
7.	TM4/2 + TM4/4	244	$1,1 \cdot 10^7$	Plonos įvairaus ilgio lazdelės, yra pavienių, o kitos išsidėsčiusios ilgomis grandinėlėmis
8.	GP3/4 + GP3/10	270	$2,8 \cdot 10^6$	Plonos įvairaus ilgio lazdelės, daugiau trumpų lazdelių grandinėlių

20 lentelė. (tęsinys)

Vari- anto Nr.	Kultūros Nr. ir rūšis	Titruojamasis rūgštingumas, °T	Pieno rūgštis lazdelių skaičius, KSV/ml	Mikroskopinis vaizdas
9.	PR2/1 + PR2/2	280	$1,0 \cdot 10^5$	Plonos įvairaus ilgio lazdelės, išsidėsčiusios ilgomis grandinėmis
10.	<i>Lb. helveticus</i> 14	284	$5,2 \cdot 10^6$	Plonos įvairaus ilgio lazdelės, išsidėsčiusios ilgomis grandinėmis
11.	<i>Lb. helveticus</i> 3	270	$4,8 \cdot 10^6$	Plonos įvairaus ilgio lazdelės, išsidėsčiusios ilgomis grandinėmis
12.	<i>Lb. helveticus</i> 148/3	278	$3,5 \cdot 10^6$	Plonos įvairaus ilgio lazdelės, išsidėsčiusios ilgomis grandinėmis

Nustatyta, kad kultūros, išskirtos iš to paties objekto, viena kitos neslopino, todėl gali būti naudojamos raugui paruošti kartu.

Kultūros TM4/2, GP3/4, PR2/1 ir PR2/2 (4 %) persodintos į sterilų pieną su 2 % MA trečią kartą, ir nustatytas mikroorganizmų skaičius atitinkamai buvo: $4,3 \cdot 10^5$; $5,1 \cdot 10^5$; $6,4 \cdot 10^4$ ir $3,2 \cdot 10^3$ KSV/ml.

3.2.1. Motininio raugo sudarymas iš kultūrų mišinio

Motininio raugo mišiniai ruošti 2 būdais: I – kultūros atgaivintos MRS sultinyje ir 2 kartus persėtos į sterilų pieną su 2 % MA, II – kultūros atgaivintos MRS sultinyje.

21 lentelė. Motininių raugų rodikliai, ruošiant 2 būdais

Raugo kultūrų paruošimo būdas	Vari- anto Nr.	Kultūros Nr. ir santykis raugų mišinyje	Titruojamasis rūgštingumas po 15 h inkubavimo, °T	Pieno rūgštis lazdelių skaičius, KSV/ml	Mikroskopinis vaizdas
I - kultūros atgaivintos MRS sultinyje ir 2 kartus persėtos į sterilų pieną su 2 % MA	1.	TM4/2 – 15 % GP3/10 – 50 % PR2/2 – 15% <i>Lb. helveticus</i> 14 – 10%	114	$2,0 \cdot 10^4$	Plonos lazdelės, yra pavienių, o kitos išsidėsčiusios ilgomis spiralinėmis grandinėmis

21 lentelė. (tęsinys)

Raugo kultūrų paruošimo būdas	Vari- anto Nr.	Kultūros Nr. ir santykis raugų mišinyje	Titruojamasis rūgštingumas po 15 h inkubavimo, °T	Pieno rūgšties lazdelių skaičius, KSV/ml	Mikroskopinis vaizdas
I - kultūros atgaivintos MRS sultinyje ir 2 kartus persėtos į sterilų pieną su 2 % MA	2.	TM4/4 – 15 % GP3/4 – 50 % PR2/1 – 15 % <i>Lb. helveticus</i> 148/3 – 10%	108	$4,2 \cdot 10^4$	Plonos lazdelės, yra pavienių, o kitos sudaro ilgas, lenktas grandinėles
	3.	TM4/2 + TM4/4 – 15 % GP3/4 + GP3/10 – 50 % PR2/1 + PR2/2 – 15 % <i>Lb. helveticus</i> 3 – 10%	108	$2,7 \cdot 10^4$	Plonos lazdelės, yra pavienių, o kitos išsidėsčiusios ilgomis spiralinėmis grandinėlėmis
II - kultūros atgaivintos MRS sultinyje	1.	TM4/2 – 15 % GP3/4 – 50 % PR2/1 – 15% <i>Lb. helveticus</i> 14 – 10%	110	$7,0 \cdot 10^3$	Plonos lazdelės, yra pavienių, o kitos išsidėsčiusios ilgomis spiralinėmis grandinėlėmis
	2.	TM4/2 – 15 % GP3/4 – 50 % PR2/1 – 15 % <i>Lb. helveticus</i> 148/3 – 10%	108	$4,2 \cdot 10^5$	Plonos lazdelės, yra pavienių, o kitos išsidėsčiusios ilgomis spiralinėmis grandinėlėmis
	3.	TM4/2 – 15 % GP3/4 – 50 % PR2/1 – 15 % <i>Lb. helveticus</i> 3 – 10%	108	$5,6 \cdot 10^5$	Plonos lazdelės, yra pavienių, o kitos išsidėsčiusios ilgomis spiralinėmis grandinėlėmis

Auginant kultūras kartu, iš 20 ir 21 lent. pateiktų rezultatų matosi dalinis augimo slopinimas auginant kultūras 1 būdu (pieno rūgšties lazdelių skaičius buvo mažesnis 100 – 1000 kartų, nei raugiant atskiromis kultūromis), o auginant antru būdu, padidinus raugo kiekį 5 ir 10 kartų (atitinkamai, 2 ir 3 variantas), pieno rūgšties lazdelių skaičius buvo mažesnis 10 – 100 kartų. Sūrių gamybai naudoti II varianto 2 ir 3 raugai.

Remiantis gautais duomenimis išskirtoms PRB buvo sudaryti pasai (žr. 2 priedą).

3.3. Kietojo fermentinio sūrio bandomoji gamyba

PRB kultūros su paruoštomis raugo sudarymo metodikomis buvo perduotos Lietuvoje veikiančiai sūrių gamyklai bandomajai kietojo fermentinio sūrio gamybai. Eksperimentinio ir kontrolinio kietojo fermentinio sūrio sudarytų raugų savybių įvertinimas aprašytas 22 – 23 lentelėse.

22 lentelė. Eksperimentinio kietojo fermentinio sūrio motininio ir gamybinio raugų savybių įvertinimas

	Motininis raugas	Gamybinis 1 raugas	Gamybinis 2 raugas	Motininis raugas	Gamybinis 1 raugas	Gamybinis 2 raugas
Data	2016 01 26	2016 01 27	2016 01 28	2016 02 10	2016 02 11	2016 02 12
Rūgimo laikas	13 h	17 h	17 h	18 val.	18 val.	14 val.
Rūgštingumas	93 °T	103 °T	102 °T	90 °T	98 °T	103 °T
pH	3,50	3,60	3,58	3,78	3,63	3,58
Temperatūra	20,1 °C	20,0 °C	20,4 °C	20,0 °C	20,2 °C	20,0 °C
Mikroskopija	Lazdelių gausu, jos ištįsusios	Lazdelės įvairaus ilgio, yra diplokokų, streptokokų grandinės trumpos	Lazdelės įvairaus ilgio, bet gausiau trumpų, tepinėlis be priemaišų	Daug lazdelių, jos ilgos ir plonos	Lazdelės vidutinio ilgio	Vidutinio ilgio storos lazdelės. Matomos kokių grandinės
Raugo išvaizda	Spalva žalia, raugas skaidrus, daug nuosėdų, paviršius nesusidaręs	Raugas žalias, skaidrus, paviršius plonas, nuosėdų nedaug	Raugas žalias, skaidrus, paviršius plonas, nuosėdų nedaug	Spalva žalsvai rausva, daug nuosėdų	Paviršius plonas, daug nuosėdų, spalva žalia	Skaidrus, žalias. paviršius plonas, daug nuosėdų
Skonis	Pienarūgštis	Pienarūgštis	Pienarūgštis	Degėsių	Pienarūgštis	Švelnus pienarūgštis

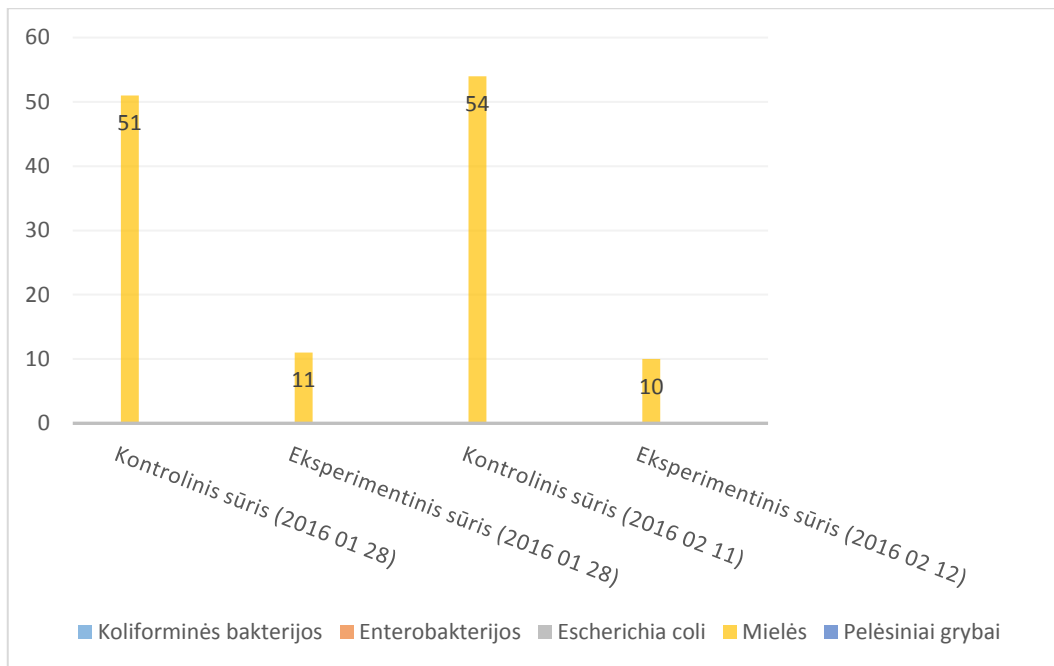
23 lentelė. Kontrolinio kietojo fermentinio sūrio motininio ir gamybinio raugų savybių įvertinimas

	Motininis raugas	Gamybinis 1 raugas	Motininis raugas	Gamybinis 1 raugas	Gamybinis 2 raugas	Gamybinis 3 raugas	Gamybinis 4 raugas
Data	2016 01 27	2016 01 28	2016 02 05	2016 02 06	2016 02 07	2016 02 09	2016 02 10
Rūgimo laikas	17 val.	14 val.	17 val.	16 val.	14 val.	15 val.	13 val.
Rūgštīgumas	94 °T	102 °T	91 °T	101 °T	104 °T	105 °T	103 °T
pH	3,50	3,48	3,50	3,49	3,47	3,47	3,48
Temperatūra	25,0 °C	24,3 °C	24,0 °C	24,6 °C	24,4 °C	24,5 °C	24,2 °C
Mikroskopija	Gausu lazdelių	Daugiausia ilgų lazdelių, kokių grandinė-lės neilgos	Lazdelės vidutinio ilgumo, ilgos streptokokų grandinė-lės	Įvairaus ilgio lazdelės, streptokokų grandinė-lės neilgos	Lazdelės trumpos, yra diplokokų, streptokokų grandinė-lės trumpos	Trumpos ir vidutinio ilgumo lazdelės, streptokokų grandinės neilgos	Lazdelės įvairaus ilgio, streptokokų grandinė-lės ilgos, yra diplokokų
Raugo išvaizda	Paviršiaus nėra, spalva žalia	Spalva žalia, paviršius šiek tiek paskilęs, putotas	Spalva žalia, paviršius nesusidaręs	Spalva žalia, paviršius lygus, paskilęs tik pakraščiuose	Raugas žalias, paviršius paskilęs, putotas	Spalva žalia, paviršius putotas, silpnai suskilęs	Paviršius putotas, paskilęs, spalva žalia
Skonis	Rūgštus, pienerūgštis	Pienerūgštis	Pienerūgštis	Pienerūgštis	Pienerūgštis	Pienerūgštis	Pienerūgštis

Tam, kad išsiaiškintume, ar išskirtos kultūros veikia antigrybiškai, buvo gaminamas eksperimentinis ir kontrolinis kietasis sūris. 2016 01 28 eksperimentinio sūrio gamyboje naudotas gamybinis 1 raugas, o 2016 02 12 gamyboje – 2. Kultūros buvo maišomos su tikruoju kontrolinio kietojo fermentinio sūrio gamybinio raugu santykiu 1:1.

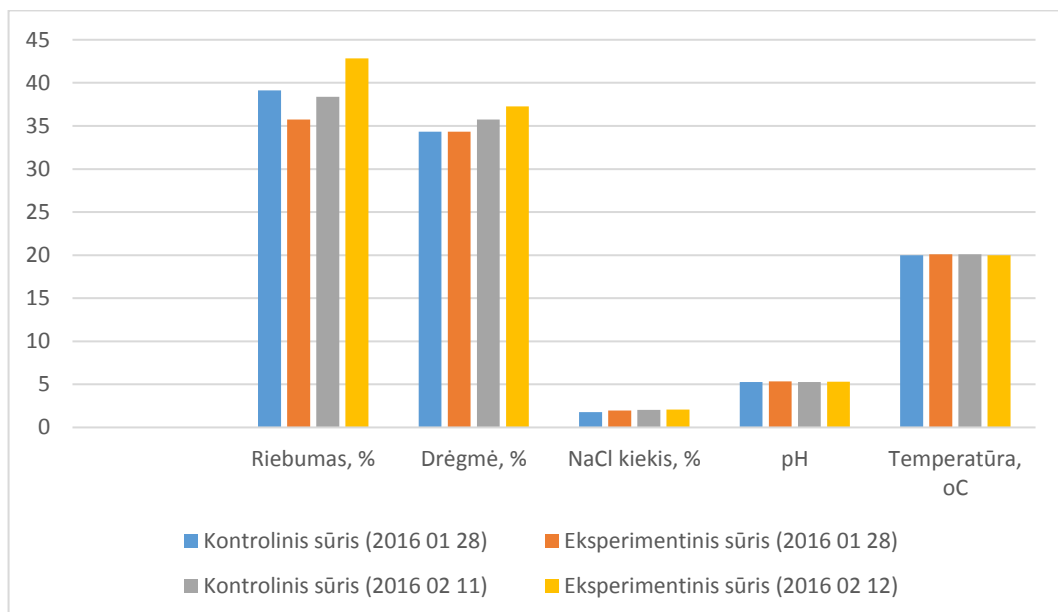
Pagal 22 lent. duomenis matome, kad bandomosioms eksperimentinių sūrių gamyboms naudoti gamybiniai raugai pasižymėjo panašiomis savybėmis kaip ir kontroliniam sūriui naudoti gamybiniai raugai.

Kietųjų fermentinių sūrių mikrobiologinių tyrimų rezultatai pateikti 8 pav., cheminių – 9 pav.



8 pav. Mikrobiologiniai kontrolinio ir eksperimentinio kietojo sūrio tyrimų rezultatai

Atlikti tyrimai parodė, kad pelėsinų grybų neaugo nei eksperimentinio, nei kontrolinio sūrio mėginiuose, tačiau kontroliniame sūryje išaugo didesnis skaičius mielių. Apie PRB bakterijų aktyvumą prieš mieles literatūroje nėra daug duomenų. Žinoma, kad kai kurios bakterijos gamina medžiagas, fungicidiškai veikiančias *Candida* spp. mieles [60]. Galima teigti, kad eksperimentiniuose sūriuose, lyginant su kontroliniais, mielių skaičiaus sumažėjimui turėjo įtakos *Lb. helveticus* kultūrų panaudojimas sūrių gamybai.



9 pav. Cheminiai kontrolinio ir eksperimentinio kietojo sūrio tyrimų rezultatai

Cheminiai tyrimų rezultatai tiek kontrolinių tiek eksperimentinių sūrių buvo labai panašūs, tik neženkliai skyrėsi sūrių riebumas, tačiau tai neturėjo įtakos gamintų sūrių kokybei.

3.3.1. Kontrolinio ir bandomojo kietojo fermentinio sūrio juslinis vertinimas

Kietieji fermentiniai sūriai buvo vertinami praėjus 6 mėnesiams po gamybos. Sūriai buvo vertinami neišnokę, todėl vertinant jusliškai į tai buvo kreipiamas dėmesys. Abiejų gamybų metu kontroliniai kietieji fermentiniai sūriai pasižymėjo neišnokusiam sūriui būdingomis savybėmis: silpnai pikantiškas kvapas, išvaizda vienalytė, spalva gelsva, mažai apveliantis burną, skonis dar neatsiskleidęs, šiek tiek guminė konsistencija. Pirmosios gamybos eksperimentinis kietasis fermentinis sūris iš dalies neatitiko išvaizdos ir juslinių savybių. Sūrio spalva blyški, skonis buvo silpnai išreikštas, jautėsi pašalinis skonis, šiek tiek guminė konsistencija. Antrosios gamybos eksperimentinis sūris taip pat iš dalies neatitiko išvaizdos ir juslinių savybių bei turėjo defektų. Kvapas neatsiskleidęs. Tačiau spalva gelsva, konsistencija labai gera, skonis švelniai pikantiškas, kas būdinga tokio tipo sūriui.

Apibendrinus rezultatus nuspręsta, kad antrosios gamybos metu gaminti eksperimentiniai sūriai pasižymėjo geresnėmis juslinėmis savybėmis, nei pirmosios gamybos metu. Tačiau, lyginant su kontroliniais sūriais, neišvengta technologinių defektų. Tam įtakos galėjo turėti tai, kad eksperimentiniai sūriai buvo gaminami pusiau gamybinėmis sąlygomis, todėl nebuvo galima griežtai prisilaikyti technologinio režimo.

IŠVADOS

1. Iš prekybos centre įsigytų savaiminių kietųjų fermentinių sūrių produktų išskirtos grynos 27 pieno rūgšties bakterijų kultūros.
2. Išskirtoms pieno rūgšties bakterijoms nustatytos biocheminės ir fiziologinės savybės. Pagal gautus rezultatus nustatyta, kad jos būdingos *Lactobacillus helveticus* ir *Lactobacillus casei*.
3. Išskirtų pieno rūgšties bakterijų kultūrų numanomos rūšys patvirtintos genetiniu (pirosekvenavimo) metodu pagal rDNR 16S geno V1, V2 ir V3 regionų sekas: 23 kultūros priskirtos *Lactobacillus helveticus*, 4 – *Lactobacillus casei*. Tolimesniam darbui atrinktos 7 *Lactobacillus helveticus* kultūros.
4. Parinktas gamybinio raugo sudarymo iš atrinktų kultūrų būdas, ruošiant raugus iš atskirų kultūrų ir sumaišant juos prieš raugimą.
5. *Lactobacillus helveticus* kultūrų panaudojimas eksperimentinių kietųjų sūrių gamyboje sumažino mielių skaičių lyginant su kontroliniais sūriais. Pirmosios ir antrosios gamybos metu mielių skaičius sumažėjo nežymiai – apie 5 kartus.
6. Apibendrinus juslinės analizės rezultatus nuspręsta, kad antrosios gamybos metu pagaminti eksperimentiniai sūriai pasižymėjo geresnėmis juslinėmis savybėmis, nei pirmosios gamybos metu. Tačiau lyginant su kontroliniais sūriais neišvengta technologinių defektų. Tam įtakos galėjo turėti tai, kad eksperimentiniai sūriai buvo gaminami pusiau gamybinėmis sąlygomis, todėl nebuvo galima griežtai prisilaikyti technologinio režimo.

PADĖKA

Nuoširdžiai dėkoju tiriamojo projekto vadovei habil. dr. Joanai Šalomskienei už darbo idėją, pagalbą bei konsultacijas rašant baigiamąjį darbą.

KTU Maisto institutui už pagalbą atliekant tyrimus.

LITERATŪROS SĄRAŠAS

1. PRODUCTION of the MAIN DAIRY PRODUCTS, 2017 [žiūrėta 2017 02 18]. Prieiga per: <https://ec.europa.eu/>
2. Global Cheese Market Expected to Reach USD 124.20 Billion by 2022: Zion Market Research, 2017 [žiūrėta 2017 03 07]. Prieiga per: <https://globenewswire.com/>
3. ZANNONI M. Evolution of the sensory characteristics of *Parmigiano – Reggiano* cheese to the present day. *Food Quality and Preference*, 21, 2010, P. 901–905. Prieiga per doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2010.01.004>
4. FENNEMA O. R., ir kt. Lactic acid bacteria. *Food science and technology a series of monographs, textbooks, and reference books*. 3rd ed. New York: Marcel Dekker, Inc.; 2004. P. 19–30. ISBN: 0-8247-5332-1.
5. BROOIJMANS R. J. W., J. HUGENHOLTZ. The electron transport chains of *Lactobacillus plantarum* WCFS1. *Applied and Environmental Microbiology*. 2009;75:3580 – 3585. ISSN 0099-2240.
6. KANANE S., Y. ARDÖ. Hydroxy acid dehydrogenase activities of cheese relevant *Lactobacillus helveticus* strains. *Dairy Science and Technology*, 2011, ISSN: 1958-5594.
7. SAVIJOKI K., H. INGMER, P. VARMANEN. Proteolytic systems of lactic acid bacteria *Applied and Environmental Microbiology*, 71: 394–406, 2000. Prieiga per doi: <https://doi.org/10.1007/s00253-006-0427-1> 2006
8. KLAENHAMMER T. R., R. BARRANGOU, B.L. BUCK, M.A. AZCARATE-PERIL, E. ALTERMANN. Genomic features of lactic acid bacteria effecting bioprocessing and health. *FEMS Microbiology Reviews*. 2005;29:393–409. Prieiga per doi: <https://doi.org/10.1016/j.femsre.2005.04.007>.
9. CARR F.J., D. CHILL, N. MAIDA. The lactic acid bacteria: A literature survey. *Journal Critical Reviews in Microbiology*., 28: 281-370. 2002, ISSN: 1040-841X.
10. POWELL I., M. C. BROOME, G. K. Y. LIMSOWTIN, Starter cultures general aspects. p.p 552-558. 2011. Prieiga per doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374407-4.00066-2>.
11. BEASLEY S. H., Isolation, identification and exploitation of lactic acid bacteria from human and animal microbiota. University of Helsinki, Finland. 2004. ISBN 952-10-2067-9.
12. *Lactobacillus plantarum*, 2015 [žiūrėta 2016 03 08]. Prieiga per: <https://fc9f1c4b-a-62cb3a1a-sites.googlegroups.com/>
13. Milk of Buryat cows can help in the treatment of nosocomial infections after transplantation, 2016 [žiūrėta 2016 10 23]. Prieiga per: <http://www.e-vesti.ru/>

14. BRIGGILER-MARCÓ M., M. L. CAPRA., A. QUIBERONI, G.VINDEROLA, J.A. REINHEIMER, E. HYNES. Nonstarter *Lactobacillus* strains as adjunct cultures for cheese making: in vitro characterization and performance in two model cheeses. *Journal of Dairy Science* 90, 4532-4542. 2007. Prieiga per doi: <https://doi.org/10.3168/jds.2007-0180>
15. WENJUN L., P. HUILI, Z. HEPING, C. YIMIN Biodiversity of Lactic Acid Bacteria. *Fundamentals and Practice*, Japan, 2014. Prieiga per doi: https://doi.org/10.1007/978-94-017-8841-0_2
16. AZHARI A. A., Beneficial role of lactic acid bacteria in food preservation and human health: A Review. *Research Journal of Microbiology* 5, 1213-1221. 2010. Prieiga per doi: <https://doi.org/10.3923/jm.2010.1213.1221>
17. POWELL I., M. C. BROOME, G. K. Y. LIMSOWTIN, Starter cultures general aspects. P. 552-558. 2011. Prieiga per doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374407-4.00066-2>
18. EL SODA M., S. AWAD. Cheese role of specific groups of bacteria. *Encyclopaedia of Food Microbiology* (Second Edition) Oxford, UK: Academic Press; P. 416–420 2014. Prieiga per doi: <https://doi.org/10.1155/2015/723056>
19. HANNON J.A., K.N. KILCAWLEY, M.G. WILKINSON, C.M. DELAHUNTY, T.P. BEREDSFORD. Flavour precursor Development in *Cheddar* cheese due to lactococcal starters and the presence and lysis of *Lactobacillus helveticus*. *International Dairy Journal*, 17, P. 316–327, 2007. Prieiga per doi: <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2006.03.001>
20. REHN U., M.A. PETERSEN, K. HALLIN SAEDÉN, Y. ARDÖ. Ripening of extra-hard cheese made with mesophilic DL-starter. *International Dairy Journal*, 20, P. 844–851, 2010. Prieiga per doi: <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2010.06.001>
21. AKKERMAN J. C., C.A.P BUIJSSE, J. SCHENK, P. WALSTRA. Drainage of curd; role of drainage equipment in relation of curd properties. *Neth Milk dairy*. Wageningen, Wageningen University 1996, 371 – 406. ISSN 0028-209X.
22. DA CRUZ G.A., F.C A. BURITI, C.H. BATISTA DE SOUZA, J.A.F. FARIA, S.M.I. SAAD Probiotic cheese: Health Benefits, technological and stability aspects. *Trends in Food Science and Technology* 20, 344-354. 2009. Prieiga per doi: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2009.05.001>
23. Homofermented products, 2011 [žiūrėta 2016 12 14]. Prieiga per: <http://www.google.com/cu/>
24. GATTI M., C. TRIVISANO, E. FABRIZI, E. NEVIANI, F. GARDINI. Biodiversity among *Lactobacillus helveticus* strains isolated from different natural whey starter cultures as revealed by classification trees. *Applied and Environmental Microbiology*. 70, 182–190. 2004. Prieiga per doi: <https://doi.org/10.1128/AEM.70.1.182-190>

25. FOX P., P. MCSWEENEY, M. TIMOTHY, G. TIMOTHY. Cheese Chemistry, *Physics and Microbiology*, 2, 58 – 60. 2004. ISBN: 978-0-12-263653-0.
26. HARRIS L.J., The Microbiology of Vegetable Fermentations. *Microbiology of Fermented Foods*, Blackie Academic and Professional, London, P. 45-72. 1998. ISBN 0203913558.
27. BATTCKOCK Mike. Fermented fruits and vegetables. A global perspective. Food and Agriculture Organization of the United Nations Rome, 1998 [žiūrēta 2016 01 25]. ISBN 92-5-104226-8
prieiga per: <http://www.fao.org/docrep/x0560e/x0560e10.htm>
28. SAVIJOKI K., H. INGMER, P. VARMANEN. Proteolytic systems of lactic acid bacteria. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 71: 394–406, 2006. Prieiga per doi: <https://doi.org/10.1007/s00253-006-0427-1>
29. LUCEY J.A. Some perspectives on the use of cheese as a food ingredient. *Dairy Science and Technology*. 88, 2008. Prieiga per doi: <https://doi.org/10.1051/dst:2008010>
30. KONIGS W. N, J. KOK, O. P. KUIPERS, B. POOLMAN. Lactic acid bacteria: the bug of the new millennium. *Current Opinion in Microbiology*,3:276–82, 2000. Prieiga per doi: [https://doi.org/10.1016/S1369-5274\(00\)00089-8](https://doi.org/10.1016/S1369-5274(00)00089-8)
31. VINDEROLA G., C. MATAR, J. PALACIOS. Mucosal immunomodulation by the non-bacterial fraction of milk fermented by *Lb. helveticus* R389. *International Journal of Food Microbiology*. 115, 180–186, 2007. Prieiga per doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2006.10.020>
32. LEROY F., L. DE VUYST. Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. *Food Science and Technology Research*. 15, 67-78. 2004. Prieiga per doi: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2003.09.004>
33. LINARES D. M., B. DEL RIO, V. LADERO, N. MARTINEZ, M. FERNANDEZ, M. C. MARTIN, M. A. ALVAREZ. Factors influencing biogenic amines accumulation in the dairy products. *Front Microbiology* 28:180.2.8, 2012. Prieiga per doi: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2012.00180>
34. LIEW S.L., A.B. ARIFF, A.R RAHA, Y.W. HO. Optimisation of medium composition for the production of a probiotic microorganism, *Lactobacillus rhamnosus*, using response surface methodology. *Food Microbiology*. 102, P. 137-147, 2005. Prieiga per doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.12.009>
35. FERNANDES R.. Dairy products. Microbiology Hand book. *Leatherhead Food International Ltd., Surrey*, Uk. 2009. ISBN: 978-1-905224-62-3.
36. LYNCH C. M., P. L. H. MCSWEENEY, P. F. FOX, T. M. COGAN, F. D. DRINAN. Contribution of starter lactococci and non-starter lactobacilli to proteolysis in

- Cheddar* cheese with a controlled microflora. *Lait* 77:441-459. 1997. Prieiga per doi: <https://doi.org/10.1051/lait:1997431>
37. SADAT-MEKMENE L., R. RICHOUX, L. AUBERTFROGERAIS, M. N. MADEC, C. CORRE, M. PIOT, J. JARDIN, S. LORTAL, V. GAGNAIRE. *Lactobacillus helveticus*: in situ proteolytic activity and stretchability of Swiss - Type Cheese. *Dairy Science and Technology*, 2011. ISSN 0022-0302.
 38. HARVEY S.A., T. COOLBEAR, C. CHAMBERS, J.R. REID, T. W. JORDAN. Investigation of the acidic and basic proteome of *Lb. helveticus*. *Dairy Science and Technology*, 2011. ISSN: 1958-5594.
 39. MENGJIN L., R. J. BAYJANOV, B. RENCKENS, A. NAUTA, R. J. SIEZEN. The proteolytic system of lactic acid bacteria revisited: a genomic comparison. *BMC Genomics* 2009. Prieiga per doi: <https://doi.org/10.1186/1471-2164-11-36>
 40. THIERRY A., F. VALENCE - BERTEL, S. DEUTSCH, E. SERGINE, H. FALENTIN. Strain-to-strain differences within lactic and propionic acid bacteria species strongly impact the properties of cheese. *Dairy Science & Technology*, 2015, 95 (6), pp.895-918. Prieiga per doi: <https://doi.org/10.1007/s13594-015-0267-9>
 41. SUZUKI I., M. NMURA, T. MORICHI. Isolation of lactic acid bacteria which suppress mold growth and show antifungal action. *Milchwissenschaft*. 1991. ISBN:46:635Z639.
 42. SADAT-MEKMENE L., M. GENAY. Original features of cell-envelope proteinases of *Lactobacillus helveticus*. *International journal of food microbiology* 146(1):1- 2011. ISSN 0168-1605.
 43. GEMECHU T. Review on lactic acid bacteria function in milk fermentation and preservation, *African journal of Food Science*, 2015. ISSN: 1996-0794
 44. TROPICHEVA R., D. NIKOLOVA, Y. EVSTATIEVA, S. DANOVA. Antifungal activity and identification of Lactobacilli, isolated from traditional dairy product “katak”. *Anaerobe*, 28, P. 78–84, 2014. Prieiga per doi: <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2014.05.010>
 45. STILES J., S. PENKAR, M. PLOCKOVA, J. CHUMCHALOVA, L. B. BULLERMAN. Antifungal activity of sodium acetate and *Lactobacillus rhamnosus*. *Trends in Food Science and Technology* 16(1–3):70-78, 2005. Prieiga per doi: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2004.02.01>
 46. SCHNURER J., J. MAGNUSSON. Antifungal lactic acid bacteria as biopreservatives. *Trends in Food Science and Technology* 16(1Z3):70Z78. 2005. Prieiga per doi: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2004.02.014>
 47. MAGNUSSON J. Antifungal activity of lactic acid bacteria. Uppsala Agraria, 2003. ISBN 91-576-6405-6.

48. MOON N. J. Inhibition of the growth of acid tolerant yeasts by acetate, lactate and propionate, and their synergistic mixtures. *Journal of Applied Bacteriology*, 55, 453–460. 1983. Prieiga per doi: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1983.tb01685>
49. GERBALDO G. A., C. BARBERIS, L. PASCUAL, A. DALCERO, L. BARBERIS. Antifungal activity of two *Lactobacillus* strains with potential probiotic properties. *FEMS Microbiol Letters*. 332 (1): 27-33, 2012. Prieiga per doi: <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2012>
50. ŠALOMSKIENĖ J., A. ABRAITIENĖ, D. JONKUVIENĖ, I. MAČIONIENĖ, J. REPEČKIENĖ. Selection of enhanced antimicrobial activity posing lactic acid bacteria characterised by (GTG)₅-PCR fingerprinting, *Journal of Food Science and Technology*, 2015. Prieiga per doi: <https://doi.org/10.1007/s13197-014-1512-6>
51. LST ISO 7889:2005 Jogurtas. Būdingų mikroorganizmų skaičiavimas. Kolonijų skaičiaus nustatymas 37 °C temperatūroje (tapatus ISO 7889:2003).
52. ŠALOMSKIENĖ J., I. MAČIONIENĖ. Mikrobiologinės kontrolės instrukcija pieno perdirbimo įmonėms. Antrasis atnaujintas ir papildytas leidimas. KTU Maisto institutas, 2004. 201 psl. 4.17 p. ISBN 9955-9586-5-0.
53. Identification of Some Strains of *Lactobacillus* Based on API 50 CHL Tests (by Biomerieux), 2005 [žiūrėta 2017 01 23]. Prieiga per: <http://wenku.baidu.com/>
54. Банникова Л.А. Селекция молочнокислых бактерий и их применение в молочной промышленности. М.: Пищевая промышленность. 1975. 255 с.
55. GUDONIS A., *Pieno ir pieno produktų technologija. Vadovėlis*, Kaunas: Technologija, 2002. ISBN 9955 – 09 – 230 – 0.
56. LST EN ISO 707:2008 Pienas ir pieno gaminiai. Mėginių ėmimo nurodymai (ISO).
57. LST EN ISO 5534:2004/P:2007 Sūris ir lydytas sūris. Visuminio sausųjų medžiagų kiekio nustatymas (pamatinis metodas).
58. ISO 22935-2:2009 Milk and milk products - Sensory analysis - Part 2: Recommended methods for sensory evaluation.
59. ISO 22935-3:2009 Milk and milk products - Sensory analysis - Part 3: Guidance on a method for evaluation of compliance with product specifications for sensory properties by scoring.
60. NYANZI R., S. DANIEL, S. SHUPING, P. J. JOOSTE, J. N. ELOFF. Antibacterial and Antioxidant Activity of Extracts from Selected Probiotic Bacteria. *Journal of Food Research*; 4, No. 5; 2015. ISSN 1927-0887.

PRIEDAI

1 priedas

Angliavandenių skaidymo rezultatai

10.2 lentelė. PR1/2 (vertinimas po 48 h)

0	'	0
GLY	'	1
ERY	'	2
DARA	'	3
LARA	'	4
RIB	'	5
DXYL	'	6
LXYL	'	7
ADO	'	8
MDX	'	9
GAL	+	10
GLU	+	11
FRU	+	12
MNE	+	13
SBE	'	14
RHA	'	15
DUL	'	16
INO	'	17
MAN	+	18
SOR	'	19
MDM	'	20
MDG	'	21
NAG	+	22
AMY	+	23
ARB	+	24
ESC	+	25
SAL	+	26
CEL	+	27
MAL	'	28
LAC	+	29
MEL	'	30
SAC	+	31
TRE	+	32
INU	'	33
MLZ	+	34
RAF	'	35
AMD	'	36
GLYG	'	37
XLT	'	38
GEN	+	39
TUR	'	40
LYX	'	41
TAG	+	42
DFUC	'	43
LFUC	'	44
DARL	'	45
LARL	'	46
GNT	'	47
2KG	'	48
5KG	'	49

10.3 lentelė. PR1/3 (vertinimas po 48 h)

0	'	0
GLY	'	1
ERY	'	2
DARA	'	3
LARA	'	4
RIB	'	5
DXYL	'	6
LXYL	'	7
ADO	'	8
MDX	'	9
GAL	+	10
GLU	+	11
FRU	+	12
MNE	+	13
SBE	'	14
RHA	'	15
DUL	'	16
INO	'	17
MAN	+	18
SOR	'	19
MDM	'	20
MDG	'	21
NAG	+	22
AMY	+	23
ARB	+	24
ESC	+	25
SAL	+	26
CEL	+	27
MAL	'	28
LAC	+	29
MEL	'	30
SAC	'	31
TRE	+	32
INU	'	33
MLZ	+	34
RAF	'	35
AMD	'	36
GLYG	'	37
XLT	'	38
GEN	+	39
TUR	'	40
LYX	'	41
TAG	+	42
DFUC	'	43
LFUC	'	44
DARL	'	45
LARL	'	46
GNT	+	47
2KG	'	48
5KG	'	49

10.4 lentelē. PR1/4 (vertinimas po 48 h)

0	'	0
GLY	'	1
ERY	'	2
DARA	'	3
LARA	'	4
RIB	'	5
DXYL	'	6
LXYL	'	7
ADO	'	8
MDX	'	9
GAL	+	10
GLU	+	11
FRU	+	12
MNE	+	13
SBE	'	14
RHA	'	15
DUL	'	16
INO	'	17
MAN	+	18
SOR	'	19
MDM	'	20
MDG	'	21
NAG	+	22
AMY	+	23
ARB	+	24
ESC	+	25
SAL	+	26
CEL	+	27
MAL	'	28
LAC	+	29
MEL	'	30
SAC	'	31
TRE	+	32
INU	'	33
MILZ	+	34
RAF	'	35
AMD	'	36
GLYG	'	37
XLT	'	38
GEN	+	39
TUR	'	40
LYX	'	41
TAG	+	42
DFUC	'	43
LFUC	'	44
DARL	'	45
LARL	'	46
GNT	'	47
2KG	'	48
5KG	'	49

10.5 lentelē. PR1/5 (vertinimas po 48 h)

0	'	0
GLY	'	1
ERY	'	2
DARA	'	3
LARA	'	4
RIB	'	5
DXYL	'	6
LXYL	'	7
ADO	'	8
MDX	'	9
GAL	+	10
GLU	+	11
FRU	+	12
MNE	+	13
SBE	'	14
RHA	'	15
DUL	'	16
INO	'	17
MAN	+	18
SOR	+	19
MDM	'	20
MDG	'	21
NAG	+	22
AMY	+	23
ARB	+	24
ESC	+	25
SAL	+	26
CEL	+	27
MAL	'	28
LAC	+	29
MEL	'	30
SAC	'	31
TRE	+	32
INU	'	33
MILZ	+	34
RAF	'	35
AMD	'	36
GLYG	'	37
XLT	'	38
GEN	'	39
TUR	'	40
LYX	'	41
TAG	+	42
DFUC	'	43
LFUC	'	44
DARL	'	45
LARL	'	46
GNT	?	47
2KG	'	48
5KG	'	49

10.6 lentelē. PR2/1 (vertinimas po 48 h)

0	'	0
GLY	'	1
ERY	'	2
DARA	'	3
LARA	'	4
RIB	'	5
DXYL	'	6
LXYL	'	7
ADO	'	8
MDX	'	9
GAL	+	10
GLU	?	11
FRU	'	12
MNE	?	13
SBE	'	14
RHA	'	15
DUL	'	16
INO	'	17
MAN	'	18
SOR	'	19
MDM	'	20
MDG	'	21
NAG	'	22
AMY	'	23
ARB	'	24
ESC	'	25
SAL	'	26
CEL	'	27
MAL	'	28
LAC	'	29
MEL	'	30
SAC	+	31
TRE	'	32
INU	'	33
MILZ	'	34
RAF	'	35
AMD	'	36
GLYG	'	37
XLT	'	38
GEN	'	39
TUR	'	40
LYX	'	41
TAG	'	42
DFUC	'	43
LFUC	'	44
DARL	'	45
LARL	'	46
GNT	'	47
2KG	'	48
5KG	'	49

10.7 lentelė. PR2/2 (vertinimas po 48 h)

0	'	0
GLY	'	1
ERY	'	2
DARA	'	3
LARA	'	4
RIB	'	5
DXYL	'	6
LXYL	'	7
ADO	'	8
MDX	'	9
GAL	'	10
GLU	'	11
FRU	'	12
MNE	'	13
SBE	'	14
RHA	'	15
DUL	'	16
INO	'	17
MAN	'	18
SOR	'	19
MDM	'	20
MDG	'	21
NAG	'	22
AMY	'	23
ARB	'	24
ESC	'	25
SAL	'	26
CEL	'	27
MAL	'	28
LAC	'	29
MEL	'	30
SAC	'	31
TRE	'	32
INU	'	33
MLZ	'	34
RAF	'	35
AMD	'	36
GLYG	'	37
XLT	'	38
GEN	'	39
TUR	'	40
LYX	'	41
TAG	'	42
DFUC	'	43
LFUC	'	44
DARL	'	45
LARL	'	46
GNT	'	47
2KG	'	48
5KG	'	49

10.8 lentelė. PR2/3 (vertinimas po 48 h)

0	'	0
GLY	'	1
ERY	'	2
DARA	'	3
LARA	'	4
RIB	'	5
DXYL	'	6
LXYL	'	7
ADO	'	8
MDX	'	9
GAL	'	10
GLU	'	11
FRU	'	12
MNE	'	13
SBE	'	14
RHA	'	15
DUL	'	16
INO	'	17
MAN	'	18
SOR	'	19
MDM	'	20
MDG	'	21
NAG	'	22
AMY	'	23
ARB	'	24
ESC	'	25
SAL	'	26
CEL	'	27
MAL	'	28
LAC	'	29
MEL	'	30
SAC	'	31
TRE	'	32
INU	'	33
MLZ	'	34
RAF	'	35
AMD	'	36
GLYG	'	37
XLT	'	38
GEN	'	39
TUR	'	40
LYX	'	41
TAG	'	42
DFUC	'	43
LFUC	'	44
DARL	'	45
LARL	'	46
GNT	'	47
2KG	'	48
5KG	'	49

10.9 lentelė. PR2/4 (vertinimas po 48 h)

0	'	0
GLY	'	1
ERY	'	2
DARA	'	3
LARA	'	4
RIB	'	5
DXYL	'	6
LXYL	'	7
ADO	'	8
MDX	'	9
GAL	'	10
GLU	'	11
FRU	'	12
MNE	'	13
SBE	'	14
RHA	'	15
DUL	'	16
INO	'	17
MAN	'	18
SOR	'	19
MDM	'	20
MDG	'	21
NAG	'	22
AMY	'	23
ARB	'	24
ESC	'	25
SAL	'	26
CEL	'	27
MAL	'	28
LAC	'	29
MEL	'	30
SAC	'	31
TRE	'	32
INU	'	33
MLZ	'	34
RAF	'	35
AMD	'	36
GLYG	'	37
XLT	'	38
GEN	'	39
TUR	'	40
LYX	'	41
TAG	'	42
DFUC	'	43
LFUC	'	44
DARL	'	45
LARL	'	46
GNT	'	47
2KG	'	48
5KG	'	49

10.10 lentelē. PR2/5 (vertinimas po 48 h)

0	'	0
GLY	'	1
ERY	'	2
DARA	'	3
LARA	'	4
RIB	'	5
DXYL	'	6
LXYL	'	7
ADO	'	8
MDX	'	9
GAL	+	10
GLU	~	11
FRU	'	12
MNE	~	13
SBE	'	14
RHA	'	15
DUL	'	16
INO	'	17
MAN	'	18
SOR	'	19
MDM	'	20
MDG	'	21
NAG	'	22
AMY	'	23
ARB	'	24
ESC	'	25
SAL	'	26
CEL	'	27
MAL	'	28
LAC	'	29
MEL	'	30
SAC	'	31
TRE	'	32
INU	'	33
MILZ	'	34
RAF	~	35
AMD	~	36
GLYG	'	37
XLT	'	38
GEN	'	39
TUR	'	40
LYX	'	41
TAG	'	42
DFUC	'	43
LFUC	'	44
DARL	'	45
LARL	'	46
GNT	'	47
2KG	'	48
5KG	'	49

10.11 lentelē. GP3/1 (vertinimas po 48 h)

0	'	0
GLY	'	1
ERY	'	2
DARA	'	3
LARA	'	4
RIB	'	5
DXYL	'	6
LXYL	'	7
ADO	'	8
MDX	'	9
GAL	+	10
GLU	+	11
FRU	~	12
MNE	+	13
SBE	'	14
RHA	'	15
DUL	'	16
INO	'	17
MAN	'	18
SOR	'	19
MDM	'	20
MDG	'	21
NAG	'	22
AMY	'	23
ARB	'	24
ESC	+	25
SAL	'	26
CEL	'	27
MAL	'	28
LAC	+	29
MEL	'	30
SAC	'	31
TRE	'	32
INU	'	33
MILZ	'	34
RAF	'	35
AMD	'	36
GLYG	'	37
XLT	'	38
GEN	'	39
TUR	'	40
LYX	'	41
TAG	'	42
DFUC	'	43
LFUC	'	44
DARL	'	45
LARL	'	46
GNT	'	47
2KG	'	48
5KG	'	49

10.12 lentelē. GP3/2 (vertinimas po 48 h)

0	'	0
GLY	'	1
ERY	'	2
DARA	'	3
LARA	'	4
RIB	'	5
DXYL	'	6
LXYL	'	7
ADO	'	8
MDX	'	9
GAL	+	10
GLU	+	11
FRU	+	12
MNE	+	13
SBE	'	14
RHA	'	15
DUL	'	16
INO	'	17
MAN	'	18
SOR	'	19
MDM	'	20
MDG	'	21
NAG	'	22
AMY	'	23
ARB	'	24
ESC	+	25
SAL	'	26
CEL	'	27
MAL	'	28
LAC	'	29
MEL	'	30
SAC	+	31
TRE	'	32
INU	'	33
MILZ	'	34
RAF	'	35
AMD	'	36
GLYG	'	37
XLT	'	38
GEN	'	39
TUR	'	40
LYX	'	41
TAG	'	42
DFUC	'	43
LFUC	'	44
DARL	'	45
LARL	'	46
GNT	'	47
2KG	'	48
5KG	'	49

10.13 lentelē. GP3/3 (vertinimas po 48 h)

0	'	0
GLY	'	1
ERY	'	2
DARA	'	3
LARA	'	4
RIB	'	5
DXYL	'	6
LXYL	'	7
ADO	'	8
MDX	'	9
GAL	+	10
GLU	+	11
FRU	~	12
MNE	~	13
SBE	'	14
RHA	'	15
DUL	'	16
INO	'	17
MAN	'	18
SOR	'	19
MDM	'	20
MDG	'	21
NAG	'	22
AMY	'	23
ARB	'	24
ESC	+	25
SAL	'	26
CEL	'	27
MAL	+	28
LAC	+	29
MEL	'	30
SAC	+	31
TRE	'	32
INU	'	33
MILZ	'	34
RAF	'	35
AMD	'	36
GLYG	'	37
XLT	'	38
GEN	'	39
TUR	'	40
LYX	'	41
TAG	'	42
DFUC	'	43
LFUC	'	44
DARL	'	45
LARL	'	46
GNT	'	47
2KG	'	48
5KG	'	49

10.14 lentelē. GP3/4 (vertinimas po 48 h)

0	'	0
GLY	'	1
ERY	'	2
DARA	'	3
LARA	'	4
RIB	~	5
DXYL	'	6
LXYL	'	7
ADO	'	8
MDX	'	9
GAL	+	10
GLU	+	11
FRU	+	12
MNE	+	13
SBE	'	14
RHA	'	15
DUL	'	16
INO	'	17
MAN	'	18
SOR	'	19
MDM	'	20
MDG	'	21
NAG	'	22
AMY	'	23
ARB	'	24
ESC	+	25
SAL	'	26
CEL	'	27
MAL	'	28
LAC	+	29
MEL	'	30
SAC	'	31
TRE	'	32
INU	'	33
MILZ	'	34
RAF	'	35
AMD	'	36
GLYG	'	37
XLT	'	38
GEN	'	39
TUR	'	40
LYX	'	41
TAG	'	42
DFUC	'	43
LFUC	'	44
DARL	'	45
LARL	'	46
GNT	'	47
2KG	'	48
5KG	'	49

10.15 lentelē. GP3/5 (vertinimas po 48 h)

0	'	0
GLY	'	1
ERY	'	2
DARA	'	3
LARA	'	4
RIB	'	5
DXYL	'	6
LXYL	'	7
ADO	'	8
MDX	'	9
GAL	+	10
GLU	+	11
FRU	+	12
MNE	+	13
SBE	'	14
RHA	'	15
DUL	'	16
INO	'	17
MAN	'	18
SOR	'	19
MDM	'	20
MDG	'	21
NAG	~	22
AMY	'	23
ARB	'	24
ESC	'	25
SAL	'	26
CEL	'	27
MAL	'	28
LAC	+	29
MEL	'	30
SAC	'	31
TRE	'	32
INU	'	33
MILZ	'	34
RAF	'	35
AMD	'	36
GLYG	'	37
XLT	'	38
GEN	'	39
TUR	'	40
LYX	'	41
TAG	'	42
DFUC	'	43
LFUC	'	44
DARL	'	45
LARL	'	46
GNT	'	47
2KG	'	48
5KG	'	49

10.16 lentelē. GP3/6 (vertinimas po 48 h)

0	'	0
GLY	'	1
ERY	'	2
DARA	'	3
LARA	'	4
RIB	'	5
DXYL	'	6
LXYL	'	7
ADO	'	8
MDX	'	9
GAL	+	10
GLU	+	11
FRU	+	12
MNE	+	13
SBE	'	14
RHA	'	15
DUL	'	16
INO	'	17
MAN	'	18
SOR	'	19
MDM	'	20
MDG	'	21
NAG	'	22
AMY	'	23
ARB	'	24
ESC	'	25
SAL	'	26
CEL	'	27
MAL	'	28
LAC	+	29
MEL	'	30
SAC	+	31
TRE	'	32
INU	'	33
MLZ	'	34
RAF	'	35
AMD	'	36
GLYG	'	37
XLT	'	38
GEN	'	39
TUR	'	40
LYX	'	41
TAG	'	42
DFUC	'	43
LFUC	'	44
DARL	'	45
LARL	'	46
GNT	'	47
2KG	'	48
5KG	'	49

10.17 lentelē. GP3/7 (vertinimas po 48 h)

0	'	0
GLY	'	1
ERY	'	2
DARA	'	3
LARA	'	4
RIB	'	5
DXYL	'	6
LXYL	'	7
ADO	'	8
MDX	'	9
GAL	+	10
GLU	+	11
FRU	+	12
MNE	+	13
SBE	'	14
RHA	'	15
DUL	'	16
INO	'	17
MAN	'	18
SOR	'	19
MDM	'	20
MDG	'	21
NAG	~	22
AMY	'	23
ARB	'	24
ESC	+	25
SAL	'	26
CEL	~	27
MAL	'	28
LAC	+	29
MEL	'	30
SAC	+	31
TRE	~	32
INU	'	33
MLZ	'	34
RAF	'	35
AMD	'	36
GLYG	'	37
XLT	'	38
GEN	'	39
TUR	'	40
LYX	'	41
TAG	'	42
DFUC	'	43
LFUC	'	44
DARL	'	45
LARL	'	46
GNT	'	47
2KG	'	48
5KG	'	49

10.18 lentelē. GP3/8 (vertinimas po 48 h)

0	'	0
GLY	'	1
ERY	'	2
DARA	'	3
LARA	'	4
RIB	'	5
DXYL	'	6
LXYL	'	7
ADO	'	8
MDX	'	9
GAL	+	10
GLU	+	11
FRU	+	12
MNE	+	13
SBE	'	14
RHA	'	15
DUL	'	16
INO	'	17
MAN	'	18
SOR	'	19
MDM	'	20
MDG	'	21
NAG	~	22
AMY	'	23
ARB	'	24
ESC	'	25
SAL	'	26
CEL	'	27
MAL	'	28
LAC	+	29
MEL	'	30
SAC	+	31
TRE	'	32
INU	'	33
MLZ	'	34
RAF	'	35
AMD	'	36
GLYG	'	37
XLT	'	38
GEN	'	39
TUR	'	40
LYX	'	41
TAG	'	42
DFUC	'	43
LFUC	'	44
DARL	'	45
LARL	'	46
GNT	'	47
2KG	'	48
5KG	'	49

10.19 lentelė. GP3/9 (vertinimas po 48 h)

0	'	0
GLY	'	1
ERY	'	2
DARA	'	3
LARA	'	4
RIB	'	5
DXYL	'	6
LXYL	'	7
ADO	'	8
MDX	'	9
GAL	+	10
GLU	+	11
FRU	+	12
MNE	+	13
SBE	'	14
RHA	'	15
DUL	'	16
INO	'	17
MAN	'	18
SOR	'	19
MDM	'	20
MDG	'	21
NAG	'	22
AMY	'	23
ARB	'	24
ESC	+	25
SAL	'	26
CEL	~	27
MAL	'	28
LAC	+	29
MEL	'	30
SAC	+	31
TRE	~	32
INU	'	33
MILZ	'	34
RAF	'	35
AMD	'	36
GLYG	'	37
XLT	'	38
GEN	'	39
TUR	'	40
LYX	'	41
TAG	'	42
DFUC	'	43
LFUC	'	44
DARL	'	45
LARL	'	46
GNT	'	47
2KG	'	48
5KG	'	49

10.20 lentelė. GP3/10 (vertinimas po 48 h)

0	'	0
GLY	'	1
ERY	'	2
DARA	'	3
LARA	'	4
RIB	'	5
DXYL	'	6
LXYL	'	7
ADO	'	8
MDX	'	9
GAL	+	10
GLU	+	11
FRU	+	12
MNE	+	13
SBE	'	14
RHA	'	15
DUL	'	16
INO	'	17
MAN	'	18
SOR	'	19
MDM	'	20
MDG	'	21
NAG	+	22
AMY	'	23
ARB	'	24
ESC	+	25
SAL	'	26
CEL	~	27
MAL	'	28
LAC	+	29
MEL	'	30
SAC	+	31
TRE	'	32
INU	'	33
MILZ	'	34
RAF	'	35
AMD	'	36
GLYG	'	37
XLT	'	38
GEN	'	39
TUR	'	40
LYX	'	41
TAG	'	42
DFUC	'	43
LFUC	'	44
DARL	'	45
LARL	'	46
GNT	'	47
2KG	'	48
5KG	'	49

10.21 lentelė. TM4/1 (vertinimas po 48 h)

0	'	0
GLY	'	1
ERY	'	2
DARA	'	3
LARA	'	4
RIB	'	5
DXYL	'	6
LXYL	'	7
ADO	'	8
MDX	'	9
GAL	+	10
GLU	+	11
FRU	+	12
MNE	+	13
SBE	'	14
RHA	'	15
DUL	'	16
INO	'	17
MAN	'	18
SOR	'	19
MDM	'	20
MDG	'	21
NAG	+	22
AMY	'	23
ARB	'	24
ESC	'	25
SAL	'	26
CEL	'	27
MAL	+	28
LAC	+	29
MEL	'	30
SAC	'	31
TRE	+	32
INU	'	33
MILZ	'	34
RAF	'	35
AMD	'	36
GLYG	'	37
XLT	'	38
GEN	'	39
TUR	'	40
LYX	'	41
TAG	'	42
DFUC	'	43
LFUC	'	44
DARL	'	45
LARL	'	46
GNT	'	47
2KG	'	48
5KG	'	49

10.22 lentelė. TM4/2 (vertinimas po 48 h)

0	'	0
GLY	'	1
ERY	'	2
DARA	'	3
LARA	'	4
RIB	'	5
DXYL	'	6
LXYL	'	7
ADO	'	8
MDX	'	9
GAL	+	10
GLU	+	11
FRU	+	12
MNE	+	13
SBE	'	14
RHA	'	15
DUL	'	16
INO	'	17
MAN	'	18
SOR	'	19
MDM	'	20
MDG	'	21
NAG	~	22
AMY	'	23
ARB	'	24
ESC	+	25
SAL	'	26
CEL	'	27
MAL	'	28
LAC	+	29
MEL	'	30
SAC	+	31
TRE	+	32
INU	'	33
MILZ	'	34
RAF	'	35
AMD	~	36
GLYG	~	37
XLT	'	38
GEN	'	39
TUR	'	40
LYX	'	41
TAG	'	42
DFUC	'	43
LFUC	'	44
DARL	'	45
LARL	'	46
GNT	'	47
2KG	'	48
5KG	'	49

10.23 lentelė. TM4/3 (vertinimas po 48 h)

0	'	0
GLY	'	1
ERY	'	2
DARA	'	3
LARA	'	4
RIB	'	5
DXYL	'	6
LXYL	'	7
ADO	'	8
MDX	'	9
GAL	+	10
GLU	+	11
FRU	+	12
MNE	+	13
SBE	'	14
RHA	'	15
DUL	'	16
INO	'	17
MAN	'	18
SOR	'	19
MDM	'	20
MDG	'	21
NAG	~	22
AMY	'	23
ARB	'	24
ESC	+	25
SAL	'	26
CEL	'	27
MAL	'	28
LAC	+	29
MEL	'	30
SAC	'	31
TRE	+	32
INU	'	33
MILZ	'	34
RAF	'	35
AMD	'	36
GLYG	~	37
XLT	'	38
GEN	'	39
TUR	'	40
LYX	'	41
TAG	'	42
DFUC	'	43
LFUC	'	44
DARL	'	45
LARL	'	46
GNT	'	47
2KG	'	48
5KG	'	49

10.24 lentelė. TM4/4 (vertinimas po 48 h)

0	'	0
GLY	'	1
ERY	'	2
DARA	'	3
LARA	'	4
RIB	'	5
DXYL	'	6
LXYL	'	7
ADO	'	8
MDX	'	9
GAL	+	10
GLU	+	11
FRU	+	12
MNE	+	13
SBE	'	14
RHA	'	15
DUL	'	16
INO	'	17
MAN	'	18
SOR	'	19
MDM	'	20
MDG	'	21
NAG	+	22
AMY	'	23
ARB	'	24
ESC	+	25
SAL	'	26
CEL	'	27
MAL	'	28
LAC	~	29
MEL	'	30
SAC	+	31
TRE	+	32
INU	'	33
MILZ	'	34
RAF	'	35
AMD	'	36
GLYG	'	37
XLT	'	38
GEN	'	39
TUR	'	40
LYX	'	41
TAG	'	42
DFUC	'	43
LFUC	'	44
DARL	'	45
LARL	'	46
GNT	'	47
2KG	'	48
5KG	'	49

10.25 lentelė. TM4/5 (vertinimas po 48 h)

0	'	0
GLY	'	1
ERY	'	2
DARA	'	3
LARA	'	4
RIB	'	5
DXYL	'	6
LXYL	'	7
ADO	'	8
MDX	'	9
GAL	+	10
GLU	+	11
FRU	+	12
MNE	+	13
SBE	'	14
RHA	'	15
DUL	'	16
INO	'	17
MAN	'	18
SOR	'	19
MDM	'	20
MDG	'	21
NAG	+	22
AMY	+	23
ARB	'	24
ESC	+	25
SAL	'	26
CEL	'	27
MAL	~	28
LAC	+	29
MEL	'	30
SAC	'	31
TRE	+	32
INU	'	33
MLZ	'	34
RAF	'	35
AMD	'	36
GLYG	'	37
XLT	'	38
GEN	'	39
TUR	'	40
LYX	'	41
TAG	'	42
DFUC	'	43
LFUC	'	44
DARL	'	45
LARL	'	46
GNT	'	47
2KG	'	48
5KG	'	49

10.26 lentelė. TM4/6 (vertinimas po 48 h)

0	'	0
GLY	'	1
ERY	'	2
DARA	'	3
LARA	'	4
RIB	'	5
DXYL	'	6
LXYL	'	7
ADO	'	8
MDX	'	9
GAL	+	10
GLU	+	11
FRU	+	12
MNE	+	13
SBE	'	14
RHA	'	15
DUL	'	16
INO	'	17
MAN	'	18
SOR	'	19
MDM	'	20
MDG	'	21
NAG	+	22
AMY	'	23
ARB	'	24
ESC	+	25
SAL	'	26
CEL	'	27
MAL	~	28
LAC	+	29
MEL	'	30
SAC	'	31
TRE	+	32
INU	'	33
MLZ	'	34
RAF	'	35
AMD	'	36
GLYG	'	37
XLT	'	38
GEN	'	39
TUR	'	40
LYX	'	41
TAG	'	42
DFUC	'	43
LFUC	'	44
DARL	'	45
LARL	'	46
GNT	'	47
2KG	'	48
5KG	'	49

10.27 lentelė. TM4/7 (vertinimas po 48 h)

0	'	0
GLY	'	1
ERY	'	2
DARA	'	3
LARA	'	4
RIB	'	5
DXYL	'	6
LXYL	'	7
ADO	'	8
MDX	'	9
GAL	+	10
GLU	+	11
FRU	+	12
MNE	+	13
SBE	'	14
RHA	'	15
DUL	'	16
INO	'	17
MAN	'	18
SOR	~	19
MDM	'	20
MDG	'	21
NAG	+	22
AMY	'	23
ARB	'	24
ESC	+	25
SAL	'	26
CEL	'	27
MAL	~	28
LAC	+	29
MEL	'	30
SAC	+	31
TRE	+	32
INU	'	33
MLZ	'	34
RAF	'	35
AMD	~	36
GLYG	'	37
XLT	'	38
GEN	~	39
TUR	'	40
LYX	'	41
TAG	'	42
DFUC	'	43
LFUC	'	44
DARL	'	45
LARL	'	46
GNT	'	47
2KG	'	48
5KG	'	49

2 priedas

PADERMĖS PASAS Nr. PR1/1

Grupė *Bacillus*
Gentis *Lactobacillus*
Rūšis *Lactobacillus helveticus*

Iš kur buvo išskirta:

Substratas PR1

Genotipas:

Pradmuo	16S rDNR geno sekos	Padermės Nr. NCBI banke
V1	CGCGTCCCCAGCGTCATTACCGAAGTAAATCTGCTGG	NR_075047.1
V2	GTGACTTTCTGGTTGATTACCGTCAAATAAAGGCCAGTTAC	KC166236.1
V3	GTCTTAGCGTCCCCGAAGGGAAGTCTCTAATCTCTTAGGA	NR_075047.1

Mikroorganizmo rūšis pagal 16S geno regionus	Bakterijų banko pateikti parametrai				Identifikuotas mikroorganizmas
	Max score	Query cover, %	E value	Max ident, %	
V1: <i>Lb. helveticus</i>	73.8	100	4e-11	100	<i>Lactobacillus helveticus</i>
V2: <i>L. acidophilus</i>	81.8	100	2e-13	100	
V3: <i>Lb. helveticus</i>	77.8	100	3e-12	100	

Auginimo terpės Pienas, MRS ir kt.

Auginimo temperatūra 37 – 45 °C

Auginimo trukmė 18 – 24 h

Specifiniai poreikiai Fakultatyvinis anaerobas

Saugojimo sąlygos 4 – 6 °C, minus 70 – 75 °C

Morfologinės ypatybės Lazdelės, paprastai taisyklingos formos, kartais ilgos, kartais panašios į kokus.

Fiziologinės ypatybės ir fizikinės cheminės savybės:

Dažymas Gramo būdu gramteigiamos lazdelės

Augimo temperatūra, °C

Optimali 37– 45 °C

Ribinė -

Augimas piene temperatūroje, °C

15 neauga

45 auga

Augimas MRS sultinyje, turinčiame NaCl, %

2 auga

3 auga

4 auga

6,5 auga

CO₂ susidarymas iš gliukozės nesudaro

Angliavandenių skaidymas (savybės nustatytos *bioMerieux* API 50 CH testais):

0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
▪	▪	▪	▪	▪	▪	▪	▪	▪	▪	▪	▪	•?	▪	▪	▪	▪	▪	▪	▪	▪	▪	▪	▪	▪	▪
GLY	ERY	DARA	LARA	RIB	DXYL	LXYL	ADO	MDX	GAL	GLU	FRU	MNE	SBE	RHA	DUL	INO	MAN	SOR	MDM	MDG	NAG	AMY	ARB	ESC	

26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	
▪	•?	▪	▪	▪	+	•?	▪	▪	▪	▪	▪	▪	+	▪	▪	▪	▪	▪	▪	▪	▪	▪	▪	▪
SAL	CEL	MAL	LAC	MEL	SAC	TRE	INU	MLZ	RAF	AMD	GLYG	XLT	GEN	TUR	LYX	TAG	DFUC	LFUC	DARL	LARL	GNT	2KG	5KG	

Juslinis įvertinimas:

skonis ir aromatas Grynas, pienarūgštis, rūgštus

konsistencija Tvirta

Taikomoji paskirtis Kietųjų sūrių gamybai

PADERMĖS PASAS Nr. PR1/4

Grupė *Bacillus*
Gentis *Lactobacillus*
Rūšis *Lactobacillus helveticus*

Iš kur buvo išskirta:

Substratas PR1

Genotipas:

Pradmuo	16S rDNR geno sekos	Padermės Nr. NCBI banke
V1	CCGTCCCCAGCGTCATTACCGAAGTAATCTCTGG	JN620212.1
V2	GTGACTTTGCTGGTTGATTGACCGTCAATAAAGGCCAGTTAC	HM058673.1
V3	GTCTTAGCGTCCCCGAAGGGAAGTCTCTAATCTCTTAGGA	NR_075047.1

Mikroorganizmo rūšis pagal 16S geno regionus	Bakterijų banko pateikti parametrai				Identifikuotas mikroorganizmas
	Max score	Query cover, %	E value	Max ident, %	
V1: <i>Lb. helveticus</i>	54.0	79	1e-07	100	<i>Lactobacillus helveticus</i>
V2: <i>Lb. helveticus</i>	46.1	100	5e-05	93	
V3: <i>Lb. helveticus</i>	77.8	100	1e-14	100	

Auginimo terpės Pienas, MRS ir kt.

Auginimo temperatūra 37 – 45 °C

Auginimo trukmė 18 – 24 h

Specifiniai poreikiai Fakultatyvinis anaerobas

Saugojimo sąlygos 4 – 6 °C, minus 70 – 75 °C

Morfologinės ypatybės Lazdelės, paprastai taisyklingos formos, kartais ilgos, kartais panašios į kokus.

Fiziologinės ypatybės ir fizikinės cheminės savybės:

Dažymas Gramo būdu gramteigiamos lazdelės

Augimo temperatūra, °C

Optimali 37– 45 °C

Ribinė -

Augimas piene temperatūroje, °C

15 neauga

45 auga

Augimas MRS sultinyje, turinčiame NaCl, %

2 auga

3 neauga

4 neauga

6,5 neauga

CO₂ susidarymas iš gliukozės nesudaro

Angliavandenių skaidymas (savybės nustatytos *bioMerieux* API 50 CH testais):

0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
▪	▪	▪	▪	▪	▪	▪	▪	▪	▪	+	?	▪	?	▪	▪	▪	▪	▪	▪	▪	▪	▪	▪	▪	▪
0	GLY	ERY	DARA	LARA	RIB	DXYL	LXYL	ADO	MDX	GAL	GLU	FRU	MNE	SBE	RHA	DUL	INO	MAN	SOR	MDM	MDG	NAG	AMY	ARB	ESC

26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	
▪	▪	▪	▪	▪	+	▪	▪	▪	▪	▪	▪	▪	▪	▪	▪	▪	▪	▪	▪	▪	▪	▪	▪	▪
SAL	CEL	MAL	LAC	MEL	SAC	TRE	INU	MILZ	RAF	AMD	GLYG	XLT	GEN	TUR	LYX	TAG	DFUC	LFUC	DARL	LARL	GNT	2KG	5KG	

Juslinis įvertinimas:

skonis ir aromatas Grynas, pienarūgštis, rūgštus

konsistencija Tvirta

Taikomoji paskirtis Kietųjų sūrių gamybai

PADERMĒS PASAS Nr. PR2/1

Grupē *Bacillus*
Gentis *Lactobacillus*
Rūšis *Lactobacillus helveticus*

Iš kur buvo išskirta:

Substratas PR2

Genotipas:

Pradmuo	16S rDNR geno sekos	Padermės Nr. NCBI banke
V1	CCGTCCCCAGCGTCATTACCGAAGTAATCTCTGG	JN620212.1
V2	GTGACTTTGCTGGTTGATTGACCGTCAATAAAGGCCAGTTAC	HM058673.1
V3	GTCTTAGCGTCCCCGAAGGGAACCTCTAATCTCTTAGGA	NR_075047.1

Mikroorganizmo rūšis pagal 16S geno regionus	Bakterijų banko pateikti parametrai				Identifikuotas mikroorganizmas
	Max score	Query cover, %	E value	Max ident, %	
V1: <i>Lb. helveticus</i>	54.0	79	1e-07	100	<i>Lactobacillus helveticus</i>
V2: <i>Lb. helveticus</i>	46.1	100	5e-05	93	
V3: <i>Lb. helveticus</i>	77.8	100	1e-14	100	

Auginimo terpės Pienas, MRS ir kt.

Auginimo temperatūra 37 – 45 °C

Auginimo trukmė 18 – 24 h

Specifiniai poreikiai Fakultatyvinis anaerobas

Saugojimo sąlygos 4 – 6 °C, minus 70 – 75 °C

Morfologinės ypatybės Lazdelės, paprastai taisyklingos formos, kartais ilgos, kartais panašios į kokus.

Fiziologinės ypatybės ir fizikinės cheminės savybės:

Dažymas Gramo būdu gramteigiamos lazdelės

Augimo temperatūra, °C

Optimali 37– 45 °C

Ribinė -

Augimas piene temperatūroje, °C

15 neauga

45 auga

Augimas MRS sultinyje, turinčiame NaCl, %

2 auga

3 neauga

4 neauga

6,5 neauga

CO₂ susidarymas iš gliukozės nesudaro

Angliavandenių skaidymas (savybės nustatytos *bioMerieux* API 50 CH testais):

0	GLY	ERY	DARA	LARA	RIB	DXYL	LXYL	ADO	MDX	GAL	GLU	FRU	MNE	SBE	RHA	DUL	INO	MAN	SOR	MDM	MDG	NAG	AMY	ARB	ESC
0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
	'	'	'	'	'	'	'	'	'	+	~	'	~	'	'	'	'	'	'	'	'	'	'	'	'

SAL	CEL	MAL	LAC	MEL	SAC	TRE	INU	MILZ	RAF	AMD	GLYG	XLT	GEN	TUR	LYX	TAG	DFUC	LFUC	DARL	LARL	GNT	2KG	5KG	
26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	
'	'	'	'	'	+	'	'	'	'	'	'	'	'	'	'	'	'	'	'	'	'	'	'	'

Juslinis įvertinimas:

skonis ir aromatas Grynas, pienarūgštis, rūgštus

konsistencija Tvirta

Taikomoji paskirtis Kietųjų sūrių gamybai

PADERMĒS PASAS Nr. PR2/2

Grupē *Bacillus*
Gentis *Lactobacillus*
Rūšis *Lactobacillus helveticus*

Iš kur buvo išskirta:

Substratas PR2

Genotipas:

Pradmuo	16S rDNR geno sekos	Padermės Nr. NCBI banke
V1	CGCGTCCCCAGCGTCATTACCGAAGTAAATCTGCTGG	NR_075047.1
V2	GTGACTTTCTGGTTGATTACCGTCAAATAAAGGCCAGTTAC	KC166236.1
V3	GTCTTAGCGTCCCCGAAGGGAAACTCCTAATCTCTTTAGGA	NR_075047.1

Mikroorganizmo rūšis pagal 16S geno regionus	Bakterijų banko pateikti parametrai				Identifikuotas mikroorganizmas
	Max score	Query cover, %	E value	Max ident, %	
V1: <i>Lb. helveticus</i>	73.8	100	2e-13	100	<i>Lactobacillus helveticus</i>
V2: <i>L. acidophilus</i>	81.8	100	8e-16	100	
V3: <i>Lb. helveticus</i>	56.0	87	5e-08	97	

Auginimo terpės Pienas, MRS ir kt.

Auginimo temperatūra 37 – 45 °C

Auginimo trukmė 18 – 24 h

Specifiniai poreikiai Fakultatyvinis anaerobas

Saugojimo sąlygos 4 – 6 °C, minus 70 – 75 °C

Morfologinės ypatybės Lazdelės, paprastai taisyklingos formos, kartais ilgos, kartais panašios į kokus.

Fiziologinės ypatybės ir fizikinės cheminės savybės:

Dažymas Gramo būdu gramteigiamos lazdelės

Augimo temperatūra, °C

Optimali 37– 45 °C

Ribinė -

Augimas piene temperatūroje, °C

15 neauga

45 auga

Augimas MRS sultinyje, turinčiame NaCl, %

2 auga

3 auga

4 neauga

6,5 neauga

CO₂ susidarymas iš gliukozės nesudaro

Angliavandenių skaidymas (savybės nustatytos *bioMerieux* API 50 CH testais):

0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
▪	▪	▪	▪	▪	••	▪	▪	▪	▪	+	+	+	+	▪	▪	▪	▪	▪	▪	▪	▪	▪	▪	▪	+
GLY	ERY	DARA	LARA	RIB	DXYL	LXYL	ADO	MDX	GAL	GLU	FRU	MNE	SBE	RHA	DUL	INO	MAN	SOR	MDM	MDG	NAG	AMY	ARB	ESC	

26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	
▪	▪	▪	+	▪	▪	▪	▪	▪	▪	▪	▪	▪	▪	▪	▪	▪	▪	▪	▪	▪	▪	▪	▪	▪
SAL	CEL	MAL	LAC	MEL	SAC	TRE	INU	MILZ	RAF	AMD	GLYG	XLT	GEN	TUR	LYX	TAG	DFUC	LFUC	DARL	LARL	GNT	2KG	5KG	

Juslinis įvertinimas:

skonis ir aromatas Grynas, pienarūgštis, rūgštus

konsistencija Tvirta

Taikomoji paskirtis Kietųjų sūrių gamybai

PADERMĒS PASAS Nr. GP3/4

Grupē *Bacillus*
 Gentis *Lactobacillus*
 Rūšis *Lactobacillus helveticus*

Iš kur buvo išskirta:

Substratas GP3

Genotipas:

Pradmuo	16S rDNR geno sekos	Padermės Nr. NCBI banke
V1	CGCGTCCCCAGCGTCATTACCGAAGTAAATCTGCTGGG	DQ123572.1
V2	GTGACTTTGCTGGTTGATTGACCGTCAATAAAGGCCAGTTAC	HM058673.1
V3	GTCTTAGCGTCCCCGAAGGGAACCTCTAATCTCTTAGGA	NR_075047.1

Mikroorganizmo rūšis pagal 16S geno regionus	Bakterijų banko pateikti parametrai				Identifikuotas mikroorganizmas
	Max score	Query cover, %	E value	Max ident, %	
V1: <i>Lb. helveticus</i>	75.8	100	4e-14	100	<i>Lactobacillus helveticus</i>
V2: <i>Lb. helveticus</i>	46.1	100	5e-05	93	
V3: <i>Lb. helveticus</i>	77.8	100	1e-14	100	

Auginimo terpės Pienas, MRS ir kt.

Auginimo temperatūra 37 – 45 °C

Auginimo trukmė 18 – 24 h

Specifiniai poreikiai Fakultatyvinis anaerobas

Saugojimo sąlygos 4 – 6 °C, minus 70 – 75 °C

Morfologinės ypatybės Lazdelės, paprastai taisyklingos formos, kartais ilgos, kartais panašios į kokus.

Fiziologinės ypatybės ir fizikinės cheminės savybės:

Dažymas Gramo būdu gramteigiamos lazdelės

Augimo temperatūra, °C

Optimali 37– 45 °C

Ribinė -

Augimas piene temperatūroje, °C

15 neauga

45 auga

Augimas MRS sultinyje, turinčiame NaCl, %

2 auga

3 auga

4 neauga

6,5 neauga

CO₂ susidarymas iš gliukozės nesudaro

Angliavandenių skaidymas (savybės nustatytos *bioMerieux* API 50 CH testais):

0	▪	0
GLY	▪	1
ERY	▪	2
DARA	▪	3
LARA	▪	4
RIB	▪	5
DXYL	▪	6
LXYL	▪	7
ADO	▪	8
MDX	▪	9
GAL	+	10
GLU	+	11
FRU	+	12
MNE	+	13
SBE	▪	14
RHA	▪	15
DUL	▪	16
INO	▪	17
MAN	▪	18
SOR	▪	19
MDM	▪	20
MDG	▪	21
NAG	+	22
AMY	▪	23
ARB	▪	24
ESC	+	25

SAL	▪	26
CEL	•	27
MAL	▪	28
LAC	+	29
MEL	▪	30
SAC	+	31
TRE	▪	32
INU	▪	33
MILZ	▪	34
RAF	▪	35
AMD	▪	36
GLYG	▪	37
XLT	▪	38
GEN	▪	39
TUR	▪	40
LYX	▪	41
TAG	▪	42
DFUC	▪	43
LFUC	▪	44
DARL	▪	45
LARL	▪	46
GNT	▪	47
2KG	▪	48
5KG	▪	49

Juslinis įvertinimas:

skonis ir aromatas Grynas, pienarūgštis, rūgštus

konsistencija Tvirta

Taikomoji paskirtis Kietųjų sūrių gamybai

PADERMĖS PASAS Nr. GP3/10

Grupė *Bacillus*
 Gentis *Lactobacillus*
 Rūšis *Lactobacillus helveticus*

Iš kur buvo išskirta:

Substratas GP3

Genotipas:

Pradmuo	16S rDNR geno sekos	Padermės Nr. NCBI banke
V1	CGCGTCCCCAGCGTCATTACCGAAGTAAATCATGCTGG	NR_075047.1
V2	GTGACTTTCTGGTTGATTACCGTCAAATAAAGGCCAGTTAC	KC166236.1
V3	GTCTTAGCGTCCCCGAAGGGAACCTCTAATCTCTTAGGA	NR_075047.1

Mikroorganizmo rūšis pagal 16S geno regionus	Bakterijų banko pateikti parametrai				Identifikuotas mikroorganizmas
	Max score	Query cover, %	E value	Max ident, %	
V1: <i>Lb. helveticus</i>	61.9	81	7e-10	100	<i>Lactobacillus helveticus</i>
V2: <i>Lb. acidophilus</i>	81.8	100	8e-16	100	
V3: <i>Lb. helveticus</i>	77.8	100	1e-14	100	

Auginimo terpės Pienas, MRS ir kt.

Auginimo temperatūra 37 – 45 °C

Auginimo trukmė 18 – 24 h Specifiniai poreikiai Fakultatyvinis anaerobas

Saugojimo sąlygos 4 – 6 °C, minus 70 – 75 °C

Morfologinės ypatybės Lazdelės, paprastai taisyklingos formos, kartais ilgos, kartais panašios į kokus.

Fiziologinės ypatybės ir fizikinės cheminės savybės:

Dažymas Gramo būdu gramteigiamos lazdelės

Augimo temperatūra, °C

Optimali 37– 45 °C

Ribinė -

Augimas piene temperatūroje, °C

15 neauga

45 auga

Augimas MRS sultinyje, turinčiame NaCl, %

2 auga

3 auga

4 auga

6,5 neauga

CO₂ susidarymas iš gliukozės nesudaro

Angliavandenių skaidymas (savybės nustatytos *bioMerieux* API 50 CH testais):

0	0	•	0
GLY	1	•	1
ERY	2	•	2
DARA	3	•	3
LARA	4	•	4
RIB	5	•	5
DXYL	6	•	6
LXYL	7	•	7
ADO	8	•	8
MDX	9	•	9
GAL	10	+	10
GLU	11	+	11
FRU	12	+	12
MNE	13	+	13
SBE	14	•	14
RHA	15	•	15
DUL	16	•	16
INO	17	•	17
MAN	18	•	18
SOR	19	•	19
MDM	20	•	20
MDG	21	•	21
NAG	22	•?	22
AMY	23	•	23
ARB	24	•	24
ESC	25	+	25

SAL	26	•	26
CEL	27	•	27
MAL	28	•	28
LAC	29	+	29
MEL	30	•	30
SAC	31	+	31
TRE	32	+	32
INU	33	•	33
MLZ	34	•	34
RAF	35	•	35
AMD	36	•?	36
GLYG	37	•?	37
XLT	38	•	38
GEN	39	•	39
TUR	40	•	40
LYX	41	•	41
TAG	42	•	42
DFUC	43	•	43
LFUC	44	•	44
DARL	45	•	45
LARL	46	•	46
GNT	47	•	47
2KG	48	•	48
5KG	49	•	49

Juslinis įvertinimas:

skonis ir aromatas Grynas, pienarūgštis, rūgštus

konsistencija Tvirta

Taikomoji paskirtis Kietųjų sūrių gamybai

PADERMĒS PASAS Nr. TM4/2

Grupē *Bacillus*
Gentis *Lactobacillus*
Rūšis *Lactobacillus helveticus*

Iš kur buvo išskirta:

Substratas TM4

Genotipas:

Pradmuo	16S rDNR geno sekos	Padermės Nr. NCBI banke
V1	CGCGTCCCCAGCGTCATTACCGAAGTAAATCTGCTGG	NR_075047.1
V2	GTGACTTTCTGGTTGATTACCGTCAAATAAAGGCCAGTTAC	KC166236.1
V3	GTCTTAGCGTCCCCGAAGGGAACCTCTAATCTCTTAGGA	NR_075047.1

Mikroorganizmo rūšis pagal 16S geno regionus	Bakterijų banko pateikti parametrai				Identifikuotas mikroorganizmas
	Max score	Query cover, %	E value	Max ident, %	
V1: <i>Lb. helveticus</i>	73.8	100	2e-13	100	<i>Lactobacillus helveticus</i>
V2: <i>Lb. acidophilus</i>	81.8	100	8e-16	100	
V3: <i>Lb. helveticus</i>	77.8	100	1e-14	100	

Auginimo terpės Pienas, MRS ir kt.

Auginimo temperatūra 37 – 45 °C

Auginimo trukmė 18 – 24 h

Specifiniai poreikiai Fakultatyvinis anaerobas

Saugojimo sąlygos 4 – 6 °C, minus 70 – 75 °C

Morfologinės ypatybės Lazdelės, paprastai taisyklingos formos, kartais ilgos, kartais panašios į kokus.

Fiziologinės ypatybės ir fizikinės cheminės savybės:

Dažymas Gramo būdu gramteigiamos lazdelės

Augimo temperatūra, °C

Optimali 37– 45 °C

Ribinė -

Augimas piene temperatūroje, °C

15 neauga

45 auga

Augimas MRS sultinyje, turinčiame NaCl, %

2 auga

3 auga

4 neauga*

6,5 neauga

* po išskyrimo augo, neaugo po išlaikymo 1 m 3 mėn minus 70 – 75 °C temperatūroje.

CO₂ susidarymas iš gliukozės nesudaro

Angliavandenių skaidymas (savybės nustatytos *bioMerieux* API 50 CH testais):

0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
▪	▪	▪	▪	▪	▪	▪	▪	▪	▪	+	+	+	+	▪	▪	▪	▪	▪	▪	▪	▪	+	▪	▪	+
0	GLY	ERY	DARA	LARA	RIB	DXYL	LXYL	ADO	MDX	GAL	GLU	FRU	MNE	SBE	RHA	DUL	INO	MAN	SOR	MDM	MDG	NAG	AMY	ARB	ESC

26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	
▪	▪	▪	•	▪	+	+	▪	▪	▪	▪	▪	▪	▪	▪	▪	▪	▪	▪	▪	▪	▪	▪	▪	▪
SAL	CEL	MAL	LAC	MEL	SAC	TRE	INU	MLZ	RAF	AMD	GLYG	XLT	GEN	TUR	LYX	TAG	DFUC	LFUC	DARL	LARL	GNT	2KG	5KG	

Juslinis įvertinimas:

skonis ir aromatas Grynas, pienarūgštis, rūgštus

konsistencija Tvirta

Taikomoji paskirtis Kietųjų sūrių gamybai

PADERMĒS PASAS Nr. TM4/4

Grupē *Bacillus*
 Gentis *Lactobacillus*
 Rūšis *Lactobacillus helveticus*

Iš kur buvo išskirta:

Substratas TM4

Genotipas:

Pradmuo	16S rDNR geno sekos	Padermės Nr. NCBI banke
V1	CGCGTCCCCAGCGTCATTACCGAAGTAAATCTGCTGG	NR_075047.1
V2	GTGACTTTCTGGTTGATTACCGTCAAATAAAGGCCAGTTAC	KC166236.1
V3	GTCTTAGCGTCCCCGAAGGGAACCTCTAATCTCTTAGGA	NR_075047.1

Mikroorganizmo rūšis pagal 16S geno regionus	Bakterijų banko pateikti parametrai				Identifikuotas mikroorganizmas
	Max score	Query cover, %	E value	Max ident, %	
V1: <i>Lb. helveticus</i>	73.8	100	2e-13	100	<i>Lactobacillus helveticus</i>
V2: <i>L. acidophilus</i>	81.8	100	8e-16	100	
V3: <i>Lb. helveticus</i>	77.8	100	1e-14	100	

Auginimo terpės Pienas, MRS ir kt.

Auginimo temperatūra 37 – 45 °C

Auginimo trukmė 18 – 24 h

Specifiniai poreikiai Fakultatyvinis anaerobas

Saugojimo sąlygos 4 – 6 °C, minus 70 – 75 °C

Morfologinės ypatybės Lazdelės, paprastai taisyklingos formos, kartais ilgos, kartais panašios į kokus.

Fiziologinės ypatybės ir fizikinės cheminės savybės:

Dažymas Gramo būdu gramteigiamos lazdelės

Augimo temperatūra, °C

Optimali 37– 45 °C

Ribinė -

Augimas piene temperatūroje, °C

15 neauga

45 auga

Augimas MRS sultinyje, turinčiame NaCl, %

2 auga

3 auga

4 neauga*

6,5 neauga

* po išskyrimo augo, neaugo po išlaikymo 1 m 3 mėn minus 70 – 75 °C temperatūroje.

CO₂ susidarymas iš gliukozės nesudaro

Angliavandenių skaidymas (savybės nustatytos *bioMerieux* API 50 CH testais):

0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
▪	▪	▪	▪	▪	▪	▪	▪	▪	▪	+	+	+	+	▪	▪	▪	▪	▪	▪	▪	▪	+	▪	▪	+
0	GLY	ERY	DARA	LARA	RIB	DXYL	LXYL	ADO	MDX	GAL	GLU	FRU	MNE	SBE	RHA	DUL	INO	MAN	SOR	MDM	MDG	NAG	AMY	ARB	ESC

26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	
▪	▪	▪	?	▪	+	+	▪	▪	▪	▪	▪	▪	▪	▪	▪	▪	▪	▪	▪	▪	▪	▪	▪	▪
SAL	CEL	MAL	LAC	MEL	SAC	TRE	INU	MLZ	RAF	AMD	GLYG	XLT	GEN	TUR	LYX	TAG	DFUC	LFUC	DARL	LARL	GNT	2KG	5KG	

Juslinis įvertinimas:

skonis ir aromatas Grynas, pienarūgštis, rūgštus

konsistencija Tvirta

Taikomoji paskirtis Kietųjų sūrių gamybai