

KAUNO TECHNOLOGIJOS UNIVERSITETAS

VIKTORIJA EISINAITĖ

INOVATYVIOS PIGMENTŲ ĮKAPSULIAVIMO  
IR STABILIZAVIMO PRIEMONĖS MĖSOS  
GAMINIAMS

Daktaro disertacija  
Technologijos mokslai, chemijos inžinerija (05T)

2017, Kaunas

Disertacija rengta 2013–2017 metais Kauno technologijos universiteto Cheminės technologijos fakulteto Maisto mokslo ir technologijos katedroje. Dalis tyrimų atlikta Vageningeno universiteto Maisto procesų inžinerijos grupėje (Nyderlandai). Mokslinius tyrimus rėmė Lietuvos mokslo taryba.

**Mokslinė vadovė:**

Doc. dr. Ina JASUTIENĖ (Kauno technologijos universitetas, technologijos mokslai, chemijos inžinerija, 05T)

Interneto svetainės, kurioje skelbiama disertacija, adresas:

<http://ktu.edu>

Redagavo:

Inga Nanartonytė (leidykla „Technologija“)

© V. Eisinaitė, 2017

ISBN **xxxx-xxxx**

Leidinio bibliografinė informacija pateikiama Lietuvos nacionalinės Martyno Mažvydo bibliotekos Nacionalinės bibliografijos duomenų banke (NBDB).



	<b>TURINYS</b>	
SANTRUMPOS .....		6
ĮVADAS .....		8
1. LITERATŪROS APŽVALGA .....		11
1.1. Natūralūs priedai mėsos gaminiuose .....		11
1.2. Dvigubosios V-A-V emulsijos kaip potenciali pigmentų įkapsuliavimo technologija .....		13
1.2.1. Dvigubųjų V-A-V emulsijų charakterizavimas .....		14
1.2.2. Skirtingų gamybos būdų įtaka dvigubųjų V-A-V emulsijų savybėms .....		15
1.2.3. Stambiamolekulių junginių rūšies įtaka dvigubųjų emulsijų stabilumui ir įkapsuliavimo efektyvumui .....		17
1.2.4. Osmosinio slėgio, lipofilinio emulsiklio ir tarpfazių sudėties įtaka emulsijų stabilumui .....		20
1.2.5. Dvigubosios emulsijos kaip potenciali riebalų mažinimo priemonė ir jų panaudojimas mėsos sistemose .....		21
1.3. Nitratų ir nitritų funkcinės savybės mėsoje .....		22
1.3.1. Mioglobino pokyčiai ir nitratų (nitritų) redukcija mėsos fermentacijos metu .....		23
1.3.2. Mikroorganizmų vaidmuo nitratų redukcijos procese .....		25
1.3.3. Nitratų (nitritų) kiekio mažinimas mėsoje .....		25
1.4. Proteolitiniai pokyčiai mėsos fermentacijos ir brandinimo metu .....		27
1.5. Literatūros apžvalgos apibendrinimas .....		29
2. DARBO METODIKA .....		30
2.1. Tyrimams naudotos medžiagos .....		30
2.2. Tyrimų objektai .....		33
2.2.1. Burokėlių sulčių paruošimas ir stabilumo įvertinimas .....		33
2.2.2. Pirminių V-A emulsijų paruošimas .....		33
2.2.3. Dvigubųjų emulsijų, stabilizuotų skirtingos koncentracijos IBI ir KMC tirpalais, gamyba dvipakopės homogenizacijos būdu .....		33
2.2.4. Dvigubųjų emulsijų su įkapsuliuotomis burokėlių sultimis gamyba modifikuoto membraninio emulsavimo būdu .....		34

2.2.5. Mėsos sistemų su dvigubųjų emulsijų priedu paruošimas.....	36
2.2.6. Liofilizuotų lapkotinių salierų, pastarnokų, porų paruošimas ir charakterizavimas .....	36
2.2.7. Fermentuojamų mėsos sistemų paruošimas.....	37
2.2.8. Šaltai rūkytų dešrų su skirtingais liofilizuotų daržovių produktais paruošimas .....	38
2.3. Tyrimų metodai .....	40
2.3.1. Dvigubųjų emulsijų, stabilizuotų skirtingais stambiamolekuliais junginiais, charakterizavimas .....	40
2.3.2. Dvigubųjų emulsijų su įkapsuliuotomis burokėlių sultimis, paruoštų skirtingais homogenizavimo būdais, charakterizavimas .....	41
2.3.3. Paviršiaus įtempio matavimas ir V-A tarpfazio savybių charakterizavimas ..	42
2.3.4. Mėsos sistemų, kuriose gyvūniniai riebalai pakeisti dvigubųjų emulsijų priedu, charakterizavimas .....	43
2.3.5. Fermentuojamų mėsos sistemų ir šaltai rūkytų dešrų charakterizavimas .....	44
2.4. Statistinė analizė .....	48
3. TYRIMO REZULTATAI.....	49
3.1. Natūralių pigmentų įkapsuliuojimas dvigubojoje V-A-V emulsijoje .....	49
3.1.1. Gamtinių ir modifikuotų gamtinių emulsiklių rūšies įtaka dvigubųjų V-A-V emulsijų savybėms.....	49
3.1.2. Gamybos būdo įtaka dvigubųjų V-A-V emulsijų su įkapsuliuotomis burokėlių sultimis savybėms ir įkapsuliuojimo efektyvumui.....	52
3.1.3. Dvigubųjų emulsijų stabilumo priklausomybė nuo osmosinio slėgio, lipofilinio emulsiklio ir V-A tarpfazio sudėties.....	59
3.2. Mėsos sistemų su dvigubųjų V-A-V emulsijų priedu charakterizavimas.....	64
3.3. Nitratų iš liofilizuotų daržovių įtaka mėsos fermentacijai.....	68
3.3.1. Nitratų iš liofilizuotų daržovių įtaka mėsos sistemų saugai jų fermentacijos metu .....	69
3.3.2. Nitratų iš liofilizuotų daržovių įtaka mioglobino formų kitimui ir jo poveikis mėsos spalvai mėsos sistemų fermentacijos metu .....	76
3.4. Nitratų iš liofilizuotų daržovių įtaka šaltai rūkytų dešrų kokybei ir saugai.....	81

3.4.1. Nitratų iš liofilizuotų daržovių įtaka šaltai rūkytų dešrų saugai technologinio proceso metu.....	82
3.4.2. Nitratų iš liofilizuotų daržovių įtaka mioglobino formų kitimui ir jo poveikis mėsos spalvai šaltai rūkytose dešrose technologinio proceso metu .....	90
3.4.3. Nitratų iš liofilizuotų daržovių įtaka šaltai rūkytų dešrų kokybei .....	94
IŠVADOS.....	98
LITERATŪRA .....	100
MOKSLINIŲ PUBLIKACIJŲ DISERTACIJOS TEMA SĄRAŠAS .....	113
PRIEDAS .....	117

## SANTRUMPOS

A-V – aliejus-vanduo; įprastinė emulsija, kurioje vanduo emulguotas aliejuje;  
DE – dviguboji emulsija;  
DE-IBI-7 – 7 % riebumo mėsos sistema su dvigubosios emulsijos, stabilizuotos IBI, priedu;  
DE-IBI-11 – 11 % riebumo mėsos sistema su dvigubosios emulsijos, stabilizuotos IBI, priedu;  
DE-KMC-7 – 7 % riebumo mėsos sistema su dvigubosios emulsijos, stabilizuotos KMC, priedu;  
DE-KMC-11 – 11 % riebumo mėsos sistema su dvigubosios emulsijos, stabilizuotos KMC, priedu;  
DE-ME-7 – 7 % riebumo mėsos sistema su dvigubosios emulsijos su įkapsuliuotomis burokėlių sultimis, paruoštos modifikuota membraninio emulsavimo sistema, priedu;  
DE-ME-11 – 11 % riebumo mėsos sistema su dvigubosios emulsijos su įkapsuliuotomis burokėlių sultimis, paruoštos modifikuota membraninio emulsavimo sistema, priedu;  
DE-RS-7 – 7 % riebumo mėsos sistema su dvigubosios emulsijos su įkapsuliuotomis burokėlių sultimis, paruoštos rotorine-statorine sistema, priedu;  
DE-RS-11 – 11 % riebumo mėsos sistema su dvigubosios emulsijos su įkapsuliuotomis burokėlių sultimis, paruoštos rotorine-statorine sistema, priedu;  
D-KNO2-X – kontrolinė dešra su 150 mg/kg pridėtinio nitrito, fermentuota *S. xylosum*;  
D-KNO2-XP – kontrolinė dešra su 150 mg/kg pridėtinio nitrito, fermentuota *S. xylosum* ir *P. pentosaceus* mišiniu;  
D-KNO3-X – kontrolinė dešra su 150 mg/kg pridėtinio nitrato, fermentuota *S. xylosum*;  
D-KNO3-XP – kontrolinė dešra su 150 mg/kg pridėtinio nitrato, fermentuota *S. xylosum* ir *P. pentosaceus* mišiniu;  
D-SLap-X – dešra su liofilizuotais lapkotiniais salierais, fermentuota *S. xylosum*;  
D-SLap-XP – dešra su liofilizuotais lapkotiniais salierais, fermentuota *S. xylosum* ir *P. pentosaceus* mišiniu;  
IBI – išrūgų baltymų izoliatas;  
K – kontrolinė mėsos sistema, fermentuota be pridėtinių startinių kultūrų;  
K-7 – kontrolinė mėsos sistema su 7 % kiaulienos lašinių;  
K-11 – kontrolinė mėsos sistema su 11 % kiaulienos lašinių;  
K-C – kontrolinė mėsos sistema, fermentuota *Staphylococcus carnosus*;  
KMC – karboksimetilceliuliozė;  
KT – kiaušinio trynys;  
K-X – kontrolinė mėsos sistema, fermentuota *Staphylococcus xylosum*;  
Pas-C – mėsos sistema su liofilizuotais pastarnokais, fermentuota *S. carnosus*;  
Pas-X – mėsos sistema su liofilizuotais pastarnokais, fermentuota *S. xylosum*;  
PGPR – poliglicerolio poliricinoleatas;

Por-C – mėsos sistema su liofilizuotais porais, fermentuota *S. carnosus*;  
Por-X – mėsos sistema su liofilizuotais porais, fermentuota *S. xyloso*;  
SLap-C – mėsos sistema su liofilizuotais lapkotiniais salierais, fermentuota *S. carnosus*;  
SLap-X – mėsos sistema su liofilizuotais lapkotiniais salierais, fermentuota *S. xyloso*;  
SSul-C – mėsos sistema su liofilizuotomis lapkotinių salierių sultimis, fermentuota *S. carnosus*;  
SSul-X – mėsos sistema su liofilizuotomis lapkotinių salierių sultimis, fermentuota *S. xyloso*;  
V-A – vanduo-aliejus; įprastinė emulsija, kurioje aliejus emulguotas vandenyje;  
V-A-V – vanduo-aliejus-vanduo; dviguboji emulsija, kurioje maži vandens lašeliai pasiskirstę aliejaus lašelių viduje, o šie disperguoti tolydinėje vandens fazėje.



## IVADAS

Pastarąjį dešimtmetį pasaulyje didėja mėsos suvartojimas. Nepaisant to, 2012 metais Europos Sąjungoje atlikta apklausa parodė, kad vartotojams mėsos sektorius atrodo mažiausiai patikimas iš visų maisto produktų sektorių. Manoma, kad tai lėmė mėsos gaminių siejimas su širdies, kraujagyslių ir vėžinėmis ligomis. Daugelio su mėsos gaminiiais susijusių neigiamų asociacijų būtų galima išvengti sumažinant nesveikų sudedamųjų dalių, pvz., sintetinių maisto priedų, kiekį ar pakeičiant juos natūraliais junginiais. Vieni pagrindinių junginių, kuriuos norima pakeisti, yra konservantas ir mėsos spalvos stabilizatorius nitritas ir sintetiniai maistiniai dažikliai. Nitritai yra siejami su kancerogeninių N-nitrozo junginių susidarymu, o sintetiniai dažikliai gali sukelti alergijas, pasižymi neigiamu poveikiu vaikų elgesiui. Šių junginių naudojimas maisto produktuose yra griežtai reglamentuojamas. Būtent todėl pastaruju metu padaugėjo tyrimų, kuriuose mėsos produktai ruošiami su natūraliais augaliniais komponentais, tokie gaminiai gali būti charakterizuojami kaip turintys „švarią etiketę“.

Viena pagrindinių sąlygų modifikuojant produktų sudėtį yra ta, kad naujas komponentas turi pasižymėti analogiškomis technologinėmis ir funkcinėmis savybėmis ir nepabloginti esamo produkto saugos ir kokybės. Daržovės jau nuo seno žinomos kaip nitratai, pigmentai, skaidulų ir bioaktyviųjų junginių šaltiniai. Daržovės, jų ekstraktai gali būti naudojami kaip antioksidacinės ar antimikrobinės medžiagos. Tokios medžiagos yra saugesnės nei sintetiniai jų analogai. Tačiau iš daržovių išskirti ir sukonzentruoti bioaktyvieji junginiai gali pasižymėti mažesniu stabilumu, turėti pašalinį kvapą, skonį ar spalvą ir dėl to daryti neigiamą įtaką gaminio kokybei.

Žinoma, kad sintetiniai raudonos spalvos dažikliai gali būti pakeičiami natūraliu pigmentu betaninu, kuris išskiriamas iš burokėlių (*Beta vulgaris*). Tačiau šis pigmentas yra labai jautrus aplinkos ir technologinio proceso veiksniams. Todėl jo panaudojimas mėsos produktuose tampa labai ribotas. Siekiant to išvengti ieškoma pigmentų apsaugos ar stabilizavimo būdų. Vienas jų yra įkapsuliavimas. Perspektyvia įkapsuliavimo matrica laikomos dvigubosios emulsijos, kurios gali būti naudojamos ne tik bioaktyviems junginiams įkapsuliuoti, bet ir riebalų kiekiui mažinti bei riebalų rūgščių sudėčiai mėsos produktuose keisti. Dėl dviejų tarpfazių, kurie turi būti stabilizuojami, šių emulsijų stabilizavimas ir įkapsuliavimo efektyvumo didinimas vis dar išlieka nemenku iššūkiu mokslininkams.

Kaip alternatyva mėsos produktuose naudojamam sintetiniam konservantui ir spalvos stabilizatoriui nitritui gali būti naudojamos didelį nitratai kiekį sukaupiančios daržovės, pvz., salierai, porai, pastarnokai ir petražolės. Literatūroje nurodoma, kad salierių koncentratai ir ekstraktai buvo sėkmingai panaudoti karštai rūkytų kumpių ir dešrų gamyboje. Svarbu, jog tokių produktų gamyboje būtų naudojami nitratoredukcine savybe pasižymintys mikroorganizmai ir būtų užtikrintas ilgesnis gamybos procesas (pvz., fermentinės, šaltai rūkytos dešros), kad natūraliai daržovėse esantys nitratai būtų redukuojami iki chemiškai aktyvaus nitrito, kuris atliktų konservanto ir mėsos spalvos stabilizatoriaus funkciją. Šis darbas skirtas sukurti priemonėms, kurios galėtų būti naudojamos raudoniesiems mėsos pigmentams stabilizuoti mėsos produktuose.

**Darbo tikslas** – sukurti pigmentų įkapsuliavimo ir stabilizavimo priemonės, jas charakterizuoti ir ištirti jų pritaikymo mėsos gaminiuose galimybę.

Darbo tikslui pasiekti suformuluoti šie **uždaviniai**:

1. Sukurti stabilią dvigubąją V-A-V (vanduo-aliejus-vanduo) emulsiją, modeliuojant A-V (aliejus-vanduo) tarpfazio sudėtį.
2. Ištirti dvigubųjų V-A-V emulsijų su įkapsuliuotomis burokėlių sultimis stabilizavimo mechanizmą, įvertinant osmosinio slėgio, V-A (vanduo-aliejus) bei A-V (aliejus-vanduo) tarpfazių sudėties ir gamybos būdo įtaką.
3. Panaudoti dvigubąją V-A-V emulsiją kaip daugiafunkčę priemonę riebalų sudėčiai gerinti ir mėsos spalvai stabilizuoti mėsos sistemose.
4. Ištirti nitratų iš liofilizuotų daržovių įtaką mėsos sistemų pokyčiams fermentacijos metu ir įvertinti jų įtaką mėsos saugai.
5. Ištirti nitratų iš liofilizuotų daržovių įtaką skirtingų mioglobino formų susidarymui ir kitimui mėsos sistemose fermentacijos metu, siekiant išlaikyti raudoną mėsos spalvą.
6. Įvertinti galimybę pakeisti sintetinį nitrata ir nitratais iš liofilizuotų daržovių šaltai rūkytose dešrose siekiant pagerinti jų kokybę ir saugą.

### **Darbo mokslinis naujumas**

Taikant dviejų pakopų homogenizavimą ir modifikuotą membraninį emulsavimą pagamintos dideliu įkapsuliavimo efektyvumu (>98 %), terminiu bei gravitaciniu stabilumu pasižyminčios dvigubosios V-A-V emulsijos su įkapsuliuotomis burokėlių sultimis. Nustatyta, kad dvigubųjų V-A-V emulsijų su įkapsuliuotomis burokėlių sultimis vidinėje vandens fazėje stabilumą nulėmė laikymo metu padidėjusi klampa dėl osmosinio slėgio skirtumų vidinėje ir išorinėje vandens fazėse. Dvigubosiose emulsijose įkapsuliuotas raudonos spalvos pigmentas betaninas buvo apsaugotas terminio apdorojimo metu ir todėl V-A-V emulsijos mėsos sistemose buvo panaudotos ne tik riebalų sudėčiai gerinti, bet ir raudonai mėsos spalvai stabilizuoti.

Taip pat nustatyta nitratų iš liofilizuotų salierų, porų ir pastarnokų įtaka skirtingų mioglobino formų susidarymui ir kitimui mėsos sistemose jų fermentacijos metu.

### **Darbo praktinė vertė**

Sukurtos dvi inovatyvios pigmentų įkapsuliavimo ir stabilizavimo priemonės, kuriomis mėsos gaminiuose gali būti pakeičiami sintetiniai maisto dažikliai ir spalvos stabilizatoriai. Pirmoji priemonė – dvigubosios V-A-V emulsijos su įkapsuliuotomis burokėlių sultimis. Jos buvo panaudotos mėsos sistemose siekiant pakeisti gyvūninius riebalus augaliniais ir suteikti mėsai raudoną spalvą. Sukurtos dvigubosios emulsijos pasižymėjo dideliu burokėlių sulčių įkapsuliavimo efektyvumu ir dideliu atsparumu aplinkos ir technologinių veiksnių poveikiui.

Antroji priemonė – liofilizuoti salierai, porai ir pastarnokai, kurie mėsos sistemose gali būti naudojami kaip netiesioginis nitrato šaltinis. Naudojant liofilizuotų daržovių priedus buvo gautos tokios pat šaltai rūkytų dešrų savybės, kaip ir su pridėtinu nitritu. Parengta prototipinė šaltai rūkytų dešrų su liofilizuotais

salierais technologija, leidžianti pakeisti nitriną išlaikant tas pačias gaminio technologines savybes, saugą ir kokybę.

**Ginamieji disertacijos teiginiai:**

- Pagrindinis veiksnys, lėmęs dvigubųjų emulsijų su įkapsuliuotomis burokėlių sultimis stabilumą, yra osmosinio slėgio skirtumų tarpfazyje sukeltas klamos padidėjimas.
- Dviguboji emulsija su įkapsuliuotomis burokėlių sultimis gali būti naudojama mėsos gaminiuose siekiant pakeisti gyvūninius riebalus augaliniais ir išsaugoti raudoną mėsos spalvą.
- Nitratai iš liofilizuotų salierų gali būti panaudojami vietoje pridėtinio nitrato ar nitrato išlaikant tas pačias šaltai rūkytų dešrų technologines ir funkcines savybes.

# 1. LITERATŪROS APŽVALGA

## 1.1. Natūralūs priedai mėsos gaminiuose

Per pastaruosius kelis dešimtmečius išaugo susidomėjimas saugiais ir kokybiškais mėsos produktais, kurių koncepcija paremta natūralių komponentų naudojimu ir produktų su vadinamąja „švaria etikete“ kūrimu (Amali ir kt., 2015; Nam, Jo ir Lee, 2010). Šiam tikslui įgyvendinti taikomos įvairios strategijos:

- bendrojo riebalų kiekio ir energinės vertės mažinimas;
- riebalų rūgščių sudėties gerinimas (gyvūniniai riebalai pakeičiami augaliniais riebalais): sočiųjų riebalų rūgščių ir bendrojo riebalų rūgščių kiekio mažinimas; mononesočiųjų ir polinesočiųjų riebalų rūgščių kiekio didinimas;
- cholesterolio kiekio mažinimas;
- aminorūgščių sudėties pakeitimas (augaliniai baltymai);
- prebiotikų ir probiotikų pridėjimas;
- papildymas mineralinėmis medžiagomis (selenas, kalcis, geležis ir kt.);
- vitaminų ir antioksidacinėmis savybėmis pasižyminčių junginių (folio rūgštis, tokoferolis, karotinoidai ir kt.) pridėjimas;
- druskos kiekio mažinimas;
- sintetinių maisto priedų (nitrūtų, fosfatų, dažiklių) kiekio mažinimas;
- kitų naudingų komponentų (graikiniai riešutai, augalų steroliai, jūrų dumbliai ir kt.) pridėjimas (Jiménez-Colmenero ir kt., 2012).

Tarp visų šių strategijų ypatingas dėmesys skiriamas sintetinių maisto priedų, kurių pridėtinis ar liekamasis kiekis yra griežtai reglamentuojamas ir kurių vartojimas gali turėti neigiamos įtakos žmonių sveikatai (Jiménez-Colmenero, 2007), mažinimui. Vieni tokių priedų yra gerai žinomi konservantai nitratas ir nitritas, kurių naudojimas maisto pramonėje yra griežtai reglamentuojamas dėl to, kad šie junginiai siejami su N-nitrozo junginių susidarymu tiek maisto produkte, tiek žmogaus organizme (Joosen ir kt., 2009). Jau 1987 metais Tricker'is ir Preusmann'as (1987) tyrimų išvadose teigė, kad nitratai lemia endogeninį kancerogeninių N-nitrozaminų susidarymą. Honikel'is (2008) mano priešingai – kad tikimybė stabiliems N-nitrozaminams susiformuoti mėsos matricoje yra maža. Dėl minėtos priežasties į mėsos gaminius pridedamų nitrātų ir nitritų kiekis yra griežtai reglamentuojamas visame pasaulyje. Pagal Europos Sąjungos teisės aktus, didžiausias įdedamų nitritų kiekis gali būti 250–300 mg/kg (išreiškiamas natrio nitrato ekvivalentais), o didžiausias liekamasis nitritų kiekis – nuo 50 iki 250 mg/kg, priklausomai nuo mėsos gaminio rūšies.

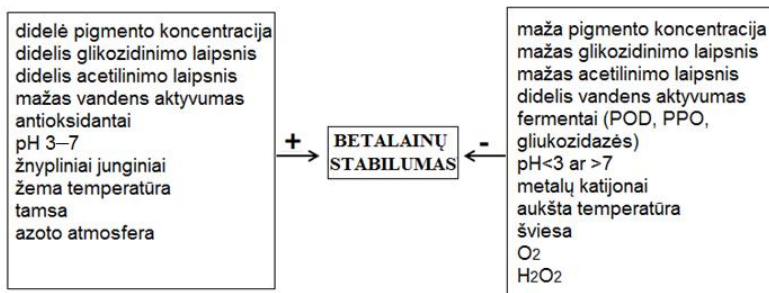
Dar viena maisto priedų grupė, kurią bandoma pakeisti natūraliais komponentais, – tai sintetiniai maisto dažikliai, mėsos pramonėje naudojami tam, kad padidintų produktų patrauklumą vartotojams. Iki šios dienos nemaža dalis sintetinių maistinių dažiklių buvo uždrausti vartoti maisto pramonėje. Dažiklių toksiškumas, saugumas ir poveikis žmogaus sveikatai vis dar išlieka tyrimų objektu. Nustatyta, kad rausvi ir rožiniai dažikliai, pvz., eritrozinas (E127), raudonasis 2G

(E128) ir amarantas (E123), gali pasižymėti šalutiniu poveikiu, žiurkėms sukelti navikų atsiradimą. Taip pat maistiniai dažikliai žinomi kaip alerginių reakcijų sukėlėjai, kai kurie pasižymi neigiamu poveikiu vaikų elgsenai (pvz., gali sukelti dėmesio trūkumo ir hiperaktyvumo sutrikimą) (Gostner ir kt., 2015; Masone, Chanforan, 2015).

Natūralūs maisto dažikliai, palyginti su gautais cheminės sintezės būdu, turi nemažai pranašumų, nes yra saugesni ir gali turėti teigiamą poveikį sveikatai. Taip pat, be pagrindinės dažiklio funkcijos, gali atlikti vieną ar kelias papildomas, t. y. antioksidanto ar (ir) konservanto, funkcijas (Carocho ir kt., 2014; Delgado-Vargas, Paredes-Lopez, 2003; Rodriguez-Amaya, 2016). Natūralūs raudoni pigmentai, pvz., karotinoidai, antocianinai ir betalainai, buvo naudojami virtose, rūkytose, fermentinėse ar vytintose dešrose, kad joms suteiktų mėsai būdingą spalvą (Kim ir kt., 2015; Martínez ir kt., 2006; von Elbe ir kt., 1974; Zhou ir kt., 2012). Kim'as ir kt. (2015) naudodami raudoną dygminų (*Carthamus tinctorius* L.) pigmentą nudažė kviečių skaidulas ir panaudojo jas virtų dešrų gamyboje. Šių skaidulų panaudojimas ne tik suteikė papildomą raudoną spalvą, bet ir padidino gaminių išeią, sumažino riebalų oksidaciją juose. Martínez'as ir kt. (2006) nustatė, kad raudoni mielių ryžių milteliai (*Monascus purpureus*) ir raudonųjų burokėlių (*Beta vulgaris*) šakniavaisių sultys suteikė papildomą raudoną spalvą termiškai neapdorotoms kiaulienos dešrelėms. Taip pat minėti natūralūs dažikliai apsaugojo dešrelių spalvą nuo išblukimo jas laikant modifikuotoje atmosferoje (80 % O<sub>2</sub> ir 20 % CO<sub>2</sub>).

Betalainai yra vandenyje tirpūs pigmentai, kurie dar kitaip žinomi kaip fenoliniai antriniai augalų metabolitai. Šie pigmentai išskiriami iš raudonųjų burokėlių (*Beta vulgaris*). Be pagrindinės dažiklio funkcijos, betalainai dar pasižymi teigiamu poveikiu žmogaus sveikatai dėl uždegimo slopinamojo poveikio (Georgiev ir kt., 2010; Zielinska-Przyjemska ir kt., 2009). Daugiausia iš visų betalainų burokėliuose yra randama pigmento betanino (betanidin-5-O-β-gliukozido). Šis pigmentas (E162) kaip natūralus maisto dažiklis naudojamas saldainiuose, jogurtuose, leduose, mėsos pakaitaluose, salotų padažuose ir panašiuose produktuose (Khan, 2016). Daugeliu atvejų pakanka mažiau nei 50 mg betanino norint 1 kg produkto suteikti raudoną spalvą (Delgado-Vargas ir kt., 2000).

Šio, kaip ir kitų natūralių pigmentų, panaudojimą apriboja jų jautrumas aplinkos veiksniams. 1.1 pav. pateikti veiksniai, lemiantys betalainų stabilumą. Būtent dėl jautrumo aplinkos veiksniams betanino stabilumą buvo bandoma gerinti maišant jį su β-ciklodekstrinu (manoma, šie junginiai sudaro kompleksą) (Norasiha, Sakinah ir Rohaida, 2009), taip pat taikant įvairias įkapsuliavimo technologijas (Cai, Corke, 2000; Gandía-Herrero ir kt., 2010; Kaimainen ir kt., 2015).



1.1 pav. Betalainų stabilumą lemiantys veiksniai (Herbach, Stintzing ir Carle, 2006)

Atliekamų tyrimų gausa rodo, kad maisto technologai, mokslininkai ir mitybininkai ieško būdų, kaip sumažinti įdedamų sintetinių priedų kiekį ar rasti natūralias alternatyvas šiems junginiams. Tai nėra lengva užduotis, nes, pakeičiant sintetinius maisto priedus, natūralūs komponentai turi pasižymėti analogiškomis ar bent jau artimomis technologinėmis ir funkcinėmis savybėmis ir užtikrinti tokią pat galutinio produkto saugą, kokybę bei juslines savybes.

## 1.2. Dvigubosios V-A-V emulsijos kaip potenciali pigmentų įkapsuliavimo technologija

Įkapsuliuoti pigmentams ir apsaugoti jiems nuo aplinkos veiksnių, sukeliančių jautrių junginių destrukciją, gali būti taikomos įvairios technologijos. Viena iš tokių technologijų yra mikroįkapsuliavimas. Ją taikant įkapsuliuota medžiaga apsaugoma nuo aplinkos veiksnių. Mikroįkapsuliavimo metodai gali būti skirstomi į: a) fizikinius: purkštuvinis džiovinimas, ekstruzija ir procesai, kuriuose naudojami superkriziniai skysčiai (mikronizacija); b) fizikinius-cheminius: išpurškiamasis šaldymas, karšta lydalo danga, joninis želatinizavimas, tirpiklio išgarinimas (ekstrakcija); c) cheminius: tarpfazinė polikondensacija, *in situ* polimerizacija, tarpfazinė polimerizacija (Munin, Edwards-Levy, 2011).

Vienas iš dažniausiai taikomų pigmentų įkapsuliavimo metodų yra purkštuvinis džiovinimas. Taikant šį metodą junginys įkapsuliuojamas daugiabranduolėse arba matricinio tipo mikrokapsulėse (Jyothi ir kt., 2010). Purkštuvinis džiovinimas buvo taikomas ekstraktams, gautiems iš raudonųjų burokėlių (betalainams) (Azeredo ir kt., 2007), kaktuso minkštimo (Saenz ir kt., 2009) ir burnočio (Cai, Corke, 2000), įkapsuliuoti.

Dar viena įkapsuliavimo technologija, kuri gali būti taikoma pigmentams apsaugoti, – tai jų dispergavimas įprastinėse ar dvigubosiose emulsijose. Dvigubosios V-A-V emulsijos gali būti naudojamos įkapsuliuoti pigmentams, ir, priklausomai nuo jų prigimties, jie gali būti įkapsuliuoti visose trijose emulsijų sudarančiose fazėse. Vandenyje tirpūs pigmentai (betaninas, chlorofilas) gali būti įkapsuliuojami tiek vidinėje ( $V_1$ ), tiek išorinėje ( $V_2$ ) vandens fazėje; riebaluose tirpūs pigmentai, tokie kaip karotinoidai, gali būti disperguojami aliejaus fazėje (A) (McClements ir kt., 2009). McClements'as ir kt. (2009) įvardijo pagrindinius vidinėje vandens fazėje ( $V_1$ ) įkapsuliuotų hidrofilinių pigmentų privalumus: a) gali

būti apsaugoti nuo sąveikos su kitais vandenyje tirpiaisiais junginiais, tokiu būdu išvengiant jų skilimo ar funkcionalumo sumažėjimo; b) vandenyje tirpūs natūralūs pigmentai, turintys nepageidaujamas juslines savybes, gali būti izoliuoti ir jų skonis ar aromatas nebus juntamas burnoje kramtant. Kaimainen'as ir kt. (2015) paruošė stabilias V-A-V emulsijas, kuriose betalainų įkapsuliavimo efektyvumas buvo ~90 %, ir išsamiai aprašė šių emulsijų virškinamumą *in vitro* imituojant plonąsias žarnas, tačiau informacijos apie galimą jų pritaikomumą realiose sistemose autoriai nepateikė.

Riebaluose tirpūs pigmentai taip pat gali būti apsaugoti panaudojant dvigubąsias emulsijas, tik šiuo atveju jie disperguojami ne vandeninėje, o aliejaus fazėje (A). Rodríguez-Huezo ir kt. (2004) įkapsuliavo karotinoidus dvigubosiose (V-A-V) emulsijose, kaip aliejaus fazę pasirinkę komercinį saulėgražų, rapsų ir dygminių aliejų mišinį, tačiau šioms emulsijoms stabilizuoti buvo panaudotas išskirtinai didelis kiekis arabiko gumos (17 %) ir meskito gumos (66 %). Taip pat autoriai išlaikė karotinoidų stabilumą purkštuviniu būdu išdžiovinę dvigubąsias emulsijas, kuriose šie pigmentai buvo įkapsuliuoti. O Aditya ir kt. (2015) dvigubosiose V-A-V emulsijose įkapsuliavo kurkuminą ir katechiną, taip šių aplinkos veiksniams jautrių komponentų stabilumą padidino atitinkamai >80 % ir >40 % ir panaudojo šias emulsijas modelinėse gėrimų sistemose.

### 1.2.1. Dvigubųjų V-A-V emulsijų charakterizavimas

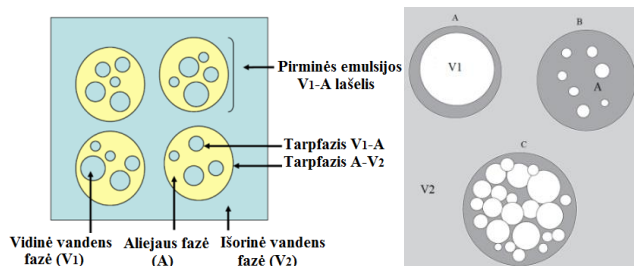
Dvigubosios emulsijos – tai daugiafazė dispersinė skysčių sistema, pasižyminti mažu termodinaminiu stabilumu. Šios emulsijos gali būti dviejų rūšių, t. y. aliejus-vanduo-aliejus (A-V-A) ir vanduo-aliejus-vanduo (V-A-V) (Muschiolik, 2007). Dažniausiai naudojamos V-A-V dvigubosios emulsijos, kuriose maži vandens lašeliai pasiskirstę aliejaus lašelių viduje, o šie disperguoti tolydinėje vandens fazėje (Florence, Whitehill, 1982; Garti, Benichou, 2001). Kaip matyti 1.2 pav., V-A-V sistema yra sudaryta iš trijų fazių, kurių dvi vandens (viena vidinė, kita išorinė) ir viena riebalų, esanti tarp šių vandens fazių ir atskirta dviejų tipų tarpfaziais, stabilizuotais hidrofilinėmis ir lipofilinėmis paviršiaus aktyviosiomis medžiagomis (Jiménez-Colmenero, 2013). Dėl ypatingos sudėties (yra junginių su polinėmis ir nepolinėmis grupėmis) dvigubosios emulsijos turi tam tikrų pranašumų prieš įprastines emulsijas (Florence, Whitehill, 1982).

Pagrindinės šių emulsijų naudojimo sritys:

- sumažinto riebumo maisto produktams gaminti;
- skoniui maskuoti;
- juslinėms produkto savybėms pagerinti;
- junginių išsiskyrimui kontroliuoti;
- neatspariems junginiams apsaugoti valgymo ir virškinimo metu

(McClements, Decker ir Weiss, 2007; van der Graaf, Shroën, Boom, 2005).

Vienas iš pagrindinių dvigubųjų emulsijų trūkumų yra sudėtingesnis ir brangesnis jų gamybos procesas, palyginti su įprastinėmis emulsijomis, dėl dviejų etapų proceso ir dviejų tipų emulsiklių, kurių reikia joms gaminti. Be to, jos yra ne tokios stabilios kaip viengubosios emulsijos.



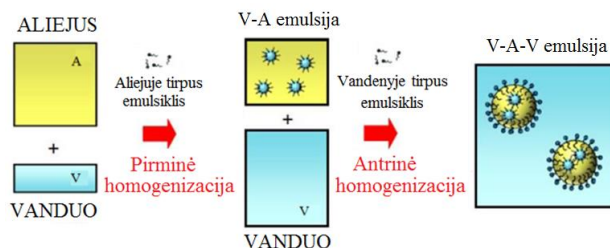
**1.2 pav.** Scheminis dvigubosios ( $V_1$ -A- $V_2$ ) emulsijos vaizdas (kairėje) (Jiménez-Colmenero, 2013) ir galimas vidinės vandens fazės pasiskirstymo aliejaus lašelyje vaizdas (dešinėje) (Garti, 1997)

Dvigubosioms emulsijoms gaminti kaip riebalų fazė gali būti naudojami įvairūs aliejai: rapsų (Brückner, Bade ir Kunz, 2007), saulėgrąžų (Scherze, Knöfel ir Muschiolik, 2005), sojų pupelių (Su ir kt., 2006), alyvuogių (Bonnet ir kt., 2010) ir t. t. Kaip jau buvo minėta anksčiau, šioms emulsijoms stabilizuoti naudojami dviejų tipų emulsikliai: lipofilinis – pirminei V-A emulsijai stabilizuoti, hidrofilinis emulsiklis ar stabilizatorius – antrajam A- $V_2$  tarpfaziui stabilizuoti. Tinkamo emulsiklio dvigubosioms emulsijoms gaminti parinkimas yra labai svarbus veiksnys, turintis įtakos jų stabilumui (Pays ir kt., 2001). Dažniausiai naudojamas lipofilinis emulsiklis – sintetinis poliglicerolio poliricinoleatas (PGPR), kuris gali būti keičiamas natūraliu lecitinu (Jiménez-Colmenero, 2013). Literatūroje nurodoma daug įvairių emulsiklių ar stabilizatorių, kurie gali būti naudojami antrajam A- $V_2$  tarpfaziui dvigubojoje emulsijoje stabilizuoti: maisto baltymai (išrūgų baltymai, natrio kazeinatas) (Brückner ir kt., 2007; Mun ir kt., 2010; Scherze ir kt., 2005; Weiss, Scherze ir Muschiolik, 2005), polisacharidai (gumarabikas, ksantano guma, modifikuotas krakmolos, pektinas, alginatas, gelanas) (Dickinson, 2011; Rodríguez-Huezo ir kt., 2004; Su, Flanagan ir Singh, 2008).

### 1.2.2. Skirtingų gamybos būdų įtaka dvigubųjų V-A-V emulsijų savybėms

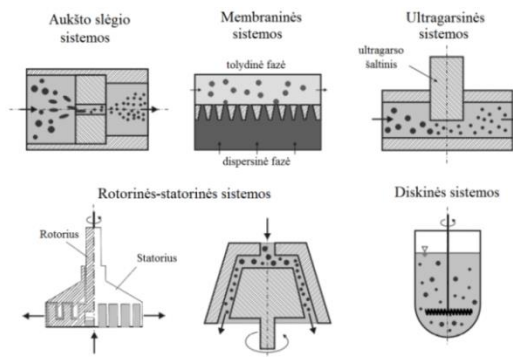
Siekiant gauti stabilias norimų savybių emulsijas (tai vis dar yra esminis iššūkis) taikomi įvairūs dvigubųjų emulsijų gamybos būdai. Įprastinėje emulsijoje stabilizuojamas tik vienas tarpfasis, o dvigubojoje emulsijoje turi būti stabilizuojami du tarpfaziai ir sąveikos tarp tarpfaziams stabilizuoti naudojamų komponentų turi būti sumažintos iki minimumo (Dickinson, 2011). Įprastai dvigubosios emulsijos gaminamos taikant dviejų etapų homogenizavimą, kurio scheminis vaizdas pateiktas 1.3 pav. Pirmajame etape paruošiama pirminė  $V_1$ -A emulsija homogenizuojant vandens fazę su aliejaus faze, kurioje yra ištirpęs lipofilinis emulsiklis, tokiu būdu suformuojamas pirmasis  $V_1$ -A tarpfasis. O antrajame etape pirminė  $V_1$ -A emulsija homogenizuojama su išorine vandens faze ( $V_2$ ), kurioje yra hidrofilinis emulsiklis, tokiu būdu suformuojamas antrasis A- $V_2$  tarpfasis. Pirmajame etape viskas atliekama didesniu greičiu, o antrasis homogenizavimas vykdomas esant mažesnėms šlyties jėgoms, siekiant išvengti vidinių lašelių suardymo (Garti, 1997).





**1.3 pav.** Scheminis dvigubųjų emulsijų paruošimo dvejų etapų homogenizavimo būdu vaizdas (McClements, 2012)

Labai svarbu parinkti ne tik tinkamą dvigubųjų emulsijų sudėtį, bet ir gamybos sąlygas, atsižvelgiant į technines įrenginių charakteristikas. Dvigubosioms emulsijoms gaminti gali būti naudojamos aukšto slėgio, membraninės, ultragarsinės, rotorinės-statorinės ir diskinės sistemos, kurių scheminis vaizdas pateiktas 1.4 pav. (Urban ir kt., 2006).



**1.4 pav.** Scheminis mechaninių emulsavimo sistemų vaizdas (Urban ir kt., 2006)

Vienas iš dažniausiai taikomų ir labiausiai ištyrinėtų dvigubųjų emulsijų gamybos būdų yra dvejų pakopų homogenizavimas naudojant rotorines-statorines emulsavimo sistemas, sudarytas iš rotoriaus ir ašies kryptimi aplink jį fiksuoto statoriaus. Šios sistemos gali būti tiek periodinės, tiek tolydinės. Šiuo atveju abu – ir statorius, ir rotorius – turi angas, kurios reikalingos turbulentiniam srautui sukurti. Dėl labai mažo atstumo tarp statoriaus ir rotoriaus (kartais daug mažesnis nei 1 mm) yra sukuriama labai intensyvi šlyties jėga (Schroën, Berton-Carabin, 2016). Dispersinės fazės lašeliai šiuose įrenginiuose yra suskaidomi dėl inercijos ir šlyties jėgų, veikiančių turbulentine sraute (Urban ir kt., 2006). Vienas pagrindinių šių įrenginių trūkumų yra chaotiškas skysčio judėjimas homogenizavimo metu, todėl gaunamos polidispersinės emulsijos, kuriose aliejaus lašelių dydis dažniausiai didesnis nei 10  $\mu\text{m}$ , o tai sumažina emulsijų stabilumą ir jų panaudojimo maisto pramonėje galimybę (Urban ir kt., 2006).

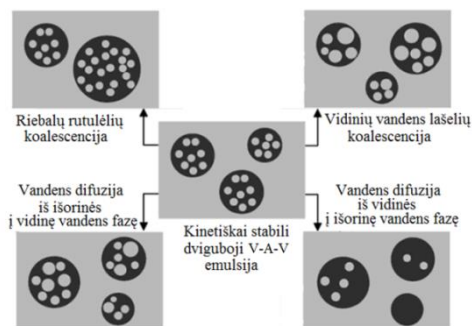
Siekiant gauti stabilias dvigubąsias emulsijas antrojo homogenizavimo metu naudojamos šlyties jėgos turi būti gerai kontroliuojamos. Šiam tikslui įgyvendinti kaip viena iš alternatyvų yra siūlomi membraniniai procesai (van der Zwan, Schroën ir Boom, 2008). Naudojant membranas antrajame emulsavimo etape gali būti

gaunamas kontroliuojamas vidutinis aliejaus lašelių dydis ir aliejaus lašelių dydžio pasiskirstymas, taip pat sunaudojama mažai energijos, o tai svarbu ekonomiškiesiems procesams užtikrinti (Schadler, Windhab, 2006). Priklausomai nuo norimos gauti dvigubosios emulsijos sudėties, gali būti naudojamos įvairios membranos: *Shirasu* akytojo stiklo, polimerinės, keraminės ir metalinės (Charcosset, Limayem ir Fessi, 2004). Šios membranos charakterizuojamos įvairiomis paviršiaus savybėmis, vidutiniu porų dydžiu ir efektyviuoju membranų plotu. Palyginti su kitomis membranomis, *Shirasu* akytojo stiklo membranoms būdingas mažas porų dydis (tai laikoma esminiu veiksniumi monodispersinių emulsijų gamyboje) (Joscelyne, Trägårdh, 2000; Peng, Williams, 1998), didelis porų dydžio pasirinkimas (0,05–30 μm), didelis poringumas (50–60 %) (Charcosset ir kt., 2004) ir didelis terminis stabilumas – tai svarbu praktiniam panaudojimui (Cheng ir kt., 2007).

Dviguboji emulsija prateka per membranų poras „visu tūriu“, kitaip nei kituose mikrostruktūriniu pagrindu veikiančiuose emulsavimo įrenginiuose, kuriuose dispersinė ir tolydinė fazės teka atskirai (Vladislavljevic, Surh ir McClements, 2006). Dėl tokio emulsavimo būdo membranų poros gali užsikisti sudėtiniais emulsijos komponentais ir dėl to gali sulėtėti emulsavimo procesas (Nazir, Boom ir Schroën, 2014; Schroën ir kt., 2015). Šiai problemai spręsti van der Zwan'as ir kt. (2008) pasiūlė naudoti „dinaminę membraną“; ši buvo patobulinta Nazir'o, Schroën ir Boom'o (2010). Sistema sudaryta iš metalinio sietelio ir ant jo esančio *Shirasu* hidrofilinių stiklo rutulėlių sluoksnio. Pagrindiniai šios sistemos privalumai yra didelis našumas ir lengvas valymas po emulsavimo proceso. Panaudojus dinaminę membraną dvigubųjų emulsijų gamybai gali būti sumažinamas vidutinis aliejaus lašelių dydis ir polidispersiškumas jose, kaip neseniai nustatė Nazir'as ir kt. (2010) bei Okuyama ir kt. (2011). Tokia dinaminė membrana jau buvo naudojama dvigubosioms emulsijoms gaminti, tačiau komponentai, iš kurių ji buvo pagaminta, buvo netinkami maistui (Sahin, Sawalha ir Schroën, 2014).

### **1.2.3. Stambiamolekulių junginių rūšies įtaka dvigubųjų emulsijų stabilumui ir įkapsuliavimo efektyvumui**

Kaip jau minėta anksčiau, dėl kompleksinės struktūros ir gana didelio tarpfazinio ploto tarp aliejaus ir vandens dvigubosios emulsijos ne tokios stabilios kaip įprastinės. Šių emulsijų destabilizavimo metu vyksta neišvengiami struktūriniai pokyčiai ir progresuojantis įkapsuliuotų junginių išsiskyrimas. Jų laikymo metu gali pradėti vykti koalescencijos ir difuzijos procesai (1.5 pav.).



**1.5 pav.** Scheminis galimų dvigubųjų V-A-V emulsijų destabilizavimo vaizdas (Mezzenga, Folmer ir Hughes, 2004)

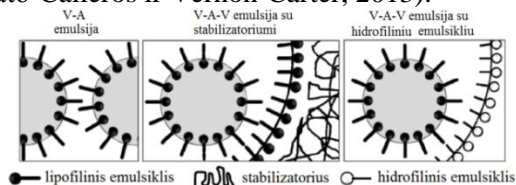
Koalescencija gali pasireikšti keliais lygmenimis (Florence, Whitehill, 1982; Garti, 1997; Pays ir kt., 2002): tarp vidinių vandens ar tarp aliejaus lašelių. Difuziniai procesai emulsijoje vyksta dėl nekontroliuojamo vandens judėjimo iš vienos vandeninės fazės į kitą, kuri sukelia osmosinio slėgio disbalansas. Vandeninėse fazėse ištirpusios hidrofilinės molekulės taip pat gali difunduoti iš vienos vandens fazės į kitą nepažeisdamos tarpfazės (Benichou, Aserin ir Garti, 2004; Bonnet ir kt., 2010; Cheng ir kt., 2007). Tačiau, palyginti su vandens migracija, kuri gali įvykti per kelias minutes ar lėčiau – per kelias valandas, – hidrofilinių junginių migracija yra daug lėtesnė ir gali trukti kelias dienas, savaites ar net mėnesius (Bonnet ir kt., 2010; Pays ir kt., 2002). Tokių komponentų judėjimo tarp vandens fazių greitį lemia naudojamų emulsiklių pobūdis ir koncentracija, osmosinio slėgio skirtumas tarp fazių, aliejaus fazės tipas ir klampa, paviršiaus įtempis tarpfaziuose (Delample ir kt., 2014).

Dviejų naudojamų emulsiklių, kurių vienas lipofilinis, o kitas hidrofilinis, sąveika sistemoje gali tiek padidinti emulsijų stabilumą, tiek destabilizuoti jas (Chávez-Páez ir kt., 2012; Jiao, Burgess, 2003; Kanouni ir kt., 2002; Schmidts ir kt., 2009). Visų pirma, jei lipofilinis emulsiklis nevisiškai adsorbuojasi vidinių vandens lašelių ir aliejaus tarpfazyje, jis gali papildomai padengti tarpfazę tarp aliejaus lašelių ir išorinės vandens fazės. Tokiu atveju šiame tarpfazyje lipofilinis emulsiklis konkuruos su hidrofiliniu emulsikliu, esančiu išorinėje fazėje (Cornec ir kt., 1998; Kanouni ir kt., 2002). Tokia konkuruojanti adsorbicija gali destabilizuoti vidinius vandens lašelius ir aliejaus lašelius dvigubojoje emulsijoje. Be to, molekulinė sąveika tarp dviejų emulsiklių gali sumažinti jų stabilizuojamąją gebą (Jiao, Burgess, 2003). Buvo nustatyta, kad mažos molekulinės masės hidrofiliniams emulsikliams būdinga difuzija į vidinę vandens fazę, taip sukeldama destabilizaciją (Michaut ir kt., 2003). Didėjant emulsiklio koncentracijai, didėja koalescencija tarp vidinių vandens lašelių ir dėl to didesnis kiekis įkapsuliuotų molekulių išsiskiria į aplinką (Garti, ir kt., 1999; Rosano ir kt., 1998). Remdamiesi šiais rezultatais daugelis autorių teigia, kad emulsijų stabilumą galima pagerinti vietoje mažos molekulinės masės emulsiklių naudojant stambiamolekulius junginius, tarp jų biopolimerus. Yra mažai tikėtina, kad baltymų makromolekulės galės difunduoti per aliejaus membraną į vidinę vandens fazę (Dickinson 2011; Michaut ir kt., 2003; Michaut ir kt., 2004).

Stambiamolekuliai junginiai, priklausomai nuo prigimties, pasižymi skirtingais stabilizavimo mechanizmais. Polisacharidai, pvz., arabiko guma (*Acacia senegal*), modifikuotas krakmolos, modifikuota celiuliozė, kai kurios pektino rūšys, veikia kaip stabilizatoriai (Dickinson, 2003), padidindami tolydinės fazės klampą ar suformuodami gelį. Literatūroje teigiama, kad pridėjus sklerogliukano, karagenino ir ksantano bei saldžiosios seratonijos dervos mišinio į išorinę vandens fazę ( $V_2$ ) buvo padidintas dvigubosios V-A-V emulsijos stabilumas, sustabdant koalescenciją tarp aliejaus lašelių ir neleidžiant įvykti gravitaciniam fazių atsiskyrimui (Benna-Zayani ir kt., 2008). O tipiški emulsikliai (pvz., baltymai) atlieka keletą funkcijų: sumažina paviršiaus įtempį tarp aliejaus ir vandens fazių ir suformuoja tarpfazinę membraną, dalyvaujančią struktūrinėje ir elektrosstatinėje sąveikoje tarp lašelių, sumažina energiją, kurios reikia didesniems lašeliams skilti į mažesnius, stabdo koalescenciją, sukurdami apsauginį sluoksnį aplink aliejaus lašelius (Lal ir kt., 2006).

Mun'as ir kt. (2010) vertino dvigubųjų emulsijų (V-A-V), paruoštų su sojų pupelių aliejumi, stabilizavimą skirtingos koncentracijos poliglicerolio poliricinoleatu (PGPR) (4 ir 6 masės %) ir išrūgų baltymų izoliatu (IBI) (2, 4 ir 6 masės %) atitinkamai aliejaus ir išorinėje vandens fazėse. Visose paruoštose emulsijose įkapsuliavimo efektyvumas buvo didesnis nei 90 % ir nepakito net dvi savaites jas laikant kambario temperatūroje. Taip pat buvo pastebėta, kad po dviejų savaičių laikymo didesnis lašelių dydis ir agregatų susidarymas buvo tose emulsijose, kurios buvo stabilizuotos didesniu PGPR ir IBI kiekiu (6 masės % PGPR ir 6 masės % IBI).

Schuch ir kt. (2015) paruošė dvigubąsias emulsijas su skirtingais įvairios koncentracijos stambiamolekuliais junginiais. Išorinėje vandens fazėje kaip tipiškas emulsiklis buvo panaudotas kiaušinio trynys (KT) ar išrūgų baltymų izoliatas (IBI). O pektinas (P), arabiko guma (AG) ir karboksimetilceliuliozė (KMC) buvo panaudoti kaip emulsijų klampą padidinantys stabilizatoriai. Autoriai nustatė reikšmingus skirtumus tarp KT ir IBI stabilizuotų dvigubųjų emulsijų. Emulsijose, stabilizuotose KT, įkapsuliavimo efektyvumas nepriklausė nuo šio emulsiklio koncentracijos išorinėje fazėje (1–3 masės %). O emulsijose, stabilizuotose IBI, įkapsuliavimo efektyvumas mažėjo didėjant IBI koncentracijai. Kaip stabilizatorių naudojant karboksimetilceliuliozė buvo gautos emulsijos, pasižyminčios didžiausiu įkapsuliavimo efektyvumu, labai panašiu į tų emulsijų, kurios buvo stabilizuotos KT ir IBI. Scheminis hidrofilinio, lipofilinio emulsiklių ir stabilizatoriaus pasiskirstymas V-A ir V-A-V emulsijų tarpfaziuose pateiktas 1.6 pav. Taip pat kai kurie autoriai aprašo baltymų ir polisacharidų kompleksų panaudojimą dvigubųjų emulsijų stabilumui didinti (baltymas – emulsiklis, o polisacharidas – stabilizatorius) (Hernández-Marín, Lobato-Calleros ir Vernon-Carter, 2013).

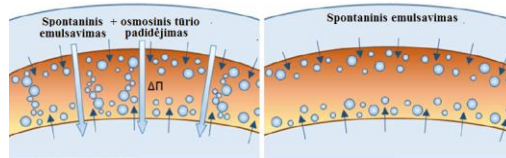


**1.6 pav.** Scheminis tarpfazio V-A emulsijoje ir V-A-V emulsijoje su stabilizatoriumi bei hidrofiliniu emulsikliu vaizdas (Schuch ir kt., 2015)

### 1.2.4. Osmosinio slėgio, lipofilinio emulsiklio ir tarpfazių sudėties įtaka emulsijų stabilumui

Dėl koncentracijos gradiento skirtumų dvigubojoje V-A-V emulsijoje vanduo ima judėti iš vienos fazės į kitą tam, kad pašalintų bet kokius trumpalaikius osmosinio slėgio skirtumus vandeninėse fazėse ( $V_1$  ir  $V_2$ ) (Delample ir kt., 2014). Dėl termodinaminės varomosios jėgos vandens molekulės iš išorinės fazės difunduoja į vandens lašelius aliejaus lašeliuose, kai tirpalo koncentracija vidinėje vandens fazėje yra didesnė nei išorinėje (Mezzenga ir kt., 2004). Didėjant vandens lašeliams, didėja ir aliejaus lašelių tūris, dėl to padidėja ir emulsijų klampa (Kita, Matsumoto ir Yonezawa, 1978; Leal-Calderon ir kt., 2012).

Dvigubojoje emulsijoje, kurioje vidinė ir išorinė fazės atskirtos tam tikru aliejaus sluoksniu, vandens migracija vyksta dviem etapais. Pirmasis etapas yra vadinamasis „išlaikymo“, jo metu vanduo spontaniškai ir lėtai difunduoja į aliejaus fazę. Manoma, kad šis etapas reikalingas struktūriniam aliejaus sluoksnio pokyčiams, t. y. osmosinio kontakto tarp vandens fazių susiformavimas. Toliau prasideda osmosinio slėgio poveikio etapas. Jo metu stebimas staigus ir linijinis vandens lašelių tūrio padidėjimas. Šioje fazėje osmosinis disbalansas  $\Delta\Pi$  yra vandens judėjimo tarp  $V_1$  ir  $V_2$  fazių varomoji jėga (1.7 pav.). Po tam tikro laiko  $\Delta\Pi$  sumažinamas iki tiek, kad sistemoje susidaro osmosinė pusiausvyra. Daugelis autorių teigia, kad kiti emulsijos komponentai, tokie kaip riebaluose tirpūs emulsikliai, atlieka pagalbinį vaidmenį vandens difuzijos, sukeltos osmosinio slėgio skirtumo, mechanizme padidindami vandens pralaidumo laipsnį (Garti, Magdassi ir Whitehill, 1985; Jager-Lezer ir kt., 1997; Omotosho ir kt., 1986; Wen, Papadopoulos, 2000). Kiti autoriai, priešingai – pastebėjo inhibitorinį aliejuje tirpių emulsiklių poveikį (Matsumoto ir kt., 1980).



1.7 pav. Scheminis spontinio emulsavimo ir kartu vykstančio osmosinio tūrio padidėjimo dvigubojoje emulsijoje (V-A-V) vaizdas (Bahtz ir kt., 2016)

Yan'as ir Pal'as (2003) bei Colinart'as ir kt. (1984) iškėlė hipotezę, kad aliejuje tirpi paviršinio aktyvumo medžiaga šiame mechanizme veikia kaip pernešiklis. Autoriai paaiškino, kad padidėjusią pradinę vandens pernašą lemia mažėjantis paviršiaus įtempis (Yan, Pal, 2003) ir padidėjęs aliejaus fazės poliariškumas didėjant lipofilinio emulsiklio koncentracijai. Viršijus tam tikrą koncentraciją, tikėtina, padidėja aliejaus fazės klampa ir mažėja vandens pernašos laipsnis. Tačiau autoriai pažymi, kad tai yra tik vienas galimas paaiškinimas ir realus mechanizmas vis dar nėra aiškus. Iš tiesų panašu, kad lipofilinio emulsiklio veikimas yra labiau kompleksiškas. Daroma prielaida, kad jis veikia kaip hidratuota nešiklio molekulė, suformuodamas atvirkštines micleles (Hamilton, Kaler, 1990). Bahtz ir kt. (2016) nustatė tiesioginę poliglicerolio poliricinoleato (PGPR) įtaką

vandens lašelių tūrio padidėjimui dvigubosiose emulsijose, kuriose nustatytas osmosinio slėgio disbalansas.

PGPR yra vienas dažniausiai naudojamų lipofilinių emulsiklių V-A tarpfaziui stabilizuoti (Muschiolik ir kt., 2006). Su ir kt. (2006) nustatė, kad V-A (1:4) ir V-A-V (1:4) emulsijose panaudojus daugiau kaip 2 % PGPR šių emulsijų stabilumas gerokai padidėjo. Nepaisant to, kad šis emulsiklis įprastai laikomas saugiu, nes jam priskirtas vadinamasis *GRAS* (angl. *Generally Recognised as Safe*) statusas (FDA, 2006), pageidautina, kad jo maisto produktuose būtų kuo mažiau. Tyrimais įrodyta, kad jo pridėjus daugiau kaip 5 % produktas įgauna nemalonų skonį (Hattrem ir kt., 2014; Muschiolik ir kt., 2006).

Emulsikliai yra tokie junginiai, kurie mažina paviršiaus įtempį adsorbuodamiesi tarpfazyje ir orientuodami savo struktūrą taip, kad sumažintų laisvąją Gibso energiją. Kitaip tariant, emulsikliai difunduoja iš tos fazės, kurioje yra ištirpę, į tarpfazį, įveikdami adsorbcijos barjerą, adsorbuodamiesi ir pasiekdami termodinamiškai palankiausią išsidėstymą (Serrien ir kt., 1992). Dvigubosioms emulsijoms stabilizuoti naudojami dviejų tipų emulsikliai, kurie gali tiek padidinti, tiek sumažinti vienas kito poveikį, taip pat gali turėti dvejopą poveikį tarpfazio reologinėms savybėms. Galimas hidrofilinių ir hidrofobinių emulsiklių sąveikas tyrinėjo Su ir kt. (2006), Gülseren'as ir Corredig (2012, 2014), Andrade ir Corredig (2016). Sinergizmą tarpfazyje tarp natrio kazeinato ir poliglicerolio poliricinoleato nustatė Su ir kt. (2006). Panašius rezultatus gavo Gülseren'as ir Corredig (2012) – tyrėjai nustatė, kad pieno baltymai ( $\beta$ -laktoglobulinas ir natrio kazeinatas) sąveikaudami su PGPR lemia mažesnę paviršiaus įtempį. Be to, pasiekiamas tarpfazio klampumo ir elastingumo kitimas, PGPR sąveikaujant su hidrofobiniais baltymų fragmentais, nes minėti baltymai apriboja PGPR gebėjimą efektyviai adsorbuotis tarpfazyje (Gülseren, Corredig, 2012). Gülseren'as ir Corredig (2014) ištyrė ir išsamiai aprašė komercinių pektinų ir PGPR sąveiką A-V tarpfazyje. Dėl šių junginių sinergizmo mažėjo paviršiaus įtempis ir susiformavo labai silpnas elastinis tarpfazinis sluoksnis (Gülseren, Corredig, 2012). Tačiau literatūroje nurodoma, kad mišriuose tarpfaziuose dominuoja elastingos PGPR savybės.

### **1.2.5. Dvigubosios emulsijos kaip potenciali riebalų mažinimo priemonė ir jų panaudojimas mėsos sistemose**

Dvigubosios emulsijos maisto produktuose gali būti naudojamos riebalų kiekiui mažinti ir riebalų rūgščių sudėčiai keisti. Kitaip nei įprastinėse V-A emulsijose, dvigubosiose V-A-V emulsijose aliejaus lašelių viduje disperguoti vandens lašeliai. Būtent todėl dviguboji emulsija gali būti paruošta su ta pačia dispersinės fazės tūrio frakcija ir lašelių dydžio pasiskirstymu, kaip ir įprastinė emulsija (V-A), tačiau riebalų kiekis joje bus mažesnis. Taigi atsiranda galimybė pagaminti maisto produktus, turinčius mažiau riebalų ir pasižyminčius panašiomis fizikocheminėmis ir juslinėmis savybėmis, kaip ir riebus produktai (Garti, 1997; McClements ir kt., 2009).

Literatūroje nurodoma, kad dvigubosios emulsijos (su rapsų aliejumi) buvo panaudotos pieno produktų analogams kurti (naminiai sūriai, jogurtai), keičiant

jomis pieno riebalus, – tokiu būdu buvo sumažintas ne tik bendrasis riebalų, bet ir sočiųjų riebalų rūgščių kiekis (Lobato-Calleros ir kt., 2006; Lobato-Calleros ir kt., 2009). Márquez'as ir Wagner'is (2010) nustatė, kad dvigubosios emulsijos gali būti naudojamos kaip mažiau riebalų turintis plakto pieno kremos pakaitalas.

Cofrades ir kt. (2013) buvo pirmieji, mėsos sistemose kietuosius kiaulienos lašinius pakeitę dvigubųjų V-A-V emulsijų, paruoštų su alyvuogių aliejumi, priedu (7 % ir 11 %). Emulsijų priedas turėjo teigiamą įtaką vandens ir riebalų rišlumo savybėms bei tekstūrai, tačiau taip pat turėjo neigiamą poveikį spalvai (t. y. didesnis šviesumas ( $L^*$ ) ir mažesnis rausvumas ( $a^*$ ), palyginti su kontroliniu gaminiu, kuriame buvo kiaulienos lašiniai). Taigi autoriai patvirtino hipotezę, kad dvigubosios emulsijos (nors ir skysto pavidalo) yra tinkama technologinė priemonė sveikesniems mėsos produktams gaminti. Vėlesniuose tyrimuose Cofrades ir kt. (2014) padidino oksidacinį dvigubųjų emulsijų, paruoštų su šalavijų aliejumi, stabilumą įkapsuliuodami jose hidroksitirozoli. Nepaisant to, įdėjus tokias emulsijas į mėsos sistemas, buvo nustatyta didesnė šalavijų aliejaus oksidacija ir mažesnis hidroksitirozolio antioksidacinis aktyvumas, palyginti su tiesiogiai įdedamu aliejumi ar hidroksitirozoliu.

Freire ir kt. (2015) „Frankfurto“ dešrelėse riebalų kiekį sumažino net 60 %, pakeitę dalį riebalų dviejomis skirtingomis V-A-V emulsijomis, paruoštomis su *Perilla* aliejumi ir kiaulienos riebalais. O dvigubosios emulsijos su alyvuogių aliejumi, stabilizuotos natrio kazeinatu, buvo panaudotos jautienos riebalams pakeisti mėsos sistemose. Be sumažinto riebalų ir padidinto baltymų kiekio, buvo nustatyta ir modifikuota riebalų rūgščių sudėtis. Be to, V-A-V emulsijų priedas lėmė padidėjusią vandens ir riebalų rišlumo gebą, palyginti su kontroliniais mėginiais. Didinant emulsijos kiekį mėsos sistemose, reikšmingai keitėsi tekstūros savybės: kietumas mažėjo, o rišlumas didėjo (Serdaroglu, Öztürk ir Urgan, 2016).

### 1.3. Nitratų ir nitritų funkcinės savybės mėsoje

Nitratai ir nitritai kaip pagrindiniai konservantai fermentinių ir šaltai rūkytų dešrų gamyboje naudojami jau nuo seno. Europoje nitratai fermentinėse dešrose ar kumpiuose iki šiol naudojami  $KNO_3$  (E251) ar  $NaNO_3$  (E252) pavidalu, taip pat gali būti naudojami kartu su  $KNO_2$  (E249). Nitritas visada naudojamas nitritinės druskos sudėtyje. Joje  $NaNO_2$  dalis gali sudaryti iki 0,9 %, o likusioji dalis – valgomoji druska ( $NaCl$ ) (Hammes, 2012).

Nitratas yra inertiškas junginys, nepasižymintis jokia funkcionalumu, būtent todėl turi būti redukuojamas iki nitrito, kuris yra labai reaktingas ir toliau dalyvauja konservavimo ir spalvą suteikiančių junginių susiformavimo reakcijose (Pegg, Shaditi, 2000). Jau įprasta, kad šioje reakcijoje dalyvauja mikroorganizmai, nes mėsoje natūraliai esantys fermentai nitrato neredukuoja (Sebranek, Bacus, 2007). Nitritas, nepriklausomai nuo jo kilmės, susidaręs kaip nitratų redukcijos produktas ar įdėtas nitritinės druskos pavidalu, mėsoje atlieka šias funkcijas: a) pasižymi antimikrobinu poveikiu; b) dalyvauja susidarant rausvam nitrozomioglobulinui, todėl raudona mėsos spalva tampa intensyvesnė; c) dalyvauja aromato junginių susidarymo reakcijose; d) gali veikti kaip antioksidantas (Hammes, 2012).

Literatūroje akcentuojama, kad nitritas yra unikalus, nes dar nerastas nė vienas junginys, galintis atlikti visas prieš tai išvardytas funkcijas (Sebranek, Bacus, 2007).

Nitritas pasižymi stipriu antibakteriniu aktyvumu ir slopina daugelį patogeninių bakterijų, kurios gali būti aktyvios netgi fermentinėse dešrose, pasižyminčiose dideliu rūgštingumu ir mažu vandens aktyvumu (Leroy, Verluyten ir De Vuyst, 2006). Tokių patogeninių mikroorganizmų pavyzdžiai yra *Clostridium botulinum* ir *Listeria monocytogenes*, taip pat *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* ir *Clostridium Perfringens* (Cammack ir kt., 1999; Sebranek, Bacus, 2007). Antibakterinis poveikis yra siejamas su reaktyviųjų tarpinių nitrito junginių, tokių kaip NO, N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, ONOO<sup>-</sup>, NO<sub>2</sub> ir RSNO, kiekiu bei santykiu mėsoje (Hammes, 2012). Šie junginiai veikia keletą tikslinių molekulių ir struktūrų vykstant N-nitrozilinimo, S-nitrozilinimo reakcijoms ir lipidų peroksidacijai, susidarant disulfidui, todėl gali slopinti fermentų aktyvumą, pažeisti ląstelių sienes ir membranas. Nitrito antimikrobinis efektyvumas taip pat priklauso nuo pH, natrio chlorido koncentracijos, reduktorių ir geležies kiekio mėsoje. Yra daroma prielaida, kad patogeniniams mikroorganizmams slopinti pakanka 80–150 mg/kg natrio nitrito (Wirth, 1986). Hospital'as, Hierro ir Fernández (2014) taip pat nustatė, kad nitratas (nitritas) buvo pagrindinis veiksnys, užkirtęs kelią *Salmonella typhimurium* augimui fermentinėse dešrose, kuriose pH vertės buvo didesnės nei 5,2. Tompkin'as (2005) teigia, kad nitrito slopinamasis mechanizmas skirtingoms bakterijų rūšims skiriasi.

### **1.3.1. Mioglobino pokyčiai ir nitratų (nitritų) redukcija mėsos fermentacijos metu**

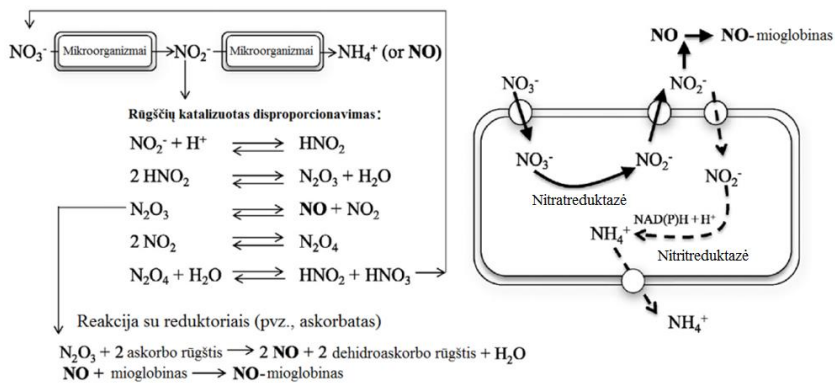
Nitratai atlieka ir dar vieną ne mažiau svarbią funkciją mėsoje – nitratų metabolizmo produktams sąveikaujant su mioglobinu formuojasi mėsai būdinga spalva. Mioglobinas yra sarkoplazminis baltymas, turintis nebaltyminę dalį – geležies protoporfiriną (hema) – ir laikomas pagrindiniu baltymu, lemiančiu mėsos ir mėsos produktų spalvą. Priklausomai nuo hemo sudėtyje esančios geležies oksidacijos laipsnio ir nuo ligando, prisijungusio prie šeštojo koordinacinio ryšio, mėsos spalva gali keistis nuo rausvai raudonos deoksimioglobino (anaerobinės sąlygos; neprisijungęs ligandas) spalvos, vyšninės oksimioglobino (divalentė geležis susijungusi su deguonimi) spalvos iki rudos metmioglobino (divalentė geležis oksidavosi į trivalentę; ligandas susijungęs su vandeniu) spalvos (Lindahl ir kt., 2006). Taigi mėsos spalvą lemia mioglobino koncentracija ir jo formų (oksimioglobino – MbO<sub>2</sub>, metmioglobino – MetMb ir deoksimioglobino – Mb) santykis mėsoje (Bendall, Swatland, 1988).

Mėsos fermentacijos proceso metu susidaręs azoto monoksidas taip pat gali jungtis prie laisvojo koordinacinio ryšio ir taip gali susidaryti nitrozomioglobinas, lemiantis būdingą raudoną mėsos produktų spalvą. Terminio apdoravimo metu apofermento dalis denatūruoja, tačiau raudona spalva išlieka dėl nedenatūravusio nitrozohemochromo spalvos (Sánchez-Mainar, Weckx ir Leroy, 2014).

Azoto monoksidas iš nitratų susidaro esant rūgštinei terpei, kai nitratas redukuojamas iki nitrito, o šis vėliau suskaidomas iki azoto monoksido (Hoagland, 1910; 1914). Kai azoto oksidacinis būvis +3, nitritas (+3) disproporcionuoja į NO



(oksidacinis būvis +2) ir nitratą (oksidacinis būvis +5) (1.8 pav.). Dėl didelio reakingumo NO greitai pereina iš vieno būvio į kitą (būdingos grįžtamosios reakcijos). Iš 1.8 pav. matyti, kad veikiant nitritreduktazei iš nitrito gali susidaryti amonio jonas – taip ląstelės apsaugomos nuo nitrito intoksikacijų ir redukuota nikotinamido adenino dinukleotido (NADH) forma keičiasi į oksiduotą šio junginio formą (NAD<sup>+</sup>) (Schlag ir kt., 2007). Be to, oksiduojantis nitrozomioglobiniui, susidaro rudos spalvos metmioglobinas ir nitratas, kurie gali dalyvauti tolesnėse reakcijose (Mancini ir kt., 2005). Taip pat nitrozomioglobine esantis NO gali būti lengvai panaudojamas grandininėms riebalų oksidacijos reakcijoms nutraukti (Skibsted, Mikkelsen ir Bertelsen, 1998). Mėsoje esantys junginiai gali reaguoti su tarpiniais reakingais azoto junginiais ir tik 5–15 % iš nitrito susidarančio azoto reaguoja su mioglobinu (Cassens ir kt., 1978; Cassens, 1990). Didžioji dalis (20–30 %) jungiasi su baltymais, o 1–15 % – su riebalais.



**1.8 pav.** Nitratų redukcija iki nitrito, dažniausiai vykdoma stafilokokų, potencialiai susidarant NO ir formuojantis būdingajai fermentuotos mėsos spalvai (Sánchez-Mainar ir kt., 2016)

Sąlygos, kurios sudaromos dešrų fermentacijos metu, yra svarbios spalvą suteikiančių junginių susidarymo mechanizmui. Šių sąlygų sudarymą lemia šie veiksniai: pH, temperatūra, pigmentų koncentracija, redokso potencialas, nitrato (nitrito) pasiskirstymas matricoje, drėgmės kiekis, naudojami pridėtiniai mikroorganizmai ir jų nitrat- ar nitritredukciniis aktyvumas (Chasco, Lizaso ir Beriain, 1996). Nitrito redukcija ir NO susiformavimas pagreitinamas dalyvaujant reduktoriais, iš kurių praktikoje dažniausiai naudojamas askorbatas (askorbo rūgštis).

Būdingajai mėsos spalvai (priklausomai nuo mėsos rūšies) gauti pakanka nedidelio nitrito kiekio – 2–14 mg/kg. Tačiau dažnai mėsos spalva būna blyški, taškinė ir laikui bėgant gali išnykti. Išsamūs tyrimai parodė, kad mėsos produktų sudėtyje esančio 25–50 mg/kg nitrito pakanka stabiliai mėsos spalvai užtikrinti. Tačiau gali būti, kad su 45–50 mg/kg nitrito mėsos spalva bus ne tokia intensyvi kaip su 150–200 mg/kg šio priedo (Sebranek, Bacus, 2007).

### 1.3.2. Mikroorganizmų vaidmuo nitratų redukcijos procese

Jau XX amžiaus pradžioje mokslininkai, tyrinėdami tradicinius mėsos fermentacijos procesus, nustatė, kad šiuose procesuose dalyvauja mielės, mikroskopiniai grybai, pienarūgštės bakterijos bei stafilokokai ar mikrokokai. O po 1950 metų suintensyvėjo tyrimai, kurių metu buvo pradėtos naudoti startinės kultūros, leidžiančios kontroliuoti fermentacijos procesą, tokiu būdu ne tik pasiekiant aukštą galutinio produkto kokybę, bet ir sumažinant gamybos laiką bei sąnaudas. Parinkus tinkamus mikroorganizmus, fermentacijos metu nitratų (nitritų) kiekį būtų galima sumažinti iki saugios ribos.

Iš 1.8 pav. pateiktų duomenų matyti, kad mikroorganizmai atlieka pagrindinį vaidmenį azoto cikle. Efektyviausiai nitratų redukcijos reakcijose dalyvauja stafilokokai ir mikrokokai (Gøtterup ir kt., 2008), kurie taip pat dalyvauja aromato formavimosi procese mėsos fermentacijos metu. Pienarūgštės bakterijos taip pat gali dalyvauti nitratų redukcijos reakcijose, tačiau jų pagrindinė funkcija yra angliavandenių redukcija ir pieno rūgšties išskyrimas į aplinką. Fermentacijos metu atsiranda mėsos spalvos pilkšvumas arba rusvumas ir įvyksta oksidacinės reakcijos, lemiančios nemalonaus kvapo susidarymą, dėl besikaupiančio  $H_2O_2$ , kurį panaikina stiprių katalazės aktyvumu pasižymintys stafilokokai ar mikrokokai (Hammes, Knauf, 1994).

Tai, kad anaerobinėmis sąlygomis stafilokokai naudoja nitratą kaip galutinį elektronų akceptorį, buvo nustatyta tiriant *Staphylococcus carnosus* ir *Staphylococcus piscifermentans* (Hartmann, Wolf ir Hammes, 1995). To priežastis yra šių mikroorganizmų sudėtyje esantis su membrana sujungtas nitratreduktazės fermentas. Nors gebėjimas redukuoti nitratus yra būdingas *Staphylococcus* genčiai, tačiau jų rūšių nitratreduktazės aktyvumas gerokai skiriasi. Ši savybė dažnai labai aiškiai pasireiškia *Staphylococcus xylosus* ir *Staphylococcus carnosus* rūšyse. Taip pat ji nustatyta ir kitose *Staphylococcus* rūšyse, pvz., *S. simulans* ir *S. sciuri* (Fedtke ir kt., 2002; Gøtterup ir kt., 2008). *S. saprophyticus*, *S. succinus* ir *S. warneri*, priešingai – nitratreduktazės aktyvumu visiškai nepasižymi (Gøtterup ir kt., 2008; Martín, Zohra ir Jean, 2007).

Norint efektyviai vykdyti nitratų (nitritų) redukciją, vien mikroorganizmų aktyvumo nepakanka, būtina atsižvelgti į aplinkos sąlygas. Pavyzdžiui, buvo nustatyta, kad didžiausia nitratų redukcija vyksta eksponentinio mikroorganizmų augimo metu, anaerobinėmis sąlygomis (Neubauer, Götz, 1996; Talon ir kt., 1999). Taip pat svarbus mėsos pH vertės kitimo greitis ir galutinė pH vertė, nes pH vertei esant mažiau kaip 5,2 nitratreduktazės aktyvumas gerokai sumažėja (Talon, Leroy 2001).

### 1.3.3. Nitratų (nitritų) kiekio mažinimas mėsoje

Pridedamų nitratų ( $NaNO_3$  ar  $KNO_3$  druskos) kiekis gali būti mažinamas keičiant juos alternatyviais natūraliais nitrato šaltiniais arba antimikrobinėmis medžiagomis (Amali ir kt., 2015).

Natūralios antimikrobinės medžiagos gali būti išskiriamos iš prieskoninių augalų ir kt. eterinių aliejų, mikroorganizmų (nizinas) ar net gyvūnų (lizocimas)

(Weiss ir kt., 2010). Cui, Gabriel'is ir Nakano (2010) sėkmingai panaudojo natrio nitrito ir prieskonių ekstraktų (šalavijas, gvazdikėliai, muskatas) mišinius slopindami *C. botulinum* augimą (šalavijas) arba inaktyvuodami (gvazdikėliai ir muskatas) šį mikroorganizmą. Ismaiel'is ir Pierson'as (1990) nustatė antibotulininį natrio nitrito (50–100 mg/kg) ir raudonėlių eterinio aliejaus mišinio poveikį. Dar viena alternatyva yra organinių rūgščių (sorbato, laktato, citrato, benzoato) druskos, pasižyminčios antimikrobinu poveikiu, nes keičia vandens aktyvumą, migruoja per ląstelių sienelės, mažina vidinių ląstelių pH vertę ir dalyvauja ląstelių metabolizme slopindamos adenozinotrifosfato (ATF) susidarymą (Maas, Glass ir Doyle, 1989). Vienas iš tokių pavyzdžių – tai kalio sorbatas. Jį panaudojus vietoje dalies natrio nitrito kiaulienos kumpyje, buvo gauta priimtina galutinio gaminio spalva ir skonis (Al-Shuibi, Al-Abdullah, 2002).

Daržovės yra gerai žinomas natūralus nitratų šaltinis, jose šių junginių koncentracija gali būti nuo <1 iki 10 000 mg/kg, priklausimai nuo genotipo ir aplinkos sąlygų: auginimo sąlygų, šviesos intensyvumo, dirvos sudėties, naudojamų trąšų, derliaus nuėmimo ir saugojimo sąlygų (Hord, Tang ir Bryan, 2009). Pagal sukauptą nitratų kiekį daržovės skirstomos į mažai (<1 mg/kg), vidutiniškai (1–100 mg/kg) ir daug (>100 mg/kg) nitratų sukauptiančias (Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Human [IARC], 2010). O nitritų koncentracija daržovėse dažniausiai yra labai maža, neviršijanti 10 mg/kg (Reinik, Tamme ir Roasto, 2009). Norint sukonzentruoti natūraliai daržovėse susikaupusius nitratus iš jų imtos ruošti sultys ir sulčių koncentratai. Sebranek ir Bacus (2006), tirdami komercines morkų, salierų, burokėlių ir špinatų sultis, jose nustatė atitinkamai 171 mg/kg, 2114 mg/kg, 2273 mg/kg ir 3227 mg/kg nitrato.

Sindelar'as ir kt. (2007) buvo vieni pirmųjų, kurie salierų miltelius (0,2 % ir 0,35 %) kartu su startinėmis kultūromis (*Staphylococcus carnosus*) panaudojo gamindami „Frankfurto“ dešreles ir kumpius. Panaudojus tokią alternatyvą buvo gauta tokia pati raudona dešrelių spalva, kaip ir kontrolinių gaminių, kuriuose naudotas nitritas. Buvo padaryta išvada, kad salierų miltelių ir mikroorganizmų mišinys yra puiki alternatyva sintetiniam nitritui mažo skersmens „Frankfurto“ dešrelėse (Sindelar ir kt., 2007). Taip pat mėsos produktuose kaip nitratų šaltinis buvo panaudoti purkštuviniu būdu išdžiovinti pašarinių runkelių koncentratai, nes jų sudėtyje nitratų kiekis buvo 3–3,5 % ir, skirtingai nuo salierų, juose nėra alergenų (Sebranek ir kt., 2012).

Panaudoję liofilizuotų porų miltelius fermentinėms dešroms gaminti, Tsoukalas, Katsanidis ir Marantidou (2011) nustatė, kad jie neturėjo neigiamos įtakos dešrų fermentacijos ir brandinimo procesams. Be to, tokiu būdu paruoštų porų panaudojimas buvo įvardijamas kaip puikus netiesioginio nitrato (nitrito) šaltinis. Mėginiai, kurių sudėtyje buvo 0,84 % porų miltelių ir 75 mg/kg natrio nitrito, pasižymėjo tokiais pat savybėmis, kaip ir mėginiai su 150 mg/kg NaNO<sub>2</sub> (t. y. gauta tokia pati raudona spalva (stabili), tekstūros profilio savybės, juslinės savybės ir bendras priimtumas). Taigi atsiranda galimybė sumažinti natrio nitrito kiekį net 50 % ir pagerinti mitybinę fermentinių dešrų vertę. Bázan-Lugo ir kt. (2011), panaudoję pomidorų tyrę, sumažino nitrito kiekį nuo 150 iki 100 mg/kg ir nustatė intensyvesnę raudoną dešrų spalvą (a\* 7,7–8), palyginti su kontrolinėmis

dešromis (a\* 5,6). Hayes, Canonico ir Allen'as (2013) nustatė, kad kiaulienos suktinukai, paruošti su 50 mg/kg nitrito ir 1,5 % pomidorų išspaudų miltelių, pasižymėjo tokiais pat ar geresnėmis juslinėmis savybėmis, nitrito sumažinimas neturėjo neigiamo poveikio tekstūrai, o mikrobiologinis stabilumas buvo toks pat, kaip ir dešrose, kurių sudėtyje buvo 100 mg/kg nitrito. Horsch ir kt. (2014) salierų sulčių koncentratą panaudojo kumpių gamyboje vietoje nitrito ir nustatė, kad *Listeria monocytogenes* augimas buvo slopinamas ir nepriklausė nuo to, kokio pavidalo buvo nitritas (pridėta druska ar salierų sulčių koncentrato sudėtyje).

Sumažinus nitrito kiekį ar visiškai pakeitus jį kitais komponentais mėsoje pasikeičia mikrofloros sudėtis, lemianti galutinio produkto kokybę ir saugą. Hospital'as, Hierro ir Fernández (2012) Europos Sąjungos aktais reglamentuojamą didžiausią leistiną nitratų ir nitritų kiekį fermentinėse dešrose sumažino atitinkamai 25 % ir 50 % ir nustatė, kad dešrose, kuriose nitrito buvo mažiau, buvo susidarę daugiau *Listeria monocytogenes*. Taip pat buvo nustatyta pasikeitusi lakiųjų junginių sudėtis galutiniame produkte. O Al-Shuibi ir Al-Abdullah'as (2002) nustatė, kad visiškai pakeitus natrio nitritą kalio sorbatu buvo gautas aitrus, vartotojams nepriimtinas kiaulienos kumpio skonis. Taip pat naudojant daržovių koncentratas kaip nitrato šaltinį gali būti jaučiamas pašalinis daržovei būdingas skonis ir aromatas (Amali ir kt., 2015).

#### **1.4. Proteolitiniai pokyčiai mėsos fermentacijos ir brandinimo metu**

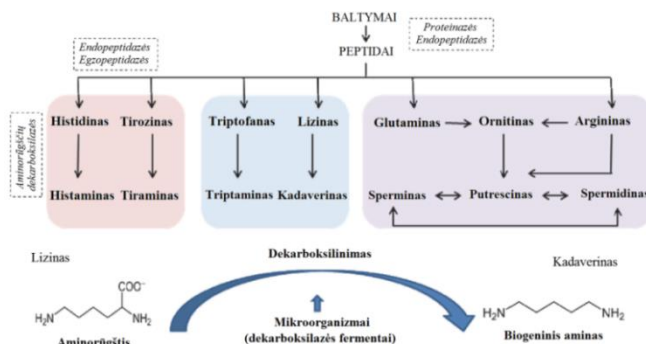
Tarp visų biocheminių ir fizikinių-cheminių procesų, vykstančių mėsos ir mėsos produktų fermentacijos bei brandinimo metu, proteolizė yra pagrindinis procesas, kuriam vykstant kinta baltymai. Šį procesą gali sukelti tiek endogeniniai mėsoje esantys, tiek mikrobinės kilmės fermentai (Latorre-Moratalla ir kt., 2012). Kai kurie tyrėjai pradinę mėsos baltymų hidrolizę sieja su endogeniniais fermentais, ypač katepsiniais, išskiriančiais mažos molekulinės masės peptidus ir laisvasias aminorūgštis, o mikrobinės kilmės fermentai yra atsakingi už vėlesnį peptidų skilimą iki laisvųjų aminorūgščių. Išsiskyrusios laisvosios aminorūgštys prisideda prie būdingojo fermentinių mėsos gaminių skonio formavimo, pvz., laisvoji glutamo rūgštis pasižymi specifiniu „umami“ (Lioe, Takara ir Yasuda, 2006), o alaninas – saldžiu skoniu (Aro-Aro ir kt., 2010; Beriain, Lizaso ir Chasco, 2000; Freiding ir kt., 2011; Ordóñez ir kt., 1999). Būdinga tai, kad miofibrilinių baltymų skaidymas priskiriamas mėsos endogeniniams, o sarkoplazminių – mikroorganizmų fermentams (Talon, Leroy, 2014). Daugelis pienarūgščių bakterijų, daugiausia laktobakterijos, pasižymi proteolitiniu ir aminopeptidazės aktyvumu (Freiding ir kt., 2011; Sanz ir kt., 1999).

Tuo pačiu metu mikroorganizmai naudoja išsiskyrusias laisvasias aminorūgštis kaip substratus tolesnėms reakcijoms (deamininimas, dehidrinimas, transamininimas), daugelis kurių susijusios su skonio ir aromato junginių, būdingų mėsos produktams, susiformavimu. Tačiau, be minėtų reakcijų, tam tikrų aminorūgščių dekarboksilinimas, sukliamas mikrobinių fermentų, lemia nepageidaujimų biogeninių aminų susidarymą (Latorre-Moratalla ir kt., 2017). Biogeniniai aminai (kadaverinas, histaminas, putrescinas, triptaminas, tiraminas ir

feniletilaminas) nepageidaujama laikomi dėl savo toksiško poveikio, kuris skiriasi priklausomai nuo biogeninio amino rūšies. Toksikologiniu požiūriu pats svarbiausias yra histaminas, kuris gali sukelti dilgėlinę, hipotenziją, galvos skausmą, veido paraudimą, pilvo spazmus, cheminį apsinuodijimą ir kitas sveikatos problemas (Hernández-Jover ir kt., 1996; Latorre-Moratalla ir kt., 2008; Shalaby, 1996). Tiraminas gali sukelti migreną ir hipertenzinę krizę jautriems asmenims (Latorre-Moratalla ir kt., 2008). O putrescinas ir kadaverinas žinomi kaip sustiprinantys toksinį histamino poveikį. Be to, putrescinas ir kadaverinas gali būti naudojami kaip cheminiai žaliavos ir gamybos proceso higienos indikatoriai, nes jų susikaupimas yra siejamas su gedimo mikroorganizmų aktyvumu (Ikoni ir kt., 2010).

Dėl didelio mikroorganizmų ir baltymų kiekio fermentuotuose mėsos produktuose padidėja tikimybė susidaryti biogeniniams aminams (EFSA, 2011). Svarbų vaidmenį atlieka ir technologinių bei išorės veiksnių sąveika, sudaranti palankias sąlygas mikroorganizmų, pasižyminčių dekarboksilazės aktyvumu, augimui ir veiklai. Virgili ir kt. (2007) nustatė teigiamą ryšį tarp susidariusių laisvųjų aminorūgščių ir biogeninių aminų kiekio vytintame kumpyje, o Lázaro de la Torre ir kt. (2013) išanalizavo biogeninių aminų susidarymo iš laisvųjų aminorūgščių reakcijas (1.9 pav.).

Europoje jokių konkrečių teisės aktų, reglamentuojančių biogeninių aminų kiekį mėsos gaminiuose, nėra. Tačiau histamino kiekis reglamentuojamas žuvininkystės produktuose, pateiktuose rinkai jų tinkamumo vartoti laikotarpiu (Europos Sąjungos Komisijos Reglamentu (EB) 1441/2007). Papavergou, Savaidis ir Ambrosiadis (2012), tirdami biogeninių aminų kiekį fermentinėse dešrose, parduodamose mažmeninėse Graikijos rinkose, nustatė, kad 28 % visų mėginių histamino kiekis viršijo žuvies produktuose reglamentuojamą 100 mg/kg kiekį. O tiraminas ir putrescinas buvo fermentinėse dešrose vyraujantys biogeniniai aminai – jų kiekis kito atitinkamai nuo 0 iki 510 mg/kg ir nuo 0 iki 505 mg/kg. Latorre-Moratalla ir kt. (2008) nustatė, kad Europoje pagamintose tradicinės fermentacijos dešrose vyraujantis biogeninis aminas yra tiraminas.



1.9 pav. Biogeninių aminų susidarymas (Lázaro de la Torre ir kt., 2013)

## 1.5. Literatūros apžvalgos apibendrinimas

Pastaruoju metu vis daugėja mokslinių tyrimų, kuriais mažinamas sintetinių maisto priedų kiekis mėsos produktuose ar ieškoma įvairių alternatyvų jiems pakeisti. Šiame kontekste svarbų vaidmenį atlieka natūralūs komponentai, išgaunami iš vaisių ir daržovių. Vietoje nitrinės druskos mėsos produktų gamyboje siūloma naudoti daržoves, kurios yra natūralus nitratų šaltinis. Tačiau tokiu atveju būtina naudoti nitratredukcines savybėmis pasižyminčius mikroorganizmus, skaidančius nitratus iki nitrito ir kitų junginių. Daržovės mėsos gaminiuose naudojamos kaip funkciniai priedai, pasižymintys antioksidacinėmis, antimikrobinėmis savybėmis, taip pat gerinantys vandens rišlumo gebą. Dėl pastarosios ypatybės padidėja gaminio išeiga. Kaip nitratų šaltinį daržoves naudojo Sebranek'as ir Bacus'as (2006), Sindelar'as ir kt. (2007), Horsch ir kt. (2014), tačiau tik gamindami „Frankfurto“ dešreles ar kumpius. Fermentinėse dešrose buvo naudojami tik liofilizuoti porai (Tsoukalas ir kt., 2011). Pažymėtina, kad nė viename iš paminėtų autorių darbų nebuvo tirti mioglobino formų pokyčiai. Taip pat kol kas dar niekas nepublikavo duomenų apie pastarnokų ar petražolių, kaip potencialaus nitratų šaltinio, panaudojimą mėsos sistemose.

Atsiranda vis daugiau tyrimų, kuriuose sintetinius maistinius dažiklius bandoma keisti natūraliais pigmentais. Tačiau pagrindiniu natūralių pigmentų panaudojimą maisto pramonėje ribojančiu veiksniu tampa jų jautrumas aplinkos poveikiui. Todėl yra ieškoma technologijų, kurias taikant būtų galima natūralius pigmentus stabilizuoti ar apsaugoti, kad jie neprarastų savo funkcinių savybių. Šiam tikslui įgyvendinti siūloma įvairių technologijų, kurių viena yra įkapsuliavimas dvigubosiose emulsijose. Tyrimų, susijusių su dvigubųjų emulsijų sudėties ir gamybos būdo optimizavimu, tik daugėja. Taip pat daug dėmesio skiriama šių emulsijų stabilizavimui ir bioaktyviųjų junginių įkapsuliavimo jose efektyvumo didinimui. Tai lemia įvairių veiksnių visumą. Svarbiausi iš šių veiksnių – emulsiklių priedai ir gamybos būdas, turintys įtakos didelių aliejaus lašelių susidarymui šiose emulsijose, dėl kurių emulsijos laikymo metu destabilizuojamos ir išsiskiria įkapsuliuoti junginiai. Naudojant „dinaminę membraną“ gali būti gaunamos dvigubosios emulsijos su mažesniais aliejaus lašeliais, pasižyminčios didesniu įkapsuliavimo efektyvumu. Dvigubosios emulsijos jau buvo ruoštos taikant šį gamybos būdą, tačiau emulsijos komponentai buvo netinkami maistui. Dvigubųjų emulsijų stabilizavimas buvo tiriamas vertinant emulsiklių sąveiką tarpfazyje ir osmosinio slėgio poveikį. Informacijos apie potencialų šių emulsijų panaudojimą taip pat labai nedaug, ir keliuose tyrimuose, kuriuose dvigubosios emulsijos jau buvo panaudotos kaip gyvūninių riebalų pakaitalas, nepaisant gerų vandens ir riebalų rišlumo bei tekstūros savybių, buvo nustatytas statistškai reikšmingas ( $p < 0,05$ ) raudonos spalvos sumažėjimas. Šios problemos sprendimo būdo literatūroje kol kas nebuvo pasiūlyta.

## 2. DARBO METODIKA

### 2.1. Tyrimams naudotos medžiagos

#### *Medžiagos tyrimo objektams gaminti*

Burokėlių sultys, išspausintos iš burokėlių (*Beta vulgaris* subsp. *vulgaris* (*conditiva*) (kilmės šalis – Lietuva). Lapkotiniai salierai (*Apium graveolens* var. *dulce*), porai (*Allium ampeloprasum* L.) ir pastarnokai (*Pastinaca sativa*), užauginti Bابتuose pagal Lietuvos agrarinių ir miškų mokslo centro filialo Sodininkystės ir daržininkystės instituto patvirtintas ir naudojamas auginimo technologijas (kilmės šalis – Lietuva). Lipofilinis emulsiklis poliglicerolio poliricinoleatas (PGPR) (*Danisco*, Kopenhaga, Danija). Saulėgrąžų aliejus (100 % rafinuotas, *Jumbo*, Nyderlandai). Rafinuotas rapsų aliejus (kilmės šalis – Lenkija). Išrūgų baltymų izoliato (*Lacprodan DI-9213*, *Arla Foods Ingredients Group*, Vibis, Danija) sudėtis: 89,7±0,3 % baltymų, 6±0,1 % drėgmės, 4±0,1 % mineralinių medžiagų, 0,2 % ir 0,1 % laktozės. Natrio karboksimetilceliuliozės grynumas ≥99,5 %, pakeitimo laipsnis 0,6–0,95, klampa (2 %, 25 °C) 1000–3000 mPa·s, 1 % vandeninio tirpalo pH 6,5–8 (*Carl ROTH*, Nr. 3333,2, Karlsrūhė, Vokietija). NaCl (grynumas ≥99,7 %, laisvųjų rūgščių (HCl) daugiausia 0,0025 %, Pb daugiausia 0,0005 %, (*Eurochemicals*, Vilnius, Lietuva). Gliukozė, kurios grynumas ≥99,5 % (*Sigma-Aldrich*, Vokietija).

Mėsos sistemoms su dvigubųjų emulsijų priedu paruošti naudota mėsos žaliava, kurios cheminė sudėtis pateikta 2.1 lent.

**2.1 lentelė.** Mėsos sistemoms su dvigubųjų emulsijų priedu gaminti naudotos kiaulienos žaliavos cheminė sudėtis

Naudota žaliava	Cheminės sudėties komponentų kiekis, %				
	Drėgmė	Baltymai	Riebalai	Mineralinės medžiagos	Angliavandeniai
Kiaulienos kumpis <sup>1</sup>	74,38	19,00	3,98	0,99	1,06
Kiaulienos kumpis <sup>2</sup>	72,52	18,76	6,03	1,23	1,23
Lašiniai <sup>1,2</sup>	~8	~2	>90	–	–

<sup>1</sup> kilmės šalis – Lietuva, <sup>2</sup> kilmės šalis – Nyderlandai

Fermentuojamoms mėsos sistemoms paruošti naudotas kiaulienos kumpis (kilmės šalis – Lietuva), kurio cheminė sudėtis: 74,48 % drėgmės; 19,58 % baltymų, 3,76 % riebalų; 1,1 % mineralinių medžiagų; 1,07 % angliavandenių. Liofilizuotos *Staphylococcus xylosus* ir *Staphylococcus carnosus* kultūros (*Chr-Hansen*, Hiorsholmas, Danija). Analitiškai gryni NaNO<sub>2</sub> ir NaNO<sub>3</sub> (*Penta*, Praha, Čekija). Šaltai rūkytoms dešroms su skirtingais liofilizuotų daržovių priedais paruošti naudotas kiaulienos kumpis ir kiaulienos nugaros lašiniai (kilmės šalis – Lietuva). Nustatyta cheminė kumpio sudėtis: 73,6 % drėgmės, 19,75 % baltymų, 5,26 % riebalų, 0,91 % mineralinių medžiagų ir 0,46 % angliavandenių. Lašinius sudarė >90 % riebalų, ~2 % baltymų ir ~8 % drėgmės. Naudotas startinių kultūrų *Staphylococcus xylosus* ir *Staphylococcus carnosus* mišinys (*Pokelstart*, *Moguntia*,

Bazelis, Šveicarija); *Staphylococcus carnosus*, *Staphylococcus xylosus* ir *Pediococcus pentosaceus* mišinys (*Bessastar*, *Moguntia*, Bazelis, Šveicarija). Valgomoji druska (NaCl) *Suprasel Salt* (*AkzoNobel*, Geteborgas, Švedija), malti juodieji pipirai (*Moguntia*, Bazelis, Šveicarija) ir malta kalendra (*Moguntia*, Bazelis, Šveicarija).

Šaltai rūkytoms dešroms su liofilizuotais salierais gaminti naudotos liesos kiaulienos nugarinės (kilmės šalis – Lietuva) cheminė sudėtis: 73,23 % drėgmės, 20,08 % baltymų, 4,47 % riebalų, 1,07 % mineralinių medžiagų, 1,14 % angliavandenių). Kietųjų kiaulienos nugaros lašinių (kilmės šalis – Lietuva) cheminė sudėtis: >90 % riebalų, ~2 % baltymų ir ~8 % drėgmės.

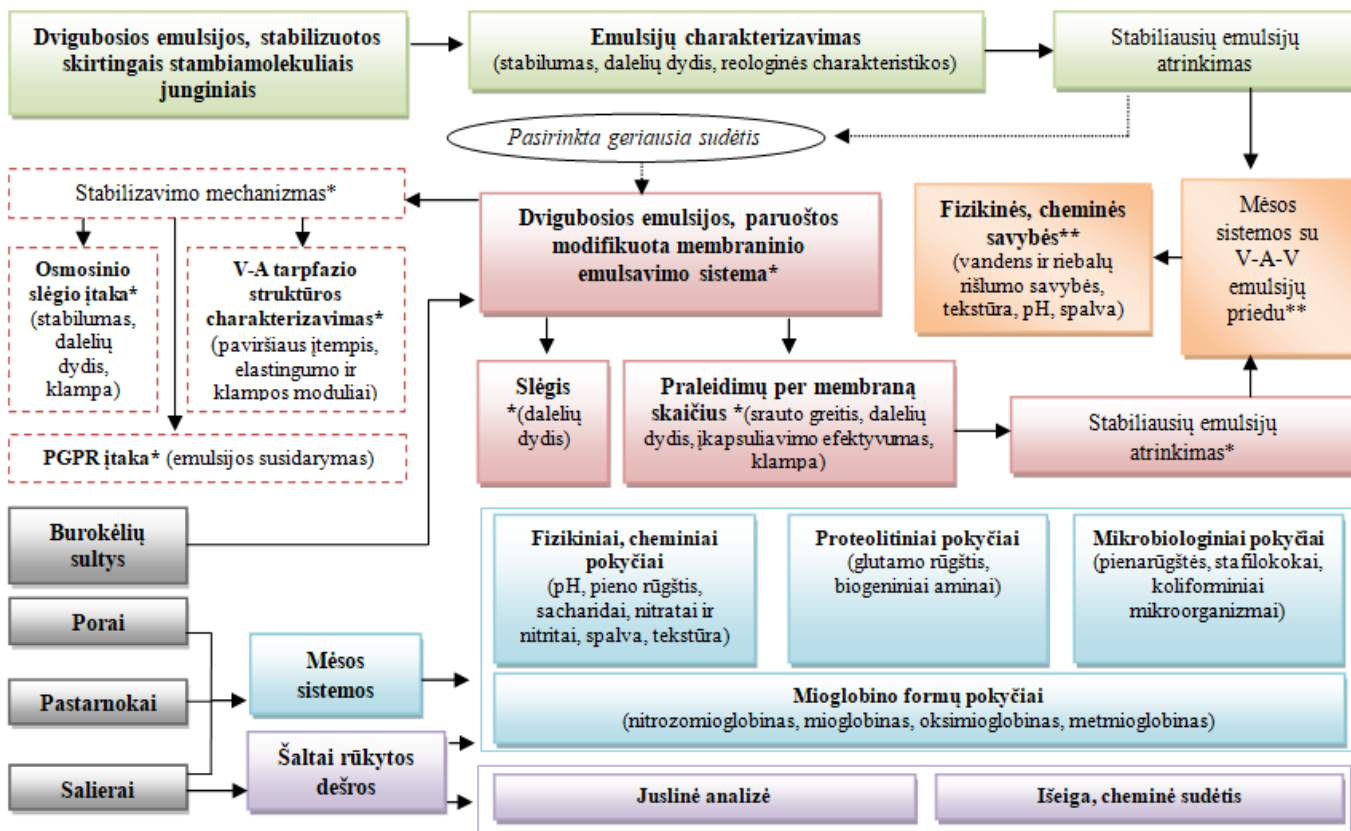
### *Medžiagos tyrimams*

Mezofilinių mikroorganizmų kiekiui nustatyti naudota terpė *MRS Agar with Tween80* (*Biolife*, Milanas, Italija). Koagulazę gaminančių stafilokokų kiekiui nustatyti naudota *Baird Parker Agar Base* (*Ref 610004*, *LiofilChem*, Milanas, Italija) pridedant *Egg Yolk Tellurite Emulsion* (*LiofilChem*, Milanas, Italija). Koliforminių mikroorganizmų kiekiui nustatyti naudota agarizuota terpė (*Violet Red Bile Lactose Agar* (*Ref 610058*), *LiofilChem*, Italija).

1,7-diamino heptanas (98 % grynumas) ir dansilo chloridas ( $\geq 99$  %), įsigyti iš *Sigma-Aldrich* (Vokietija); kadaverino (95 % grynumas), tiramino (99 % grynumas), histamino dihidrochloridas (98 % grynumas), spermio (97 % grynumas), putrescino dihidrochlorido (97 % grynumas) ir spermidino (99 % grynumas) standartai, įsigyti iš *Sigma-Aldrich* (Vokietija). 1 M perchloro rūgštis (*Eurochemicals*, Vilnius), KOH ir NaOH (*ReaChem*, Bratislava, Slovakija), acetonas (*Penta*, Praha, Čekija); acetonitrilas (*Penta*, Praha, Čekija); amonio acetatas (*Sigma-Aldrich*, Vokietija). Sulfanilamidas (98 % grynumas) iš *AcrosOrganics* (Belgija). Natrio fosfatinis buferis (0,04 M, pH 6,8), įsigytas iš *Sigma-Aldrich* (Didžioji Britanija). N-1-naftiletildiamino dihidrochloridas (*AcrosOrganics*, Belgija).

2.1 pav. pateikta tyrimų schema, kurioje nurodomi tyrimų objektai ir analizuotos jų savybės, taip pat nurodoma tyrimų atlikimo vieta.





2.1 pav. Tyrimų schema; \* tyrimai atlikti Vageningeno universitete (Nyderlandai), kiti tyrimai atlikti Kauno technologijos universitete, Maisto mokslų ir technologijos katedroje (Lietuva); \*\* tyrimai atlikti abiejuose universitetuose.

## 2.2. Tyrimų objektai

### 2.2.1. Burokėlių sulčių paruošimas ir stabilumo įvertinimas

Naudojant lėtaeigę sulčiaspaudę *Zelmer JP 1500* (Varšuva, Lenkija) iš burokėlių buvo išspausintos sultys. Norint išskirti iš sulčių netirpias kietąsias daleles jos 10 min buvo centrifuguojamos 3000 aps./min greičiu centrifuga (*Velocity 14, Dynamica*, Dytikonas, Šveicarija) ir filtruojamos. Iki  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$  sušaldytos sultys buvo liofilizuojamos įrenginiu *Zirbus 3x4x5* (Bad Grundas, Vokietija), mažinant slėgį nuo 0,2 iki 0,01 mbar, atitinkamai didinant lėkštės temperatūrą nuo 20 iki  $35\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Bendra liofilizacijos trukmė  $\sim 48$  h. Liofilizuoti sulčių milteliai laikyti hermetiškai uždarytuose induose tamsoje. Prieš stabilumo tyrimą liofilizuotų burokėlių sulčių milteliai buvo rehidratuoti distiliuotu vandeniu santykiu 1:9 (siekiama atkurti įprastinę sulčių koncentraciją). Kad būtų galima įvertinti burokėlių sulčių stabilumą, jos (rehidratuotos sultys) buvo termiškai apdorojamos  $70\text{ }^{\circ}\text{C}$  temperatūroje 30 min ir laikomos šviesoje kambario temperatūroje 14 parų. Išmatuota rehidratuotų ir termiškai apdorotų sulčių šviesos sugertis intervale nuo 380 iki 700 nm, naudojant spektrofotometrą *DU 720* (*Beckman coulter*, Vurdenas, Nyderlandai).

### 2.2.2. Pirminių V-A emulsijų paruošimas

Pirminės V-A emulsijos buvo paruoštos nenaudojant jokios mechaninės energijos, t. y. statinėmis sąlygomis, kurios gali būti įvardijamos kaip „savaiminis emulsavimas“. Aliejaus fazei paruošti skirtingas poliglicerolio polirinoleato kiekis (1,5 g/100 g; 3 g/100 g ir 6 g/100 g) buvo sumaišytas su saulėgrąžų aliejumi ir tirpinamas  $50\text{ }^{\circ}\text{C}$  temperatūroje 15 min, vėliau atvėsintas iki kambario temperatūros ( $\sim 20\text{ }^{\circ}\text{C}$ ). Kaip vandens fazę naudotas distiliuotas vanduo. PGPR koncentracijos pasirinktos remiantis kitų autorių tyrimais.

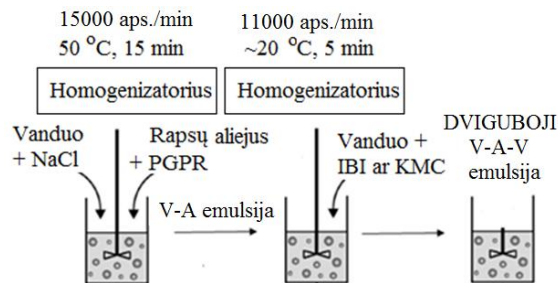
V-A emulsijos paruošimas: vanduo skirtingu santykiu – 20:80; 40:60 ir 50:50 – buvo švelniai lašinamas į aliejų, kuriame buvo ištirpintas skirtingas kiekis emulsiklio (0,5 %, 3 % ir 6 %). Kaip kontrolinis mėginys naudotas aliejus be PGPR. Tokios paruoštos sistemos (nemaišomos ir niekaip kitaip mechaniškai neveikiamos) buvo paliktos kambario temperatūroje 24 val.

### 2.2.3. Dvigubųjų emulsijų, stabilizuotų skirtingos koncentracijos IBI ir KMC tirpalais, gamyba dvipakopės homogenizacijos būdu

Dvigubosios emulsijos paruoštos dvipakopės homogenizacijos būdu (2.2 pav.) naudojant įrenginį *Ultra-Turrax* (*IKA® T-18 basic*, Štaufenas, Vokietija). Joms stabilizuoti naudoti skirtingos koncentracijos išrūgų baltymų izoliato (IBI) ir natrio karboksimetilceliuliozės (KMC) tirpalai išorinėje vandens fazėje. Emulsijoms gaminti naudotos medžiagos: distiliuotas vanduo, rafinuotas rapsų aliejus, lipofilinis emulsiklis PGPR, hidrofiliniai emulsikliai IBI ir KMC bei natrio chloridas.

Pirmiausia paruošta vidinė ( $V_1$ ) vandens fazė. Distiliuotame vandenyje ištirpinta 0,5 g/100 g NaCl (kambario temperatūroje,  $\sim 20^\circ\text{C}$ ). Aliejaus (A) fazei paruošti 6 % lipofilinio emulsiklio (PGPR) buvo tirpinama rafinuotame rapsų aliejuje  $50^\circ\text{C}$  temperatūroje 15 min maišant magnetine maišykle ir atvėsinta iki kambario temperatūros ( $20^\circ\text{C}$ ). Lipofilinio emulsiklio koncentracija pasirinkta remiantis literatūra – būtent toks PGPR kiekis daugelio autorių naudojamas dvigubosioms emulsijoms stabilizuoti. Taip pat paruoštos šešios skirtingos išorinės vandens ( $V_2$ ) fazės, t. y. trijų skirtingų koncentracijų IBI tirpalai (0,5 %, 1 % ir 1,5 %) ir trijų skirtingų koncentracijų KMC tirpalai (0,25 %, 0,3 % ir 0,35 %). Hidrofiliniai emulsikliai buvo tirpinami magnetinėje maišyklėje kambario temperatūroje, kol visiškai ištirpo (2–3 h). Autoriai, tirdami dvigubųjų emulsijų stabilumą, joms gaminti naudojo didelės koncentracijos (2–8 %) IBI tirpalus, būtent todėl šiame eksperimente IBI koncentracijos buvo pasirinktos mažesnės (0,5–1,5 %). O KMC koncentracijos buvo pasirinktos atsižvelgus į kitų autorių dvigubosioms emulsijoms stabilizuoti naudotas koncentracijas.

$V_1$ -A emulsijos paruošimas: pipete į aliejaus (A) fazę buvo lašinama vandens ( $V_1$ ) fazė (vandens ir aliejaus fazių masių santykis 20:80) ir homogenizuojama naudojant *Ultra-Turrax* homogenizatorių (*IKA® T-18 basic*, Štaufenas, Vokietija)  $50^\circ\text{C}$  temperatūroje 15 min 15 000 aps./min greičiu. Gauta pirminė emulsija atvėsinta iki kambario temperatūros ( $20^\circ\text{C}$ ). Atvėsinta  $V_1$ -A emulsija buvo lėtai lašinama į vandens  $V_2$  fazę santykiu 40:60 (masių santykis) ir homogenizuojama 11000 aps./min greičiu 5 min kambario temperatūroje. Gautos 6 skirtingos dvigubosios emulsijos tolesniems tyrimams atlikti.



2.2 pav. Dvigubosios emulsijos paruošimo dvipakopės homogenizacijos būdu schema

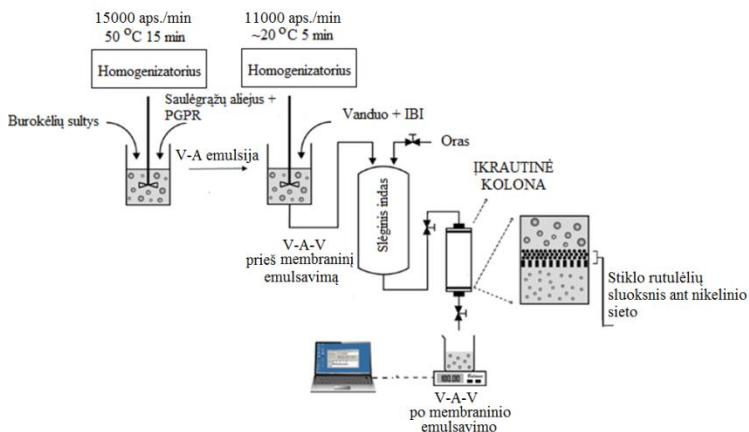
#### 2.2.4. Dvigubųjų emulsijų su įkapsuliuotomis burokėlių sultimis gamyba modifikuoto membraninio emulsavimo būdu

Dvigubosios emulsijos su įkapsuliuotomis burokėlių sultimis buvo pagamintos taikant modifikuotą membraninį emulsavimą pagal Sahin'o ir kt. (2014) publikuotą metodiką. Dvipakopės homogenizacijos būdu naudojant *Ultra-Turrax* homogenizatorių (*IKA® T-18 basic*, Štaufenas, Vokietija) tyrimui buvo paruošta 400 ml dvigubosios  $V_1$ -A- $V_2$  emulsijos, ji vėliau perleista per modifikuotą membraninę sistemą (2.3 pav.). Dviguboji emulsija buvo paruošta pagal 2.2.3 skyrelyje aprašytą metodiką. Kitaip nei prieš tai pirminei vandens fazei ( $V_1$ ) paruošti, liofilizuotos burokėlių sultys buvo rehidratuotos distiliuotu vandeniu

santykiu 1:9 (siekiant atkurti įprastinę sulčių koncentraciją) ir santykiu 1:4 (siekiant gauti du kartus koncentruotesnes sultis). Taip buvo paruoštos dvi rūšių pirminės vandens fazės ( $V_1$ ). O aliejaus fazei paruošti naudotas ne rapsų, o rafinuotas saulėgrąžų aliejus. Vidutinis pirminės  $V_1$ -A emulsijos vandens lašelių dydis  $d_{32}$  buvo 230 nm (santykinis lašelių pasiskirstymo rodiklis 1,8). Vidutinis dvigubosios emulsijos riebalų lašelių dydis  $d_{32}$  buvo 32  $\mu\text{m}$ , santykinis lašelių pasiskirstymo rodiklis – 1,3.

Taip paruošta emulsija perleista per slėginį indą, sujungtą su oro padavimo mechanizmu ir membraniniu moduliu. Membraninį modulį sudarė kolonėlė, pagaminta iš nerūdijančio plieno (pagaminta mechaninėse Vageningeno universiteto dirbtuvėse), kurios apačioje tarp dviejų guminių sandarinimo žiedų tvirtinamas nikelinis sietas (*Veco B. V.*, Erbekas, Nyderlandai). Ant nikelinio sieto užpiltas pasvertas reikiamas kiekis hidrofilinių stiklo rutulėlių (100HFL, *Pneumix SMG-AF*), taip sudarytas tam tikro aukščio šių rutulėlių sluoksnis. Nikelinis sietas membraniniame modulyje atlieka atraminę funkciją. Eksperimentui naudotas 2 mm aukščio stiklo rutulėlių ( $d_{32} \approx 71 \mu\text{m}$ ) sluoksnis. 400 ml paruoštos dvigubosios  $V_1$ -A- $V_2$  emulsijos įpilta į slėginį indą ir nustatytas reikiamas slėgis sistemoje (200–500 kPa). Emulsavimo procedūra pradėta atidarant kolonėlėje esantį vožtuvą, ir dviguboji emulsija, pratekėjusi per membraninį modulį (po homogenizacijos), surinkta į kolbą ant svarstyklių, sujungtą su kompiuterine įranga. Ši procedūra buvo kartojama keletą kartų (iki 5) ir taip buvo įvertinta ne tik skirtingo slėgio, bet ir praleidimo skaičiaus įtaka dvigubųjų emulsijų savybėms.

Taip pat siekiant įvertinti osmosinio slėgio įtaką dvigubųjų emulsijų stabilumui ir klampai jos buvo paruoštos su skirtinga gliukozės koncentracija (0,5 %, 1 % ir 3 %) išorinėje vandens fazėje taikant dvipakopę homogenizaciją pagal anksčiau aprašytą metodiką.



**2.3 pav.** Dvigubųjų emulsijų su įkapsuliuotomis burokėlių sultimis paruošimo ir modifikuoto membraninio emulsavimo schema

### 2.2.5. Mėsos sistemų su dvigubųjų emulsijų priedu paruošimas

Mėsos sistemos su dvigubųjų emulsijų priedu buvo pagamintos pagal Cofrades ir kt. (2013) metodiką. Atliktos dvi bandymų serijos (pateikta 2.1 pav. tyrimų schemeje). Pirmą seriją – buvo panaudotos stabiliausios dvigubosios emulsijos, t. y. V<sub>1</sub>-A-V<sub>2</sub> emulsija, stabilizuota 0,5 % IBI, ir V<sub>1</sub>-A-V<sub>2</sub> emulsija, stabilizuota 0,35 % KMC. Antra serija – panaudotos stabiliausios dviem skirtingais būdais (dvipakope homogenizacija ir modifikuotu membraniniu emulsavimu) paruoštos dvigubosios emulsijos, stabilizuotos 0,5 % IBI, kurių vidinėje vandens fazėje įkapsuliuotos burokėlių sultys.

Mėsos sistemos buvo paruoštos su 11 % (įprastinis kiekis) ir 7 % (sumažintas kiekis) riebalų. Kaip kontrolinės naudotos mėsos sistemos su atitinkamu kiekiu kiaulienos lašinių. 2.1 lent. pateikta naudotų mėsos žaliavų cheminė sudėtis, o 2.2 lent. – mėsos sistemų receptūros.

Gamybos procesas: liesa kiauliena buvo homogenizuojama 1 min ledais šaldomame smulkintuve (*Bosch MSM66110*, Štutgartas, Vokietija). Tada pusė visų komponentų (vanduo, NaCl ir atitinkamai kiaulienos riebalai ar dviguboji V<sub>1</sub>-A-V<sub>2</sub> emulsija) sudėti į smulkintuvą ir homogenizuoti dar 1 min. Vėliau likusi dalis komponentų sudėti į smulkintuvą ir homogenizuoti dar 1 min. Galiausiai bendra masė homogenizuota dar 1–2 min. Galutinė paruoštos masės temperatūra neviršijo 15 °C. Lygiomis dalimis (~40 g) masė sudėta į plastikinius mėgintuvėlius (skersmuo 2,5 cm, tūris 50 ml), hermetiškai uždaryta ir centrifuguota (2500 g, 4 °C, 15 min) centrifugoje *Velocity 14* (*Dynamica*, Dytikonas, Šveicarija) tokiu būdu pašalinant oro burbulėlius iš faršo masės. Mėgintuvėliai po centrifugavimo patalpinti į vandens vonią (*Fisher Scientific Isotemp 228*, Heivardas, Kalifornija). Joje buvo laikomi 70 °C temperatūroje ir termiškai apdorojami 30 min. Po terminio apdorojimo mėginiai atvėsinti iki 4±1 °C temperatūros ir naudoti tolesniems tyrimams. Paruoštų mėsos sistemų santrumpos pateiktos 2.2 lent.

**2.2 lentelė.** Mėsos sistemų su skirtingomis dvigubosiomis emulsijomis receptūra

Mėginiai	Komponentų kiekis, g				
	Kiaulienos kumpis	Lašiniai	Vanduo	Dviguboji emulsija	NaCl
Kontrolė-7	362	38,4	175	–	11,52
Kontrolė-11	358	65,5	152	–	11,52
MS-DE-7	362	–	92,3	122	11,52
MS-DE-11	358	–	20,9	197	11,52

### 2.2.6. Liofilizuotų lapkotinių salierų, pastarnokų, porų paruošimas ir charakterizavimas

Lapkotiniai salierai, porai ir pastarnokai kruopščiai nuplauti ir supjaustyti kubeliais. Iš dalies lapkotinių salierų lėtaeige sulčiaspaude *Zelmer JP 1500* (Varšuva, Lenkija) išspaustos sultys. Paruoštos daržovės ir sultys buvo sušaldytos iki –18 °C temperatūros, o vėliau liofilizuojamos įrenginiu *Zirbus 3x4x5* (Bad

Grundas, Vokietija), mažinant slėgį nuo 0,2 iki 0,01 mbar, atitinkamai didinant lėkštės temperatūrą nuo 20 iki 35 °C. Bendra liofilizacijos trukmė ~48 h. Po liofilizacijos daržovės susmulkintos įrenginiu *Philips HR2096/00* (Amsterdamas, Nyderlandai) iki miltelių ir persijotos per 2 mm skersmens akučių sietą (*Retsch Test sieve No. 45, Retsch, Hanas, Vokietija*). Eksperimentams paruošti liofilizuoti daržovių produktai buvo laikomi hermetiškai uždarytuose induose, kad juose nepadidėtų drėgmė. Daržovių produktams charakterizuoti standartiniais metodais buvo nustatyta liofilizuotų daržovių produktų cheminė sudėtis, antioksidacinės savybės ir spalva. Gauti rezultatai pateikti 2.3 lent.

**2.3 lentelė.** Liofilizuotų daržovių produktų cheminė sudėtis, antioksidacinės savybės, spalva

Liofilizuoti daržovių produktai	Salierų lapkočiai (SLap)	Salierų sultys (SSul)	Porai (Por)	Pastarnokai (Pas)
Pagrindinių komponentų kiekis (g/100 g)				
Drėgmė	5,61±0,07b	7,73±0,07d	4,90±0,03a	6,88±0,15c
Baltymai	4,81±0,00a	7,23±0,16c	6,39±0,13b	7,17±0,10c
Riebalai	1,11±0,35b	0,54±0,19a	2,55±0,12c	0,81±0,30b
Mineralinės medžiagos	9,15±0,03c	9,76±0,27c	4,31±0,09b	2,60±0,24a
Bendrasis angliavandenių kiekis, iš kurių:	79,32±0,07b	74,74±0,46a	81,85±0,3c	82,54±0,65c
Invertuotiųjų sacharidai	18,60±0,93b	24,50±1,23d	14,80±0,74a	21,20±1,06c
Sacharozė	9,59±0,48b	7,69±0,38a	24,70±1,24c	46,62±2,33d
Kiti	51,13±2,56c	42,55±2,13b	42,35±2,11b	14,72±0,80a
Kitų komponentų kiekis (mg/kg)				
Nitratai	4233,33±68,86c	4593,33±64,04d	3810,00±151,33a	4015,67±37,63b
Vitaminas C	760,0±38,0a	800,0±40,0a	760,0±38,0a	800,0±40,0a
Laisvoji glutamo rūgštis	1852,7±92,6b	3462,5±173,1d	1581,7±79,1a	2682,6±134,1c
Bendrasis fenolinių junginių kiekis	1593,0±79,7c	1446,0±72,3b	471,0±23,6a	524,0±26,2a
DPPH, TEAC <sup>1</sup>	6,35±0,32d	4,70±0,24c	1,58±0,08a	2,20±0,11b
Spalvos charakteristikos, NBS vienetais				
L*	79,16±0,27 b	62,60±0,11 a	92,30±0,23d	89,44±0,37c
a*	-6,63±0,03b	-4,43±0,03c	-1,94±0,02d	-7,45±0,04a
b*	20,90±0,12b	29,24±0,03c	18,61±0,09a	18,58±0,16a

Rezultatai pateikti kaip vidurkiai su standartiniais nuokrypiais; skirtingos mažosios raidės (a–d) rodo statistiškai reikšmingus ( $p < 0,05$ ) skirtumus tarp verčių eilutėse. <sup>1</sup>TEAC – antioksidacinis aktyvumas, išreiškiamas troloksui ekvivalentiška antioksidacine geba.

### 2.2.7. Fermentuojamų mėsos sistemų paruošimas

Mėsos sistemos paruoštos pagal 2.4 lent. pateiktą receptūrą. Paruoštos trys kontrolinės sistemos (K, K-X ir K-C) su 150 mg/kg NaNO<sub>3</sub>; K – fermentuota be pridėtinių startinių kultūrų, K-X – su *Staphylococcus xylosus*, o K-C – su

*Staphylococcus carnosus*. Tokia kontrolinių mėginių receptūra buvo pasirinkta siekiant įvertinti ne tik skirtingų daržovių produktų, bet ir stafilokoko rūšies (*St. carnosus* ir *St. xylosus*) įtaką mėsos fermentacijos procesui. Kitos mėsos sistemos buvo pagamintos su 3 % liofilizuotų pastarnokų, porų, lapkotinių salierų ir jų sulčių priedu. Pusė šių sistemų buvo fermentuotos *St. carnosus*, o kita dalis – *St. xylosus*.

#### 2.4 lentelė. Fermentuojamų mėsos sistemų su skirtingais daržovių priedais receptūra

Kiekis, %	K	K-C	K-X	su liofilizuotų daržovių produktu, fermentuota <i>St. carnosus</i>	su liofilizuotų daržovių produktu, fermentuota <i>St. xylosus</i>
Kiaulienos kumpis	99	99	99	84	84
Liofilizuotas daržovių produktas*	–	–	–	3	3
Vanduo	–	–	–	12	12
Druska	1	1	1	1	1
<i>St. carnosus</i>	–	0,0125	–	0,0125	–
<i>St. xylosus</i>	–	–	0,0125	–	0,0125
NaNO <sub>3</sub>	0,015	0,015	0,015	–	–

\* eksperimente naudoti skirtingi liofilizuoti daržovių produktai: SLap – liofilizuoti lapkotiniai salierai, SSul – liofilizuotos lapkotinių salierų sultys, Por – liofilizuoti porai ir Pas – liofilizuoti pastarnokai.

Atšaldytas (0–2 °C) kiaulienos kumpis pagal 2.4 lent. pateiktą receptūrą susmulkintas smulkintuvu *Kilia VK 5000 Express* (Noimiunsteris, Vokietija), kurio peilių apsisukimo greitis 1500 aps./min, o lėkštės apsisukimo greitis 8 aps./min. Tame pačiame įrenginyje mėsa ne tik susmulkinta, bet ir sumaišyta su vandeniu rehidratuotu daržovių priedu (liofilizuotų daržovių ir vandens santykis 1:4), druska ir startinėmis kultūromis. Mėsos faršas sudėtas į sterilizuotas 80 mm skersmens stiklines ir uždengtas dangteliu, taip imituojant anaerobines sąlygas, susidarančias dešrų fermentacijos metu. Kad būtų užtikrinta optimalios pridėtinių startinių kultūrų augimo sąlygos, fermentacija vykdyta esant 24 °C temperatūrai ir 94 % santykiniam oro drėgnumui 4 paras klimatinėje kameroje *Ing Climas CIR 322/HR* (Montevidėjas, Urugvajus).

#### 2.2.8. Šaltai rūkytų dešrų su skirtingais liofilizuotų daržovių produktais paruošimas

Šaltai rūkytos dešros paruoštos pagal receptūrą, pateiktą 2.5 lent. Eksperimente naudoti dviejų rūšių startinių kultūrų mišiniai: *Staphylococcus xylosus* ir *Staphylococcus carnosus* mišinys bei *Staphylococcus carnosus*, *Staphylococcus xylosus* ir *Pediococcus pentosaceus* mišinys. Toks startinių kultūrų mišinys pasirinktas siekiant užtikrinti didesnę pradinę stafilokokų kiekį dešrose, nes didžiausiu aktyvumu šie mikroorganizmai pasižymi būtent fermentacijos pradžioje.

**2.5 lentelė.** Šaltai rūkytų dešrų su skirtingais liofilizuotų daržovių produktais receptūra

Kiekis, %	Šaltai rūkytos dešros rūšis				
	Kontrolė	ŠR-SLap	ŠR-SSul	ŠR-Pas	ŠR-Por
Kiaulienos kumpis	82,5	79,5	79,5	79,5	79,5
Lašiniai	17,5	17,5	17,5	17,5	17,5
SLap <sup>1</sup>	–	3,0	–	–	–
SSul <sup>2</sup>	–	–	3,0	–	–
Pas <sup>3</sup>	–	–	–	3,0	–
Por <sup>4</sup>	–	–	–	–	3,0
Valgomoji druska	0,27	0,27	0,27	0,27	0,27
Malti juodieji pipirai	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
Malta kalendra	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
<i>Pokelstart</i>	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
<i>Bessastar</i>	0,006	0,006	0,006	0,006	0,006

1, 2, 3, 4 – tai atitinkamai liofilizuoti lapkotiniai salierai, salierų sultys, pastarnokai ir porai.

Papildomai vertinant NaNO<sub>3</sub> ir NaNO<sub>2</sub> pakeitimo galimybę buvo paruoštos šešios skirtingos šaltai rūkytų dešrų rūšys, kurių receptūra pateikta 2.6 lent. Keturi kontroliniai gaminiai, kurių du su 150 mg/kg NaNO<sub>3</sub> ir du su 150 mg/kg NaNO<sub>2</sub>. Kiti mėginiai buvo paruošti su liofilizuotų lapkotinių salierų priedu. Visos dešros buvo padalytos į dvi dalis ir vienos fermentuotos *S. xylosus*, o kitos – *S. xylosus* ir *P. pentosaceus* mišiniu. Liofilizuotų lapkotinių salierų kiekis atitinkamai buvo pasirinktas 2,58 %, nes su tokiu kiekiu į receptūrą įdedama 150 mg/kg nitrato. Pagal galiojantį ES reglamentą 1129/2011, į termiškai neapdorotus perdirbtus mėsos gaminius gali būti įdedama ne daugiau kaip 150 mg/kg nitratų ir nitritų.

**2.6 lentelė.** Šaltai rūkytų dešrų su liofilizuotais salierais receptūra

Kiekis, %	Šaltai rūkytos dešros rūšis					
	D-KNO3-X	D-KNO3-XP	D-KNO2-X	D-KNO2-XP	D-SLap-X	D-SLap-XP
Kiaulienos nugarinė	80	80	80	80	77,42	77,42
Lašiniai	20	20	20	20	20	20
SLap <sup>1</sup>	–	–	–	–	2,58	2,58
Valgomoji druska	2,7	2,7	2,7	2,7	2,7	2,7
Malti juodieji pipirai	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
NaNO <sub>3</sub>	0,015	0,015	–	–	–	–
NaNO <sub>2</sub>	–	–	0,015	0,015	–	–
<i>S. xylosus</i>	0,0125	–	0,0125	–	0,0125	–
<i>S. xylosus</i> ir <i>P. pentosaceus</i>	–	0,0125	–	0,0125	–	0,0125

<sup>1</sup> liofilizuoti lapkotiniai salierai

Faršas šaltai rūkytoms dešroms, kurių receptūra pateikta 2.5 ir 2.6 lent., buvo paruoštas smulkinimo įrenginiu *KILIA VK 5000 Express* (Noimiuusteris, Vokietija). Visų pirma atšaldyta (0–2 °C) liesa žaliava susmulkinta lėkštės ir peilių apsisukimų greičiui esant atitinkamai 12 aps./min ir 1500 aps./min. Tada susmulkinta liesa mėsa



sumaišyta su startinėmis kultūromis ir priedais, nurodytais 2.5 ar 2.6 lent. (atsižvelgiant į gaminamos dešros rūšį) ir galiausiai susmulkinti kiaulienos lašiniai. Tokia žaliavų sudėjimo seka užtikrina, kad bus gauti reikiamo smulkumo lašinių kubeliai, kurie pasiskirsto mėsos farše ir suteikia struktūrą, būdingą šaltai rūkytoms dešroms. Paruoštas faršas, kurio temperatūra neviršijo 10 °C, rotoriniu vakuuminio kimštuvu (*Frey F-line F50*, Herbrechtingenas, Vokietija) suformuotas į 36 mm skersmens ir 120 mm ilgio drėgmei ir rūkymo metu išsiskiriančioms medžiagoms pralaidžius baltyminius apvalkalus (*Fibrous, Viskase*, Kelnas, Vokietija). Suformuotos dešros buvo termiškai apdorojamos 14 parų universalioje termokameroje (*Bastramat 850-C-UF*, Arnsbergas, Vokietija). Dešrų brandinimo procesas buvo pradėtas esant 24 °C temperatūrai ir 92 % santykinėi drėgmei, šie parametrai buvo laipsniškai mažinami iki 15 °C temperatūros ir 76 % santykinės drėgmės. Dešros po 96 h nuo brandinimo proceso pradžios buvo apdorotos šaltu dūmu.

## 2.3. Tyrimų metodai

### 2.3.1. Dvigubųjų emulsijų, stabilizuotų skirtingais stambiamolekuliais junginiais, charakterizavimas

Stabilumo nustatymas. Tik paruoštų dvigubųjų emulsijų stabilumas buvo įvertintas statinėmis (laikymo) ir terminio apdorojimo sąlygomis. Dvigubųjų emulsijų mėginiai buvo sudėti į 15 ml mėgintuvėlius, laikomi kambario temperatūroje (~20 °C) ir stebimi nuo vienos iki keturių savaičių. Rezultatai išreikšti kaip išsiskyrusio serumo tūris procentais nuo viso emulsijos tūrio. Terminiam dvigubųjų emulsijų stabilumui įvertinti buvo pasirinktos tos pačios sąlygos, kaip ir ruošiant mėsos sistemas, aprašytos Cofrades ir kt. (2013) tyrime. Emulsijos supiltos į 50 ml mėgintuvėlius ir buvo termiškai apdorojamos 30 min vandens vonioje 70 °C temperatūroje. Po to mėgintuvėliai atvėsinti iki kambario temperatūros ir analogiškai (pagal išsiskyrusio serumo tūrį) įvertintas emulsijų stabilumas. Kiekvienas mėginys tirtas tris kartus.

Aliejaus lašelių dydžio ir pasiskirstymo nustatymas. Aliejaus lašelių dydis ir pasiskirstymas dvigubosiose emulsijose vos jas paruošus ir 1 parą palaikius kambario temperatūroje (20 °C) nustatytas lazeriniu difrakciniu spektrofotometru *Malvern Mastersizer 2000* (*Malvern Instrument*, Vusteršyras, Didžioji Britanija). Kiekvienas mėginys buvo disperguotas distiliuotame vandenyje 1410 aps./min greičiu. Parametrai: rutulėlių absorbcija – 0,01, dispersinės fazės ir tirpiklio refrakciniai indeksai buvo atitinkamai 1,465 ir 1,33. Vidutinis aliejaus lašelių dydis išreikštas vidutiniu paviršiaus skersmeniu  $d[4,3]$  ir  $d[3;2]$  (atitinkamai pagal tūrį ir pagal paviršiaus plotą).

Santykinis lašelių pasiskirstymo rodiklis (*span*) yra bedimensis dydis, parodantis aliejaus lašelių dydžio pasiskirstymo vienodumą ir apskaičiuojamas taip:

$$span = \frac{D_{V90} - D_{V10}}{D_{V50}}; \quad (1)$$

čia  $D_{V90}$ ,  $D_{V10}$  ir  $D_{V50}$  – skersmuo lašelių, užimančių 10, 50 ir 90 % emulsijų tūrio.

Mikroskopinės nuotraukos padarytos naudojant *Axio Scope.A1* (Carl Zeiss Microscopy, Duseldorfas, Vokietija) mikroskopą, turintį *AxioCam MRc* kamerą (Carl Zeiss Microscopy, Duseldorfas, Vokietija). Įprastinės (V-A) ar dvigubosios (V-A-V) emulsijos lašelis (neskiedus) užlašintas ant objektinio stiklelio ir švelniai uždengtas dengiamuoju stikleliu. Emulsijų mikrostruktūrai stebėti taikytas didinimas  $\times 40$  arba  $\times 100$ .

Reologinių savybių įvertinimas. Visi reologiniai matavimai atlikti 20 °C temperatūroje naudojant reometrą *Physica MCR 502* (Anton Paar, Messtechnik, Štutgartas, Vokietija). Naudota plokštės ir kūgio sistema. Basisukančio kūgio skersmuo – 49,962 mm, pasvirimo kampas – 3,998°. 20 °C temperatūra matavimų metu buvo palaikoma temperatūros kontrolės ir matavimo sistemos įrenginiu *CF41 Cryo-Compact Circulator* (Julabo, Zēlbachas, Vokietija). Emulsijos mėginys buvo padėtas ant darbinio paviršiaus tarp plokštelės ir kūgio ir poslinkio greitis buvo didinamas nuo 10 iki 100 s<sup>-1</sup>. Rezultatai išreikšti klampos priklausomybe nuo poslinkio greičio. Taip pat klampa matuota esant pastoviam poslinkio greičiui – 30 s<sup>-1</sup>. Apsauginis gaubtas naudotas siekiant išvengti mėginio dehidratacijos. Reologinės emulsijų savybės buvo aprašytos taikant *Power-Law* dėsnį, nes šio modelio regresijos kreivės koeficientas buvo artimiausias vienetui. Šia matematine priklausomybe aprašoma neniutoninių skysčių elgsena veikiant tam tikroms deformacijoms.

### **2.3.2. Dvigubųjų emulsijų su įkapsuliuotomis burokėlių sultimis, paruoštų skirtingais homogenizavimo būdais, charakterizavimas**

Skirtingais homogenizavimo būdais paruoštos dvigubosios emulsijos charakterizuotos taikant visus 2.3.1 skyrelyje nurodytus tyrimo metodus. Taip pat dėl jų sudėties ypatybių ir kitokio gamybos būdo nustatytas per membraną pratekančio srauto greitis, įkapsuliuavimo efektyvumas, vandens aktyvumas ir apskaičiuotas osmosinis slėgis tarp vandeninių emulsijos fazių.

Per membraną pratekančio srauto greičio matavimas. Modifikuoto membraninio emulsavimo metu buvo įvertintas per membraną pratekančio srauto greitis  $w$ . Jis apskaičiuotas naudojant formulę:

$$w = \frac{G}{\rho_e F}, m/s; \quad (2)$$

čia  $G$  – masės debitas, kg/s;  $\rho_e$  – emulsijos tankis, kg/m<sup>3</sup>;  $F$  – sąlyčio (efektyvusis) paviršiaus plotas, m<sup>2</sup>.

Rezultatai perskaičiuoti ir pateikti m/h.

Įkapsuliuavimo efektyvumo nustatymas. Dvigubosiose emulsijose su įkapsuliuotomis burokėlių sultimis įkapsuliuavimo efektyvumas buvo nustatytas vadovaujantis Kaimainen'o ir kt. (2015) metodika. Dvigubosios emulsijos mėginys buvo įdėtas į 50 ml mėgintuvėlį ir centrifuguojamas 10 min esant 3180 g, naudojant centrifugą *Sorvall legend XFR* (Thermo Scientific, Vanta, Suomija). Išsiskyrusi išorinė vandens fazė buvo filtruojama naudojant 0,45 mm politetrafluoretileno (PTFE) švirkštinį filtrą. Spektrofotometru *DU 720* (Beckman coulter, Voerdenas, Nyderlandai) išmatuota 530 nm bangos ilgio monochromatinio spindulio sugertis filtruotame mėginyje. Kalibracijos kreivė buvo naudojama išsiskyrusių sulčių

koncentracijai apskaičiuoti. Jai paruošti į nufiltruotą išorinę vandens fazę buvo pridėtas žinomas kiekis burokėlių sulčių (5 %, 10 %, 20 %, 40 %, 60 % ar 100 %), atitinkantis 95 %, 90 %, 80 %, 60 %, 40 % ar 0 % įkapsuliavimo efektyvumą (Kaimainen ir kt., 2015). Atlikta mažiausiai po du kiekvieno mėginio matavimus. Kalibracijos kreivės koreliacijos koeficientas  $R^2 = 0,9601$ .

Vandens aktyvumo nustatymas. Dvigubosiose emulsijose vandens aktyvumas buvo nustatytas naudojant vandens aktyvumo matuoklį 4 TE (*Aqua Lab*, Vašingtonas, JAV); tikslumas  $\pm 0,003$ . Emulsijos mėginys įdėtas į sandarią kamerą. Po ~30 min kameroje buvo pasiektas pusiausvyrinis vandens garų slėgis ir ekrane pasirodė vandens aktyvumo vertė.

Osmosinio slėgio apskaičiavimas. Osmosinis slėgis burokėlių sultyse ir gliukozės tirpaluose (0,5 %, 1 % ir 3 %), naudotuose dvigubosioms emulsijoms gaminti, apskaičiuotas naudojant van't Hoffo lygtį:

$$\pi = iCRT, \text{ atm}; \quad (3)$$

čia  $i$  – jonų skaičius, susidaręs disocijavus komponentams, sukeliantiems osmosinį slėgį;  $C$  – tirpalo koncentracija (M);  $R$  – universalioji dujų konstanta (1-atm/mol·K);  $T$  – temperatūra (K).

Rezultatai išreikšti MPa.

### 2.3.3. Paviršiaus įtempio matavimas ir V-A tarpfazio savybių charakterizavimas

Paviršiaus įtempis tarpfazyje vanduo-saulėgrąžų aliejus buvo matuojamas esant skirtingai burokėlių sulčių koncentracijai (0,1 %, 0,2 %, 0,5 %, 1 % ir 2 %) vandens fazėje. Matavimai atlikti kambario temperatūroje naudojant kabančio lašo tenziometrą (*Tracker, Teclis*, Longessaigne, Prancūzija). Kaip kontrolinis mėginys naudotas distiliuotas vanduo. Vandeninės fazės lašas suformuotas ties švirkšto galiuku įmerkus jį į kiuvetę, pripildytą saulėgrąžų aliejaus. Matuoti pradėta iš karto susiformavus lašui (2.4 pav.) (lašo paviršiaus plotas – 30 mm<sup>2</sup>). Rezultatai pateikti kaip paviršiaus įtempio priklausomybė nuo laiko, per kurį pasiekama pastovioji paviršiaus įtempio vertė (nusistovi pusiausvyra). Matavimai pakartoti saulėgrąžų aliejuje ištirpinus skirtingos koncentracijos PGPR (0,01 % ir 0,05 %). Lipofilinis emulsiklis tirpintas aliejuje 50 °C temperatūroje 15 min, o vėliau atvėsintas iki kambario temperatūros ir naudotas tolesniems tyrimams. Matavimai atlikti mažiausiai tris kartus. Paviršiaus įtempis išreikštas mN/m.



2.4 pav. Matavimo metu susidarančio V-A tarpfazio vaizdas

V-A tarpfazis charakterizuotas atliekant automatiškai kontroliuojamus vandens lašo sinusoidinius susitraukimus ir išsiplėtimus esant pasirinktam dažniui naudojant kabančio lašo tenziometrą (*Tracker, Teclis, Longessaigne, Prancūzija*). Atlikus pirminius tyrimus buvo pasirinkta tinkamiausia šiam eksperimentui burokėlių sulčių koncentracija vandens fazėje – 0,2 %. Saulėgražų aliejus naudotas be PGPR, su 0,01 % PGPR ir 0,05 % PGPR. Lipofilinis emulsiklis aliejuje buvo tirpinamas nuolat maišant 15 min 50 °C temperatūroje. Distiliuotas vanduo naudotas kaip kontrolinis mėginys. Tarpfazio deformacija pradėta po 3 h, kai paviršiaus įtempis nebesikeitė. Pastovaus paviršiaus ploto vandens lašas (35 mm<sup>2</sup>) buvo išplečiamas ir suspaudžiamas iki pastovios amplitudės (20 %) keičiant dažnį nuo 0,002 iki 0,1 Hz. Kiekvieną matavimą sudarė 10 ciklų, t. y. 5 išsiplėtimo-susitraukimo ir 5 poilsio ciklai tarp osciliacijų. Kiekvieno mėginio matavimai atlikti penkis kartus.

Rezultatai išreikšti elastingumo ( $E'$ ) ir klampos ( $E''$ ) moduliais pagal atitinkamas formules:

$$E' = \Delta\gamma \left( \frac{A_0}{\Delta A} \right) \cos\delta, \quad (4)$$

$$E'' = \Delta\gamma \left( \frac{A_0}{\Delta A} \right) \sin\delta; \quad (5)$$

čia  $\Delta\gamma$  – paviršiaus įtempio pokytis, mN/m;  $A_0$  – pradinis vandens lašo paviršiaus plotas, m<sup>2</sup>;  $\Delta A$  – vandens lašo paviršiaus ploto pokytis osciliacijos metu, m<sup>2</sup>;  $\delta$  – fazės poslinkis.

Be to, kiekvienai osciliacijų serijai buvo braižomos kreivės, parodančios paviršiaus slėgio priklausomybę nuo deformacijos. Paviršiaus slėgis ( $\pi$ ) buvo išreikštas kaip skirtumas tarp paviršiaus įtempio nedeformuotame ( $\gamma_0$ ) ir deformuotame tarpfazyje ( $\gamma$ ).

$$\pi = \gamma - \gamma_0. \quad (6)$$

#### 2.3.4. Mėsos sistemų, kuriose gyvūniniai riebalai pakeisti dvigubųjų emulsijų priedu, charakterizavimas

Vandens ir riebalų rišlumo savybių nustatymas. Vandens ir riebalų rišlumo savybės mėsos sistemose buvo įvertintos pagal išsiskyrusių riebalų ir vandens kiekį, remiantis Jiméñez-Colmenero (1996) aprašymu ir atlikus tam tikrus pakeitimus. Po terminio apdorojimo (70 °C 30 min) mėsos sistemos, esančios plastikiniuose mėgintuvėliuose, buvo atidarytos ir apverstos, leidžiant išsiskyrusiems skysčiams ištekėti (~30 min). Išsiskyres vandens ir riebalų mišinys surinktas į iš anksto pasvertą stiklinę. Po terminio apdorojimo išsiskyres vandens ir riebalų mišinys įvardijamas kaip bendrieji terminiai mėsos sistemų nuostoliai. Bendrieji terminiai nuostoliai apskaičiuoti pagal formulę:

$$BTN (\%) = \frac{\text{išsiskyrusio skysčio masė}}{\text{mėginio masė}} \cdot 100. \quad (7)$$

Terminio apdorojimo metu išsiskyrusio vandens kiekis (VK) buvo nustatytas stiklines su visu išsiskyrusiu skysčiu kaitinant 105 °C temperatūroje iki pastovios

masės termostate (*Thermofisher Scientific*, Masačusetsas, JAV). VK apskaičiuotas pagal formulę:

$$VK (\%) = \frac{\text{išdžiovinto vandens kiekis}}{BTN \text{ masė}} \cdot 100. \quad (8)$$

Išsiskyrusių riebalų kiekis (RK) buvo apskaičiuotas iš bendrųjų terminių nuostolių atėmus išsiskyrusio vandens kiekį:

$$RK (\%) = BTN - VK. \quad (9)$$

Matavimai atlikti tris kartus.

Tekstūros profilio analizė. Termiškai apdorotų mėsos sistemų tekstūra analizuota tekstūros analizatoriumi *Instron 5564* (Godlmingas, Jungtinė Karalystė) po to, kai mėginiai 24 h buvo išlaikyti 4 °C temperatūroje. Analizuoto mėsos mėginio skersmuo – 2,5 cm, aukštis – 2 cm; suspaudimas *Y* ašies kryptimi 40 % nuo pradinio mėginio aukščio; apkrovos celė – 30 kg; greitis matavimo metu – 1 mm/s. Rezultatai išreikšti kietumu (N) ir rišlumu (bedimensis dydis). Vieno mėginio matavimai atlikti tris kartus kambario temperatūroje (20±2 °C).

Spalvos charakterizavimas ir pH vertės nustatymas. Visose mėsos sistemose paviršiaus spalva buvo matuojama prieš terminį apdorojimą kolorimetru *ColorFlex* (*HunterLab*, Murnau, Vokietija) naudojant *CIELAB* spalvų erdvę ir po jo. Matavimo rezultatai išreikšti spalvos šviesumu *L\** ir spalvos koordinatėmis (*a\** ir *b\**), NBS vienetais. pH vertės matuotos pH matuokliu (*Metrohm 744*, Herizau, Šveicarija).

### 2.3.5. Fermentuojamų mėsos sistemų ir šaltai rūkytų dešrų charakterizavimas

#### Fizikinių ir cheminių savybių nustatymas

pH vertės ir vandens aktyvumo nustatymas. pH vertės išmatuotos pH matuokliu *WTW 3110 pH-meter* (*WTW*, Veilheimas, Vokietija) smeigiant elektrodą N 1048A į homogenizuotą mėginį. Prieš tai prietaisas kalibruotas kambario temperatūroje naudojant fosfatinis buferinius tirpalus, kurių pH vertės 4 ir 7.

Vandens aktyvumas ( $a_w$ ) nustatytas naudojant vandens aktyvumo matuoklį (*ms1 Set aw, Novasina*, Pfefikonas, Šveicarija). Homogenizuoti šaltai rūkytų dešrų mėginiai sudėti į vienkartinis indelius, po to įdėti į hermetišką prietaiso kamerą ir uždengti. Buvo laukiama, kol nusistovės pusiausvyra. Matavimai atlikti kambario temperatūroje (20±2 °C).

Sacharidų ir pieno rūgšties kiekio nustatymas. Sacharidų kiekis mėsos sistemose ir šaltai rūkytose dešrose nustatytas naudojant fermentinį rinkinį (*Sucrose/D-fructose/D-glucose, Megazyme*, Airija) pagal nurodytas gamintojų instrukcijas. Pieno rūgšties kiekis nustatytas naudojant fermentinį rinkinį (*L-lactic acid (L-lactate), Megazyme*, Airija) pagal nurodytas gamintojų instrukcijas.

Spalvos matavimai. Mėsos sistemų ir dešrų spalva buvo nustatyta naudojant spalvos matuoklį (*Chroma meter CR-410, Konica Minolta*, Osaka, Japonija): matavimo anga 8 mm, standartinis šviesos šaltinis D50, standartinis stebėjimo

kampas 10°. Spalvai įvertinti naudota *CIELAB* spalvų erdvė. Homogenizuoti mėsos sistemų ar dešrų mėginiai buvo dedami į mėginių laikiklį ir buvo matuojama jų spalva.

Išėigos apskaičiavimas. Šaltai rūkytų dešrų išėiga buvo apskaičiuota iš masių prieš terminį apdorojimą ir po jo santykio pagal formulę:

$$I\text{šėiga} = \frac{m_1}{m_2} \cdot 100, \% ; \quad (10)$$

čia  $m_1$  – dešros svoris po terminio apdorojimo, kg;  $m_2$  – dešros svoris prieš terminį apdorojimą, kg.

Nitratų ir nitritų kiekio nustatymas. Mėsos ištraukos ruošimas: mėsos mėginys buvo veikiamas vandeniu, kurio temperatūra 100 °C; buvo nusodinami baltymai ir filtruojama. Po to gautas filtratas buvo naudojamas nitratų ir nitritų kiekiui nustatyti.

Nitratų kiekis filtrate nustatytas naudojant nitratų jonams selektyvų jonometrą *HANNA HI-4222* (Teksasas, JAV). Filtrate buvo užblokuoti visi kiti jonai ir išmatuota tirpalo elektrovara kartu su žinomos koncentracijos nitratų jonų standartu. Pagal gautą elektrovarą iš kalibracinės kreivės apskaičiuotas nitratų kiekis ir išreikštas  $\text{NaNO}_3$  kiekiu mg/kg. Kalibracinei kreivei paruošti buvo išmatuota žinomos koncentracijos (0–300 mg/kg)  $\text{NaNO}_3$  tirpalų elektrovara.

Nitritų kiekis nustatytas taikant standartinį metodą LST ISO 3091:1997. Gautas filtratas sumaišytas su sulfanilamidu ir N-1-naftiletilendiamino dihidrochloridu. Jeigu yra nitritų, susidaro raudona spalva. Spektrofotometru (*Thermo Genesys 20 Vis*, San Diegas, Kalifornija) išmatuota 538 nm bangos ilgio monochromatinio spindulio sugertis tiriamajame tirpale. Kalibracinei kreivei paruošti buvo naudojami žinomos koncentracijos (0–3,5 µg/ml)  $\text{NaNO}_2$  tirpalai.

Nitritų kiekis  $Q$ , išreikštas natrio nitrito miligramais produkto kilogramui, apskaičiuotas pagal formulę:

$$Q(\text{NaNO}_2) = c \cdot \frac{2000}{m \cdot V}; \quad (11)$$

čia  $m$  – mėginio masė, g;  $V$  – filtrato, paimto fotometriniams matavimams, tūris, ml;  $c$  – natrio nitrito koncentracija mikrogramais mililitrui, atskaityta iš kalibracinės kreivės, atitinkanti tirpalo, paruošto iš mėginio, optinį tankį.

Tekstūros analizė. Fermentuojamų mėsos sistemų ir šaltai rūkytų dešrų tekstūra buvo įvertinta naudojant *TA-XT2* tekstūros analizatorių (*Stable Micro Systems, TA.XT Plus*, Godmingas, Jungtinė Karalystė), pasirinkus 30 kg apkrovą ir 0,5 mm/s matavimo greitį.

**Dešros:** taikytas tekstūros profilio analizės (TPA) metodas. 3×2 cm mėginiai, išpjauti iš centrinės dešros dalies, buvo dedami ant darbinio įrenginio paviršiaus ir spaudžiami aliuminiu disku (100 mm skersmens). Mėginys suspaustas 75 % nuo originalaus mėginio aukščio du kartus iš eilės, esant 2 s intervalui tarp suspaudimo ciklų. Rezultatai išreikšti kietumu, rišlumu ir susikramtomumu.

**Fermentuojamos mėsos sistemos.** Naudotas aliuminis cilindras (20 mm skersmens). Mėsos sistema, kuri buvo fermentuojama indelyje, buvo padėta ant darbinio įrenginio paviršiaus ir veikama 20 mm skersmens aliuminiu cilindru.

Pasiekus 5 g jėgą, cilindras sminga 20 mm į mėsos mėginį, pasiekęs šį atstumą, grįžta atgal į pradinę padėtį. Rezultatai išreikšti kietumu ir rišlumu.

### **Mikroorganizmų kiekio nustatymas**

10 g tiriamojo mėginio buvo perkelta į sterilų plastikinį maišelį, kuriame įpilta 10 ml sterilizuoto fiziologinio tirpalo. Eksperimento metu buvo nustatyti šie mikroorganizmai: mezofilinės pienarūgštės bakterijos, stafilokokai ir bendrasis koliforminių bakterijų kiekis. Terpės paruoštos pagal gamintojų rekomendacijas. Mezofilinių pienarūgščių bakterijų kiekis buvo nustatytas taikant standartinį ISO 15214 (1998) metodą, kurio esmė – šių mikroorganizmų augimas agaru terpėje inkubuojant 37 °C temperatūroje 72 h. Šiems mikroorganizmams nustatyti naudota terpė *MRS Agar with Tween80* (*Biolife*, Milanai, Italija). Koagulazę gaminančių stafilokokų kiekis nustatytas taikant standartinį ISO 6888, 1 (2000) metodą. Naudotos *Baird Parker Agar Base* (Ref 610004, *LiofilChem*, Milanai, Italija) pridedant *Egg Yolk Tellurite Emulsion* (*LiofilChem*, Milanai, Italija). Buvo inkubuojama 37 °C temperatūroje 24 h ir skaičiuojamos susidarancios juodos kolonijos. Koliforminių mikroorganizmų kiekis buvo nustatytas taikant standartinį ISO 4832 (2006) metodą, naudojant agarizuotą terpę (*Violet Red Bile Lactose Agar* (Ref 610058), *LiofilChem*, Italija) ir inkubuojant 37 °C temperatūroje 24 h. Atlikti trijų mėginių matavimai ir rezultatai išreikšti kaip kolonijas sudarančių vienetų dešimtainis logaritmas grame tiriamojo mėginio (log KSV/g).

### **Proteolitinių pokyčių įvertinimas**

*L-glutamato rūgšties kiekio nustatymas.* Glutamato rūgšties kiekis nustatytas naudojant *Boehringer Mannheim/Biopharm* L-glutamato rūgšties fermentinį rinkinį (*Roche*, Darmštatas, Vokietija) pagal gamintojo pateiktas instrukcijas (Beutler, 1990). Glutamato rūgštis iš bandinio ekstrahuota 1 M perchloro rūgšties tirpalu. Gautas ekstraktas buvo centrifuguojamas, perfiltruojamas ir titruojamas 2 M KOH tirpalu iki pH 10. Toliau ekstraktas buvo veikiamas fermentais ir išmatuota 492 nm monochromatinio spindulio sugertis tiriamajame tirpale.

*Biogeninių aminių kiekio nustatymas.* Biogeninių aminių kiekis nustatytas Kauno technologijos universiteto Maisto instituto laboratorijoje taikant efektyviosios skysčių chromatografijos metodą. Naudoti standartiniai tirpalai: vidinis standartas – ištirpinta 25 mg 1,7-diamino heptano standarto 25 ml distiliuoto vandens ir gauta 1 mg/ml tirpalo koncentracija; standartiniai biogeninių aminių (tiramino, histamino, spermino, putrescino, kadaverino ir spermidino) tirpalai paruošti 1 mg/ml koncentracijos. Tiriamasis mėginys ekstrahuotas perchloro (0,4 mol/l) rūgštimi, tada atlikta gauto ekstrakto derivatizacija.

*Įranga:* termostatuota atvirkštinių fazių kolonėle *YMC – Pack ProC18* (*Shimadzu Prominence*, *Shimadzu Corp.*, Japonija; S-3 μm, 12 nm) su prieškolone *YMC ProC18* (12 nm, S-3 μm). Naudota *Shimadzu Prominence* chromatografinė įranga (*Shimadzu Corp.*, Japonija) su diodų matricos detektoriumi. Sąlygos: judančios fazės tekėjimo greitis 0,9 ml/min; injekcijos tūris 20 μl; kolonėlės temperatūra 40 °C; detektoriaus matavimo bangos ilgis 254 nm; gradientas: 0 min – 50 % B; 19 min – 10 % B; 20 min – 50 % B; 28 min – 50 % B. Eliuentas A –

acetonitrilas, B – amonio acetatas (0,1 mol/l). Identifikuota biogeninių aminių sulaikymo laiką lyginant su etaloninės medžiagos sulaikymo laiku. Kiekybinė analizė atlikta taikant vidinio standarto metodą, skaičiuojant smailės plotus pagal formulę:

$$\text{Biogeninio amino kiekis} \left( \frac{\text{mg}}{\text{kg}} \right) = \frac{S_{\text{biog.a.}}}{S_{\text{V.st}}} \cdot 50; \quad (12)$$

čia  $S_{\text{biog.a.}}$  – biogeninio amino smailės, gautos tiriant mėginio tiriamąjį tirpalą, plotas;  $S_{\text{V.st.}}$  – vidinio standarto smailės plotas.

### Mioglobino formų nustatymas

Mioglobino formas (deoksimioglobinas, oksimioglobinas ir metmioglobinas) skirtingai sugeria 503 nm, 525 nm, 557 nm ir 582 nm bangos ilgio monochromatinius spindulius – pagal tai buvo nustatytas šių pigmentų kiekis tiriamajame mėginyje. Pigmentų ekstrakcija iš mėsos mėginio: 2 g mėginio homogenizuoti stiklinėje, apsuštoje folija (siekiama išvengti šviesos poveikio), su 20 ml natrio fosfatiniu buferiu (0,04 M; pH 6,8) naudojant *Ultra-Turrax* homogenizatorių (*IKA® T-18 basic*, Štaufenas, Vokietija) esant 10000 aps./min greičiui 20 s. Po homogenizavimo mėginys 1 h paliktas stovėti leduotame vandenyje ir vėliau centrifuguotas 10000 aps./min greičiu 30 min. Gautas supernatantas filtruotas per filtrinį popierių ir spektrofotometru (*Thermo Genesys 20 Vis*, San Diegas, Kalifornija) išmatuota 503 nm, 525 nm, 557 nm ir 582 nm bangos ilgio monochromatinio spindulio sugertis tiriamajame tirpale.

Mioglobino formų kiekis apskaičiuotas pagal Tang, Faustman'o ir Hoagland'o (2004) formules:

$$[DeoMb] = -0,543R_1 + 1,594R_2 + 0,552R_3 - 1,329 \times 100, \quad (13)$$

$$[OksiMb] = 0,722R_1 - 1,432R_2 - 1,659R_3 + 2,599 \times 100, \quad (14)$$

$$[MetMb] = -0,159R_1 - 0,085R_2 + 1,262R_3 - 0,520 \times 100; \quad (15)$$

čia  $R_1 = A_{582}/A_{525}$ ,  $R_2 = A_{557}/A_{525}$ ,  $R_3 = A_{503}/A_{525}$ .

Mioglobino formų (deoksimioglobino, oksimioglobino ir metmioglobino) kiekiai išreikšti procentinėmis šių pigmentų dalimis nuo bendrojo jų kiekio, %.

Nitrozopigmentų kiekis nustatytas taikant Hornsey (1956) metodiką. 10 g mėginio, pasverto stiklinėje, apsuštoje folija (siekiama išvengti šviesos poveikio), sumaišyta su 40 ml acetono ir 3 ml vandens mišiniu ir maišyta 5 min. Gautas ekstraktas filtruotas per filtro popierių ir išmatuota 540 nm bangos ilgio monochromatinio spindulio sugertis tiriamajame filtrate. Susidariusių nitrozopigmentų (NOMb) kiekis apskaičiuotas gautą absorbciją padauginus iš 290 ir išreikštas mg/kg.

### Juslinė analizė

Juslinė analizė buvo taikoma įvertinti tik šaltai rūkytoms dešroms su liofilizuotais salierais, kurių paruošimas aprašytas 2.2.8 skyrelyje. Dešros nuluptos, supjaustytos 3 mm storio griežinėliais, sudėtos į 3 atsitiktinių skaitmenų kodais koduotus indelius ir pateiktos po vieną vertintojams.



Juslinėms savybėms įvertinti taikytas *juslinių savybių profilio testas*. Teste dalyvavo 6 vertintojų grupė. Vertintojai buvo atrinkti ir išmokyti dirbti pagal ISO 8586. Vertinimas buvo uždaras, atliekamas pagal ISO 8589 reikalavimus įrengtose KTU Maisto instituto Juslinės analizės mokslo laboratorijos kabinose. Duomenims surinkti ir analizuoti naudota kompiuterio programa *Fizz Network (Biosystems, Prancūzija)*. Sudarant juslinių savybių profilį, naudotas visiškai subalansuotas randomizuotas mėginių pateikimo planas, mėginiams vertinti taikant du kartotinumus. Kiekvienoje sesijoje buvo pateikiama po 4 mėginius, po to vertintojų grupė darydavo 5–7 min. pertrauką ir po jos mėginiai būdavo vertinami toliau. Vertintos šios juslinės savybės: bendras kvapas, kvapo sodrumas, dūmų kvapas, prieskonių kvapas, pašalinis kvapas, spalva, kietumas, riebumas, bendras skonis, skonio sodrumas, sūrus skonis, aitrus skonis, aštrus skonis, rūgštus skonis, pašalinis skonis ir liekamasis skonis. Tiriamųjų produktų kiekvienos savybės intensyvumas vertintas 15 balų skalėje: 1 – savybė nejuntama, 8 – vidutiniškai juntama, 15 – labai stipriai juntama.

#### **2.4. Statistinė analizė**

Visi eksperimentai atlikti mažiausiai tris kartus. Rezultatai pateikti kaip mažiausiai 3 kartotinių vidurkiai su standartiniais nuokrypiais. Statistinė duomenų analizė atlikta SPSS 9.0 programa taikant vieno faktoriaus dispersinės analizės (ANOVA) metodą. Skirtumai tarp mėginių įvertinti taikant Dunkano kriterijų. Statistiškai reikšmingais skirtumai tarp mėginių buvo laikomi, kai reikšmingumo lygis buvo  $p < 0,05$ .

### 3. TYRIMO REZULTATAI

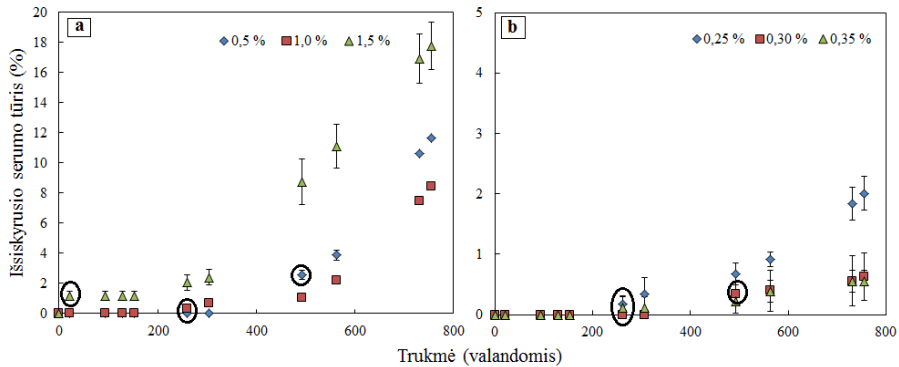
#### 3.1. Natūralių pigmentų įkapsuliavimas dvigubojoje V-A-V emulsijoje

Kad būtų galima dvigubąsias emulsijas panaudoti kaip pigmentų įkapsuliavimo priemonę, turi būti sukurtos stabilios dvigubosios emulsijos, atsparios išsisluoksniavimui laikymo ir terminio apdoravimo metu. Šiame poskyryje įvertinta skirtingos rūšies ir koncentracijos emulsiklių ir skirtingų gamybos būdų įtaka V-A-V emulsijų savybėms.

##### 3.1.1. Gamtinių ir modifikuotų gamtinių emulsiklių rūšies įtaka dvigubųjų V-A-V emulsijų savybėms

Dvigubųjų emulsijų gamybai buvo pasirinkti skirtingos koncentracijos išrūgų baltymų izoliatas (IBI) ir karboksimetilceliuliozė (KMC). Jie naudoti kaip hidrofilinis emulsiklis (stabilizatorius) išorinėje vandens ( $V_2$ ) fazėje A-V tarpfaziui stabilizuoti. Lipofilinis emulsiklis poliglicerolio poliricinoleatas (PGPR) naudotas V-A tarpfaziui stabilizuoti.

Dvigubųjų emulsijų stabilumo priklausomybė nuo stambiamolekulinio junginio rūšies ir jų koncentracijos  $V_2$  fazėje išreikšta laikymo metu išsiskyrusio serumo tūriu ir pateikta 3.1 pav. Vertinant IBI įtaką emulsijų stabilumui buvo nustatyta, kad dvigubųjų emulsijų stabilumas priklausė nuo šio hidrofilinio emulsiklio koncentracijos. Esant didžiausiai IBI koncentracijai (1,5 %) emulsijų išsisluoksniavimas prasidėjo greičiausiai, t. y. po 21 h. Kaip ir buvo galima tikėtis, šioje emulsijoje didžiausias išsiskyrusio serumo tūris (17,79 %) buvo nustatytas ir laikymo pabaigoje (756 h). Emulsija, stabilizuota 0,5 % IBI, išliko stabili net po 305 h. Tačiau laikymo pabaigoje šioje emulsijoje išsiskyrusio serumo tūris buvo didesnis (11,66 %) nei emulsijoje, stabilizuotoje 1 % IBI (8,47 %). Gauti rezultatai rodo, kad eksperimento sąlygomis tinkamiausia IBI koncentracija dvigubosioms emulsijoms stabilizuoti yra 1 %. Ankstesniuose tyrimuose Mun'as ir kt. (2010) dvigubąsias emulsijas stabilizavo naudodami daug didesnę IBI kiekį (2 %, 4 % ir 6 %), nei buvo naudojamas šiame eksperimente (tik 1 %). Kaip jau buvo minėta prieš tai, padidinus emulsiklio koncentraciją iki 1,5 %, išsiskyrusio serumo tūris padidėjo ir to priežastimi galėjo tapti didesnė neabsorbuoto emulsiklio koncentracija tolydinėje vandens fazėje ( $V_2$ ), sukianti aliejaus lašelių flokuliaciją (Klang, Valenta, 2011; McClements, 1994; Weiss, Caneliere ir McClements, 2000).



**3.1 pav.** Laikymo metu išsiskyrusio serumo tūrio priklausomybė nuo dvigubosioms emulsijoms gaminti naudoto IBI (a) ir KMC (b) koncentracijos. Apskritimu pažymėta fazių atsiskyrimo pradžia

Kaip ir IBI atveju, dvigubosioms emulsijoms stabilizuoti naudojant KMC buvo nustatyta priklausomybė tarp modifikuoto gamtinio polimero koncentracijos ir emulsijų stabilumo statinėmis sąlygomis. Išorinėje vandens fazėje esant mažiausiam KMC kiekiui (0,25 %), buvo nustatytas didžiausias išsiskyrusio serumo tūris. Mėginių išsisluoksniavimas sumažėjo padidinus KMC koncentraciją. Mėginiuose su 0,3–0,35 % KMC nustatytas tik 0,55–0,63 % išsiskyrusio serumo tūris po 756 h. Ir tai yra 13–15 kartų mažesnis kiekis, palyginti su pačia stabiliausia IBI stabilizuota dvigubąja emulsija (8,47 %). Šie rezultatai panašūs į Pays'o ir kt. (2002) tyrimo rezultatus – autoriai taip pat nustatė teigiamą KMC poveikį dvigubųjų emulsijų stabilumui.

Lyginant šiuos stambiamolekulius junginius tarpusavyje aiškiai matoma, kad stabilesnės buvo emulsijos, kurių sudėtyje naudota KMC. Schuch ir kt. (2015) taip pat nustatė, kad, kaip emulsikli naudojant KMC, dvigubosios emulsijos pasižymėjo didesniu įkapsuliavimo efektyvumu nei su IBI stabilizuotos emulsijos. To priežastis yra skirtinga šių junginių sudėtis bei struktūra, kurios lemia ir skirtingą stabilizavimo mechanizmą. Skirtingai nuo IBI, KMC nesiaisorbuoja aliejaus lašelių paviršiuje. Veikiant šiam modifikuotam gamtiniam polimerui padidėja tolydinės fazės klampa ir dėl to emulsijoje sulėtėja galimi destabilizacijos procesai (Coffey, Bell ir Henderson, 1995). Tai aiškiai matoma iš dvigubosiose emulsijose nustatytų klamos koeficientų  $\kappa$ , pateiktų 3.1 lent. Didesni klamos koeficientai (2,095–4,381 Pa·s<sup>n</sup>) buvo nustatyti būtent emulsijose, stabilizuotose KMC. Emulsijose, stabilizuotose IBI,  $\kappa$  kito nuo 0,321 iki 0,816 Pa·s<sup>n</sup>. Taip pat buvo pastebėta teigiama priklausomybė tarp klamos koeficientų ir emulsijų stabilumo. Literatūroje nurodoma, kad, priešingai nei kiti polisacharidai, karboksimetilceliuliozė taip pat gali iš dalies absorbuotis A-V tarpfazėje, taip aliejaus lašeliai apsaugomi nuo koalescencijos (McLements, 2004; Arboleya, Wilde, 2005).

**3.1 lentelė.** V-A-V emulsijų vidutinio aliejaus lašelių dydžio ir reologinių charakteristikų priklausomybė nuo joms stabilizuoti naudoto emulsiklio rūšies ir koncentracijos

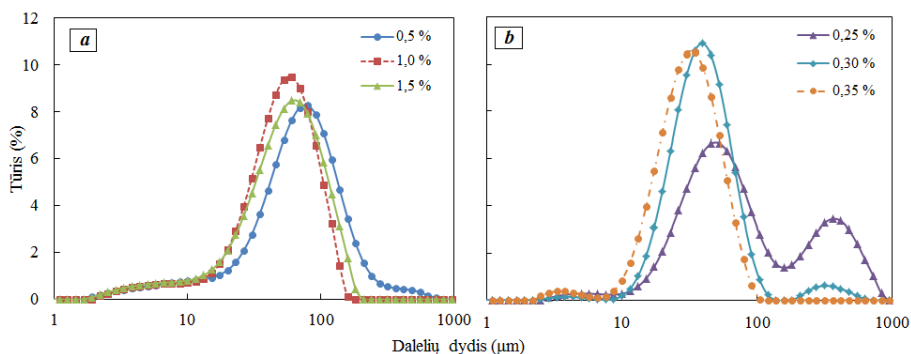
Stambiamolekulio junginio rūšis	Stambiamolekulio junginio koncentracija, %	Vidutinis aliejaus lašelių dydis ( $d_{32}$ ), $\mu\text{m}$	$span^*$	Reologinės charakteristikos		
				$n$	$\kappa$ ( $\text{Pa}\cdot\text{s}^n$ )	$R^2$
IBI	0,50	36,19±1,86c	1,54	0,5457	0,509±0,087b	0,9257
	1,00	31,32±1,32b	1,53	0,6258	0,816±0,024c	0,8706
	1,50	26,64±2,13a	1,78	0,6004	0,321±0,041a	0,9350
KMC	0,25	39,01±3,22d	6,69	0,5493	2,095±0,043d	0,9483
	0,30	28,92±1,70b	1,70	0,6222	2,132±0,317d	0,9920
	0,35	25,19±1,62a	1,33	0,6218	4,381±0,478e	0,9588

Rezultatai pateikti kaip vidurkiai su standartiniais nuokrypiais. Mažosios raidės parodo statistiškai reikšmingą skirtumą ( $p < 0,05$ ) tarp dvigubųjų emulsijų, stabilizuotų skirtingos koncentracijos IBI ir KMC; \* santykinis aliejaus lašelių pasiskirstymo rodiklis.

Atsižvelgiant į 3.1 lent. pateiktą takumo indeksą ( $n < 1$ ), daroma išvada, kad visos emulsijos pasižymėjo pseudoplastiniams skysčiams būdingomis savybėmis, t. y. didinant deformaciją klampa mažėjo. Kundu, Kumar’as ir Mishra (2015) tokią emulsijų elgseną aiškina aliejaus lašelių orientavimusi išilgai srauto krypties.

Vidutinis aliejaus lašelių dydis ir jų pasiskirstymas tolydinėje fazėje yra labai svarbi charakteristika, lemianti dvigubųjų emulsijų stabilumą. Buvo nustatyta, kad didinant IBI ar KMC koncentraciją išorinėje vandens fazėje vidutinis aliejaus lašelių dydis emulsijose mažėjo (3.1 lent.). Mažesni lašeliai paprastai yra atsparesni išsisluoksniavimui, susidarantiems dėl aliejaus ir vandens tankio skirtumų (Dickinson, Evison ir Owusu, 1991). Emulsijoje, kuriai stabilizuoti naudotas 1,5 % IBI, nustatytas mažiausias vidutinis aliejaus lašelių dydis ( $d_{32} - 26,64 \mu\text{m}$ ), tačiau, nepaisant to, joje buvo nustatytas didžiausias išsiskyrusio serumo tūris laikymo pabaigoje. Tai gali būti paaiškinama didžiausiu aliejaus lašelių pasiskirstymo rodikliu ( $span - 1,78$ ) joje. Esant 0,5 % IBI koncentracijai, aliejaus lašelių dydžio pasiskirstymo kreivė pasislinko į dešinę, tad matyti, kad šioje emulsijoje susiformavo didesni aliejaus lašeliai, kurių vidutinis dydis buvo 36,19  $\mu\text{m}$  (3.2 pav.). Nepriklausomai nuo IBI koncentracijos, visose emulsijose nustatytas monomodalinis lašelių dydžio pasiskirstymas. Svarbu paminėti, kad kai kurie autoriai, be monomodalinio, dar nurodo bimodalinį ar net trimodalį aliejaus lašelių dydžio pasiskirstymą dvigubosiose emulsijose (Choi, Decker ir McClemens, 2009; Hemar ir kt., 2010; Surh ir kt., 2007).

Didžiausias vidutinis aliejaus lašelių skersmuo ( $d_{32} - 39,01 \mu\text{m}$ ) ir bimodalinis lašelių dydžio pasiskirstymas nustatytas emulsijose, stabilizuotose mažiausiu kiekiu (0,25 %) KMC. Tačiau išsiskyrusio serumo tūris šiose emulsijose po dviejų savaičių neviršijo 2 %. Kaip jau minėta prieš tai, padidėjusi fazės klampa stabdo disperguotų aliejaus lašelių judėjimą, potencialų jų susidūrimą, lemiantį emulsijos destabilizavimą (Coffey ir kt., 1995). Padidinus KMC koncentraciją iki 0,3–0,35 % vidutinis lašelių dydis sumažėjo iki  $d_{32} \sim 25\text{--}29 \mu\text{m}$ .

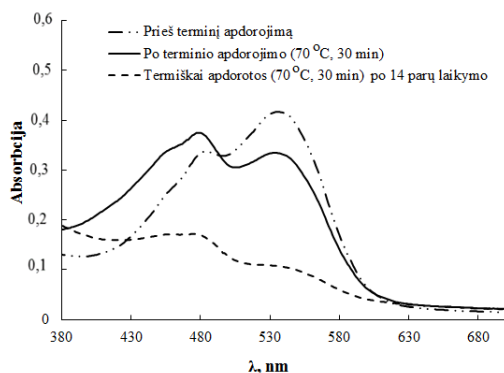


**3.2 pav.** Aliejaus lašelių dydžio pasiskirstymas dvigubosiose emulsijose, stabilizuotose skirtingos koncentracijos IBI (0,5–1,5 %) (a) ir KMC (0,25–0,35 %) (b)

Nepaisant gautų teigiamų rezultatų, vidutinis aliejaus lašelių dydis tokio pobūdžio struktūrose, kaip dviguboji emulsija, yra per didelis. Manoma, kad būtent todėl dvigubosiose emulsijose, stabilizuotose IBI, laikymo metu didėjo išsiskyrusio serumo tūris (3.1 pav.). Todėl reikėtų ieškoti būdų, kaip vidutinį aliejaus lašelių dydį sumažinti nekeičiant emulsiklio koncentracijos.

### 3.1.2. Gamybos būdo įtaka dvigubųjų V-A-V emulsijų su įkapsuliuotomis burokėlių sultimis savybėms ir įkapsuliuavimo efektyvumui

Tolesnius tyrimus buvo nuspręsta atlikti tik su IBI, siekiant padidinti emulsijų, pagamintų su šiuo emulsikliu, stabilumą. Norint sumažinti aliejaus lašelių dydį dvigubosiose emulsijose, stabilizuotose IBI, buvo pasirinktas naujas emulsijų gamybos būdas – modifikuotas membraninis emulsavimas. Jis buvo lyginamas su dvipakopės homogenizacijos būdu. Taip pat, kitaip nei prieš tai, šiame etape dvigubosiose emulsijose buvo įkapsuliuotos burokėlių sultys. Prieš tai burokėlių sultys buvo termiškai apdorotos 70 °C temperatūroje 30 min, kad būtų galima įvertinti jų stabilumą mėsos sistemų terminio apdorojimo sąlygomis. Termiškai apdorotos sultys taip pat buvo laikomos šviesoje kambario temperatūroje 14 parų. 3.3 pav. pateiktose absorbcijos kreivėse aiškiai matoma terminio apdorojimo įtaka šviesos sugerčiai. Po terminio apdorojimo smailė ~530 nm bangos ilgio intervale sumažėjo. Kitas svarbus veiksnys, turėjęs įtakos šviesos sugerčiai, buvo šviesa; po 14 laikymo parų smailė ~530 nm intervale visiškai sumažėjo. Gerokai sumažėjus šviesos sugerčiai anksčiau buvusi ryški tamsiai raudona burokėlių sulčių spalva tapo ruda. Matoma, kad terminis apdorojimas ir šviesos poveikis turėjo neigiamos įtakos burokėlių sultyse esančių raudonųjų pigmentų, vienas kurių betaninas, stabilumui. Todėl, siekiant išlaikyti betanino, esančio burokėlių sultyse, stabilumą kaip įkapsuliuavimo technologija pasirinktos naudoti dvigubosios emulsijos.



**3.3 pav.** Burokėlių sulčių (prieš terminį apdorojimą, po 30 min terminio apdorojimo 70 °C temperatūroje ir praėjus 14 parų nuo terminio apdorojimo) šviesos sugerties kreivės, išmatuotos intervale nuo 380 iki 700 nm

Dvigubosios emulsijos, paruoštos dvipakopės homogenizacijos būdu, buvo tipinės matinės, emulsijoms būdingos išvaizdos ir rožinės spalvos; vidutinis aliejaus lašelių dydis jose buvo ~30 μm. Mikroskopinėje nuotraukoje, kuri pateikta 3.4 pav. a dalyje, matomi įvairaus dydžio aliejaus lašeliai, pasiskirstę tolydinėje vandens fazėje. Nepriklausomai nuo dydžio, visiems lašeliams būdinga dvigubųjų emulsijų struktūra (t. y. aliejaus lašelių viduje matomi maži vandens lašeliai). Šios emulsijos išliko stabilios laikomos kambario temperatūroje dvi savaites, nebuvo vizualiai matomo išsisluoksniavimo.

Aliejaus lašelių dydis emulsijose kito nuo 10 iki 100 μm (vertinant pasiskirstymą). Tai siejama su homogenizavimui naudota rotorine-statorine sistema (*Ultra-Turrax*), kurioje dėl chaotiško skysčio judėjimo susidaro polidispersinės emulsijos. Šiose emulsijose vidutinis lašelių dydis būna didesnis nei 10 μm (Urban ir kt., 2006). Tačiau, nepaisant didelių aliejaus lašelių, emulsijos buvo stabilios. Tai lėmė laikymo metu padidėjusi emulsijų klampa. Emulsijos lašelių dydis, tankių skirtumas ir tolydinės fazės klampa lemia išsisluoksniavimo greitį (Stoko dėsnis), ir lašelių dydis iš visų išvardytų veiksnių yra svarbiausias (Walstra, 2003). Vertinant lašelių dydį konkrečiu atveju, buvo tikimasi, kad emulsijos labai greitai išsisluoksniuotų, tačiau to nenutiko ir pagrindine to priežastimi laikomas klamos padidėjimas.

Ką tik paruoštų dvigubųjų emulsijų klampa buvo 0,03 Pa·s, tačiau po 2–3 h ji reikšmingai padidėjo (2,9 Pa·s). Laikymo metu aliejaus lašelių dydis padidėjo nuo 32 iki 34 μm, o vandens aktyvumas sumažėjo nuo 0,9993 iki 0,9814. Gauti rezultatai gali būti susiję su aliejaus lašelių tūrio padidėjimu laikymo metu, t. y. sistemai bandant pasiekti osmosinio slėgio pusiausvyrą (vandens aktyvumas skirtingas vidinėje ir išorinėje vandens fazėse). Buvo nustatyta, kad laikymo metu, aliejaus lašeliams padidėjus nuo 32 iki 34 μm, vandens tūris juose padidėjo ~20 %. Vertinant tai, kad pirminėje V-A emulsijoje pradinis vandens ir aliejaus tūrio santykis buvo 1:4, nusistovėjęs pusiausvyrai vandens tūris padidėjo du kartus, t. y. vietoje pirminio 20 % vandens aliejaus lašeliuose dėl vandens difuzijos jo kiekis

buvo 40 %. Aliejaus lašelių tūris padidėjo ir jie tapo „kompaktiškesni“ tolydinėje vandens fazėje.

Kaip jau buvo minėta anksčiau, slėgių skirtumo vidinėje ir išorinėje vandens fazėse sukeltas vandens judėjimas turi reikšmingos įtakos tūrio santykiui tarp pirminės emulsijos (V-A) ir išorinės vandens fazės (pirminis santykis 40:60). Nustatyta, kad vidinės vandens fazės tūris padidėjo 20 %, bendra tūrio frakcija vidinėje fazėje yra 48 %, o išorinėje – 52 %. Emulsijos klampa priklauso nuo aliejaus lašelių tūrio frakcijos, kaip apibūdinama *Krieger-Dougherty* (16) lygtyje. Didėjant aliejaus lašelių tūriui didėja emulsijų klampa.

$$\frac{\eta}{\eta_0} = \left(1 - \frac{\phi}{\phi_{max}}\right)^{-[\eta\phi_{max}]} \quad (16)$$

### 3.1.2.1. Slėgio įtaka aliejaus lašelių dydžiui dvigubosiose emulsijose, paruoštose modifikuota membraninio emulsavimo sistema

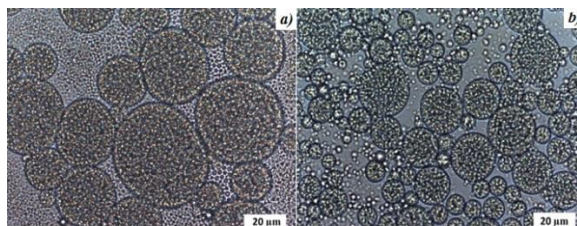
Šiame tyrimų etape dvigubosios emulsijos, stabilizuotos 0,5 % IBI, buvo paruoštos modifikuota membraninio emulsavimo sistema sudarant skirtingą slėgį sistemoje (nuo 200 iki 500 kPa) ir taikant vieną praleidimą. Aliejaus lašelių dydžiai iš karto po emulsavimo ir po 1 paros laikymo kambario temperatūroje (~20 °C) pateikti 3.2 lent.

**3.2 lentelė.** Aliejaus lašelių dydžio ( $d_{32}$ ) dvigubosiose emulsijose (stabilizuotose 0,5 % IBI) priklausomybė nuo emulsavimo metu sudaryto slėgio, esant vienam praleidimui, iš karto po emulsavimo ir po 1 paros laikymo kambario temperatūroje (~20 °C)

Slėgis, kPa	Iš karto po emulsavimo		Po 1 paros laikymo	
	$d_{32}$ , μm	span rodiklis	$d_{32}$ , μm	span rodiklis
Prieš membraninį emulsavimą	31,95±0,10dA	1,39	39,14±0,10dB	1,38
200	24,26±0,35cA	2,49	31,63±0,27cB	2,39
300	23,23±0,06bA	2,80	28,79±0,14bB	2,43
400	21,39±0,08aA	1,98	27,04±0,37aB	2,67
500	21,19±0,12aA	2,73	29,64±0,61bB	2,05

Rezultatai pateikti kaip vidurkiai su standartiniais nuokrypiais; mažosios raidės parodo reikšmingus ( $p < 0,05$ ) aliejaus lašelių dydžio  $d_{32}$  skirtumus tarp emulsijų, paruoštų taikant skirtingą slėgį, o didžiosios raidės parodo reikšmingus ( $p < 0,05$ ) aliejaus lašelių dydžio  $d_{32}$  skirtumus tarp emulsijų iš karto po emulsavimo ir po 1 paros laikymo.

Aliejaus lašeliai sumažėjo visose emulsijose, nepriklausomai nuo naudoto slėgio. Jie sumažėja dėl lokalizuotų šlyties jėgų stiklo rutulėlių porų labirinte, paviršiaus įtempties efekto ir erdvinių kliūčių tarp emulsijos lašelių (Sahin ir kt., 2014). Aliejaus lašelių sumažėjimas aiškiai matomas 3.4 pav. pateiktame mikroskopiniame vaizde. Taip pat nustatyta, kad didinant slėgį emulsijų paruošimo metu aliejaus lašeliai mažėjo. Gauti rezultatai yra panašūs į Sahin'o ir kt. (2014) publikuotus rezultatus: autoriai taip pat nustatė, jog esant didesniam slėgiui gaunami mažesni emulsijos lašeliai.



**3.4 pav.** Mikroskopinis dvigubųjų emulsijų su įkapsuliuotomis burokėlių sultimis ir 0,5 % IBI vaizdas prieš membraninį emulsavimą (a) ir po jo (b) (1 praleidimas, 300 kPa) (didinimas  $\times 100$ )

Visose emulsijose po emulsavimo santykinis aliejaus lašelių dydžio pasiskirstymo rodiklis (*span*) kito ribose nuo 2 iki 3. Tai parodo, kad šios emulsijos yra polidispersiškesnės nei dvigubosios emulsijos, paruoštos su įprastiniu sintetiniu emulsikliu (polioksietileno-20-sorbitano monolauratu) (*span*  $\sim 1$ ) (Sahin ir kt., 2014). Aliejaus lašelių dydis emulsijose priklauso nuo emulsiklio, naudoto joms stabilizuoti. Po paros laikymo aliejaus lašeliai emulsijose reikšmingai padidėjo, nepriklausomai nuo homogenizavimui naudoto slėgio (3.2 lent.). Kaip jau buvo minėta ankstesniame poskyryje, tai yra susiję su vandens migracija iš išorinės vandens fazės ( $V_2$ ) į vidinę ( $V_1$ ), dėl kurios padidėja aliejaus lašelių tūris. Emulsijoje, kuri buvo paruošta esant 200 kPa slėgiui, aliejaus lašelių tūris po 1 paros buvo padidėjęs 120 % (vidinės vandens fazės tūrio santykis su išorine faze buvo 88:12, o tai atitinka majonezo konsistenciją). Panaši elgsena buvo nustatyta dvigubosiose emulsijose, paruoštos Bahtz ir kt. (2015). Šie tyrėjai nustatė, jog aliejaus lašelių padidėjimui įtakos turėjo osmosinio slėgio skirtumas tarp  $V_1$  ir  $V_2$  vandens fazių.

#### 3.1.2.2. Praleidimų per membraną skaičiaus įtaka dvigubųjų emulsijų savybėms

Kadangi po vieno praleidimo per kolonėlę esant skirtingam slėgiui didelis skirtumas tarp aliejaus lašelių dydžio nebuvo nustatytas, nuspręsta naudoti pastovų slėgį – 300 kPa – ir didinti praleidimų per kolonėlę skaičių. Dvigubosios emulsijos buvo paruoštos su natūraliomis ir koncentruotomis burokėlių sultimis vidinėje vandens fazėje ( $V_1$ ) ir 0,5 % bei 1 % IBI tirpalu išorinėje vandens fazėje ( $V_2$ ). Buvo nustatyta skirtingos emulsijų sudėties ir praleidimų per membraną skaičiaus įtaka pratekančio srauto greičiui, vidutiniam aliejaus lašelių dydžiui ir jų pasiskirstymui emulsijoje, įkapsuliavimo efektyvumui ir reologinėms dvigubųjų emulsijų charakteristikoms.

Iš 3.3 lent. pateiktų rezultatų matoma, kad pratekančio srauto greitis statistiškai reikšmingai ( $p < 0,05$ ) sumažėjo didinant praleidimų per membraną skaičių, nepriklausomai nuo emulsijos sudėties. Pavyzdžiui, emulsijoje su natūraliomis sultimis, stabilizuotoje 0,5 % IBI, didžiausia srauto greičio vertė nustatyta po pirmojo praleidimo ( $65,18 \pm 3,22$  m/h), o po ketvirtojo praleidimo aiškiai matomas greičio sumažėjimas iki  $1,18 \pm 0,18$  m/h. Vertinant klampos pokytį po kiekvieno praleidimo matoma, kad srauto greičio pokyčiai negali būti paaiškinami tik klampos pokyčiais (3.3 lent.). Sahin'as ir kt. (2014) nustatė, kad greitis buvo didžiausias po pirmojo praleidimo, didinant praleidimų skaičių jis šiek tiek mažėjo. Autorių teigimu, tai lėmė emulsijos lašelių susikaupimas (nedidelis) tarp stiklo rutulėlių ar



virš jų. Lyginant Sahin'o ir kt. (2014) pateiktą ir eksperimento metu gautą greitį pirmojo praleidimo metu, nustatytas greitis yra ~8 kartus mažesnis, tačiau autorių tyrime paruoštos emulsijos yra mažiau klampios (3,6 mPa·s), būtent dėl šios priežasties hidraulinis sistemos atsparumas (greitis·klampa) yra toks pat.

**3.3 lentelė.** Dvigubųjų emulsijų su įkapsuliuotomis natūraliomis ir koncentruotomis burokėlių sultimis srauto greičio ir klamos priklausomybė nuo praleidimų per membraną skaičiaus ir IBI koncentracijos

Praleidimų skaičius	Natūralios sultys; 0,5 % IBI		Koncentruotos sultys; 0,5 % IBI		Natūralios sultys; 1 % IBI	
	Srauto greitis [m/h]	Klampa* [Pa·s]	Srauto greitis [m/h]	Klampa* [Pa·s]	Srauto greitis [m/h]	Klampa* [Pa·s]
Prieš	–	0,03±0,00a	–	0,04±0,00a	–	0,03±0,00a
1	65,18±3,22d	0,16±0,00b	41,88±3,41c	0,34±0,02b	56,49±2,36c	0,17±0,01d
2	24,26±5,66c	0,54±0,08c	5,09±2,16b	0,75±0,04d	14,67±1,59b	0,12±0,01c
3	2,84±0,40b	0,64±0,04c	0,49±0,36a	0,81±0,15d	2,25±1,03a	0,11±0,01c
4	1,18±0,18a	0,17±0,01b	–	0,60±0,11c	1,65±0,59a	0,08±0,00b

\* Klampa matuota esant pastoviam poslinkio greičiui  $30 \text{ s}^{-1}$ . Rezultatai pateikti kaip vidurkiai su standartiniais nuokrypiais; mažosios raidės parodo reikšmingą ( $p < 0,05$ ) srauto greičio ir klamos skirtumą esant skirtingam praleidimų skaičiui.

Dvigubojoje emulsijoje, stabilizuotoje 0,5 % IBI tirpalu, po pirmojo praleidimo vidutinis aliejaus lašelių dydis sumažėjo išliekant tam pačiam santykiniam lašelių dydžio pasiskirstymo rodikliui (*span*), o emulsijoje su 1 % IBI lašelių dydis sumažėjo, tačiau tai lėmė sistemos polidispersiškumo padidėjimą (3.4 lent.).

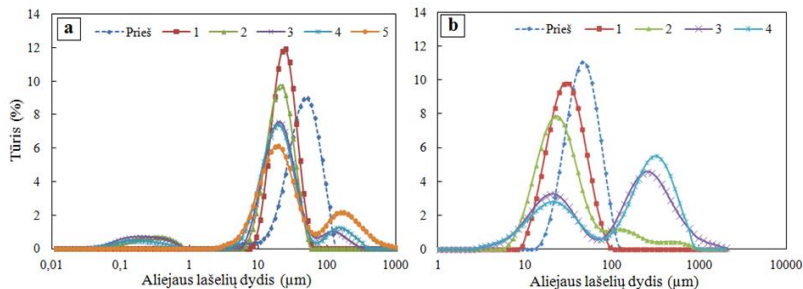
**3.4 lentelė.** Vidutinis aliejaus lašelių dydis ir lašelių dydžio pasiskirstymas skirtingos sudėties dvigubosiose emulsijose prieš emulsavimą naudojant modifikuoto membraninio emulsavimo sistemą ir po jo esant pastoviam 300 kPa slėgiui ir skirtingam praleidimų skaičiui

Praleidimų skaičius	Natūralios sultys; 0,5 % IBI		Koncentruotos sultys; 0,5 % IBI		Natūralios sultys; 1 % IBI	
	$d_{32}$	<i>span</i>	$d_{32}$	<i>span</i>	$d_{32}$	<i>span</i>
Prieš	31,95±0,10e	1,39	38,61±0,03d	1,11	27,17±0,05e	1,41
1	20,35±0,02d	1,03	24,87±0,03b	1,28	21,36±0,26d	2,65
2	14,53±0,43a	1,75	21,67±0,31a	4,07	10,44±0,11a	2,64
3	15,04±2,04ab	2,77	31,99±2,09c	3,42	11,82±0,50b	4,37
4	17,04±2,01bc	4,37	34,28±1,17c	2,64	10,61±0,50a	5,19
5	17,97±1,06c	8,56	–	–	13,36±0,07c	5,48

Rezultatai pateikti kaip vidurkiai su standartiniais nuokrypiais; mažosios raidės parodo statistiškai reikšmingą ( $p < 0,05$ ) aliejaus lašelių dydžio  $d_{32}$  skirtumą esant skirtingam praleidimų skaičiui.

Polidispersiškumo didėjimas nustatytas ir emulsijoje su 0,5 % IBI didinant praleidimų skaičių – susidarė nedidelė dalis mažų ( $<1 \mu\text{m}$ ) ir didesnė dalis gana didelių aliejaus lašelių ( $\geq 100 \mu\text{m}$ ) (3.5 pav., a). Tai aiškiai parodo, kad emulsija nėra

stabili minėtomis proceso sąlygomis. Naudojant koncentruotas burokėlių sultis šis efektas buvo dar aiškiau matomas (3.5 pav., *b*), manoma, dėl spartesnio vandens judėjimo į vidinę vandens fazę, palyginti su natūraliomis sultimis; gauta polidispersiškesnė sistema su daug didesniais aliejaus lašeliais. Tai taip pat iš dalies leidžia paaiškinti, kodėl emulsija, stabilizuota 1 % IBI, buvo polidispersiškesė; dėl mažesnių lašelių pagreitėja vandens difuzija (padidėja tarpfazinio paviršiaus plotas).



**3.5 pav.** Aliejaus lašelių dydžio pasiskirstymo priklausomybė nuo praleidimų per membraną skaičiaus dvigubosiose emulsijose, stabilizuotose 0,5 % IBI, su įkapsuliuotomis natūraliomis (*a*) ir koncentruotomis (*b*) sultimis

Nazir'as, Boom'as ir Schroën (2013) nustatė, kad aliejaus lašelių dydis emulsijose sumažėjo, nepriklausomai nuo homogenizavimui naudoto slėgio. Autoriai nurodo, kad didžiausias lašelių sumažėjimas pirminėse emulsijose buvo nustatytas po pirmojo praleidimo. Tačiau reikšmingas sumažėjimas taip pat nustatytas iki trečiojo praleidimo. Po jo didinant praleidimų skaičių lašelių dydis mažėjo minimaliai. Šio eksperimento metu gauti priešingi rezultatai. Tai siejama su padidėjusia emulsijų klampa (3.3 lent.), lemiančia per membraną pratekančio srauto greičio sumažėjimą. Taip emulsijos buvimo kolonėlėje trukmė ilgėja ir dėl to padidėja koalescencijos tikimybė.

Įkapsuliavimo efektyvumas prieš modifikuotą membraninį emulsavimą priklausė nuo dvigubosios emulsijos sudėties, tačiau visada buvo didelis – 96–100 % (3.5 lent.). Šios vertės buvo didesnės nei Kaimainen'o ir kt. (2015) nustatytas įkapsuliavimo efektyvumas (89 %) dvigubosiose emulsijose su įkapsuliuotu vandeniniu betalainų ekstraktu.

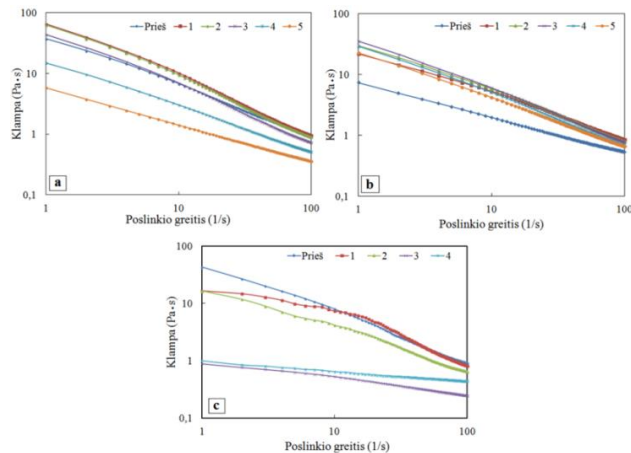
3.5 lent. pateiktos įkapsuliavimo efektyvumo vertės esant skirtingam praleidimų per membraną skaičiui. Nustatyta, kad didžiausias įkapsuliavimo efektyvumas visose trijose emulsijose buvo po pirmojo praleidimo. Didėjant praleidimų skaičiui, įkapsuliavimo efektyvumas mažėjo, kai kuriuose mėginiuose net buvo aiškiai matomas fazių atsiskyrimas. Tačiau netgi tada, kai aliejaus lašeliai didėjo didėjant praleidimų skaičiui, emulsijos nebuvo destabilizuotos ir vidinė vandens fazė nebuvo suardyta. Galima teigti, kad lašeliai sąveikavo vieni su kitais tiesiogiai ar kolonėlėje esančiame stiklo rutulėlių sluoksnyje, dėl to sistema blokavosi ir sumažėjo pratekančio srauto greitis.

**3.5 lentelė.** Įkapsuliavimo efektyvumas skirtingos sudėties dvigubosiose emulsijose prieš modifikuotą membraninį emulsavimą ir po jo esant skirtingam praleidimų skaičiui

Praleidimų skaičius	Įkapsuliavimo efektyvumas (%)		
	Natūralios sultys; 0,5 % IBI	Koncentruotos sultys; 0,5 % IBI	Natūralios sultys; 1 % IBI
Prieš	98,62±0,08d	100,00±0,00d	95,76±0,10d
1	100,00±0,00e	100,00±0,00d	95,53±0,12d
2	100,00±0,00e	89,68±0,12c	93,85±0,10c
3	92,15±0,05c	81,21±0,08b	91,21±0,03b
4	86,89±0,10b	75,08±0,15a	89,17±0,05a
5	84,50±0,12a	–	89,01±0,11a

Rezultatai pateikti kaip vidurkiai su standartiniais nuokrypiais; mažosios raidės stulpeliuose parodo statistškai reikšmingą ( $p < 0,05$ ) skirtumą tarp burokėlių sulčių įkapsuliavimo efektyvumo skirtingos sudėties dvigubosiose emulsijose.

3.6 pav. pateikta skirtingos sudėties dvigubųjų emulsijų klamos priklausomybė nuo poslinkio greičio esant skirtingam praleidimų skaičiui. Vertinant klamos kitimą dvigubosioje emulsijoje, stabilizuotoje 0,5 % IBI, matyti, kad pradžioje didėjant praleidimų skaičiui klampa didėjo, manoma, dėl vandens difuzijos į vidinę vandens fazę. Tačiau jau po trečiojo praleidimo klampa ėmė mažėti, ir tai gali būti siejama su sistemos nestabilumu, nes buvo matomas emulsijos išsisluksniavimas. Toks reiškinys yra nepageidaujamas realiame produkte.



**3.6 pav.** Klamos priklausomybė nuo poslinkio greičio dvigubosiose emulsijose su natūraliomis sultimis, stabilizuotomis 0,5 % IBI (a), su natūraliomis sultimis, stabilizuotomis 1 % IBI (b), su du kartus koncentruotomis sultimis, stabilizuotomis 0,5 % IBI (c)

Labai panaši klamos kitimo tendencija pastebėta ir dvigubosioje emulsijoje, stabilizuotoje 1 % IBI, tačiau klamos sumažėjimas esant didesniai praleidimų skaičiui yra ne toks žymus. Klamos didėjimas sietinas su anksčiau minėtu aliejaus lašelių tūrio didėjimu dėl osmosinio slėgio, tačiau gali būti, kad didinant IBI koncentraciją aliejaus lašeliai yra geriau stabilizuojami, būtent todėl šios emulsijos pasižymi didesniu įkapsuliavimo efektyvumu (3.5 lent.).

Kaip jau buvo minėta ankstesniame skyrelyje, emulsijos su koncentruotomis burokėlių sultimis nebuvo stabilios ir jose didinant praleidimų skaičių įkapsuliavimo efektyvumas mažėjo. Konkrečioje sistemoje osmosinio slėgio skirtumai abipus tarpfazio yra didesni nei emulsijose, kurių viduje įkapsuliuotos natūralios sultys. Dėl tokio sudėties skirtumo galėjo prasidėti nekontroliuojamas lašelių tūrio didėjimas, sukiantis pirminės vandens fazės išsiskyrimą į tolydinę vandens fazę ir klampus sumažėjimą.

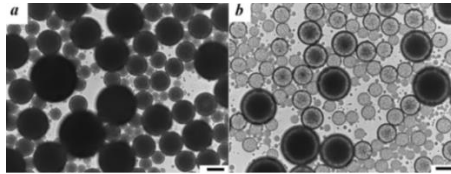
### **3.1.3. Dvigubųjų emulsijų stabilumo priklausomybė nuo osmosinio slėgio, lipofilinio emulsiklio ir V-A tarpfazio sudėties**

Šiuo metu daug tyrimų atliekama vertinant hidrofiliųjų ir lipofilinių emulsiklių rūšies ir jų koncentracijos įtaką dvigubųjų emulsijų charakteristikoms: stabilumui, aliejaus lašelių dydžiui, įkapsuliavimo efektyvumui ir klampai. Tačiau apie pagrindinius dvigubųjų emulsijų stabilizavimo mechanizmus dar labai mažai žinoma. 3.1.2 skyrelyje aprašytas dvigubųjų emulsijų su įkapsuliuotomis burokėlių sultimis stabilumas buvo siejamas su osmosinio slėgio skirtumo vandens fazėse ( $V_1$  ir  $V_2$ ) sukeltu tolydinės fazės klamos padidėjimu. Remiantis literatūros duomenimis, be minėtojo reiškinio, emulsijų stabilumui įtakos gali turėti paviršiaus įtempies efektas ir PGPR, kaip emulsiklio, savybės. Todėl buvo nuspręsta ištirti osmosinio slėgio, susidariusio dvigubosiose emulsijose su įkapsuliuotomis natūraliomis burokėlių sultimis, lipofilinio emulsiklio PGPR ir V-A tarpfazio sudėties įtaką emulsijų stabilumui.

#### *3.1.3.1. Osmosinio slėgio įtaka dvigubųjų emulsijų stabilumui*

Šioje eksperimento dalyje įvertinta natūralių burokėlių sulčių, kurios buvo įkapsuliuotos dvigubosiose emulsijose, įtaka emulsijose susidariusiam osmosiniam slėgiui. Osmosinis slėgis vidinėje vandens fazėje (burokėlių sultyse) susidarė dėl angliavandenių (ir druskų), kurie natūraliai yra sulčių sudėtinė dalis. Naudojant van't Hoffo lygtį (2) apskaičiuota, kad osmosinis slėgis eksperimente naudotose natūraliose burokėlių sultyse, kuriose yra 10 % sausųjų medžiagų (daugiausia gliukozė), buvo 1,468 MPa (20 °C temperatūra, tankis 1,4500 kg/l). Siekiant subalansuoti osmosinį slėgį sistemoje paruoštos dvigubosios emulsijos su skirtinga gliukozės koncentracija (0,5 %, 1 % ir 3 %) išorinėje vandens fazėje. Osmosinis slėgis šiuose gliukozės tirpaluose atitinkamai buvo 0,682, 1,364 ir 4,038 MPa. Dvigubųjų emulsijų klampa buvo išmatuota 2 h palaikius kambario temperatūroje. Buvo nustatyta, kad pridėjus gliukozės į išorinę vandens fazę susidarė mažesnės klamos (0,15–0,65 Pa·s) emulsija, palyginti su emulsija be gliukozės (3,60 Pa·s). Šie rezultatai leidžia patvirtinti, kad klamos ir aliejaus lašelių padidėjimas tiesiogiai susijęs su osmosinio slėgio skirtumais abiejose vandens fazėse. Taip pat svarbu paminėti, kad dviguboji emulsija su 3 % gliukozės išorinėje vandens fazėje buvo nestabili. Manytina, kad pagrindinė to priežastis buvo vandens difuzija iš vidinės vandens fazės į išorinę. Jei šis reiškinys vyksta dėl susidarančių reversinių micelių mechanizmo, gali būti sumažinamas stabilizuojančių komponentų kiekis tarpfazyje ir tokiu būdu destabilizuojama sistema (Guilbaud, Zemb, 2015). Vizualiai tai

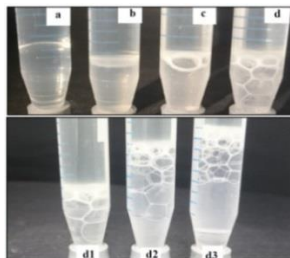
matoma 3.7 pav., kuriame pateikta 30 min kambario temperatūroje laikytų dvigubųjų emulsijų struktūra. 3.6 pav. *b* dalyje aiškiai matomas sumažėjęs vidinės vandens fazės kiekis emulsijoje su didesniu gliukozės kiekiu (3 %) (t. y. šviesesnis aliejaus lašelių vidus).



**3.7 pav.** Mikroskopinis dvigubųjų emulsijų su skirtinga gliukozės koncentracija išorinėje vandens ( $V_2$ ) fazėje (*a* – 1 %; *b* – 3 %) vaizdas po 30 min laikymo kambario temperatūroje (didinimas  $\times 40$ )

### 3.1.3.2. Lipofilinio emulsiklio (PGPR) įtaka emulsijų stabilumui

Siekiant įvertinti lipofilinio emulsiklio įtaką emulsijų stabilumui buvo paruoštos pirminės V-A emulsijos taikant „savaiminį emulsavimą“. Tam tikslui aliejus, kuriame buvo ištirpintas įvairus kiekis PGPR (0,5 g/100 g, 3 g/100 g ir 6 g/100 g), buvo švelniai užlašintas ant vandens ir paliktas neveikiant sistemos jokia mechanine jėga (t. y. nepurtant, nemaišant ir pan.). Pradžioje buvo matomi du atskiri vienas kitame netirpių skysčių sluoksniai. Palaikius 24 h kambario temperatūroje sąlyčio paviršiuje tarp aliejaus (su ištirpusiu PGPR) ir vandens buvo matomas baltos spalvos emulsijos sluoksnis; jis išliko stabilus ilgiau nei savaitę (3.8 pav.). Emulsijos sluoksnis didėjo didėjant lipofilinio emulsiklio koncentracijai (3.8 pav., *c* ir *d*). Analogiškus rezultatus gavo Bahtz ir kt. (2015) – jie nustatė, kad, sistemoje daugėjant laisvųjų emulsiklio molekulių, lašeliai formuojasi sparčiau ir dėl to didėja ne tik spontaniškai susiformavusių vandens lašelių skaičius, bet ir jų dydis. Emulsijos sluoksnis susidarė nepriklausomai nuo naudoto vandens ir aliejaus santykio, kaip matoma 3.8 pav. (apačioje *d1*, *d2*, *d3*). Kontrolinėje sistemoje, kurioje nebuvo PGPR (3.8 pav., *a*), emulsijos sluoksnis nesusidarė, taigi tampa aišku, kad PGPR atlieka pagrindinį vaidmenį formuojantis vandens lašeliams.



**3.8 pav.** V-A tarpfazio, susiformavusio po 24 h laikymo kambario temperatūroje (neveikiant mechanine jėga), vaizdas esant skirtingam PGPR kiekiui aliejaus fazėje: *a* – 0 g/100 g; *b* – 0,5 g/100 g; *c* – 3 g/100 g; *d* – 6 g/100 g, kai vandens ir aliejaus santykis 20:80 (viršuje). V-A tarpfazio vaizdas esant 6 g/100 g PGPR kiekiui aliejaus fazėje, kai vandens ir aliejaus santykis: *d1* – 20:80; *d2* – 40:60; *d3* – 50:50 (apačioje)

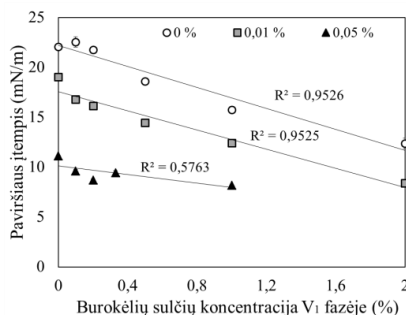
Gautus rezultatus iliustruoja mikroskopinės nuotraukos, pateiktos 3.9 pav., kuriose aiškiai matomi vandens lašeliai, pasiskirstę aliejaus fazėje, ir didesnis jų kiekis tarpfazyje, turinčiame daugiau lipofilinio emulsiklio. Bahtz ir kt. (2015) pateikė du galimus šio reiškinio susidarymo mechanizmus: 1) vandens difuzija į aliejaus fazę iki visiško įsisotinimo, lemianti klasterių susiformavimą (šie susilieja į mažus vandens lašelius) arba 2) vandens „judėjimą“ susiformavusiomis PGPR micelėmis. Vertinant tai, kad vandens tirpumas aliejuje yra labai mažas, antrasis mechanizmas yra tikėtinesnis.



**3.9 pav.** Mikroskopinės V-A tarpfazio nuotraukos po 24 h laikymo kambario temperatūroje (neveikiant mechanine jėga) esant skirtingam PGPR kiekiui aliejaus fazėje: *a* – 0 g/100 g, *b* – 3 g/100 g, *c* – 6 g/100 g. Vandens ir aliejaus santykis 20:80 (didinimas  $\times 40$ )

### 3.1.3.3. V-A tarpfazio sudėties įtaka paviršiaus įtampiui ir tarpfazio struktūrai

Paviršiaus įtempio priklausomybė nuo burokėlių sulčių ir lipofilinio emulsiklio (PGPR) koncentracijos vandens ir saulėgrąžų aliejaus tarpfazyje pateikta 3.10 pav. Manoma, kad paviršiaus įtempis priklauso nuo aliejaus rūšies emulsijoje. Šiame eksperimente emulsijoms gaminti buvo naudojamas saulėgrąžų aliejus ir pusiausvyrinė paviršiaus įtempio vertė V-A (be PGPR) tarpfazyje buvo  $23,12 \pm 0,52$  mN/m. Palyginimui galima paminėti, kad Gülseren'o ir Corredig (2012) nustatytas pusiausvyrinis paviršiaus įtempis sojų A-V tarpfazyje buvo didesnis ( $30,5 \pm 0,6$  mN/m), taip pat kaip ir sojų A-V tarpfazyje ( $31 \pm 1$  mN/m) Andrade ir Corredig (2016) tyrime. Nustatytoms mažesnėms paviršiaus įtempio vertėms galėjo turėti įtakos įvairios priemonės, kurių natūraliai yra aliejuje, nes prieš eksperimentą jis nebuvo išvalytas, priešingai nei Gülseren'o ir Corredig (2012) ir Andrade ir Corredig (2016) tyrimuose. Taip pat skirtumus galėjo lemti tai, kad šių autorių tyrimuose buvo naudojamas kitoks aliejus.



**3.10 pav.** Paviršiaus įtempis po 7200 s V-A tarpfazyje, esant skirtingai burokėlių sulčių koncentracijai vandens fazėje ir skirtingai PGPR koncentracijai aliejaus fazėje

Labai mažos burokėlių sulčių koncentracijos – 0,1 ar 0,2 % – neturėjo reikšmingos įtakos paviršiaus įtempiui tarpfazyje – vertės (~21–22 mN/m) buvo artimos kontroliniam mėginiui (distiliuotas vanduo). Tačiau, padidinus sulčių koncentraciją >0,5 % vandens fazėje, paviršiaus įtempio reikšmės sumažėjo (3.10 pav.). Esant didžiausiai burokėlių sulčių koncentracijai (2 %) nustatyta 1,8 karto mažesnis paviršiaus įtempis (12,39±0,51 mN/m), palyginti su kontroliniu mėginiu (22,11±0,11 mN/m). To priežastis galėjo būti didesnis paviršiaus aktyviųjų medžiagų, natūraliai esančių sultyse, kiekis, dėl kurio padidėja šių medžiagų adsorbcijos tankis V-A tarpfazyje. Didėjant šių medžiagų koncentracijai jų molekulės ima orientotis tarpfazyje formuodamos monosluoksnį. O tai padidina paviršiaus slėgį, dėl jo sumažėja paviršiaus energija ir įtempis. Galiausiai tirpalo koncentracijai tapus artimai kritinei paviršiaus aktyviųjų medžiagų koncentracijai, tolesnė adsorbcija nebevyksta ir paviršiaus įtempis pasiekia galutinę (pusiausvyrinę) vertę (Gao, Sharma, 2013). Toliau eksperimento metu didinant sulčių koncentraciją >2 % vandens lašeliai praranda savo formą, dėl to techniškai nebeįmanoma atlikti matavimų.

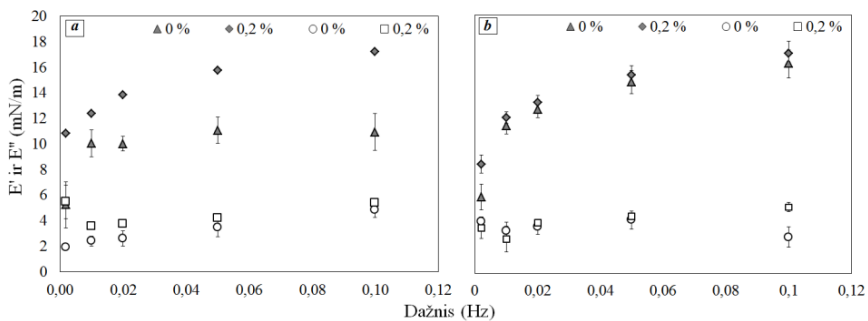
PGPR buvo naudojamas kaip lipofilinis emulsiklis dvigubosioms emulsijoms stabilizuoti. Pirminės V-A emulsijos vidinėje vandens fazėje ( $V_1$ ) buvo įkapsuliuotos burokėlių sultys ir tiriamos sąveikos tarp burokėlių sulčių ir PGPR V-A tarpfazyje, esant skirtingai šių sulčių koncentracijai vandens fazėje.

Visų pirma, pridėjus PGPR į aliejaus fazę statistiškai reikšmingai ( $p < 0,05$ ) sumažėjo paviršiaus įtempis, kuris tiesiogiai priklausė nuo PGPR koncentracijos. Pridėjus 0,01 % PGPR į aliejaus fazę paviršiaus įtempis sumažėjo nuo 22,11±0,11 iki 19,06±0,09 mN/m. Lipofilinio emulsiklio koncentraciją padidinus iki 0,05 % paviršiaus įtempis sumažėjo du kartus, palyginti su kontroliniu mėginiu (3.10 pav.). Tarpfazyje esant 0,01 % lipofilinio emulsiklio matoma aiški priklausomybė tarp paviršiaus įtempio mažėjimo ir burokėlių sulčių koncentracijos didėjimo ( $R^2 = 0,9525$ ) (3.10 pav.). Tokia pat priklausomybė nustatyta ir mėginiuose be PGPR ( $R^2 = 0,9526$ ), tačiau paviršiaus įtempio vertės buvo reikšmingai ( $p < 0,05$ ) mažesnės. Tai gali būti paaiškinama paviršiaus aktyviųjų medžiagų (emulsiklio) adsorbcija abipus tarpfazio. Andrade ir Corredig (2016) nustatė, kad mišriuose tarpfaziuose abiejų rūšių molekulės (PGPR ir baltymai) adsorbuojasi tarpfazyje. Būtent todėl galima teigti, kad, esant tokiai mažai PGPR koncentracijai, burokėlių sulčių komponentai ir PGPR veikia sinergetiškai. Visiškai kitokia sistemos elgsena buvo nustatyta padidinus PGPR koncentraciją iki 0,05 %; nebeliko aiškios paviršiaus įtempio priklausomybės ( $R^2 = 0,5763$ ) nuo burokėlių sulčių koncentracijos.

Nustačius sinergetinį burokėlių sulčių ir PGPR poveikį paviršiaus įtempiui, toliau charakterizuotos tarpfazio savybės. Tai yra labai svarbu, nes, pasak Gaonkar'o (1991), paviršiaus įtempis yra aktyviųjų junginių adsorbcijos indikatorius, tačiau jis necharakterizuoja tarpfazinio sluoksnio struktūros. Disertacijos autorė nustatė, kad tirti V-A tarpfaziai pasižymėjo elastingomis savybėmis, nepriklausomai nuo naudotų sulčių ar PGPR koncentracijos, nes elastingumo modulis ( $E'$ ) buvo didesnis nei klampos modulis ( $E''$ ) (3.11 pav.). Klampiai elastingą sistemos elgseną veikiant deformacijai leidžia patvirtinti ir kreivė (3.12 pav.), vaizduojanti paviršiaus slėgio

priklausomybę nuo deformacijos. Yra žinoma, kad didėjant tarpfaziniam elastingumui koalescencijos greitis sumažėja, dėl to padidėja emulsijos stabilumas.

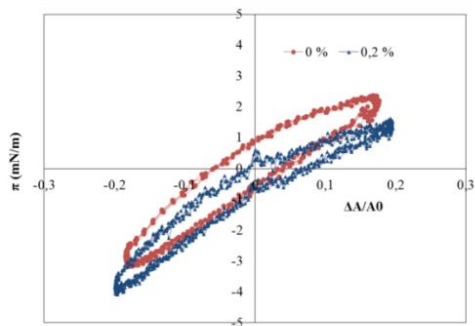
Didinant dažnį elastingumo modulis didėjo, o klamos modulis beveik nekito. Tokia elastingumo modulio ir dažnio priklausomybė nustatyta baltymais stabilizuotuose A-V tarpfaziuose (Maldonado-Valderrama ir kt., 2008), taip pat A-V tarpfazyje, kurio sudėtyje buvo pektinas ir PGPR (Gülseren, Corredig, 2014). Viena tokios elgsenos priežasčių yra ta, kad esant mažesniems dažniams tarpfazio deformacijos metu paviršiaus aktyviosios medžiagos turi pakankamai laiko orientuotis modifikuotame tarpfazyje, o didinant dažnį laiko pokyčiams lieka daug mažiau ir sistema ima elgtis elastiškai (Graham ir Phillips, 1980). Bet kokių atveju dėl palankių PGPR ir sulčių komponentų sąveikų susiformuoja elastingesnis ( $E' > E''$ ) tarpfazis.



**3.11 pav.** Elastingumo ( $E'$ ) ir klamos ( $E''$ ) modulių priklausomybė nuo dažnio, esant skirtingai burokėlių sulčių (0 ir 0,2 %) ir PGPR ( $a$  – 0,01 %;  $b$  – 0,05 %) koncentracijai tarpfazyje. Tamsūs taškai atitinka elastingumo, o balti – klamos modulį. Eksperimente naudota pastovi 20 % amplitudė

Kaip ir paviršiaus įtempio atveju, sulčių koncentracija turėjo reikšmingos įtakos tik tose sistemose, kuriose PGPR koncentracija buvo 0,01 %. Tarpfazyje su 0,2 % sulčių elastingumo modulis ( $E'$ ) buvo statistiškai reikšmingai ( $p < 0,05$ ) didesnis ir didinant dažnį šis skirtumas didėjo (3.11 pav., *a*). Kaip matyti iš 3.11 pav. *b* dalies, tarpfazyje, kuriame PGPR koncentracija buvo 0,05 %, sulčių poveikis išnyko, palyginti su tarpfaziu, kuriame PGPR koncentracija buvo 0,01 %. Todėl daroma prielaida, kad PGPR dominuoja mišriuose tarpfaziuose, kaip buvo nustatyta Andrade ir Corredig (2016) bei Gülseren'o ir Corredig (2012) tyrimuose.





**3.12 pav.** Paviršiaus slėgio priklausomybė nuo deformacijos tarpfazyje, kuriame yra 0,01 % PGPR ir skirtingos koncentracijos (0 ir 0,2 %) burokėlių sulčių. Dažnis – 0,05 Hz

### 3.2. Mėsos sistemų su dvigubųjų V-A-V emulsijų priedu charakterizavimas

Vienam iš darbo uždavinių įvykdyti dvigubosios V-A-V emulsijos buvo panaudotos kaip daugiafunkcė priemonė riebalų sudėčiai ir mėsos spalvai gerinti. Tuo tikslu mėsos sistemos buvo pagamintos du kartus, t. y. atliktos dvi bandymų serijos. Paruoštų mėsos sistemų santrumpos pateiktos 3.6 lent.

**3.6 lentelė.** Skirtingos sudėties mėsos sistemų santrumpos

Santrumpa	Sudėtis
K-7	kontrolinė mėsos sistema su 7 % kiaulienos lašinių
K-11	kontrolinė mėsos sistema su 11 % kiaulienos lašinių
DE-IBI-7	7 % riebumo mėsos sistema su dvigubosios emulsijos, stabilizuotos IBI, priedu
DE-IBI-11	11 % riebumo mėsos sistema su dvigubosios emulsijos, stabilizuotos IBI, priedu
DE-KMC-7	7 % riebumo mėsos sistema su dvigubosios emulsijos, stabilizuotos KMC, priedu
DE-KMC-11	11 % riebumo mėsos sistema su dvigubosios emulsijos, stabilizuotos KMC, priedu
DE-RS-7	7 % riebumo mėsos sistema su dvigubosios emulsijos su įkapsuliuotomis burokėlių sultimis, paruoštos rotorine-statorine sistema, priedu
DE-RS-11	11 % riebumo mėsos sistema su dvigubosios emulsijos su įkapsuliuotomis burokėlių sultimis, paruoštos rotorine-statorine sistema, priedu
DE-ME-7	7 % riebumo mėsos sistema su dvigubosios emulsijos su įkapsuliuotomis burokėlių sultimis, paruoštos modifikuota membraninio emulsavimo sistema, priedu
DE-ME-11	11 % riebumo mėsos sistema su dvigubosios emulsijos su įkapsuliuotomis burokėlių sultimis, paruoštos modifikuota membraninio emulsavimo sistema, priedu

Buvo paruoštos 7 % ir 11 % riebumo mėsos sistemos, kuriose vietoje gyvūninių riebalų naudotos stabiliausias gamtinių (IBI) ir modifikuotu gamtinių (KMC) emulsikliu stabilizuotos emulsijos (1-oji bandymų serija). Taip pat naudotos stabiliausias dvigubosios emulsijos su įkapsuliuotomis burokėlių sultimis, paruoštos statorine-rotorine ir modifikuota membraninio emulsavimo sistema (2-oji bandymų serija). Kontrolinės mėsos sistemos buvo paruoštos su 7 % ir 11 % gyvūninių riebalų priedu. Pagamintos mėsos sistemos charakterizuotos nustačius terminius nuostolius (vandens ir riebalų išslumo savybės), tekstūrą ir mėsos spalvą.

Vertinant mėsos sistemų terminius nuostolius, kurie pateikti 3.7 lent., matoma, kad gyvūninių riebalų pakeitimas dvigubą emulsija neturėjo neigiamos įtakos nei vandens, nei riebalų rišlumo savybėms. Tai siejama su geru pradiniu gravimetriniu ir terminiu dvigubųjų emulsijų stabilumu, kuris, manoma, išlieka ir emulsijas įdėjus į mėsos sistemas. Nustatyta, kad 2-osios bandymų serijos metu susidarė didesni bendrieji terminiai nuostoliai (21,73–23,46 %) nei 1-osios serijos metu (14,47–19,64 %). To priežastis buvo skirtinga naudota mėsos žaliava, nes didesni nuostoliai buvo ne tik sistemose su dvigubosiomis emulsijomis, bet ir kontrolinėse sistemose (su kiaulienos lašiniiais) (3.7 lent.). Nepaisant šių skirtumų, santykis tarp iš mėsos sistemų ištekėjusių vandens ir riebalų (atitinkamai 93–94 % ir 6–7 %) išliko toks pat, nepriklausomai nuo naudotos riebalų rūšies ir įdėtinio jų kiekio. Tokį pat santykį nurodo ir Cofrades ir kt. 2013, nors jų eksperimento metu buvo gauti mažesni bendrieji terminiai nuostoliai (5,11–9,61 %). Disertacijos tyrimo rezultatai panašūs į kitų autorių publikuotus rezultatus – kiti tyrėjai taip pat nustatė teigiamą dvigubųjų emulsijų poveikį mėsos sistemoms: Cofrades ir kt. (2013) nustatė sumažėjusius bendruosius terminius nuostolius mėsos sistemose, o Öztürk ir kt. (2016) nurodė, kad kiaušinio baltymais stabilizuotos emulsijos išlaiko drėgmę ir riebalus mėsos produktuose. Freire ir kt. (2016) paaiškino, kodėl V-A-V panaudojimas mėsos sistemose padidina arba išlaiko jų stabilumą. Visų pirma, tiesiogiai dedant riebalus ar aliejų į mėsos sistemas, riebalų lašeliai disperguojami mėsos matricoje, susiformuoja A-V emulsija, kurioje tirpūs mėsos baltymai veikia kaip hidrofiliniai emulsikliai. Tačiau kai A-V ar V-A-V emulsijos įdedamos kaip riebalų pakaitalas, yra daug daugiau laisvųjų mėsos baltymų ir jie sąveikauja tarpusavyje suformuodami stabilesnes baltymų matricas.

**3.7 lentelė.** Terminiai nuostoliai modelinėse mėsos sistemose su dvigubųjų emulsijų priedu priklausomai nuo jų sudėties

Mėsos sistema	BTN, %	VK, %	RK, %
<i>1-oji bandymų serija</i>			
K-7	17,74±1,66bcd	93,56±0,14cd	6,44±0,14a
DE-IBI-7	19,55±1,38cd	93,61±0,09d	6,39±0,09a
DE-KMC-7	19,64±0,87d	93,54±0,09cd	6,46±0,09a
K-11	15,47±0,79a	93,14±0,09b	6,86±0,09b
DE-IBI-11	14,47±2,07a	92,94±0,08a	7,06±0,08d
DE-KMC-11	16,12±0,57b	93,06±0,07ab	6,94±0,07bcd
<i>2-oji bandymų serija</i>			
K-7	23,46±0,34bcd	93,80±0,12bcd	6,20±0,12ab
DE-RS-7	23,14±0,73b	93,87±0,01bcd	6,13±0,01ab
DE-ME-7	21,73±0,44a	93,96±0,05d	6,04±0,05a
K-11	23,06±0,12b	93,59±0,15a	6,41±0,15d
DE-RS-11	24,22±0,75d	93,75±0,01b	6,25±0,00bcd
DE-ME-11	22,82±0,30b	93,79±0,07b	6,21±0,07ab

Rezultatai pateikti kaip vidurkiai su standartiniais nuokrypiais; mažosios raidės stulpeliuose parodo statistiškai reikšmingą ( $p < 0,05$ ) skirtumą tarp terminių nuostolių mėsos sistemose, paruoštose su skirtingos kilmės ir skirtingu kiekiu riebalų. BTN – bendrieji terminiai nuostoliai, %; VK – vandens kiekis nuo bendrųjų terminių nuostolių kiekio, %; RK – riebalų kiekis nuo bendrųjų terminių nuostolių kiekio, %.

Naudotų kietųjų gyvūninių riebalų funkcionalumas ir jų tekstūra kontrolinėse mėsos sistemose (K7 ir K11) lėmė mėsos sistemų kietumą (3.8 lent.). Pakeitus gyvūninius riebalus dvigubųjų emulsijų priedu mėsos sistemų kietumas sumažėjo. Serdaroğlu ir kt. (2016) bei Freire ir kt. (2016) taip pat nustatė sumažėjusį mėsos sistemų kietumą. Iš 3.8 lent. pateiktų duomenų matyti, kad kietumas buvo reikšmingai mažesnis 2-osios serijos metu gamintose sistemose. Taip pat aiškiai matomas skirtumas tarp kontrolinių sistemų (24,03–24,65 N) ir sistemų su dvigubosiomis emulsijomis (13,97–16,71 N). 1-osios serijos metu pagamintos sistemos buvo kietesnės (31,61–36,55 N).

1-osios (0,67–0,71) ir 2-osios serijos metu (0,85–0,93) paruoštų skirtingų mėsos sistemų vandens ir riebalų rišlumas nesiskyrė, priešingai nei Serdaroğlu ir kt. (2016) tyrime. Autoriai nustatė rišlumo sumažėjimą nuo 0,82 iki 0,26, kai jautienos riebalai buvo pakeisti 10 % dvigubosios emulsijos, stabilizuotos natrio kazeinatu, priedu. Literatūroje nurodoma, kad tekstūros savybių skirtumams tarp sistemų su gyvūniniais riebalais ir sistemų su jų pakaitalais įtakos galėjo turėti riebalų ir baltymų šaltinio rūšis, baltymų kiekis ir fizikocheminės emulsijų savybės (Cofrades ir kt., 2013; Freire ir kt., 2016). Įvertinant, kad kambario temperatūroje kiaulienos lašiniai yra kieti, o emulsija skysta, galima daryti išvadą, kad dėl to kietumas ir sumažėjo.

Serdaroğlu ir kt. (2016) taip pat nurodė, kad hidrofilinis emulsiklis, naudotas emulsijoms stabilizuoti, turi įtakos ne tik pačių emulsijų savybėms, bet ir mėsos sistemų tekstūrai, tačiau šio tyrimo metu didelių skirtumų tarp emulsijų, stabilizuotų IBI ar KMC, nenustatyta. pH vertės visose sistemose buvo labai panašios ir kito ribose nuo 5,92 iki 6,02.

**3.8 lentelė.** Mėsos sistemų su dvigubųjų emulsijų priedu tekstūros savybės ir pH vertės priklausomai nuo jų sudėties

Mėsos sistema	Kietumas, N	Rišlumas (bedimensis dydis)	pH
<i>1-oji bandymų serija</i>			
K-7	33,07±2,83ab	0,69±0,01c	5,93±0,00b
DE-IBI-7	31,61±3,44a	0,66±0,01a	5,90±0,01a
DE-KMC-7	32,96±1,85ab	0,71±0,01d	5,95±0,00cd
K-11	36,55±0,76c	0,69±0,00c	5,92±0,00b
DE-IBI-11	32,08±2,38ab	0,68±0,02bc	5,95±0,01cd
DE-KMC-11	33,43±1,46ab	0,67±0,02ab	5,96±0,00d
<i>2-oji bandymų serija</i>			
K-7	24,65±2,69c	0,89±0,04ab	6,05±0,01c
DE-RS-7	13,97±0,96a	0,88±0,05ab	6,01±0,01b
DE-ME-7	15,70±1,30b	0,91±0,01b	5,98±0,02a
K-11	24,03±0,95c	0,93±0,06b	6,02±0,02b
DE-RS-11	14,02±2,29a	0,93±0,01b	5,98±0,01a
DE-ME-11	16,71±1,95b	0,85±0,05a	5,98±0,01a

Rezultatai pateikti kaip vidurkiai su standartiniais nuokrypiais; skirtingos mažosios raidės stulpeliuose parodo statistiškai reikšmingą skirtumą tarp tekstūros savybių ir pH skirtingose mėsos sistemose.

Mėsos sistemų, paruoštų su dvigubosiomis emulsijomis, spalva buvo matuojama prieš terminį apdorojimą ir po jo. Rezultatai pateikti 3.9 lent. Visų pirma, dar iki terminio apdoravimo dėl dvigubųjų emulsijų, stabilizuotų IBI ir KMC, pridėjimo mėsos sistemų rausvumas ( $a^*$ ) sumažėjo nuo 8,1–8,39 iki 5,89–7,02. O sistemose su dvigubosiomis emulsijomis, kuriose buvo įkapsuliuotos burokėlių sultys, buvo gauti priešingi rezultatai, t. y. jose buvo reikšmingai didesnis rausvumas (15,62–17,13) nei kontrolinėse sistemose (10,32–10,79).

Po terminio apdoravimo (70 °C temperatūroje 30 min) rausvumas sumažėjo visose sistemose dėl įvykusių cheminių mioglobino pokyčių, tačiau dėl skirtingos dvigubųjų emulsijų (paruoštų 1-osios ir 2-osios bandymų serijos metu) sudėties buvo gauti visiškai priešingi rezultatai. Visų pirma, dėl IBI ir KMC stabilizuotų emulsijų pridėjimo sumažėjo rausvumas ir padidėjo šviesumas. Tokį pat neigiamą poveikį spalvai nustatė ir Cofrades ir kt. (2013) bei Jiménez-Colmenero ir kt. (2010), pakeitę kiaulienos lašinius dvigubosiomis emulsijomis. Minėtą reiškinį lemia ryški balta emulsijų spalva, dėl kurios sumažėja mėsos spalvos grynumas. Dažnai autoriai gautus rezultatus sieja su eksperimento metu naudotu aliejumi ir emulsinių sistemų stabilizavimo ypatumais (Delgado-Pando ir kt. 2010; Jiménez-Colmenero ir kt., 2010), tačiau taip ir nepasiūlo šios problemos sprendimo būdo.

Vis dėlto dėl dvigubosiose emulsijose įkapsuliuotų burokėlių sulčių mėsos sistemose su šių emulsijų priedu spalvos vertės buvo statistiškai reikšmingai ( $p < 0,05$ ) didesnės (8,83–10,12) nei kontrolinėse sistemose (2,19–2,4), nepriklausomai nuo emulsijos paruošimo būdo ir įdėtinio jos kiekio. Šis skirtumas vizualiai matomas 3.13 pav., kuriame pateiktos mėsos sistemų nuotraukos po terminio apdoravimo. Tačiau šios sistemos buvo šiek tiek tamsesnės ( $L^*$  sumažėjo) ir mažiau gelsvos ( $b^*$  sumažėjo), palyginti su kontrolinėmis sistemomis.

Taip pat svarbu paminėti, kad padidinus įdedamos emulsijos kiekį (riebumas didėjo nuo 7 iki 11 %) rausvumo vertės didėjo, priešingai nei kitose sistemose (tarp jų ir kontrolinėse). Gauti rezultatai yra siejami su dideliu burokėlių sulčių įkapsuliovimo efektyvumu (>98 %) ir geru terminiu dvigubųjų emulsijų stabilumu. Naudojant dvigubąsias emulsijas kaip įkapsuliovimo technologiją, terminiam apdorojimui jautrūs betalainai išlieka nepakitę ir atlieka tiesioginę pigmento funkciją mėsos sistemose (gaunama patrauklesnė spalva). Taigi įkapsuliuojant betalainus į dvigubąsias emulsijas prieš dedant juos į mėsos sistemas yra pasiekiamas dvigubas funkcionalumas, t. y. gyvūniniai riebalai pakeičiami augaliniais ir išlaikoma pageidaujama mėsos sistemų (produktų) spalva.

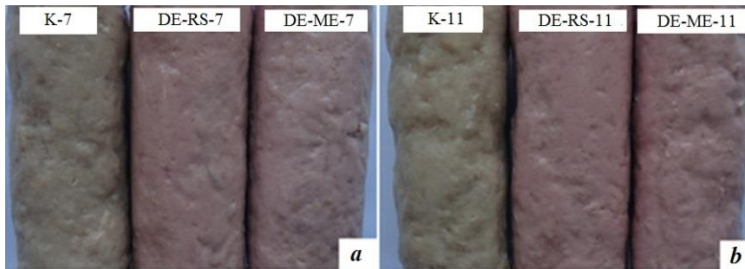
**3.9 lentelė.** Skirtingos sudėties vidinė mėsos sistemų spalva prieš terminį apdorojimą ir po jo

Mėsos sistema	Prieš terminį apdorojimą			Po terminio apdoravimo		
	$L^*$	$a^*$	$b^*$	$L^*$	$a^*$	$b^*$
	<i>1-oji bandymų serija</i>					
K-7	77,38±0,19a	8,39±0,11e	9,01±0,03a	71,52±0,03a	7,50±0,21e	13,70±0,05d
DE-IBI-7	81,07±0,06d	7,02±0,01d	9,60±0,02b	76,65±0,57c	5,26±0,11bc	12,77±0,07c
DE-KMC-7	78,67±0,09b	6,17±0,01b	10,60±0,03d	79,21±0,44d	5,45±0,08c	12,54±0,08c
K-11	79,88±0,61c	8,10±0,19e	9,53±0,09b	73,17±0,35b	6,67±0,07d	13,50±0,08d

### 3.9 lentelės tęsinys

DE-IBI-11	81,61±0,18d	6,71±0,03c	10,20±0,03c	79,23±0,10d	4,24±0,03a	12,17±0,02b
DE-KMC-11	80,77±1,26cd	5,89±0,06a	10,60±0,08d	80,68±0,10e	5,14±0,01b	11,19±0,36a
<i>2-oji bandymų serija</i>						
K-7	54,58±0,14a	10,79±0,06b	18,32±0,05e	57,55±0,28c	2,40±0,10b	13,12±0,25d
DE-RS-7	55,15±0,03c	15,62±0,02d	14,83±0,03d	55,47±0,33a	8,84±0,03d	11,78±0,18c
DE-ME-7	55,71±0,04d	15,49±0,03c	14,71±0,01c	56,70±0,24b	8,39±0,08c	11,55±0,25bc
K-11	56,13±0,07f	10,32±0,07a	18,43±0,10f	58,18±0,22d	2,19±0,07a	13,20±0,24d
DE-RS-11	55,90±0,03e	16,31±0,04e	13,30±0,05a	57,14±0,07bc	9,17±0,12e	11,31±0,03ab
DE-ME-11	54,85±0,08b	17,13±0,02f	13,64±0,01b	55,85±0,29a	10,12±0,03f	11,10±0,13a

Rezultatai pateikti kaip vidurkiai su standartiniais nuokrypiais; mažosios raidės stulpeliuose parodo statistiškai reikšmingą skirtumą tarp spalvos koordinačių ( $L^*$ ,  $a^*$  ir  $b^*$ ) skirtingose mėsos sistemose prieš terminį apdorojimą ir po jo.



**3.13 pav.** Skirtingos sudėties mėsos sistemų nuotraukos po terminio apdorojimo: *a* – esant sumažintam riebalų kiekiui (7 %); *b* – esant normaliam riebalų kiekiui (11 %)

### 3.3. Nitratai iš liofilizuotų daržovių įtaka mėsos fermentacijai

Antroji priemonė, kurią būtų galima naudoti raudoniesiems pigmentams mėsos gaminiuose stabilizuoti, – tai nitratai iš liofilizuotų daržovių redukcija mėsos fermentacijos metu. Šia technologija būtų galima pakeisti pridėtinę nitritinę druską, kuri mėsos gaminiuose naudojama ne tik kaip spalvos stabilizatorius, bet ir kaip konservantas. Eksperimentui buvo pasirinkti salierai, pastarnokai ir porai, nes literatūroje nurodoma, kad šios daržovės sukaupia daug nitratai. Taip pat jose nėra ryškios spalvos pigmentų ir jos pasižymi švelniu skoniu, todėl neturės neigiamos įtakos galutiniam gaminio skoniui ir aromatum. Pagrindinis porų ir pastarnokų pranašumas yra tai, kad juose, priešingai nei salieruose, nėra alergenų. Europos Tarybos reglamente (EB) 1169/2011 nurodoma, kad salierai ir jų produktai gali sukelti alergiją ar netoleravimą.

Atlikti pirminiai tyrimai parodė, kad 3 % šių daržovių priedo kartu su komercinėmis startinėmis kultūromis, kurių sudėtyje buvo *Staphylococcus xylosus*, *Staphylococcus carnosus* ir *Pediococcus pentosaceus*, neturėjo neigiamos įtakos fermentaciniam ir brandinimo procesui šaltai rūkytose dešrose, kurios buvo gaminamos pagal 2.5 lent. pateiktą receptūrą. Daržovių priedas padidino išėigą nuo 1,84 iki 3,38 %, taip pat sumažino kietumą, palyginti su kontrolinėmis dešromis be daržovių. Taip pat nustatyta, kad nitratai iš liofilizuotų daržovių neturėjo neigiamos

įtakos pridėtinių ir natūraliai mėsoje esančių mikroorganizmų augimui – jų populiacija dešrose buvo tipiška tokios rūšies dešroms. Pasibaigus brandinimui, dešrose su salierų sultimis nustatytas didžiausias raudonos spalvos stabilumas.

Išanalizavus gautus rezultatus tolesniems tyrimams nuspręsta naudoti mažesnę liofilizuotų daržovių kiekį (2,58 %), atitinkantį 150 mg/kg pridėtinio nitrato, nes, pagal galiojantį Europos Sąjungos reglamentą 1129/2011, į terminiškai neapdorotus perdirbtus mėsos gaminius galima įdėti ne daugiau kaip 150 mg/kg nitrato ir nitritų. O vietoje naudotų komercinių startinių kultūrų mišinių pasirinktos dvi skirtingos stafilokokų rūšys (*S. xylosus* ir *S. carnosus*), siekiant kiek įmanoma išsamiau išanalizuoti ir aprašyti jų įtaką nitrato redukcijos procesui ir mioglobino formų pokyčiams (spalvos susidarymo ir stabilizacijos procesams). Taip pat svarbu įvertinti nitrato iš liofilizuotų daržovių įtaką mėsos sistemų saugai jų fermentacijos metu. Analizuotų mėsos sistemų santrumpas pateiktos 3.10 lent.

### 3.10 lentelė. Skirtingos sudėties fermentuojamų mėsos sistemų santrumpas

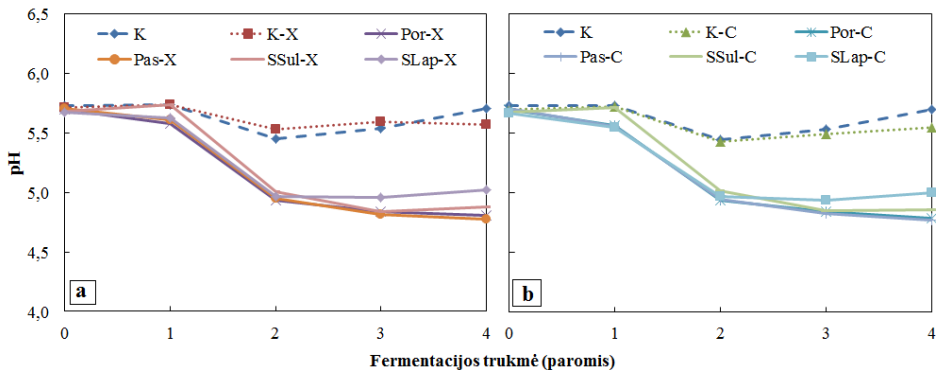
Santrumpa	Sudėtis
K	Kontrolinė mėsos sistema su 150 mg/kg NaNO <sub>3</sub> , fermentuota be pridėtinių startinių kultūrų
K-X	Kontrolinė mėsos sistema su 150 mg/kg NaNO <sub>3</sub> , fermentuota <i>S. xylosus</i>
K-C	Kontrolinė mėsos sistema su 150 mg/kg NaNO <sub>3</sub> , fermentuota <i>S. carnosus</i>
Por-X	Mėsos sistema su liofilizuotų porų priedu, fermentuota <i>S. xylosus</i>
Por-C	Mėsos sistema su liofilizuotų porų priedu, fermentuota <i>S. carnosus</i>
Pas-X	Mėsos sistema su liofilizuotų pastarnokų priedu, fermentuota <i>S. xylosus</i>
Pas-C	Mėsos sistema su liofilizuotų pastarnokų priedu, fermentuota <i>S. carnosus</i>
SSul-X	Mėsos sistema su liofilizuotų salierų sulčių priedu, fermentuota <i>S. xylosus</i>
Ssul-C	Mėsos sistema su liofilizuotų salierų sulčių priedu, fermentuota <i>S. carnosus</i>
Slap-X	Mėsos sistema su liofilizuotų salierų priedu, fermentuota <i>S. xylosus</i>
Slap-C	Mėsos sistema su liofilizuotų salierų priedu, fermentuota <i>S. carnosus</i>

#### 3.3.1. Nitrato iš liofilizuotų daržovių įtaka mėsos sistemų saugai jų fermentacijos metu

Labai svarbūs mėsos saugą charakterizuojantys rodikliai yra pH vertė, liekamasis nitrato ir nitritų kiekis, mikroorganizmų kiekis, taip pat biogeninių aminių, pasižyminčių toksišku poveikiu žmogaus sveikatai, kiekis. Pakeitus pridėtinį nitrato nitratais iš liofilizuotų daržovių, svarbu išsiaiškinti, ar toks mėsos sistemų sudėties keitimas neturės neigiamos įtakos jų saugos rodikliams fermentacijos metu. Tam tikslui mėsos sistemose išmatuota pH vertė, nustatytas L-pieno rūgšties ir sacharidų kiekis, stafilokokų, pienarūgščių bakterijų ir koliforminių mikroorganizmų kiekis, taip pat laisvosios glutamo rūgšties, biogeninių aminių ir liekamasis nitrato bei nitritų kiekis.

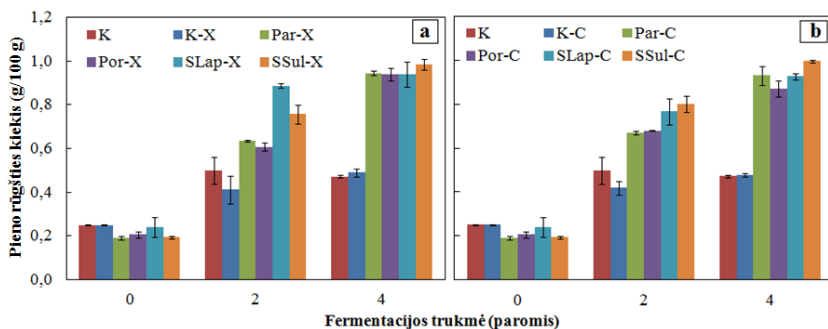
pH mažėjimą mėsos sistemose lemia sacharidų kiekio mažėjimas ir L-pieno rūgšties kiekio didėjimas (3.14–3.16 pav.). Fermentacijos metu pH vertė turi būti sumažinama iki mažiau nei 5,5 tam, kad būtų sulėtintas gedimo ar patogeninių mikroorganizmų dauginimasis mėsoje. Be metabolinio fermentinio mikrofloros aktyvumo ir fermentacijos metu sudaromų sąlygų, vienas pagrindinių pH mažėjimą

lemiančių veiksnių, yra mėsoje esantys angliavandeniai (Edward, 2008). Natūraliai mėsoje yra nedaug angliavandenių (~1 %). Būtent todėl kontroliniuose bandiniuose (K, K-X ir K-C) prieš fermentaciją buvo nustatytas mažiausias D-gliukozės ir D-fruktozės kiekis, atitinkamai 0,15–0,16 g/100 g ir 0,04 g/100 g. Natūraliai mėsoje esantys ir pridėtiniai mikroorganizmai šiuos monosacharidus visiškai suskaidė jau antrąją fermentacijos parą. Būtent todėl po antros paros nustatytas padidėjęs pieno rūgšties kiekis (0,41–0,42 g/100 g) ir sumažėjusi pH vertė (5,43–5,53). Dėl redukuojamų angliavandenių trūkumo mėsos terpėje nei pieno rūgšties kiekis (3.15 pav.), nei pH vertė beveik nekito iki proceso pabaigos (3.14 pav.).

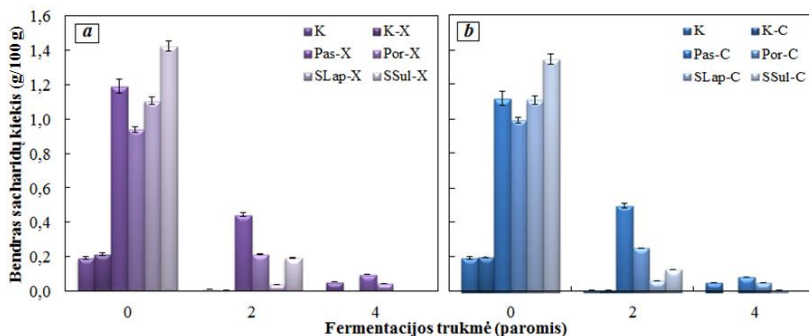


**3.14 pav.** pH vertės priklausomybė nuo fermentacijos trukmės ir mėsos sistemų sudėties, kai fermentacijai naudoti *St. xylosus* (a), *St. carnosus* (b)

Mėsos sistemose su liofilizuotomis daržovėmis dėl natūraliai jų sudėtyje esančių redukuojamų angliavandenių fermentacijos procesas vyko daug sparčiau (3.16 pav.). Statistiškai reikšmingas skirtumas ( $p < 0,05$ ) tarp sistemų su daržovėmis ir kontrolinių mėginių išryškėjo jau antrąją parą – jose buvo susidaręs daug didesnis pieno rūgšties kiekis (0,61–0,89 g/100 g) ir mažesnės pH vertės (4,94–5,02). 3.16 pav. matoma, kad įpusėjus fermentacijai mėsos sistemose likęs bendrasis sacharidų kiekis nepriklauso nuo fermentacijai naudoto stafilokoko rūšies, tačiau priklauso nuo eksperimente naudotos daržovės rūšies. Startinių kultūrų specifikacijoje nurodyta, kad *S. carnosus*, skirtingai nuo *S. xylosus*, neskaido sacharozės. Tačiau iš gautų rezultatų matyti, kad pasibaigus fermentacijai visa sacharozė buvo suskaidyta ir mėsos sistemose, fermentuotose *S. carnosus*. Tai parodo, kad pagrindiniai šio disacharido skaidytojai buvo natūraliai mėsoje esantys mikroorganizmai, savo mityboje naudojantys sacharozę, tikėtinausia – pienarūgštės bakterijos. O jos gali būti ne tik homofermentinės, bet ir heterofermentinės, kurios fermentuodamos sacharidus, be pagrindinio metabolizmo produkto (pieno rūgšties), dar išskiria etanolį ir anglies dioksidą (Halasz, 2009). Po 4 fermentacijos parų mėsos sistemose su daržovėmis pH vertė kito nuo 4,77 iki 5,02 (3.14 pav.).



**3.15 pav.** Pieno rūgšties kiekio (g/100 g) priklausomybė nuo fermentacijos trukmės ir mėsos sistemų sudėties, kai fermentacijai naudoti *St. xylosus* (a), *St. carnosus* (b)



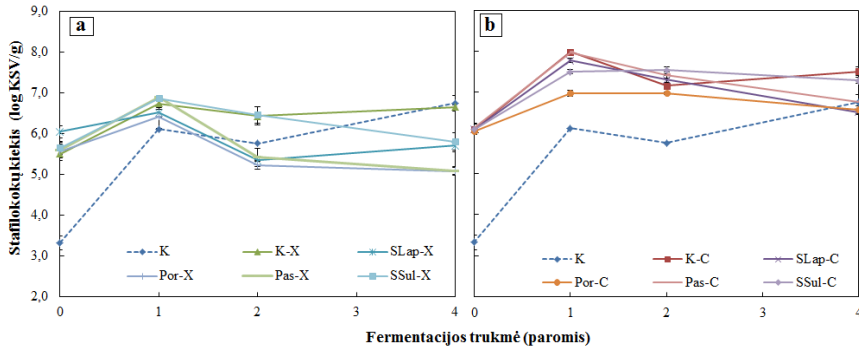
**3.16 pav.** Bendrojo sacharidų kiekio (g/100 g) priklausomybė nuo fermentacijos trukmės ir mėsos sistemų sudėties, kai fermentacijai naudoti *St. xylosus* (a), *St. carnosus* (b)

Vertinant gautus rezultatus daroma prielaida, kad natūraliai mėsoje esantis angliavandenių kiekis yra per mažas saugiai pH vertei (<5,5) gauti. Esant didesnėms pH vertėms ir didesnei drėgmei mėsoje, išlieka reali grėsmė, kad mėsa ges ir joje dauginsis patogeniniai mikroorganizmai (Doulgeraki ir kt., 2012).

Nors abiejų rūšių stafilokokų į mėsos sistemas buvo įdėta vienodai, prieš fermentaciją nustatyta, kad *S. xylosus* fermentuotose sistemose stafilokokų kiekis buvo 0,1–0,6 log KSV/g mažesnis nei sistemose su *S. carnosus* (3.17 pav.). Todėl daroma prielaida, kad gyvybingų šių mikroorganizmų formų tame pačiame kiekyje buvo mažiau. Vertinant stafilokokų augimo dinamiką matyti, kad mėginiuose su liofilizuotomis daržovėmis maksimalus šių mikroorganizmų kiekis buvo nustatytas jau po pirmos fermentacijos paros (3.17 pav.). Sistemose su pridėtinu *S. xylosus* šių mikroorganizmų kiekis buvo 6,5–6,9 log KSV/g, o mėginiuose su *S. carnosus* – 7–8 log KSV/g (3.18 pav.). Literatūroje nurodoma, kad įprastinės fermentacijos metu stafilokokų susidaro 5–7 log KSV/g (Blaiotta ir kt., 2004; Corbière ir kt., 2006; Iacumin, ir kt., 2006; Mauriello ir kt., 2004). Pirmąją parą susidaręs maksimalus stafilokokų kiekis ėmė mažėti ir po 4 fermentacijos parų buvo atitinkamai 5,1–5,8 log KSV/g (*S. xylosus*) ir 6,5–7,3 log KSV/g (*S. carnosus*). Tikėtina, kad toks stafilokokų kiekio sumažėjimas susijęs su padidėjusiu pienarūgščių bakterijų kiekiu mėsoje. Pienarūgštės bakterijos paprastai tampa dominuojančia mikroflora ne tik mėsos produktų fermentacijos, bet ir brandinimo metu. Jos apsunkena stafilokokų

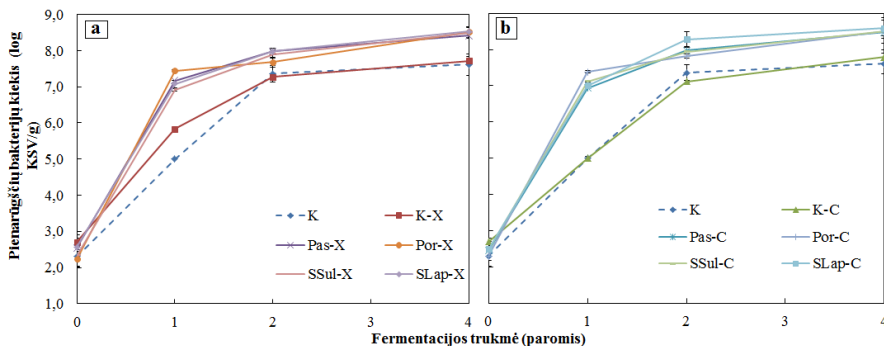


augimą ir dauginimąsi (Talon, Leroy, 2011). Tai leidžia patvirtinti kontrolinėse sistemose visos fermentacijos metu didėjęs stafilokokų kiekis. Jose buvo nustatyta mažiausiai pienarūgščių bakterijų (3.18 pav.) ir didžiausios pH vertės (3.14 pav.), kurios dar palankios stafilokokams augti. Pažymėtina tai, kad, kaip ir pradžioje, taip ir visos fermentacijos metu daugiau stafilokokų buvo sistemose, fermentuotose *S. carnosus*.



**3.17 pav.** Stafilokokų kiekis (log KSV/g) priklausomybė nuo fermentacijos trukmės ir mėsos sistemų sudėties, kai fermentacijai naudoti *St. xylososus* (a), *St. carnosus* (b)

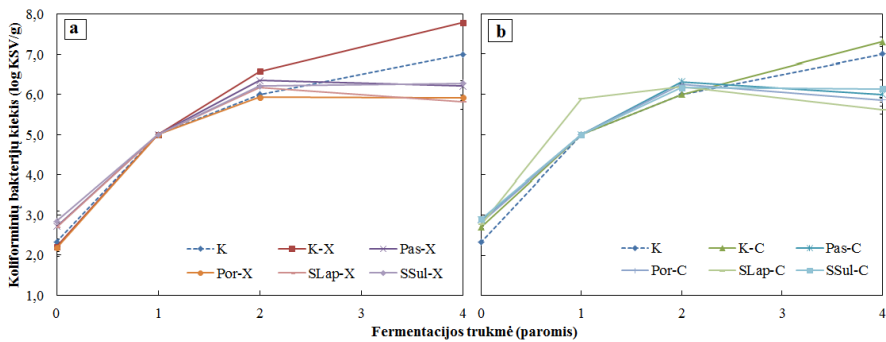
Talon ir Leroy (2011) teigia, kad įprastai prieš fermentaciją pienarūgščių bakterijų populiacija žaliavose yra maža (3–4 log KSV/g), tačiau fermentacijos metu ji tampa dominuojanti ir dažniausiai susidaro ~8 log KSV/g. Šio eksperimento metu gauti analogiški rezultatai: nuo pradinio 2,2–2,7 log KSV/g kiekio pienarūgščių bakterijų padaugėjo iki 7,6–8,5 log KSV/g (3.18 pav.). Kontrolinėse sistemose (K, K-X ir K-C) buvo nustatytas analogiškas šių mikroorganizmų augimas, tačiau jų kiekis, palyginti su sistemomis, kuriose buvo liofilizuotų daržovių, buvo mažesnis visos fermentacijos metu. Manoma, kad mėginiuose su daržovėmis dėl pakankamo mitybinės terpės (angliavandenių) kiekio pienarūgštėms bakterijoms susidarė palankesnės sąlygos augti.



**3.18 pav.** Pienarūgščių bakterijų kiekis (log KSV/g) priklausomybė nuo fermentacijos trukmės ir mėsos sistemų sudėties, kai fermentacijai naudoti *St. xylososus* (a), *St. carnosus* (b)

Dar viena ne mažiau svarbi mikroorganizmų grupė, kurios kiekis buvo nustatytas šio eksperimento metu, tai koliforminiai mikroorganizmai (*Pseudomonas*,

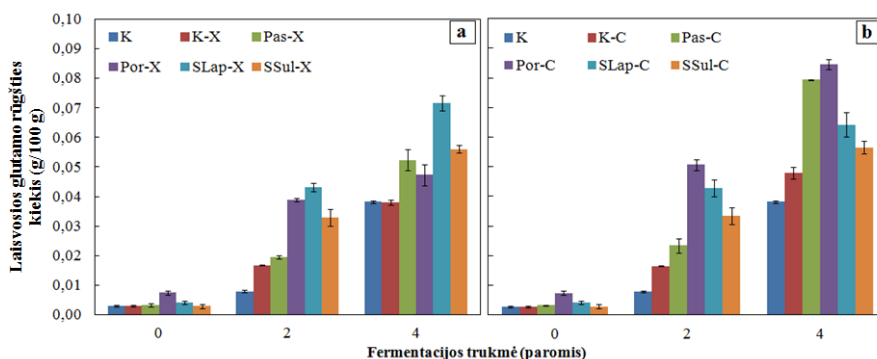
enterobakterijos ir enterokokai). Jų kiekis parodo pirminį žaliavos užterštumo laipsnį (Talon, Leroy, 2007). Comi ir kt. (2005) nurodo, kad bendrasis aerobinių mikroorganizmų kiekis mėsos žaliavoje gali būti nuo 4,3 iki 5,8 log KSV/g. Šio eksperimento metu nustatytas reikšmingai mažesnis pradinis koliforminių mikroorganizmų kiekis (2,2–2,9 log KSV/g). Iki antros fermentacijos paros visose mėsos sistemose koliforminių mikroorganizmų daugėjo. Vėliau sistemose su liofilizuotomis daržovėmis jų kiekis nebekito (5,6–6,3 log KSV/g), o kontrolinėse sistemose didėjo iki pat proceso pabaigos ir galiausiai susidarė 7–7,8 log KSV/g (3.19 pav.). Tokius skirtumus galėjo lemti kontrolinėse sistemose nustatytas mažesnis pienarūgščių bakterijų, pieno rūgšties kiekis ir didesnės pH vertės, nes koliforminiai mikroorganizmai jautrūs rūgštinei terpei (Drosinos ir kt., 2005; Hugas ir kt., 2003). Comi ir kt. (2005) pažymi, kad enterokokų ankstyvosios fermentacijos metu nuo pradinio 2–4 log KSV/g kiekio gali padaugėti iki 4–6 log KSV/g ir toks jų kiekis gali išlikti iki pat proceso pabaigos.



**3.19 pav.** Koliforminių bakterijų kiekio (log KSV/g) priklausomybė nuo fermentacijos trukmės ir mėsos sistemų sudėties, kai fermentacijai naudoti *St. xylosus* (a), *St. carnosus* (b)

Baltymų pokyčiai mėsos fermentacijos metu vyksta dėl mikrobinių ir endogeninių proteolitinių fermentų poveikio (Ordóñez, 1999). Proteolizės greitis ir laipsnis skirtingos sudėties mėsos sistemose jų fermentacijos metu buvo įvertintas pagal susidariusį laisvosios glutamo rūgšties kiekį. Dar prieš prasidedant fermentacijai reikšmingai ( $p < 0,05$ ) daugiau laisvosios glutamo rūgšties nustatyta sistemose su daržovėmis, nes daržovių sudėtyje natūraliai yra šios aminorūgšties (2.3 lent.).

Laipsniškai glutamo rūgšties daugėjo viso proceso metu, nepriklausomai nuo mėsos sistemų sudėties, tačiau pasibaigus fermentacijai statistiškai reikšmingai daugiau ( $p < 0,05$ ) jos buvo susidarę mėginiuose su liofilizuotomis daržovėmis (0,052–0,085 g/100 g) (3.20 pav.). Minėtą skirtumą, manoma, lemia didesnis pienarūgščių bakterijų kiekis sistemose su liofilizuotomis daržovėmis, nes būtent pienarūgštės bakterijos sukelia glutamino deaminimą, dėl kurio išsiskiria laisvoji glutamo rūgštis (Edward, 2008). Taip pat šios bakterijos netiesiogiai prisideda prie proteolizės proceso mažindamos terpės pH vertę, dėl kurios sumažėjimo padidėja katepsino-D aktyvumas (Talon, Leroy, 2014).



**3.20 pav.** Laisvosios glutamo rūgšties kiekio priklausomybė nuo fermentacijos trukmės ir mėsos sistemų sudėties, kai fermentacijai naudoti *St. xylosus* (a), *St. carnosus* (b)

Kad fermentacijos metu vyksta proteolizė, leido patvirtinti laipsniškai didėjantis laisvosios glutamo rūgšties kiekis (3.20 pav.). Toliau susidariusios aminorūgštys veikiamos tam tikrų mikroorganizmų gali dekarboksilintis, dėl to, tikėtina, gali susidaryti biogeninių aminių, kurie laikomi nepageidaujama dėl toksiško poveikio. Eksperimente naudoti *St. xylosus* ir *St. carnosus* yra tarp 6–14 % visų biogeninius aminus gaminančių stafilokokų rūšių (Talon, Leroy, 2011). Dėl šios priežasties fermentacijos pabaigoje visose mėsos sistemose buvo įvertintas susidaręs putrescino, kadaverino, histamino, tiramino ir spermino kiekis.

Toksikologiniu požiūriu svarbiausio biogeninio amino – histamino – kiekis visuose mėginiuose neviršijo aptikimo ribos, t. y. <5 mg/kg (3.11 lent.). Taip pat nustatyta labai nedaug spermino (13–33 mg/kg). Kitų biogeninių aminių (putrescino, kadaverino ir tiramino) buvo kiek daugiau (>100 mg/kg). Didėjantis biogeninių aminių kiekis dažnai siejamas su pienarūgščių bakterijų veikla, dėl kurios padidėja terpės rūgštingumas. Mikrobinių fermentų sukeltos deaminavimo ir dekarboksilinimo reakcijos yra siejamos su mikroorganizmų gynybine reakcija prieš rūgštinę terpę (Karovičova, Kohajdova, 2005).

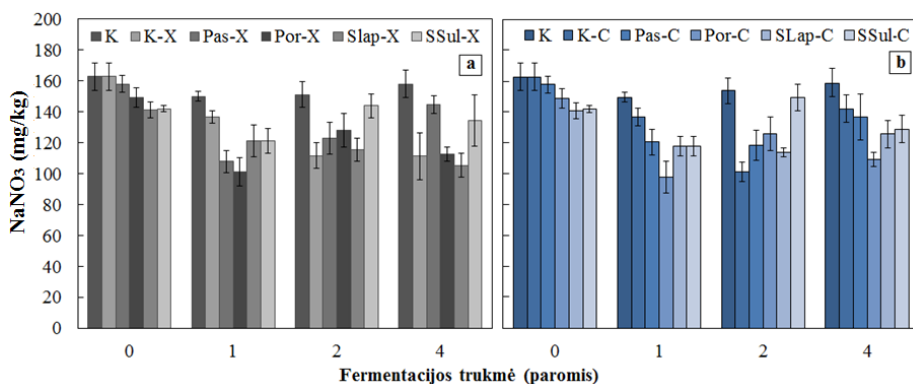
Vertinant *Staphylococcus* rūšies įtaką biogeninių aminių susidarymui nustatyta, kad beveik visose sistemose, tarp jų ir kontrolinėje, *S. xylosus* fermentuotuose mėginiuose buvo susidarę kiek daugiau biogeninių aminių nei mėginiuose, fermentuotuose *S. carnosus* (3.11 lent.). Kaip jau minėta anksčiau, šio tyrimo metu nustatyta, kad *S. xylosus* kiekis visos fermentacijos metu buvo mažesnis (3.17 pav.). O tai leidžia daryti prielaidą, kad didesnis susidarančių biogeninių aminių kiekis priklauso ne nuo stafilokokų kiekio, o nuo jų dekarboksilazės aktyvumo, kuris minėtos rūšies stafilokokų galėjo būti didesnis. Taip pat svarbu paminėti tai, kad biogeninių aminių susidarymas siejamas ne tik su pridėtiniais stafilokokais, bet ir su natūraliai mėsoje esančiais mikroorganizmais. Tai parodo kontrolinis mėginys be pridėtinių stafilokokų (K), kuriame nustatytas biogeninių aminių kiekis labai nesiskyrė nuo kitų mėginių.

**3.11 lentelė.** Mėsos sistemų sudėties įtaka biogeninių aminių kiekiui (mg/kg) po 4 fermentacijos parų

Mėsos sistema	Putrescinas	Kadaverinas	Histaminas	Tiraminas	Sperminas
K	169±4,0e	287±6,7a	<5 mg/kg	120±2,8a	28±0,8d
K-X	194±1,4f	337±4,2c		134±0,8b	31±0,0e
K-C	27±0,1a	323±0,9b		133±0,2b	28±0,3d
Pas-X	205±0,1h	408±0,0g		191±3,1d	25±0,1c
Pas-C	200±1,0g	396±0,8e		186±2,4d	23±0,4b
Por-X	138±4,2d	447±13,3h		251±9,4f	28±1,5d
Por-C	138±1,9d	407±5,6g		225±2,1e	22±0,2b
SLap-X	214±0,1i	562±0,6i		266±0,7g	26±0,2c
SLap-C	97±1,0c	297±1,0a		153±5,7c	13±1,8a
Ssul-X	75±1,0b	359±4,6d		211±11,6e	27±0,1d
Ssul-C	73±1,2b	400±4,3f		225±3,3e	33±0,0f

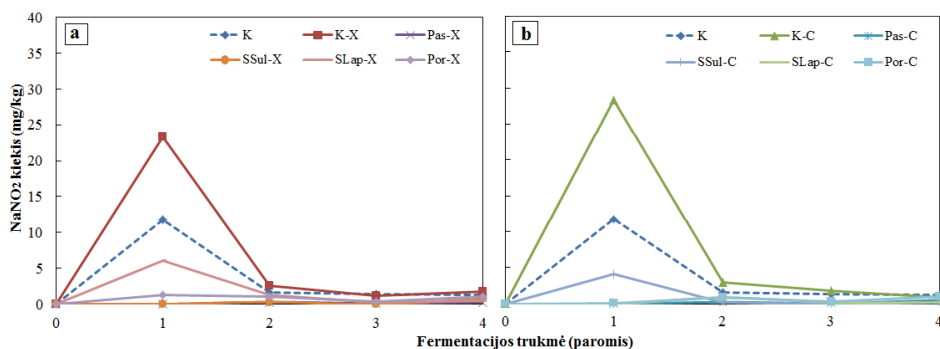
Rezultatai pateikti kaip vidurkiai su standartiniais nuokrypiais; skirtingos mažosios raidės stulpeliuose rodo statistiškai reikšmingus ( $p < 0,05$ ) skirtumus tarp biogeninių aminių kiekių skirtingose mėsos sistemose.

*S. xylosus* ir *S. carnosus* pasižymi nitratredukcinėmis savybėmis. Statistiškai reikšmingai ( $p < 0,05$ ) daugiau nitratų visos fermentacijos metu buvo būtent kontrolinėje sistemoje be pridėtinių stafilokokų (K), ir tai leidžia patvirtinti pridėtinių mikroorganizmų veiklos svarbą nitratų redukcijos procese. Jau po pirmos fermentacijos paros buvo nustatytas sumažėjęs nitratų kiekis (3.21 pav.) ir dėl to padidėjęs nitritų kiekis (3.22 pav.). Vėliau nitratų kiekis vienos mėsos sistemoje beveik nekito, o kitose šiek tiek didėjo. To priežastis gali būti redukcijos metu išsiskyręs nitritas, kuriam būdinga oksiduotis atgal į nitratą (Honikel, 2008). Vis dėlto, lyginant nitrato kiekį prieš fermentaciją ir po jos, buvo nustatytas bendras nitratų kiekio sumažėjimas. Priklausomai nuo mėsos sistemos, nitratų sumažėjo nuo 5 iki 28 % nuo pradinio kiekio. Tsoukalas ir kt. (2011) taip pat nustatė lėtai vykstantį nitratų redukcijos procesą dešrose, kuriose kaip nitratų šaltinis buvo naudojami liofilizuotų porų milteliai. O Honikel'is ir kt. (2015) nustatė, kad dešrose su pridėtinu komerciniu startinių kultūrų mišiniu (*P. pentosaceus* ir *S. xylosus*) fermentacijos metu nitrato kiekis padidėjo 6–13 % nuo bendrojo įdėtinio kiekio ir išliko pastovus iki pat brandinimo pabaigos.



**3.21 pav.** Nitratų kiekio (mg/kg) priklausomybė nuo fermentacijos trukmės ir mėsos sistemų sudėties, kai fermentacijai naudoti *St. xylosus* (a), *St. carnosus* (b)

Po pirmos paros iš nitratų redukcijos metu susidaręs nitritas (0,1–28,4 mg/kg) buvo suskaidytas iki NO, dalyvaujančio tolesnėse spalvą suteikiančių pigmentų susidarymo reakcijose, ar oksidavosi iki nitrato. Vėliau nitratų redukcijos procesas sulėtėjo. Dėl to liekamojo nitrito kiekis visose sistemose neviršijo 5 mg/kg. Pažymėtina, kad kontrolinėse sistemose (K, K-C, K-X) pirmąją parą liekamųjų nitritų buvo daugiau (11,76–28,4 mg/kg) nei sistemose, kurių sudėtyje buvo daržovių. Gauti rezultatai leidžia manyti, kad sistemose su daržovėmis išsiskyręs nitritas tiesiog buvo greičiau suskaidytas. Tai gali būti paaiškinama tuo, kad liofilizuotų daržovių sudėtyje yra askorbo rūgšties (2.3 lent.) ir sistemose su daržovėmis pH vertės mažesnės, nes būtent reduktoriai (pvz., askorbo rūgštis ar askorbatas) ir rūgštinė terpė katalizuoja nitrito disproporcionavimą ir NO susidarymą (Hammes, 2012).

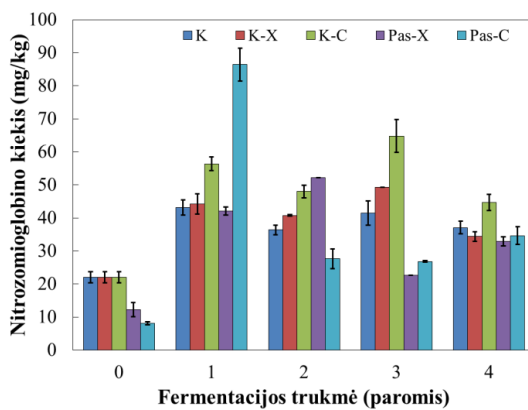


**3.22 pav.** Nitritų kiekio (mg/kg) priklausomybė nuo fermentacijos trukmės ir mėsos sistemų sudėties, kai fermentacijai naudoti *St. xylosus* (a), *St. carnosus* (b)

### 3.3.2. Nitratų iš liofilizuotų daržovių įtaka mioglobino formų kitimui ir jo poveikis mėsos spalvai mėsos sistemų fermentacijos metu

Kaip jau minėta literatūros apžvalgoje, mėsos ir jos gaminių spalvą lemia mioglobino kiekis ir jo formų tarpusavio santykis (Karamucki ir kt., 2013) –

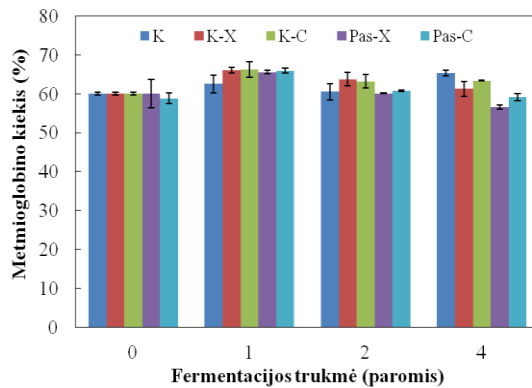
keičiantis mioglobino formoms atitinkamai kinta jo, o kartu ir mėsos spalva. Pagrindinis fermentuotų mėsos gaminių spalvą lemiantis pigmentas yra šviesiai raudonos spalvos nitrozomioglobinas, kuriame azoto monoksidas (NO) yra prisijungęs prie hemo sudėtyje esančios geležies (Møller, Skibsted, 2002). Kaip kito nitrozomioglobino kiekis fermentacijos metu, matyti 3.23 pav. Kaip ir tikėtasi, dėl mėsos sistemoje vykstančių būdingųjų fermentacinių pokyčių, tokių kaip stafilokokų kiekio augimas (3.17 pav.) ir jų inicijuota nitratų (nitritų) redukcija (3.21 pav.), per pirmą fermentacijos parą nitrozomioglobino padaugėjo visose be išimties sistemose. Toliau vykstant fermentacijai, nitrozopigmentų kiekis kito priklausomai nuo mėginio rūšies – vienosiose sistemose jo daugėjo, o kitose mažėjo. Galiausiai, pasibaigus fermentacijai, kontrolinėse sistemose be daržovių buvo matomas aiškus nitrozomioglobino kiekio sumažėjimas, palyginti su pirmą–trečią parą susidariusiu nitrozomioglobino kiekiu. Tokia pigmento kitimo tendencija sutampa su nitratų kiekio kitimu, t. y. po pirmos fermentacijos paros lėtai vyksta tolesnė šių junginių redukcija ir galima nitrito oksidacija atgal į nitratą, dėl to mažėja iš nitrito susidaranti azoto monoksido, galinčio jungtis su mioglobinu. Nitrozomioglobino mažėjimą fermentacijos metu gali sukelti išsiskirianti pieno rūgštis, dėl kurios pigmentas iš dalies ar visiškai denatūruoja (Bozkurt, Bayram, 2006). Pasibaigus fermentacijai visose sistemose nitrozomioglobino kiekis kito nuo 30 iki 40 mg/kg ir nepriklausė nei nuo fermentacijai naudoto stafilokoko, nei nuo nitrato šaltinio (sintetinis ar iš liofilizuotų daržovių). Panašią tendenciją nustatė ir Eyiler ir Oztan'as (2011), kurių eksperimente labai panašus kiekis nitrozomioglobino buvo susidaręs ir „Frankfurto“ dešrelėse, paruoštose su nitritu, ir dešrelėse su saulėje džiovintų pomidorų milteliais.



**3.23 pav.** Nitrozomioglobino kiekio priklausomybė nuo fermentacijos trukmės ir mėsos sistemų sudėties

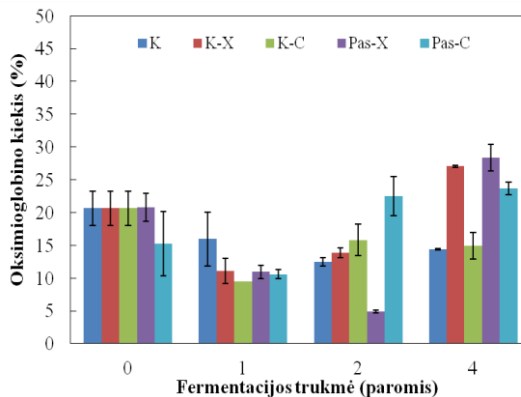
Lyginant tarpusavyje trijų santykinų mioglobino formų kiekį mėsos sistemose matoma, kad didžiausią dalį sudarė metmioglobinas, kurio kiekis viršijo 55 % (3.24 pav.), o oksimioglobino ir deoksiimioglobino buvo atitinkamai tik ~20 ir ~25 %. Galima teigti, kad metmioglobinas buvo ta mioglobino forma, kuri fermentacijos metu kito mažiausiai. Nitratų redukcijos metu į mėsos terpę išsiskyręs nitritas pirmiausia sukelia oksidacinį oksimioglobino skilimą iki metmioglobino.

Todėl pirmąją parą metmioglobino padaugėjo (3.24 pav.), oksimioglobino sumažėjo (3.25 pav.), o deoksimioglobino kiekis beveik nepakito (3.26 pav.). Vėliau metmioglobino kiekis išliko labai panašus arba šiek tiek mažėjo. Dėl to sistemoje su liofilizuotų pastarnokų priedu buvo nustatytas mažiausias šio pigmento kiekis (56,55–59,09 %), palyginti su analogiškoms sistemoms, kurių sudėtyje buvo pridėta nitrato (61,22–65,32 %). To priežastis gali būti liofilizuotų pastarnokų sudėtyje esantys natūralūs antioksidantai, galintys lėtinti metmioglobino susiformavimą. Delgado-Vargas’as ir Paredes-Lopez’as (2003) ne tik sulėtino metmioglobino susidarymą, panaudoję rozmarinų ir juozažolės ekstraktus, bet ir stabilizavo raudoną termiškai apdorotos mėsos spalvą laikymo metu.

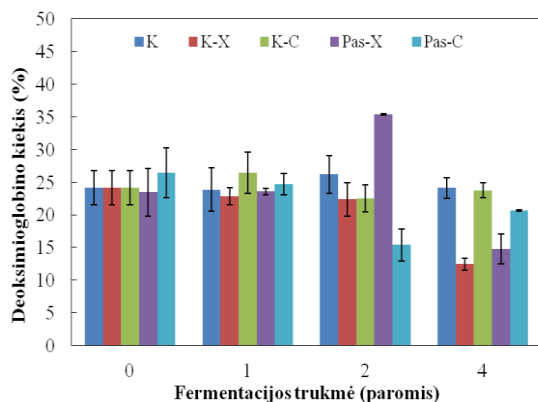


**3.24 pav.** Metmioglobino kiekio priklausomybė nuo fermentacijos trukmės ir mėsos sistemų sudėties

Oksimioglobino sumažėjimas sietinas su deguonies mažėjimu mėsos terpėje. Natūraliai mėsoje esantys ir pridėtiniai mikroorganizmai deguonį sunaudoja eksponentinio augimo metu (Bozkurt, Bayram, 2006). Vėliau buvo nustatytas sistemingas oksimioglobino ir deoksimioglobino perėjimas iš vienos formos į kitą. Sistemose su pridėtinu *S. xylosus* buvo nustatytas didesnis oksimioglobino ir mažesnis deoksimioglobino kiekis fermentacijos pabaigoje.



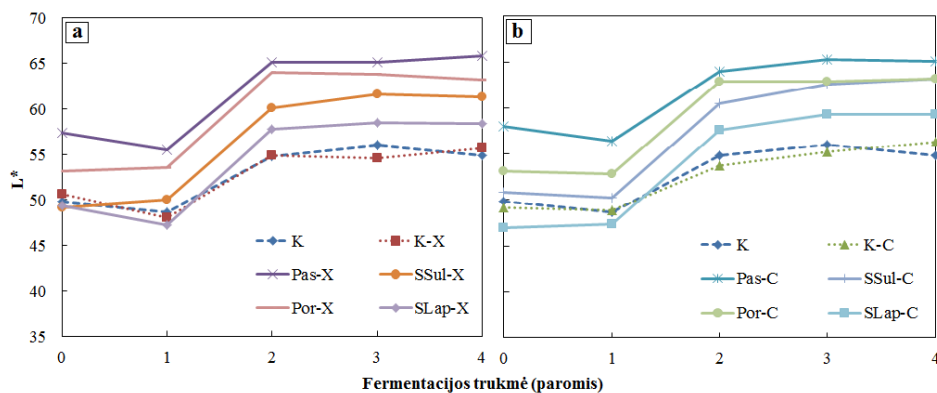
**3.25 pav.** Oksimioglobino kiekio priklausomybė nuo fermentacijos trukmės ir mėsos sistemų sudėties



**3.26 pav.** Deoksimioglobino kiekio priklausomybė nuo fermentacijos trukmės ir mėsos sistemų sudėties

Pigmentų pokyčiams mėsos sistemose jų fermentacijos metu įvertinti pateikti tik sistemos su pastarnokais tyrimo rezultatai, nes kitose sistemose su daržovėmis buvo nustatytos analogiškos tendencijos.

Vertinant spalvos pokyčius mėsos sistemų su liofilizuotų daržovių priedais fermentacijos metu, iš 3.27 pav. pateiktų rezultatų matyti, kad visų be išimties mėsos sistemų spalvos šviesumas tendencingai didėjo. Nepaisant to, buvo nustatyti  $L^*$  šviesumo skirtumai tarp skirtingų mėsos sistemų dėl liofilizuotų daržovių miltelių spalvos (pateikta 2.3 lent.). Nustatyta priklausomybė tarp daržovių priedo ir mėsos sistemų šviesumo (t. y. šviesiausia pastarnokų spalva ( $L^* = 90,3$ ) lėmė didžiausias  $L^*$  vertes mėginiuose su šiuo priedu).

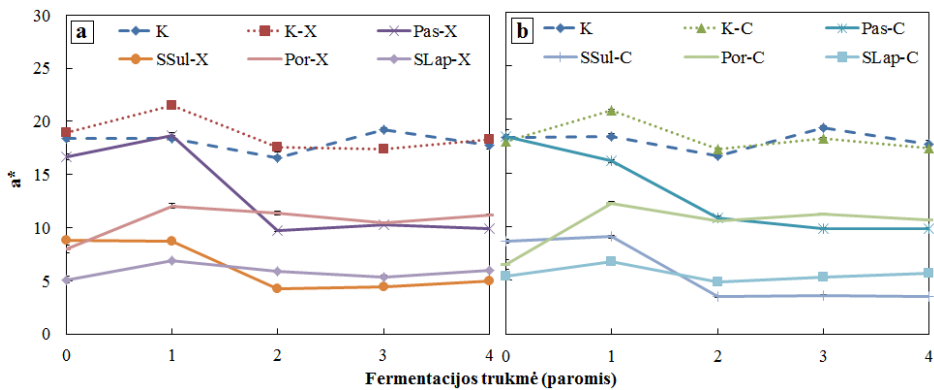


**3.27 pav.**  $L^*$  vertės priklausomybė nuo fermentacijos trukmės ir mėsos sistemų sudėties, kai fermentacijai naudoti *St. xylosus* (a), *St. carnosus* (b)

Pasibaigus fermentacijai kontrolinės sistemos buvo pačios tamsiausios, nes  $L^*$  koordinatė jose buvo 54,85–56,35. O sistemose su daržovių priedais, kurios buvo šviesesnės,  $L^*$  koordinatė kito platesnėse ribose nuo 58,41 iki 65,8 ir priklausė nuo daržovės rūšies. Kaip ir prieš fermentaciją, mėsos sistemų šviesumas priklausė nuo liofilizuotų daržovių miltelių šviesumo. Priešingai nei šiame eksperimente,

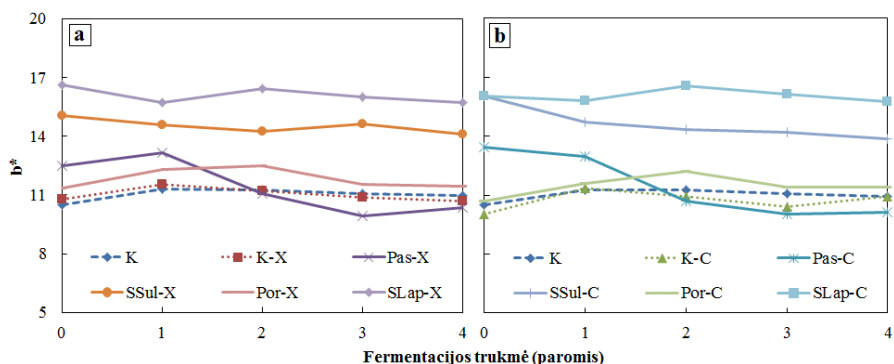


Tsoukalas'o ir kt. (2011) tyrime dešros su liofilizuotų porų priedu buvo tamsesnės nei kontrolinis mėginys ir, didinant priedo kiekį, dešrų spalva tamsėjo. Taip pat autoriai nustatė priklausomybę tarp  $L^*$  šviesumo ir pH. Tokia pati tendencija nustatyta vertinant rausvumo ( $a^*$ ) koordinatę. Daržovių priedas lėmė sumažėjusias rausvumo vertes, ir mažiausiai rausvos buvo tos sistemos, kurios buvo paruoštos su salierais ir porais, – jose  $a^*$  koordinatė kito nuo  $-4,43$  iki  $-7,45$ . Pirmąją parą beveik visose sistemose buvo nustatytas rausvumo ( $a^*$  vertės) padidėjimas, vėliau jis ėmė mažėti (3.28 pav.). Tokį rausvos spalvos padidėjimą lėmė pirmą parą susidaręs didžiausias nitrozopigmentų kiekis (Bozkurt, Bayram, 2006). Tačiau vėliau mėsos sistemų rausvumas ėmė mažėti. Po fermentacijos rausvumo vertės sumažėjimas buvo nustatytas sistemose su pastarnokų priedu. Sistemose su porais buvo nustatytas reikšmingas rausvumo padidėjimas, o kontrolinėse sistemose ir sistemose su salierais rausvumo vertė išliko nepakitusi. Kaip jau buvo paaiškinta anksčiau, rausvumo vertės mažėjimas susijęs su nitrozomioglobino denatūravimu.



**3.28 pav.**  $a^*$  vertės priklausomybė nuo fermentacijos trukmės ir mėsos sistemų sudėties, kai fermentacijai naudoti *St. xylosus* (a), *St. carnosus* (b)

Nors rausvos spalvos pigmentų (nitrozomioglobino, deoksimioglobino ir oksimioglobino) kiekis buvo labai panašus tiek sistemose su liofilizuotomis daržovėmis, tiek kontrolinėse sistemose, didesniu rausvumu ( $a^*$  vertė) pasižymėjo kontrolinės sistemos. Manoma, kad pagrindine to priežastimi tapo natūraliai liofilizuotų daržovių milteliuose esantys pigmentai, nes jau fermentacijos pradžioje (tik sumaišius komponentus) sistemose su daržovėmis rausvumas buvo statistiškai reikšmingai ( $p < 0,05$ ) mažesnis. Tikėtina, kad panaudojus šias daržoves dešrose, kurios pasižymi ilgesniu technologiniu procesu (fermentacija ir brandinimas), vykstant intensyvesnei nitratų redukcijai ir susidarant didesniai pigmentų kiekiui, rausvumas galėtų didėti.



**3.29 pav.** b\* vertės priklausomybė nuo fermentacijos trukmės ir mėsos sistemų sudėties, kai fermentacijai naudoti *St. xylosus* (a), *St. carnosus* (b)

Gelsvumo vertės kontrolinėse sistemose ir sistemose su porų priedais beveik nekito, o kitose sistemose jos mažėjo (3.29 pav.). Panašius rezultatus gavo Perez-Alvarez'as ir kt. (1999) – tyrėjai nustatė, kad b\* vertės ispaniškose dešrose mažėjo fermentacijos ir brandinimo metu.

### 3.4. Nitratų iš liofilizuotų daržovių įtaka šaltai rūkytų dešrų kokybei ir saugai

Ištyrus liofilizuotų daržovių įtaką fermentaciniams mėsos sistemų pokyčiams, buvo nuspręsta paruošti realų gaminį, kuriame būtų įvertinta nitrito ir nitrato pakeitimo nitratais iš liofilizuotų daržovių galimybė. Šiam tikslui įgyvendinti pasirinktos šaltai rūkytos dešros, pagamintos taikant tradicinę tokių dešrų gamybos technologiją (receptūra (2.6 lent.) ir gamybos būdas pateikti 2.2.8 skyrelyje). Su porais, pastarnokais ir salierais ankstesniuose tyrimuose jau buvo pagamintos šaltai rūkytos dešros, kurių fermentacijai naudoti *St. xylosus*, *St. carnosus* ir *P. pentosaceus* mikroorganizmų mišinys. Dėl liofilizuotų pastarnokų priedo dešrose atsirado kartus skonis, o porai dešroms suteikė specifinį aromatą. Būtent todėl iš visų tirtų daržovių dešroms gaminti pasirinkti liofilizuoti salierai. Eksperimento metu įvertinta nitratų iš liofilizuotų daržovių įtaka šaltai rūkytų dešrų kokybei ir saugai. Pagamintų dešrų santrumpos nurodytos 3.12 lent.

#### 3.12 lentelė. Skirtingos sudėties šaltai rūkytų dešrų santrumpos

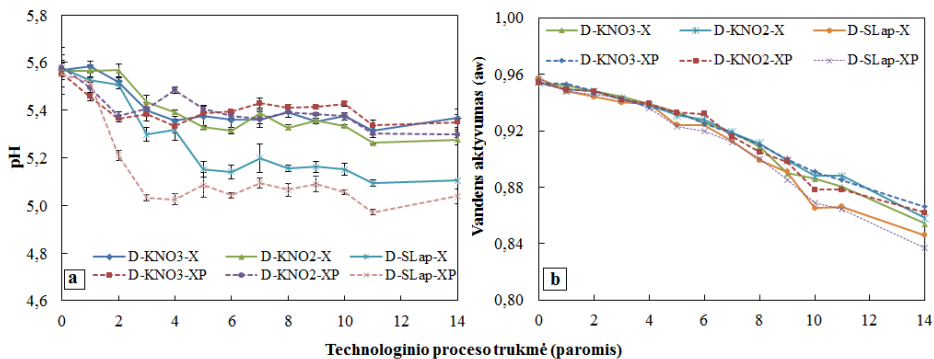
Santrumpa	Sudėtis
D-KNO3-X	Dešra su 150 mg/kg NaNO <sub>3</sub> , fermentuota <i>S. xylosus</i>
D-KNO3-XP	Dešra su 150 mg/kg NaNO <sub>3</sub> , fermentuota <i>S. xylosus</i> ir <i>P. pentosaceus</i>
D-KNO2-X	Dešra su 150 mg/kg NaNO <sub>2</sub> , fermentuota <i>S. xylosus</i>
D-KNO2-XP	Dešra su 150 mg/kg NaNO <sub>2</sub> , fermentuota <i>S. xylosus</i> ir <i>P. pentosaceus</i>
D-SLap-X	Dešra su liofilizuotais lapkotiniais salierais, fermentuota <i>S. xylosus</i>
D-SLap-XP	Dešra su liofilizuotais lapkotiniais salierais, fermentuota <i>S. xylosus</i> ir <i>P. pentosaceus</i>

### 3.4.1. Nitratų iš liofilizuotų daržovių įtaka šaltai rūkytų dešrų saugai technologinio proceso metu

Siekiant įvertinti nitratų iš liofilizuotų daržovių įtaką šaltai rūkytų dešrų kokybei, buvo išmatuota pH vertė, vandens aktyvumas, nustatytas L-pieno rūgštis, sacharidų, laisvosios glutamo rūgštis, biogeninių aminių, nitratų ir nitritų bei mikroorganizmų (stafilokokų, pienarūgščių, koliforminių mikroorganizmų) kiekis.

Labai svarbūs dešrų saugą ir tinkamumo vartoti trukmę lemiantys rodikliai yra pH ir vandens aktyvumas. Pradinės pH (5,55–5,64) ir  $a_w$  (0,954–0,959) vertės technologinio proceso metu mažėjo visose dešrose, tačiau skirtingu greičiu, priklausomai nuo dešros rūšies (3.30 pav.). Didžiausias pH vertės sumažėjimas buvo nustatytas per pirmąsias 4–5 technologinio proceso paras (fermentacijos metu). Šioje stadijoje pagrindinis vaidmuo tenka mikroorganizmams, aktyviai skaidantiems fermentuojamus angliavandenius ir išskiriantiems organines rūgštis, kurių pagrindinė – pieno rūgštis, lemianti pH sumažėjimą dešrose (Talon, Leroy, 2011). Po fermentacijos kontroliniuose mėginiuose pH vertės buvo 5,32–5,49, nepriklausomai nuo fermentacijai naudotų pridėtinių kultūrų. Tolesnio brandinimo metu šios vertės jau mažai kito ir pasibaigus procesui pH kontrolinėse sistemose sumažėjo tik iki 5,28–5,37. O dėl liofilizuotų salierų priede esančių sacharidų, kurie yra mitybinė terpė juos fermentuojančioms ir pieno rūgštį išskiriančioms bakterijoms, pH vertės dešrose su salierais buvo daug mažesnės (5,09–5,15) baigiantis fermentacijai ir išliko tokios (5,04–5,1) iki brandinimo proceso pabaigos. Analogiškus pH verčių skirtumus tarp kontrolinių dešrų ir dešrų su liofilizuotų porų milteliais nustatė Tsoukalas ir kt. (2011), vertindami šio priedo įtaką fermentinių dešrų, kurioms gaminti, be kiaulienos, dar naudota ir jautiena, savybėms. Kitas svarbus veiksnys, nulėmęs pH kitimo greitį, – tai startinių kultūrų sudėtis. Kaip ir tikėtasi, dešrose su *S. xylosus* ir *P. pentosaceus* mišiniu pastebėtas greitesnis pH mažėjimas, vykęs, kol terpėje buvo redukuojamų sacharidų. Tai lėmė *P. pentosaceus* pienarūgštės bakterijos, kurios daug greičiau skaidė sacharidus, palyginti su dešromis, kuriose buvo tik *S. xylosus*.

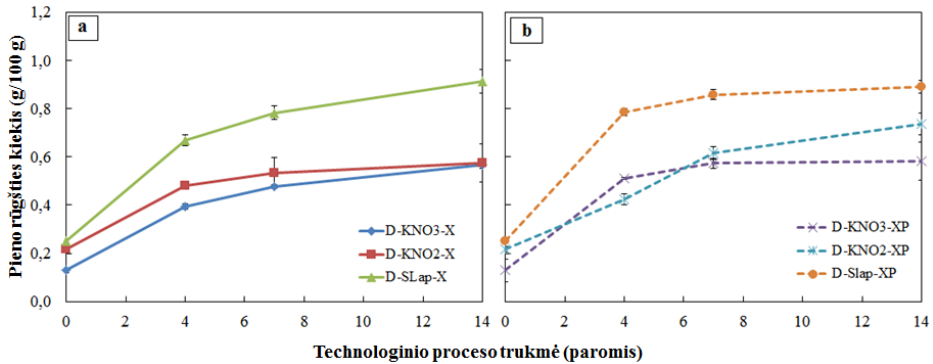
Nežymus pH verčių padidėjimas baigiantis procesui buvo nustatytas visose dešrose. Įvairūs autoriai teigia, kad pH vertės dešrose gali padidėti dėl junginių, susidarantių skylant baltymams, susikaupimo (Parente ir kt., 1995).



3.30 pav. pH (a) ir vandens aktyvumo (b) priklausomybė nuo technologinio proceso trukmės ir mėsos sistemų sudėties

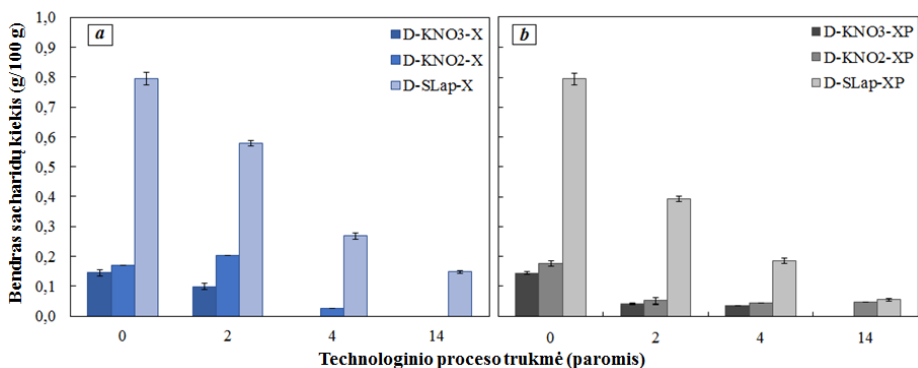
Vandens aktyvumas fermentacijos metu sumažėjo tik šiek tiek (nuo 0,954–9,959 iki 0,94–0,944). Priešingai nei pH, vandens aktyvumas sparčiausiai mažėja ne fermentacijos, o po jos vykstančio brandinimo proceso metu, kai aktyviai vyksta fizikocheminiai procesai, pvz., džiovinimas (Lücke, 2015). Vandens aktyvumas gana tolygiai mažėjo visose dešrose iki dešimtos paros, o vėliau ėmė ryškėti skirtumai tarp mėginių. Mažiausias vandens aktyvumas nustatytas dešrose su salierų priedu, fermentuotu *S. xylosus* ir *P. pentosaceus* mišiniu (0,837). Kitose dešrose technologinio proceso pabaigoje vandens aktyvumas kito nuo 0,846 iki 0,866.

Nustatytas neigiamas ryšys tarp pieno rūgšties ir bendrojo sacharidų kiekio kitimo. Mažėjant sacharidų, pieno rūgšties daugėjo. Toks kitimas yra būdingas įprastiniam fermentacijos procesui dešrose, tai parodo ir pH mažėjimas (3.30 pav., a). Dešrose su liofilizuotais salierais pieno rūgšties kiekis buvo statistiškai reikšmingai didesnis jau baigiantis fermentacijai (0,67–0,79 g/100 g) ir išliko toks iki pat brandinimo pabaigos (~0,9 g/100 g), palyginti su kontrolinėmis sistemomis (atitinkamai 0,39–0,51 g/100 g ir 0,57–0,74 g/100 g). Šie skirtumai, kaip jau minėta, atsirado dėl skirtingo sacharidų kiekio dešrose (3.32 pav.).



**3.31 pav.** Pieno rūgšties kiekio skirtingos sudėties dešrose priklausomybė nuo technologinio proceso trukmės, kai jos fermentuotos *S. xylosus* (a), *S. xylosus* ir *P. pentosaceus* (b)

Kaip matyti iš 3.32 pav., dešrose su liofilizuotais salierais bendrasis sacharidų kiekis buvo kiek didesnis nei 0,8 %. Tad pradinis su salierais į dešras įdėtų cukrų kiekis pakankamas įprastai fermentacijos eigai, nes fermentinėms dešroms gaminti rekomenduotinas 0,5–1 % cukraus priedas (Lücke, 2015). Taip pat nustatyta, kad dešrose su startinių kultūrų mišiniu (*S. xylosus* ir *P. pentosaceus*) pieno rūgšties daugėjo sparčiau, tačiau baigiantis procesui šios rūgšties kiekis jau nebe priklausė nuo fermentacijai naudotų startinių kultūrų rūšies.



**3.32 pav.** Bendrojo sacharidų kiekio skirtingos sudėties dešrose priklausomybė nuo technologinio proceso trukmės, kai jos fermentuotos *S. xylosus* (a), *S. xylosus* ir *P. pentosaceus* (b)

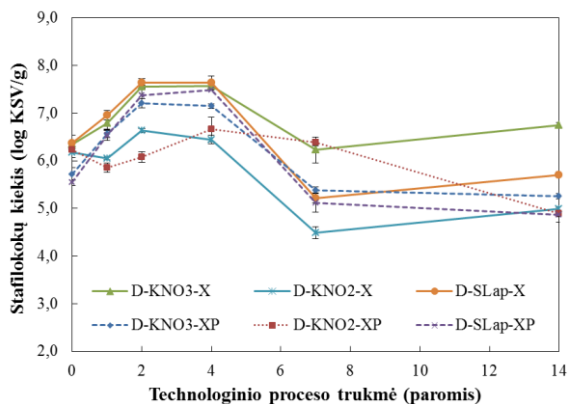
Mikroorganizmų sudėtis fermentinėse dešrose priklauso ne tik nuo pridėtinių startinių kultūrų rūšies, bet ir nuo mėsos kokybės ar kilmės, naudojamų priedų, įrangos ir darbininkų higienos. Taip pat jų augimą lemia aplinkos veiksniai, tarp jų temperatūra ir santykinis oro drėgnis (Ekici ir kt., 2014).

Šiame tyrime fermentacijos metu nustatytas stafilokokų augimas visose dešrose (3.33 pav.). Per pirmąsias 4 paras jų padaugėjo iki 6,4–7,7 log KSV/g, o vėliau brandinimo metu ėmė mažėti. Galutiniame produkte stafilokokų, priklausomai nuo dešros rūšies, buvo 4,3–6,7 log KSV/g. Tokia tendencija siejama su pienarūgščių bakterijų padaugėjimu ir pH verčių sumažėjimu. Stafilokokų augimas sulėtėja aktyviai dauginantis pienarūgštėms bakterijoms ir dažnai brandinimo metu jų kiekis nepadidėja daugiau kaip 1 log KSV/g (Samelis ir kt., 1998). Mėsos terpėje pH vertei sumažėjus iki 5,3, rūgščiai jautrių mikroorganizmų, tarp jų ir stafilokokų, aktyvumas gerokai sumažėja. Tad stafilokokai pagrindines funkcijas turi atlikti proceso pradžioje (per 2–3 paras). Dar viena priežastis, dėl kurios galėjo sulėtėti stafilokokų augimas, yra tai, jog šie mikroorganizmai auga labai arti dešrų paviršiaus (Hospital ir kt., 2015; Lücke, 2015), todėl dešras apdorojant šaltu dūmu slopinamas ne tik gedimo mikroorganizmų, bet ir stafilokokų augimas.

Pasibaigus technologiniam procesui dešrose, kurių fermentacijai naudoti *S. xylosus*, stafilokokų kiekis skyrėsi priklausomai nuo dešros sudėties, priešingai nei dešrose su startinių kultūrų mišiniu (D-KNO3-XP; D-KNO2-XP ir D-SLap-XP), kuriose po 14 parų stafilokokų kiekis buvo toks pat (~5 log KSV/g). Kontrolinėje dešroje su pridėtinu nitratu, kurios fermentacijai naudoti tik *S. xylosus* (D-KNO3-X), buvo nustatytas ne tik didžiausias stafilokokų (6,7 log KSV/g), bet ir didžiausias koliforminių mikroorganizmų (2,6 log KSV/g) (3.35 pav.) bei mažiausias pienarūgščių bakterijų (7,8 log KSV/g) kiekis (3.34 pav.). Tai parodo, kad konkurencija tarp atskirų mikroorganizmų grupių labai svarbi, lemianti galutinio produkto savybes.

Taip pat svarbu paminėti, kad nitratas ir nitritas skatina stafilokokų augimą esant mažai deguonies, t. y. dešrų viduje (Neubauer, Gotz, 1996), kur nitratas veikia kaip elektronų akceptorius ir nitratoreduktazės efektyvumas yra stimuliuojamas.

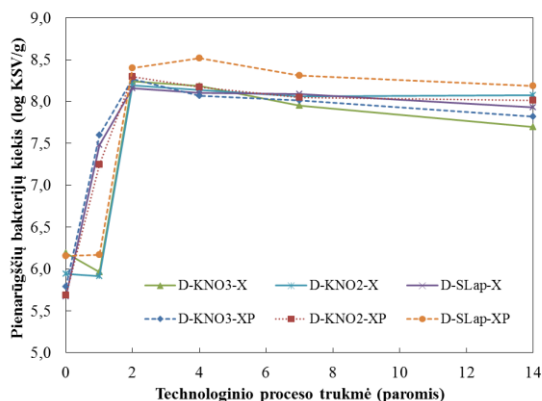
Tačiau tuo pačiu metu didelė nitratų koncentracija mėsos terpėje gali neutralizuoti šį efektą, nes dėl labai didelio nitratreduktazės aktyvumo mikrobines ląstelėse gali susidaryti nitrito perteklius, dėl kurio ilgainiui sumažėja ne tik nitritų redukcija, bet ir mikroorganizmų augimas (Gotz, Bannerman ir Schleifer, 2006).



**3.33 pav.** Stafilokokų kiekio (log KSV/g) skirtingos sudėties dešrose priklausomybė nuo technologinio proceso trukmės

Kaip matyti 3.34 pav., staigus pienarūgščių bakterijų padaugėjimas nuo pradinio 5,7–6,2 log KSV/g kiekio iki maksimalios 8,2–8,4 log KSV/g vertės nustatytas jau po 2 parų. Vėliau, skirtingai nuo stafilokokų ar koliforminių mikroorganizmų, šių bakterijų kiekis tik šiek tiek mažėjo ir pabaigoje buvo 7,7–8,2 log KSV/g, priklausomai nuo dešros rūšies. Analogišką pienarūgščių bakterijų kitimo tendenciją fermentinėse dešrose, turinčiose skirtingą kiekį nitratų ir nitritų (Hospital ir kt., 2015), su liofilizuotų porų milteliais (Tsoukalas ir kt., 2011) ar tradicinėse turkiškose dešrose su juodųjų morkų koncentratu (Lutfiye ir kt., 2015) savo tyrimuose aprašo ir kiti autoriai.

Didžiausias pienarūgščių bakterijų kiekis nustatytas dešrose su liofilizuotais salierais, tačiau tik tose, kurių fermentacijai naudotas startinių kultūrų mišinys (*S. xylosus* ir *P. pentosaceus*). Tsoukalas ir kt. (2011) taip pat teigia, kad dešrose su liofilizuotų porų milteliais pienarūgščių bakterijų buvo daugiau nei kontroliniuose gaminiuose, o Ekici ir kt. (2015) nustatė, kad juodųjų morkų koncentratas reikšmingos įtakos šių mikroorganizmų kiekiui neturėjo.



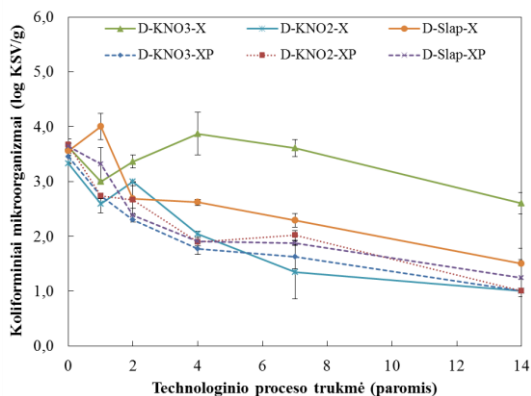
**3.34 pav.** Pienarūgščių bakterijų kiekis (log KSV/g) skirtingos sudėties dešrose priklausomybė nuo technologinio proceso trukmės

Pradinis žaliavos užterštumas koliforminiais mikroorganizmais buvo nedidelis (3,3–3,7 log KSV/g) ir labai panašus į mėsos sistemų fermentacijos etape gautus rezultatus (~2–3 log KSV/g). Didelis pradinis šių nepageidaujamų mikroorganizmų kiekis žaliavose gali tapti dominuojančiu ir lemti neprognozuojamą fermentacijos eigą.

Fermentacijos ir brandinimo metu visose dešrose, išskyrus kontrolines su pridėtinu nitratu (D-KNO3-X), koliforminių mikroorganizmų sumažėjo. Pasibaigus procesui šių mikroorganizmų kiekis buvo <2 log KSV/g, taip pat kaip ir Ekici ir kt. (2015) ar Tsoukalas'o ir kt. (2011) publikuotuose rezultatuose. Tai gali būti paaiškinama gedimo bakterijų jautrumu rūgštinei terpei. Fermentinėse dešrose gedimo ir patogeniniai mikroorganizmai slopinami ne tik dėl konkurencingų startinių kultūrų augimo ir pH mažėjimo, bet ir dėl kombinuoto keleto veiksnių poveikio: didelės druskos koncentracijos, pridėtinio nitrito, mažo vandens aktyvumo ir gramneigiamų bakterijų deguonies likučių pašalinimo, dėl kurio sumažėja redokso potencialas (Marco, Navarro ir Flores, 2006).

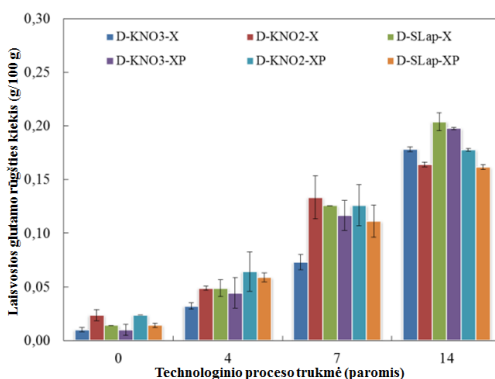
Kontrolinėje dešroje (D-KNO3-X) daugiau (2,6 log KSV/g) koliforminių mikroorganizmų susidarė ne tik dėl mažesnio pienarūgščių bakterijų kiekio, bet ir dėl sintetinio nitrato, esančio jos sudėtyje. Pasak Lücke (2014), nitratai nepasižymi antimikrobinėmis savybėmis tol, kol mikroorganizmų yra suskaidomi iki nitritų. Nitrito antimikrobinis aktyvumas didžiausias, kai pH vertė yra nuo 4,5 iki 5,5, ir siejamas su nedisocijavusia nitritine rūgštimi (Jay, 2000). Tai leidžia patvirtinti ir kontrolinėje dešroje su pridėtinu nitritu (D-KNO2-X) nustatytas mažesnis koliforminių mikroorganizmų kiekis. Tsoukalas'o ir kt. (2011) teigimu, pridėti nitrito būtina norint sumažinti nepageidaujamos mikrofloros (konkrečiai – enterobakterijų) kiekį fermentinėse dešrose. Kita vertus, liofilizuotuose salieruose, naudotuose eksperimente, taip pat yra nitratas, o ne nitritas ir vis dėlto šiuose mėginiuose koliforminių mikroorganizmų kiekis neviršija <2 log KSV/g. Manoma, kad taip yra dėl didesnio pienarūgščių bakterijų kiekio šiose dešrose, nes jos slopina enterobakterijų augimą.





**3.35 pav.** Koliforminių mikroorganizmų kiekio (log KSV/g) skirtingos sudėties dešrose priklausomybė nuo technologinio proceso trukmės

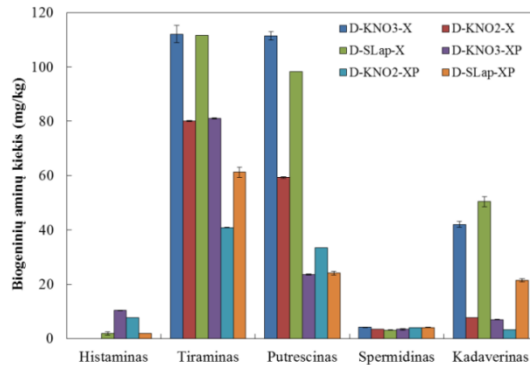
Proteolizės proceso eiga šaltai rūkytose dešrose (kaip ir mėsos sistemose) technologinio proceso metu buvo vertinama pagal susidariusį laisvosios glutamo rūgšties kiekį. Šios aminorūgštis laipsniškai daugėjo viso technologinio proceso metu, tačiau aiškiai matoma, kad daugiau jos susidarė ne fermentacijos, o brandinimo metu (nuo ketvirtos iki keturioliktos paros) (3.36 pav.). Manoma, kad to priežastis yra proteolizės proceso stadijos, kurių pirmojoje, veikiant kalpainams ir katepsinams, sarkoplazminiai ir miofibriliniai baltymai skaidomi į baltymų fragmentus ir polipeptidus, ir tik vėliau šie naujai susiformavę substratai dėl aminopeptidazių veiklos skyla iki laisvųjų aminorūgščių (Toldra, 2000). Po brandinimo glutamo rūgšties kiekis visose dešrose buvo 0,16–0,2 g/100 g. Literatūroje nurodoma, kad D-katepsinų fermentų aktyvumas yra mažas esant didesnėms pH vertėms, todėl baltymų skilimas sulėtėja (Toldra, Aristoy ir Flores, 2000). Tačiau dėl didesnių pH verčių kontrolinėse dešrose laisvosios glutamo rūgšties kiekis nebuvo mažesnis nei kitose dešrose, ir tai parodo, kad pagrindiniai baltymų skaidytojai dešrose yra ne endogeniniai mėsoje esantys fermentai, o dominuojančia mikroflora tapusios pienarūgštės bakterijos.



**3.36 pav.** Laisvosios glutamo rūgšties kiekio (g/100 g) skirtingos sudėties dešrose priklausomybė nuo technologinio proceso trukmės



Nustatyta, kad po brandinimo tiraminas buvo vyraujantis biogeninis aminas dešrose – jo kiekis, priklausomai nuo mėginio rūšies, kito nuo 40,86 iki 112,07 mg/kg (3.37 pav.). Tokia pati tendencija gauta ištyrus komercines ispaniškas fermentines dešras ( $n = 474$ ), kuriose vidutinis tiramino kiekis buvo 139 mg/kg (Latorre-Moratella ir kt., 2017). Tiraminas daugelyje tyrimų nurodomas kaip pagrindinis bioaktyvusis aminas, randamas fermentinėse vyrintose dešrose; jose tiraminas susidaro dėl fermentacinės mikroorganizmų populiacijos, daugiausia pienarūgščių bakterijų ir daug rečiau dėl stafilokokų, veiklos (Latorre-Moratalla ir kt., 2012; Talon, Leroy, 2011).



**3.37 pav.** Biogeninių aminų kiekio (mg/kg) skirtingos sudėties dešrose priklausomybė nuo technologinio proceso trukmės

Be tiramino, labai svarbūs biogeniniai aminai dešrose yra putrescinas ir kadaverinas, kurie dar gali būti traktuojami kaip naudotų žaliavų ir gamybos proceso higienos indikatoriai, nes jų susikaupimas siejamas su nešvaros mikroorganizmų aktyvumu (Ikoni ir kt., 2013; Latorre-Moratella ir kt., 2008). Mėginiams (D-KNO3-X ir D-Slap-X), kuriuose tiramino, putrescino ir kadaverino buvo daugiausia, taip pat buvo būdingas didesnis koliforminių bakterijų kiekis technologinio proceso metu (3.35 pav.). Taip pat pastebėta, kad daugiau biogeninių aminų buvo tose dešrose, kurių sudėtyje buvo pridėtinio nitrato (pridėtinis ar daržovių sudėtyje) ir kurių fermentacijai naudoti tik *S. xylosus* (nedėta pienarūgščių bakterijų). Gautas rezultatas leidžia patvirtinti prielaidą, kad naudojamos mišrios startinės kultūros efektyviau slopina potencialų biogeninių aminų susikaupimą, taip pat kaip ir Sun ir kt. (2016) tyrime. Spermidino ir toksikologiniu požiūriu svarbiausio biogeninio amino – histamino – kiekis neviršijo 10 mg/kg.

Bendras biogeninių aminų kiekis dešrose, kurių fermentacijai naudoti *S. xylosus*, neviršijo 270 mg/kg, o tose, kuriose naudotas startinių kultūrų mišinys, – 130 mg/kg (3.37 pav.). Literatūroje pateikiama informacija, kad žmogaus sveikatai potencialiai pavojingomis dešromis gali būti laikomos tos, kuriose bendras biogeninių aminų kiekis viršija 1000 mg/kg (Santos, 1996). Todėl galima daryti išvadą, jog dešrose susidariusių biogeninių aminų kiekis yra per mažas, kad keltų pavojų žmogaus sveikatai.

Visose dešrose (išskyrus tas, kurių sudėtyje buvo pridėtinio nitrito) nitrato mažėjo (3.13 lent.). Kontrolinėje dešroje (D-KNO<sub>3</sub>-X) ir dešroje su liofilizuotais salierais D-SLap-X, kurių technologiniam procesui naudoti tik *S. xylosus*, buvo nustatyti mažiausi liekamieji nitrato kiekiai – 6,81–7,58 mg/kg (~5 % įdėtinio kiekio). O tose dešrose, kuriose, be *S. xylosus*, naudota ir pienarūgštė *P. pentosaceus* bakterija, bendrasis nitrato kiekis buvo 10–20 % didesnis, t. y. 36,13–42,54 mg/kg (3.13 lent.). Manoma, kad to priežastis buvo didesnis stafilokokų (pasižymintųjų nitrato- ir nitritoredukcijomis savybėmis) kiekis ir didesnės pH vertės sistemose su *S. xylosus*. Mažos pH vertės, susidariusios po fermentacijos, buvo vienas iš veiksnių, dėl kurių nitratoreduktazės aktyvumu pasižymintys mikroorganizmai buvo slopinami. Dėl to sistemoje liko daugiau nitrato. Gauti rezultatai parodo, kad nitrato redukcijos greitį lemia tik mikroorganizmų, naudotų proceso kontrolei užtikrinti, kilmė ir funkcinės savybės ir jis visiškai nepriklauso nuo to, kokio būvio buvo naudotas nitratas (pridėtas ar iš liofilizuotų salierų).

**3.13 lentelė.** Nitrato ir nitrito kiekio skirtingos sudėties dešrose priklausomybė nuo technologinio proceso trukmės

Dešros rūšis	Technologinio proceso trukmė, paromis			
	0	4	7	14
	Nitrato kiekis, mg/kg			
D-KNO <sub>3</sub> -X	114,22±8,52bcD	68,27±6,05cdC	21,56±3,30aB	7,58±0,95aA
D-KNO <sub>2</sub> -X	31,76±1,65aA	45,03±2,63abC	33,51±2,53bcA	36,13±4,12cB
D-SLap-X	108,19±2,77bcD	63,17±3,18cC	53,03±3,30eB	6,81±0,52aA
D-KNO <sub>3</sub> -XP	114,22±6,51cD	69,91±2,36dC	31,18±1,83bB	23,89±3,12bA
D-KNO <sub>2</sub> -XP	35,55±1,01aA	41,44±2,23aB	44,58±3,71dC	42,54±2,95dBC
D-SLap-XP	112,72±3,52bcC	59,11±1,22bcB	37,00±3,23cA	36,13±0,00cA
	Nitrito kiekis, mg/kg			
D-KNO <sub>3</sub> -X	0,17±0,03aA	2,30±0,16bD	1,41±0,16cB	1,78±0,13bC
D-KNO <sub>2</sub> -X	74,68±6,44cC	4,76±0,00dB	3,17±0,03eA	3,98±0,36dA
D-SLap-X	0,26±0,03aA	1,42±0,19aC	0,54±0,04bB	0,57±0,00aB
D-KNO <sub>3</sub> -XP	0,17±0,03aA	3,74±0,25cC	2,68±0,03dB	2,91±0,16cB
D-KNO <sub>2</sub> -XP	70,03±0,66cB	4,02±0,53cA	4,18±0,29fA	3,80±0,23dA
D-SLap-XP	0,26±0,03aA	1,01±0,21aC	0,19±0,03aA	0,47±0,13aB

Rezultatai pateikti kaip vidurkiai su standartiniais nuokrypiais. Skirtingos mažosios raidės stulpeliuose parodo statistiškai reikšmingą nitrato ir nitrito kiekio skirtumą skirtingos sudėties dešrose; skirtingos didžiosios raidės eilutėse parodo statistiškai reikšmingą nitrato ir nitrito skirtumą technologinio proceso metu.

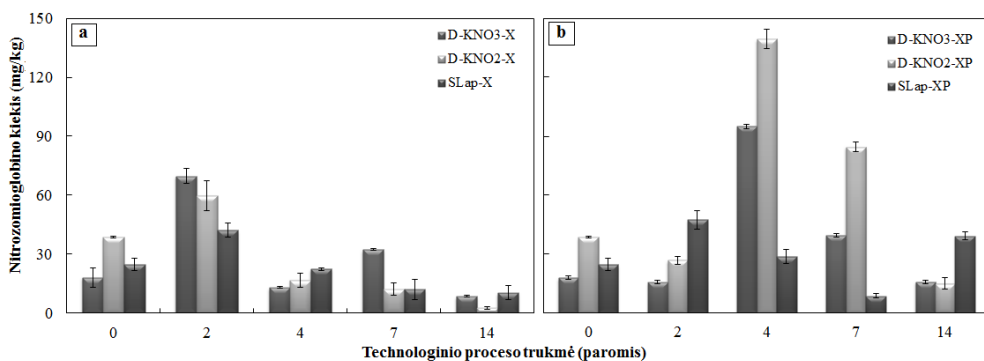
Tik paruoštose dešrose su pridėtinu nitritu (D-KNO<sub>2</sub>-X ir D-KNO<sub>2</sub>-XP) buvo susidarę ~35 mg/kg nitrato. Jis susidarė dėl sparčiai vykstančios nitrito oksidacijos. Pagrindinis veiksnys, lemiantis sparčią nitrito oksidaciją, yra deguonis, likęs dešrose po kimšimo. Literatūroje teigiama, kad net 10–40 % viso į mėsą įdėto nitrito gali oksiduotis iki nitrato (Honikel, 2008). Tsoukalas ir kt. (2011) taip pat nustatė tam tikrą liekamąjį nitrato kiekį dešrose tik su pridėtu nitritu. Dėl didelio nitrito reaktiškumo tik paruoštose dešrose (D-KNO<sub>2</sub>-X ir D-KNO<sub>2</sub>-XP) nustatytas jo kiekis buvo tik 50–55 % bendrojo pridėto NaNO<sub>2</sub> kiekio. Panašų pradinį nitrito kiekį (50–70 %) nustatė Li ir kt. (2013), taip pat Fernandez-Lopez'as ir kt. (2008). Liekamasis nitrito kiekis, nustatytas technologinio proceso metu, atitinka laisvąjį

nitritą, kuris nėra susijungęs su mėsos komponentais, suskilęs iki NO ar oksidavęsis iki nitrato (Fernandez-Lopez ir kt., 2008). Fermentacijos ir brandinimo metu dešrose buvo nustatyta labai maža liekamojo nitrito koncentracija (~5 mg/kg). Todėl daroma išvada, kad iš nitratų redukcijos metu susidaręs nitritas dalyvauja tolesnėse reakcijose, kurių pagrindinė yra skilimas iki NO ir jungimasis su mioglobinu susidarant nitrozomioglobiniui.

### **3.4.2. Nitratų iš liofilizuotų daržovių įtaka mioglobino formų kitimui ir jo poveikis mėsos spalvai šaltai rūkytose dešrose technologinio proceso metu**

Šaltai rūkytų dešrų gamybos technologinio proceso metu buvo vertinamas mioglobino formų kitimas ir šių pokyčių įtaka raudonos mėsos spalvos stabilizavimui, įvertinant galimybę pakeisti pridėtinį nitratą nitratais iš liofilizuotų salierų.

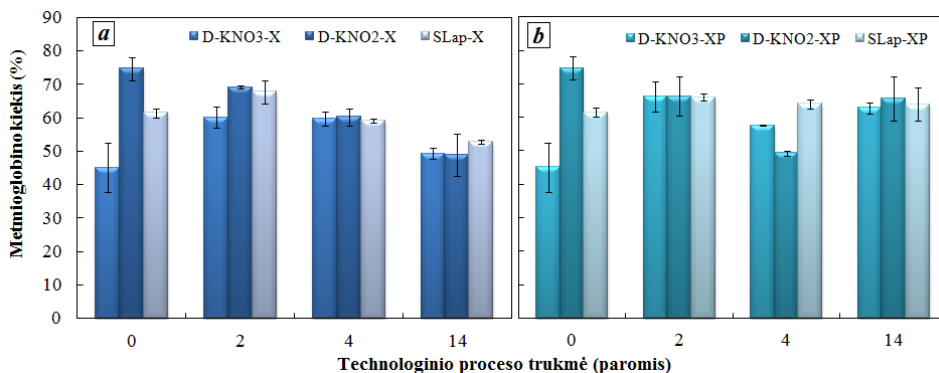
Gøtterup'as ir kt. (2008) teigia, kad fermentinėse dešrose, kurioms gaminti naudojamas pridėtinis nitritas, būdingas staigus nitrozomioglobino susidarymas vos tik sumaišius komponentus. Disertacijos eksperimento rezultatai atitinka šio autoriaus gautus rezultatus: iš karto po dešrų paruošimo statistiškai reikšmingai ( $p < 0,05$ ) daugiau nitrozomioglobino buvo nustatyta būtent dešrose su nitritu (D-KNO<sub>2</sub>-X ir D-KNO<sub>2</sub>-XP). Tolesnis nitrozomioglobino kitimo greitis priklausė nuo naudotos startinių kultūrų sudėties. Maksimalus jo kiekis dešrose su *S. xylosum* susidarė po 2 parų, o tose, kurių fermentacijai naudotas *S. xylosum* ir *P. pentosaceus* mišinys, – po 4 fermentacijos parų. Chasco ir kt. (1996) ir Gøtterup'as ir kt. (2008) teigia, kad maksimali nitrozomioglobino vertė dešrose su pridėtinio nitritu nustatyta jau po 2–3 fermentacijos parų ir vėliau išliko daugiau ar mažiau stabili viso proceso metu. Šio eksperimento metu nitrozomioglobiniui pasiekus maksimaliąją vertę jo kiekis viso brandinimo proceso metu mažėjo ir jam pasibaigus kito nuo ~3 iki 40 mg/kg (3.38 pav.). Kaip jau minėta prieš tai, toks tendencingas šio pigmento mažėjimas gal būti siejamas su jo oksidacija ar daline denatūracija, sukelta fermentacijos metu išsiskyrusios pieno rūgšties (Perez-Alvarez ir kt., 1999). Daugelis autorių minėtą reiškinį įvardija kaip pagrindinį veiksni, lemiantį a\* vertės mažėjimą fermentinėse dešrose, tačiau nepateikia realių dešrose susidariusio nitrozomioglobino kiekių (Bozkurt, Bayram 2006; Essid, Hassouna, 2013; Utrilla, GarcíaRuiz ir Soriano, 2014).



**3.38 pav.** Nitrozomioglobino kiekio skirtingos sudėties dešrose priklausomybė nuo technologinio proceso trukmės, kai fermentacijai naudoti *S. xylosus* (a), *S. xylosus* ir *P. pentosaceus* (b)

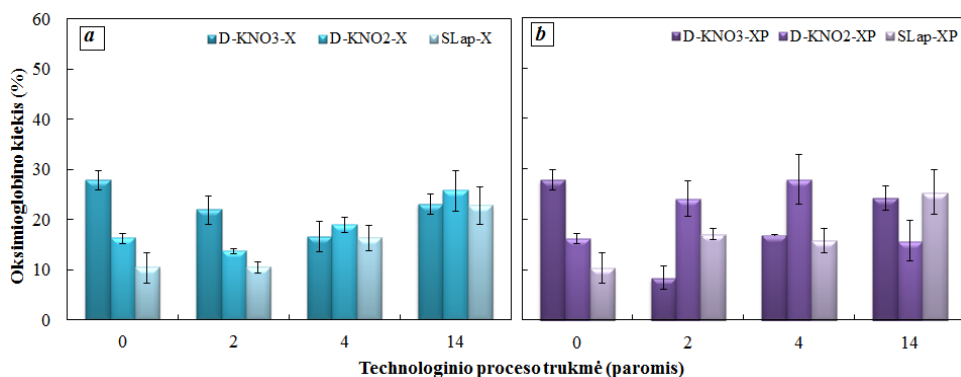
Šiame eksperimente, be nitrozomioglobino, dar buvo nustatytas metmioglobino, oksimioglobino ir deoksiimioglobino kiekis (3.39–3.41 pav.). Akivaizdu, kad mioglobino formų tarpusavio santykis priklausė nuo pridėtinių mikroorganizmų rūšies ir nuo to, koku pavidalu naudotas nitratas (pridėtas ar iš liofilizuotų salierų). Pridėjus nitrito įvyko staigus šviežios mėsos pigmentų pokytis, t. y. mioglobinas ir oksimioglobinas virto į nepageidaujamą rudos spalvos metmioglobina (Gøtterup ir kt., 2008; Hayes ir kt., 2013; Pegg, Shahidi, 2000). Tai parodo didesnis metmioglobino kiekis (~75 %) sistemose su pridėtiniu nitritu (D-KNO2-X; D-KNO2-XP); kitose sistemose šios formos pigmento kiekis buvo tik ~45–62 %. Toks oksidacinis nitrito poveikis yra labai gerai žinomas ir plačiai aprašomas literatūroje. Manoma, kad tai ir lėmė po 2 parų padidėjusį metmioglobino kiekį kontrolinėje dešroje su pridėtiniu nitratu (D-KNO3-X), kurioje redukuojantis nitratai į terpę išsiskiria nitritas.

Tendencinga tai, kad po brandinimo metmioglobino kiekis dešrose su *S. xylosus* buvo mažesnis (48,9–52,35 %) nei dešrose, kurių sudėtyje, be *S. xylosus*, naudotos ir *P. pentosaceus* bakterijos (62,83–65,57 %) (3.39 pav., a ir b). Esant mažesnėms pH vertėms mėsos pigmentai labiau linkę oksiduotis, dėl to susidaro daugiau metmioglobino (Gøtterup ir kt., 2008). Sistemose su *S. xylosus* proceso metu metmioglobino taip pat mažėjo, priešingai nei analogiškose sistemose su startinių kultūrų mišiniu.

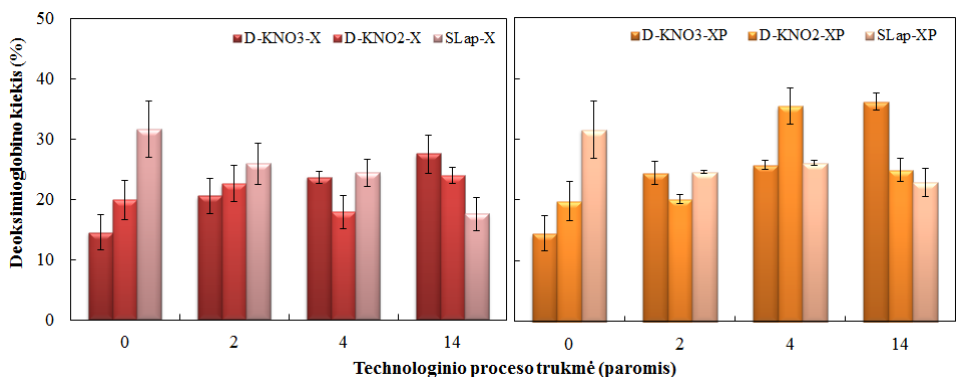


**3.39 pav.** Metmioglobino kiekio skirtingos sudėties dešrose priklausomybė nuo technologinio proceso trukmės, kai fermentacijai naudoti *S. xylosous* (a), *S. xylosous* ir *P. pentosaceus* (b)

Pradinis oksimioglobino (10,43–27,86 %) ir deoksioglobino (14,48–31,62 %) kiekis dešrose buvo mažesnis nei pradinis metmioglobino kiekis. Fermentacijos ir brandinimo metu aiškios šių pigmentų kiekio kitimo tendencijos nebuvo nustatytos. Galiausiai pasibaigus brandinimui oksimioglobino kiekis sistemose kito nuo 15,81 iki 25,76 %, o deoksioglobino – nuo 15,48 iki 27,52 %, priklausomai nuo dešros sudėties. Labiausiai iš visų išsiskyrė mėginiai su pridėtiniais liofilizuotais salierais (D-SLap-X ir D-SLap-XP) ir su pridėtinu nitritu (D-KNO2-X). Tik juose buvo nustatytas statistiškai reikšmingai didesnis oksimioglobino kiekis pasibaigus procesui, o kitose dešrose šio pigmento kiekis beveik nekito. Kaip ir metmioglobino atveju, mažesnės pH vertės gali lemti oksimioglobino kiekio padidėjimą (Gøtterup ir kt., 2008). Taip pat dėl mikroorganizmų sunaudojamo deguonies terpėje fermentacijos metu yra sukurama anaerobinė aplinka, dažnai lemianti oksimioglobino kiekio sumažėjimą (Bozkurt, Bayram, 2007).



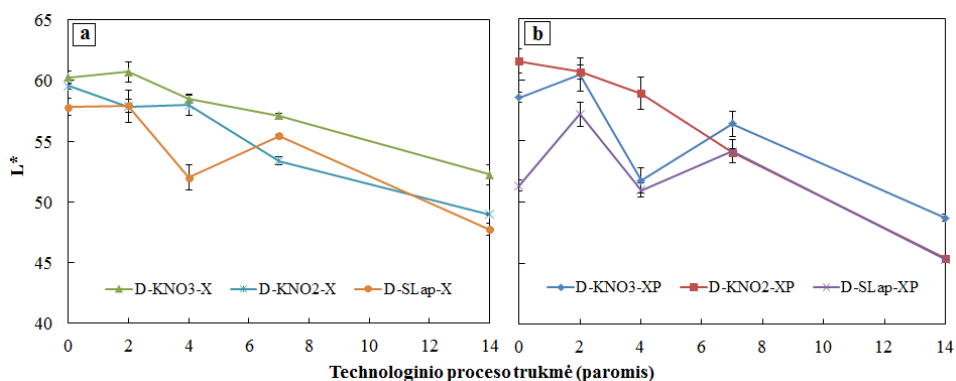
**3.40 pav.** Oksimioglobino kiekio skirtingos sudėties dešrose priklausomybė nuo technologinio proceso trukmės, kai fermentacijai naudoti *S. xylosous* (a), *S. xylosous* ir *P. pentosaceus* (b)



**3.41 pav.** Deoksimioglobino kiekio skirtingos sudėties dešrose priklausomybė nuo technologinio proceso trukmės, kai fermentacijai naudoti *S. xylosus* (a), *S. xylosus* ir *P. pentosaceus* (b)

Technologinio proceso metu nustatytos aiškiai matomos spalvos kitimo tendencijos, t. y.  $L^*$  ir  $b^*$  koordinatžių mažėjimas. Gelsvumo vertės sumažėjimą fermentuojamuose mėsos gaminiuose, Bozkurt'o ir Bayram'o (2006) teigimu, lemia oksimioglobino redukcija, tačiau, kaip matyti iš 3.40 pav., oksimioglobino kitimo tendencija technologinio proceso metu buvo priešinga.

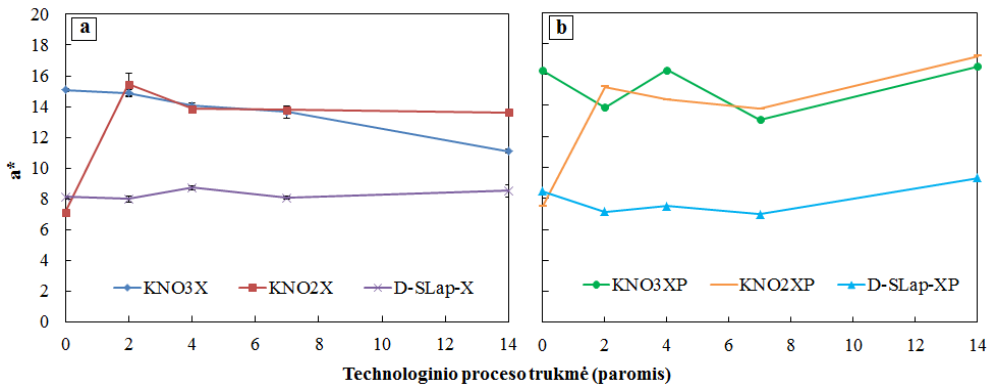
Dešros, fermentuotos *S. xylosus* ir *P. pentosaceus*, buvo tamsesnės (45,31–48,71) už tos pačios sudėties dešras, kurioms fermentuoti naudoti *S. xylosus* (47,73–52,23) (3.41 pav.). Taip pat išsiskyrė dešros su pridėtinu nitratu, nes jos buvo šviesesnės nei tos, kurių sudėtyje buvo pridėtinis nitritas ar liofilizuotų salierų priedas. Statistiškai reikšmingai didesnės gelsvumo vertės nustatytos dešrose su liofilizuotų salierų priedu (12,65–12,72; kitose dešrose – 8,92–11,57). Calvo ir kt. (2008), Magra ir kt. (2006), Tsoukalas ir kt. (2011) nustatė, kad pomidorų žievelių, džiovintų porų ar liofilizuotų porų priedas atitinkamai lėmė didesnę tamsumą ir gelsvumą fermentinėse dešrose.



**3.42 pav.**  $L^*$  vertės skirtingos sudėties dešrose priklausomybė nuo technologinio proceso trukmės, kai fermentacijai naudoti *S. xylosus* (a), *S. xylosus* ir *P. pentosaceus* (b)

Vertinant rausvumo koordinatės kitimą matoma, kad  $a^*$  pokyčiai priklausė nuo tirtos dešros rūšies. Dešrose su pridėtinu nitratu ir nitritu, fermentuotose *S. xylosus*,

rausvumo koordinatė mažėjo viso proceso metu. Ši sumažėjimą sukelia nitrozomioglobino mažėjimas (3.38 pav.). Dešrų, kurių fermentacijai naudotas stafilokoko ir pienarūgštės bakterijos mišinys, rausvumas pasibaigus technologiniam procesui buvo didesnis (9,32–17,2) nei analogiškų sistemų su *S. xylosus* (8,51–13,63). Pagrindine to priežastimi tapo didesnis nitrozomioglobino (3.38 pav.) ir rausvą spalvą lemiančių deoksimioglobino ir oksimioglobino suminis kiekis (3.40 pav. ir 3.41 pav.) šiose sistemose. O liofilizuotų salierų priedas lėmė sistemų rausvumo sumažėjimą dėl natūraliai jo sudėtyje esančių žalsvų pigmentų.  $a^*$  vertė šiose sistemose buvo mažiausia (8,11–8,47) tiek prieš prasidedant procesui, tiek jam pasibaigus (8,51–9,32).



**3.43 pav.**  $a^*$  vertės skirtingos sudėties dešrose priklausomybė nuo technologinio proceso trukmės, kai fermentacijai naudoti *S. xylosus* (a), *S. xylosus* ir *P. pentosaceus* (b)

### 3.4.3. Nitratų iš liofilizuotų daržovių įtaka šaltai rūkytų dešrų kokybei

Paruoštų šaltai rūkytų dešrų kokybė buvo įvertinta nustatius jų cheminę sudėtį, išeigą, tekstūros savybes ir atlikus juslinę analizę. Cheminė sudėtis ir išeiga pateiktos 3.14 lent. Dešrų su pridėtinu nitratu, kurių fermentacijai naudotas *S. xylosus* ir *P. pentosaceus* mišinys, išeiga (64,15 %) ir bendrasis drėgmės kiekis (35,27 %) buvo didesni nei kitų dešrų. Kaip to priežastis įvardijamos mažesnės, izoelektriniam mėsos baltymų taškui artimos pH vertės kitose dešrose, kurioms esant baltymai pasižymi mažesniu gebėjimu išlaikyti laisvąją drėgmę (Ekici ir kt., 2015; Tsoukalas ir kt., 2011). Ekici ir kt. (2015) tyrime modifikuotose tradicinėse turkiškose dešrose su juodųjų morkų koncentratu buvo gautos 68,5–66,1 % išeigos, t. y. šiek tiek didesnės nei šiame eksperimente gautos vertės, ir tai gali būti susiję su autorių nurodomu 2 paromis trumpesniu technologiniu procesu (trumpesnis džiovinimas).

Bendrasis baltymų kiekis dešrose kito nuo 29,51 iki 31,58 % ir nepriklausė nuo nitrato (nitrito) kilmės dešrose ar fermentacijai naudotų startinių kultūrų rūšies. Didžiausias mineralinių medžiagų (6,19–6,21 %) ir angliavandenių (5,15–5,59 %) kiekis buvo nustatytas dešrose su liofilizuotų salierų milteliais (D-SLap-X ir D-SLap-XP). Apskaičiuota visų dešrų energinė vertė buvo labai panaši ir kito nuo 365 iki 391 kcal.

### 3.14 lentelė. Šaltai rūkytų dešrų išeiga ir cheminė sudėtis

	Fermentuota <i>S. xylosus</i>		
	D-KNO3-X	D-KNO2-X	D-SLap-X
Drėgmė, %	37,03±0,62c	33,86±0,35b	31,91±0,48a
Baltymai, %	30,04±0,05a	30,49±0,71ab	31,58±0,56b
Riebalai, %	26,95±0,10b	27,75±0,34b	25,17±1,18a
Mineralinės medžiagos, %	5,37±0,17a	5,01±0,27a	6,19±0,19b
Angliavandeniai, %	0,61±0,03a	2,89±0,14b	5,15±0,26c
Išeiga, %	63,25±0,39b	62,48±0,59ab	62,36±0,51a
	Fermentuota <i>S. xylosus</i> ir <i>P. pentosaceus</i>		
	D-KNO3-XP	D-KNO2-XP	D-SLap-XP
Drėgmė, %	35,27±0,16c	32,56±0,65b	31,63±0,37a
Baltymai, %	29,51±0,27a	30,04±0,37ab	30,27±0,23b
Riebalai, %	27,80±0,77ab	28,64±0,68b	26,29±1,13a
Mineralinės medžiagos, %	5,48±0,41a	5,58±0,24a	6,21±0,10b
Angliavandeniai, %	1,94±0,10a	3,19±0,16b	5,59±0,28c
Išeiga, %	64,15±0,74b	61,91±0,76a	61,58±0,35a

Rezultatai pateikti kaip vidurkiai su standartiniais nuokrypiais; skirtingos mažosios raidės eilutėse rodo statistiškai reikšmingą cheminės sudėties komponentų ir išeigos skirtumą ( $p < 0,05$ ) tarp skirtingos sudėties dešrų.

Tikėtina, kad modifikuojant dešros sudėtį dėl naudojamų priedų kilmės ir savybių gali pasikeisti galutinio produkto tekstūra. Šiuo atveju pridėjus liofilizuotų salierų padidėjo dešrų kietumas ir šiek tiek sumažėjo rišlumas (3.15 lent.). To priežastimi gali būti jau anksčiau minėtos mažesnės šių dešrų pH vertės ir to nulemtas mažesnis drėgmės kiekis jose, taip pat skaidulų, esančių salierų sudėtyje, poveikis (Calvo ir kt., 2008; Ekici ir kt., 2015). Tokius pat rezultatus gavo Calvo ir kt. (2008), tirdami fermentines dešras su išdžiovintomis pomidorų žievelėmis, ir Tsoukalas ir kt. (2011), tirdami dešras su liofilizuotais porais. Ekici ir kt. (2015), priešingai – nustatė, kad juodųjų morkų koncentratas (0,5 % ir 2 %) neturėjo reikšmingos įtakos tradicinių turkiškų dešrų kietumui. Mažesnis rišlumas gali būti siejamas ne tik su skaidulų poveikiu, bet ir su intensyviau vykstančiu proteolizės procesu (Tsoukalas ir kt., 2011). Galiausiai visų dešrų susikramtomumas buvo labai panašus (išsiskyrė tik dešra su pridėtinu nitratu, fermentuota *S. xylosus*) ir kito nuo 9,61 iki 11,26.

**3.15 lentelė.** Šaltai rūkytų dešrų sudėties įtaka tekstūros parametrams po 14 technologinio proceso parų

Dešros rūšis	Kietumas, N	Rišlumas	Susikramtomumas
D-KNO3-X	91,42±3,15b	0,30±0,03d	14,82±0,81d
D-KNO2-X	83,63±4,49ab	0,26±0,02cd	11,26±1,41bc
D-SLap-X	104,95±3,10c	0,22±0,00abc	11,05±0,30bc
D-KNO3-XP	82,73±1,54a	0,23±0,04bc	9,61±1,66a
D-KNO2-XP	110,00±5,00c	0,20±0,02ab	11,81±1,63c
D-SLap-XP	122,45±5,28d	0,18±0,01a	10,16±1,04ab



Rezultatai pateikti kaip vidurkiai su standartiniais nuokrypiais. Skirtingos mažosios raidės stulpeliuose parodo statistiškai reikšmingą skirtumą ( $p < 0,05$ ) tarp tekstūros parametrų skirtingose dešrose.

Paruoštos šaltai rūkytos dešros buvo įvertintos jusliškai – vertintas savybių, išvardytų 3.16 lent., intensyvumas ir jų priimtumas. Vertintojai išskyrė dešras su pridėtinu nitritu ir tas, kurių fermentacijai naudotas startinių kultūrų mišinys, kaip rausvesnes nei kitos. Jų vertinimas sutampa su nustatytais rausvumo koordinatėmis: didžiausios rausvumo ( $a^*$ ) vertės ir buvo nustatytos tose dešrose, kurias vertintojai įvardijo kaip rausvesnes. Taip pat vertintojai nustatė, kad dešrose nejuntamas joks pašalinis skonis (pvz., būdingas salierui), ir visų dešrų bendrąjį skonį įvertino labai panašiai (~12 balų).

Galiausiai įvertinus paruoštas dešras buvo nustatyta, kad nei naudotas liofilizuotų salierų priedas, nei skirtinga naudotos mikrofloros sudėtis neturėjo neigiamos įtakos juslinėms dešrų savybėms, visos dešros buvo įvertintos kaip priimtinos vartoti. Bendras visų dešrų priimtumas buvo ~12 balų iš 15 galimų. Tsoukalas ir kt. (2011) nustatė, kad dešros su liofilizuotais porais vertintojams buvo priimtinos, tačiau jų bendras priimtumas buvo mažesnis nei kitų dešrų, kurių sudėtyje naudotas sintetinis nitritas. Calvo ir kt. (2008) nustatė, kad 0,6–1,2 % pomidorų žievelių priedas neturėjo neigiamos įtakos bendram fermentinių dešrų priimtinumui.

**3.16 lentelė. Skirtingos sudėties dešrų juslinių savybių intensyvumas ir priimtumas**

Juslinė savybė	D-KNO3-X	D-KNO3-XP	p	D-KNO2-X	D-KNO2-XP	p	D-SLap-X	D-SLap-XP	p
	<i>Intensyvumas</i>								
Bendras kvapas	12,58	12,17	0,437	12,00	12,08	0,843	12,50	12,17	0,253
Kvapo sodrumas	10,17	9,33	0,191	10,17	10,42	0,671	10,08	10,67	0,124
Dūmų kvapas	9,67	8,67	0,169	10,17	9,83	0,715	8,67	9,75	0,196
Prieskonių kvapas	7,33	7,17	0,702	6,75	7,00	0,607	6,50	6,58	0,881
Pašalinis kvapas	1,00	1,00	1	1,00	1,00	1	1,00	1,00	1
Spalva	8,33	9,42	0,043	9,83	10,42	0,253	8,75	9,17	0,588
Kietumas	8,08	7,92	0,720	8,92	8,92	1,000	8,17	9,67	0,001
Riebumas	8,08	7,50	0,147	7,92	8,00	0,860	7,67	7,50	0,670
Bendras skonis	12,25	12,08	0,695	12,00	12,25	0,530	12,42	12,17	0,427
Skonio sodrumas	10,50	10,17	0,496	10,67	10,75	0,836	9,58	10,00	0,439
Sūrus skonis	10,08	10,25	0,809	10,33	9,92	0,455	10,42	10,00	0,509
Aitrus skonis	7,33	7,75	0,501	7,08	6,83	0,640	6,25	7,08	0,299
Aštrus skonis	7,92	7,58	0,374	8,00	7,75	0,628	8,50	7,58	0,221
Rūgštus skonis	9,17	9,92	0,264	10,00	9,67	0,596	10,50	10,25	0,686
Pašalinis skonis	1,00	1,00	1	1,08	1,00	1	1,08	1,00	0,328
Liekamasis skonis	8,92	9,83	0,087	9,42	9,58	0,816	9,50	9,67	0,845
	<i>Priimtumas</i>								
Kvapaspas	11,75	11,67	0,860	12,00	12,17	0,670	11,83	12,00	0,709
Skonis	11,67	11,83	0,771	11,67	11,58	0,877	11,33	11,42	0,874
Tekstūra	12,08	12,08	1,000	12,17	12,00	0,810	11,92	11,58	0,600
Bendras priimtumas	11,92	11,92	1,000	11,75	12,00	0,647	11,50	11,50	1,000

Rezultatai pateikti kaip vidurkiai;  $p < 0,05$  – statistškai reikšmingas skirtumas tarp dešrų su skirtingomis startinėmis kultūromis.

## IŠVADOS

1. Dvigubųjų V-A-V emulsijų stabilumas priklausė nuo A-V tarpfaziui stabilizuoti naudoto stambiamolekulio junginio rūšies, koncentracijos ir laikymo trukmės. Tiek išrūgų baltymų izoliatu (IBI), tiek karboksimetilceliulioze (KMC) stabilizuotos emulsijos išliko stabilios ~10 parų, tačiau ilgėjant laikymo trukmei prasidėjo destabilizacijos procesai. Nors vidutinis aliejaus lašelių dydis ( $d_{32} \sim 30 \mu\text{m}$ ) panašus abiejų tipų emulsijose, statistiškai reikšmingai ( $p < 0,05$ ) didesnis stabilumas nustatytas emulsijose, kurių A-V tarpfazyje buvo KMC. Nustatytos didesnės klampos konstantos emulsijose su KMC ( $2,095\text{--}4,381 \text{ Pa}\cdot\text{s}^n$ ) parodė, kad modifikuotas gamtinis emulsiklis KMC padidino tolydinės fazės klampą, dėl to aliejaus lašelių judėjimas sulėtėjo ir taip buvo išvengta potencialių jų sąveikų.
2. Nustatyta, kad dviguboji V-A-V emulsija su įkapsuliuotomis burokėlių sultimis, kuriai gaminti naudota 6 % poliglicerolio poliricinoleato (PGPR) ir 0,5 % IBI, pasižymėjo dideliu gravitaciniu bei terminiu stabilumu ir įkapsuliuotumo efektyvumu (100 %). Dėl osmosinio slėgio skirtumo emulsijų klampa laikymo metu padidėjo nuo 0,03 iki 2,9 Pa·s. Modifikuoto membraninio emulsavimo metu aliejaus lašelių dydis sumažėjo nuo ~32 iki 21,19–24,26  $\mu\text{m}$ , priklausomai nuo naudoto slėgio. Didinant praleidimų skaičių aliejaus lašelių dydis mažėjo iki trečiojo praleidimo, toliau didinant praleidimų skaičių aliejaus lašeliai didėjo, o įkapsuliuotumo efektyvumas ir emulsijų stabilumas mažėjo. Didinant burokėlių sulčių koncentraciją vidinėje vandens fazėje nuo 0 iki 2 % paviršiaus įtempis sumažėjo nuo 22,2 iki 12,7 mN/m.
3. Dvigubosios emulsijos, mėsos sistemose panaudotos vietoje gyvūninių riebalų, pasižymėjo geromis vandens ir riebalų rišlumo savybėmis ir sumažino mėsos sistemų kietumą. Mėsos sistemose, kuriose buvo naudojamos dvigubosios emulsijos su įkapsuliuotomis burokėlių sultimis, raudona mėsos sistemų spalva ( $a^*$ ) buvo statistiškai reikšmingai ( $p < 0,05$ ) ryškesnė (8,39–10,12) nei kontrolinių sistemų (2,19–2,4).
4. Nitratų redukcijos procesas fermentuojamoje mėsos sistemose vyko lėtai ir nepriklausė nuo naudoto nitrato kilmės (pridėtas ar iš liofilizuotų daržovių). Mėsos sistemose su daržovių priedu nustatytos mažesnės pH vertės (4,77–5,02) ir didesnis susidariusios pieno rūgšties (0,9–1 g/100 g) bei laisvosios glutamo rūgšties (0,05–0,09 g/100 g) kiekis, tačiau toksikologiniu požiūriu pavojingiausio biogeninio amino – histamino – kiekis buvo žemiau jo aptikimo ribos (<5 mg/kg) visose mėsos sistemose. Koliforminių mikroorganizmų kiekis fermentacijai baigiantis mažėjo tik mėsos sistemose su daržovėmis.
5. Nustatyta, kad nitratų iš liofilizuotų daržovių panaudojimas mėsos sistemose jų fermentacijos metu lėmė mažesnę rudos spalvos metmioglobino kiekį (56,55–59,09 %), palyginti su sistemomis, kurių sudėtyje buvo pridėtas

nitratas (61,66–65,32 %). Nitrozomioglobino kiekis statistiškai reikšmingai padidėjo pirmąją fermentacijos parą, t. y. tuo metu, kai vyko staigus nitratredukciniemis savybėmis pasižyminčių stafilokokų augimas ir didžiausia nitratų redukcija, tačiau vėliau dėl galimai dalinės denatūracijos ar oksidacijos nitrozomioglobino kiekis sumažėjo iki 30–40 mg/kg ir nebeprisilaikė nei nuo fermentacijai naudoto *Staphylococcus* rūšies, nei nuo nitrato kilmės ( pridėtas ar iš liofilizuotų daržovių).

6. Nitratą ir nitritą pakeitus nitratais iš liofilizuotų daržovių šaltai rūkytose dešrose gautos mažesnės pH vertės (5,04–5,1). Liekamasis nitrato kiekis dešrose priklausė nuo nitrato kilmės ir nuo startinių kultūrų (*S. xylosus* ar *S. xylosus* kartu su *P. pentosaceus*), naudotų dešrų gamyboje. Bendrasis biogeninių aminių kiekis (<150 mg/kg) buvo mažesnis dešrose, fermentuotose startinių kultūrų mišiniu. Nors raudonos spalvos mioglobino formų kiekis ir kitimas buvo analogiškas visose dešrose, nepriklausomai nuo nitrato kilmės ( pridėtas ar iš liofilizuotų salierų), tačiau mažesnes rausvumo (a\*) vertes (8,51–9,32) dešrose su liofilizuotais salierais lėmė žalios spalvos pigmentai, esantys daržovėje. Juslinio vertinimo metu nustatyta, kad liofilizuotų salierų priedas neturėjo neigiamos įtakos dešrų savybėms, jos visos buvo įvertintos kaip priimtinos.

## LITERATŪRA

1. ADITYA, N. P., ADITYA, S., YANG, H., KIM, H. W., PARK, S. O., and KO, S. Co-delivery of hydrophobic curcumin and hydrophilic catechin by a water-in-oil-in-water double emulsion. *Food Chemistry*. 2015, 173, 7–13.
2. AL-SHUIBI, A. M., and AL-ABDULLAH, B. M. Substitution of nitrite by sorbate and the effect on properties of mortadella. *Meat Science*. 2002, 62, 473–478.
3. AMALI, U. A., DINESH, D. J., SISITHA, R., and CHEORUN, J. Alternatives to nitrite in processed meat: Up to date. *Trends in Food Science & Technology*. 2015, 45, 37–49.
4. AMINE, C., DREHER, J., THRANDUR, H., and THARWAT, T. Investigation of emulsifying properties and emulsion stability of plant and milk proteins using interfacial tension and interfacial elasticity. *Food Hydrocolloids*. 2014, 39, 180–186.
5. ANDRADE, J., and CORREDIG, M. Vitamin D3 and phytosterols affect the properties of polyglycerol polyricinoleate (PGPR) and protein interfaces. *Food Hydrocolloids*. 2016, 54, 278–283.
6. ARBOLEYA, J. C., and WILDE, P. J. Competitive adsorption of proteins with methylcel-lulose and hydroxypropyl methyl cellulose. *Food Hydrocolloids*. 2005, 19, 485–491.
7. ARO-ARO, J. M., NYAM-OSOR, P., TSUJI, K., SHIMADA, K., FUKUSHIMA, M., and SEKIKAWA, M. The effect of starter cultures on proteolytic changes and amino acid content in fermented sausages. *Food Chemistry*. 2010, 119 (1), 279–285.
8. AZEREDO, H. M. C., SANTOS, A. N., SOUZA, A. C. R., KENYA, C. B., MENDES, and ANDRADE, M. I. R. Betacyanin stability during processing and storage of a microencapsulated red beetroot extract. *American Journal of Food Technology*. 2007, 2, 307–312.
9. BAHTZ, J., GUNES, D. Z., SYRBE, A., MOSCA, N., FISCHER, P., and WINDHAB, E. J. Quantification of Spontaneous W/O Emulsification and its Impact on the Swelling Kinetics of Multiple W/O/W Emulsions. *Langmuir*. 2016, 32, 5787–5795.
10. BÁZAN-LUGO, E., GARCÍA-MARTÍNEZ, I., ALFARO-RODRÍGUEZ, R. H., and TOTOSAUS, A. Color compensation in nitrite-reduced meat batters incorporating paprika or tomato paste. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2012, 92 (8), 1627–1632.
11. BENDALL, J. R., and SWATLAND, H. J. A review of the relationship of pH with physical aspects of pork quality. *Meat Science*. 1988, 24, 85–126.
12. BENICHO, A. ASERIN, A., and GARTI, N. Double emulsions stabilized with hybrids of natural polymers for entrapment and slow release of active matters. *Advances in Colloid and Interface Science*. 2004, 108, 29–41.
13. BENNA-ZAYANI, M., KBIR-ARIGUIB, N., TRABELSI-AYADI, M., and GROSSIORD, J. L. Stabilisation of W/O/W double emulsion by polysaccharides as weak gels. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 2008, 316 (1–3), 46–54.
14. BERIAIN, M. J., LIZASO, G., and CHASCO, J. Free amino acids and proteolysis involved in ‘salchichon’ processing. *Food Control*. 2000, 11 (1), 41–47.
15. BEUTLER, H. O. *Methods of enzymatic analysis*. 3rd ed. H.U. Bergmeyer, 1990.
16. BONNET, M., CANSELL, M., PLACIN, F., DAVID-BRIAN, E., ANTON, M., and LEAL-CALDERÓN, F. Influence of ionic complexation on release rate profiles from multiple waterin- oil-in-water (W/O/W) emulsions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2010, 58, 7762–7769.

17. BOZKURT, H., and BAYRAM, M. Colour and textural attributes of sucuk during ripening. *Meat Science*. 2006, 73, 344–350.
18. BRÜCKNER, M., BADE, M., and KUNZ, B. Investigation into the stabilization of a volatile aroma compound using a combined emulsification and spray drying process. *European Food Research and Technology*. 2007, 226, 137–146.
19. CAI, Y., and CORKE, H. (2000). Production and properties of spray-dried amaranthus betacyanin pigments. *Journal of Food Science*. 2000, 65, 1248–1252.
20. CALVO, M. M., GARCÍA, M. L., and SELGAS, M. D. Dry fermented sausages enriched with lycopene from tomato peel. *Meat Science*. 2008, 80, 167–172.
21. CAMMACK, R., JOANNOU, C. L., CUI, X. Y., TORRES-MARTINEZ, C., MARAJ, S. R., and HUGHES, M. N. Nitrite and nitrosyl compounds in food preservation. *Biochimica et Biophysica Acta-Bioenergetics*. 1999, 1411, 475–488.
22. CAROCHO, M., BARREIRO, M. F., MORALES, P., and FERREIRA, I. C. F. R. Adding molecules to food, pros and cons: a review on synthetic and natural food additives. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2014, 13 (4), 377–399.
23. CASSENS, R. G. *Nitrite-Cured Meat: A Food Safety Issue in Perspective*. Food and Nutrition Press. C. T. Trumbull, 1990.
24. CASSENS, R. G., ITO, I., LEE, M., and BUEGE, D. 1978. The use of nitrite in meat. *Bioscience*. 1978, 28 (10), 633–637.
25. CHARCOSSET, C., LIMAYEM, I., and FESSI, H. The membrane emulsification process – A review. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*. 2004, 79, 209–218.
26. CHASCO, J., LIZASO, G., and BERIAIN, M. J. Cured colour development during sausage processing. *Meat Science*. 1996, 44 (3), 203–211.
27. CHÁVEZ-PÁEZ, M., QUEZADA, M., IBARRA-BRAZAMONTES, L., GONZÁLEZ-OCHOA, H. O., and ARAUZ-LARA, J. L. Coalescence in double emulsions. *Langmuir*. 2012, 28 (14), 5934–5939.
28. CHENG, J., CHEN, J. F., ZHAO, M., LUO, Q., WEN, L. X., and PAPADOPOULOS, K. D. Transport of ions through the oil phase of W<sub>1</sub>/O/W<sub>2</sub> double emulsions. *Journal of Colloid and Interface Science*. 2007, 305, 175–182.
29. CHOI, S. J., DECKER, E. A., and MCCLEMENS, J. Impact of iron encapsulation within the interior aqueous phase of water-in-oil-in-water emulsions on lipid oxidation. *Food Chemistry*. 2009, 116, 271–276.
30. COFFEY, D. G., BELL, D. A., and HENDERSON, A. *Food Polysaccharides and Their Applications*. A. M. Stephen, 1995.
31. COFRADES, S., ANTONIOU, I., SOLAS, M. T., HERRERO, A. M., JIMÉNEZ-COLMENERO, F. Preparation and impact of multiple (water-in-oil-in-water) emulsions in meat systems. *Food Chemistry*. 2013, 141, 338–346.
32. COFRADES, S., SANTOS-LÓPEZ, J. A., FREIRE, M. J., BENEDÍ, J., SÁNCHEZ-MUNIZ, F. J., and JIMÉNEZ-COLMENERO, F. Oxidative stability of meat systems made with W<sub>1</sub>/O/W<sub>2</sub> emulsions prepared with hydroxytyrosol and chia oil as lipid phase. *LWT – Food Science and Technology*. 2014, 59 (2), 941–947.
33. COLINART, P., DELEPINE, S., TROUVE, G., and RENON, H. Water transfer in emulsified liquid membrane processes. *Journal of Membrane Science*. 1984, 20 (2), 167–187.
34. COLMENERO F. Preparation and impact of multiple (water-in-oil-in-water) emulsions in meat systems. *Food Chemistry*. 2013, 141, 338–346.

35. COMI, G., URSO, R., IACUMIN, L., RANTSIOU, K., CATTANEO, P., and CANTONI, C. Characterisation of naturally fermented sausages produced in the North East of Italy. *Meat Science*. 2005, 69, 381–392.
36. CORNEC, M., WILDE, P. J., GUNNING, P. A., MACHIE, A. R., HUSBANAD, F. A., PARKER, M. L., and CLARK, D. C. Emulsion stability as affected by competitive adsorption between an oil-soluble emulsifier and milk proteins at the interface. *Journal of Food Science*. 1998, 63 (1), 39–43.
37. CUI, H., GABRIEL, A. A., and NAKANO, H. Antimicrobial efficacies of plant extracts and sodium nitrite against *Clostridium botulinum*. *Food Control*. 2010, 21 (7), 1030–1036.
38. DELAMPLE, M., FRANCIELLE, D. S., and LEAL-CALDERON, F. Osmotically driven gelation in double emulsions. *Food Hydrocolloids*. 2014, 38, 11–19.
39. DELGADO-PANDO, G., COFRADES, S., RUIZ-CAPILLAS, C., and JIMÉNEZ-COLMENERO, F. Healthier lipid combination as functional ingredient influencing sensory and technological properties of low-fat frankfurters. *European Journal of Lipid Science and Technology*. 2010, 112, 859–870.
40. DELGADO-VARGAS, F., and PAREDES-LOPEZ, O. Natural colorants for food and nutraceutical uses. *Trends in Food Science & Technology*. 2003, 14, 438.
41. DICKINSON, E. Hydrocolloids at interfaces and the influence on the properties of dispersed systems. *Food Hydrocolloids*. 2003, 17, 25–39.
42. DICKINSON, E. Double emulsions stabilized by food biopolymers. *Food Biophysics*. 2011, 6, 1–11.
43. DOULGERAKI, A. I., ERCOLINI, D., VILLANI, F., and NYCHAS, G. J. E. Spoilage microbiota associated to the storage of raw meat in different conditions. *International Journal of Food Microbiology*. 2012, 157, 130–141.
44. DROSINOS, E. H., MATARAGAS, M., XIRAPHI, N., MOSCHONAS, G., GAITIS, F., and METAXOPOULOS, J. Characterization of the microbial flora from a traditional Greek fermented sausage. *Meat Science*. 2005, 69, 307–317.
45. EYILER, E., and OZTAN, A. Production of frankfurters with tomato powder as a natural additive. *LWT: Food Science and Technology*. 2011, 44 (1), 307–311.
46. EKICI, L., OZTURK, I., KARAMAN, S., CALISKAN, O., TORNUK F., SAGDIC O., and YETIM, H. Effects of black carrot concentrate on some physicochemical, textural, bioactive, aroma and sensory properties of sucuk, a traditional Turkish dry-fermented sausage. *LWT – Food Science and Technology*. 2015, 62, 718–726.
47. ESSID, I., and HASSOUNA, M. Effect of inoculation of selected *Staphylococcus xylosus* and *Lactobacillus plantarum* strains on biochemical, microbiological and textural characteristics of a Tunisia dry fermented sausage. *Food Control*. 2013, 32, 707–714.
48. FARNWORTH, E. R. *Handbook of fermented functional foods*. 2nd ed. Taylor and Francis, 2008
49. FECHNER, A., KNOTH, A., SCHERZE, I., and MUSCHIOLIK, G. Stability and release properties of double-emulsions stabilised by caseinate–dextran conjugates. *Food Hydrocolloids*. 2007, 21, 943–952.
50. FEDTKE, I., KAMPS, A., KRISMER, B., and GÖTZ, F. The Nitrate Reductase and Nitrite Reductase Operons and the *narT* Gene of *Staphylococcus carnosus* Are Positively Controlled by the Novel Two-Component System NreBC. *Journal of Bacteriology*. 2002, 184, 23, 6624–6634.
51. FEMENIA, A., LEFEBVRE, A. C., THEBAUDIN, J. A., ROBERTSON, J. A., and BOURGEOIS, C. M. Physical and sensory properties of model foods supplemented with cauliflower fiber. *Journal of Food Science*. 1997, 62, 635–639.

52. FLORENCE, A. T., and WHITEHILL, D. The formulation and stability of multiple emulsions. *International Journal of Pharmaceutics*. 1982, 11, 277–308.
53. FREIDING, S., GUTSCHE, K. A., EHRMANN, M. A., and VOGEL, R. F. Genetic screening of *Lactobacillus sakei* and *Lactobacillus curvatus* strains for their peptidolytic system and amino acid metabolism, and comparison of their volatilomes in a model system. *Systematic and Applied Microbiology*. 2011, 34 (5), 311–320.
54. FREIRE, M., BOU, R., COFRADES, S., SOLAS, M. T., and JIMÉNEZ-COLMENERO, F. Double emulsions to improve frankfurter lipid content: impact of perilla oil and pork backfat. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2016, 96 (3), 900–908.
55. GANDÍA-HERRERO, F., CABANES, J., ESCRIBANO, J., GARCÍA-CARMONA, F., and JIMÉNEZ-ATIÉNZA, M. Encapsulation of the most potent antioxidant betalains in edible matrixes as powders of different colors. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2013, 61, 4294–4302.
56. GAO, B., and SHARMA, M. M. A family of alkyl sulfate gemini surfactants. 2. Water–oil interfacial tension reduction. *Journal of Colloid and Interface Science*. 2013, 407, 375–381.
57. GAONKAR, A. O. Surface and interfacial activities and emulsion characteristics of some food hydrocolloids. *Food Hydrocolloids*, 1991, 5, 329–337.
58. GARTI, N. Double emulsions-scope, limitations and new achievements. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 1997, 123–124, 233–246.
59. GARTI, N. Progress in stabilization and transport phenomena of double emulsions in food applications. *Lebensmittel – Wissenschaft und Technologie*. 1997, 30 (3) 222–235.
60. GARTI, N., ASERIN, A., TUINOVA, I., and BINYAMIN, H. Double emulsions of water-in-oil-in-water stabilized by alpha-form fat microcrystals. Part 1: selection of emulsifiers and fat microcrystalline particles. *Journal of the American Oil Chemist's Society*. 1999, 76 (3), 383–389.
61. GARTI, N., and BENICHO, A. *Encyclopedic Handbook of Emulsions Technology*. J. Sjoblom, 2001.
62. GARTI, N., MAGDASSI, S., and WHITEHILL, D. Transfer phenomena across the oil phase in water-oil-water multiple emulsions evaluated by Coulter counter: 1. Effect of emulsifier 1 on water permeability. *Journal of Colloid and Interface Science*. 1985, 104 (2), 587–591.
63. GEORGIEV, V. G., WEBER, J., KNECHKE, E. M., DENEV, P. N., BLEY, T., and PAVLOV, A. I. Antioxidant activity and phenolic content of betalain extracts from intact plants and hairy root cultures of the red beetroot *Beta vulgaris* cv. Detroit dark red. *Plant Foods for Human Nutrition*. 2010, 65(2), 105–111.
64. GOSTNER, J. M., BECKER, K., UEBERALL, F., and FUCHS, D. The good and bad of antioxidant foods: an immunological perspective. *Food and Chemical Toxicology*. 2015, 80, 72–79.
65. GØTTERUP, J., OLSEN, K., KNØCHEL, S., TJENER, K., STAHNKE, L. H., and MØLLER, J. K. S. Colour formation in fermented sausages by meat-associated staphylococci with different nitrite- and nitrate-reductase activities. *Meat Science*. 2008, 78, 492–501.
66. GUILBAUD, P., and ZEMB, T. Depletion of water-in-oil aggregates from poor solvents: Transition from weak aggregates towards reverse micelles. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*. 2015, 20(1), 71–77.
67. GÜLSENREN, I., and CORREDIG, M. Interactions between polyglycerol polyricinoleate (PGPR) and pectins at the oil/water interface and their influence on the stability of water-in-oil emulsions. *Food Hydrocolloids*. 2014, 34, 154–160.



68. HAYES, J. E., CANONICO, I., and ALLEN, P. Effects of organic tomato pulp powder and nitrite level on the physicochemical, textural and sensory properties of pork luncheon roll. *Meat Science*. 2013, 95 (3), 755–762.
69. HALASZ, A. 2009. *Encyclopedia of life support systems food quality and standards – Vol III*. R. Laszityty, 2009.
70. HAMILTON, R. T. and KALER, E. W. Alkali metal ion transport through thin bilayers. *The Journal of Physical Chemistry*. 1990, 94 (6), 2560–2566.
71. HAMMES, W. P., and KNAUF, H. J., 1994. Starters in the processing of meat products. *Meat Science*. 1994, 36, 155–168.
72. HAMMES, W. P. Metabolism of nitrate in fermented meats: the characteristic feature of a specific group of fermented foods. *Food Microbiology*. 2012, 29, 151–156.
73. HARTMANN, S., WOLF, G., and HAMMES, W. P. Reduction of nitrite by *Staphylococcus carnosus* and *Staphylococcus piscifermentans*. *Systematic and Applied Microbiology*. 1995, 18, 323–328.
74. HATTREM, M. N., DILLE, M. J., SETERNES, T., and DRAGET, K. I. Macro- vs. micromolecular stabilisation of W/O/W-emulsions. *Food Hydrocolloids*. 2014, 37, 77–85.
75. HEMAR, Y., CHENG, L. J., OLIVER, C. M., SANGUANSRI, L., and AGUSTIN, M. Encapsulation of resveratrol using water-in-oil-in-water double emulsions. *Food Biophysics*. 2010, 5, 120–127.
76. HERBACH, K. M., STINTZING, F. C., and CARLE, R. Betalain stability and degradation—Structural and chromatic aspects. *Journal of Food Science*. 2006, 71 (4), 41–50.
77. HERNÁNDEZ-JOVER, T., IZQUIERDO-PULIDO, M., VECIANA-NOGUÉS, M. T., and VIDAL-CAROU, M. C. Ion-pair high-performance liquid chromatographic determination of biogenic amines in meat and meat products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 1996, 44 (9), 2710–2715.
78. HERNÁNDEZ-MARÍN, N. Y., LOBATO-CALLEROS, C., and VERNON-CARTER, E. J. Stability and rheology of water-in-oil-in-water multiple emulsions made with protein-polysaccharide soluble complexes. *Journal of Food Engineering*. 2013, 119 (2), 181–187.
79. HOAGLAND, R. The action of saltpetre upon the color of meat. *25th annual report of the bureau animal industry*. 1910, 301–316.
80. HOAGLAND, R. Coloring matter of raw and cooked salted meats. *Journal of Agricultural Research*. 1914, 3, 211–225.
81. HONIKEL, K. O. The use and control of nitrate and nitrite for the processing of meat products. *Meat Science*. 2008, 78, 68–76.
82. HORD, N. G., TANG, Y., and BRYAN, N. S. Food sources of nitrates and nitrites: the physiologic context for potential health benefits. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 2009, 90, 1–10.
83. HORNSEY, H. C. The colour of cooked cured pork, I – Estimation of the Nitric oxide-Haem Pigments. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 1956, 7, 534–539.
84. HORSCH, A. M., SEBRANEK, J. G., DICKSON, J. S., NIEBUHR, S. E., LARSON, E. M., LAVIERI, N. A., RUTHER, B. L., and WILSON, L. A. The effect of pH and nitrite concentration on the antimicrobial impact of celery juice concentrate compared with conventional sodium nitrite on *Listeria monocytogenes*. *Meat Science*. 2014, 96 (1), 400–407.
85. HOSPITAL, X. F., HIERRO, E., and FERNANDEZ, M. Survival of *Listeria innocua* in dry fermented sausages and changes in the typical microbiota and volatile profile as

- affected by the concentration of nitrate and nitrite. *International Journal of Food Microbiology*. 2012, 153, 395–401.
86. HOSPITAL, X. F., HIERRO, E., and FERNÁNDEZ, M. Effect of reducing nitrate and nitrite added to dry fermented sausages on the survival of *Salmonella Typhimurium*. *Food Research International*. 2014, 62, 410.
  87. HOSPITAL, X. F., HIERRO, E., STRINGER, S., and FERNÁNDEZ, M. A. Study on the Toxigenesis by *Clostridium Botulinum* in Nitrate and Nitrite-Reduced Dry Fermented Sausages. *International Journal of Food Microbiology*. 2015, 218, 66–70.
  88. HUGAS, M., GARRIGA, M., and AYMERICH, M. T. Functionality of enterococci in meat products. *International Journal of Food Microbiology*. 2013, 88 (2–3), 223–233.
  89. IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. (2010). Ingested Nitrate and Nitrite, and Cyanobacterial Peptide Toxins. (IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, No. 94). Retrived October 2, 2015 from 2010.
  90. IKONI, P., PETROVI, L., TASI, T., DZINI, N., JOKANOVI, M., and TOMOVI, V. Physicochemical, biochemical and sensory properties for the characterization of Petrovská klobása (traditional fermented sausage). *Acta Periodica Technologica*. 2010,41, 19–31.
  91. ISMAIEL, A., and PIERSON, M. Inhibition of growth and germination of *C. botulinum* 33A, 40B, and 1623E by essential oil of spices. *Journal of Food Science*. 1990, 55 (6), 1676–1678.
  92. YAN, J., and PAL, R. Isotonic swelling behavior of W/O/W emulsion liquid membranes under agitation conditions. *Journal of Membrane Science*. 2003, 213 (1–2), 1–12.
  93. JAY, J. M. *Modern food microbiology*. 6th ed. Meryland, 2000.
  94. JIAO, J., and BURGESS, D. J. Rheology and stability of water-in-oil-in-water multipleemulsions containing Span 83 and Tween 80. *AAPS PharmScience Technology*. 2003, 5 (1), 7.
  95. JIMÉNEZ-COLMENERO, F. Technologies for developing low-fat meat products. *Trends in Food Science and Technology*. 1996, 7, 41–48.
  96. JIMÉNEZ-COLMENERO, F. Healthier lipid formulation approaches in meat-based functional foods. Technological options for replacement of meat fats by nonmeat fats. *Trends in Food Science and Technology*. 2007, 18, 567–578.
  97. JIMÉNEZ-COLMENERO, F. Potential applications of multiple emulsions in the development of healthy and functional foods. *Food Research International*. 2013, 52, 64–74.
  98. JIMÉNEZ-COLMENERO, F. HERRERO, A., PINTADO, T., SOLAS, M. T., and RUIZ-CAPILLAS, C. Influence of emulsified olive oil stabilizing system used for pork backfat replacement in frankfurters. *Food Research International*. 2010, 43, 2068–2076.
  99. JIMÉNEZ-COLMENERO, F., HERRERO, A., COFRADES, S., and RUIZ-CAPILLAS, C. *Handbook of meat and meat processing*. 2nd ed., Boca Raton: Y. H. Hui, 2012.
  100. JYOTH, N. V. N., PRASANNA, P. M., SAKARKAR, S. N., PRABHA, K. S., RAMAIAH, P. S., and SRAWAN, G. Y. Microencapsulation techniques, factors influencing encapsulation efficiency. *Journal of Microencapsulation*. 2010, 27 (3),187–197.
  101. JOOSEN, A. M., KUHNLE, G. G., ASPINALL, S. M., BARROW, T. M., LECOMMANDEUR, E., AZQUETA, A., COLLINS, A. R., and BINGHAM, S. A.

- Effect of processed and red meat on endogenous nitrosation and DNA damage. *Carcinogenesis*. 2009, 30, 1402–1407.
102. JOSCELYNE, S. M., and TRÄGÄRDH, G. Membrane emulsification—a literature review. *Journal of Membrane Science*. 2000, 169, 107–117.
103. KAIMAINEN, M., MARZE, S., JÄRVENPÄÄ, E., ANTON, M., and HUOPALAHTI, R. Encapsulation of betalain into w/o/w double emulsion and release during in vitro intestinal lipid digestion. *LWT – Food Science and Technology*. 2015, 60, 899–904.
104. KANOUNI, M., ROSANO, H. L., and NOUOLI, N. Preparation of a stable double emulsion (W1/O/W2): role of the interfacial films on the stability of the system. *Advances in Colloid and Interface Science*. 2002, 99 (3), 229–254.
105. KARAMUCKI, T., JAKUBOWSKA, M., RYBARCZYK, A., and GARDZIELEWSKA, J. The influence of myoglobin on the colour of minced pork loin. *Meat Science*. 2013, 94, 234–23.
106. KAROVIČOVÁ, J., and KOHAJDOVÁ, Z. Biogenic amines in food. *Chemical Papers*. 2005, 59 (1), 70–9.
107. KHAN, M. I. Stabilization of betalains: A review. *Food Chemistry*. 2016, 197, 1280–1285.
108. KIM, H-W., HWANG, K-E., SONG, D-H., KIM, Y-J., HAM, Y-K., LIM, Y-B., JEONG, T-J., CHOI, Y-S., KIM, CH-J. Wheat fiber colored with a safflower (*Carthannus tinctorius* L.) red pigment as a natural colorant and antioxidant in cooked sausages. *LWT-Food Science and Technology*. 2015, 64 (1), 350–355.
109. KITA, Y., MATSUMOTO, S., and YONEZAWA, D. Permeation of water through oil layer in w-o-w-type multiple-phase emulsions. *Nippon Kagaku Kaishi*. 1978, 1, 11–14.
110. KLANG, V., and VALENTA, C. Lecithin-based nanoemulsions. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*. 2011, 21 (1), 55–76.
111. KUNDU, P., KUMAR, V., and MISHRA, I. M. Modeling the steady-shear rheological behavior of dilute to highly concentrated oil-in-water (o/w) emulsions: Effect of temperature, oil volume fraction and anionic surfactant concentration. *Journal of Petroleum Science and Engineering*. 2015, 129, 189–204.
112. LAL, S. N., O'CONNOR, C. J., and EYRES, L. Application of emulsifiers/stabilizers in dairy products of high rheology. *Advances in Colloid and Interface Science*. 2006, 123–126, 433–437.
113. LATORRE-MORATALLA, M. L., BOVER-CID, S., VECIANA-NOGUES, M. T., and VIDAL-CAROU, M. C. Control of biogenic amines in fermented sausages: role of starter cultures. *Food Microbiology*. 2012, 3, 1–9.
114. LATORRE-MORATALLA, M. L., COMAS-BASTE, O., BOWER-CID, S., and VIDAL-CAROU, M. C. Tyramine and histamine risk assessment related to consumption of dry fermented sausages by the Spanish population. *Food and Chemical Toxicology*. 2017, 99, 78–85.
115. LATORRE-MORATALLA, M. L., VECIANA-NOGUÉS, T., BOVER-CID, S., GARRIGA, M., AYMERICH, T., ZANARDI, E., and VIDAL-CAROU, M. C. Biogenic amines in traditional fermented sausages produced in selected European countries. *Food Chemistry*, 2008, 107 (2), 912–921.
116. LAZARO DE LA TORRE, C. A., CONTE-JUNIOR, C. A., CUNHA, F. L., MARSICO, E. T., MANO, S. B., and FRANCO, R. M. Validation of an HPLC methodology for the identification and quantification of biogenic amines in chicken meat. *Food Analytical Methods*. 2013, 6, 1024–1032.
117. LEAL-CALDERON, F., HOMER, S., GOH, A., and LUNDIN, L. W/O/Wemulsions with high internal droplet volume fraction. *Food Hydrocolloids*. 2012, 27 (1), 30–41.

118. LEROY, F., VERLUYTEN, J., and DE VUYST, L. Functional meat starter cultures for improved sausage fermentation. *International Journal of Food Microbiology*. 2006, 106, 270–285.
119. LINDAHL, G., HENCKEL, P., KARLSSOM, A. H. and ANDERSEN, H. J. Significance of early post mortem temperature and pH decline on colour characteristics of pork loin from different crossbreeds. *Meat Science*. 2006, 72(4), 613–623.
120. LIOE, H. N., TAKARA, K. and YASUDA, M. Evaluation of Peptide Contribution to the Intense Umami Taste of Japanese Soy Sauces. *Journal of Food Science*. 2006, 71, 277–283.
121. LOBATO-CALLEROS, C., RECILLAS-MOTA, M. T., ESPINOSA-SOLARES, T., ÁLVAREZ-RAMÍREZ, J., and VERNON-CARTER, E. J. Microstructural and rheological properties of low-fat stirred yoghurts made with skim milk and multiple emulsions. *Journal of Texture Studies*. 2009, 40, 657–675.
122. LOBATO-CALLEROS, C., RODRÍGUEZ, E., SANDOVAL-CASTILLA, O., VERNON-CARTER, E., and ÁLVAREZ-RAMÍREZ, J. Reduced-fatwhite fresh cheese-like products obtained from W-1/O/W-2 multiple emulsions: Viscoelastic and high-resolution image analyses. *Food Research International*. 2006, 39, 678–685.
123. LÜCKE, F. K. *Advances in Fermented Foods and Beverages*. Holzapfel, 2015.
124. MALDONADO-VALDERRAMA, A. P., GUNNING, M. J., RIDOUT, P. J., and WILDE, V. J. MORRIS. The Effect of Physiological Conditions on the Surface Structure of Proteins: Setting the Scene for Human Digestion of Emulsions. *European Physical Journal*. 2009, 30 (2), 165–174.
125. MANCINI, R. A., KROPF, D. H., HUNT, M. C., and JOHNSON, D. E. (2005b). Effects of endpoint temperature, pH, and storage time on cooked internal color reversion of pork longissimus chops. *Journal of Muscle Foods*. 2005, 16 (1), 16–26.
126. MARCO, A., NAVARRO, J. L., and FLORES, M. The sensory quality influence of dry fermented sausages as affected by fermentation stage and curing agents. *European Food Research and Technology*. 2008, 226, 449–458.
127. MÁRQUEZ, A. L., and WAGNER, J. Rheology of double (W/O/W) emulsions prepared with soybean milk and fortified with calcium. *Journal of Texture Studies*. 2010, 41, 651–671.
128. MARTIN, D., ZOHRA, B., and JEAN, B. Effectiveness of topical antibiotics on *Staphylococcus aureus* biofilm *in vitro*. *American Journal of Rhinology*. 2007, 21 (2), 149–153.
129. MARTÍNEZ, L., CILLA, I., BELTRÁN, J. A., and RONCALÉS, P. (2006). Comparative effect of red yeast rice (*Monascus purpureus*), red beet root (*Beta vulgaris*) and betanin (E-162) on colour and consumer acceptability of fresh pork sausages packaged in a modified atmosphere. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2006, 86, 500–508.
130. MASONE, D., and CHANFORNA, C. Study on the interaction of artificial and natural food colorants with human serum albumin: a computational point of view. *Computational Biology and Chemistry*. 2015, 56, 152–158.
131. MASS, M. R., GLASS, K. A., and DOYLE, M. P. Sodium lactate delays toxin production by *Clostridium botulinum* in cook-in-bag turkey products. *Applied Environmental Microbiology*. 1989, 55 (9), 2226–2229.
132. MATSUMOTO, S., INOUE, T., KOHDA, M., and IKURA, K. Water permeability of oil layers in W/O/W emulsions under osmotic pressure gradients. *Journal of Colloid and Interface Science*. 1980, 77 (2), 555–563.

133. MCCLEMENS, D. J. Ultrasonic determination of depletion flocculation in oil-in-water emulsions containing a nonionic surfactant. *Colloids and Surfactants A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 1994, 90 (1), 25–35.
134. MCCLEMENS, D. J. *Gums and Stabilisers for the Food Industry*. Vol. 12. P. A. Williams, G. O. Phillips, 2004.
135. MCCLEMENS, D. J. Advances in fabrication of emulsions with enhanced functionality using structural design principles. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*. 2012, 17, 235–245.
136. MCCLEMENS, D. J., DECKER, E. A., PARK, Y., and WEISS, J. Structural design principles for delivery of bioactive components in nutraceutical and functional foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2009, 49, 577–606.
137. MCCLEMENS, D. J., DECKER, E. A., and WEISS, J. Emulsion-based delivery systems for lipophilic bioactive components. *Journal of Food Science*. 2007, 72, 109–124.
138. MCCLEMENS, D. J., and LI, Y. Review of in vitro digestion models for rapid screening of emulsion-based systems. *Food & Function*. 2010, 1, 32–59.
139. MEZZENGA, R., FOLMER, B. M., and HUGHES, E. Design of double emulsions by osmotic pressure tailoring. *Langmuir*. 2004, 20 (9), 3574–3582.
140. MICHAUT, F., HÉBRAUND, P., and PERRIN, P. Amphiphilic polyelectrolyte for stabilization of multiple emulsions. *Polymer International*. 2003, 52 (4), 594–601.
141. MICHAUT, F., PERRIN, P. and HÉBRAUND, P. Interface composition of multiple emulsions: rheology as a probe. *Langmuir*. 2004, 20, 8576–8581.
142. MUN, S., CHOI, Y., RHO, S. J., KANG, C. G., PARK, C. H., and KIM, Y. R. Preparation and Characterization of Water/Oil/Water Emulsions Stabilized by Polyglycerol Polyricinoleate and Whey Protein Isolate. *Journal of food science*. 2010, 75 (2), 116–125.
143. MUNIN, A., and EDWARDS-LÉVY, F. Encapsulation of Natural Polyphenolic Compounds; a Review. *Pharmaceutics*. 2011, 3 (4), 793–829.
144. MUSCHIOLIK, G. Multiple emulsions for food use. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*. 2007, 12 (4–5), 213–220.
145. MUSCHIOLIK, G., SCHERZE, I., PREISSLER, P., WEISS, J., KNOTH, A., and Fechner, A. (2006). Multiple Emulsions – Preparation and Stability. IUFoST World Congress. 13th World Congress of Food Science & Technology. <http://dx.doi.org/10.1051/IUFoST:20060043>.
146. NAM, K. C., JO, C., and LEE, M. Meat products and consumption culture in the East, review, Meat products and consumption culture in the East. *Meat Science*. 2010, 86, 95–102.
147. NAZIR, A., BOOM, R. M., and SCHROËN, K. Droplet break-up mechanism in premix emulsification using packed beds. *Chemical Engineering Science*. 2013, 92, 190–197.
148. NAZIR, A., BOOM, R. M., and SCHROËN, K. Influence of the emulsion formulation in premix emulsification using packed beds. *Chemical Engineering Science*, 2014, 116, 547–557.
149. NAZIR, A., SCHROËN, K., and BOOM, R. Premix emulsification: A review. *Journal of Membrane Science*. 2010, 362 (1–2), 1–11.
150. NEUBAUER, H., and GOTZ, F. Physiology and interaction of nitrate and nitrite reduction in *Staphylococcus carnosus*. *Journal of Bacteriology*. 1996, 178, 2005–2009.
151. NORASIHA, H., MIMI SAKINAH, A. H., ROHAIDA, C. M. (2009). Characterization of b-cyclodextrin complexes with natural dye. In M. M. Noor, M. M.

- Rahman, K. Kadirgama (Eds.), Presented at the National Conference on Postgraduate Research (NCON-PGR) (pp. 98–106), UMP Conference Hall, Malaysia, 2009.
152. OKUYAMA, M., SUZUKI, T., OGAMI, Y., KUMAGAMI, M., and KOBAYASHI, H. Turbulent combustion characteristics of premixed gases in a packed pebble bed at high pressure. *Proceedings of the Combustion Institute*. 2011, 33, 1639–1646.
  153. OMOTOSHO, J. A., WHATELEY, T. L., LAW, T. K., and FLORENCE, A. T. The Nature of the Oil Phase and the Release of Solutes from Multiple (w/o/w) Emulsions. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 1986, 38, 865–870.
  154. ORDÓÑEZ, J. A., HIERRO, E. M., BRUNA, J. M., and DE LA HOZ, L. Changes in the components of dry-fermented sausages during ripening-critical. *Review in Food Science and Nutrition*. 1999, 39, 329–367.
  155. O'REGAN, J., and MULVIHILL, D. M. Sodium caseinate-maltodextrin conjugate stabilized double emulsions: encapsulation and stability. *Food Research International*. 2010, 43, 224–231.
  156. ÖZTÜRK, B., URGU, M., and SERDAROĞLU, M. Egg white powder-stabilised multiple (water-in-olive oil-in-water) emulsions as beef fat replacers in model system meat emulsions. *Journal of the Science of the Food and Agriculture*. 2016, 97 (7), 2075–2083.
  157. PAYS, K., GIEMANSKA-KAHN, J., POULINGY, B., BIBETTE, J., and LEAL-CALDERON, F. Coalescence in surfactant-stabilized double emulsions, *Langmuir*. 2001, 17 (25), 7758–7769.
  158. PAYS, K., GIEMANSKA-KAHN, J., POULIGNY, B., BIBETTE, J., and LEAL-CALDERON, F. Double emulsions: how does release occur? *Journal of Controlled Release*. 2002, 79 (1–3), 193–205.
  159. PAPVERGOU, E. J., SAVVAIDIS, I. N., and AMBROSIADIS, I. A. Levels of biogenic amines in retail market fermented meat products. *Food Chemistry*. 2012, 135, 2750–2755.
  160. PARENTE, E., DI MATTEO, M., SPAGNA MUSSO, S., and CRUDELE, M. A. Use of commercial starter cultures in the production of sopressa lucana, a fermented sausage from basilica. *Italian Journal of Food Science*. 1994, 1, 59–70.
  161. PEGG, R. B., and SHAHIDI, F. Nitrite curing of meat. The n-nitrosamine problem and nitrite alternatives. Oxford: Blackwell Publishing Ltd. 2000.
  162. PENG, S. J., and WILLIAMS, R. A. Controlled production of emulsions using a crossflow membrane: Part I: Droplet formation from a single pore. *Chemical Engineering Research and Design*. 1998, 76, 894–901.
  163. PEREZ-ALVAREZ, J. A., SAYES-BARBARE, M. E., FERNENDEZ-LOPEZ, J., and ARANDA-CATALA, V. Physicochemical characteristics of Spanish- type dry-cured sausage. *Food Research International*. 1999, 32, 599–607.
  164. REINIK, M., TAMME, T., and ROASTO, M. (2009). Naturally Occurring Nitrates and Nitrites in Foods. In: Gilbert, G., Şenyuva, H.Z. (Eds.), Bioactive compounds in foods. Blackwell Publishing Ltd., Oxford, United Kingdom, pp. 225–253.
  165. RODRÍGUEZ-AMAYA, D. B. Natural food pigments and colorants. *Current Opinion in Food Science*. 2016, 7, 20–26.
  166. RODRÍGUEZ-HUEZO, M. E., PEDROZA-ISLAS, R., PRADO-BARRAGÁN, L. A., BERISTAIN, C. I., and VERNON-CARTER, E. J. Microencapsulation by spray drying of multiple emulsions containing carotenoids. *Journal of Food Science*. 2004, 69 (7), 351–359.
  167. ROSANO, H. L., GANDOLFO, F. G., and JEAN-DENIS, P. H. Stability of W-1/O/W-2 multiple emulsions – influence of ripening and interfacial interactions.

- Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 1998, 138, 109–121.
168. SAÉNCAIZ, C., TAPIA, S., CHÁVEZ, J., and ROBERT, P. Microencapsulation by spray drying of bioactive compounds from cactus pear (*Opuntia ficus-indica*). *Food Chemistry*. 2009, 114 (2), 2616–622.
  169. SAHIN, S., SAWALHA, H., and SHROËN, K. High throughput production of double emulsions using packed bed premix emulsification. *Food Research International*. 2014, 66, 78–85.
  170. SAMELIS, J., METAXOPOULOS, J., VLASSI, M., and PAPPA, A. Stability and safety of traditional Greek salami—a microbiological ecology study. *International Journal of Food Microbiology*. 1998, 44, 69–82.
  171. SÁNCHEZ-MAINAR, M., WECKZ, S., and LEROY, F. Coagulase-negative Staphylococci favor conversion of arginine into ornithine despite a widespread genetic potential for nitric oxide synthase activity. *Applied and Environmental Microbiology*. 2014, 80, 7741–7751.
  172. SANZ, Y., FADDA, S., VIGNOLO, G., ARISTOY, M., OLIVER, G., and TOLDRÁ, F. Hydrolysis of muscle myofibrillar proteins by *Lactobacillus curvatus* and *Lactobacillus sake*. *International Journal of Food Microbiology*. 1999, 53 (2–3), 115–125.
  173. SCHADLER, V. and WINDHAB, E. J. Continuous membrane emulsification by using a membrane system with controlled pore distance. *Desalination*. 2006, 189, 130–135.
  174. SCHERZE, I., KNÖFEL, R., and MUSCHIOLIK, G. Automated image analysis as a control tool for multiple emulsions. *Food Hydrocolloids*. 2005, 19, 617–624.
  175. SCHLAG, S., NERZ, C., BIRKENSTOCK, T. A., ALTENBEREND, F., and GÖTZ, F. Inhibition of Staphylococcal Biofilm Formation by Nitrite. *Journal of bacteriology*. 2007, 189 (21), 7911–7919.
  176. SCHMIDT, T., DOBLER, D., NISSING, C., and RUNKEL, F. Influence of hydrophilic surfactants on the properties of multiple W/O/W emulsions. *Journal of Colloid and Interface Science*. 2009, 338 (1), 184–192.
  177. SCHROËN, K., and BERTON-CARABIN, C. C. Chapter 8 Emulsification: Established and Future Technologies H. G. Merkus, G. M. H. Meesters (eds.), Production, Handling and Characterization of Particulate Materials, Particle Technology Series 25, DOI 10.1007/978-3-319-20949-4\_8 Springer International Publishing Switzerland, 2016.
  178. SCHROËN, K., BLIZNYUK, O., MUIJLWIJK, K., SAHIN, S., and BERTON-CARABIN, C. C. Microfluidic emulsification devices: From micrometer insights to large-scale food emulsion production. *Current Opinion in Food Science*. 2015, 3, 33–40.
  179. SCHUCH, A., HELFENRITTER, C., FUNCK, M., and SCHUCHMANN, H. P. Observations on the influence of different biopolymers on coalescence of inner water droplets in W/O/W (water-in-oil-in-water) double emulsions *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 2015, 475, 2–8.
  180. SCHUCH, A., WRENGER, J., and SCHUCHMANN, H. P. (2014). Production of W/O/W double emulsions. Part II: Influence of emulsification device on release of water by coalescence. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 2014, 461, 344–351.
  181. SEBRANEK, J. G., and BACUS, J. N. Cured meat products without direct addition of nitrate or nitrite: what are the issues? *Meat Science*. 2007, 77, 136–147.

182. SEBRANEK, J. G., JACKSON-DAVIS, A., MYERS, K. L., and LAVIERI, N. A. Beyond celery and starter culture: advantages in natural/organic curing processes in the United States. *Meat Science*. 2012, 92, 267–273.
183. SERDAROĞLU, M., ÖZTÜRK, B., and URGU, M. Emulsion characteristics, chemical and textural properties of meat systems produced with double emulsions as beef fat replacers. *Meat Science*. 2016, 117, 187–195.
184. SERRIEN, G., GEERAERTS, G., GHOSH, L., and JOOS, P. Dynamic surface properties of adsorbed protein solutions: BSA, casein and buttermilk. *Colloids and Surfaces*. 1992, 68, 219–233.
185. SHALABY, A. R. Significance of biogenic amines to food safety and human health. *Food Research International*. 1996, 29, 675–690.
186. SINDELAR, J. J., CORDRAY, J. C., SEBRANEK, J. G., LOVE, J. A., AHN, D. U. Effects of Vegetable Juice Powder Concentration and Storage Time on Some Chemical and Sensory Quality Attributes of Uncured, Emulsified Cooked Sausages. *Journal of Food Science*. 2007, 72 (5), 324–332.
187. SKIBSTED, L. H., MIKKELSEN, A., BERTELSEN, G. Lipid-derived off-flavors in meat, F. Shahidi (Ed.), *Flavour of meat and meat products* (2 nd ed.), Blackie Academic and Professional, London (1998), 217–256.
188. SU, J., FLANAGAN, J., HEMAR, Y., and SINGH, H. Synergistic effects of polyglycerol ester of polyricinoleic acid and sodium caseinate on the stabilisation of water–oil–water emulsions. *Food Hydrocolloids*. 2006, 20, 261–268.
189. SU, J., FLANAGAN, J., and SINGH, H. Improving encapsulation efficiency and stability of water-in-oil-in-water emulsions using a modified gum arabic (Acacia (sen) SUPER GUM™). *Food Hydrocolloids*. 2008, 22, 112–120.
190. SUN, Q., CHEN, Q., LI, F., ZHENG, D., KONG, B. Biogenic amine inhibition and quality protection of Harbin dry sausages by inoculation with *Staphylococcus xylosus* and *Lactobacillus plantarum*. *Food Control*. 2016, 68, 358–366.
191. SURH, J., VLADISAVLJEVIC, G. T., MUN, S., and MCCLEMENS, D. J. Influence of pH, emulsifier concentration, and homogenization condition on the production of stable oil-in-water emulsion droplets coated with fish gelatin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2007, 55, 175–184.
192. TALON, R., and LEROY, S. Diversity and safety hazards of bacteria involved in meat fermentation. *Meat Science*. 2011, 89, 303–309.
193. TALON, R., LEROY, S., and LEBERT, I. Microbial ecosystems of traditional fermented meat products: The importance of indigenous starters. *Meat Science*. 2007, 77, 55–62.
194. TALON, R., WALTER, D., CHARTIER, S., BARRIERE, C., and MONTEL, M. C. Effect of nitrate and incubation conditions on the production of catalase and nitrate reductase by staphylococci. *International Journal of Food Microbiology*. 1999, 52, 47–56.
195. TANG, J., FAUSTMAN, C., and HOAGLAND, T. A. Krzywicki Revisited: Equations for Spectrophotometric Determination of Myoglobin Redox Forms in Aqueous Meat Extracts. *Journal of food science*. 2004, 69 (9), 717–720.
196. TOLDRÁ, F., ARISTOY, M. C., and FLORES, M. Contribution of muscle aminopeptidases to flavor development in dry-cured ham. *Food Research International*. 2000, 33, 181–185.
197. TOMPKIN, R. B. (2005). Nitrite. In P. M. Davidson, J. N. Sofos, & A. L. Branen (Eds.), *Antimicrobials in food* (3rd ed.). Boca Raton, FL: CRC Press, Taylor & Frances Group.



198. TRICKER, A. R., and PREUSMANN, R. Influence of cysteine and nitrate on the endogenous formation of N-nitrosoamino acids. *Cancer Letters*. 1987, 34, 39–47.
199. TSOUKALAS, D. S., KATSANIDIS, S., and MARANTIDOU, J. G. Bloukas Effect of freeze-dried leek powder (FDLP) and nitrite level on processing and quality characteristics of fermented sausages. *Meat Science*. 2011, 87, 140–145.
200. UTRILLA, M. C., GARCÍA RUIZ, A., and SORIANO, A. Effect of partial reduction of pork meat on the physicochemical and sensory quality of dry ripened sausages: Development of a healthy venison salchichon. *Meat Science*. 2014, 98, 785–791.
201. VAN DER GRAAF, S., SCHROËN, C. G. P. H., BOOM, R. M. Preparation of double emulsions by membrane emulsification – a review. *Journal of Membrane Science*. 2005, 251, 7–15.
202. VAN DER ZWAN, E. A., SCHROËN, C. G. P. H., and BOOM, R. M. Pre-mix membrane emulsification by using a packed layer of glass beads. *AIChE Journal*. 2008, 54, 2190–2197.
203. VIRGILI, R., SACCANI, G., GABBA, L., TANJI, E., and SORESI BORDINI, C. Changes of free amino acids and biogenic amines during extended ageing of Italian dry-cured ham. *LWT – Food Science and Technology*. 2007, 40 (5), 871–878.
204. VLADISAVLJEVIĆ, G. T., SURH, J., and MCCLEMENTS, J. D. Effect of emulsifier type on droplet disruption in repeated Shirasu porous glass membrane homogenization. *Langmuir*. 2006, 22, 4526–4533.
205. VON ELBE, J. H., KLEMENT, J. T., AMUDSON, C. H., CASSENS, R. G. and LINDSAY, R. C. Evaluation of betalain pigments as sausage colorants. *Journal of Food Science*. 1974, 39, 128–132.
206. WALSTRA, P. (2003). Changes in dispersity. In P. Walstra (Ed.), *Physical Chemistry of Foods* (pp. 494–565). New York, USA: Marcel Dekker Inc.
207. WEISS, J., CANCELIERE, C., and MCCLEMENTS, D. J. Mass transport phenomena in oil-in-water emulsions containing surfactant micelles: Ostwald ripening. *Langmuir*. 2000, 16 (17), 6833–6838.
208. WEISS, J., GIBIS, M., SCHUH, V., and SALMINEN, H. Advances in ingredient and processing systems for meat and meat products. *Meat Science*. 2010, 86, 196–213.
209. WEISS, J., SCHERZE, I., and MUSCHIOLIK, G. Polysaccharide gel with multiple emulsions. *Food Hydrocolloids*. 2005, 19, 605–615.
210. WEN, L. X., and PAPADOPOULOS, K. D. Effects of surfactants on water transport in W1/O/W2 emulsions. *Langmuir*. 2000, 16 (29), 7612–7617.
211. WIRTH, F. Curing: color formation and color retention in frankfurter-type sausages. *Fleischwirtschaft*. 1986, 66, 354–358.
212. ZHOU, C., ZHANG, L., WANG, H., and CHEN, C. Effect of Amaranthus Pigments on Quality Characteristics of Pork Sausages. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*. 2012, 10, 1493–1498.
213. ZIELIŃSKA-PRZYJEMSKA, M., OLEJNIK, A., DOBROWOLSKA-ZACHWIEJA, A., and GRAJEK, W. In vitro effects of beetroot juice and chips on oxidative metabolism and apoptosis in neutrophils from obese individuals. *Phytotherapy Research*. 2009, 23 (1), 49–55.

# MOKSLINIŲ PUBLIKACIJŲ DISERTACIJOS TEMA SĄRAŠAS STRAIPSNIAI

## Mokslinės informacijos instituto (*Thomson Reuters Web of Science*) pagrindinio sąrašo leidiniuose

1. Jasutienė, I.; Vinauskienė, R.; Eisinaitytė, V. *Getrocknete Rohwurstsorten mit lyophilisierten Gemüsezusätzen*. Fleischwirtschaft, 2015, 95 (11), p. 120–125 (IF – 0,077).
2. Eisinaitytė, V.; Juraitė, D.; Schroën, K.; Leskauskaitė, D. *Preparation of stable food-grade double emulsions with a hybrid premix membrane emulsification system*. Food chemistry, 2016 (206), p. 59–66 (IF – 4,052).
3. Eisinaitytė, V.; Vinauskienė, R.; Viškelis, P.; Leskauskaitė, D. *Effects of freeze-dried vegetable products on the technological process and the quality of dry fermented sausages*. Journal of food science, 2016, 81 (9), p. 2175–2182 (IF – 1,649).
4. Eisinaitytė, V., Juraitė, D., Schroën, K., Leskauskaitė, D. *Food-grade double emulsions as effective fat replacers in meat systems*. Journal of food engineering, 2017, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.05.022> (IF – 3.199).

## Kitų tarptautinių duomenų bazių leidiniuose

### Tarptautinėse leidyklose

1. Eisinaitytė, V.; Vinauskienė, R.; Jasutienė, I.; Leskauskaitė, D. *Effect of freeze-dried celery products on the glutamic acid content in model meat systems under different ripening conditions*. International proceedings of chemical, biological and environmental engineering: Nutrition and food sciences III: 3rd International conference on nutrition and food sciences IPCBEE, 2014, 71, p. 77–81.

### Nacionalinėse leidyklose

1. Vinauskienė, R.; Eisinaitytė, V.; Jasutienė, I.; Leskauskaitė, D. *Mėsos gaminių su liofilizuotų daržovių priedu sudėtis ir technologinės charakteristikos*. Maisto chemija ir technologija = Food chemistry and technology = Химия и технология пищи. KTU Maisto institutas, 2014, T. 48 (1), p. 78–86.
2. Eisinaitytė, V. *Dvigubų emulsijų charakteristika ir jų potencialaus panaudojimo galimybės*. Maisto chemija ir technologija = Food chemistry and technology = Химия и технология пищи. KTU Maisto institutas, 2015, 49 (2), p. 5–12.

## Konferencijų pranešimų medžiagoje paskelbti straipsniai

### Tarptautinės konferencijos

1. Eisinaitytė, V.; Vinauskienė, R.; Jasutienė, I.; Leskauskaitė, D. *Influence of the lyophilised vegetable additive on the functional properties of meat products // Foodbalt - 2014 : 9th Baltic conference on food science and technology "Food for consumer well-being", May 8–9, 2014, Jelgava, Latvia : abstract book / Latvia University of Agriculture. Jelgava: Latvia University of Agriculture, 2014. ISSN 2255-9809. 2014, p. 39.*

2. Eisinaite, V.; Jasutienė, I.; Vinauskienė, R.; Šipailienė, A. *Fermentation of freeze-dried parsnip and leek by Staphylococcus xylosum and Staphylococcus carnosus* // Foodbalt - 2015 [elektroninis išteklius] : 10th Baltic conference on food science and technology "Future food: innovations, science and technology", May 21–22, 2015, Kaunas, Lithuania : abstract book / Kaunas University of Technology. Department of food science and technology. Kaunas: KTU, 2015, ISBN 9786090211380. p. 30.
3. Jūraitė, D.; Eisinaite, V.; Vinauskienė, R.; Leskauskaitė, D. *Double W/O/W emulsions stabilized by biopolymers for meat systems* // Foodbalt - 2015 [elektroninis išteklius] : 10th Baltic conference on food science and technology "Future food: innovations, science and technology", May 21–22, 2015, Kaunas, Lithuania : abstract book / Kaunas University of Technology. Department of food science and technology. Kaunas: KTU, 2015, ISBN 9786090211380. p. 34
4. Eisinaite, V.; Vinauskienė, R. *Effect of starter cultures and freeze-dried parsnip on the meat fermentation process* // ICoMST 2015 [elektroninis išteklius] : 61st International congress of meat science and technology, August 23–28, 2015, Clermont-Ferrand, France. Clermont-Ferrand: ICoMST, 2015. p. 1–4.
5. Eisinaite, V., Juraite, D., Schroën, K.; Leskauskaitė, D. *Double emulsions W/O/W with encapsulated beetroot juice as effective colour enhancers in meat systems* // 4<sup>th</sup> International ISEKI Food Conference "Responsible Research and Innovation in the Food Value Chain", July 6–8, 2016, Vienna, Austria. ISEKI-Food Association, Vienna 2016, abstract book.

#### **Nacionalinės konferencijos**

1. Eisinaite, V.; Vinauskienė, R.; Jasutienė, I.; Miliauskienė, I. Mėsos gaminių su daržovių priedu pokyčiai fermentacijos metu // Nuo lauko iki stalo – inovatyvūs maisto ir technologijų sprendimai : konferencijos pranešimų medžiaga, Kaunas, 2015 m. spalio 16 d. / Kauno technologijos universitetas. Maisto institutas, Lietuvos mokslų akademija. Žemės ūkio ir miškų mokslų skyrius. Kaunas: KTU Maisto institutas, 2015, ISBN 9789955675051. p. 14–15.
2. Eisinaite, V.; Jūraitė, D. Dvigubos V/A/V emulsijos su įkapsuliuotomis burokėlių sultimis ir potencialus jų panaudojimas / autoriai: Viktorija Eisinaite, Dovilė Jūraitė; vadovės: Daiva Leskauskaitė, Karin Schroën // Technorama 2016: jaunųjų mokslininkų darbų katalogas: nuo idėjos iki sprendimo. [Kaunas]: [Kauno technologijos universitetas], 2016. p. 154–155.

#### **KITOS PUBLIKACIJOS**

1. Lamanaukas, N.; Eisinaite, V.; Sakalauskaitė, J.; Viškelis, J.; Dambrauskienė, E.; Viškelis, P. *Drying methods and their implication on quality of some medical plants* // Planta medica [elektroninis šaltinis] : 62nd International congress and annual meeting of the Society for Medicinal Plant and Natural Product Research, Guimaraes, Portugal, 31. August – 4. September 2014 : book of abstracts / Editors: Alberto Dias, Paulo Silva. Stuttgart: George Thieme Verlag.
2. Eisinaite, V.; Vinauskienė, R.; Jasutienė, I. *Topinambour in minced meat products* // IUFoST : 17th World congress of food science and technology and expo, August 17–21, 2014, Montreal, Canada: book of abstracts. [S.l.: s.n.,

2014]. UP320. Prieiga per internetą: <http://iufost2014.org/files/book-of-abstracts.pdf>.

SL344. 2017-09-21, 14,75 leidyb. apsk. I. Tiražas 12 egz. Užsakymas 294 .  
Išleido Kauno technologijos universitetas, K. Donelaičio g. 73, 44249 Kaunas  
Spausdino leidyklos „Technologija“ spaustuvė, Studentų g. 54, 51424 Kaunas

## PRIEDAS

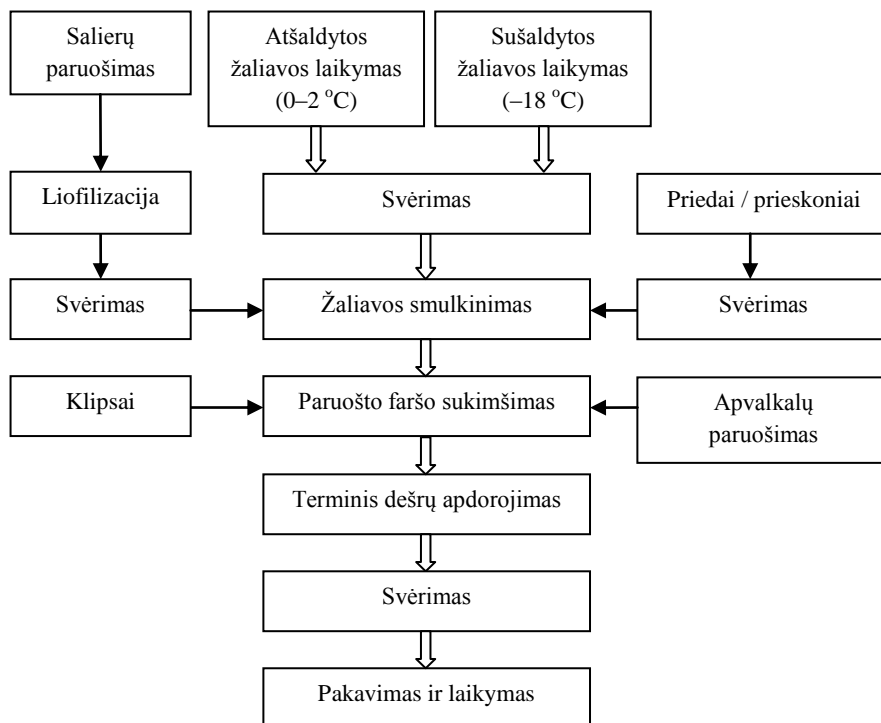
### Prototipinė šaltai rūkytų dešrų su liofilizuotais salierais gamybos technologija

Šaltai rūkytos dešros su liofilizuotais salierais bus gaminamos pagal receptūrą, pateiktą 1 lent.

1 lentelė. Šaltai rūkytų dešrų su liofilizuotais salierais receptūra

Sudėtinės dalys	Kiaulienos nugarinė	Lašiniai	Liofilizuotų salierų milteliai	Valgomoji druska	Malti juodieji pipirai	<i>S. xylosus</i> ir <i>P. pentosaceus</i>
Kiekis, %	77,42	20	2,58	2,7	0,02	0,0125

Technologinis gamybos srautas ir visi jį sudarantys etapai pateikiami toliau.



#### Liofilizuotų daržovių paruošimas ir liofilizacija

Daržovės kruopščiai nuplaunamos, supjaustomos kubeliais ir sušaldomos iki  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$  temperatūros, o vėliau liofilizuojamos mažinant slėgį nuo 0,2 iki 0,01 mbar, atitinkamai didinant lėkštės temperatūrą nuo 20 iki  $35\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Bendra liofilizacijos trukmė  $\sim 48$  h. Liofilizuotos daržovės susmulkinamos ir persijojamos per 2 mm skersmens akučių sietą.

#### Žaliavos smulkinimas ir sumaišymas su priedais

Šaltai rūkytų dešrų faršui paruošti naudojamas atšaldytas kiaulienos kumpis ir sušaldyti kiaulienos nugaros lašiniai. Įdedamų liofilizuotų salierų kiekis

apskaičiuojamas remiantis tuo, kad į mėsos faršą negali būti įdėta daugiau kaip 150 mg/kg nitratų. Fermentacijai ir brandinimo procesui kontroliuoti naudojamas startinių kultūrų mišinys (*S. xylosus* ir *P. pentosaceus*), kurio įdėjimo norma 25 g/200 kg.

Visų pirma atšaldyta (0–2 °C) liesa žaliava smulkinama lėkštės ir peilių apsisukimų greičiui esant atitinkamai 12 aps./min ir 1500 aps./min. Tada susmulkinta liesa mėsa sumaišoma su priedais, prieskoniais, startinėmis kultūromis ir liofilizuotais salierais, galiausiai įdedami sušaldyti kiaulienos lašiniai. Tokia žaliavų sudėjimo seka užtikrina, kad bus gauti reikiamo smulkumo lašinių kubeliai, kurie pasiskirsto mėsos farše ir suteikia struktūrą, būdingą šaltai rūkytoms dešroms. Malimo ir maišymo metu neleidžiama faršo masės temperatūrai pakilti aukščiau 10 °C.

#### *Paruošto faršo sukimšimas*

Prieš kemšant faršą baltyminiai apvalkalai 5–10 min mirkomi šiltame vandenyje. Paruoštas faršas vakuuminio kimštuvu sukemšamas į 36 mm skersmens ir 120 mm ilgio drėgmei ir rūkymo metu išsiskiriančioms medžiagoms pralaidžius baltyminius apvalkalus. Suformuotos dešros sukabinamos ant rėmų, pasveriamos ir nustumiamos į termokamerą.

#### *Terminis dešrų apdorojimas*

Suformuotos dešros 14 parų termiškai apdorojamos termokameroje. Technologinis procesas pradedamas esant 24 °C temperatūrai ir 92 % santykiniam drėgmeniui, šie parametrai laipsniškai mažinami ir technologinio proceso pabaigoje būna 15 °C temperatūra ir 76 % santykinis drėgnis. Parinktos technologinio proceso sąlygos optimalios pridėtinių startinių kultūrų veiklai. Dešros po 96 technologinio proceso valandų apdorojamos šaltu dūmu. Po terminio apdorojimo dešros pasveriamos ir įvertinama jų išėiga.

#### *Pakavimas ir laikymas*

Paruoštos dešros pakuojamos į modifikuotą dujų atmosferą naudojant apsaugines dujas. Dujų mišinio sudėtis 30 % CO<sub>2</sub> ir 70 % N<sub>2</sub>. Tokie gaminiai gali būti laikomi 0–15 °C temperatūroje iki ~60 parų.