



**KAUNO TECHNOLOGIJOS UNIVERSITETAS
CHEMINĖS TECHNOLOGIJOS FAKULTETAS**

Rūta Vaicekauskaitė

**ARONIJŲ (*ARONIA MELANOCARPA*) UOGŲ IŠSPAUDŲ
EKSTRAKTŲ PRITAIKYMAS MĖSOS GAMINIŲ KOKYBEI
PAGERINTI**

Baigiamasis magistro projektas

Vadovas

Prof. dr. Petras Rimantas Venskutonis

KAUNAS, 2018

KAUNO TECHNOLOGIJOS UNIVERSITETAS
CHEMINĖS TECHNOLOGIJOS FAKULTETAS

**ARONIJŲ (*ARONIA MELANOCARPA*) UOGŲ IŠSPAUDŲ
EKSTRAKTŲ PRITAIKYMAS MĖSOS GAMINIŲ KOKYBEI
PAGERINTI**

Baigiamasis magistro projektas
Maisto mokslas ir sauga (kodas 621E40001)

Vadovas

(parašas) Prof. dr. Petras Rimantas Venskutonis
(data)

Recenzentė

(parašas) Doc. dr. Rimantė Vinauskienė
(data)

Projektą atliko

(parašas) Rūta Vaicekauskaitė
(data)



KAUNO TECHNOLOGIJOS UNIVERSITETAS

Cheminės technologijos fakultetas

(Fakultetas)

Rūta Vaicekauskaitė

(Studento vardas, pavardė)

Maisto mokslas ir sauga, 621E4001

(Studijų programos pavadinimas, kodas)

„Baigiamojo projekto pavadinimas“

AKADEMINIO SAŽININGUMO DEKLARACIJA

2018 m. birželio 04 d.
Kaunas

Patvirtinu, kad mano, **Rūtos Vaicekauskaitės**, baigiamasis projektas tema „Aronijų (*Aronia melanocarpa*) uogų išspaudų ekstraktų pritaikymas mėsos gaminių kokybei pagerinti“ yra parašytas visiškai savarankiškai ir visi pateikti duomenys ar tyrimų rezultatai yra teisingi ir gauti sąžiningai. Šiame darbe nei viena dalis nėra plagijuota nuo jokių spausdintinių ar internetinių šaltinių, visos kitų šaltinių tiesioginės ir netiesioginės citatos nurodytos literatūros nuorodose. Įstatymų nenumatytų piniginių sumų už šį darbą niekam nesu mokėjęs.

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

Vaicekauskaitė, Rūta. Aronijų (*Aronia melanocarpa*) uogų išspaudų ekstraktų pritaikymas mėsos gaminių kokybei pagerinti. *Magistro* baigiamasis projektas / vadovas prof. dr. Petras Rimantas Venskutonis; Kauno technologijos universitetas, Cheminės technologijos fakultetas.

Mokslo kryptis ir sritis: Technologijos mokslai, Maisto technologijos

Reikšminiai žodžiai: juodavaisė aronija, *aronia melanocarpa*, mėsa, *Listeria monocytogenes*, *Brochothrix thermosphacta*.

Kaunas, 2018. 86 p.

SANTRAUKA

2015 metais Pasaulinei Sveikatos organizacijai (*World Health Organization*) perdirbtus mėsos gaminius priskyrus prie kancerogeniškų žmogui medžiagų grupės ir augant vartotojų nerimui dėl nenatūralių maistinių priedų sukeltos žalos neurologiniams procesams, ypač augantiems vaikams, mokslininkai ir technologai pramonėje skiria didelį dėmesį natūralių pakaitalų, tarp jų ir uogų ekstraktų, paieškai.

Juodavaisių aronijų (*Aronia melanocarpa*) uogos laikomos vienu iš gausiausių antocianinų ir proantocianidinų šaltinių. Šie polifenoliniai junginiai pasižymi stipriu antioksidaciniu aktyvumu, intensyvia spalva (antocianinai yra pigmentas) ir galimai bakteriostatišku poveikiu. Apie juodavaisių aronijų išspaudų ekstraktų antioksidacines savybes ir apie juose esančius aktyvius junginius randama informacijos straipsniuose bei literatūroje, todėl šio tyrimo metu didesnis dėmesys buvo skiriamas antimikrobinių savybių ir poveikiui mėsos gaminių kokybės rodikliams įvertinti.

Gauti tyrimų rezultatai parodė, *Aronia melanocarpa* etanolinio ekstrakto poveikis *Listeria monocytogenes*, *Brochothrix thermosphacta* ir *Pseudomonas putida* bakterijų augimui kiaulienos mėsauiuose buvo bakteriostatiškas viso tyrimo metu, o pienarūgštėms ir aerobinėms mezofilinėms bakterijoms – nuo 7 tyrimo dienos. Tyrimų metu taip pat nustatyta, kad *Aronia melanocarpa* etanolinis ekstraktas patogenines *Listeria monocytogenes* bakterijas termiškai apdorotame kumpyje veikė bakteriostatiskai iki 15 tyrimo dienos ir prailgino bakterijų prisitaikymo (lag) fazę 1 savaite. Aerobinėms mezofilinėms bakterijoms bakteriostatinis poveikis buvo iki 34 tyrimo dienos – didžiausias bakterijų skirtumas tiriamajame ir kontroliniame mikroorganizmų mėginyje buvo užfiksuotas 22 tyrimo dieną – lg 2,92 ksv/g. Remiantis gautais rezultatais, galima teigti, kad aronijų išspaudų etanolinio ekstrakto 2% koncentracijos priedas kiaulienos mėsauiuose bei termiškai apdorotame kumpyje turi bakteriostatiską poveikį visoms tirtoms bakterijoms ir gali prailginti mėsauių galiojimo laiką 5 dienomis bei taip pagerinti mėsos pusgaminių ir gaminių saugą.

Vaicekauskaitė, Rūta. *Adaptation of the Extracts of Black Chokeberry (Aronia melanocarpa) Berries to Improve the Quality of meat products: Master's thesis in Food Science and Safety* / supervisor assoc. prof. dr. Petras Rimantas Venskutonis. The Faculty of Chemical Technology, Kaunas University of Technology.

Research area and field: Technological Sciences, Food Technology

Key words: Black chokeberry, *aronia melanocarpa*, meat, *Listeria monocytogenes*, *Brochothrix thermosphacta*, antimicrobial properties.

Kaunas, 2018. 86 p.

SUMMARY

In 2015s World Health Organization declared that products of processed meat are carcinogenic. As growing concern of consumers about the damage caused by unnatural nutritional supplements to neurological processes, especially for growing children, scientists and technologists in the industry place great emphasis on natural substitutes, including the research of berries extracts.

Black chokeberries are considered one of the most abundant sources of anthocyanins and proanthocyanidins. These polyphenolic compounds exhibit strong antioxidant activity, intense coloration (anthocyanins are pigments) and potentially bacteriostatic effects. There are a lot information about the antioxidant properties of extracts of black currant extracts and their active compounds in the literature and articles, and because of it , more attention in this study was paid to assessing the quality of antimicrobial properties and the effect it has on quality of meat products.

The results of the research showed that the effect of ethanolic extract of black chokeberries on the growth of *Listeria monocytogenes*, *Brochothrix thermosphacta* and *Pseudomonas putida* bacteria in pork burgers was bacteriostatic during all studies and for lactic acid and aortic mesophilic bacterias from day 7 of the study. The study also found that the effect of ethanolic extract of *Aronia melanocarpa* was bacteriostatic to pathogenic *Listeria monocytogenes* bacteria in a heat-treated ham till day 15 and prolonged the lag phase for 1 week. The effect of berries was bacteriostatic to aerobic mesophilic bacteria was till 34 day - the highest bacterial difference in the control and control sample of microorganisms was observed on the 22 day of study - Ig 2.92 cfu / g. Based on the results obtained, it can be argued that the additive of 2% black chokeberry extract in pork burgers and heat-treated ham has a bacteriostatic effect on all tested bacteria and can extend the shelf life for 5 days for burgers and thus improve the safety of meat preparations and products.

TURINYS

SANTRUMPŲ SĄRAŠAS.....	8
IŽANGA.....	9
1. LITERATŪROS APŽVALGA	11
1.1 Juodavaisės aronijos	11
1.2 Juodavaisių aronijų poveikis sveikatai	14
1.3 Ekstrakcijos būdai.....	15
1.3.1 Ekstrakcija superkritiniais skysčiais (angl. Supercritical Fluid Extraction SFE)	15
1.3.2 Ekstrakcija suspaustais tirpikliais (angl. Pressurized liquid extraction – PLE)	16
1.3.3 Ekstrakcija Soksleto aparatu	17
1.4 Mėsos suvartojimas ir gaminių kokybę mažinantys veiksniai	17
1.5 Mėsos mikrobiologinis gedimas	18
1.5.1 Pieno rūgšties bakterijos	19
1.5.2 Natūraliai mėsoje gedimą sukeliančios bakterijos	21
1.5.3 Patogeninės bakterijos	21
1.6 Mėsos gedimas dėl oksidacijos.....	22
1.6.1 Riebalų oksidacija	23
1.6.2 Mėsos baltymų oksidacija	24
1.6.3 Oksidacijos sukiamas spalvos pokytis mėsoje.....	25
2. TYRIMO METODIKA IR METODAI.....	28
2.1 Tyrimo objektas.....	28
2.2 Tyrime naudotos medžiagos.....	28
2.3 Naudoti ekstrakcijos būdai.....	28
2.3.1 Ekstrakcija Soksleto aparatu riebalų kiekiui nustatyti.....	28
2.3.2 Ekstrakcija superkritiniais skysčiais (angl. Supercritical Fluid Extraction -SFE).....	29
2.3.3 Ekstrakcija suspaustais tirpikliais (angl. Pressurized liquid extraction – PLE)	29
2.4 Mikroorganizmai ir mitybinės terpė	30
2.5 Mikrobiologiniai tyrimai naudojant mikrolėkštelę	32
2.6 Mikrobiologiniai tyrimai taikant terminį etanolinio ekstrakto apdorojimą.....	33
2.7 Mikrobiologiniai tyrimai su mėsos ištrauka	33
2.8 Mikrobiologiniai tyrimai su kaulienos mėsiniais iš žalios mėsos	35
2.9 Mikrobiologiniai termiškai apdoroto kumpio tyrimai.....	37
2.10 Juslinė žalios mėsos burgerių ir termiškai apdoroto kumpio analizė	40
2.11 Dujų sudėties, vandens aktyvumo ir pH analizė.....	41
2.12 Drėgmės nustatymas.....	41
2.13 Baltymų kiekio nustatymas	42
2.14 Instrumentinis spalvos įvertinimas	42
2.15 Metmioglobino kiekio nustatymas.....	43
2.16 Su tiobarbitūro rūgštimi (TBARS) reaguojančių medžiagų kiekio nustatymas.....	44
2.17 Statistinė analizė.....	44
3. TYRIMŲ REZULTATAI IR DISKUSIJA	45
3.1 Juodavaisių aronijų išspaudų ekstraktų išėigos.....	45
3.2 Aronijų išspaudų ekstrakto antimikrobinės savybės	45
3.2.1 Ekstraktų poveikis <i>Listeria monocytogenes</i> bakterijų augimui	45

3.2.2	Ekstraktų poveikis <i>Campylobacter jejuni</i> bakterijų augimui.....	47
3.2.3	Ekstraktų poveikis <i>Brochothrix thermosphacta</i> ir <i>Pseudomonas putida</i> bakterijų augimui..	48
3.2.4	Ekstraktų poveikis <i>Weissella viridescens</i> ir <i>Leuconostoc mesenteroides</i> pieno rūgšties bakterijos	50
3.3	Mikrobiologinis tyrimas su termiškai apdorotu etanoliniu aronijų išspaudų ekstraktu	52
3.4	Ekstrakto įtaka bakterijų augimui mėsos ištraukoje.....	53
3.4.1	Ekstraktų poveikis <i>Listeria monocytogenes</i> bakterijų augimui mėsos ištraukoje.....	53
3.4.2	Ekstraktų poveikis <i>Brochothrix thermosphacta</i> bakterijų augimui mėsos ištraukoje.....	54
3.4.3	Ekstraktų poveikis <i>Pseudomonas putida</i> bakterijų augimui mėsos ištraukoje.....	55
3.4.4	Ekstraktų poveikis aerobinių mezofilinių bakterijų augimui mėsos ištraukoje.....	56
3.5	Aronijų išspaudų ekstrakto įtaka bakterijų augimui kiaulienos mėsainiuose.....	57
3.5.1	Ekstrakto poveikis <i>Listeria monocytogenes</i> bakterijų augimui kiaulienos mėsainiuose.....	57
3.5.2	Ekstrakto poveikis <i>Brochothrix thermosphacta</i> bakterijų augimui kiaulienos mėsainiuose.....	58
3.5.3	Ekstrakto poveikis <i>Pseudomonas putida</i> bakterijų augimui kiaulienos mėsainiuose.....	59
3.5.4	Ekstrakto poveikis pienarūgščių bakterijų augimui kiaulienos mėsainiuose.....	60
3.5.5	Ekstrakto poveikis aerobinių mezofilinių bakterijų augimui kiaulienos mėsainiuose.....	60
3.5.6	Fizikocheminiai kiaulienos mėsainių rodikliai	61
3.5.7	Juslinė kiaulienos mėsainių analizė	64
3.6	Aronijų išspaudų ekstrakto įtaka bakterijų augimui kiaulienos kumpyje	68
3.6.1	Ekstrakto poveikis <i>Listeria monocytogenes</i> bakterijų augimui kiaulienos kumpyje.....	68
3.7	Pienarūgščių bakterijų augimo tyrimas kiaulienos kumpyje	69
3.7.1	Aerobinių mezofilinių bakterijų augimo tyrimas kiaulienos kumpyje	70
3.7.2	Fizikocheminiai termiškai apdoroto kumpio rodikliai	71
3.7.3	Juslinė termiškai apdoroto kumpio analizė	73
4.	IŠVADOS	78
5.	BIBLIOGRAFINIŲ NUORODŲ SĄRAŠAS.....	80

PRIEDAI

SANTRUMPŲ SĄRAŠAS

KSV – kolonijas sudarantys vienetai

EE – etanolinis ekstraktas

VE – vandeninis ekstraktas

L. monocytogenes – *Listeria monocytogenes*

P. putida – *Pseudomonas putida*

B. thermosphacta – *Brochothrix thermosphacta*

C. jejuni – *Campylobacter jejuni*

Lc. mesenteroides – *Leuconostoc mesenteroides*

W. viridescens – *Weisella viridescens*

IŽANGA

2015 metais Pasaulinė Sveikatos organizacija (*World Health Organization*) perdirbtus mėsos gaminius priskyrė prie kancerogeniškų žmogui medžiagų grupės. Apie kancerogeniškus junginius, susidarančius apdorojant mėsą aukštoje temperatūroje žinoma gana seniai (nuo 1975 m.), tačiau šis oficialus priskyrimas paskatino daryti naujus bandymus ieškant natūralių priedų galinčių sumažinti perdirbtos mėsos kancerogeninį poveikį. Pagrindinės priežastys, kodėl perdirbti mėsos gaminiai yra laikomi kancerogeniškais – N-nitrozoaminų susidarymas gamybos metu receptūroje naudojant nitritus bei taikant aukštą temperatūrą technologinio apdorojimo metu bei policikliniai aromatiniai angliavandeniliai, susidarantys rūkymo bei terminio apdorojimo metu (1, 2). Kai kurie heterocikliški aminai, susidarantys mėsoje terminio apdorojimo metu taip pat priskiriami kancerogeniškiems junginiams (1).

Natrio nitritas naudojamas perdirbtų mėsos gaminių receptūroje dėl savo skonio, spalvos stabilizavimo savybių ir antibakterinio aktyvumo savybių (3). Technologai ir mokslininkai, siekdami sukurti sveikesnius produktus, ieško natūralių priedų, kurie galėtų atlikti analogiškas nitritui funkcijas. Šiame darbe tikrinama hipotezė, kad juodavaisių aronijų (*Aronia melanocarpa*) išspaudų ekstraktas, kuriame yra daug polifenolinių antioksidantų, galėtų būti mėsos saugą ir kokybę pagerinančiu natūraliu priedu. Juodavaisių aronijų uogos laikomos vienu iš gausiausių antocianinų ir proantocianidinų šaltinių. Šie polifenoliniai junginiai pasižymi stipriu antioksidaciniu aktyvumu (4), intensyvia spalva (antocianinai yra pigmentas) ir galimai bakteriostatišku poveikiu. Apie juodavaisių aronijų išspaudų ekstraktų antioksidacines savybes (4) ir apie juose esančius aktyvius junginius (5) randama informacijos straipsniuose bei literatūroje, todėl šio tyrimo metu didesnis dėmesys buvo skiriamas antimikrobinių savybių ir poveikiui mėsos gaminių kokybės rodikliams įvertinti.

Šio darbo tikslas – įvertinti juodavaisių aronijų išspaudų ekstraktų (vandeninio ir etanolinio) pritaikymo galimybes mėsos gaminiams, siekiant pagerinti jų saugą ir kokybę.

Šio darbo uždaviniai:

1. Ištirti aronijų išspaudų vandeninio ir etanolinio ekstraktų antimikrobines savybes prieš *Leuconostoc mesenteroides*, *Weissella viridescens*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas putida*, *Brochothrix thermosphacta*, *Campylobacter jejuni* bakterijas.
2. Ištirti terminio apdorojimo poveikį aronijų išspaudų ekstrakto antimikrobinėms savybėms prieš *Listeria monocytogenes*.

3. Ištirti *Aronia melanocarpa* etanolinio ekstrakto poveikį *Listeria monocytogenes*, *Brochotrix thermospacta*, *Pseudomonas putida* ir aerobinių mezofilinių bakterijų augimui mėsos ištraukoje.
4. Ištirti *Aronia melanocarpa* etanolinio ekstrakto poveikį *Listeria monocytogenes*, *Brochotrix thermospacta*, *Pseudomonas putida*, pienarūgščių ir aerobinių mezofilinių bakterijų augimui kiaulienos mėsainiuose.
5. Ištirti *Aronia melanocarpa* etanolinio ekstrakto poveikį *Listeria monocytogenes*, pienarūgščių ir aerobinių mezofilinių bakterijų augimui termiškai apdorotame kiaulienos kumpyje.

LITERATŪROS APŽVALGA

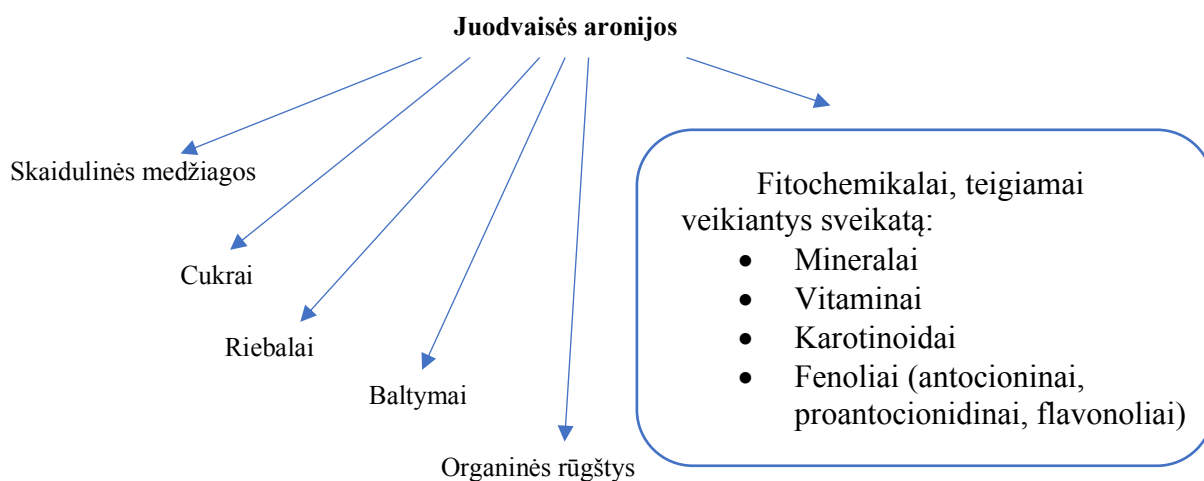
1.1 Juodavaisės aronijos

Juodavaisės aronijos (lot. *Aronia melanocarpa*, angl. *Black chokeberry*) yra iki 3 metrų užaugantis daugiamejis krūmas, priklausantis erškėtinių augalų šeimai (*Rosaceae*) (6). Tai šviesą mėgstantis, šalčiui atsparus, dirvai nereiklus krūmas. Lapai – elipsės formos su trumpa, smailia viršūnėle, kuriuose gausu antocianinų. Žiedai dvilyčiai, skėčio pavidalo žiedynuose. Atskiri žiedai yra apie 1–1,5 cm skersmens. Vaisiai sunoksta rugpjūčio – rugsėjo mėnesį, yra beveik rutuliški arba šiek tiek pailgi, juodos ar juodai purpurinės spalvos su melsvu apnašu. Minkštumas rausvas, rūgštaus bei kartaus skonio, dėl kurio greičiausiai ir gavo savo pavadinimą (angl. *choke* – užspringti, paspringti) (7). Kiekvienoje uogoje būna apie penkias smulkias, pailgas ir rusvas sėklas. Šis augalas buvo išvestas Šiaurės Amerikoje (6).



1 pav. Juodavaisės aronijos

Veikliosios medžiagos uogose, jų panaudojimas. Juodavaisėse aronijose yra daug skirtingų maistinių cheminių medžiagų: baltymų (iki 0,7 g/100 g šviežių uogų (ŠU)) (8), ląstelienos (iki 5,62 g/100 g ŠU), cukrų nuo 16 iki 18% ŠU, riebalų (iki 0,14 g/100 g ŠU), organinių rūgščių (1–1,5%), mineralinių medžiagų (iki 440 mg/100 g), vitaminų (B₁, B₂, B₆, C, niacino, pantoteno rūgšties) ir kitų fitochemikalų (karotinoidų ir polifenolinių junginių: antocianinų, proantocionidinų ir flavonolių (9)). Cheminės medžiagų sudėties duomenys apibendrinti 2 pav. ir 1 lentelėje.



2 pav. Cheminės medžiagos, esančios juodvaisėse aronijose

1 lentelė. Šviežių aronijų uogų cheminė sudėtis

Medžiaga	Kiekis šviežiose uogose
Gliukozė ir fruktozė	66–176 g/kg
Skaidulinės medžiagos	56 g/kg
Riebalai	0,14%
Proteinai	0,7%
Vitaminas C	13–270 mg/kg
Vitaminas B ₁	180 µg/kg
Vitaminas B ₂	200 µg/kg
Vitaminas B ₆	280 µg/kg
Niacinas (vitaminas B ₃)	3000 µg/kg
Pantoteno rūgštis (vitaminas B ₅)	2790 µg/kg
Tokoferoliai	17,1 mg/kg
Vitaminas K	242 µg/kg
Karotinoidai	48,6 mg/kg
Natris	26 mg/kg

Medžiaga	Kiekis šviežiose uogose
Kalis	2180 mg/kg
Kalcis	322 mg/kg
Magnis	162 mg/kg
Geležis	9,3 mg/kg
Cinkas	1,47 mg/kg
Citrinos rūgštis	2,1 g/kg
Polifenoliai junginiai	2010–6902 mg/g

Juodavaisėse aronijose yra didelis kiekis sveikatai svarbių polifenolių: antocianinų ir proantocionidinų (10). Jie rekomenduojami mityboje, kaip apsauga nuo didelio tankio lipoproteinų oksidacijos, kurie perneša cholesterolį iš audinių į kepenis, o maisto pramonėje jie galėtų būti pritaikyti, siekiant apsaugoti produktus nuo oksidacijos bei norint padidinti jų mitybinę vertę.

Antocianinai – vandenyje tirpūs pigmentai, kurie, priklausomai nuo pH vertės, gali būti raudoni, violetiniai arba mėlyni. Jie priklauso fenolinių junginių grupei, augaluose dažniausiai būna gliukozidų pavidalu. Nustatyta, kad antocianinai apsaugo nuo nutukimo, diabeto, širdies kraujagyslių ligų bei gerina kognityvines funkcijas – gebėjimą gauti, įvertinti, įsisavinti ir atkurti tam tikrą informaciją (11). Toks poveikis iš dalies siejamas su antocianinų dideliu antioksidaciniu pajėgumu, o jų poveikį galima tiksliau nusakyti nagrinėjant molekulinis mechanizmus, tokius kaip: laisvųjų radikalų inaktyvavimas, radikalų susidarymo procesų ir peroksidacinių fermentų slopinimas, antioksidacinių fermentų aktyvacija (12).

Proantocianidinais buvo plačiai tirti dėl jų teigiamo poveikio širdies ir kraujagyslių ligoms. Nustatyta, kad reguliariai saikingai vartojant daug proantocianidinų turinčių maisto produktų, tokių kaip raudonasis vynas ir kakava (šokoladas), sumažėja kraujo spaudimas ir atsparumas insulinui (13). Aronijos ekstraktas yra tamsiai raudonos-violetinės spalvos, kai pH būna iki 3,2 ir yra natūrali alternatyva sintetiniams dažikliams. Esantis vartotojų nerimas dėl nenatūralių maistinių priedų sukeltos žalos neurologiniams procesams, ypač augantiems vaikams, skatina maisto pramonę ieškoti natūralių pakaitalų (14), tarp jų ir uogų ekstraktų. Dėl juodavaisių aronijų suteikiamos spalvos ir antioksidacinių savybių jos plačiai naudojamos vyno, džiovintų žolelių arbatų, jogurtų bei sulčių kokteilių gamyboje.

1.2 Juodavaisių aronijų poveikis sveikatai

Kaip jau minėta, *Aronia melanocarpa* (juodavaisės aronijos) uogos yra didžiausias fenolinių junginių šaltinis, ypač anticianinų (15). Yra paskelbta nemažai tyrimų, įrodančių, kad aronijų vartojimas gali turėti teigiamą antikancerogeninį, antimutageninį, priešuždegiminį, antioksidacinį, antimutageninį bei antidiabetinį poveikį, stiprinti kepenų ir širdies veiklą. Pavyzdžiui, reguliarus aronijų sulčių naudojimas sumažina oksidacinio streso žalą (16) kuris yra vienas iš pagrindinių veiksnių, pažeidžiančių kraujagysles ir širdį.

- **Antidiabetinis poveikis.** Proantocianidinas, esantis juodavaisėse aronijose skatina gliukozės patekimą į raumenų ląsteles, kartu mažindamas gliukozės kiekį kraujyje bei gliukozės panaudojimą energijos gamybai. Jis sustiprina insulino veikimą, todėl kasai jo reikia išskirti mažiau.

- **Širdies bei kraujagyslių stiprinimas.** Daugelio epidemiologinių mokslinių tyrimų metu buvo nustatyta, kad *Aronia melanocarpa* uogose esantys polifenoliniai junginiai stiprina kraujagysles bei mažina riziką susirgti širdies bei kraujagyslių ligomis (17).

- **Antikancerogeninis poveikis.** Tyrimuose nustatyta, kad juodavaisės aronijos ekstraktas stimuliuoja žmonių žarnyno vėžio HT-29 ląstelių apoptozę (apoptozė – genetiškai užprogramuota, reguliuojama ląstelių ir jos komponentų žūtis degradacijos būdu) ir taip mažina žarnyno vėžio riziką (18).

- **Antimutageninis aktyvumas.** Antocianinai iš juodavaisės aronijos uogų rodo antimutageninį poveikį *in vitro*, kurių pagrindinė savybė gali būti neutralizuoti laisvuosius radikalus, slopinti fermentus, kurie yra atsakingi už promutageninį aktyvumą (19).

- **Antioksidacinis aktyvumas.** Antocianinai priklauso didelei polifenolių grupei – flavonoidams. Jie yra – stipriai veikiantys antioksidantai, kurie sugeba efektyviai neutralizuoti laisvuosius radikalus ir nutraukti grandininę reakciją (20).

Aronijų išspaudos- atlieka. Remiantis Lenkijos nacionaliniu statistikos departamentu, šioje šalyje kiekvienais metais perdirbama apie 50 000 tonų aronijų. Spaudžiant sultis gaunamas didelis kiekis išspaudų, kurios dažniausiai laikomos atliekomis ir išmetamos. Taip ne tik nepanaudojamos naudingos medžiagos esančios jose, bet ir sukeliama aplinkosaugos problemų. Dėl to mokslininkai pastaruoju metu skiria didelį dėmesį biologiškai aktyvių medžiagų išgavimui ir panaudojimui ne tik iš aronijų, bet ir iš aronijų išspaudų (4,5).

Apskritai, visų bioaktyviųjų junginių iš natūralių šaltinių gavyba ir panaudojimas maisto produktuose susilaukia vis daugiau dėmesio moksliniu lygmeniu (daugėja straipsnių šią temą) ir gamybiniu (rinkoje daugėja produktų su biologiškai aktyviais priedais – funkcinio maisto).

Funkcinis maistas paprastai apibrėžiamas kaip produktas, kuris be energijos ir maistingumo gali suteikti papildomos fiziologinės naudos vienai ar daugiau organizmo funkcijų ir taip pagerinti vartotojo sveikatą arba sumažinti ligos riziką. Funkcinis maistas gali būti:

- Natūralus maistas, kuriame vieno iš komponentų didesnis kiekis gaunamas natūraliu būdu sukuriant specialias auginimo sąlygas.
- Maistas, kuriame pridėtas vienas iš komponentų siekiant pagerinti vartotojo sveikatą (pavyzdžiui, pasirinktų probiotinių bakterijų pridėjimas, kurių teigiama nauda žarnynui ir virškinimui nustatyta).
- Maistas, iš kurio pašalintas žalingą poveikį sveikatai turintis komponentas (pavyzdžiui, sočiųjų riebalų rūgščių kiekio sumažinimas produkte).
- Maistas, kuriame yra chemiškai modifikuotas komponentas siekiant pagerinti vartotojo sveikatą (pavyzdžiui, hidrolisuotas baltymas kūdikių maiste norint sumažinti alergijų riziką).
- Maistas, kuriame pagerintas vieno iš komponento biologinis pasisavinimas.

1.3 Ekstrakcijos būdai

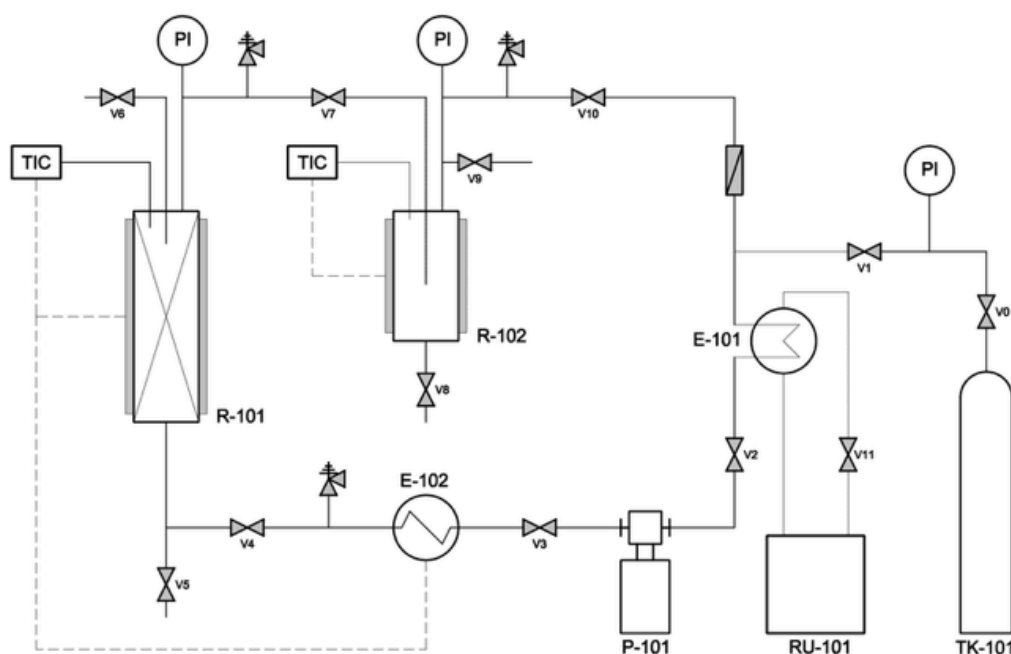
Remiantis kitų mokslininkų atliktais tyrimais galima teigti, kad daug svarbių maistinių medžiagų, ypač uogų sienelėse esančių fenolinių junginių, gamybinių procesų metu lieka augalinės kilmės šalutiniuose produktuose (išspaudose) ir gali būti išskiriami taikant tradicinius (pvz., Soksleto, rūgštinę, kietų medžiagų, skysčių ekstrakciją, alkoholinį nusodinimą ir kt.) ir novatoriškas ekstrahavimo ir frakcionavimo technologijas, pvz., ekstrahavimą superkritiniais skysčiais (pavyzdžiui, anglies dioksidu (SFE-CO₂)), suspaustais tirpikliais, impulsiniu elektriniu lauku, ultragarsu arba mikrobangomis (21).

1.3.1 Ekstrakcija superkritiniais skysčiais (angl. Supercritical Fluid Extraction SFE)

Tradiciniai ekstrakcijos metodai organiniais tirpikliais reikalauja daug laiko, jiems reikia palyginti didelio kiekio tirpiklio, lieka toksiškos tirpiklio liekanos ekstrakto, o dėl šilumos gali vykti nesočiųjų junginių degradacija. Dėl šių priežasčių pradėta ieškoti naujų ekstrakcijos metodų, kurių trukmė ir organinių tirpiklių sąnaudos būtų mažesnės ir neliktų toksiškų tirpiklių.

Superkritinių skysčių ekstrakcija turi įvairių privalumų lyginant su tradiciniais metodais: žemos temperatūros naudojimą, mažą energijos sunaudojimą ir aukštą produkto kokybę, nes ekstraktuose nėra tirpiklio. Superkritinių skysčių ekstrakcija, tai procesas, kurio metu vieni komponentai atskiriami nuo kitų naudojant superkritinius skysčius kaip ekstrahuojantį tirpiklį. Skystis yra superkritiniame būvyje tada, kai jo temperatūra ir slėgis yra virš kritinio taško.

Anglies dioksidas (CO_2) yra dažniausiai naudojamas suslėgtas skystis tokio tipo ekstrakcijai, nes jis yra netoksiškas, nespregus, pigus, lengvai prieinamas ir pašalinamas iš produkto bei turi vidutines kritinės savybes (kritinė temperatūra = $31,1^\circ\text{C}$, kritinis slėgis = $7,38\text{ MPa}$). SFE- CO_2 technologijos aplinkosaugos privalumas yra tai, kad CO_2 paprastai pripažįstamas kaip saugus (GRAS) tirpiklis. SFE technologijos trūkumai yra įrangos kaina ir didelės investicinės sąnaudos. 3 paveikslėlyje pavaizduota superkritinių skysčių ekstraktoriaus schema (21).



3 pav. Superkritinių skysčių ekstraktoriaus schema: TK-101: CO_2 talpa, RU-101: šaldymo įrenginys, P-101: aukšto slėgio siurblys, E-101: CO_2 atvėsintuvas, E-102: CO_2 šildytvas, R-101: ekstraktorius, R-102: separatorius, PI: slėgio matavimo ir reguliavimo įrenginys, TIC: temperatūros matavimo ir reguliavimo įrenginys.

1.3.2 Ekstrakcija suspaustais tirpikliais (angl. Pressurized liquid extraction – PLE)

Ekstrakcija suspaustais skysčiais (PLE) – tai metodas, skirtas kietiems arba pusiau kietiems bandiniams ekstrahuoti naudojant organinius tirpiklius ar vandenį. Ekstrakcija vykdoma ekstrahentą išlaikant skystoje agregatinėje būsenoje – dėl to ekstrakcija vykdoma padidinto slėgio

ir temperatūros aplinkoje. PLE yra unikali tuo, kad ekstrahavimas atliekamas greitai ir naudojant mažiau tirpiklių, palyginti su tradiciniais ekstrakcijos metodais. Pavyzdžiui, PLE gali sumažinti ekstrahavimo laiką iki 20 minučių vienam bandiniui, kuomet naudojant Soksletą ta pati ekstrakcija gali užtrukti kelias valandas. Taip pat, naudojant šį ekstrakcijos būdą, galima sumažinti tirpiklio suvartojimą iki 30 ml vienam mėginiui (priklauso nuo masės).

PLE prietaisai veikia pagal bendrą veikimo principą. Ekstrakcijos celė, kurioje yra mėginys, įkeliama į laikiklį, o siurblys perneša ekstrahuojantį tirpiklį į celę iš rezervuaro. Tuomet inde padidinamas slėgis ir jis pašildomas iki nustatytos temperatūros. Ekstrakcijos celėse temperatūra ir slėgis pakyla aukščiau aplinkos lygio, o karštas tirpiklis padidina analitinių medžiagų ekstraktą iš matricos. PLE sistemos yra suprojektuotos taip, kad tirpiklis tekėtų per ekstrahavimo kamerą ir būtų surenkamas į butelį ar vamzdį srauto tako gale. Kai ekstrakcija baigta, ekstrahavimo celė pripildoma azoto dujomis, kad pašalintų likutinį tirpiklį, o surinktas ekstraktas paruoštas tirpiklio pašalinimui ir analizei (21).

1.3.3 Ekstrakcija Soksleto aparatu

Analizėje Soksleto metodas yra dažniausiai naudojamas būdas lipidams iš maisto produktų išgauti. Pirmąkart jis buvo sukurtas siekiant įvertinti riebalų kiekį piene. Pagal Soksleto procedūrą aliejus ir riebalai iš kietos medžiagos ekstrahuojami pertraukiamos perkolacijos. Tam naudojamas organinis tirpiklis - dažniausiai heksanas arba petroleteris, su grįžtamuju šaldytuvu specialioje stiklinėje. Tikslinių junginių išgavimas priklauso nuo tirpiklio pasirinkimo.

Soksleto ekstrakcija yra priimtinas būdas riebalams iš mėsos mėginių išgauti. Nors tai yra paprasta ir patikima technika, egzistuoja trūkumų, susijusių su Soksleto ekstrakcija, pavyzdžiui, ilgas mėginio džiūvimo ir ekstrahavimo laikas, automatizavimo stoka ir didelis tirpiklio sunaudojimo kiekis vienam bandiniui (21).

1.4 Mėsos suvartojimas ir gaminių kokybę mažinantys veiksniai

Pagal arptautinės Maisto organizacijos (Feed International) duomenis, 2015–2025 metais mėsos suvartojimas pasaulyje augs 23%. Maistinių medžiagų atžvilgiu, mėsa yra nepakeičiamų amino rūgščių ir kai kurių mineralų (geležies, seleno) šaltinis. Taip pat, joje yra gausu baltymų ir mažai angliavandenių – dėl to ji turi mažą glikemijos indeksą (22).

Svarbiausi veiksniai, turintys įtakos šviežios mėsos kokybei ir galiojimo laikui – mikrobiologinis gedimas bei oksidacija. Dėl to, mokslininkai ir technologai pramonėje skiria didelį dėmesį šių procesų sustabdymui ir padarinių valdymui.

1.5 Mėsos mikrobiologinis gedimas

Pagrindinės mėsos mikrobiologinio gedimo priežastys yra bakterijos, rečiau pelėsiai ir kiti mikroorganizmai. Šviežia mėsa turi baktericinių savybių, todėl tokioje mėsoje bakterijos dauginasi lėtai. Bakterijų dauginimasis mėsoje priklauso nuo daugelio dalykų: temperatūros (esant žemai temperatūrai mikroorganizmų nėra aktyvūs), drėgmės ir osmosinio slėgio (kuo mažesnė drėgmė, tuo mikrobiologinis aktyvumas mažesnis), pH (bakterijų dauginimuisi optimaliausia neutrali arba šarminė terpė), vandens aktyvumas (bakterijų kiekis proporcingai didėja, didėjant vandens aktyvumui), oksidacijos redukcijos potencialo (jam mažėjant mikroorganizmų kiekis didėja), atmosfera ir aukštas slėgis.

Dėl mėsos baktericidinių savybių ir susidariusios apdžiūvusios plėvelės pradžioje mikroorganizmai dauginasi lėtai. Yra išskiriamos keturios bakterijų augimo fazės: lag, log, stacionari ir mirties.

- Lag faze vadinamas laikas, kai bakterija prisitaiko prie terpės, ląstelės beveik nesidalija ir yra didelis metabolinis aktyvumas – sintetinami fermentai ir kitos medžiagos leidžiančios prisitaikyti prie naujų sąlygų.

- Log fazės (eksponentinio augimo) metu bakterinės ląstelės intensyviai dalinasi – augimo kreivėje ji žymima kylančia tiese. Šios fazės metu ląstelės yra labiausiai metaboliškai aktyvios.

- Stacionari fazė – etapas, kai augimas pradeda lėtėti, naujų ląstelių kiekis susilygina su mirštančiųjų ir populiacijos kiekis stabilizuojasi

- Mirties fazė – etapas, kai mirštančių ląstelių yra daugiau nei naujų ląstelių. Ši fazė trunka tol, kol populiacija labai sumažėja ar visiškai išmiršta (23).

Kaip jau minėta, daugiausia gedimą mėsoje sukelia bakterijos, rečiau pelėsiai grybai ir kt. Bakterijos sukeliančios gedimą mėsoje: *Brochothrix thermosphacta*, *Carnobacterium spp.*, *Enterobacteriaceae*, *Lactobacillus spp.*, *Leuconostoc spp.*, *Pseudomonas spp.*, *Shewanella putrefaciens* *Leuconostoc spp.* ir *Weissella viridescens*. Pagrindiniai gedimo indikatoriai – pašalinis nepageidaujamas kvapas, skonis, taip pat spalvos pokytis bei susidaranti dujos, mažėjantis mėsos pH (24). Dauguma šių bakterijų pasižymi proteolitinu bei lipolitinu aktyvumu todėl besidaugindamos sukelia baltymų ir riebalų pokyčius. Dėl jų veiklos susidaro lakieji junginiai. Žemoje temperatūroje mikroorganizmų biocheminė veikla keičiasi, gali kauptis ne

rūgštys, o polisacharidai ir produktas apgleivėja. Be to, mikroorganizmų išskirti fermentai žemoje temperatūroje išsilaiko ilgiau už pačius mikroorganizmus, pvz., *Pseudomonas fluorescens*, fermentų aktyvumas 0°C temperatūroje išsilaiko 2 minutėmis ilgiau. Patogeniniai mikroorganizmai, tokie kaip *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp. ir *E.coli* 0157:H7, gebantys augti mėsoje, gali sukelti ligas, ne tik jei jie bus suvartoti patys bei ir tam užtenka ir jų pagamintų toksinų.

Mielės, aptinkamos mėsoje, nepajėgia nukonkuruoti bakterijų ir nėra reikšmingos jos gedimui, nebent mėsa būtų apdorota bakteriostatine medžiaga (konservantu), pvz., sulfitu, kuriam mielės atsparesnės nei bakterijos.

Mėsos gedimo požymius ir seką galima apibūdinti nagrinėjant anaerobinės bakterijos *Clostridium welchii* sukeltus biocheminės veiklos padarinius. Pirmiausia, mėsos paviršiuje išsiskiria drėgmė – mikroorganizmas išskiria kolagenazę (fermentą, ardantį kolageną), kuri hidrolizuoja jungiamąjį audinį ir sukelia jo irimą. Šį reiškinį lydi dujų gamyba. Laisvos amino rūgštys reaguoja su diaminaze, išskiriamas vandenilis, anglies dioksidas ir amoniakas, o jei yra glikogeno jis fermentuojamas iki acto arba sviesto rūgšties. Šie reiškiniai yra lydimi gedimo kvapo ir nemalonaus skonio. Kitas, *Clostridium Welchii* gaminamas fermentas dekarboksilina histidiną iki histamino, kuris turi įtakos membranų pralaidumui. Tam tikras kiekis šių anaerobinių bakterijų pagamina hialuronidazę (fermentą, dar vadinamą mucinaze), kuris atakuoja mukopolisacharidus taip didindami didesnę mikroorganizmų įsiskverbimą į audinius. Papildomai prie šių veiksmų, kurie yra žalingi vartotojui, *Clostridium Welchii* mėsoje gamina toksinus. Jų suvartojimas gali baigtis hemolize (tai – eritrocitų irimas ir hemoglobino išsiskyrimas iš jų į aplinkinius audinius), audinių lastelių irimu, infekcija ir mirtimi (24).

Tyrime naudotos natūraliai mėšai gendant susidarančios pienarūgštės (*Waisella viridescens*, *Leuconostoc mesenteroides*), gedimą sukeliančios (*Brochothrix thermosphacta*, *Pseudomonas putida*) bei patogeninės (*Campylobacter jejuni* ir *Listeria monocytogenes*) bakterijos.

1.5.1 Pieno rūgšties bakterijos

Pieno rūgšties bakterijos yra didelė grupė mikroorganizmų, susijusių su maisto pramone. Jie naudojami tokių produktų, kaip: jogurtų, pasukų, sūrių, vytintų mėsos gaminių, alkoholinių gėrimų, marinuotų daržovių gamyboje. Nors pienarūgštės bakterijos ir turi platų teigiamą panaudojimą maisto pramonėje, jos gali būti ir nepageidaujami gedimo sukėlėjai.

Nors daugelis bakterijų genčių kaip pirminį ar antrinį fermentacijos produktą gamina pieno rūgštį, terminas “pieno rūgšties bakterijos“ paprastai yra skiriamos šioms gentims: *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Oenococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus*, *Weissella*.

Dauguma pienarūgščių bakterijų yra gramteigiamos. Tai sporų nesudarantys kokai ir lazdelės. Pasižymi neigiama katalazės reakcija. Gliukozę fermentuoja iki pieno rūgšties, arba pieno rūgšties, CO₂ ir etanolio. Visos pieno rūgšties bakterijos auga anaerobinėmis sąlygomis, bet skirtingai nei dauguma anaerobinių mikroorganizmų, šios bakterijos toleruoja deguonį. Yra atsparios alkoholiui (gali augti 15–18% etanolio terpėje), optimalus pH 5,55–8,8 (kai kurioms tinkamas pH net 2,9–3,2) - todėl jos vyrauja raugintuose produktuose. Optimali temperatūra 30–40°C, tačiau augimo diapazonas labai platus: 3–50°C.

Pastaruoju metu, atkuriant žmogaus organizmo mikroflorą, rekomenduojama vartoti gyvų mikroorganizmų kultūras – probiotikus arba tam tikrus maisto papildus prebiotikus, kurie skatina bakterijų augimą ir metabolizmą. *Lactobacillus*, *Enterococcus* bakterijos yra natūralūs probiotikai. Jų poveikis labia įvairus – mažina žarnyno pH, mikroorganizmų virulentiškumą, blokuoja mikroorganizmų receptorių gleivinėje, aktyvina imunitetą, slopina toksinių medžiagų sintezę ir kt. (25).

1.5.1.1 *Leuconostoc mesenteroides*

Leuconostoc rūšies bakterijos plačiai paplitusios natūralioje aplinkoje ir kurios atlieka svarbų vaidmenį keliuose pramonės ir maisto fermentacijos procesuose. *Leuconostoc mesenteroides* - fakultatyvūs anaerobai, kokai, augantys poromis ir sudarantys trumpas grandines, tačiau morfologiškai gali skirtis priklausomai nuo augimo sąlygų. Terpėje esant gliukozės yra būdinga lazdelės formos morfologija. Ląstelės yra gramteigiamos, nesporinės ir nemobilios, katalazės reakcija neigiama (tuo jie skiriasi nuo stafilokokų). Gamina dekstraną iš sacharozės. Kai kurios rūšys gali sukelti infekcijas žmonėms, tačiau įprastai jie nėra ligų sukėlėjai (29, 30).

1.5.1.2 *Weissella viridescens*

Weissella viridescens (anksčiau vadinama *Lactobacillus viridescens*), yra gerai žinoma dėl gedimo požymių sukėlimo vakuumuotuose mėsos gaminiuose net ir esant žemai temperatūrai. Tai gramteigiama, katalazei neigiama, sporų nesudaranti, lazdelės formos pienarūgštės bakterija. *Weissella* bakterijų gentis priklauso *Leuconostocaceae* šeimai (31).

1.5.2 Natūraliai mėsoje gedimą sukeliančios bakterijos

1.5.2.1 *Brochothrix thermosphacta*

Brochothrix thermosphacta yra fakultatyvus anaerobas, gramteigia lazdelės formos bakterija, nesudaranti sporų bei nejudri. Jos veikla sukelia maisto produktų gedimą. Organizmas yra giminingas *Lactobacillus* ir *Listeria*. *Brochothrix thermosphacta* yra vyraujantis mikroorganizmas sugadintoje žaliavinėje mėsoje bei termiškai apdorotuose mėsos produktuose, laikomuose aerobiškai arba modifikuotoje atmosferoje. Kaip fakultatyviam anaerobui, *Brochothrix thermosphacta* puikiai tinka augti modifikuotos atmosferos aplinkoje. Dėl savo psichotrofinės prigimties (gebėjimo augti žemoje temperatūroje – 6,5°C ir žemesnėje) jis randamas ir žalioje atvėsintoje mėsoje. Augimo temperatūros diapazonas 0–30°C, optimalus 20–25°C. Mėsa yra puiki terpė *Brochothrix thermosphacta* augti ir tai yra viena ir pagrindinių mėsos gedimą sukeliančių bakterijų (25).

1.5.2.2 *Pseudomonas putida*

Pseudomonas putida priklauso *Pseudomonadaceae* šeimai. Tai gramneigiamos sporų nesudarančios lazdelės, turinčios poliškai išsidėsčiusių žiuželių ir pilių. Gali sudaryti polisacharidinę kapsulę. Jų optimali augimo temperatūra yra 25–30°C.

P. putida sukelia celiulitą, žaizdų infekcijas, plaučių uždegimą, sepsį, išorinės ausies uždegimą, akių ligas, šlapimo takų ligas ir endokarditą (vidiniame širdies sluoksnyje arba širdies vožtuvuose esančio bakterijų židinio sukeliama liga). Atspari daugeliui mikrobiologinių preparatų.

Ajovos universiteto mokslininkai pastebėjo, jog *Pseudomonas putida* specifiniais enzimais suskaido kofeiną (C₈H₁₀N₄O₂, 1,3,7-trimetilksantiną) ne tik į CO₂ ir amoniaką, bet ir išskiria šalutinius produktus, kurie yra natūralus pagrindinis ingredientas vaistams, kurie skirti gydyti astmą, gerinti kraujotaką ir stabilizuoti širdies aritmiją (28).

1.5.3 Patogeninės bakterijos

1.5.3.1 *Campylobacter jejuni*

Campylobacter jejuni porūšis priklauso *Campylobacter* genčiai, kuri priklauso *Campylobacteraceae* šeimai. Tai gramneigama, sporų nesudaranti vingiuotoji bakterija spirilė

(vieną ar kelias spiralės vijas turinti lazdelė), mikroaerofilas (jam reikia deguonies, bet mažesnio jo kiekio, nei yra atmosferoje bei CO₂ (10%)). Tai oksidacijai teigiami, katalazei nepastovūs, judrūs (turi vieną poliarinį žiuželį) mikroorganizmai. *C. jejuni* yra pagrindinė *Campylobacter* infekcijų sukėlėja visame pasaulyje (80–90%). Šis mikroorganizmas gali augti tik esant aukštesnei nei 30°C temperatūrai (optimali yra 42–45°C). *Campylobacter jejuni* yra labai jautri šilumai. Ji inaktyvuojama esant 48°C temperatūrai.

Ši bakterija sukela kampiliobakteriozę – ūminę bakterinę žarnyno ligą, kuri pasireiškia silpnumu, raumenų ir galvos skausmu, pakilusia temperatūra, vėmimu ir viduriavimu. Ši liga labai paplitusi. Nustatyta, kad *C.jejuni* sukelia 4–30% visų užkrečiamųjų viduriavimų, o 1% visų žmonių yra šios bakterijos turėtojai. Gamtinis šių sukėlėjų rezervuaras – naminiai gyvūnai, žiurkės, naminiai paukščiai. Dažniausiai užsikrečiama valgant žalią arba nepakankamai termiškai apdorotą maistą. Taip pat *C.jejuni* sukelia ūminį gastroenteritą (virškinamojo trakto uždegimą, kuris pasireiškia viduriavimu ir vėmimu) bei kolitą (uždegiminę žarnų ligą), (25).

1.5.3.2 *Listeria monocytogenes*

Listeria monocytogenes yra gramteigiamos, sporų nesudarančios trumpos lazdelės, kurios gali būti truputį lenktos ir turėti apvalius galus. Listerijos yra judrios, turi 1–4 žiuželius, yra fakultatyvūs anaerobai. Optimali dauginimosi temperatūra 36–38°C, nors gali augti nuo 0°C iki 45°C temperatūrų intervale. Į žmogaus organizmą listerijos patenka per vandenį ir užterštus maisto produktus, per orą ar sąlyčio būdu. Ši bakterija priklauso *Listeria* genčiai kartu su *L. ivanovii*, *L. innocua*, *L. welshimeri*, *L. selligeri* ir *L. grayi* (26). Iš šių rūšių tik du yra laikomi ligos sukėlėjais: *L. monocytogenes*, kuris infekuoja žmones ir gyvūnus, ir *L. ivanovii*, kuris pavojingas atrajotojams (nors buvo retų pranešimų apie tai, kad *L. ivanovii* yra izoliuota nuo užkrėstų žmonių) (Guillet ir kt., 2010). Yra trylika žinomų *L. monocytogenes* serotipų: 1 / 2a, 1 / 2b, 1 / 2c, 3a, 3b, 3c, 4a, 4ab, 4b, 4c, 4d, 4e ir 7. Serotipai, dažniausiai susiję su žmonių ligomis yra 1 / 2a, 1 / 2b ir 4b (27).

Listerijos sukelia gimdos infekcijas, kurios gali būti viena iš priešlaikinio gimdymo, naujagimio sepsio priežasčių. Gimdymo metu užkrėstiems naujagimiams vėliau gali prasidėti meningitas. Suaugusiems infekcija gali būti besimptomė arba panaši į gripą (25).

1.6 Mėsos gedimas dėl oksidacijos

Oksidacija mėsoje ir mėsos produktuose. Oksidacija yra vienas iš pačių svarbiausių procesų sumažinančių mėsos ir jos produktų kokybę po mikrobiologinio gedimo. Šis procesas daro įtaką

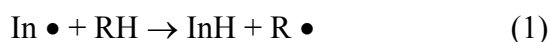
spalvos, skonio, kvapo bei maistinės vertės pokyčiams. Mėsoje jis gali būti endogeniškas, sukeltas metalų jonų, ypač geležies bei egzogeniškas (32). Oksidacija gali vykti gamybos procese, sandėliuojant bei virškinant. Dėl šių priežasčių, mėsos gaminiuose siekiama išvengti arba sumažinti riebalų bei baltymų oksidacinių procesų bei jų padarinių (33).

1.6.1 Riebalų oksidacija

Lipidų oksidacija mėsoje prasideda iškart po skerdimo ir tęsiasi *post-mortem* fazėje, laikymo ir perdirbimo metu. Keletas veiksnių turi įtakos lipidų oksidacijos greičiui ir intensyvumui mėsoje. Tarp jų – prieš skerdiminis gyvulio būvis (kaip patirtas stresas ir fiziniai sužalojimai), po skerdiminiai veiksniai (tokie kaip pH, skerdenos temperatūra, atšaldymo būdas ir trukmė) bei kiti fizikocheminiai veiksniai, pavyzdžiui, elektrinis stimuliavimas. Be to, technologiniai perdirbimo metodai taip pat turi įtakos mėsos produktų oksidaciniam stabilumui, pavyzdžiui, terminio apdorojimo sąlygos, smulkinimas, priedų receptūroje pasirinkimas – ypač druskos, nitrito, prieskonių ir antioksidantų (34).

Lipidų oksidacija gali vykti įvairiais būdais, bet autooksidacija, susijusi su laisvų radikalų susidarymu ir skilimu yra viena iš svarbiausių. Ją sudaro trys etapai:

1. Sužadinimas – vandenilio (H) atomas atskykla nuo polinesočiosios riebalų rūgšties sudarydamas lipidų alkilo radikalą (R •), (1). Iniciatorius (In •) yra laisvasis radikalas, dažniausiai susidarantis hidroperoksidų skilimo metu (ROOH) (2), jau esančių arba susidaranciu fotooksidacijos metu.



2. Plėtra – vandenilis reaguoja su alkilo radikalais sudarydami peroksilo radikalus (ROO•) (3), kurie “atakuoja” kitas polinesočiąsias riebalų rūgštis ir taip sudaro vis daugiau hidroperoksidų ir alkilo radikalų (4).



3. Užbaigimas – dvi pabaigos reakcijos nutraukia radikalinių reakcijų mechanizmą sudarydamos stabilius produktus (5), (6).



Dviejose pirmosiose fazėse susidaro radikalai, kurie greitai virsta ne radikalinais junginiais, tokiais kaip konjuguotieji dienai ir hidroperoksidai, kurie yra laikomi pirminiais lipidų oksidacijos produktais. Šie junginiai toliau skyla ir susidaro karbonilo junginiai, ketonai, alkoholiai ir aldehidai, kurie laikomi antriniais lipidų oksidacijos produktais (35).

Mėsoje lipidų oksidacija prisideda prie aromatinių junginių, turinčių įtakos mėsos skoniu ir kvapui, susidarymo (34). Iš antrinių lipidų oksidacijos produktų aldehidai yra svarbiausi junginiai, nes jie lengvai reaguoja su baltymais, dėl to keičiasi jų maistinės savybės. Lipidų oksidacijos metu susiformuoja pašaliniai kvapai bei spalvos pakitimai laikymo metu (36). Be to, susidaro junginiai, kurie gali kelti rimtą pavojų vartotojų sveikatai – todėl oksidacijos prevencija arba atidėjimas yra rimtas iššūkis mėsos perdirbimo technologams. Oksidacija mėsoje dažniausiai įvertinama matuojant peroksidinę vertę (PV), tiobarbitūrinės rūgšties (TBARS), sulfidilo ir karbonilo grupių kieki (37).

Deguonis yra pagrindinis veiksnys, turintis įtakos lipidų oksidacijai mėsoje, nes jis reaguoja su nesočiosiomis riebalų rūgštimis ir to pasekoje susidaro lipidų peroksidai (35) padidindamas deguonies įsisavinimą ir dvigubų jungčių pertvarkymą.

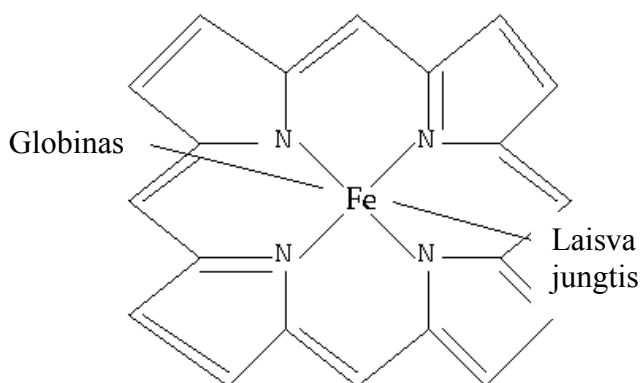
1.6.2 Mėsos baltymų oksidacija

Kaip lipidų oksidacija, taip ir baltymų oksidacija priklauso nuo mėsos kilmės, raumeninio audinio, apdorojimo būdo bei kitų vidinių ir išorinių veiksnių. Baltymų oksidacija sukelia ne tik spalvos ir tekstūros pablogėjimą, bet ir maisto medžiagų, tokių kaip, amino rūgščių, praradimą ir baltymų virškinamumo sumažėjimą. Nors mėsos spalva ir tekstūra buvo plačiai ištirtos praeityje, baltymų oksidacija vis da yra labai nauja tema. Apžvalginiam straipsnyje Estevez (2011) pasiūlė skirtingus baltymų oksidacijos būdus produktams, pagaminties iš raumeninio audinio. Reakcijas gali inicijuoti mioglobinas, oksiduojantys lipidai arba metalo katalizatoriai. Labiausiai atakuojamos funkcinės grupės, esančios aminorūgščių šoninėse grandinėse. Kitos vykstančios reakcijos sukelia įvairių baltymų radikalų ir hidrosilo darinių susidarymą ir sukelia baltymų karbonilinimą. Pagrindiniai šio karbonilinimo proceso keliai yra peptidų grandinių skilimas, lipidų

oksidacija ir tiesioginė amino rūgščių šoninių grandinių ir karbonilo darinių oksidacija (39). Kitame tyrime Falowo ir kt. (2014) nustatė, kad laisvųjų radikalų baltymų oksidacijos ir lipidų oksidacijos grandinės gyvūnų raumenyse yra panašios. Peroksilo radikalai, susidarę lipidų oksidacijos metu, absorbuojami vandenilio atomų baltymuose, siekiant sudaryti baltymų radikalus, kurie paverčiami alkiperoksidais ir prisideda prie alkoksilo radikalų ir hidroksilo darinių gamybos. Oksidacija sukelia specifinių aminorūgščių modifikacijas, peptidų grandinės fragmentaciją, elektros krūvio pokyčius ir padidėjusį atsparumą proteolizei (38). Šiuo požiūriu baltymų oksidacija sukelia daugybę fizinių – cheminių pokyčių ir maistinės vertės mėsos baltymuose, įskaitant aminorūgšties baltymų biologinio pasisavinimo sumažėjimą, aminorūgščių kompozicijos pasikeitimą, baltymų tirpumo sumažėjimą dėl baltymų polimerizacijos, proteolitinio aktyvumo praradimą ir sumažėjusį baltymų virškinamumą. Be to, kai kurie tyrimai parodė reikšmingą baltymų oksidacijos įtaką gelio susidarymo, emulsijos, klamos, tirpumo ir hidratacijos pokyčiams (39).

1.6.3 Oksidacijos sukeltas spalvos pokytis mėsoje

Mėsos spalva priklauso nuo mėsoje esančio pigmento koncentracijos ir jo cheminės formos, svarbiausia, nuo mioglobino (kaupiančio deguonį ląstelėse) ir hemoglobino (pernešančio deguonį iš plaučių į ląsteles). Visų jų nebaltyminė dalis – hemas (geležies turintis porfirinas). 4 paveikslėlis vaizduoja hemo sandarą.



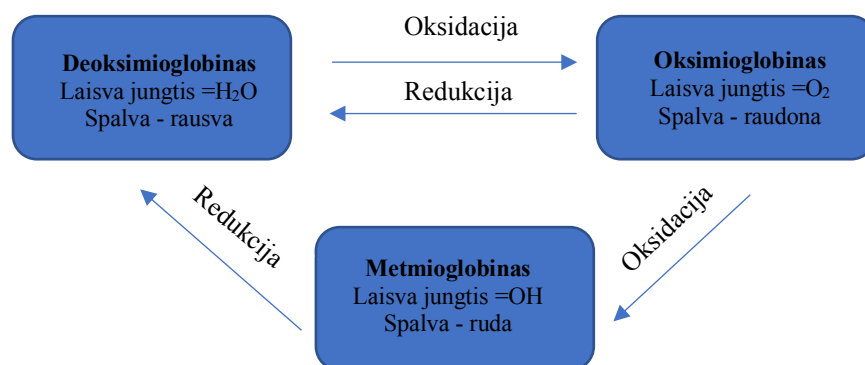
4 pav. Hemo sandara

Mioglobinas gali egzistuoti trijose formose: deoksimioglobino, oksimioglobino arba metmioglobino. Deoksimioglobinas, turintis divalentę geležį (Fe^{2+}), yra rausvai raudonos spalvos ir yra “atsakingas“ už mėsos spalvą raumeniniame audinyje (matomas šviežiame pjūvyje) arba mėsą laikant vakuminėje pakuotėje. Oksimioglobinas, vyšninės – raudonos spalvos pigmentas, susiformuoja deoksimioglobino oksidacijos metu. Raudonoje mėsoje, dėl oksimioglobino buvimo susidaranti spalva pirkėjams asocijuojasi su šviežumu. Deoksimioglobinas natūraliai egzistuoja trumpą laiką ir oksiduojasi iki metmioglobino, kuriame hemo jonas yra trivalenčio geležies pavidalu. Šis pigmentas suteikia mėsai rudą spalvą, kuri pirkėjams asocijuojasi su sena, gendančia mėsa.

Oksimioglobinas yra atsparesnis oksidacijai už deoksimioglobina, o metmioglobinas negali prisijungti deguonies. Kai metmioglobinas susiformuoja, jis būna vyraujanti mioglobino forma audinyje, nebent mėsa yra veikiamą koku redukuojančiu junginiu, pavyzdžiui, metmioglobino reduktaze (41).

Laikymo metu, susidarancio metmioglobino kiekis priklauso nuo mėsos pH, raumeninio audinio, gyvulio amžiaus, rūšies, lyties, pašarų bei nuo tokių išorinių faktorių, kaip prieš skerdiminis laikotarpis, apsvaiginimo būdas ir trukmė, išpjautymo kokybė, žaliavų atšaldymas. Taip pat svarbios ir laikymo sąlygos (oras, vakuumas, modifikuotos atmosferos pakuotė), temperatūra bei mikrobiologinė tarša.

Vienas iš inovatyvių būdų norint sulėtinti oksimioglobino vartimą metmioglobinu – guvulių pašaro praturtinimas vitaminu E. Taip padidinimas alfa-tokoferolio (kuris yra antioksidantas), kiekis raumeniniame audinyje.



5 pav. Mioglobino formos

Oksidacija mažina mėsos gaminių kokybę. Tai sukelia atsirandančius pašalinius nepageidaujamus kvapus bei pakitusią gaminio spalvą, sumažėjusią maistinę vertę ir netgi gali kelti riziką sveikatai (42). Tam, kad to išvengti ir būtų pratęstas galiojimo laikas, pramonėje naudojami sintetiniai, fenolinės struktūros antioksidantai, kaip pavyzdžiui, butilintas hidroksitoluenas (BHT). Tačiau, tokie priedai turi šalutinį toksikologinį poveikį ir tai sukėlė natūralių antioksidantų, kuriuos būtų galima naudoti maisto pramonėje, paiešką, o uogos, jų sultys ir išspaudų ekstraktai yra tam tinkami dėl fenolinių junginių gausos (43).

TYRIMO METODIKA IR METODAI

1.7 Tyrimo objektas

Liofilizuotos juodavaisių aronijų išspaudos buvo gautos iš sultis gaminančios įmonės „Obuolių namai“ (Kaunas, Lietuva). Žaliava buvo sudaryta iš vaisių odelių, sėklų ir stiebų. Ji buvo liofilizuota po sulčių išspaudimo. Prieš ekstrakciją jos buvo sumaltos ultracentrifuginiu malūnu Zill 200 (Retsh, Haan, Vokietija), naudojant 0,5 mm dydžio skylių sietą.

1.8 Tyrime naudotos medžiagos

- M.R.S. broth, 69966, *Oxoid*
- BHI broth, 53286, *Oxoid*
- TSB broth, 22092, *Oxoid*
- Peptidinis vanduo, ISO 6579, *Scharlau*
- M.R.S. Agar, CM0361, *Oxoid*
- Microinstant Listeria Agar 01-719-500, *Scharlau*
- Pseudomonas Agar, CM0559, *Oxoid*
- Campylobacter Blood-Free Selective Agar
- PCA Agar 01-161- 500, *Scharlau*
- Etanolis
- CO₂
- Eteris

1.9 Naudoti ekstrakcijos būdai

1.9.1 Ekstrakcija Soksleto aparatu riebalų kiekiui nustatyti

Soksleto ekstrakcija atlikta naudojant automatinę įrangą (Buchi ekstrakcijos Sistema B-811), kaip tirpiklis pasirenkamas petroleteris. Bandiniai buvo išdžiovinti, sudėti į popierinę tubą,

o stikliniai indai pripildyti 120 ml eterio ir įdėti į įrenginį. Riebalų ekstrakcija truko 140 minučių: 120 min ekstrakcija, 10 min praplovimas eteriu ir 10 min džiovinimas. Pasibaigus ekstrakcijos programai, stikliniai indai su išekstrahuotais riebalais atvėsunami kambario temperatūroje ir pasveriami.

Riebalų kiekis išreikštas % ir apskaičiuotas pagal žemiau pateiktą formulę (7) :

$$\text{Riebalai, \%} = (V_2 - V_1)/m \times 100 \quad (7)$$

čia: V_1 – tuščio stiklinio indo svoris, V_2 – stiklinio indo svoris po ekstrakcijos, m – mėginio svoris.

1.9.2 Ekstrakcija superkritiniais skysčiais (angl. *Supercritical Fluid Extraction* - SFE)

Tyrimo metu superkritinių skysčių ekstrakcijos su CO₂ parametrai parinkti remiantis Grunovaitė ir kt. (2016) pateiktais optimizavimo rezultatais. Ekstrakcija atlikta esant 39,6 MPa slėgiui ir 40°C temperatūrai. Ekstrakcijos trukmė buvo 150 minučių esant 2 l/min dujų srauto greičiui. CO₂ ekstraktų mėginiai buvo garinamas rotaciniu garintuvu Rotavapor R-210 (Buchi, Flawil, Šveicarija). Paruoštas ekstraktas iki tyrimų pradžios laikytas -20°C laipsnių temperatūroje.

1.9.3 Ekstrakcija suspaustais tirpikliais (angl. *Pressurized liquid extraction* – PLE)

Aronijų išspaudų liekanos po superkritinių skysčių ekstrakcijos buvo ekstrahuojamos suspaustų skysčių ekstrakcijos būdu, naudojant 96% etanolį (83°C temperatūroje, atliekant 3 ciklus po 15 min.) bei vandenį (130°C temperatūroje, atliekant 3 ciklus po 10 min.), remiantis L. Tamkutės duomenimis (duomenys dar nepublikuoti). Tirpiklio liekanos iš etanolinio ekstrakto pašalintos rotaciniu garintuvu Rotavapor R-210 (Buchi, Flawil, Šveicarija), o vandeninis ekstraktas buvo liofilizuotas. Paruošti ekstraktai iki tyrimų pradžios laikyti -20°C laipsnių temperatūroje. Šie du ekstraktai - etanolinis ekstraktas (EE) ir vandeninis ekstraktas (VE) - buvo naudojami antimikrobiniuose tyrimuose.

1.10 Mikroorganizmai ir mitybinės terpė

Tyrimams naudotos bakterijos ir jų kultivavimui skirtos bei sėjimams naudotos terpės yra pateiktos 2 lentelėje. Tyrimuose naudotos standartinės dehidratuotos terpės, kurios tyrimams buvo ruošiamos laikantis gamintojų rekomendacijų.

Į lėkšteles pilstoma iki 60 °C praaušusi terpė ir leidžiama jai sustingti. Mikrobiologiniai indai sterilizuojami kaitinimo krosnelėse esant 140–160°C temperatūrai 2–6 val. arba autoklavuojant 121°C temperatūroje 30–45 min. (HA-300MII, Sulzer, Winterthur, Switzerland). Esant poreikiui, instrumentai sterilizuojami degiklio liepsnoje. Mikrobiologiniai tyrimai atliekami laikantis aseptinių sąlygų.

Mikroorganizmų pasiruošimas: visos bakterijos buvo laikomos užsėtos Petri lėkštelėje ant palaikymo terpės (2 lentelė). 1-ą dieną prieš prasidedant eksperimentui, nuo kiekvieno mikroorganizmo palaikymo terpės paimama po vieną koloniją – jos perkeliama į sterilius mėgintuvėlius su 5 ml tai bakterijai tinkamo sultinio (2 lentelė). Inkubuojama bakterijos augimui tinkamoje temperatūroje 18 valandų (temperatūros: *Listeria monocytogenes* 37°C, *Campylobacter jejuni* 40°C, *Leuconostoc mesenteroides* 30°C, *Pseudomonas putida* 30°C, *Brochothrix thermosphacta* 26°C, *Weissella viridescens* 30°C). Praėjus 18 valandų, bakterijoms esant stacionarioje augimo fazėje, mikroorganizmų koncentracija įvertinama pagal absorbiciją esant 620 nm bangos ilgiui spektrofotometru (Hitachi U-1900, Tokijas, Japonija). Paruošiami skiedimai – 10⁴ ir 10⁸ ksv/ml bakterijų koncentracijų, kurie naudojami tyrimams atlikti, bei 10⁴, 10³, 10² ksv/ml mikroorganizmų kontroliniai skiedimai.

Ekstraktų poveikis bakterijoms gali būti bakteriostatiškas – kai yra slopinamas bakterijų augimas, baltericidinis – kai augimas yra sustabdomas (100% slopinimas) arba ekstraktas gali neturėti jokio poveikio mikroorganizmų augimui. Stipus antibakterinis poveikis, kai slopinimas 80–100%, vidutinis 40–80% bei silpnas – 1-40%.

2 lentelė. Tyrimė naudotų bakterijų padermės, terpės bei inkubavimo laikai

Mikroorganizmai	Padermė	Mikroorganizmų palaikymo terpė	Kultivavimo terpė	Tyrimų metu naudota terpė	Inkubavimo laikas
1	2	3	4	5	6
<i>Leuconoctoc mesenteroides</i>	ATCC 10830a	M.R.S. Agar, CM0361, <i>Oxoid</i>	MRS broth 69966, <i>Oxoid</i>	M.R.S. Agar, CM0361, <i>Oxoid</i>	24
<i>Weissella viridescens</i>	ATCC 12706				
<i>Listeria monocytogenes</i>	ILSI - 29	Microinstant Listeria Agar 01-719-500, <i>Scharlau</i>	BHI broth, 53286, <i>Oxoid</i>	Microinstant Listeria Agar 01-719-500, <i>Scharlau</i>	48
<i>Pseudomonas putida</i>	ATCC 12633	Pseudomonas Agar, CM0559, <i>Oxoid</i>	TSB, 22092, <i>Oxoid</i>	Pseudomonas Agar, CM0559, <i>Oxoid</i>	24
	ATCC 23467				
1	2	3	4	5	6
<i>Brochothrix thermosphacta</i>	ATCC 11509	M.R.S. Agar, CM0361, <i>Oxoid</i>	BHI broth, 53286, <i>Oxoid</i>	M.R.S. Agar, CM0361, <i>Oxoid</i>	48
<i>Campylobacter jejuni</i>	ATCC 33291	Campylobacter Blood-Free Selective Agar,	BHI broth, 53286, <i>Oxoid</i>	Campylobacter Blood-Free Selective Agar,	48
<i>Listeria monocytogenes</i> serogrūpių mišinys	ILSI-29 serogrūpė 4b, 4d, 4e, maisto epideminė, UK, 1988-1900	Microinstant Listeria Agar 01-719-500, <i>Scharlau</i>	BHI broth, 53286, <i>Oxoid</i>	Microinstant Listeria Agar 01-719-500, <i>Scharlau</i>	48
	ILSI-18 1/2a, 3a žmonių, atsitiktinė				
	C1 70 serogrūpė 1/2b, 3b, 7. Išskirta iš maisto perdirbimo įmonės kanalizacijos				
	C3 771 serogrūpė 1/2c, 3c. Išskirta iš maisto perdirbimo įmonės grindų				

PCA Agar 01-161- 500, *Scharlau* terpė, skirta aerobinėms mezofilinėms bakterijoms auginti, bei M.R.S. Agar, CM0361, *Oxoid* terpė – pienarūgštėms.

1.11 Mikrobiologiniai tyrimai naudojant mikrolėkštelę

Lėkštelių paruošimas: paruošiamas skirtingų koncentracijų aronijų išspaudų EE ir VE ekstraktai (6,6%, 3,3%, 1,65%, 0,83%, 0,42%). Skiedimams naudojamas sterilus MRS sultinys. Paruošti ekstraktų skiedimai buvo išpilstyti į mikrolėkštelių šulinėlius po 140 µl (išskyrus kontrolinius ekstrakto ir MRS sultinio – į juos po 150 µl). Tuomet į šulinėlius įpilama po 10 µl tiriamos kultūros su atitinkama koncentracija. Mikrolėkštelė užpildoma pagal žemiau pateiktą planą (6 pav.). Kiekviename šulinėlyje buvo iš viso po 150 µl tiramojo bandinio. Inkubuojama mikrolėkštelių spektrofotometriniame Multiskan Go (Thermo scientific, Jungtinės Amerikos Valstijos) skaitytuve. Inkubavimo laikas ir temperatūra pateikta 3 lentelėje.

Šio tyrimo metu buvo daromi 3 palyginamieji bandiniai (toliau vadinami „kontroliniais“): patikrinti ekstraktų mikrobiologinį užkrėstumą (1 kontrolė) ir paruošto MRS sultinio sterilumą (2 kontrolė) bei įvertinti mikroorganizmų augimą be ekstraktų (3 kontrolė).

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	MRS	6.60%	6.60%	3.33%	3.33%	1.65%	1.65%	0.83%	0.83%	0.42%	0.42%	MRS
2	MRS	6.60%	6.60%	6.60%	6.60%	6.60%	6.60%	6.60%	6.60%	6.60%	0.42%	MRS
3	10 ⁸	3.33%	3.33%	3.33%	3.33%	3.33%	3.33%	3.33%	3.33%	3.33%	0.42%	10 ⁴
4	10 ⁸	1.65%	1.65%	1.65%	1.65%	1.65%	1.65%	1.65%	1.65%	1.65%	0.42%	10 ⁴
5	10 ⁸	0.83%	0.83%	0.83%	0.83%	0.83%	0.83%	0.83%	0.83%	0.83%	0.83%	10 ⁴
6	MRS	0.42%	0.42%	0.42%	0.42%	0.42%	0.42%	0.42%	0.42%	0.42%	0.83%	MRS
7	MRS	6.60%	6.60%	6.60%	3.33%	3.33%	3.33%	1.65%	1.65%	1.65%	0.83%	MRS
8	MRS	6.60%	6.60%	3.33%	3.33%	1.65%	1.65%	0.83%	0.83%	0.42%	0.42%	MRS

	Ekstrakto blankas
	Mėginiai su skirtingomis ekstrakto koncentracijomis ir 10 ⁸ ksv/ml mikroorganizmų koncentracija
	Mėginiai su skirtingomis ekstrakto koncentracijomis ir 10 ⁴ ksv/ml mikroorganizmų koncentracija
	2 Ekstrakto blankas
	Mėginiai su skirtingomis 2 ekstrakto koncentracijomis ir 10 ⁸ ksv/ml mikroorganizmų koncentracija
	Mėginiai su skirtingomis ekstrakto koncentracijomis ir 10 ⁴ ksv/ml mikroorganizmų koncentracija

6 pav. Mikrolėkštelės pildymo pavyzdys

3 lentelė. Bakterijų inkubavimo laikas ir temperatūra

Bakterija	Inkubavimo laikas mikrolėkštelių spektrofotometriniame skaitytuve, h	Inkubavimo temperatūra, °C
<i>Listeria monocytogenes</i>	48	37
<i>Campylobacter jejuni</i>	48	40
<i>Leucostoc mesenteroides</i>	24	26
<i>Pseudomonas putida</i>	48	30
<i>Brochothrix thermosphacta</i>	24	26
<i>Weissella viridescens</i>	24	26

Mikroorganizmų skaičiavimas: praėjus bakterijų inkubavimo laikui iš mikrolėkštelių spektrofotometriniu skaitytuvu Multiskan Go (Thermo scientific, JAV) išimama mikrolėkštelė ir su mikropipete iš kiekvieno jos šulinėlio paimami mėginiai bei daromi atitinkami skiedimai. Pasirinkus tinkamus skiedimus, 0,1 ml suspensijos pasėjama į Petri lėkštes su sustingusia terpe ir tolygiai paskleidžiama naudojant sterilų Drigalski skleistuvą. Kiekvienu atveju daromi 2 pakartojimai. Lėkštelės laikomos inkubatoriuje 2 paras bakterijų augimo temperatūroje ir skaičiuojami mikroorganizmų kolonijas sudarantys vienetai (KSV) pagal žemiau esančią formulę (8).

$$KSV/ml = \frac{\sum n}{V \times d} \quad (8)$$

čia: V – inokuliuoto mėginio tūris, ml; d – skiedimo faktorius, $\sum n$ – kolonijų skaičius. Gauti rezultatai išreiškiami lg KSV/ml.

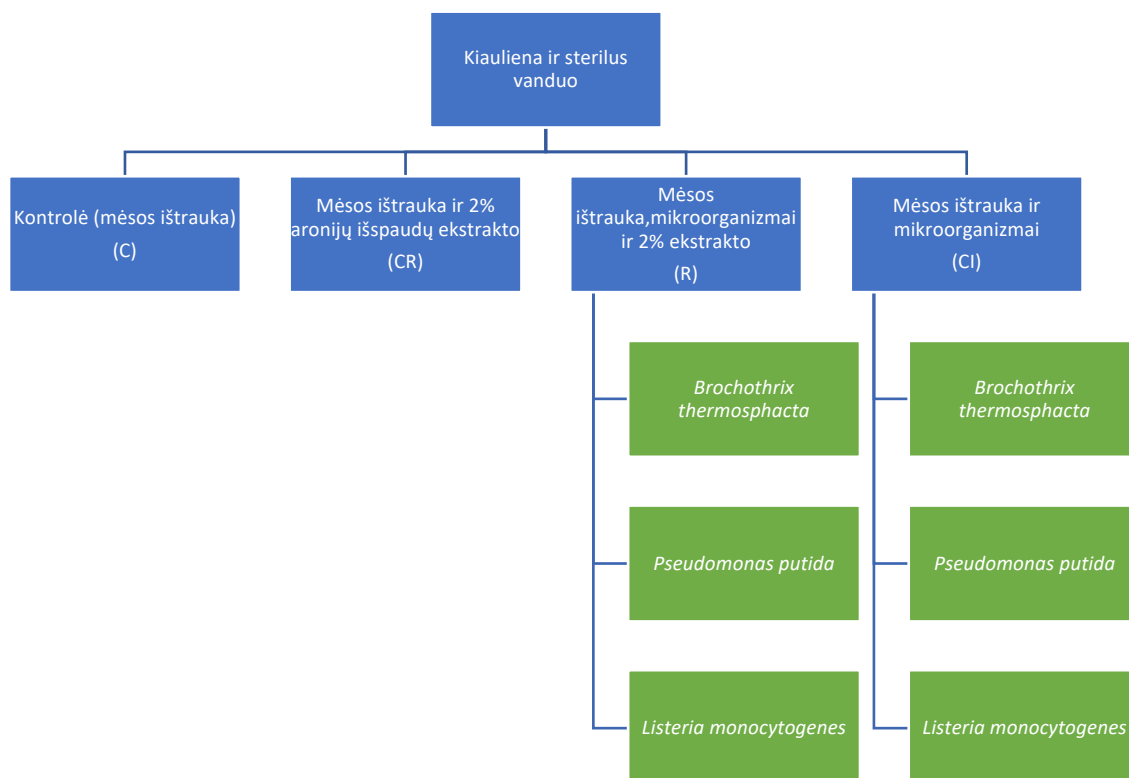
1.12 Mikrobiologiniai tyrimai taikant terminį etanolinio ekstrakto apdorojimą

Eksperimento eiga yra analogiška mikrobiologiniams tyrimams naudojant mikrolėkštelę be terminio apdoravimo, tik mėgintuvėliai su ekstraktu 120 min kaitinami laboratinėje vandens vonioje HH-26 (Thermo Fisher Scientific, Jungtinės Amerijos Valstijos) 80°C temperatūroje.

1.13 Mikrobiologiniai tyrimai su mėsos ištrauka

Mėsos ištraukos paruošimas: pasveriamas 600 g šviežios kiaulienos mėsos, sumaišoma su 1200 ml sterilaus vandens. Sudedama į sterilius smulkinimo maišus su viso ploto filtru (BagPage,

Brussel, Belgium), homogenizuojama laboratoriniu maišytuvu Stomacher 400C (Worthing, Jungtinės Karalystės). Nufiltruotas skystis išpilstomas po 200 ml į 4 sterilius butelius. Dvi talpos (R ir CI) inokuliuojamos 4 ml mikroorganizmų: į du butelius pridedamas po 1% tūrio bakterijų (2 ml). Galutinė *Brochothrix thermosphacta* ir *Pseudomonas putida* koncentracija buvo 10^3 ksv/ml, o *Listeria monocytogenes* – 10^2 ksv/ml. Į du butelius (CR ir R) pridedami 2% aronijų išspaudų ekstrakto. Paruošti buteliai viso tyrimo metu laikomi 4°C temperatūroje. 7 pav. pavaizduota bandymo schema.



7 pav. Tyrimo su mėsos ištrauka schema

Paruoštų mėginių sėjimai atliekami iš karto paruošus mėginį (0 dieną), po 2, 4, 7, ir 16 dienų ant selektyvių (žr. 2 lentelė), PCA bei MRS terpių.

Mikroorganizmai inokuliuojami agaro lėkštelėse (kiekvieno mėginio daromi 2 pakartojimai) paviršiniu būdu (*Brochothrix thermosphacta*, *Pseudomonas putida*, *Listeria monocytogenes*, pienarūgštės bakterijos) ir giluminiu būdu (aerobinės mezofilinės bakterijos). Užsėtos Petri lėkštelės buvo inkubuotos joms tinkamoje temperatūroje (*Brochothrix thermosphacta* 26°C, *Pseudomonas putida* 30°C, *Listeria monocytogenes* 37°C, pienarūgštės bakterijos 30°C, aerobinės mezofilinės bakterijos 30°C). Praėjus inkubavimo laikui (žr. 1 lentelė), suskaičiuoti KSV ir gauti rezultatai išreikšti lg KSV/ml.

Šio tyrimo metu buvo daromi 3 kontroliniai bandiniai: patikrinti mėsos ištraukos mikrobiologinį užkrėstumą (C mėginys, 1 kontrolė), įvertinti aronijų etanolinio ekstrakto poveikį

mėsos ištraukai (CR mėginys, 2 kontrolė) ir bakterijų augimui mėsos ištraukose be ekstrakto (CI, 3 kontrolė).

1.14 Mikrobiologiniai tyrimai su kaulienos mėšainiais iš žalios mėsos

Mėginių paruošimas: žalia mėsa buvo gauta iš mėsos perdirbimo įmonės Campofrio (Burgos, Ispanija). Ji susmulkinama mėsos smulkintuvu Easygrind PAS 114 (Cato, Ispanija) naudojant 3 skylių sietelį 2° C temperatūroje ir maišoma vakuuminio maišytuvu AV 50 (Cato, Ispanija) 30 minučių 4° C temperatūroje sudedant priedus (žr. lentelė 4).

4 lentelė. Kiaulienos burgerių 1 kg receptūra

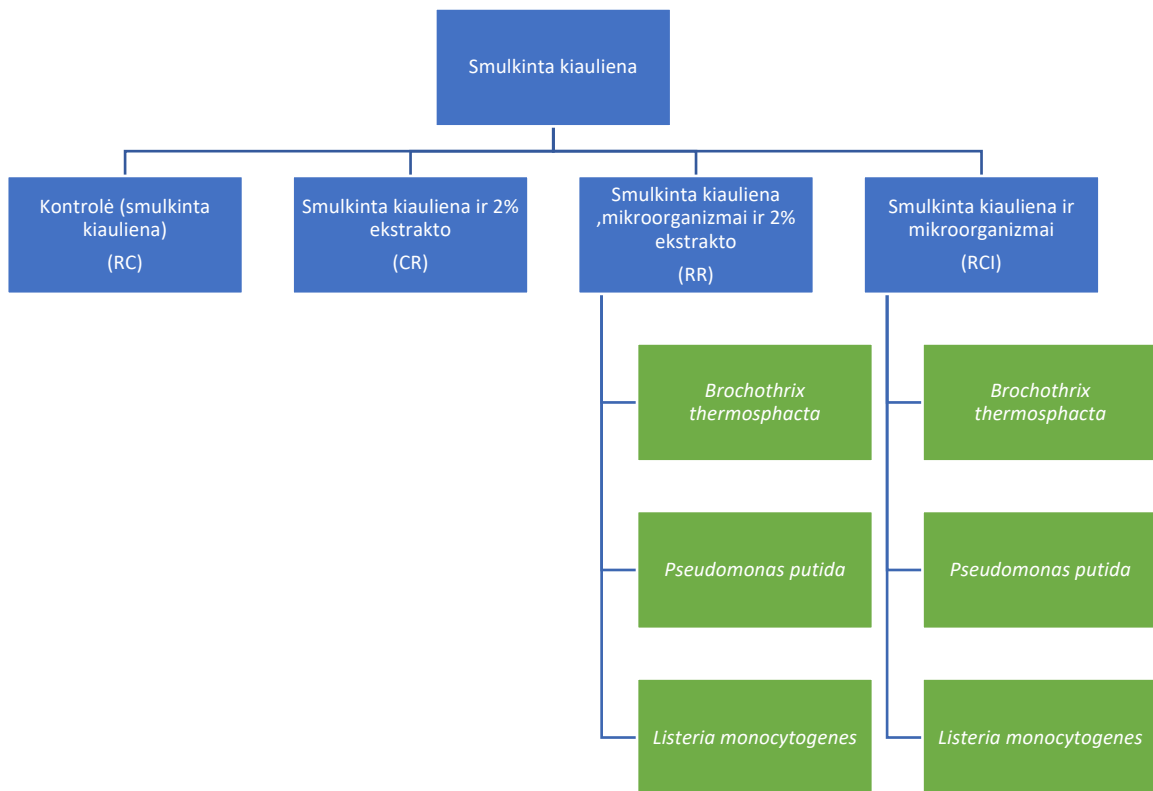
Ingridientas	Kiekis 1 kg
Smulkinta mėsa	800 g
Vanduo	160 g
Soja (Doscadesca, Murcia, Ispanija)	20 g
Kukurūzų krakmolos (Doscadesca, Murcia, Ispanija)	10 g
Žirnių ląsteliena (Doscadesca, Murcia, Ispanija)	10g

Iš viso buvo paruoštos 4 talpos po 1,9 kg kiaulienos mėšainių masės. Dvi iš jų (RR, RCR) inokuliuojamas mikroorganizmais – į jas pridedamas po 1% masės bakterijų (svoris/g), į kitas dvi (RC, CR), vietoj bakterijų, įpilama po 19 ml sterilaus vandens (žr. 8 pav.) Galutinė *Brochothrix thermosphacta* ir *Pseudomonas putida* koncentracija buvo 10⁴ ksv/ml, o *Listeria monocytogenes* – 10² ksv/g.

Tyrimo metu buvo naudojamas mišinys iš skirtingų *Listeria monocytogenes* serotipų.

- *L. monocytogenes* ILSI 29 serotipas 4b, 4d, 4e, maisto, epideminė, UK, 1988-1990.
- *L. monocytogenes* ILSI 18 serotipas 1/2 a, 3a žmonių, atsitikinė.
- *L. monocytogenes* C1 70 serotipas 1/2b, 3b,7 izoliuota iš mėsos perdirbimo įmonės kanalizacijos.
- *L. monocytogenes* C3 771 serotipas 1/2c, 3c izoliuota nuo grindų mėsos perdirbimo įmonėje.

Į talpas CR ir RR pridedami po 2% ekstrakto (svoris,g), o į RC ir RCI analogišką kiekį sterilaus MRS sultinio. Žemiau pateikta tyrimo schema (8 pav).



8 pav. Tyrimo su mėšainiais iš žalios mėsos schema

Šiame tyrime paruoštos 3 kontrolės:

1. Smulkinta kiauliena ir vanduo (vietoj mikroorganizmų), norint patikrinti kiaulienos mikrobiologinį užkrėstumą (RC mėginys).
2. Smulkinta kiauliena ir ekstraktas, norint patikrinti ekstrakto mikrobiologinį užkrėstumą (CR mėginys).
3. Smulkinta kiauliena ir mikroorganizmai, norint patikrinti mikroorganizmų natūralų augimą be ekstrakto (RCI mėginys).

Tyrimo eiga: kai mėšainiai paruošiami, iš kiekvienos talpos suformuojama 16 mėšainių, kurie sudedami į indelius po du, supakuojama naudojant modifikuotą dujų atmosferą (MAP) (30% CO₂/70% N₂) ir užlydyti 65 mikronų polietileno plėvele, skirta pakuoti modifikuotą dujų atmosferą (Amcor Flexibles, Burgos, Ispanija). Žemiau pateiktas paveikslėlis vaizduoja supakuotus mėšainius iš žalios mėsos (9 pav.)



9 pav. Supakuoti mėšainiai iš žalios mėsos

Mėginiai laikomi tamsoje, 4°C temperatūroje keturias dienas, o tada temperatūra padidinama iki 8 °C. Mikrobiologinei analizei iš pakuotės paimami 25g mėsos, sumaišomi su 225 ml buferinio peptoninio vandens (ISO 6489, *Scharlau*) ir 120 s homogenizuojami maišytuvu Stomacher 400C (Worthing, Jungtinės Karalystės) steriliame maišelyje su viso paviršiaus filtru (BagPage, Briuselis, Belgija). Iš kiekvienos pakuotės daromi 2 pakartojimai. Dešimtkarčiai skiedimai daromi steriliuose mėgintuvėliuose su buferiniu peptoniniu vandeniu. Paruoštų mėginių sėjimai atliekami iš karto paruošus mėginį (0 dieną), po 2, 5, 7, 9, 13 ir 16 dienų ant selektyvių (žr. lentelė 2), PCA bei MRS terpių.

Mikroorganizmai inokuliuojami agaro lėkštelėse (kiekvieno mėginio daromi 2 pakartojimai) paviršiniu būdu (*Brochothrix thermosphacta*, *Pseudomonas putida*, *Listeria monocytogenes*, pienarūgštės bakterijos) ir giluminiu būdu (aerobinės mezofilinės bakterijos). Užsėtos Petri lėkštelės buvo inkubuotos jų augimo temperatūroje (*Brochothrix thermosphacta* 26°C, *Pseudomonas putida* 30°C, *Listeria monocytogenes* 37°C, pienarūgštės bakterijos 30°C, aerobinės mezofilinės bakterijos 30°C). Praėjus inkubavimo laikui (žr. 2 lentelė), suskaičiuoti KSV ir gauti rezultatai išreikšti lg KSV/ml.

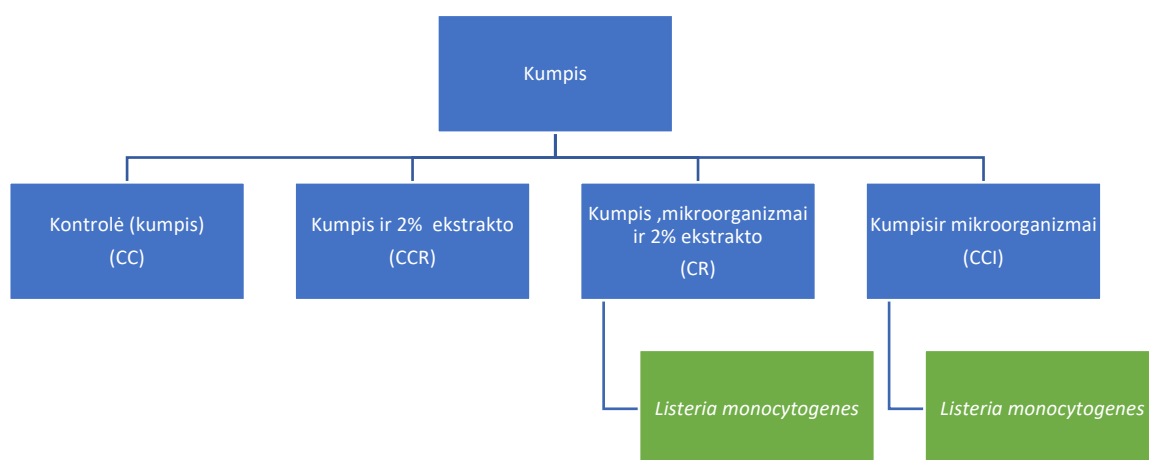
1.15 Mikrobiologiniai termiškai apdoroto kumpio tyrimai

Termiškai apdoroto kumpio paruošimas: 8 kg šviežio kiaulienos kumpio (Campofrio, Burgos, Ispanija) susmulkinama mėsos smulkintuvu Easygrind PAS114 (Cato, Ispanija), naudojant 6 skylių sietelį 2° C temperatūroje ir maišoma vakuuminio maišytuvu AV 50 (Cato, Ispanija) sudedant priedus (žr. 5 lentelė) 30 minučių, 4° C temperatūroje.

5 lentelė. Termiškai apdoroto kumpio receptūra

Ingridientas	Kiekis (naudojant 1 kg žalios mėsos)
Druska (Doscadesa, Murcia, Ispanija)	27,720 g
Polifosfatai (Doscadesa, Murcia, Ispanija)	6,93 g
Etanolinis aronijų išspaudų ekstraktas	30,8 g
Karagenatas (Doscadesa, Murcia, Ispanija)	7,7 g
Kazeinatas (Doscadesa, Murcia, Ispanija)	15,4 g
Mononatrio gliutamata (Doscadesa, Murcia, Ispanija)	1,232 g
Kumpio aromatas CN11581 (Calaf Nuances, Les Garrigues, Ispanija)	2,31 g
Mėsos aromatas CN16301 (Calaf Nuances, Les Garrigues, Ispanija)	1,54

Masė sukemšama į terminiam apdorojimui tinkamus maišus, galai uždaromi aliuminio klipsais. Tada maišai įdedami į formas, o jos – į terminę kamerą Eller Micro 10 (Meran, Italy). Terminis apdorojimas vyksta tol, kol vidinė temperatūra pasiekia 72°C. Žemiau pateikiama tyrimo schema (10 pav).



10 pav. Termiškai apdoroto kumpio paruošimo schema

Kitame puslapyje pateiktame 11 pav.– mėsos masė su priedais ir aronijų išspaudų ekstraktu sukimšta į maišus prieš terminį apdorojimą.



11 pav. Sukimšta masė prieš terminį apdorojimą

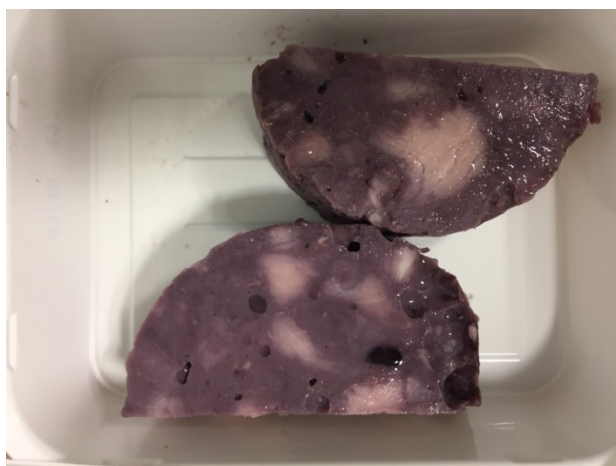
Šiame tyrime paruoštos 3 kontrolės:

1. Smulkinta kiauliena ir vanduo (vietoj mikroorganizmų), norint patikrinti kiaulienos mikrobiologinį užkrėstumą (CC mėginys).
2. Smulkinta kiauliena ir ekstraktas, norint patikrinti ekstrakto mikrobiologinį užkrėstumą (CCR mėginys).
3. Smulkinta kiauliena ir mikroorganizmai, norint patikrinti mikroorganizmų natūralų augimą be ekstrakto (CCI mėginys).

Po terminio apdorojimo mėsa padalinama į 16 gabalėlių po 125 gramus, kurie sudedami į plastikinius indelius po du. Atitinkami mėginiai inokuliuojami mikroorganizmais: 2,5 ml mikroorganizmų: *Listeria monocytogenes* serotipų mišinio – 10^2 ksv/g. (kurių koncentracija nustatyta spektrofotometru) 2,5 ml uždedami tiesiai ant produkto (1% svorio/g).

Ant mėginių, kurie neinokuliuojami mikroorganizmais, paviršiaus užpilame 2,5 ml sterilaus vandens.

Supakuojama naudojant modifikuotą dujų atmosferą (MAP) (30% CO₂/70% N₂) su polietileno plėvele (Amcor Flexibles, Burgos, Ispanija). Kitame puslapyje pateiktame paveikslėlyje – gaminys prieš pakavimą (12 pav.).



12 pav. Mėsos gaminyš prieš pakavimą.

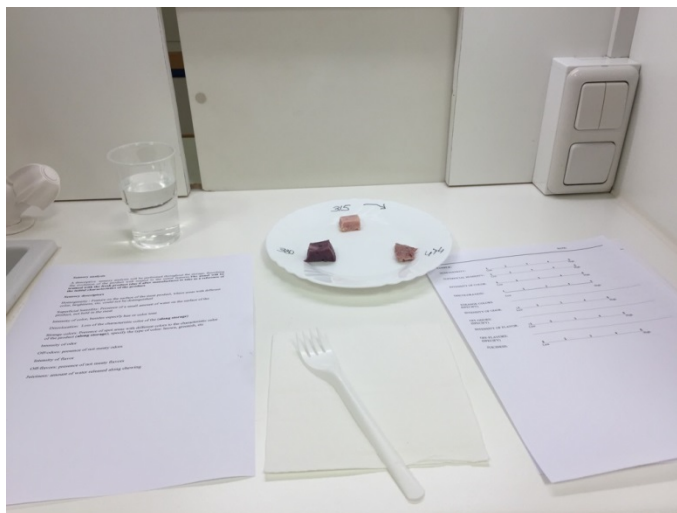
Mėginiai laikomi tamsoje 4°C temperatūroje 13 dienų, o likusio eksperimento metu temperatūra padidinama iki 8°C. Mikrobiologinei analizei iš pakuotės paimami 25 g mėsos, sumaišomi su 225 ml buferinio peptoninio vandens (ISO 6579, *Scharlau*) ir homogenizuojama maišytuvu 120 s (Stomacher 400C, Worthing, Jungtinės Karalystės) steriliame maišelyje su viso paviršiaus filtru (BagPage, Briuselis, Belgija). Iš kiekvienos pakuotės daromi 2 pakartojimai. Dešimtkarčiai skiedimai daromi steriliuose mėgintuvėliuose su buferiniu peptoniniu vandeniu (ISO 6579, *Scharlau*). Paruoštų mėginių sėjimai atliekami iš karto paruošus mėginį (0 dieną), po 7, 15, 22, 27, 32, 36 ir 40 dienų ant selektyvių (žr. lentelė 2), PCA bei MRS terpių.

Mikroorganizmai inokuliuojami agaro lėkštelėse (kiekvieno mėginio daromi 2 pakartojimai) paviršiniu (*Listeria monocytogenes*, pienarūgštės bakterijos) ir giluminiu būdais (aerobinės mezofilinės bakterijos). Užsėtos Petri lėkštelės buvo inkubuotos joms tinkamoje temperatūroje (*Listeria monocytogenes* 37°C, pienarūgštės bakterijos 30°C, aerobinės mezofilinės bakterijos 30°C). Praėjus inkubavimo laikui (žr. 2 lentelė), suskaičiuotos KSV ir gauti rezultatai išreikšti lg KSV/ml.

1.16 Juslinė žalios mėsos burgerių ir termiškai apdoroto kumpio analizė

Sensorinę analizę atliko aštuoni Burgos universiteto darbuotojai (Burgos, Ispanija). Grupės nariai buvo atskirose dienos šviesa apšviestose kabinose, o mėginiai buvo pasirinkti atsitiktine tvarka. Žalios mėsos mėsainiai ir termiškai apdoroto kumpio pavyzdžiai buvo pateikti kambario temperatūroje baltos spalvos lėkštelėse. Mėginiai buvo atskirai paženklinėti triženkliais atsitiktiniais skaičiais. Dalyviai buvo paprašyti įvertinti tokius kriterijus: homogeniškumą, paviršinę drėgmę, spalvų intensyvumą, spalvos pasikeitimą ir kvapo intensyvumą. Kiekvieno požymio intensyvumas

buvo išreikštas struktūrizuotoje skalėje nuo 1 (nejautrus pojūtis) iki 5 (maksimalus pojūtis). Be to, buvo įvertintos spalvos ir kvapo sumažėjimas. Analizė atitinka Europos standartą ISO 13299: 2016 („Bendros sensorinės analizės rekomendacijos“). Žemiau esančiame paveikslėlyje (13 pav.) yra 0 dienos termiškai apdoroto kumpio sensorinės analizės pavyzdys.



13 pav. Juslinės analizės pavyzdys.

1.17 Dujų sudėties, vandens aktyvumo ir pH analizė

O₂ ir N₂ dujų koncentracijas pakuotėse išmatuota dujų analizatoriumi (Oxybaby, Witten, Vokietija) per plastikines plėvelę kiekvieną mėginį ėmimo dieną.

Vandenilio jonų koncentracijos (pH) nustatymui buvo naudojamas 507 pH matuoklis micropH 2001 (Crison, Barselona, Ispanija), turintis stiklo elektrodą. Matavimai buvo atlikti tris kartus, keičiant elektrodo įterpimo vietą.

Vandens aktyvumas buvo matuojamas, naudojant laboratorinį vandens aktyvumo matavimo aparatą Aqua Lab (CX-2, Vokietija) pasirenkant atsitiktinį gabalėlį. Susmulkinta mėsa sudėdama į indelius, kurie patalpinami į įrenginį. Atlikus matavimą, ekrane pateikiami duomenys. Daromi trys pakartojimai.

1.18 Drėgmės nustatymas

Drėgmės nustatymas, apibūdinamas kaip masės praradimas kaitinant mėginį 105°C temperatūroje, pagal oficialų AOAC metodą (AOCS, 1990). Pasverti mėginiai buvo laikomi uždaruose aliuminio indeliuose (64mm diametras, 44mm gylis), džiovinti 16–18 h krosnyje,

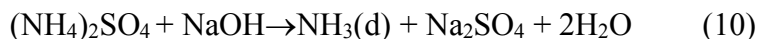
105°C temperatūroje, kol nekito svoris. Atvėsinti kambario temperatūroje ir pasverti. Daryti 3 pakartojimai.

1.19 Baltymų kiekio nustatymas

Baltymų kiekiui nustatyti buvo naudojamas tradicinis Kjeldalio metodas, kuris pagrįstas azoto kiekio nustatymu. Pasveriamas 1 g mėginio, kuris mineralizuojamas su koncentruota sieros rūgštimi (25 ml) jos virimo temperatūroje (350–380°C) 180 minučių. Tiriama medžiaga oksiduojasi iki anglies dvideginio ir vandens, o joje esantis azotas išsiskiria amoniako pavidalu, kuris sieros rūgšties aplinkoje sudaro amonio druską (9)



Kaip reakcijos katalizatorius buvo naudotas kalio sulfatas. Mineralizuotas mėginys atvėsinaamas kambario temperatūroje. Kitas etapas – amoniako atskyrimas naudojant stiprią bazę. 90 ml 40% NaOH pridedamas prie tirpalo, kad neutralizuotų pH ir konvertuotų NH_4^+ joną į NH_3 (10).



Amoniakui surišti naudojamas 4% boro rūgšties tirpalas (25 ml). Reakcijos metu susidariusi boro rūgšties amonio druska titruojama druskos rūgštimi. 1 ml sieros rūgšties, kurios koncentracija 0,05 mol/l atitinka 1,401 mg azoto. Apsaikaičiuojant baltymus, azoto kiekis dauginamas iš 6,25 (mėsos ir jos gaminių koeficiento).

1.20 Instrumentinis spalvos įvertinimas

Mėginiai spalvos matavimui buvo imami iškart atidarius pakuotę (siekiant išvengti šviesos ir deguonies įtakos spalvai) pagal Amerikos mėsos mokslų asociacijos rekomendacijas dėl spalvų nustatymo (Hunt ir kt., 1991). Mėsos spalvos (L^* , a^* ir b^*) charakteristikos išmatuotos kolorometru (Minolta CM-2600d / 2500d, Osaka, Japonija), naudojant CIE Lab erdvę. L^* yra šviesos matas, kai vertė lygi 0 – spalva juoda, kai 100 – balta. Teigiamos a^* vertės nurodo raudonumą, neigiamos reikšmės rodo žalumą; b^* vertės nurodo, geltonos spalvos kitimą į mėlyną

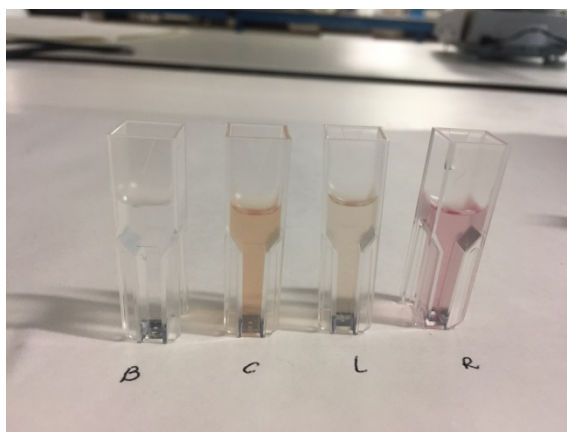
(nuo + į -). Buvo naudojamas D65 apšvietimas (spalvos temperatūra 6504 K). Kolorimetras buvo kalibruojamas naudojant baltą plokštelę prieš kiekvieną matavimą. Atlikti 6 atsitiktiniai mėginių matavimai.

1.21 Metmioglobino kiekio nustatymas

Metmioglobino kiekis buvo nustatytas tiesioginiu spektrofotometriniu matavimu, kaip aprašyta Krzywicki (1982) su nedidelėmis modifikacijomis. 5 gramai mėginio homogenizuojami 10 s su 25 ml ledo šaltumo 40 mM fosfato buferiniu tirpalu (pH 6,8), naudojant Ultra-Turrax T25 homogenizatorių (Janke ir Kunkel, Staufen, Vokietija) bei esant 9500 aps/min. Homogenatas buvo 1 valandą laikomas 4 ° C temperatūroje ir centrifuguojamas 3000 aps/min (Centrikon T-124, Kontron, Milan, Italija) 30 min., esant 4 ° C temperatūrai. Skystis nufiltruotas per "Whatman # 1" popierių, gauto filtrato absorbcija matuota 700, 572 ir 525 nm bangos ilgiuose su spektrofotometru (Hitachi U-1900, Tokijas, Japonija). Metmioglobino kiekis (MetMb) apskaičiuotas pagal šią formulę (11) (Krzywicki, 1982; Kannan ir kt., 2001):

$$\text{MetMb (\%)} = \{1.395 - [A_{572} - A_{700} / A_{525} - A_{700}]\} \quad (11)$$

Žemiau pateiktoje nuotraukoje vaizduojamas spalvos skirtumas tarp kontrolinio bandymo bei mėginių su aronijų išspaudų bei spanguolių išspaudų ekstraktais.



14 pav. B - fosfato buferinis tirpalas, C- kontrolė, L - spanguolių išspaudų ekstraktas, R – aronijų išspaudų ekstraktas

1.22 Su tiobarbitūro rūgštimi (TBARS) reaguojančių medžiagų kiekio nustatymas

Tiobarbitūrinės rūgšties nustatymui buvo pasverta 4 g mėginio, kurie sumaišyti su 12 ml trichloroacto rūgšties (TCA) ir homogenizuoti 2 minutes naudojant Ultra-Turrax T25 homogenizatorių (Janke ir Kunkel, Staufen, Vokietija) esant 9500 aps/min. Skystis nufiltruotas per "Whatman # 1" popierių, 2 ml filtrato sumaišomi su 2 ml tiobarbitūrinės rūgšties.

Uždengti mėgintuvėliai šildomi verdančio vandens vonioje 40 min. Po to mėginys atšaldomas iki kambario temperatūros ir spektrofotometru (Hitachi U-1900, Tokijas, Japonija) matuotas bandinio optinis tankis pasirinkus 530 nm bangos ilgį.

TBARS reikšmės apskaičiuojamos formule (12):

$$TBARS = 100 \times \frac{C \times V \times f_x}{m} \quad (12)$$

čia : C- koncentracija, $\mu\text{g/ml}$, V – TCA-TBA kiekis, ml, f_x - skiedimo laipsnis, m – mėginio svoris, g. Rezultatai apdorojami naudojant kalibracinę kreivę ir išreiški mikrogramas malonaldehido (MAD)/kg.

1.23 Statistinė analizė

Statistinės analizė buvo atlikta naudojant duomenis su 3 pakartojimais, o rezultatai išreikšti kaip vidurkis \pm standartinis nuokrypis (SD). Svarbūs skirtumai tarp duomenų buvo nustatomi naudojant vienos krypties ANOVA, pasirinkus statistinį paketą Statgraphics Plus 5.1. Koreliacijos koeficientai buvo apskaičiuoti tarp kiekvieno kintamojo. Statistinis skirtumas buvo $p < 0,05$.

TYRIMŲ REZULTATAI IR DISKUSIJA

1.24 Juodavaisių aronijų išspaudų ekstraktų išeigos

Ekstrahuojant juodavaisių aronijų išspaudas superkritiniu anglies dvideginiu gautas ekstraktas, kurio išeiga buvo 0,54%. Po ekstrakcijos likusios *Aronia melanocarpa* išspaudų liekanos buvo ekstrahuojamos suspaustų skysčių ekstrakcijos būdu, naudojant etanolį ir vandenį. Gauti ekstraktai, kurių išeigos atitinkamai buvo 10,81% ir 6,71%.

1.25 Aronijų išspaudų ekstrakto antimikrobinės savybės

Šio tyrimo užduotis – ištirti aronijų išspaudų ekstraktų antimikrobinės savybes prieš *Leuconostoc mesenteroides*, *Weissella viridescens*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas putida*, *Brochothrix thermosphacta*, *Campylobacter jejuni* bakterijas.

Aronijų išspaudų ekstrakto antimikrobinėms savybėms tirti pasirinktos 4 gramteigiamos bakterijos (*Weissella viridescens*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Listeria monocytogenes*, *Brochothrix thermosphacta*) bei 2 gramneigiamos bakterijos (*Pseudomonas putida* bei *Campylobacter jejuni*). *Listeria monocytogenes* ir *Campylobacter jejuni* tiriamos dėl jų patogeninių savybių, toksiškumo ir užsikrėtimų protrūkių 2016 metais Vašingtone (48) bei, remiantis Pasaulio Sveikatos Organizacijos duomenimis, pietų Afrikoje nuo 2017 iki 2018 kovo truko listeriozės protrūkis (49). Likusios pasirinktos bakterijos yra tos, kurių veikla natūraliai sukelia gedimą mėsoje ir jos produktuose. Eksperimento metu, jų slopinimui buvo paruošti 6,6%, 3,3%, 1,83%, 0,83% ir 0,42% koncentracijos etanoliniai ir vandeniniai aronijų išspaudų ekstraktai. Eksperimento metu naudoti skirtingų tiriamųjų bakterijų kolonijas sudarančių vienetų skaičiai - 10^4 ksv/ml ir 10^8 ksv/ml.

1.25.1 Ekstraktų poveikis *Listeria monocytogenes* bakterijų augimui

Etanolinio aronijų išspaudų ekstrakto antimikrobinės savybės prieš *Listeria monocytogenes* bakterijas yra stipriai slopinantis. Kaip matoma iš rezultatų (6 lentelėje), stipriausiai veikia etanolinis ekstraktas esant 10^4 ksv/ml mikroorganizmų skaičiui. Ekstraktai, kurių koncentracijos

buvo virš 0,83% poveikis buvo baktericidiškas, tačiau 0,42% koncentracija buvo per silpna ir didelės įtakos bakterijų augimui neturėjo (iki 8,9 % slopinimas, matomas pirmoje diagramoje). Bandymas su etanoliniu aronijų išspaudų ekstraktu ir 10^8 ksv/ml bakterijų kiekiu parodė, kad 6,6% koncentracijos ekstraktas pilnai inaktyvuoja mikroorganizmų veiklą, o kitų ekstraktų antimikrobinis aktyvumas proporcingai mažėja (matoma 15 pav).

Vandeninio aronijų išspaudų ekstrakto antimikrobinės savybės yra silpnesnės nei etanolinio – baktericidinį poveikį turėjo tik 6,6% koncentracijos vandeninis ekstraktas esant 10^4 ksv/ml mikroorganizmų skaičiui (žr. 15 pav., 6 lentelė).

Tirtų etanolinio ir vandeninio aronijų išspaudų ekstraktų poveikis priklauso nuo mikroorganizmų skaičiaus ir esant 10^4 ksv/ml bakterijų skaičiui baktericidinis poveikis nustatytas tik esant 6,6% ekstrakto – tai yra nustatytas statistiškai patikimas skirtumas. Esant 10^8 ksv/ml bakterijų skaičiui, etanolinio ekstrakto antimikrobinis poveikis priklausė nuo ekstrakto koncentracijos, tai yra, jai mažėjant antimikrobinis poveikis reikšmingai mažėjo (žr. 6 lentelė).

Remiantis Alberto ir kt. (2006) tyrimų duomenimis, antimikrobinis augalinių ekstraktų poveikis priklauso nuo ekstrakto fenolinių junginių kiekio. Pagal Brazdauskas ir kt. (2016) duomenis, juodavaisių aronijų išspaudų ekstrakto nustatytas didelis kiekis fenolių (236,6 mg GAE g-1 ekstrakto). *Aronia melanocarpa* uogos yra vienas iš turtingiausių fenolinių medžiagų augalų šaltinių, daugiausia antocianinų - cianino glikozidų. Antocianinai yra vandenyje tirpūs pigmentai, sudarantys tamsiai mėlyną vaisių spalvą (51). Yra nustatyta, kad antocianinai veikia įvairius mikroorganizmus, ypač gramteigiamas bakterijas (52). Tačiau remiantis A.Šarkino ir kt. (2007) duomenimis, antimikrobinų savybių koreliacijos su antocianinų koncentracija dažniausiai nėra, tai rodo, kad antimikrobinės savybės lemia ir kiti ekstraktuose esantys komponentai.

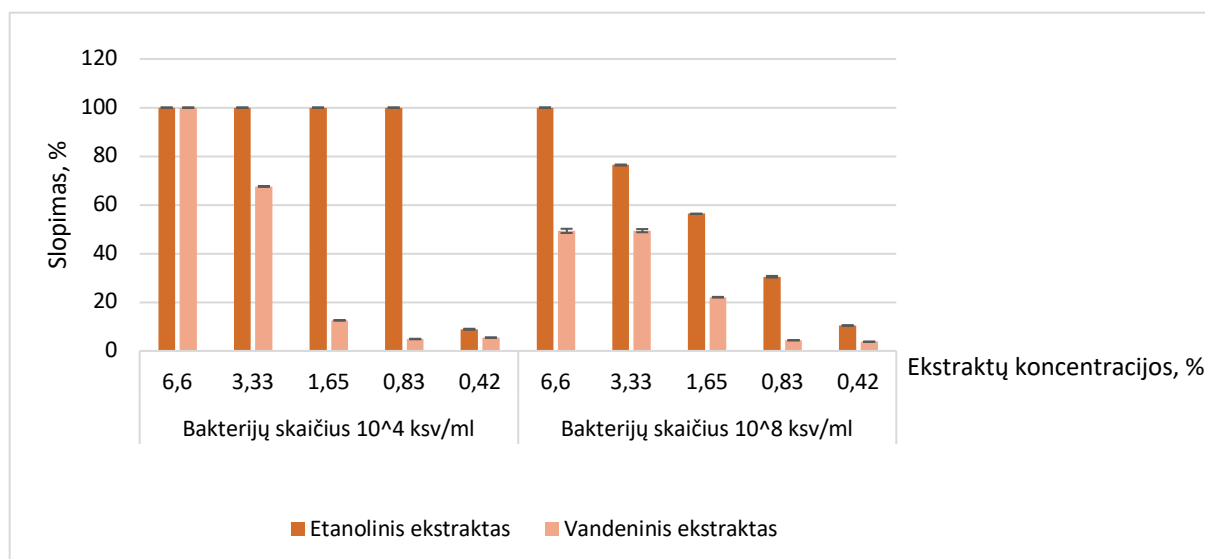
Pagal Papuc ir kt. (2017), polifenoliai veikdami gramteigiamas bakterijas susilpnina ciklinę di- AMP (adenozinmonofosfato) sintezę, sutrikdo ląstelių sienelių homeostazę ir K^+ pernašą. Galimai dėl to juodųjų aronijų išspaudų ekstraktai turi stiprų antimikrobinį poveikį gramteigiamai *Listeria monocytogenes*.

6 lentelė. Antibakterinis poveikis prieš *Listeria monocytogenes* bakterijas

	Bakterijų skaičius/ml, 10 ⁴	Bakterijų skaičius/ml, 10 ⁸
Kontrolė	^f 9,3325 _A **	^f 9,1125 _A
Etanolinis ekstraktas, 0.42%	^d 8,5 _B	^f 8,1625 _A
Etanolinis ekstraktas, 0.83%	^a 0 _A	^d 6,335 _B
Etanolinis ekstraktas, 1,65%	^a 0 _A	^c 3,975 _B
Etanolinis ekstraktas, 3,33%	^a 0 _A	^b 2,15 _B
Etanolinis ekstraktas, 6,6%	^a 0	^a 0
Vandeninis ekstraktas, 0.42%	^e 8,82 _A	^{ef} 8,7725 _A
Vandeninis ekstraktas, 0.83%	^e 8,8725 _A	^{ef} 8,715 _A
Vandeninis ekstraktas, 1,65%	^c 8,16 _B	^d 7,105 _A
Vandeninis ekstraktas, 3,33%	^b 3,02 _A	^b 4,61 _B
Vandeninis ekstraktas, 6,6%	^a 0 _A	^b 4,62 _B

*standartinis skirtumas tarp mėginių su tuo pačio ekstrakto esant skirtingam bakterijų skaičiui

** standartinis skirtumas tarp mėginių su skirtingais ekstraktais esant tam pačiam bakterijų skaičiui

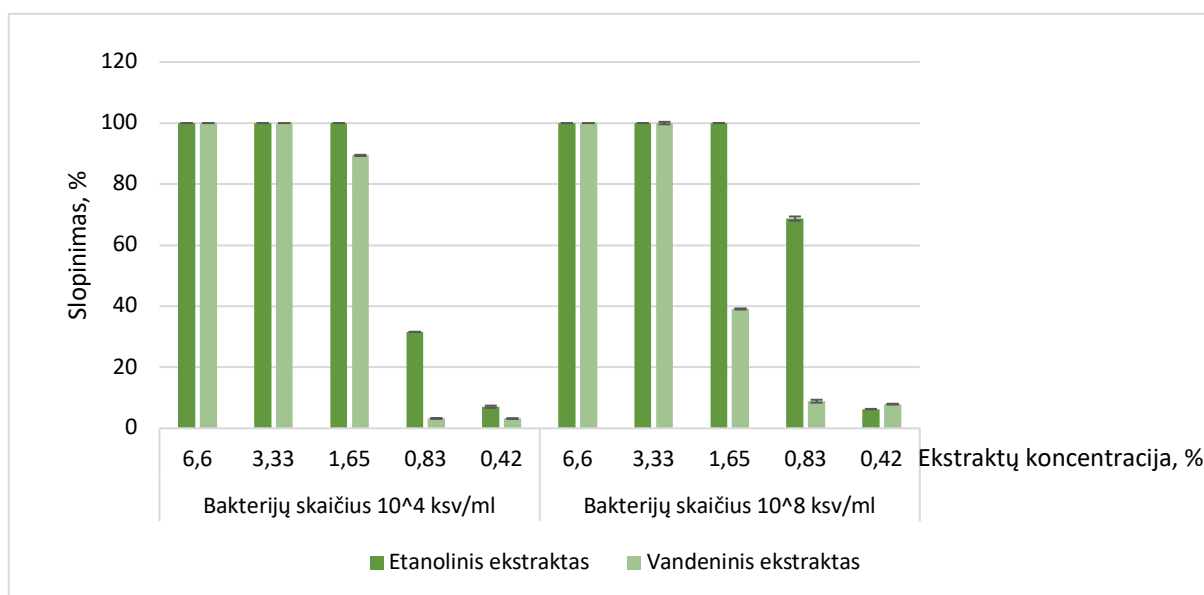


15pav. *Listeria monocytogenes* bakterijų slopinimas

1.25.2 Ekstraktų poveikis *Campylobacter jejuni* bakterijų augimui

Aronijų išspaudų antimikrobinės savybės prieš *Campylobacter jejuni* bakterijas geresnės nei prieš *Listeria monocytogenes*. Antibaktericidinis poveikis pasiektas ne tik naudojant etanolinį ekstraktą (nuo 6,6% koncentracijos iki 1,65% esant 10⁴ ksv/ml bakterijų kiekiui, 6,6% ir 3,33%

esant 10^8 ksv/ml bakterijų skaičiui) bei vandeninį ekstraktą esant 10^4 ksv/ml mikroorganizmų skaičiui, bet ir tiriant vandeninį aronijų išspaudų ekstraktą su 10^8 ksv/ml *C. jejuni* mikroorganizmų kiekiu (vandeninio ekstrakto koncentracija 6,6% ir 3,3%) (16 pav.).



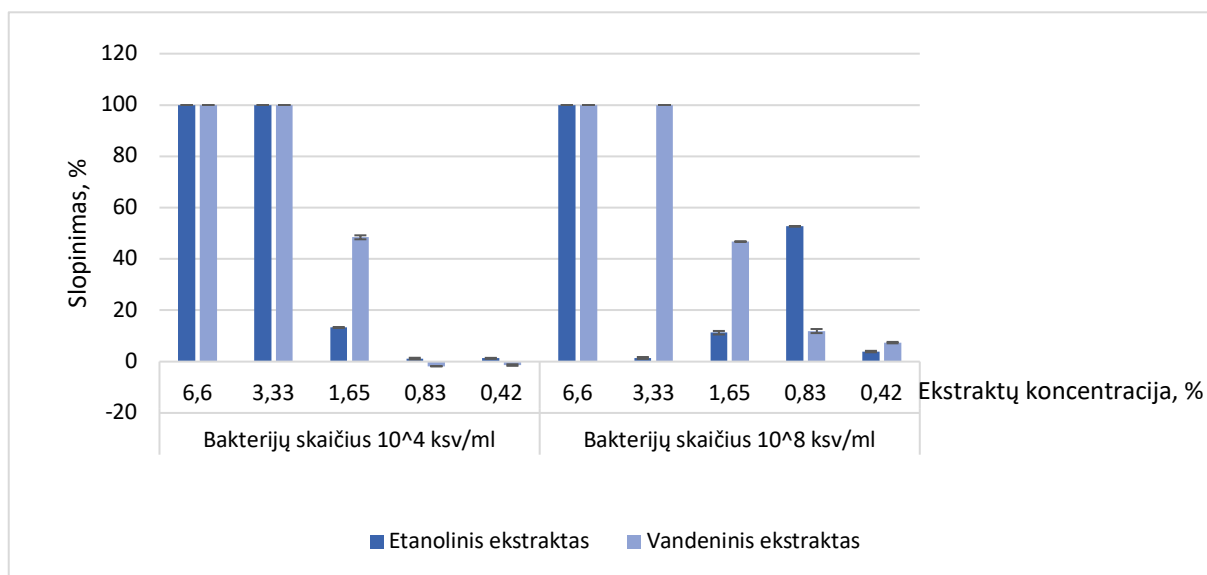
16 pav. *Campylobacter jejuni* bakterijų slopinimas

1.25.3 Ekstraktų poveikis *Brochothrix thermosphacta* ir *Pseudomonas putida* bakterijų augimui

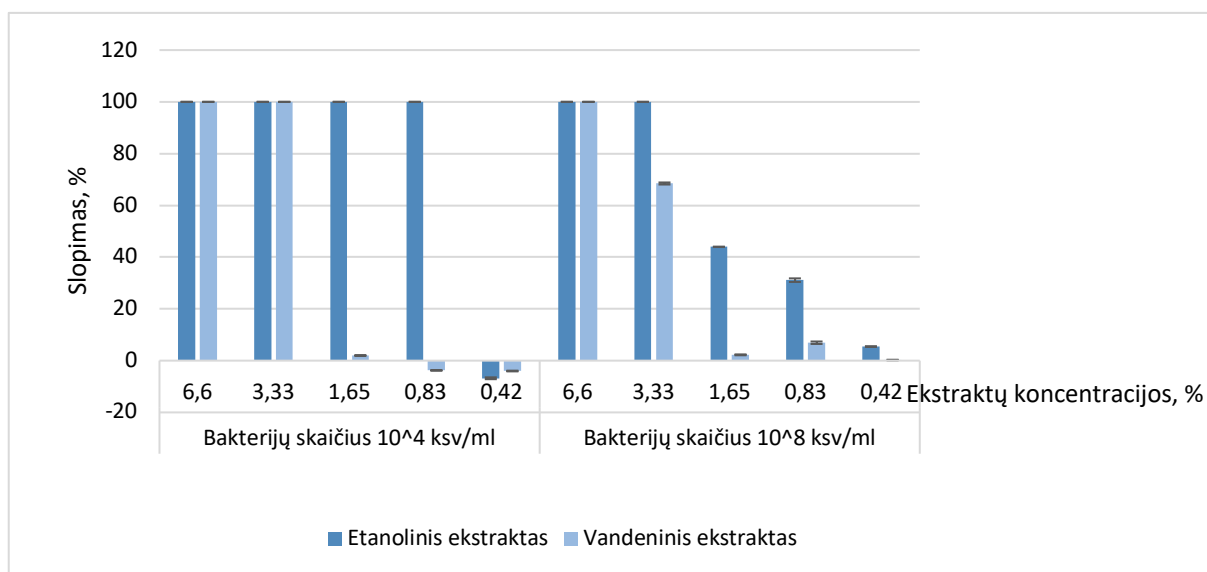
Juodavaisių aronijų išspaudų ekstraktų antibakterinis poveikis prieš gedimą sukeliančias bakterijas *Brochothrix thermosphacta* ir *Pseudomonas putida* yra stipriai slopinantis. Visi ekstraktai turi baktericidinį poveikį naudojant didžiausias ekstrakto koncentracijas, o koncentracijoms mažėjant užaugusių mikroorganizmų skaičius lėkštelėse didėja. Svarbu paminėta, kad *Pseudomonas putida* mikroorganizmai jautresni ekstraktams, nei *Brochothrix thermosphacta* bei, kad mažos etanolinio ir vandeninio ekstraktų koncentracijos skatino tirtų bakterijų augimą (17 pav., 18 pav.).

Gramneigiamų ir gramneigiamų bakterijų ląstelių sienelės yra skirtingos. Gramneigiamų bakterijų ląstelių sienelės yra su plonu peptidoglikano sluoksniu ir išorine membrana. Išorinė membrana yra sudaryta iš fosfolipidinio dvigubo sluoksnio ir baltymų, ant jo išorinio lapelio yra lipopolisacharidų. Gramteigiamų bakterijų ląstelių sienelėse nėra išorinės membranos, Ji sudaryta iš storo sluoksnio peptidoglikano ir lipotekinės rūgšties (55). Abiejų, gramteigiamų ir gramneigiamų, bakterijų ląstelių sienelės vaidina svarbų vaidmenį osmosinei ląstelių apsaugai. Daugelis mokslininkų įrodė polifenolių gebėjimą sąveikauti su bakterijų ląstelių sienelėmis ir

nustatė, kad gramteigiamų bakterijų jautrumas polifenolių veiklai skiriasi nuo gramneigiamų bakterijų - pastarieji yra labiau atsparūs polifenolio poveikiui. Tačiau šiame tyrime, lyginant *Brochothrix thermosphacta* su *Pseudomonas putida* gauti priešingi rezultatai – gramneigiama bakterija (*Pseudomonas putida*) buvo mažiau atspari ekstraktų baktericidiniui poveikiui nei gramteigiama (*Brochothrix thermosphacta*). Tas pats matoma ir lyginant patogenines *Listeria monocytogenes* ir *Campylobacter jejuni* bakterijas. Panaši tendencija matoma ir Puupponen-Pimia ir kt. (2000) darytame eksperimente, kuriame buvo tiriami suomiškų uogų (mėlynių, braškių, juodavaisių aronijų, spanguolių, šaltalankių) fenoliniai ekstraktai, kurie slopino gramneigiamas, bet ne gramteigiamas bakterijas. Galbūt dėl to, jog gramneigiamų bakterijų išorinė membrana veikia kaip apsauginis barjeras nuo hidrofobinių junginių (57).



17 pav. *Brochothrix thermosphacta* bakterijų slopinimas



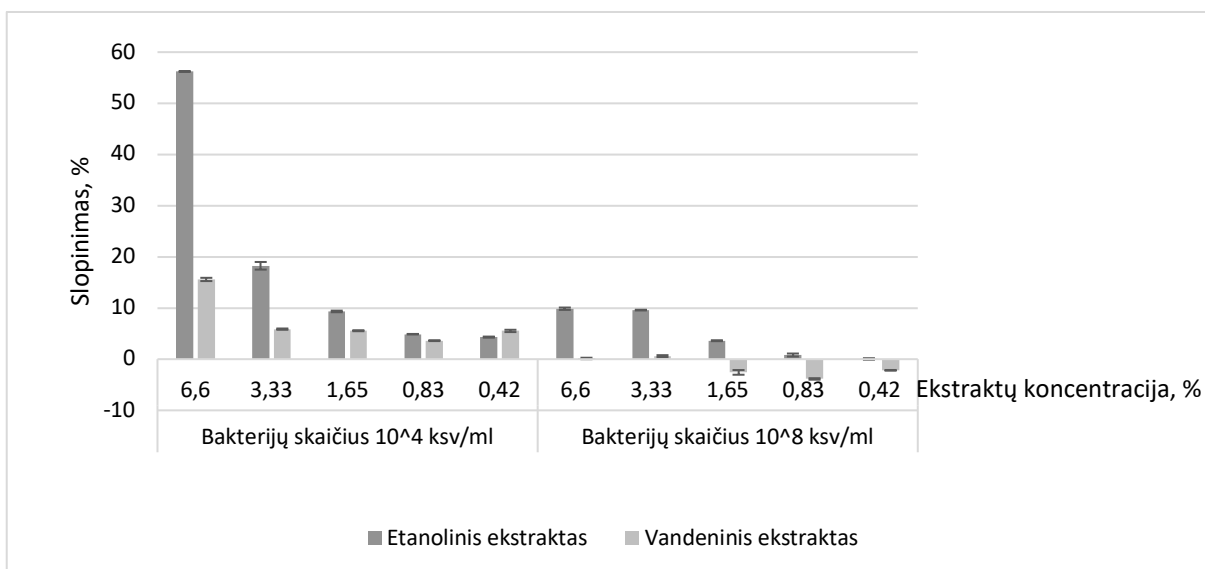
18 pav. *Pseudomonas putida* bakterijų slopinimas

1.25.4 Ekstraktų poveikis *Weissella viridescens* ir *Leuconostoc mesenteroides* pieno rūgšties bakterijos

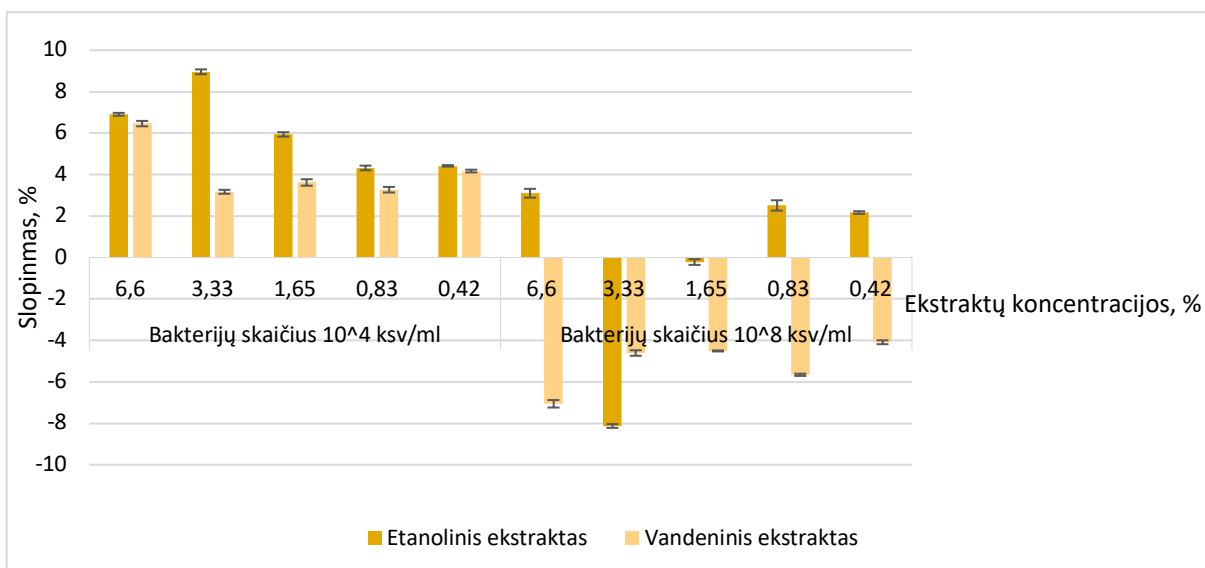
Iš visų tirtų bakterijų, pieno rūgšties gramteigiamoms bakterijoms juodavaisių aronijų išspaudų ekstraktas turėjo mažiausią antibakterinį poveikį, o vandeninis ekstraktas esant 10^8 ksv/ml mikroorganizmų skaičiui netgi skatino jų augimą. Sophorn Harp (2010) darydama eksperimentą tyrė Naujojoje Zelandijoje auginamų uogų (mėlynių, kivių, braškių) vandeninių ekstraktų poveikį pienarūgštėms ir patogeninėms bakterijoms. Ji pastebėjo, kad tie patys ekstraktai turėjo augimą stimuliuojantį poveikį *Bifidobacterium* (Yoplait) ir *Lactobacillus casei* bakterijoms, tačiau slopinantį patogeniniams mikroorganizmams. Šiame tyrime, kaip ir Sophon Harp darytame eksperimente, pienarūgščių bakterijų augimo padidėjimas gali būti siejamas su daugybe aktyvių junginių esančių *Aronia melanocarpa* uoguose. Remiantis Molan ir kt. (2009) bakterijos naudoja ekstraktuose esančius fenolinius junginius augimui.

Juodųjų aronijų ekstraktų antimikrobinis poveikis buvo silpnas: vieninteliu atveju – esant 6,6% etanolinio ekstrakto koncentracijai ir 10^4 ksv/ml bakterijų skaičiui (*Weissella viridescens*), slopinamasis poveikis buvo virš 50%. Kiti gauti rezultatai – 18,25% mikroorganizmų inaktyvacija prie 3,3% etanolinio ekstrakto ir 15,58% prie vandeninio ekstrakto esant 10^4 ksv/ml *Weissella viridescens* kiekiui. Visų kitų bandymų rezultatai su šiomis pienarūgštėmis bakterijomis pasižymėjo silpnu poveikiu ir neturėjo reikšmingos įtakos augimui (19 pav., 20 pav.).

Panašaus tyrimo metu, kurį atliko Puppunen-Pimia (2005) nustatyta, jog gryni fenoliniai junginiai ir fenoliniai ekstraktai, gauti iš įprastų Šiaurės šalių uogų (mėlynių, spanguolių, raudonųjų aviečių, braškių, juodųjų serbentų, šaltalankių), turi antimikrobinį poveikį pasirinktoms žarnyno bakterijų rūšims, įskaitant probiotikų bakterijas ir nevirulentišką žarnyno patogenezės *Salmonella* mutantą. Gauti rezultatai parodė, kad uogų ekstraktai slopina gramneigiamų salmonelių ir *Escherichia padermių* bakterijas, bet neslopina gramteigiamų pienarūgščių bakterijų augimo. Aronijų išspaudų ekstraktas, tirtoms *Weissella viridescens* bei *Leuconostoc mesenteroides* pieno rūgšties bakterijoms, kitaip nei Šiaurės šalių uogų ekstraktai, turėjo slopinamąjį poveikį, nors ir silpną. Greičiausiai dėl didesnio antocianinų kiekio uoguose, nes remiantis Viškelio ir kt. (2009) duomenimis, antimikrobinės spanguolių savybės priklauso nuo antocionino kiekio jose.



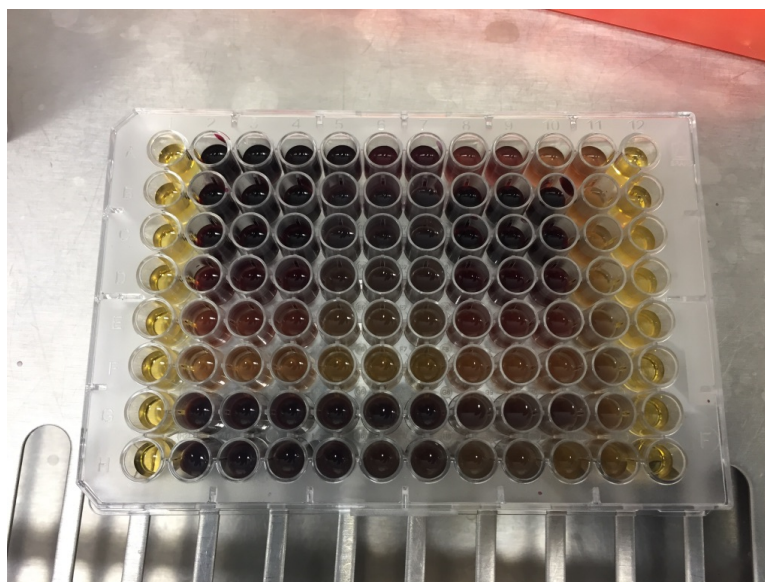
19 pav. *Weissella viridescens* bakterijų slopinimas



20 pav. *Leuconostoc mesenteroides* bakterijų slopinimas

Aronijų išspaudų ekstraktai turi stiprų ir statistiškai žymų poveikį tirtoms patogeninėms bakterijoms bei gedimą sukeliančios bakterijos, išskyrus gramteigiamas pienarūgšties bakterijas.

Gauti rezultatai patvirtina Krisch ir kt. (2008) hipotezę, kad geresnis bakterijų augimą slopinantis poveikis, yra alkoholinio, o ne vandeninio ekstrakto.



21 pav. Paruošta mikrolėkštelė mikroorganizmų inkubacijai

1.26 Mikrobiologinis tyrimas su termiškai apdorotu etanoliniu aronijų išspaudų ekstraktu

Šio tyrimo užduotis – ištirti terminio apdoravimo poveikį aronijų išspaudų ekstrakto antimikrobinėms savybėms.

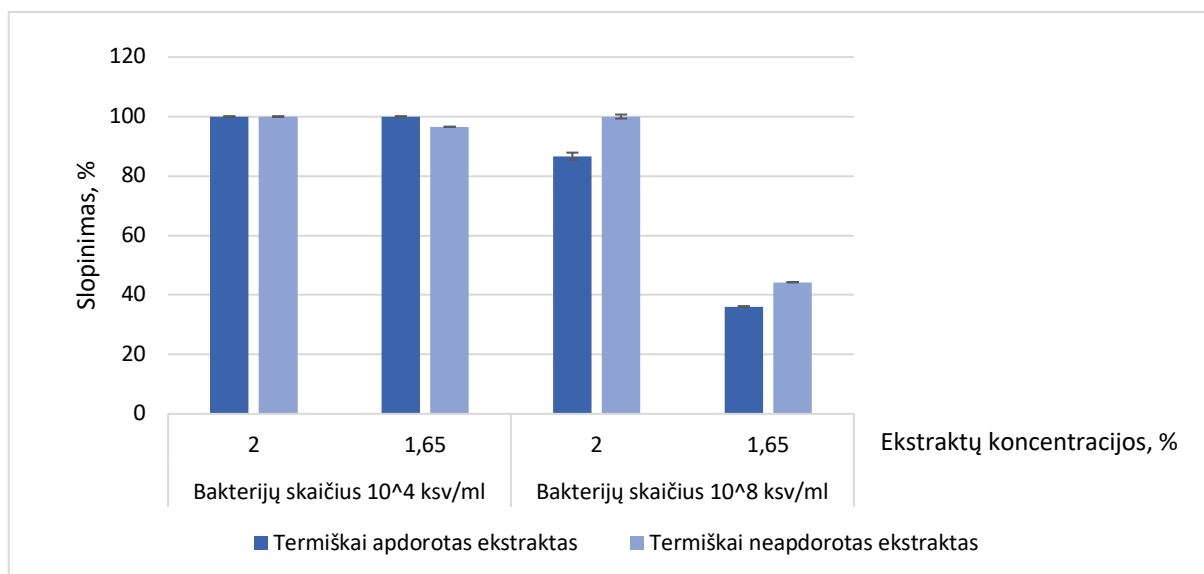
Gali būti, kad šildymas gali inaktyvuoti kai kuriuos junginius, turinčius antimikrobinę savybę, todėl ekstraktai tampa mažiau veiksmingi. Viename tyrime, darytame Witkowska ir kt. (2010), nustatyta, kad česnakai, kurie 20 minučių buvo autoklavuojami arba termiškai apdoroti 100 °C temperatūroje, visiškai neteko inhibitorinių savybių.

Siekiant geriau suprasti juodųjų aronijų išspaudų ekstrakto savybes ir ruošiantis tolimesniems termiškai apdoroto kumpio tyrimams, bei įvertinant, jog kiaulienos žalios mėsos burgeriai prieš vartojimą turi būti termiškai apdorojami, buvo atliktas tyrimas taikant terminį apdoravimą etanoliniu ekstraktu. Tolimesniems eksperimentams pasirinktas etanolinis ekstraktas dėl savo geresnių antimikrobinę savybių nei vandeninis ekstraktas. Tirtos *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas putida* bei *Brochothrix thermospacta* bakterijos, tačiau dviejų pastarųjų mikroorganizmų lėkštelėse buvo pastebėta kryžminė tarša ir jų rezultatai nepateikti. Naudotų ekstraktų koncentracijos atrinktos pagal ankstesnius tyrimus siekiant optimalių rezultatų sunaudojant mažiausiai ekstrakto.

Kaip matoma slopinimo 22 pav. – esant 10⁴ ksv/ml bakterijų skaičiui, ar kaitinant, ar ne – nėra statistiškai reikšmingo skirtumo. Tačiau nustatyta, kad pakaitinus ekstraktą antimikrobinis

poveikis reikšmingai skiriasi priklausomai nuo naudotos koncentracijos esant 10^8 ksv/ml mikroorganizmų kiekiui.

Tyrimo metu nustatytas statistiškai patikimas pokytis priklausantis nuo bakterijų skaičiaus (6 lentelė prieduose).



22 pav. *Listeria monocytogenes* bakterijų slopinimas.

1.27 Ekstrakto įtaka bakterijų augimui mėsos ištraukoje

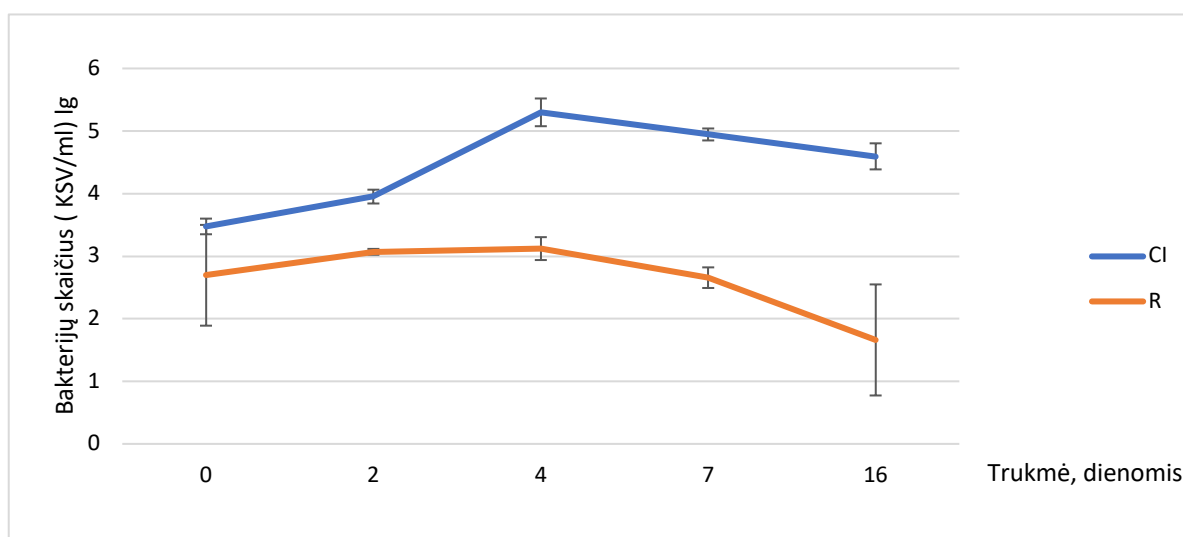
Šio tyrimo užduotis – ištirti *Aronia melanocarpa* etanolinio ekstrakto poveikį *Listeria monocytogenes*, *Brochotrix thermospacta*, *Pseudomonas putida* ir aerobinių mezofilinių bakterijų augimui mėsos ištraukoje.

1.27.1 Ekstraktų poveikis *Listeria monocytogenes* bakterijų augimui mėsos ištraukoje

Juodųjų aronijų išspaudų etanolinis ekstraktas patogenines *Listeria monocytogenes* bakterijas mėsos ištraukoje veikė bakteriostatiškai (22 pav.). Visomis tyrimo dienomis mikroorganizmų skaičius tiriamajame mėginyje R (mėsos ištrauka, inokuliuotos bakterijos ir ekstraktas) buvo mažesnis nei kontroliniame mikroorganizmų mėginyje CI (mėsos ištrauka ir inokuliuotos bakterijos). Didžiausias reikšmingas skirtumas tarp mėginių buvo 16 tyrimo dieną (7 lentelė prieduose). Petri lėkštelėse, kuriose sėjimai buvo daryti iš kontrolinių C (mėsos ištrauka)

ir CR (mėsos ištrauka ir ekstraktas) mėginių, *Listeria monocytogenes* bakterijų kolonijų neišaugo, kas identifikuoja, ekstrakto ir mėsos ištraukos mikrobiologinį švarumą šios bakterijos atžvilgiu bei kryžminės taršos nebuvimą.

Hasmik Hayrapetyan ir kt. (2012) darytame tyrime nustatė, kad 7,5% (svoris/ml) granatų žievelių ekstrakto *Listeria monocytogenes* veikia batericidiškai. Manoma, kad granatų antibakterinis poveikis, kaip ir juodavaisių aronijų, priklauso nuo fenolinių junginių kiekio.



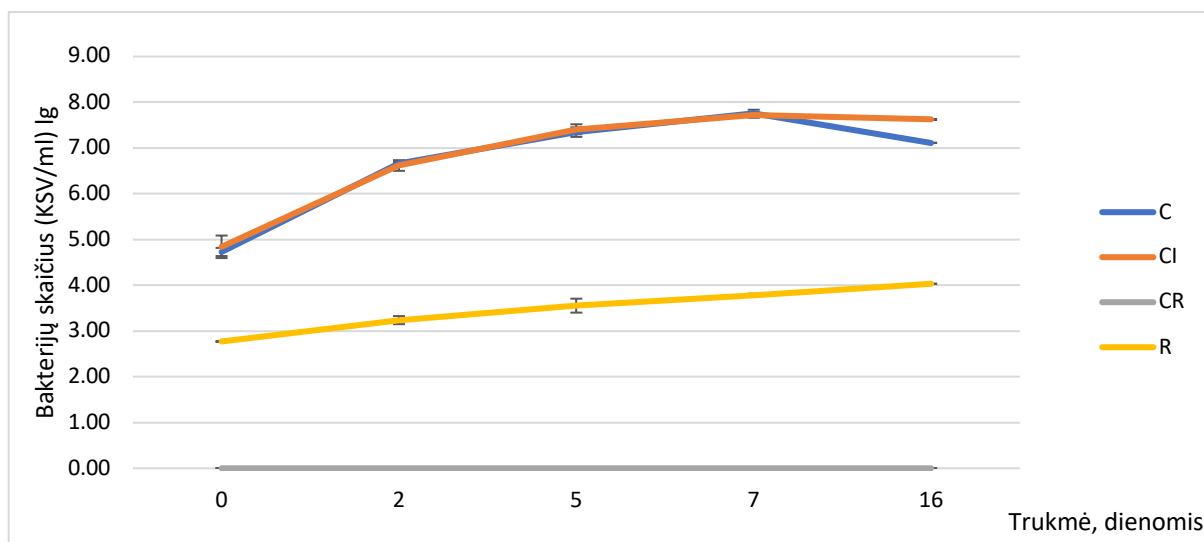
23 pav. *Listeria monocytogenes* bakterijų augimas mėsos ištraukoje

1.27.2 Ekstraktų poveikis *Brochothrix thermosphacta* bakterijų augimui mėsos ištraukoje

Etanolinis *Aronia melanocarpa* išspaudų ekstraktas *Brochothrix thermosphacta* veikė bakteriostatiškai – nuo tyrimo pradžios bakterijų skaičius tiriamajame mėginyje R ir mikroorganizmų kontroliniame mėginyje CI buvo reikšmingai mažesnis - skirtumas didesnis nei 2 lg KSV/ml. Svarbu paminėti, kad natūraliai mėsoje buvo šios rūšies bakterijų, o eskperimento 0 dieną C mėginyje (mėsos ištrauka) *Brochothrix thermosphacta* buvo 4,73 lg ksv/ml, o laikant mėginius šios bakterijos pradėjo sparčiai daugintis. Į mėsos ištrauką neinokuliuvus mikroorganizmų, etanolinis ekstraktas veikė batericidiškai (8 lentelė prieduose, 24 pav.), tai yra, sėjimo į lėkšteles būdu, gyvybingų mikroorganizmų nebuvo aptikta.

Pagal Holley ir kt. (2005) atliktus tyrimu, didelė koncentracija ekstrakto yra būtina siekiant gauti antimikrobinį poveikį maisto produktuose. Priežastys gali būti antimikrobinių komponentų imobilizavimas riebalais, baltymais ar angliavandeniais, vandens aktyvumo skirtumai, bakterijų

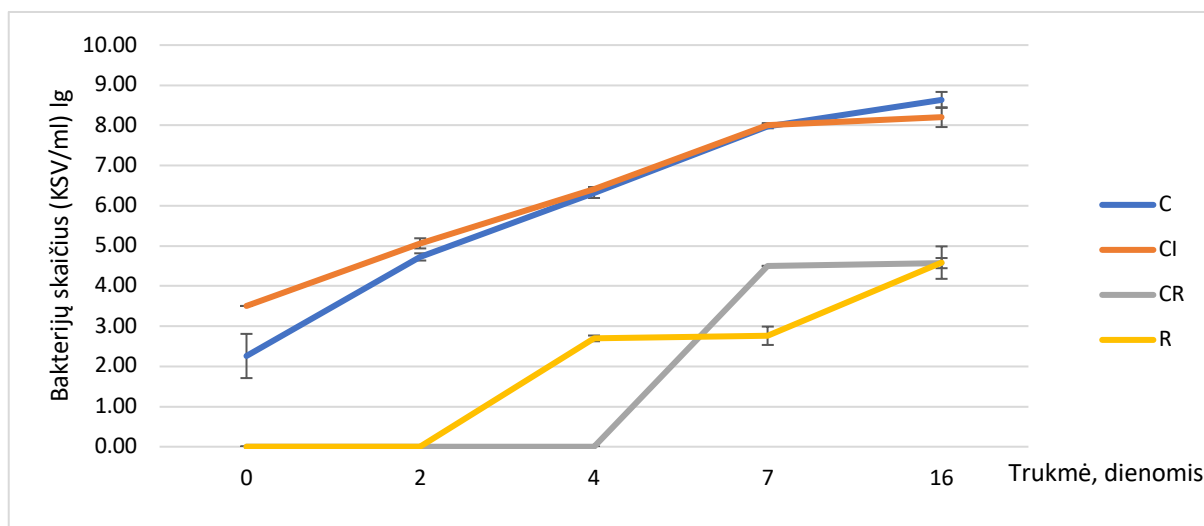
rūšių sąveika ar bakterijų pokyčiai, dėl kurių jie mažiau jautrūs antimikrobinėms medžiagoms maisto sistemose (65). Galbūt dėl to, modelinėje mėsos sistemoje ekstrakto poveikis baktericidinis CR mėginyje, kuriame nėra inokuliuotų bakterijų, ir bakteriostatiškas R mėginyje, kuriame yra didesnis *Brochothrix thermosphacta* skaičius.



24 pav. *Brochothrix thermosphacta* bakterijų augimas mėsos ištraukoje

1.27.3 Ekstraktų poveikis *Pseudomonas putida* bakterijų augimui mėsos ištraukoje

Etanolinis aronijų išspaudų ekstraktas *Pseudomonas putida* bakterijas, kaip ir *Brochothrix thermosphacta*, veikė bakteriostatiškai. Lyginant CI kontrolinį mėginį (mėsos ištrauka ir mikroorganizmais) ir R mėginį (mėsos ištrauka, inokuliuotomis bakterijomis bei ekstraktas) matomas reikšmingas skirtumas – bandiniuose su ekstraktu užfiksuotas nuo 2 iki 5 lg KSV/ml mažesnis bakterijų skaičius skirtingomis dienomis (25 pav.). Didžiausias mikroorganizmų slopinimas buvo 7 tyrimo dieną. Natūralus mėsos gedimas matomas pagal kontrolinio mėsos ištraukos (C mėginys) bandinio rezultatus. Mėsos ištraukoje, lyginant mėginius, kuriuose buvo ekstrakto (R ir CR mėginys) bei tuos, kuriuose nebuvo (C ir CI) buvo užfiksuotas reikšmingas skirtumas – ekstraktas 0 ir 2 dienomis veikė baktericidiškai, o nuo 4 bakteriostatiškai (9 lentelė prieduose).



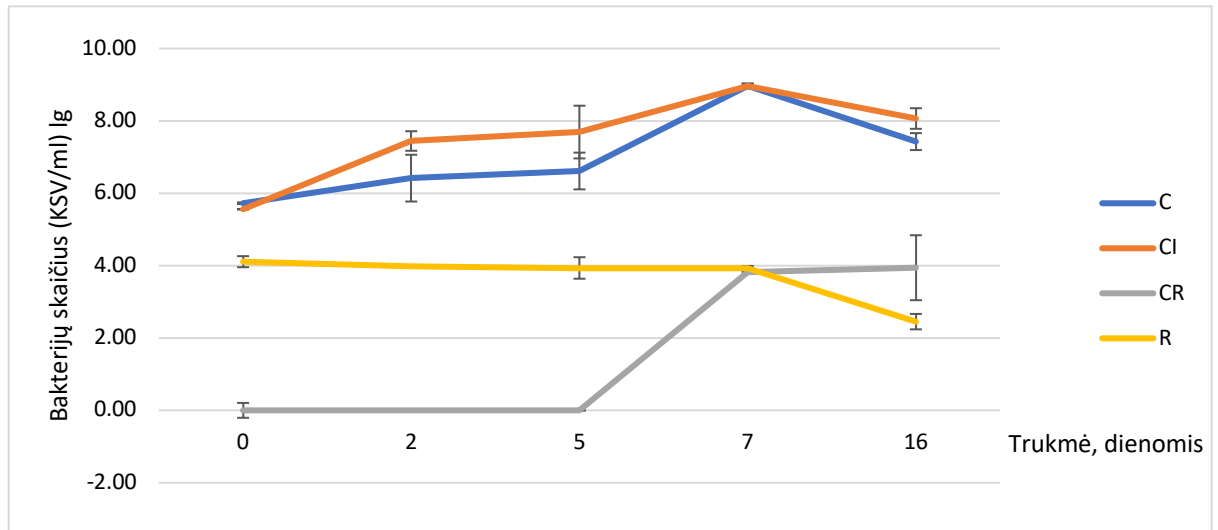
25 pav. *Pseudomonas putida* bakterijų augimas mėsos ištraukoje

1.27.4 Ekstraktų poveikis aerobinių mezofilinių bakterijų augimui mėsos ištraukoje

Aerobinės mezofilinės bakterijos matuojamos siekiant nustatyti bendrą bakterijų skaičių mėsoje. Jas, kaip ir kitas šiame tyrime naudotas bakterijas, *Aronia melanocarpa* išspaudų ekstraktas veikė bakteriostatiškai. Aerobinių mezofilinių bakterijų kiekis 0 tyrimo dieną galimai yra didelis dėl *Brochothrix thermosphacta* ir *Pseudomonas putida* bakterijų natūralaus buvimo mėsoje, todėl ir aerobinių mezofilinių bakterijų skaičius šiame mėginyje nėra reikšmingai skirtingas nei kontroliniame mikroorganizmų bandinyje CI (26 pav., 10 lentelė prieduose).

Tiriamajame R mėginyje (mėsos ištrauka, inokuluotos bakterijos ir ekstraktas), statistiškai patikimas skirtumas užfiksuotas tik paskutinįjį tyrimo dieną. Kontroliniame CR mėginyje (mėsos ištrauka ir ekstraktas) aronijų ekstraktas 0–5 dienomis veikė baktericidiškai, o vėliau – bakteriostatiškai.

Pagal Komisijos Reglamentą (EB) 1441/2007, iš dalies keičiantis Reglamentą (EB) Nr. 2073/2005 dėl maisto produktų mikrobiologinių kriterijų, smulkintai mėsai $m - 5 \times 10^5$ ksv/g, o M - 5×10^6 ksv/g. Aerobinių kolonijų skaičius smulkintoje kiaulienoje yra patenkinamas, jeigu dienos vidurkio logaritmas yra $\leq m$; priimtinas, jeigu dienos vidurkio logaritmas yra tarp m ir M bei nepatenkinamas, jeigu dienos vidurkio logaritmas yra $> M$. Pagal literatūrinius šaltinius (67), mėsa laikoma sugedusi, skaičiuojant aerobines mezofilines bakterijas, jas sėjant ant PCA Petri lėkštelių bazės giluminiu būdu, kai bakterijų skaičius $\geq 10^6$ ksv/ml. Viso tyrimo metu, nei viename bandinyje mėsos ištrauka su aronijų išspaudų ekstraktu nebuvo sugedusi.



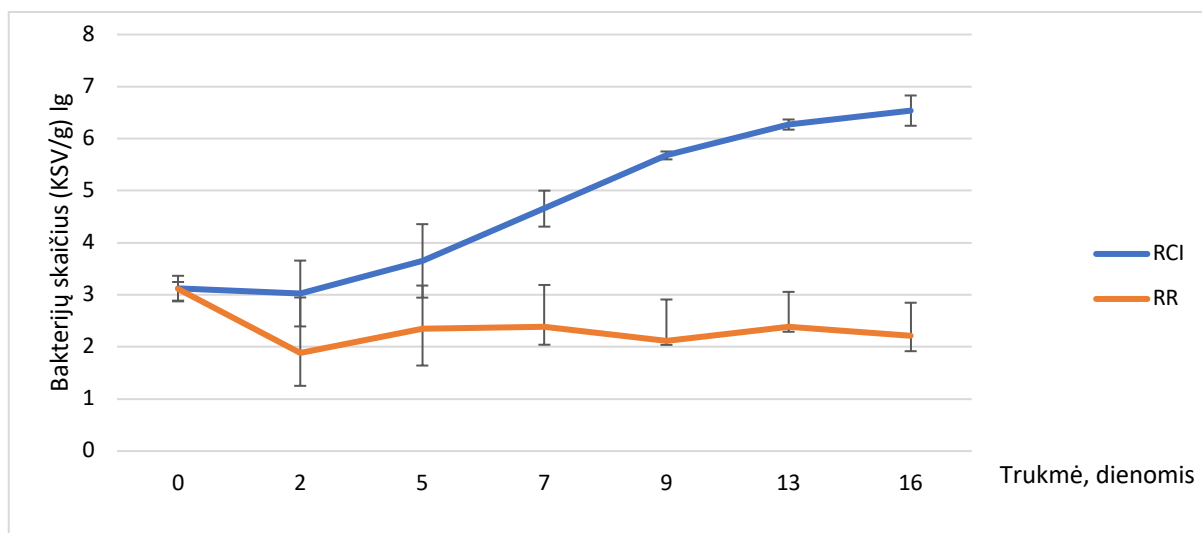
26 pav. Aerobinių mezofilinių bakterijų augimas mėsos ištraukoje

1.28 Aronijų išspaudų ekstrakto įtaka bakterijų augimui kiaulienos mėsainiuose

Šio tyrimo užduotis – ištirti *Aronia melanocarpa* etanolinio ekstrakto poveikį *Listeria monocytogenes*, *Brochothrix thermospacta*, *Pseudomonas putida*, pienarūgščių ir aerobinių mezofilinių bakterijų augimui kiaulienos mėsainiuose.

1.28.1 Ektrakto poveikis *Listeria monocytogenes* bakterijų augimui kiaulienos mėsainiuose

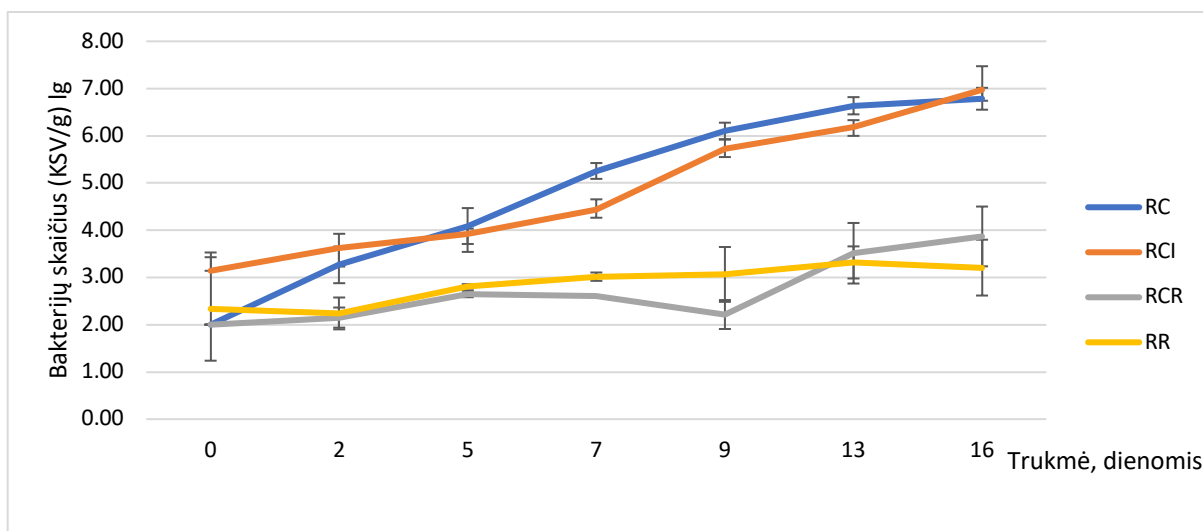
Aronia melanocarpa išspaudų etanolinis ekstraktas patogenines *Listeria monocytogenes* bakterijas veikė bakteriostatiškai (27 pav.). Visomis tyrimo dienomis (išskyrus 0 – mikroorganizmų inokuliavimo dieną), tiriamajame RR (smulkinta kiauliena, ekstraktas, inokuliuoti mikroorganizmai) mėginyje, bakterijų skaičius neviršijo lg 2,5 ksv/g ir buvo užfiksuotas žymus statistiškai patikimas skirtumas lyginant su mikroorganizmų kontroliniu mėginiu RCI (smulkintos kiaulienos mėsainis, inokuliuoti mikroorganizmai). Kaip mėsos ištraukos tyrime, iš kontrolinių mėginių RC (smulkintos kiaulienos mėsainis) ir RCR (smulkintos kiaulienos mėsainis su ekstraktu) darytuose sėjimuose, *Listeria monocytogenes* bakterijų kolonijų neišaugo, kas identifikuoja, apie ekstrakto ir žalios mėsos mikrobiologinį švarumą šios bakterijos atžvilgiu bei kryžminės taršos nebuvimą (11 lentelė prieduose).



27 pav. *Listeria monocytogenes* bakterijų augimas kiaulienos mėsainiuose

1.28.2 Ekstrakto poveikis *Brochothrix thermosphacta* bakterijų augimui kiaulienos mėsainiuose

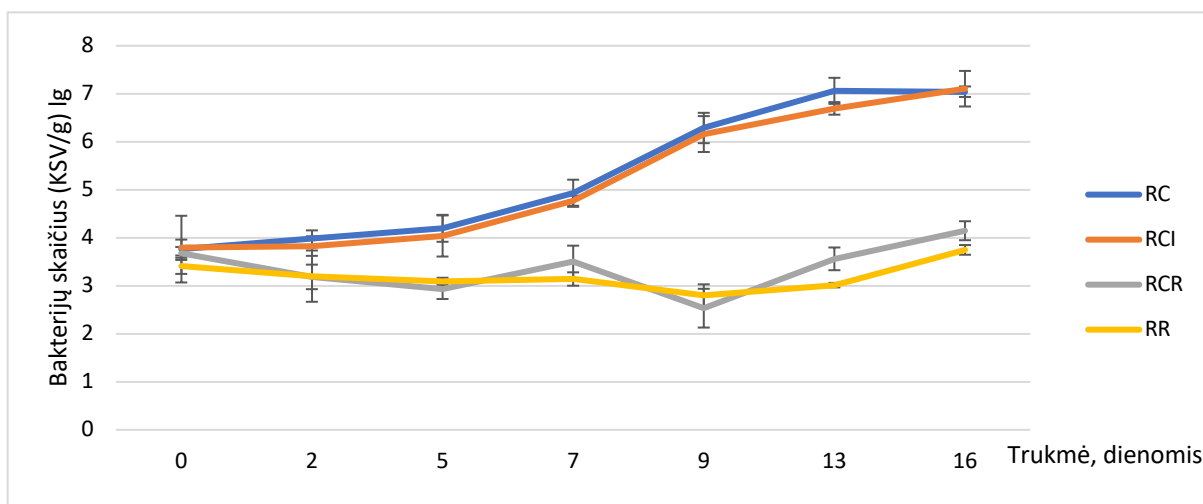
Juodavaisių aronijų etanolinis ekstraktas gedimą mėsoje sukeliančias bakterijas *Brochothrix thermosphacta* veikė bakteriostatiškai. Tiriamajame bandinyje RR (smulkintos kiaulienos mėsainis, etanolinis ekstraktas ir inokuliuotos bakterijos) lyginant su kontroliniu mikroorganizmų bandiniu RCI (smulkintos kiaulienos mėsainis ir inokuliuotis bakterijos) buvo statistiškai reikšmingas bakterijų skaičiaus skirtumas (28 pav. ir 12 lentelė prieduose). Svarbu paminėti, kad natūraliai mėsoje buvo šios rūšies bakterijų, o eskperimento 0 dieną RC mėginyje (smulkinta kiauliena) *Brochothrix thermosphacta* buvo 2 lg ksv/ml, o laikant mėginius šios bakterijos pradėjo sparčiai daugintis. Lyginant mėginius, kuriuose buvo *Aronia melanocarpa* išspaudų etanolinio ekstrakto RR ir RCR (smulkintos kiaulienos mėsainis ir ekstraktas) bei bandinius be ekstrakto, RCI ir RC, matomas reikšmingas bakteriostatiškas poveikis (žr. 28 pav. ir 12 lentelė prieduose).



28 pav. *Brochothrix thermosphacta* bakterijų augimas kiaulienos mėsainiuose

1.28.3 Ekstrakto poveikis *Pseudomonas putida* bakterijų augimui kiaulienos mėsainiuose

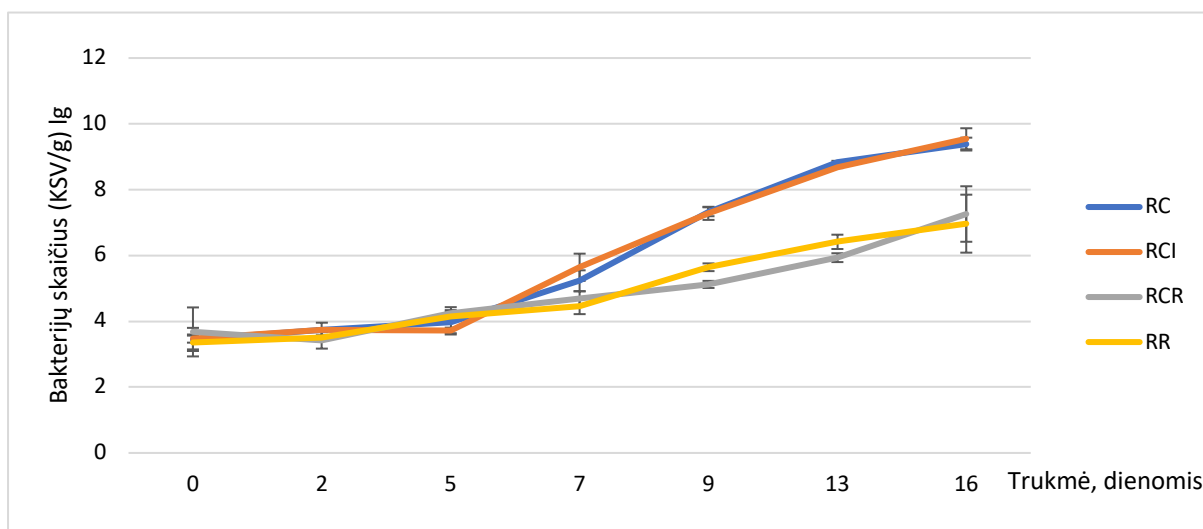
Etanolinis *Aronia melanocarpa* išspaudų ekstraktas *Pseudomonas putida* bakterijas veikė bakteriostatiškai (29 pav. ir 13 lentelė prieduose). Iš rezultatų matoma, kad šios rūšies bakterijų natūraliai buvo mėsoje. Tačiau, nepaisant to, buvo statistikai reikšmingas skirtumas lyginant mėginius, kuriuose buvo juodavaisių aronijų ekstrakto - tiriamąjį mėginį RR (smulkintos kiaulienos mėsainis, inokuliuotos bakterijos ir ekstraktas) bei kontrolinį RCR bandinį (smulkinta kiauliena ir ekstraktas) – bei kitus du mėginius, kuriuose nebuvo ekstrakto – kontrolinius RCI (smulkintos kiaulienos mėsainis ir inokuliuoti mikroorganizmai) ir RC (smulkintos kiaulienos mėsainis). Įvertinus tai, kad mėsoje natūraliai buvo *Pseudomonas putida* bakterijų, reikia pabrėžti, kad juodavaisių aronijų ekstrakto poveikis yra pakankamai stiprus.



29 pav. *Pseudomonas putida* bakterijų augimas kiaulienos mėsainiuose

1.28.4 Ekstrakto poveikis pienarūgščių bakterijų augimui kiaulienos mėsauiuose

Nors pirmosiomis tyrimo dienomis reikšmingo skirtumo tarp kontrolinių ir tiramojo bandinio nebuvo, nuo 7 bandymo dienos buvo statistiškai patikimas pokytis tarp mėginių su etanoliniu ekstraktu RR (smulkintos kiaulienos mėsaui, inokuliuoti mikroorganizmai) ir RCR (smulkinta kiauliena ir ekstraktas) bei be ekstrakto – RCI (smulkintos kiaulienos mėsaui ir inokuliuoti mikroorganizmai) ir RC (smulkintos kiaulienos mėsaui). Svarbu paminėti, kad nei vienos iš inokuliuotų (*Brochothrix thermosphacta*, *Pseudomonas putida*, *Listeria monocytogenes*) bakterijų nebuvo pienarūgštės ir šio tyrimo metu nagrinėjamas ekstrakto poveikis natūraliai mėsoje esančioms pieno rūgšties bakterijoms. Dėl to 0 dieną visose Petri lėkštelėse iš skirtingų mėginių (RC, RCR, RR ir RCI) išaugo panašus skaičius pienarūgščių bakterijų kolonijų lg ksv/g .

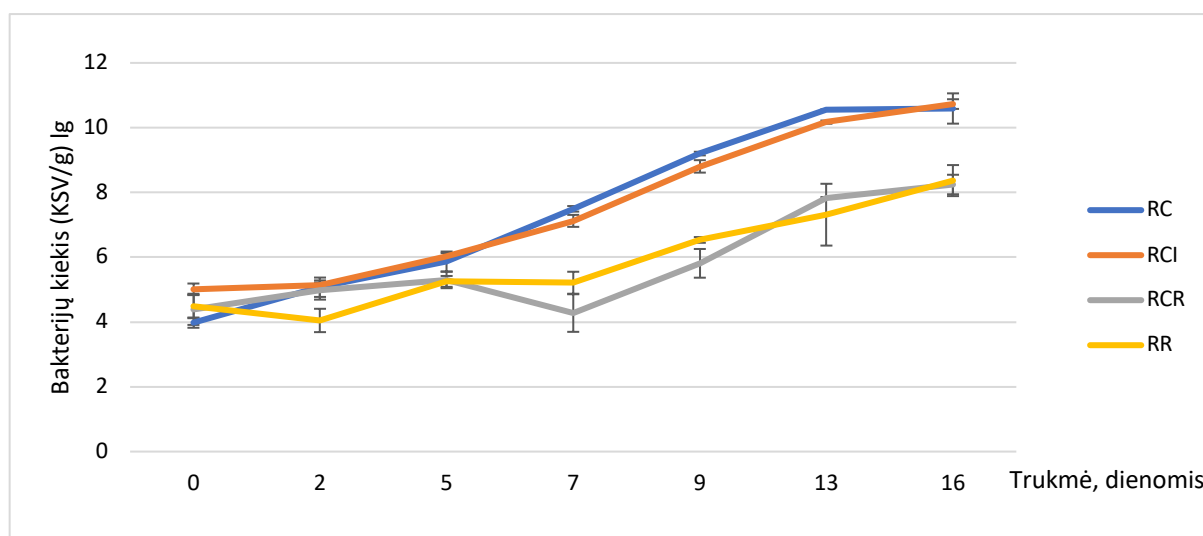


30 pav. Pienarūgščių bakterijų augimas kiaulienos mėsauiuose

1.28.5 Ekstrakto poveikis aerobinių mezofilinių bakterijų augimui kiaulienos mėsauiuose

Aerobinių mezofilinių bakterijų kiekis 0 tyrimo dieną galimai yra didelis dėl *Brochothrix thermosphacta*, *Pseudomonas putida* ir pienarūgščių bakterijų natūralaus buvimo mėsoje. Tačiau, kaip ir pienarūgščių bakterijų augimo tyrimo metu, taip ir tiriant aerobinių mezofilinių bakterijų augimą, statistiškai reikšmingas skirtumas tarp mėginių su ekstraktu RCR (smulkinta kiauliena ir ekstraktas) bei RR (smulkinta kiauliena, inokuliuotos bakterijos ir ekstraktas)) ir be jo (RC (smulkinta kiauliena) ir RCI (smulkinta kiauliena, inokuliuoti mikroorganizmai)) matomas nuo 7 tyrimo dienos. 13 bandymo dieną buvo užfiksuotas didžiausias išaugusių bakterijų kolonijų

skaičiaus skirtumas tarp iš tiriamojo mėginio RR ir kontrolinio mikroorganizmų mėginio RCI paimtų bandinių –Petri lėkštelėse išaugusių bakterijų kolonijų skirtumas buvo lg 2,86 ksv/g (31 pav., 15 lentelė prieduose). Kaip minėta anksčiau, smulkinta mėsa laikoma sugedusi, kai bendras mikroorganizmų kiekis 1 grame viršija 5×10^6 KSV. Lyginant kontrolinius RC (smulkinta kiauliena) ir RCR (smulkinta kiauliena ir ekstraktas) mėginius, nustatyta, kad mėšainiai sugedo atitinkamai po 5 ir 10 dienų – ekstrakto priedas prailgino galiojimo laiką 5-mis dienomis.



31 pav. Aerobinių mezofilinių bakterijų augimas kiaulienos mėšainiuose

1.28.6 Fizikocheminiai kiaulienos mėšainių rodikliai

Fizikocheminiai tyrimai buvo daromi su tais mėginiais, kurie nebuvo inokuliuoti bakterijomis – RC (smulkinta kiauliena) ir RCR (smulkinta kiauliena ir ekstraktas). Kaip matoma iš rezultatų (7 lentelė), ekstraktas turėjo reikšmingą įtaką tokiems fizikocheminiams rodikliams, kaip vandenilio jonų koncentracija (pH), vandens aktyvumas (a_w), spalva (L^* , a^* ir b^* reikšmės), metmioglobino kiekis ir malonaldehido kiekis.

Vandens aktyvumas – produkto viso vandens dalis, kuri nesujungta su koloidais ar kitomis cheminėmis medžiagomis ir kuri gali būti naudojama mikroorganizmų cheminiams, fizikiniams, biologiniams procesams (68). Jis svarbus bakterijų augimui, nes apie 75–100% mikroorganizmo ląstelės sudaro vanduo. Su vandeniu į ląstelę patenka maisto medžiagos ir su juo šalinami medžiagų apykaitos produktai. Gramteigiamų bakterijų augimui optimalus $a_w=0,96-0,95$, gramneigiamų $a_w=0,97-0,90$. Esant mažesniai vandens aktyvumui ($a_w=0,94-0,90$) dauguma bakterijų nustoja augti. Tyrimo su kiaulienos mėšainiais metu, vandens aktyvumas kontroliniuose bandiniuose ir mėginiuose su ekstraktu buvo nuo 0,988 iki 0,997 (7 lentelė) – labiau tinkamas

gramneigamoms bakterijoms *Pseudomonas putida*, nei gramteigiamoms *Listeria monocytogenes* bei *Brochothrix thermospacta*.

Vandenilio jonų koncentracija (pH) parodo terpės rūgštingumo ar šarmingumo laipsnį. Dauguma bakterijų auga neutralioje arba silpnai šarminėje terpėje (pH 6,5 – 7,5). Tyrime naudotų bakterijų optimalus terpės pH – *Pseudomonas putida* 5,5 - 7,6, *Brochothrix thermosphacta* 7,0 (auga nuo pH 5–9), *Listeria monocytogenes* 7,0 (69), (terpės pH, kurioje auga 4–9,6). Ekstraktas turėjo įtakos mėšainių pH vertėms – sumažino jas nuo pH 6,04 iki 4,48 (0 diena, nustatyta žemiausia tiriamojo RCR mėginio pH reikšmė, 7 lentelė), nes pačio ekstrakto pH buvo 2,81. Vandenilio jonų koncentracija kontroliniame RC mėginyje ir tiriamajame RCR mėginyje reikšmingai skirėsi. Terpės rūgštingumas mėginyje su ekstraktu buvo netinkamas bakterijoms augti ir tai galėjo turėti įtaką bakteriostatiniam poveikiui.

Ekstraktas turėjo didelę įtaką mėšainių spalvai, greičiausiai dėl didelio antocianinų kiekio juodavaisėse aronijose. Kaip minėta anksčiau, antocianinai yra vandenyje tirpūs pigmentai, sudarantys tamsiai mėlyną uogų spalvą (50). Užfiksuotas statistiškai reikšmingas pokytis visoms spalvos charakteristikų reikšmėms (L^* , a^* , b^*), (7 lentelė).

Ektrakto pridėjimas turėjo reikšmingą įtaką metmioglobino kiekiui tiriamajame mėginyje. Gali būti, jog sumažinta metmioglobino koncentracija yra dėl antioksidacinių juodavaisių aronijų savybių (remiantis T.Brazdauskas, *Aronia melanocarpa* yra stiprus antioksidantas) ir tai suteikia mėšainiui stabilesnę spalvą, lyginant su kontroliniu mėginiu.

Maldonaldehido kiekiui mėginiuose *Aronia melanocarpa* pridėjimas turėjo statistiškai patikimą pokytį. Jis nustatomas, norint pamatuoti lipidų peroksidaciją. Mažesnės malonaldehido reikšmės, galimai gali būti dėl juodavaisių aronijų antioksidacinių savybių. Didesnis metmioglobino kiekis nustatytas mėginiuose su juodavaisių aronijų ekstrakto priedu.

7 lentelė. Fizikocheminės RC ir RCR mėginių savybės tyrimo metu

Diena	Mėginys	pH	a _w	Spalvos charakteristika			MetMb, %	Malonaldehidas, mg/kg
				L*	a*	b*		
Diena 0	RC	6,04±0,02 ^{bc*}	0,997±0,002 ^d	57,03±5,8 ^b	5,02±1,91 ^{ab}	15,31±1,35 ^{abc}	45±1,44 ^{ab}	0,351±0,152 ^a
	RCR	4,48±0,01 ^a	0,992±0,001 ^a	26,46±2,23 ^a	12,39±0,72 ^d	(-4,16) ±0,46 ^a	67,66±1,94 ^b	0,11±0,07 ^a
Diena 2	RC	6,13±0,04 ^d	0,992±0,003 ^{bc}	53,77±3,48 ^{ab}	7,49±1,38 ^d	16,91±1,42 ^d	52,61±2,82 ^d	0,397±0,034 ^a
	RCR	4,64±0,02 ^b	0,994±0,002 ^b	35,56±3,16 ^{bc}	9,48±1,2 ^c	(-3,71) ±0,35 ^{ab}	63,96±0,08 ^a	0,3±0,01 ^b
Diena 5	RC	6,07±0,03 ^c	0,994±0,001 ^{bcd}	55,86±4,84 ^{ab}	6,8±2,13 ^{cd}	16,51±1,9 ^{cd}	45,96±1,53 ^{cd}	0,403±0,013 ^a
	RCR	4,61±0,01 ^b	0,994±0,001 ^b	36,52±5,07 ^{bc}	9,08±1,18 ^{abc}	(-3,62) ±0,64 ^{ab}	62,71±1,34 ^a	0,32±0,04 ^{bc}
Diena 7	RC	6,09±0,04 ^{cd}	0,988±0,003 ^a	55,97±4,74 ^{ab}	6,5±1,25 ^{bcd}	14,39±3,37 ^{ab}	48,13±1,81 ^{bc}	0,479±0,055 ^a
	RCR	4,6±0,02 ^b	0,992±0,001 ^b	34,69±5,1 ^{bc}	8,16±1,07 ^{abc}	(-2,92) ±0,56 ^{bc}	64,94±2,22 ^{ab}	0,37±0,02 ^c
Diena 9	RC	5,99±0,05 ^b	0,991±0,003 ^{ab}	51,4±5,52 ^a	6,56±0,82 ^{cd}	13,7±1,15 ^a	47,67±2,62 ^{bc}	0,814±0,178 ^b
	RCR	4,61±0,01 ^b	0,994±0,001 ^{ab}	32,77±3,09 ^b	7,14±1,47 ^a	(-3,6) ±0,42 ^{ab}	65,94±3,38 ^{ab}	0,48±0,02 ^d
Diena 13	RC	5,5±0,03 ^a	0,995±0,001 ^{cd}	53,84±2,62 ^{ab}	5,23±0,47 ^{bc}	13,69±1,58 ^a	43,68±0,7 ^a	0,944±0,011 ^b
	RCR	4,64±0,01 ^b	0,992±0,002 ^{ab}	37,4±4,34 ^{bc}	8,55±1,45 ^{abc}	(-3,91) ±0,91 ^{ab}	63,49±1,37 ^a	0,51±0,01 ^d
Diena 16	RC	5,51±0,05 ^a	0,993±0,003 ^{bc}	53,64±2,56 ^{ab}	4,51±0,33 ^a	13,57±2,42 ^a	49,9±2,06 ^{cd}	1,394±0,097 ^c
	RCR	4,62±0,01 ^b	0,992±0,001 ^a	37,45±4,05 ^c	7,84±1,23 ^{bc}	(-2,18) ±0,89 ^c	65,36±0,36 ^{ab}	0,57±0,05 ^e

*statistinė analizė tarp mėginių lyginant skirtingus mėginius tą pačią dieną.

Drėgmės, riebalų ir baltymų kiekis buvo nustatytas 0 tyrimo dieną. Drėgmė yra svarbi mikroorganizmų veiklai – daugumos bakterijų veikla sustoja, kai vandens kiekis terpėje sumažėja iki 20–30%. *Aronia melanocarpa* etanolinio ekstrakto pridėjimas į mėginius neturėjo reikšmingo statistinio skirtumo drėgmės kiekiui (8 lentelė). Baltymų ir riebalų kiekis gali arba skatinti, arba slopinti bakterijų augimą mėginyje (70), tačiau ekstrakto priedas neturėjo reikšmingos įtakos baltymų ir riebalų kiekiui mėginiuose.

8 lentelė. Drėgmės, baltymų ir riebalų kiekis kiaulienos mėsainiuose

Mėginys	Drėgmės kiekis, %	Riebalų kiekis, %	Baltymų kiekis, %
RC	57,08±1,68 ^a	28,84±0,32 ^b	11,07±0,32 ^a
RCR	54,46±1,73 ^a	25,5±0,65 ^a	11,86±0,47 ^a

* statistinė analizė atlikta lyginant vieną rodiklį skirtuose mėginiuose.

1.28.7 Juslinė kiaulienos mėsainių analizė

Ektrakto pridėjimas turėjo reikšmingą pokytį išsiskyrusiai drėgmei paviršiuje (gaminio paviršiuje esančiam laisvam vandeniui), spalvos bei aromato intensyvumui tiriamajame mėginyje RCR lyginant jį su kontroliniu mėginiu RC (9 lentelė). Pagal vertintojų komentarus, 0 bandymo dieną, kiaulienos mėsainiai su ekstraktu buvo tamsiai violetinės spalvos ir turėjo stiprų aronijų uogų (taip kvapą indentifikavo 60% vertintojų), vyno (30%) ir slyvų (10%) kvapą. Laikui einant, mėsainių spalva prarado savo intensyvumą, išsiskyrusios drėgmės paviršiuje mėginio homogeniškumas mažėjo, tačiau kvapo intensyvumas stiprėjo.

9 lentelė. Juslinėje analizėje vertintų kiaulienos mėsainių mėginių savybės

Mėginys	Homogeniškumas	Paviršiaus drėgmė	Spalvos intensyvumas	Spalvos pokytis	Aromato intensyvumas
RC	3±1,08 ^a	2,32±1,00 ^a	2,22±0,91 ^a	2,1±1,22 ^a	2,82±1,32 ^a
RCR	3,16±1,12 ^a	2,77±1,08 ^b	4,24±0,72 ^b	1,81±0,83 ^a	3,73±0,72 ^b

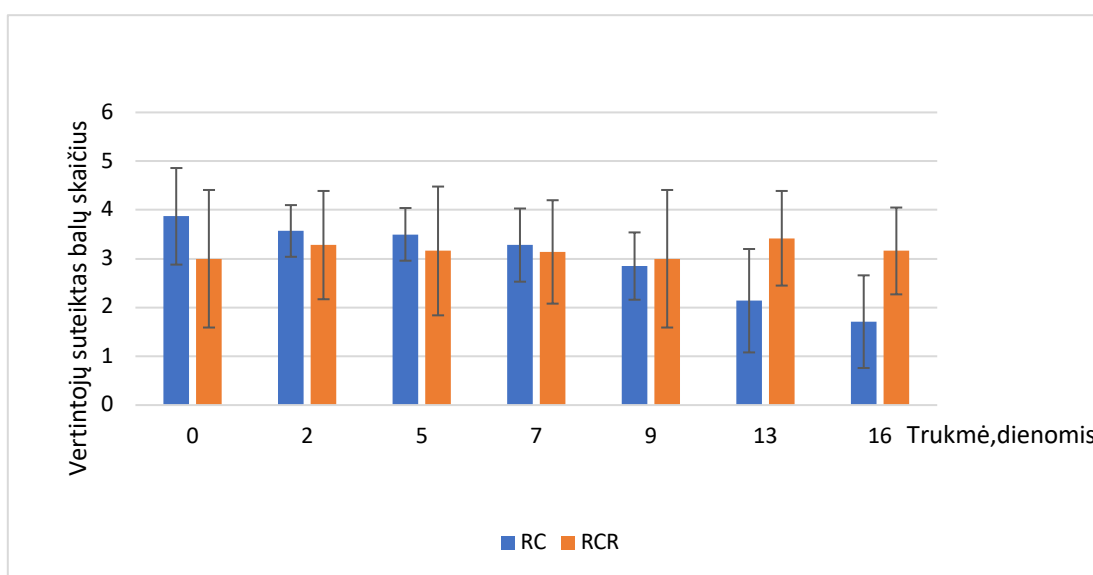
* statistinė analizė atlikta lyginant vieną požymį skirtinguose mėginiuose.

10 lentelė. Jusilinėje analizėje vertintų kiaulienos mėsainių savybių kitimas tyrimo eigoje

Mėginys/diena	0	2	5	7	9	13	16
Homogeniškumas	3,44±1,26 ^b	3,42±0,85 ^b	3,33±0,98 ^b	3,21±0,89 ^{ab}	2,92±1,07 ^{ab}	2,78±1,18 ^{ab}	2,42±1,15 ^a
Paviršiaus drėgmė	3,12±1,14 ^c	2,64±1,15 ^{abc}	2,25±1,05 ^{ab}	3±1,11 ^{bc}	2,21±0,86 ^a	2,42±0,81 ^{abc}	2,07±0,91 ^a
Spalvos intensyvumas	3,5±1,41 ^{ab}	3,57±1,28 ^b	3,41±1,16 ^{ab}	3,21±1,31 ^{ab}	3,36±0,92 ^b	2,71±1,32 ^{ab}	2,57±1,45 ^a
Spalvos pokytis	0±0 ^a	1,5±0,85 ^{ab}	1,91±0,79 ^b	1,85±0,66 ^b	1,71±0,61 ^b	2,71±1,06 ^c	3,07±1,62 ^c
Kvapo intensyvumas	2,75±1,29 ^a	3,21±1,18 ^{abc}	3,16±1,26 ^{abc}	3,07±1,32 ^{ab}	3,21±0,97 ^{abc}	4±0,67 ^c	3,71±0,91 ^{bc}

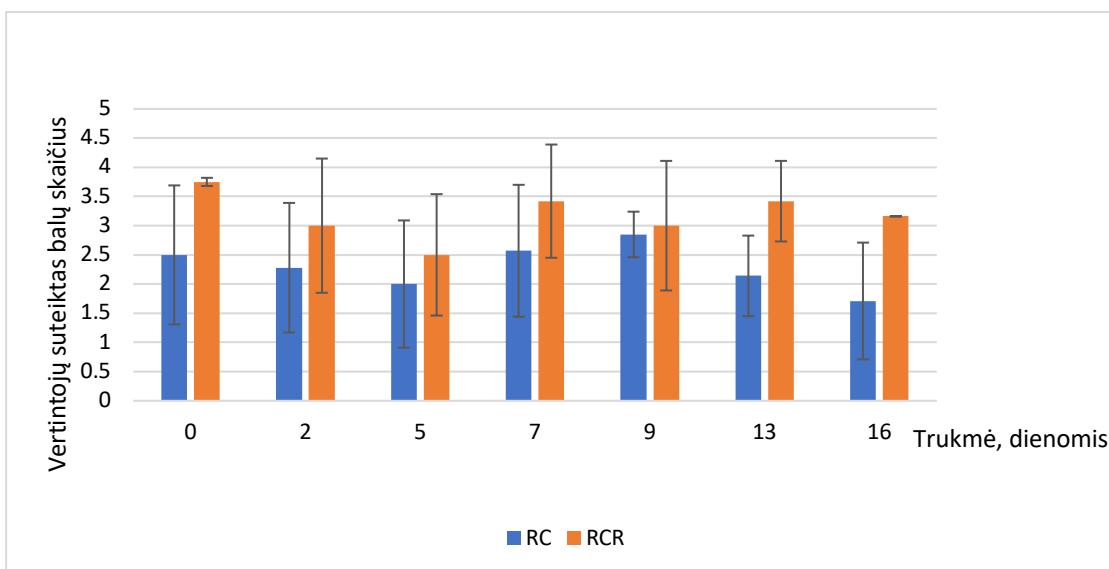
* statistinė analizė atlikta lyginant vieną požymį skirtingomis dienomis.

Lyginant tiriamojo mėginio RCR ir kontrolinio mėginio RC homogeniškumą, iš (32 pav.) matoma, kad tyrimo pradžioje juslinės analizės dalyviai, aukštesniu balu įvertino RC bandinį, tačiau jis palaipsniui mažėjo ir nuo 7 dienos geriau vertintas tiriamasis mėginys (32 pav., aukštesnis balas parodo didesnę homogeniškumą).



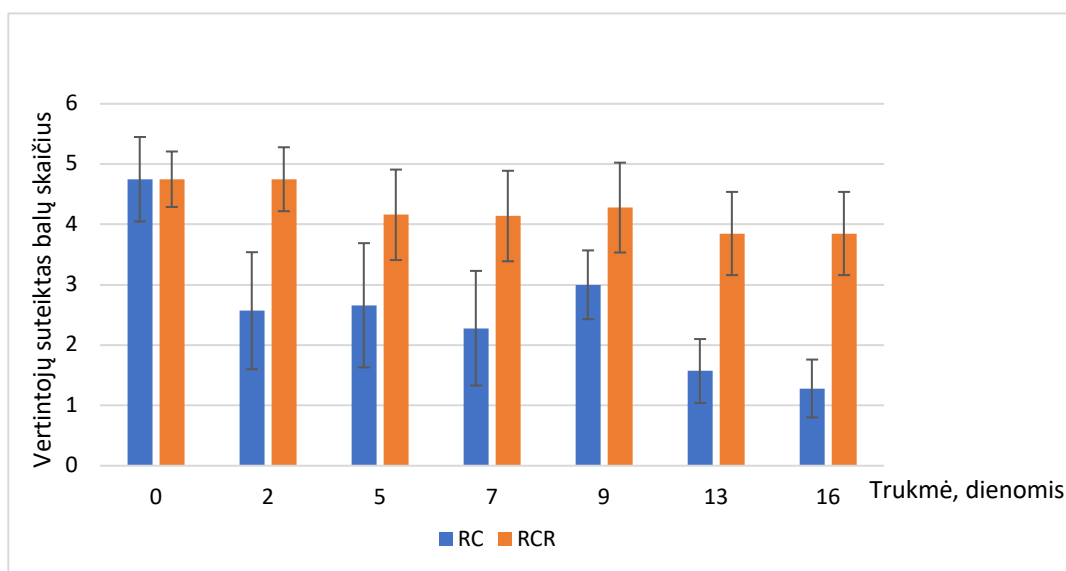
32 pav. Tiriamų mėsainių mėginių homogeniškumo įvertinimas

Išsiskyrusi drėgmė paviršiuje visomis tyrimo dienomis buvo didesnė bandinio su juodavaisių aronijų ekstraktu (RCR) – tai statistiškai patikimas skirtumas. Taip gali būti dėl RCR mėginio mažesnio vandens aktyvumo tyrimo pradžioje (7 lentelė; 33 pav., aukštesnis balų skaičius parodo didesnę kiekį išsiskyrusios drėgmės paviršiuje).



33 pav. Tiriamų mėšainių mėginių išsiskyrusios drėgmės paviršiuje įvertinimas

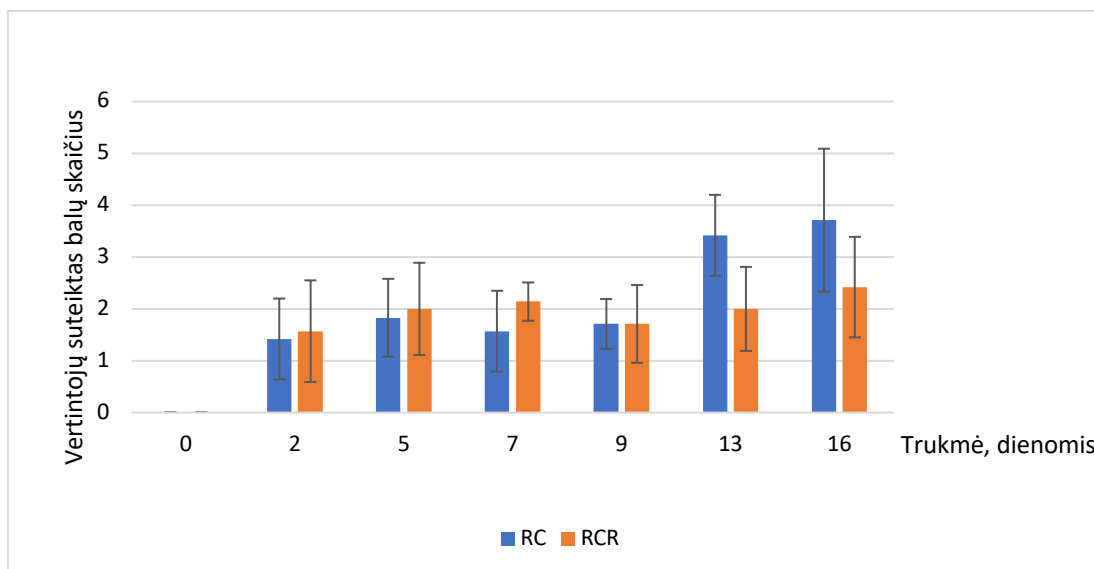
Ekstrakto priedas mėginiuose turėjo statistiškai patikimą pokytį mėginio spalvai – juslinės analizės dalyviai RCR mėšainio spalvą įvertino kaip tipinę ekstraktui/tamsiai violetinę. Nuo 5 tyrimo dienos tiriamajame mėginyje pastebėtas spalvos pokytis, kuris vertintojų įvardintas, kaip atsiradęs švelnus pilkas atspalvis (taip įvardino 15% vertintojų) (34 pav., aukštesnis balų skaičius rodo intensyvesnę spalvą).



34 pav. Tiriamų mėšainių mėginių spalvos intensyvumo įvertinimas

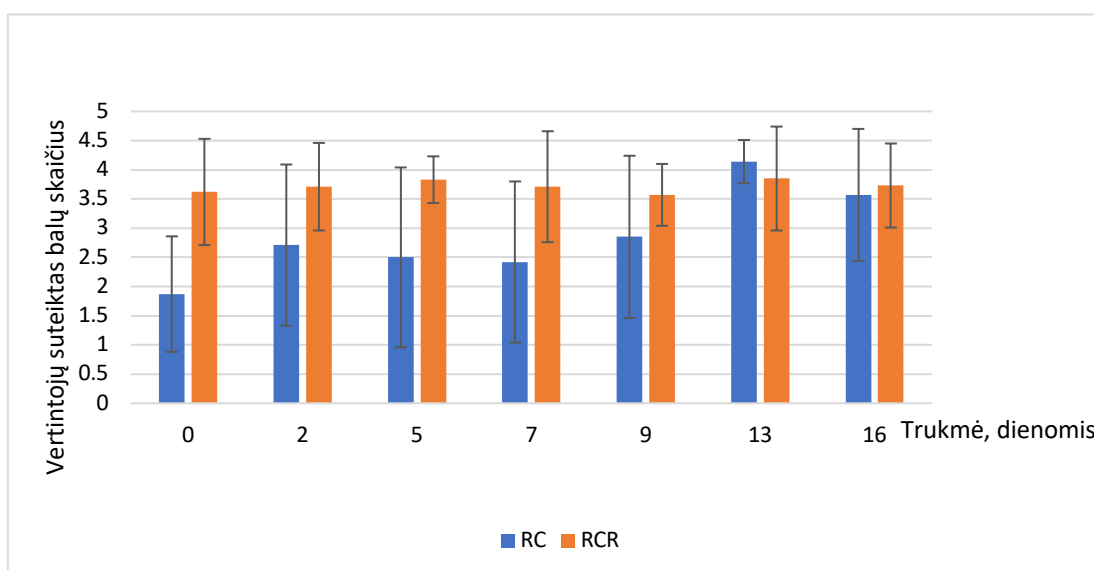
Spalvos praradimui *Aronia melanocarpa* ekstrakto pridėjimas į mėginį turėjo statistiškai patikimą skirtumą. 2 tyrimo dieną 30 % juslinės analizės tyrimo dalyvių kontroliniame mėginyje įvardino mažus spalvą praradusius plotelius, 13 dieną jau 57% dalyvių mane, kad gaminio spalvos praradimas reikšmingas, o 16 dieną tokią nuomonę turėjo visi vertintojai. Tiriamojo gaminio

spalvos praradimas nebuvo toks ženklus – juslinės analizės vertintojai visomis dienomis RCR gaminį įvardino, kaip turintį ryškią spalva ir tik 13 ir 16 dienomis 30% dalyvių įvardino spalvos praradimą (35 pav., aukštesnis balų skaičius rodo didesnę nublukimą).



35 pav. Tiriamų mėsainių mėginių spalvos praradimo įvertinimas

Juodavaisių aronijų ekstraktas tiriamajam mėginiui RCR suteikė intensyvią kvapą, kurią vertintojai identifiko, kaip tipinę ekstraktui uogų kvapą, ir tik paskutinįjį tyrimo dieną, 15% vertintojų išskyrė rūgštios kvapą aromate, kai tuo tarpu kontroliniame mėginyje RC, juslinės analizės dalyviai rūgštios kvapą identifiko 5 tyrimo dieną, o sugedusios mėsos kvapą – 13 dieną (50% vertintojų). Kvapo intensyvumui *Aronia melanocarpa* ekstraktas pridėjimas į mėsainius buvo statistiškai reikšmingas (36 pav., aukštesnis balų skaičius rodo intensyvesnę mėginių kvapą).



36 pav. Tiriamų mėsainių mėginių kvapo intensyvumo įvertinimas

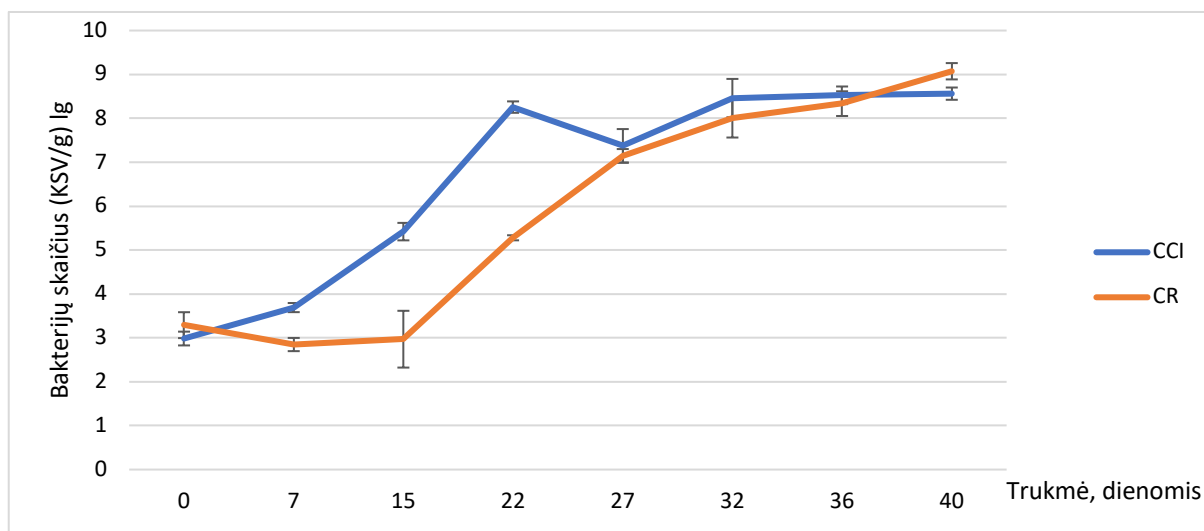
1.29 Aronijų išspaudų ekstrakto įtaka bakterijų augimui kiaulienos kumpyje

Šio tyrimo užduotis – ištirti *Aronia melanocarpa* etanolinio ekstrakto poveikį *Listeria monocytogenes*, pienarūgščių ir aerobinių mezofilinių bakterijų augimui termiškai apdorotame kiaulienos kumpyje.

1.29.1 Ektrakto poveikis *Listeria monocytogenes* bakterijų augimui kiaulienos kumpyje

Aronia melanocarpa išspaudų etanolinis ekstraktas patogenines *Listeria monocytogenes* bakterijas veikė bakteriostatiškai iki 15 tyrimo dienos ir prailgino bakterijų prisitaikymo (lag) fazę CR (kiaulienos kumpis, inokuluoti mikroorganizmai ir ekstraktas) mėginyje, kurios metu vyksta nedidelis arba išvis nevyksta ląstelių dalijimasis. Eksponentinė (log) augimo fazė šiame mėginyje prasidėjo savaite vėliau, nei CCI (kiaulienos kumpis ir inokuluoti mikroorganizmai) bandinyje. Svarbu paminėti, kad bakterijų skaičius tiriamajame CR mėginyje (kiaulienos kumpis, inokuluoti mikroorganizmai ir ekstraktas) bei kontroliniame CCI bandinyje (kiaulienos kumpis ir inokuluoti mikroorganizmai) susilygino tik 37-38 tyrimo dieną (37 pav. ir 17 lentelė prieduose). Nuo 7 tyrimo dienos buvo nustatytas statistiškai patikimas skirtumas vertinant bakterijų skaičių skirtinguose mėginiuose (16 lentelė prieduose).

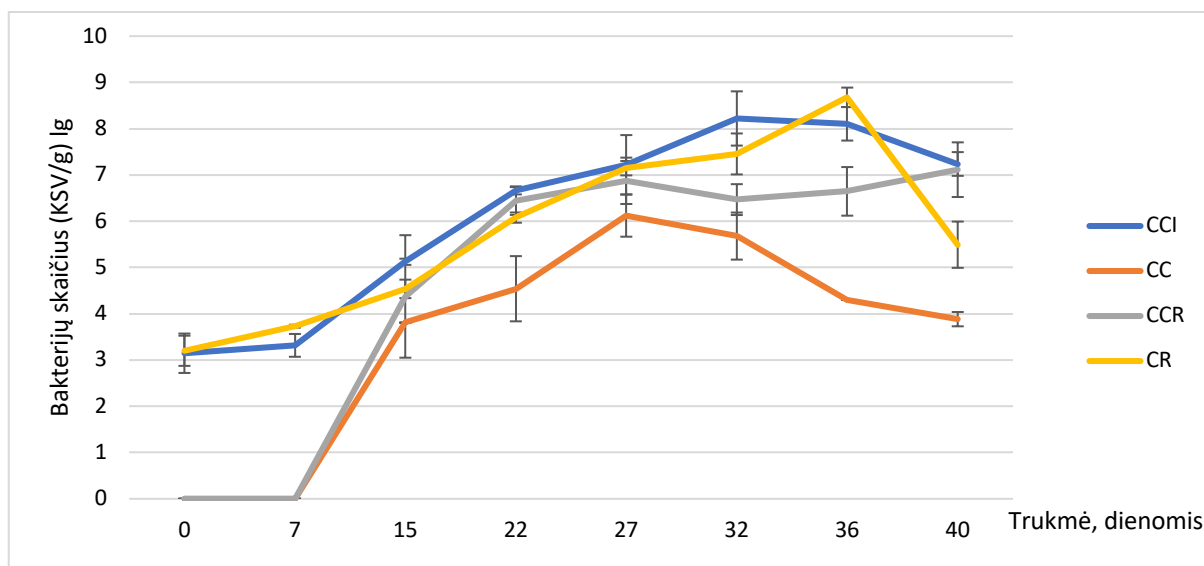
Iš kontrolinių mėginių CC (termiškai apdorotas kumpis) ir CCR (termiškai apdorotas kumpis ir ekstraktas) darytuose sėjimuose *Listeria monocytogenes* bakterijų kolonijų neišaugo, kas identifikuoja, apie ekstrakto mikrobiologinį švarumą ir gerai atliktą terminį apdorojimą (esant 50 °C temperatūrai, ši bakterija žūva (71)). Terminis apdorojimas buvo vykdomas, kol temperatūra gaminio viduje pasiekė 72 °C laipsnius.



37 pav. *Listeria monocytogenes* augimo grafikas termiškai apdorotame kiaulienos kumpyje.

1.30 Pienarūgščių bakterijų augimo tyrimas kiaulienos kumpyje

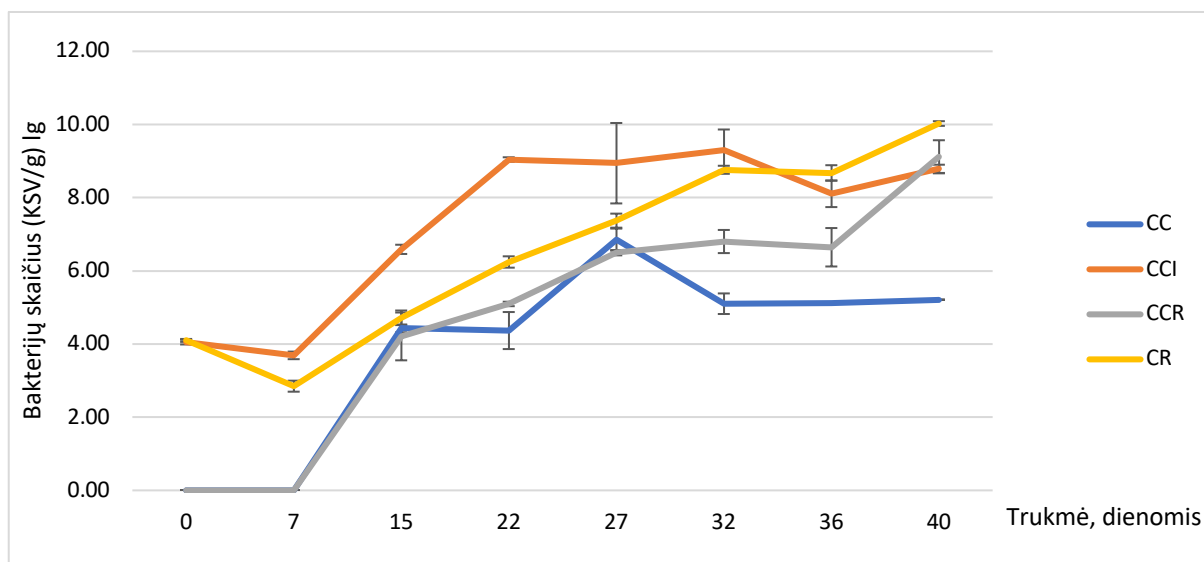
Pirmąją tyrimo savaitę pienarūgščių bakterijų kolonijų neišsaugo lėkštelėse, kuriose buvo daryti sėjimai iš kontrolinių mėginių be inokuliuotų *Listeria monocytogenes* bakterijų - CC (termiškai apdorotas kumpis) ir CCR (termiškai apdorotas kumpis ir ekstraktas). Nuo antrosios savaitės mikroorganizmų skaičius sparčiai didėjo (38 pav., 17 lentelė prieduose). Pagal Aezquita ir kt. (2001), pienarūgščių bakterijų buvimas slopina patogeninės *Listeria monocytogenes* bakterijos augimą (72), tačiau šiame tyrime pienarūgštės bakterijos neslopino *Listeria monocytogenes* bakterijų augimo. Lyginant mėginius CC (termiškai apdorotas kumpis) su CCR (termiškai apdorotas kumpis ir ekstraktas) bei CR (termiškai apdorotas kumpis, ekstraktas, inokuliuoti mikroorganizmai) su CCI (termiškai apdorotas kumpis, inokuliuoti mikroorganizmai) ekstrakto pridėjimas neturėjo didelės įtakos pienarūgščių bakterijų augimui. Gali būti, kad iš CR (termiškai apdorotas kumpis, ekstraktas ir inokuliuoti mikroorganizmai) ir CCI (termiškai apdorotas kumpis ir inokuliuoti mikroorganizmai) mėginių darytuose sėjimuose, 0 dieną Petri lėkštelėje užaugo *Listeria monocytogenes* kolonijos (nes jos gali augti MRS agar terpėje) ir jos buvo sumaišytos su pieno rūgšties bakterijų kolonijomis.



38 pav. Pienarūgščių bakterijų augimo grafikas termiškai apdorotame kiaulienos kumpyje

1.30.1 Aerobinių mezofilinių bakterijų augimo tyrimas kiaulienos kumpyje

Aerobinių mezofilinių bakterijų tyrime yra fiksuojamas bendras mikroorganizmų skaičius. Dėl atlikto terminio apdoravimo, kontroliniuose mėginiuose CC (kumpis) ir CCR (kumpis ir ekstraktas), pirmąją savaitę nebuvo užfiksuotas žymus mikroorganizmų augimas. Antrąją savaitę šiuose bandiniuose bakterijos pradėjo sparčiai daugintis. Tiriamajame mėginyje CR (kumpis, ekstraktas ir inokuliuotos bakterijos) bei kontroliniame mikroorganizmų mėginyje CCI (kumpis, inokuliuoti mikroorganizmai) matomas statistiškai patikimas skirtumas iki 34 tyrimo dienos – ekstraktas veikė bakteriostatiškai. Svarbu paminėti, kad kontroliniame mikroorganizmų mėginyje CCI (termiškai apdorotas kumpis, inokuliuoti mikroorganizmai) bakterijų skaičius buvo ženkliai didesnis nei tiriamajame mėginyje CR – didžiausias skirtumas tarp mikroorganizmų skaičiaus mėginiuose buvo užfiksuotas 22 tyrimo dieną. CR mėginyje bakterijų buvo net lg 2,92 ksv/g mažiau nei CCI bandinyje (38 pav., 18 lentelė prieduose). Lyginant kontrolinius CC (kumpis) ir CCR (kumpis ir ekstraktas) mėginius, nustatyta, kad abu mėginiai sugedo 15 tyrimo dieną – ekstrakto priedas neturėjo reikšmingos įtakos galiojimo laikui (pagal Lietuvos higienos normą HN 26:2006 „Maisto produktų mikrobiologiniai kriterijai“, termiškai apdorotuose mėsos gaminiuose bendras leistinas bakterijų skaičius yra iki 10000 ksv/g).



38 pav. Aerobinių mezofilinių bakterijų augimo grafikas termiškai apdorotame kiaulienos kumpyje.

1.30.2 Fizikocheminiai termiškai apdoroto kumpio rodikliai

Fizikocheminiai termiškai apdoroto kumpio tyrimai buvo daromi su tais mėginiais, kurie nebuvo inokuliuoti bakterijomis – CC (termiškai apdorotas kiaulienos kumpis) ir CCR (termiškai apdorotas kiaulienos kumpis ir ekstraktas). Kaip matoma iš rezultatų (11 lentelė) ekstrakto priedas turėjo statistiškai patikimą poveikį vandenilio jonų koncentracijai (pH), vandens aktyvumui ir spalvai (L^* , a^* ir b^*) tiriamuosiuose mėginiuose.

Termiškai apdoroto kumpio mėginiuose su ekstraktu nustatyta mažesnė vandenilio jonų koncentracija nei kontroliniuose kumpio mėginiuose be ekstrakto. Vandens aktyvumui ekstraktas taip pat neturėjo labai didelės įtakos. Svarbu paminėti, kad spalvos pokyčiui *Aronia melanocarpa* etanolinis ekstraktas turėjo statistiškai patikimą pokytį visos spalvos charakteristikoms (11 lentelė, 42 pav.).

11 lentelė. Fizikocheminės CC ir CCR mėginių savybės tyrimo metu

Diena	Mėginys	pH	aw	Spalvos charakteristikos		
				L*	a*	b*
Diena 0	CC	5,95±0,2 ^{a*}	0,980±0,001 ^a	91,87±5,74 ^b	6,41±1,17 ^c	9,53±0,77 ^{cd}
	CCR	5,93±0,05 ^{bcd}	0,978±0,002 ^{ab}	58,45±1,26 ^b	11,05±0,93 ^b	(-5,36)±0,39 ^a
Diena 7	CC	6,1±0,03 ^b	0,981±0,002 ^{ab}	62,93±3 ^a	5,01±0,82 ^b	9,09±0,63 ^{cd}
	CCR	5,66±0,05 ^{cd}	0,98±0,001 ^{abc}	41,50±2,83 ^a	7,65±0,71 ^a	(-0,92)±0,16 ^b
Diena 15	CC	6,08±0,05 ^b	0,981±0,001 ^{ab}	64,95±3,21 ^a	3,16±0,77 ^a	9,12±0,67 ^{cd}
	CCR	5,96±0,01 ^{bcd}	0,98±0,001 ^{abc}	43,3±3,22 ^a	6,95±0,92 ^a	(-0,87)±0,36 ^b
Diena 22	CC	6,06±0,01 ^{ab}	0,980±0 ^a	63,28±2,45 ^a	5,33±0,63 ^b	8,74±0,91 ^{bc}
	CCR	5,96±0,01 ^{cd}	0,978±0,002 ^a	44,63±2,62 ^a	6,88±0,68 ^a	(-0,5)±0,42 ^b
Diena 27	CC	6,03±0,01 ^{ab}	0,981±0,003 ^{ab}	64,82±2,66 ^a	4,33±1,05 ^b	9,96±0,96 ^d
	CCR	5,91±0,01 ^{bc}	0,978±0,002 ^{ab}	43,11±3,88 ^a	7,34±0,84 ^a	(-0,71)±0,59 ^b
Diena 32	CC	6,01±0,03 ^{ab}	0,983±0,001 ^b	63,65±2,39 ^a	5,15±0,81 ^b	8,03±0,63 ^{ab}
	CCR	5,88±0,01 ^{ab}	0,981±0,001 ^{cd}	42,96±4,12 ^a	7,27±0,68 ^a	(-0,93)±0,53 ^b
Diena 36	CC	6,04±0,02 ^{ab}	0,981±0,001 ^{ab}	63,13±2,69 ^a	5,04±1,30 ^b	8,07±0,87 ^{ab}
	CCR	5,93±0,01 ^{bcd}	0,983±0,001 ^{bcd}	43,49±3,78 ^a	7,08±0,66 ^a	(-0,86)±0,43 ^b
Diena 40	CC	6,06±0,01 ^{ab}	0,981±0,001 ^{ab}	63,99±2,83 ^a	4,4±0,42 ^b	7,77±0,6 ^a
	CCR	5,81±0,09 ^a	0,983±0,002 ^d	43,48±2,66 ^a	7,27±0,56 ^a	(-0,74)±0,39 ^b

* statistinė analizė atlikta lyginant vieną požymį skirtinguose mėginiuose tyrimo metu.



39 pav. Termiškai apdoroto kumpio mėginių pavyzdžiai – CC (kumpis), kumpis su spanguolių ekstraktu, CCR (kumpis ir aronijų ekstraktas)

Drėgmės, riebalų ir baltymų kiekis buvo nustatytas 0 tyrimo dieną. Etanolinis aronijų išspaudų ekstraktas turėjo statistiškai patikimą pokytį visiems trimis rodikliams (12 lentelė).

Pagal Stuart ir kt. (1990), baltymų ir riebalų buvimas gaminyje skatina bakterijų augimą (73), nes mikroorganizmai juos naudoja energijai gauti, o pagal Thompson (2017), didesnis

drėgmės kiekis gaminyje skatina bakterijų augimą. Tiriamajame bandinyje CCR buvo nustatytas didesnis kiekis baltymų bei riebalų, nei kontroliniame CC – kas galbūt galėjo skatinti pienarūgščių ir anaerobinių mezofilinių bakterijų dauginimąsi. Tačiau kontroliniame mėginyje buvo geresnė terpė mikroorganizmų dauginimuisi, nes jame buvo daugiau drėgmės.

12 lentelė. CC ir CCR mėginių drėgmės, riebalų ir baltymų kiekiai 0 tyrimo dieną, %

Mėginys	Drėgmės kiekis	Riebalų kiekis	Baltymų kiekis
CC	76,67 ^b	1,77 ^b	17,43 ^b
CCR	72,9 ^a	4,5 ^a	18,72 ^a

* statistinė analizė atlikta lyginant skirtingus mėginius.

1.30.3 Juslinė termiškai apdoroto kumpio analizė

Juodavaisių aronijų ekstraktas turėjo statistiškai reikšmingą pokytį mėginio CCR (termiškai apdorotas kumpis, ekstraktas) homogeniškumui ir spalvos intensyvumui lyginant jį su kontroliniu mėginiu CC (termiškai apdorotas kumpis), (13 lentelė). Juslinės analizės dalyviai bandinį su ekstraktu įvardino kaip tamsiai violetinės spalvos.

13 lentelė. Juslinėje analizėje vertintų termiškai apdoroto kumpio mėginių savybės

Mėginys	Homogeniš- kumas	Paviršiaus drėgmė	Spalvos intensyvumas	Spalvos praradimas	Kvapo intensyvumas	Skonio intensyvumas	Sultingumas
CC	3.82±0.83 ^{b*}	2.32±0.84 ^a	2.44±0.79 ^a	1.5±1.21 ^a	3.09±0.99 ^a	3.62±0.89 ^a	3.32±0.77 ^a
CCR	3±1.13 ^a	2.37±1 ^a	4.05±1.07 ^b	1.45±1.12 ^a	3.22±0.8 ^a	3.34±0.83 ^a	3.14±0,84 ^a

* statistinė analizė atlikta lyginant tą patį požymį skirtinguose mėginiuose.

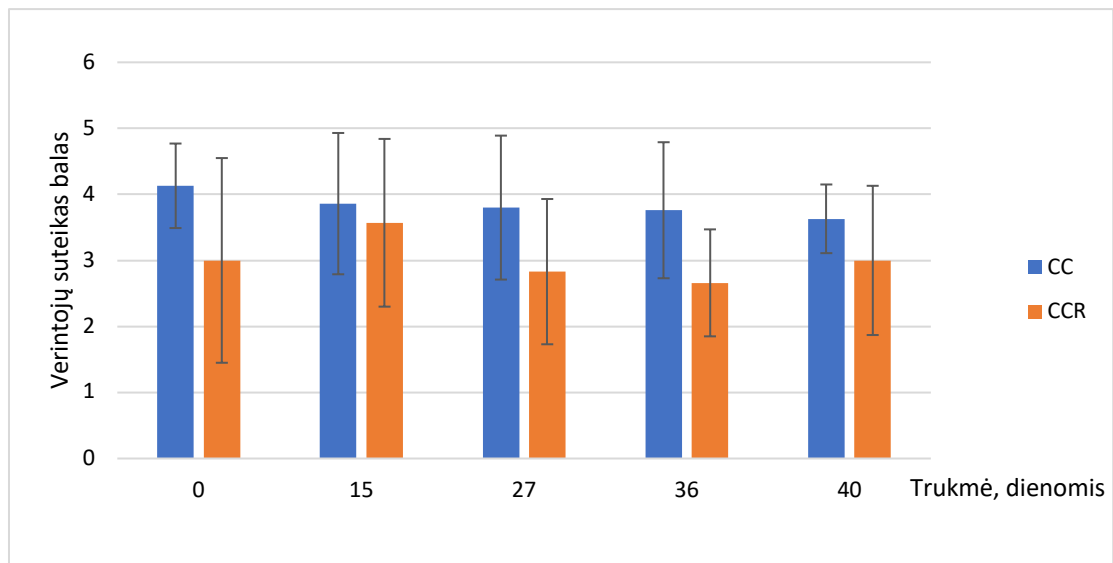
Einant tyrimo laikui, spalvos praradimas, kvapo intensyvumas ir sultingumas mėginiuose keitėsi - nustatytas statistiškai reikšmingas pokytis (14 lentelė).

14 lentelė. Juslinėje analizėje vertintų termiškai apdoroto kumpio mėginių savybių kitimas tyrimo metu

Mėginys/diena	0	15	27	36	40
Homogeniškumas	3.56±1.26 ^{a*}	3.71±1.33 ^a	3.27±1.19 ^a	3.16±1.09 ^a	3.25±0.77 ^a
Paviršiaus drėgmė	2.125±0.88 ^a	2.07±0.82 ^a	2.45±1.12 ^a	2.58±0.99 ^a	2.56±0.81 ^a
Spalvos intensyvumas	3.43±1.2 ^a	3.42±1.22 ^a	3.5±1.35 ^a	3.16±1.33 ^a	2.81±1.16 ^a
Spalvos praradimas	0±0 ^a	1.64±0.74 ^b	1.45±0.82 ^b	2±0.95 ^{bc}	2.43±0.96 ^c
Kvapo intensyvumas	3.56±0.81 ^b	2.85±0.77 ^a	3.36±1.12 ^{ab}	3.08±0.66 ^{ab}	2.93±0.99 ^a
Skonio intensyvumas	3.37±0.95 ^a	3.64±0.84 ^a	3.81±0.60 ^a	3.25±1.05 ^a	3.37±0.8 ^a
Sultingumas	3.43±0.81 ^b	3.57±0.64 ^b	3±0.89 ^{ab}	3.25±0.86 ^{ab}	2.87±0.71 ^a

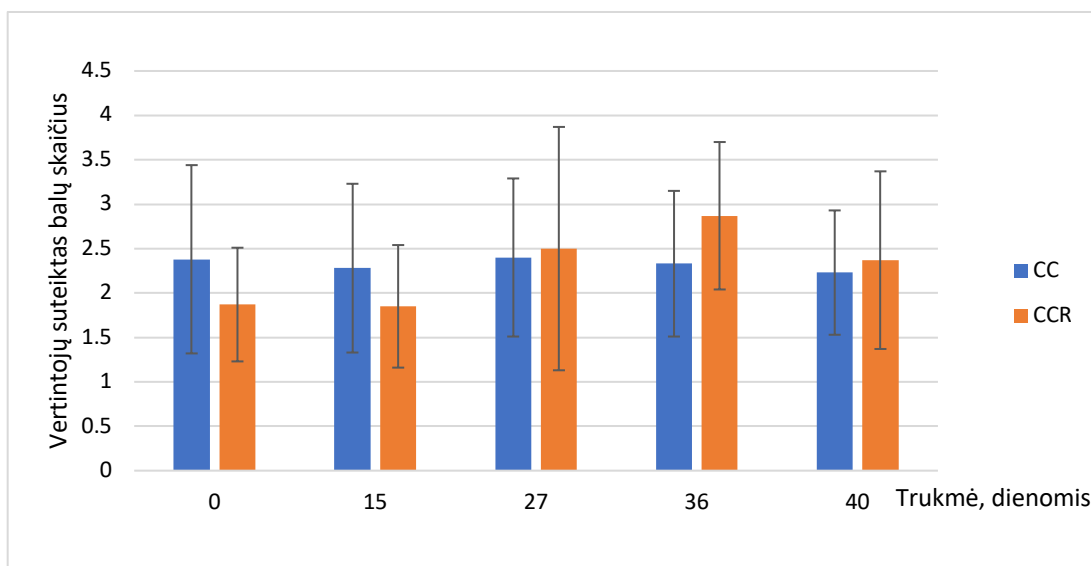
* statistinė analizė atlikta lyginant tą patį požymį tyrimo metu.

Lyginant tiriamojo mėginio CCR (termiškai apdorotas kiaulienos kumpis, ekstraktas) ir kontrolinio mėginio CC (termiškai apdorotas kumpis), matoma (pav. 40) kad juslinės analizės vertintojai aukštesniu balu įvertino kontrolinį mėginį – nustatytas statistiškai reikšmingas skirtumas.



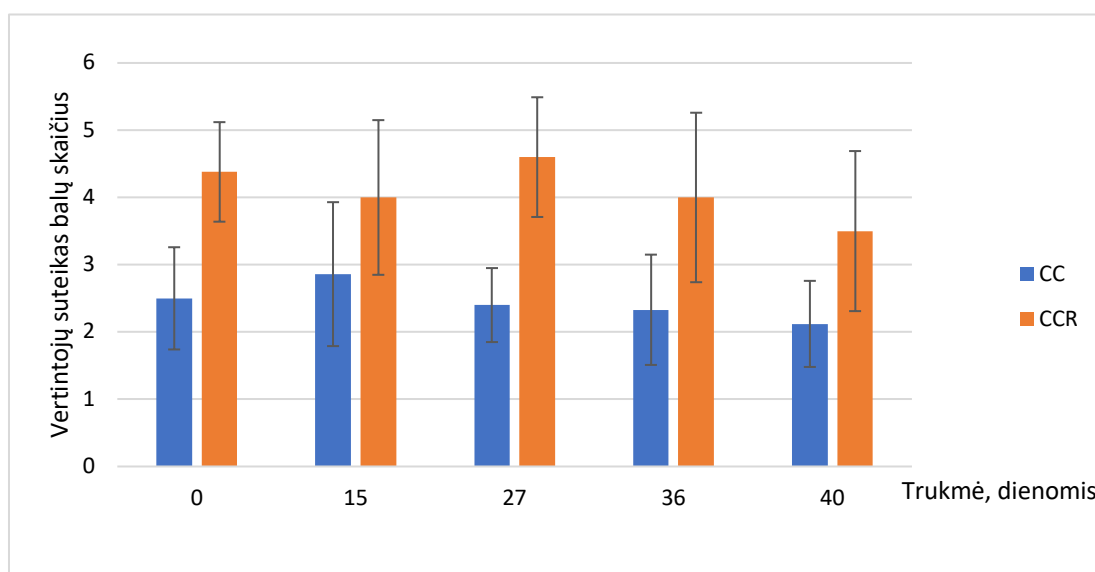
40 pav. Tiriamų termiškai apdoroto kumpio mėginių homogeniškumo įvertinimas

Išsiskyrusiai drėgmei paviršiuje aronijų ekstrakto pridėjimas turėjo įtakos - pirmosios trims savaitėms tiriamojo mėginio ji buvo mažesnė nei kontrolinio ir tada pradėjo didėti (41 pav.). Taip gali būti, nes drėgmės kiekis CRR mėginyje buvo mažesnis, kas identifikuoja mažesnę kiekį surišto vandens gaminyje.



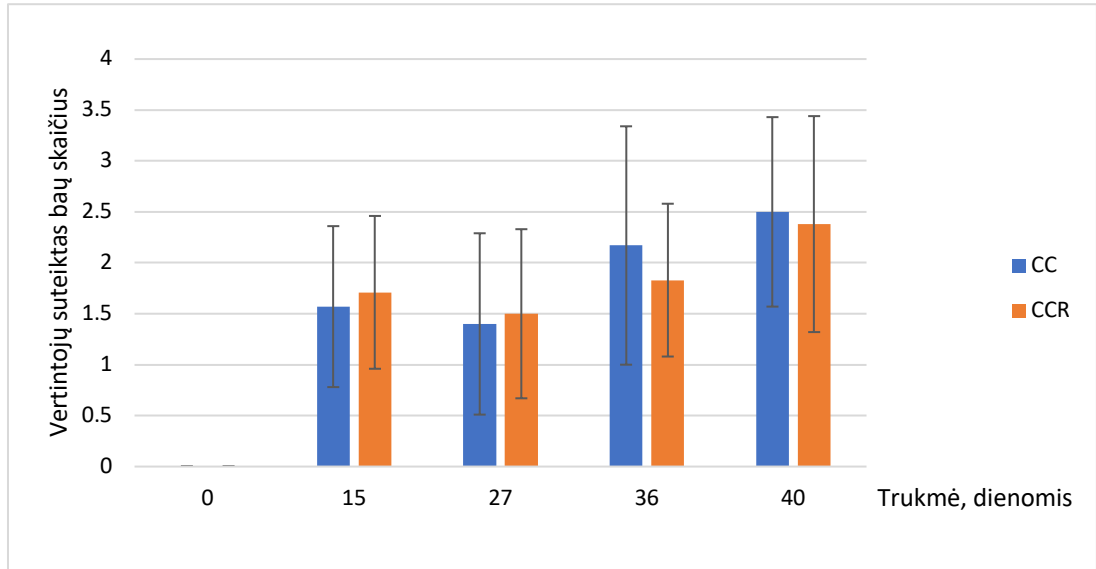
41 pav. Tiriamų termiškai apdoroto kumpio mėginių išsiskyrusios drėgmės įvertinimas

Juslinės analizės dalyviai intensyvesnės spalvos mėginiu įvardino tiriamąjį bandinį CCR. Lyginant CCR ir CC mėginius, užfiksuotas statistiškai reikšmingas skirtumas. 0 tyrimo dieną vertintojai gaminį su ekstraktu įvardino kaip tamsiai violetinės spalvos. Kaip matoma iš 42 pav., vertintojų nuomone tiriamojo mėginio spalvos intensyvumas buvo didžiausias 27 tyrimo dieną.



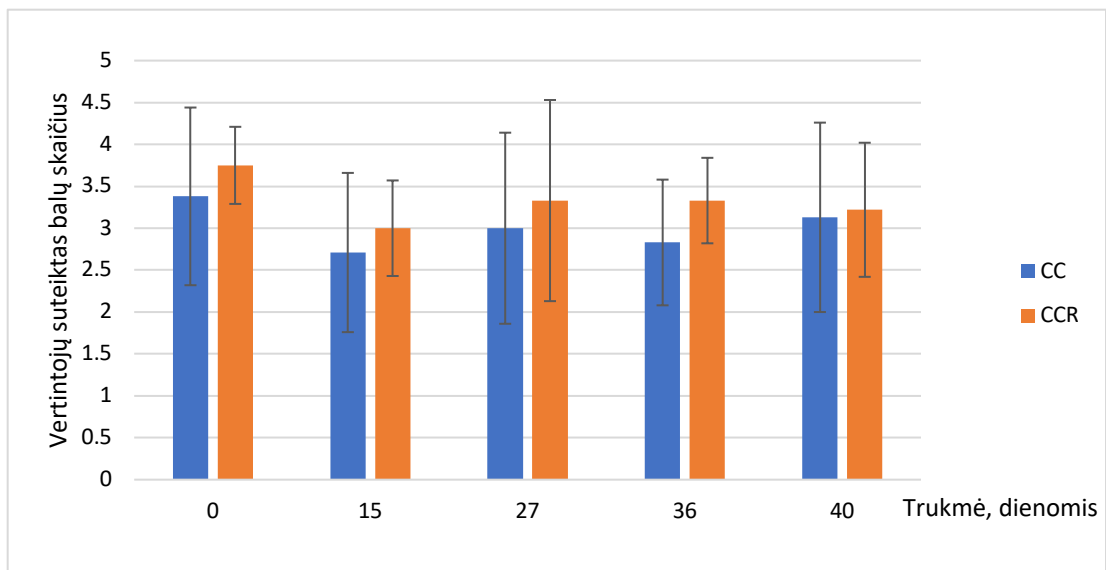
42 pav. Tiriamų termiškai apdoroto kumpio mėginių spalvos intensyvumo įvertinimas

Spalvos praradimas tiriamajame mėginyje CCR užfiksuotas tik 36 dieną (taip manė 15 % juslinės analizės vertintojų), o paskutinįją tyrimo dieną šiame mėginyje spalvos praradimą įvardino jau 37,5% dalyvių. Kaip tuo tarpu kontroliniame mėginyje CC, 36 dieną net 40% vertintojų nuomone mėginys buvo praradęs spalvą. Spalvos praradimas viso tyrimo metu buvo statistiškai reikšmingas.



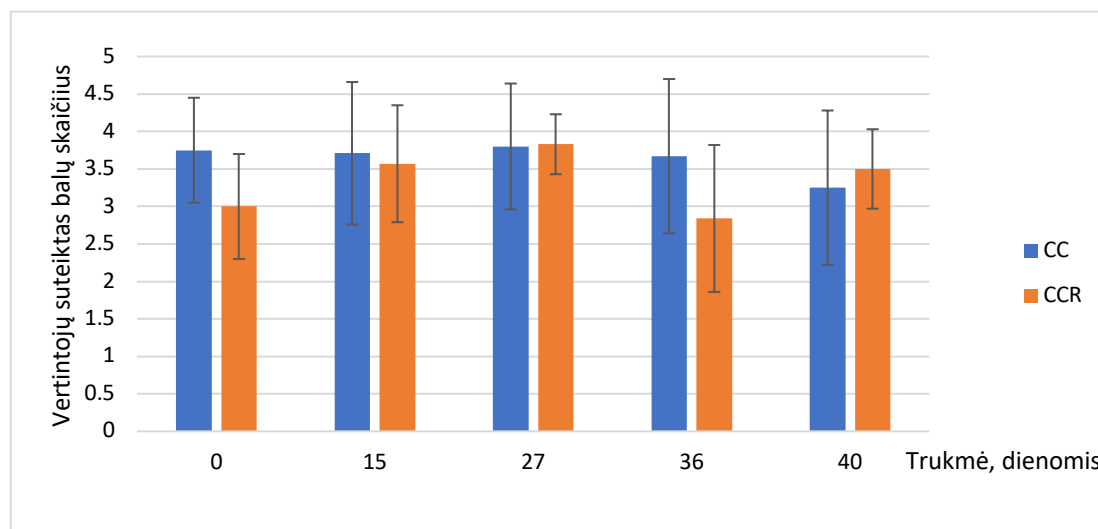
43 pav. Tiriamų termiškai apdoroto kumpio mėginių spalvos praradimo įvertinimas

Aronia melanocarpa etanolinio ekstrakto pridėjimas į gaminį turėjo reikšmingos įtakos kvapo intensyvumui tyrimo metu. 0 tyrimo dieną, 100% juslinės analizės vertintojų kontrolinio mėginio CC kvapą įvertino, kaip tipišką termiškai apdoroto kumpio kvapą, 27 tyrimo dieną nustatytas aromato pokytis, kaip turintis rūgšties kvapą, o 36 ir 40 dieną 15% juslinės analizės dalyvių gaminio kvapą įvardino kaip sugedusį. Tiriamojo mėginio CCR kvapas 0 dieną vertintojams asocijavosi su aronijų uogų (50%), mėsos (20%) ir vyno (30%) aromatu. 15 dieną 10% vertintojų užuodė vynuogių kvapą, o 36 ir 40 dienomis – rūgšties (44 pav.)



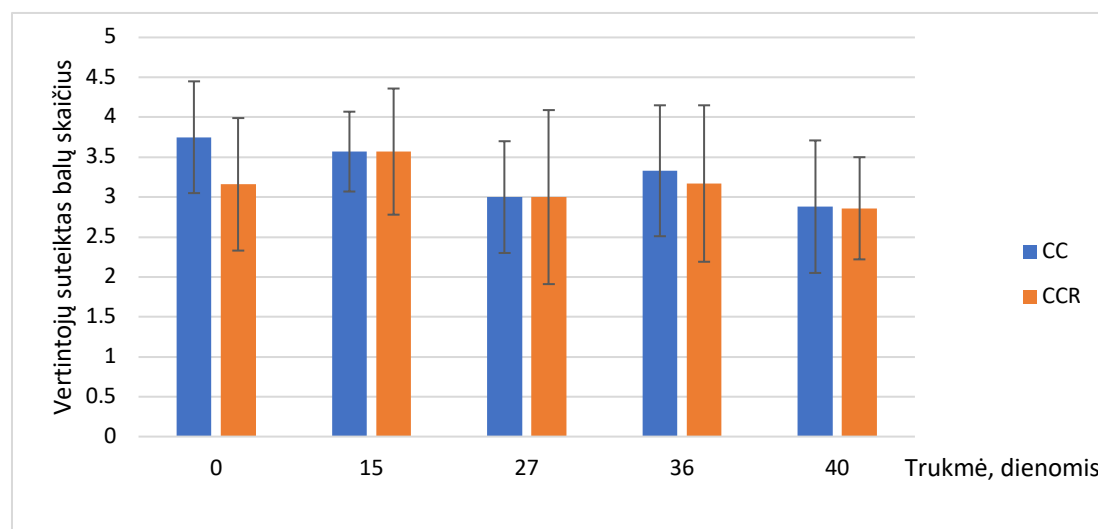
44 pav. Tiriamų termiškai apdoroto kumpio mėginių kvapo intensyvumo įvertinimas

Juodavaisių aronijų priedas į mėginius neturėjo statistiškai reikšmingo pokyčio lyginat CCR ir CC mėginius tarpusavyje. Kontroliniame CC mėginyje, juslinės analizės vertintojai skonį įvardino, kaip tipišką termiškai apdoroto kumpio skonį ir tik paskutiniąją tyrimo dieną išskyrė atsiradusį rūgštų skonį (30% dalyvių). Tiriamojo mėginio skonį dalyviai įvardino kaip panašų į uogų (25% vertintojų), vyną bei vynuoges (50%) ar tiesiog rūgštų (25%). Kaip matoma iš 6 pav., juslinės analizės vertintojai kontrolinio mėginio CC skonį įvertino aukštesniu balu (ai rodo intensyvesnį skonį) visomis dienomis, išskyrus paskutinąją 40 tyrimo dieną (45 pav.).



45 pav. Tiriamų termiškai apdoroto kumpio mėginių skonio intensyvumo įvertinima

Aronia melanocarpa etanolinio ekstrakto priedas turėjo statistiškai reikšmingą pokytį sultingumui tyrimo metu. Juslinės analizės vertintojai aukštesniu balu įvertinavo (sultingesniu mėginiu) kontrolinį bandinį CC (46 pav.) Tam galėjo turėti įtakos šio mėginio didesnis vandens aktyvumas bei drėgmės kiekis (11 lentelė).



46 pav. Tiriamų termiškai apdoroto kumpio mėginių sultingumo įvertinimas

IŠVADOS

1. Tyrimų metu nustatyta, kad juodavaisių aronijų (*Aronia melanocarpa*) išspaudų ekstraktų poveikis prieš patogenines (*Listeria monocytogenes* ir *Campylobacter jejuni*), gedimą sukeliančias (*Brochothrix thermosphacta* ir *Pseudomonas putida*) bei pieno rūgšties (*Leuconostoc mesenteroides* ir *Weissella viridescens*) bakterijas buvo baktericidinis esant 6,6% ekstraktų koncentracijoms ir pradiniam mikroorganizmų skaičiui 10^4 ksv/ml bei 10^8 ksv/ml tiriamuosiuose mėginiuose. Kitos ekstraktų koncentracijos veikė bakteriostatiškai, išskyrus pieno rūgšties bakterijas – 0,83% ir 0,42% ekstraktų koncentracijos skatino jų augimą. Geresnis bakterijų augimą slopinantis poveikis buvo etanolinio ekstrakto lyginant su vandeniniu ekstraktu.

2. Atlikti tyrimai parodė, kad mėginiuose buvus 10^4 ksv/ml *Listeria monocytogenes* bakterijų skaičiui, ekstraktui taikytas terminis apdorojimas neturėjo statistiškai reikšmingo skirtumo. Tačiau nustatyta, kad pakaitinus ekstraktą antimikrobinis poveikis reikšmingai skiriasi priklausomai nuo jo prieš *Listeria monocytogenes*, kai jų pradinis skaičius mėginiuose buvo 10^8 ksv/ml.

3. Nustatyta, kad *Aronia melanocarpa* etanolinio ekstrakto poveikis *Listeria monocytogenes*, *Brochothrix thermosphacta*, *Pseudomonas putida* ir aerobinių mezofilinių bakterijų augimui mėsos ištraukoje buvo bakteriostatinis. Tiriamuosiuose mėginiuose su juodavaisių aronijų etanolinio ekstrakto priedu aptikta *Brochothrix thermosphacta* ir *Pseudomonas putida* gyvybingų bakterijų mažiau nei kontroliniame mėginyje po 7 parų, atitinkamai lg 3,93 ir 5,25 ksv/g, o po 16 parų, *Listeria monocytogenes* ir aerobinių mezofilinių bakterijų, atitinkamai lg 2,73 ir 5,62 ksv/ml.

4. Gauti tyrimų rezultatai parodė, *Aronia melanocarpa* etanolinio ekstrakto poveikis *Listeria monocytogenes*, *Brochothrix thermosphacta* ir *Pseudomonas putida* bakterijų augimui kiaulienos mėsainiuose buvo bakteriostatiškas viso tyrimo metu, o pienarūgštėms ir aerobinėms mezofilinėms bakterijoms – nuo 7 tyrimo dienos. Tyrimo pabaigoje nustatytas *L. monocytogenes*, *B. thermosphacta* ir *P. putida* skaičius atitinkamai buvo lg 1,87, lg 4,03, lg 4,49 ksv/g.

5. Tyrimų metu nustatyta, kad *Aronia melanocarpa* etanolinis ekstraktas patogenines *Listeria monocytogenes* bakterijas termiškai apdorotame kumpyje veikė bakteriostatiškai iki 15 tyrimo dienos ir prailgino bakterijų prisitaikymo (lag) fazę 1 savaite. Aerobinėms mezofilinėms bakterijoms bakteriostatinis poveikis buvo iki 34 tyrimo dienos – didžiausias bakterijų skirtumas tiriamajame ir kontroliniame mikroorganizmų mėginyje buvo užfiksuotas 22 tyrimo dieną – lg 2,92 ksv/g.

Remiantis gautais rezultatais, galima teigti, kad aronijų išspaudų etanolinio ekstrakto 2% koncentracijos priedas kiaulienos mėsainiuose bei termiškai apdorotame kumpyje turi

bakteriostatišką poveikį visoms tirtoms bakterijoms ir gali prailginti mėsainių galiojimo laiką 5 dienomis bei taip pagerinti mėsos pusgaminių ir gaminių saugą.

BIBLIOGRAFINIŲ NUORODŲ SĄRAŠAS

1. DOOLAEGE, E., E. VOSSEN, K. RAES, B. DE MEULENAER, R. VERHÉ, H. PAELINCK. Effect of rosemary extract dose on lipid oxidation, colour stability and antioxidant concentrations, in reduced nitrite liver pâtés. *Meat Science*. 2012, 90(4),925-931. ISSN: 0309-1740.
2. LORENZO, J., M. PURRIÑOS, L. BERMÚDEZ, R. FIGUEIREDO, ir M. GARCÍA FONTÁN. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in two Spanish traditional smoked sausage varieties: “Chorizo gallego” and “Chorizo de cebolla”. *Meat Science*. 2011, 89, 105–109. ISSN: 0309-1740.
3. ZUBILLAGA, M.P., G. MAERKER, T.A. FOGLIA. Antioxidant Activity of Sodium Nitrite in Meat. *JAOCs*. 1984, 61(4), 772-776. Prieiga per: <https://link-springer-com.ezproxy.ktu.edu/content/pdf/10.1007%2F002672133.pdf>
4. BRAZDAUSKAS, T., L. MONTERO, P.R. VENSKUTONIS, E. IBANEZ, M. HERRERO. Downstream valorization and comprehensive two-dimensional liquid chromatography-based chemical characterization of bioactives from black chokeberries (*Aronia melanocarpa*) pomace. *Journal of Chromathography*. 2016, 1468, 126-135. ISSN: 0021-9673.
5. KITRYTĖ, V., V. KRAUJALIENĖ, V. ŠULNIŪTĖ, A. PUKALSKAS, P.R. VENSKUTONIS. *Food and Bioproducts Processing*. 2017, 105, 36-50. ISSN: 0960-3085.
6. POTTER, D., T. ERIKSSON, R. C. EVANS, S. OH, J.E.E. SMEDMARK, D. R. MORGAN, M. KERR, K.R. ROBERTSON, M. ARSENAULT. Phylogeny and classification of Rosaceae. *Plant Systematics and Evolution*. 2007, 266(1): 5–43. ISSN: 0378-2697. Prieiga per: DOI:10.1007/s00606-007-0539-9
7. BAJEC, M. R., G. J. PICKERING. Astringency: Mechanisms and perception. *Critical Reviews In Food Science and Nutrition*. 2008, 48(9), 858e875. Prieiga per: DOI.org/10.1080/104083907012724223
8. TANAKA, T., A. TANAKA. Chemical components and characteristics of black chokeberry. *J Jpn Soc Food Sci Technol*. 2001, 48(8), 10-606. Prieiga per: doi: 10.12691/jfnr-4-4-3
9. KULLING, S. E., H. M. RAWEL. Chokeberry (*Aronia melanocarpa*) – A review on the characteristic components and potential health effects. *Planta Med*. 2008, 74, 1625-1634. Prieiga per: doi: 10.1055/s-0028-1088306
10. TAHERI, R., B CONNOLLY, B. A., BRAND M. H., ir BOLLING B. W. Underutilized chokeberry accessions are rich sources of anthocyanins, flavanoids, hydroxycinamic acids and

proanthocyanidins. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2013, 61(36), 8581-8588. ISSN: 1520-5118.

11. MILLER, M. G., ir SHUKITT-HALE, B. Berry fruit enhances beneficial signaling in the brain. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2012, 60, 5709–5715. E-ISSN: 1320-5118.

12. MLADENKA, P., ZATLOUKALOVA', L., FILIPSKY', T., & HRDINA, R. Free Radical. *Biology and Medicine*. 2010, 49, 963–975. ISSN: 0891-5849.

13. TAUBERT, D., ROESEN, R., LEHMANN, C., JUNG, N., ir SCHOMIG, E. Effects of low habitual cocoa intake on blood pressure and bioactive nitric oxide – A randomized controlled trial. *JAMA-Journal of the American Medical Association*. 2007, 298, 49–60. Prieiga internete: doi: 10.1001/jama.298.1.49

14. BEARTH, A., M. E. COUSIN ir M. SIEGRIST. The consumer's perception of artificial food additives: Influences on acceptance, risk and benefit perceptions. *Food Quality and Preference*. 2014, 38, 14–23. ISSN: 0950-3293.

15. KARDUM, N., M. TAKIC, M. ZEC, S. SPASIC, A. KONOC-RISTIC. Effects of polyphenol rich chokeberry juice on cellular on antioxidant enzymes and membrane lipid status in healthy women. *Journal of Functional Foods*. 2014, 9, 89-97. ISSN: 1756-4646.

16. MANACH, C., A. MAZUR, A. SCALBERT. Polyphenols and prevention of cardiovascular diseases. *Current Opinion in Lipidology*. 2005, 16, 77–84. Prieiga per: https://journals.lww.com/co-lipidology/Abstract/2005/02000/Polyphenols_and_prevention_of_cardiovascular.13.aspx

17. ZERN, T., L. FERNANDEZ. Cardioprotective effects of dietary polyphenols. *JN The Journal of Nutrition*. 2005, 135(10):2291–2294. Prieiga per: doi: 10.1093/jn/135.1..2291

18. MALIK, M., C. ZHAO, N. SCHOENE, M. GUISTI, M. MOYER, P. MAGNUSON. Anthocyanin-rich extract from *Aronia melanocarpa* E induces a cell cycle block in colon cancer but not normal colonic cells. *Nutrition and Cancer*. 2003, 46, 186–196. Prieiga per: doi: 10.1207/S15327914NC4602_12

19. HE, J., M. GIUSTI. Anthocyanins: Natural Colorants with Health-Promoting Properties. *Annual Review of Food Science and Technology*. 2010, 1, 163–187. Prieiga per: doi: 10.1146/annurev.food.080708.100754

20. WIJNGAARD, H., M. B. HOSSAIN, D.K. RAI, N. BRUNTON. Techniques to extract bioactive compounds from food by-products of plant origin. *Food Research*. 2012, 46, 505–513. ISSN: 0963-9969.

21. CAMPISANO, R., K. HALL, J. GRIGGS, S. WILLISON, S. REIMER, H. MASH, M. MAGNUSON, L. BOCZEK, ir E. RHODES. Selected Analytical Methods for Environmental

Remediation and Recovery (SAM) 2017. U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC, EPA/600/R-17/356, 89-115. Prieiga per: <http://www.epa.gov/sam/pdfs/EPA-3545a.pdf>

22. LAWRIE R. A., D. A. LEDWARD; J. P. KERRY ir D. LEDWARD. *Lawrie's meat science*. 7th ed., ISBN 978-1-84569-159-2.

23. GERARD, J., R. FUNKE, C. L. CASE. *Microbiology. An Introduction*. 11th edition. p. 170-171. ISBN: 0321796675.

24. Borc, E., M. L. Kant-Muermans, Y. Blixt. *Bacterial spoilage of meat and cured meat products*. 1996, 33(1), 103-120. Prieiga per: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8913812>

25. TORTORA, G. J., R. Berdell, C. L. Funke. *Microbiology. An Introduction*. 12th ed., 687-792. ISBN: 978-0321929150.

26. ROCOURT, J., C. BUCHRIESER. The Genus *Listeria* and *Listeria monocytogenes*: Phylogenetic Position, taxonomy, and Identification. In: Ryser ET, Marth EH. *Listeria, Listeriosis e Food safety*. CRC Press, Nova Yorque, 2007, 1-12. Prieiga per: doi: 10.12691/jfnr-4-7-4

27. BURALL, L. S., C. J. GRIM, A.R. DATTA. A clade of *Listeria monocytogenes* serotype 4b variant strains linked to recent listeriosis outbreaks associated with produce from a defined geographic region in the US. *Plos on*. 2017. Prieiga per: doi: 10.1371.journal.pone.0176912

28. The university of Iowa News Services. Prieiga per: <http://news-releases.uiowa.edu/2011/june/060711caffeine.html>.

29. ALSOP, R. M. Industrial Production of Dextrans. *Progress in Industrial Microbiology*., 1993, 1-42. ISSN: 0256-115.

30. BUSHELL, M. P., B. E. BROKER, B. E. Ultra structural surface changes associated with dextran synthesis by *Leuconostoc mesenteroides*. *J. Bacteriol*. 1997, 131, 288-292. ISSN: 0378-1097.

31. FIGUIEREDO, M., L. ANGELO, N. M. COSTA MENEZES, A. P. DA SILVA, J/ BORGES. Predicting growth of *Wseissella Viridescens* in culture medium under dynamic temperature conditions. 2016, 7, 37-40. ISSN: 2211-601X.

32. DESCALZO, A. M., E. M. INSANI, A. BIOLATTO, A. M. SANCHO, P. T. GARCIA, N. A. PENSEL. Influence of pasture or grain-based diets supplemented with vitamin E on antioxidant/oxidative balance of Argentine beef. *Meat Science*. 2005, 70, 35-44. ISSN: 0309-1740. ISSN: 1541-4337.

33. SOLADOYE, O. P., M. L. JUÁREZ, J. L. AALHUS, P. SHAND ir M. ESTÉVEZ. Protein oxidation in processed meat: Mechanisms and potential implications on human health. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2015, 14(2), 106–122. ISSN: 1541-4337.

34. ERICKSON, M. C. Lipid oxidation of muscles foods. 2008, 106, 1188-1194.
35. AKOH, C. C., A. M. MIN (Eds.). Food lipids, chemistry, nutrition and biotechnology (3rd ed.). Boca Raton: CRC Press Taylor & Francis Group. ISBN: 0-8247-0749-4.
36. LORENZO, J. M., M. GÓMEZ. Shelf life of fresh foal meat under MAP, overwrap and vacuum packaging conditions. *Meat Science*. 2012, 92(4), 610–618. ISSN: 0309-1740.
37. LORENZO, J. M., M. GÓMEZ. Extension of the shelf-life of foal meat with two antioxidant active packaging systems. *LWT - Food Science and Technology*. 2014, 59(1), 181–188. ISSN: 0023-6438.
38. ESTEVEZ M. Protein carbonyls in meat systems: a review. *Meat Science*. 2011, 89, 259-279. ISSN: 0309-1740.
39. FU, Q. Q., R. LIU, W.G. ZHANG, Y. P. LI, J. WANG ir G. H. ZHOU. Effects of different packaging systems on beef tenderness through protein modifications. *Food and Bioprocess Technology*. 2015, 8, 580-588. ISSN: 1935-5130.
40. FALOWO, A. B., P. O. FAYEMI, V. MUCHENJE. Natural antioxidants against lipideprotein oxidative deterioration in meat and meat products: a review. *Food Research International*. 2014, 64, 171-181. ISSN: 0963-9969.
41. BEKHIT, A. E. D., C. FAUSTMAN. Metmyoglobing reducing activity. *Meat Science*. 2005, 71(3), 156-164. ISSN: 0308-8146.
42. LORENZO, J. M., M. PATEIRO, M. C. G. FONTÁN, J. CARBALLO. Effect of fat content on physical, microbial, lipid and protein changes during chill storage of foal liver pâté. *Food Chemistry*, 2014, 155, 57–63. ISSN: 0308-8146.
43. FERNANDES, R. P. P., M. TRINDADE, F. G. TONIN, C. G. LIMA, D. M. P. PUGINE, P. E. S. MUNEKATA, M. P. MELO. Evaluation of antioxidant capacity of 13 plant extracts by three different methods: Cluster analyses applied for selection of the natural extracts with higher antioxidant capacity to replace synthetic antioxidant in lamb burgers. *Journal of Food Science and Technology*. 2016, 53(1), 451–460. ISSN: 0022-1155.
44. GRUNOVAITĖ, L., M. PUKALSKIENE, A. PUKALSKAS, P. R. VENSKUTONIS. Fractionation of black chokeberry pomace into functional ingredients using high pressure extraction methods and evaluation of their antioxidant capacity and chemical composition. *Journal of Functional Foods*. 2016, 24, 85–96. Prieiga per: doi: 10.1016/j.jff.2016.03.018
45. TAMPKUTĖ L., P.R. VENSKUTONIS. Antioxidant activity of different berries. Duomenys dar nepublikuoti.
46. ISO 13299:2016. *Sensory analysis – Methodology – General guidance for establishing a sensory profile*. Prieiga per: <https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:13299:ed-2:v1:en>

47. AOCS. (1990) Official Methods and Recommended Practices. 4th Edition, *American Oil Chemists Society, Champaign. II.* Prieiga per: [http://www.scirp.org/\(S\(i43dyn45teexjx455qlt3d2q\)\)/reference/ReferencesPapers.aspx?ReferenceID=52087](http://www.scirp.org/(S(i43dyn45teexjx455qlt3d2q))/reference/ReferencesPapers.aspx?ReferenceID=52087)

48. GLASHOVER, D., J. SNYDER, D. WELCH, S. MCMARTHY. Notes from the Field: Outbreak of *Campylobacter jejuni* Associated with Consuming Undercooked Chicken Liver Mousse — Clark County, Washington. *Morbidity and Mortality Weekly Report*. 2016, 66(38), 1027. Prieiga per: doi: 10.15585/mmwr.mm6638a4

49. Pasaulio sveikatos organizijos puslapyje pateiktas straipsnis. *Listeriosis – South Africa*. 2018, kovo 28. Prieiga per: <http://www.who.int/csr/don/28-march-2018-listeriosis-south-africa/en/>

50. ALBERTO, S., E. DIAZ, A. RODRIGUEZ, V. LOTERO. Impact of diversity of antibiotic use on development of antimicrobial resistance. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2006, 57(6), 1197 – 1204. ISSN: 0305-7453.

51. KOLOTKIEWICZ, A., M. LUCZKIEWICZ, P. SOWINSKI, D. PAWEL, D. GLOD, K. GORYNKSI, A. BUCINSKI. Isolation and structure elucidation of phenolic compounds. *Food Chemistry*. 2010, 133(4), 1373-1383. ISSN: 0308-8146.

52. CISOWSKA, J., E. FLACZYK, M. RUDZINSKA, D. KMIECIK. Antioxidant properties of extracts from Ginkgo biloba leaves in meatballs. *Meat Science*. 2014, 97(2), 174 – 180. ISSN: 0309-1740.

53. ŠARKINAS, A., I. JASUTIENĖ. Augalų ir uogų ekstraktų antimikrobinės savybės. *Maisto chemija ir technologija*. 2007, 41, 1. ISSN: 1392-0227.

54. PAPUC. C., G. V. GORAN, C. N. PREDESCU, V. NICORESCU, G. STEFAN. Plant polyphenols as antioxidant and antibacterial agents for shelf – life extension of meat and meat products: classification, structures, sources and action mechanisms. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2017, 16(6), 1243-1268. ISSN: 1541-4337.

55. ALFRED E. BROWN, PH.D. ir HEIDI SMITH. Microbiological applications, laboratory manual in general microbiology, short version. 13 leidimas. ISBN: 978-0073402413.

56. PUUPPONEN-PIMIA, R., L. NOHYNEK, C. MEIER, M. KAHKONEN, M. HEINONEN, A. HOPIA ir K. M. OKSMAN – CALDENTY. Antimicrobial properties of phenolic compounds from berries. *Journal of Applied Microbiology*. 20001, 90, 494-507. ISSN: 1364-5072.

57. HELANDER, L.M., H. ALAKOMI, K. LATVA-KALA, et al. Characterization of the action of selected essential oil components on Gram-negative bacteria. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 1998, 46, 3590-3595. ISSN: 0021-8561.
58. MOLAN, A. L., M. A. LILA, J. MAWSON, S. DE. In vitro and in vivo evaluation of the prebiotic activity of water-soluble blueberry extracts. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 2009, 25(7), 1243-1249. ISSN: 0959-3993.
59. PUUPPONEN-PIMI, R., L. NOHYNEK, S. HARTMANN-SCHMIDLIN, M. KAHKONEN, M. HEINONEN, K. MAATA-RIIHINEN, K.-M. OKSMAN-CALDENTY. Berry phenolics selectively inhibit the growth of intestinal pathogens. *Journal of Applied Microbiology*. 2005, 98, 991-1000. Prieiga per: doi: 10.1111/j.1365-2672.2005.02547.x
60. VIŠKELIS, P., M. RUBINSKIENĖ, I. JASUTIENĖ, A. ŠARKINAS, R. DAUBARAS, L. ČESONIENĖ. Anthocyanins, antioxidant and antimicrobial properties of American cranberry. *Journal Food Science*. 2009, 74(2), 157-161. Prieiga per: doi: 10.1111/j.1750-3841.2009.01066.x
61. KRISCH J., GALGÓCZY L., TÖLGYESI M., PAPP T., VÁGVÖLGYI C. Effect of fruit juices and pomace extracts on the growth of Gram-positive and Gram-negative bacteria. *Acta Biol. Szeged*. 2008, 52, 267–270. Prieiga per: <http://www.sci.u-szeged.hu/ABS>
62. WITKOWSKA A., K. HICKEY, M. ALONSO-GOMEZ, M. WILKINSON. Evaluation of Antimicrobial Activities of Commercial Herb and Spice Extracts Against Selected Food-Borne Bacteria. *Food Control*. 2010, 21(10), 1408-1414. ISSN: 0956-7135.
63. HAYRAPETYAN, H., W. C. HAZELEGER, R.R. BEUMER. Inhibition of *Listeria monocytogenes* by pomegranate (*Punica granatum*) peel extract in meat paté at different temperatures. *Food Control*. 2012, 23(1), 66-72. ISSN: 0956-7135.
64. HOLLEY, R.A., D. PATEL. Improvement in shelf-life and safety of perishable foods by plant essential oils and smoke antimicrobials. *Food Microbiology*. 2005, 22(4), 273-292. Prieiga per: doi: 10.1016/j.fm.2004.08.006
65. SALLAM K. I. Chemical, sensory and shelf life evaluation on sliced salmon treated with salts of organic acids. *Food chemistry*. 2007, 101(2), 592-600. ISSN: 0308-8146.
66. Komisijos Reglamentas (EB) 1441/2007, iš dalies keičiantis Reglamentą (EB) Nr. 2073/2005 „Dėl maisto produktų mikrobiologinių kriterijų“. Prieiga per: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/LT/TXT/?uri=CELEX%3A32007R1441>.
67. PAPUC, C., G. V. GORAN, C.V. PREDESCU, V. NICORESCU, G. STEFAN. Plant Polyphenols as Antioxidant and Antibacterial Agents for Shelf-Life Extension of Meat and Meat Products: Classification, Structures, Sources, and Action Mechanisms. *Reviews in Food Science and Food Safety*. 2017, 16, 1242- 1456. Prieiga per: doi:10.1111/1541-4337.12298

68. MASTEIKIENĖ Regina R., *Maisto produktų mikrobiologija*. Kaunas: Technologija. 2002-2007. ISBN: 9955092432,
69. COLE, M. B., M. V. JONES, C. HOLYOAK. The effect of pH, salt concentration and temperature on the survival and growth of *Listeria monocytogenes*. *Journal of Applied Microbiology*. 1990, 69 (1), 63-72. Prieiga per: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1111/j.1365-2672.1990.tb02912.x>)
70. STUART, L. S. Effect of protein concentration and cysteine on growth of halophilic bacteria. *Journal of Agriculture Research*. 1994, 61(4), 265 – 281. ISSN: 0378-1097.
71. LADO B., A. E. YOUSEF. Characteristics of *Listeria monocytogenes* important to food processors. Ch 6 In: Ryser ET, Marth EH (eds) *Listeria, listeriosis and food safety*. 3rd ed, CRC Press Taylor & Francis Group, Boca Raton, 2007, 157–213. Disseratation. Prieiga per: https://etd.ohiolink.edu/rws_etd/document/get/osu1070169899/inline
72. AEZQUITA, A., M. M. BRASHEARS. Competitive Inhibition of *Listeria monocytogenes* in Ready-to-Eat Meat Products by Lactic Acid Bacteria. *Journal of Food Protection*. 2002, 65(2), 53-74. Prieiga per: doi: 10.4315/0362-028X-65.2.316
73. THOMPSON, N. Four conditions for bacterial growth. *Food Microbiology*. 2017, 19, 48-56. ISSN: 0169-4243.
74. ILSI – *The Intentional Life Science Institute*. Prieiga per: http://ilsi.eu/wp-content/uploads/sites/3/2016/06/C2002Con_Food.pdf

PRIEDAI

1 lentelė. Ekstraktų antibakterinis poveikis prieš *Campylobacter jejuni* bakterijas

	Bakterijų skaičius/ml, 10 ⁴	Bakterijų skaičius/ml, 10 ⁸
Kontrolė	_{bc} **8,215 ^{A*}	_e 8,11 ^B
Etanolinis ekstraktas, 0.42%	_d 7,635 ^A	_e 7,6 ^A
Etanolinis ekstraktas, 0.83%	_a 5,62 ^A	_d 2,54 ^B
Etanolinis ekstraktas, 1,65%	_a 0 ^A	_a 0 ^A
Etanolinis ekstraktas, 3,33%	_a 0	_a 0
Etanolinis ekstraktas, 6,6%	_a 0	_a 0
Vandeninis ekstraktas, 0.42%	_{cd} 7,96 ^A	_e 7,74 ^B
Vandeninis ekstraktas, 0.83%	_{cd} 7,95 ^A	_e 7,39 ^A
Vandeninis ekstraktas, 1,65%	_b 0,87 ^A	_e 4,97 ^B
Vandeninis ekstraktas, 3,33%	_a 0 ^A	_a 0 ^A
Vandeninis ekstraktas, 6,6%	_a 0	_a 0

*statistinė analizė tarp mėginių su tuo pačio ekstrakto esant skirtingam bakterijų skaičiui

** statistinė analizė tarp mėginių su skirtingais ekstraktais esant tam pačiam bakterijų skaičiui

2 lentelė. Antibakterinis poveikis prieš *Brohotrix thermosphacta*

	Bakterijų skaičius/ml, 10 ⁴	Bakterijų skaičius/ml, 10 ⁸
Kontrolė	_d **88,05 ^{A*}	_c 8,4075 ^B
Etanolinis ekstraktas, 0.42%	_d 7,945 ^A	_c 7,264 ^A
Etanolinis ekstraktas, 0.83%	_d 7,9575 ^B	_b 3,98 ^A
Etanolinis ekstraktas, 1,65%	_c 6,98 ^A	_c 7,465 ^A
Etanolinis ekstraktas, 3,33%	_a 0 ^A	_c 8,2925 ^B
Etanolinis ekstraktas, 6,6%	_a 0	_a 0
Vandeninis ekstraktas, 0.42%	_a 8,16 ^A	_c 7,7875 ^A
Vandeninis ekstraktas, 0.83%	_d 8,195 ^A	_c 7,40667 ^A
Vandeninis ekstraktas, 1,65%	_b 4,15 ^A	_b 4,475 ^A
Vandeninis ekstraktas, 3,33%	_a 0	_a 0
Vandeninis ekstraktas, 6,6%	_a 0	_a 0

*statistinė analizė tarp mėginių su tuo pačio ekstrakto esant skirtingam bakterijų skaičiui

** statistinė analizė tarp mėginių su skirtingais ekstraktais esant tam pačiam bakterijų skaičiui

3 lentelė. Antibakterinis poveikis prieš *Pseudomonas putida*

	Bakterijų skaičius/ml, 10 ⁴	Bakterijų skaičius/ml, 10 ⁸
Kontrolė	^{Bc**} 7,9175 ^{A*}	^e 8,74667 ^B
Etanolinis ekstraktas, 0.42%	^d 8,465 ^A	^e 8,2725 ^A
Etanolinis ekstraktas, 0.83%	^a 0 ^A	^d 6,025 ^B
Etanolinis ekstraktas, 1.65%	^a 0 ^A	^c 4,9 ^B
Etanolinis ekstraktas, 3.33%	^a 0	^a 0
Etanolinis ekstraktas, 6.6%	^a 0	^a 0
Vandeninis ekstraktas, 0.42%	^{cd} 8,2425 ^A	^e 8,73 ^B
Vandeninis ekstraktas, 0.83%	^{cd} 8,225 ^A	^e 8,1425 ^A
Vandeninis ekstraktas, 1.65%	^b 7,77 ^A	^e 8,55 ^B
Vandeninis ekstraktas, 3.33%	^a 0 ^A	^b 2,76 ^B
Vandeninis ekstraktas, 6.6%	^a 0	^a 0

*statistinė analizė tarp mėginių su tuo pačio ekstrakto esant skirtingam bakterijų skaičiui

** statistinė analizė tarp mėginių su skirtingais ekstraktais esant tam pačiam bakterijų skaičiui

4 lentelė. Antibakterinis poveikis prieš *Weisella viridescens*

	Bakterijų skaičius/ml, 10 ⁴	Bakterijų skaičius/ml, 10 ⁸
Kontrolė	^{d**} 9,20333 ^{A*}	^{bc} 8,59 ^A
Etanolinis ekstraktas, 0.42%	^d 8,8075 ^A	^c 8,825 ^A
Etanolinis ekstraktas, 0.83%	^d 8,7575 ^A	^c 8,76 ^A
Etanolinis ekstraktas, 1.65%	^{cd} 8,345 ^A	^{abc} 8,5375 ^A
Etanolinis ekstraktas, 3.33%	^b 7,52667 ^A	^{ab} 8,065 ^A
Etanolinis ekstraktas, 6.6%	^a 4,03 ^A	^a 7,9575 ^B
Vandeninis ekstraktas, 0.42%	^d 8,6975 ^A	^c 9,0325 ^B
Vandeninis ekstraktas, 0.83%	^d 8,8725 ^A	^c 9,17667 ^B
Vandeninis ekstraktas, 1.65%	^d 8,72667 ^A	^c 9,055 ^A
Vandeninis ekstraktas, 3.33%	^d 8,6675 ^A	^c 8,78 ^A
Vandeninis ekstraktas, 6.6%	^{bc} 7,772 ^A	^c 8,815 ^B

*statistinė analizė tarp mėginių su tuo pačio ekstrakto esant skirtingam bakterijų skaičiui

** statistinė analizė tarp mėginių su skirtingais ekstraktais esant tam pačiam bakterijų skaičiui

5 lentelė. Antibakterinis poveikis prieš *Leuconostoc mesenteroides*

	Bakterijų skaičius/ml, 10 ⁴	Bakterijų skaičius/ml, 10 ⁸
Kontrolė	e**9,2575 ^{B*}	ab7,85 ^A
Etanolinis ekstraktas, 0.42%	bcd8,85 ^B	bc8,024 ^A
Etanolinis ekstraktas, 0.83%	bcd8,8575 ^B	a7,65 ^A
Etanolinis ekstraktas, 1,65%	bcd8,7075 ^B	ab7,86833 ^A
Etanolinis ekstraktas, 3,33%	a8,43 ^A	d8,485 ^A
Etanolinis ekstraktas, 6,6%	ab8,6175 ^B	a7,60333 ^A
Vandeninis ekstraktas, 0.42%	bcd8,8725 ^B	cd8,17 ^A
Vandeninis ekstraktas, 0.83%	d8,955 ^B	cd8,29 ^A
Vandeninis ekstraktas, 1,65%	cd8,9275 ^B	cd8,205 ^A
Vandeninis ekstraktas, 3,33%	d8,9625 ^B	cd8,215 ^A
Vandeninis ekstraktas, 6,6%	abc8,6625 ^B	d8,404 ^A

*statistinė analizė tarp mėginių su tuo pačio ekstrakto esant skirtingam bakterijų skaičiui

** statistinė analizė tarp mėginių su skirtingais ekstraktais esant tam pačiam bakterijų skaičiui

6 lentelė. Termiškai apdoroto etanolinio ekstrakto poveikis prieš *Listeria monocytogenes*

	Bakterijų skaičius/ml, 10 ⁴	Bakterijų skaičius/ml, 10 ⁸
Kontrolė	b**8,74 ^{A*}	c8,6325 ^A
Etanolis ekstraktas 1,65% HT	a0 ^A	b5,51667 ^B
Etanolis ekstraktas 1.65% WHT	a0,305 ^A	b4,805 ^B
Etanolis ekstraktas 2% HT	a0 ^A	a0,25 ^B
Etanolis ekstraktas 2% WHT	a0	a0

*statistinė analizė tarp mėginių su tuo pačio ekstrakto esant skirtingam bakterijų skaičiui

** statistinė analizė tarp mėginių su skirtingais ekstraktais esant tam pačiam bakterijų skaičiui

7 lentelė. *Listeria monocytogenes* bakterijų skaičius mėsos ištraukoje, lg KVS/ml

Diena					
Mėginys	0	2	4	7	16
C	0	0	0	0	0
CI	$b^{**}3,48^A*$	$b3,94^B$	$b5,3^E$	$b4,95^D$	$b4,6^C$
CR	0	0	0	0	0
R	$a2,7^{AB}$	$a3,07^B$	$a3,05^B$	$a2,6A^B$	$a1,87^A$

*statistinė analizė tarp mėginių su tuo pačio ekstrakto esant skirtingam bakterijų skaičiui

** statistinė analizė tarp mėginių su skirtingais ekstraktais esant tam pačiam bakterijų skaičiui

8 lentelė. *Brochothrix thermosphacta* bakterijų skaičiaus mėsos ištraukoje, lg KVS/ml

Diena					
Mėginys	0	2	4	7	16
C	$b^{**}4,73^A*$	$b6,67^B$	$b7,35^C$	$b7,76^D$	$b7,31^C$
CI	$b4,84^A$	$b6,62^B$	$b7,41^C$	$b7,72^C$	$b7,66^C$
CR	0	0	0	0	0
R	$a2,78^A$	$a3,24^B$	$a3,56^{BC}$	$a3,79^{CD}$	$a4,03^D$

*statistinė analizė tarp mėginių su tuo pačio ekstrakto esant skirtingam bakterijų skaičiui

** statistinė analizė tarp mėginių su skirtingais ekstraktais esant tam pačiam bakterijų skaičiui

9 lentelė. *Pseudomonas putida* bakterijų skaičiaus mėsos ištraukoje, lg KVS/ml

Diena					
Mėginys	0	2	4	7	16
C	$b^{**}3,51^A*$	$c4,69^B$	$c6,33^C$	$c7,98^D$	$c8,64^E$
CI	$b3,58^A$	$d5,06^B$	$c6,41^C$	$c8,01^D$	$b8,21^D$
CR	$a0^A$	$a0^A$	$a0^A$	$b4,5^B$	$a4,45^B$
R	$b3,54^B$	$b3,15^{AB}$	$b2,7^A$	$a2,76^A$	$a4,49^C$

*statistinė analizė tarp mėginių su tuo pačio ekstrakto esant skirtingam bakterijų skaičiui

** statistinė analizė tarp mėginių su skirtingais ekstraktais esant tam pačiam bakterijų skaičiui

10 lentelė. *Aerobinės mezofilinės bakterijos* bakterijų skaičiaus mėsos ištraukoje, lg KVS/ml

Diena					
Mėginys	0	2	4	7	16
C	c**5,73 ^{A*}	c6,42 ^A	c6,62 ^{AB}	c8,97 ^C	c7,43 ^B
CI	c5,56 ^A	d7,44 ^B	c7,69 ^B	c8,96 ^C	c8,07 ^B
CR	a0 ^A	a0 ^A	a0 ^A	b3,83 ^B	b3,97 ^B
R	b4,11 ^B	b3,98 ^B	b3,94 ^B	a3,93 ^B	a2,45 ^A

*statistinė analizė tarp mėginių su tuo pačio ekstrakto esant skirtingam bakterijų skaičiui

** statistinė analizė tarp mėginių su skirtingais ekstraktais esant tam pačiam bakterijų skaičiui

11 lentelė *Listeria monocytogenes* bakterijų augimas kiaulienos mėsainiuose, lg KVS/g

Diena							
Mėginys	0	2	5	7	9	13	16
RC							
RCI	a**3,13 ^{A*}	b3,36 ^A	b3,99 ^B	b4,66 ^C	b5,68 ^D	b6,27 ^E	b6,54 ^E
RCR							
RR	a3,11 ^A	a1,88 ^A	a2,02 ^{AB}	a2,39 ^A	a2,12 ^A	a2,39 ^A	a2,21 ^A

*statistinė analizė tarp mėginių su tuo pačio ekstrakto esant skirtingam bakterijų skaičiui

** statistinė analizė tarp mėginių su skirtingais ekstraktais esant tam pačiam bakterijų skaičiui

12 lentelė *Brochothrix thermosphacta* bakterijų augimas kiaulienos mėsainiuose, lg KVS/g

Diena							
Mėginys	0	2	5	7	9	13	16
RC	a**2 ^{B*}	b3,32 ^B	b4,09 ^C	c5,26 ^D	c6,1 ^E	b6,64 ^F	c6,78 ^F
RCI	b2,33 ^A	b2,24 ^{AB}	b2,82 ^{BC}	b3,02 ^C	c2,07 ^D	b3,32 ^D	c2,96 ^E
RCR	b3,14 ^A	a3,62 ^{AB}	a3,92 ^{ABC}	a4,43 ^{ABC}	a5,73 ^A	a6,18 ^{BC}	b6,97 ^C
RR	b2 ^A	a2,15 ^A	a2,65 ^A	a2,6 ^A	b2,21 ^A	a3,16 ^A	a3,87 ^A

*statistinė analizė tarp mėginių su tuo pačio ekstrakto esant skirtingam bakterijų skaičiui

** statistinė analizė tarp mėginių su skirtingais ekstraktais esant tam pačiam bakterijų skaičiui

13 lentelė. *Pseudomonas putida* bakterijų augimas kiaulienos mėšainiuose, lg KVS/g

Diena							
Mėginys	0	2	5	7	9	13	16
RC	^a **3,76 ^{A*}	^b 3,98 ^A	^b 4,2 ^A	^b 4,93 ^B	^b 6,29 ^C	^d 7,06 ^D	^b 7,04 ^D
RCI	^a 3,8 ^A	^b 3,83 ^A	^b 4,04 ^A	^b 4,77 ^B	^b 6,16 ^C	^c 6,7 ^{CD}	^b 7,11 ^D
RCR	^a 3,68 ^{CD}	^a 3,19 ^{BC}	^a 2,93 ^{AB}	^a 3,33 ^{BC}	^a 2,53 ^A	^b 3,56 ^C	^a 4,15 ^D
RR	^a 3,42 ^{BC}	^a 2,93 ^A	^a 3,1 ^{AB}	^a 3,14 ^A	^a 2,8 ^A	^a 3,02 ^A	^a 3,75 ^C

*statistinė analizė tarp mėginių su tuo pačio ekstrakto esant skirtingam bakterijų skaičiui

** statistinė analizė tarp mėginių su skirtingais ekstraktais esant tam pačiam bakterijų skaičiui

14 lentelė. *Pieno rūgšties* bakterijų augimas kiaulienos mėšainiuose, lg KVS/g

Diena							
Mėginys	0	2	5	7	9	13	16
RC	^a **3,45 ^{A*}	^a 3,75 ^A	^a 3,97 ^A	^{bc} 5,24 ^B	^c 7,33 ^C	^c 9 ^D	^b 4 ^D
RCI	^a 3,48 ^A	^a 3,74 ^A	^a 3,72 ^A	^c 5,64 ^B	^c 7,28 ^C	^c 8,68 ^D	^b 9,55 ^E
RCR	^a 3,31 ^A	^a 3,42 ^A	^a 4,18 ^B	^{ab} 4,7 ^C	^a 5,12 ^D	^a 5,93 ^E	^a 6,82 ^F
RR	^a 3,3 ^A	^a 3,51 ^A	^a 4,14 ^B	^a 4,29 ^B	^b 5,64 ^C	^b 6,41 ^D	^a 6,52 ^D

*statistinė analizė tarp mėginių su tuo pačio ekstrakto esant skirtingam bakterijų skaičiui

** statistinė analizė tarp mėginių su skirtingais ekstraktais esant tam pačiam bakterijų skaičiui

15 lentelė. *Aerobinių mezofilinių* bakterijų augimas kiaulienos mėšainiuose, lg KVS/g

Diena							
Mėginys	0	2	5	7	9	13	16
RC	^a **3,98 ^{A*}	^b 5,07 ^B	^b 5,87 ^C	^b 7,5 ^D	^b 9,2 ^E	^b 10,55 ^F	^b 10,59 ^F
RCI	^b 5,01 ^A	^b 5,13 ^A	^b 6,02 ^B	^b 7,12 ^C	^b 8,8 ^D	^b 10,18 ^F	^b 10,73 ^F
RCR	^a 4,39 ^A	^b 4,99 ^{AB}	^a 5,3 ^B	^a 4,28 ^A	^a 5,81 ^B	^a 7,83 ^C	^a 8,25 ^C
RR	^a 4,35 ^{AB}	^a 4,05 ^A	^a 5,26 ^B	^a 5,21 ^B	^a 6,54 ^C	^a 7,32 ^C	^a 8,37 ^D

*statistinė analizė tarp mėginių su tuo pačio ekstrakto esant skirtingam bakterijų skaičiui

** statistinė analizė tarp mėginių su skirtingais ekstraktais esant tam pačiam bakterijų skaičiui

16 lentelė. *Listeria monocytogenes* bakterijų augimas termiškai apdorotame kumpyje, lg KVS/g

Dienos								
Mėginys	0	7	15	22	27	32	36	40
CC								
CCI	a*2,98 ^{A**}	b3,69 ^B	b5,42 ^C	b8,26 ^E	a7,35 ^D	a8,48 ^E	a8,53 ^E	a8,56 ^E
CCR								
CR	a3,29 ^A	a2,85 ^A	a2,97 ^A	a5,28 ^B	a7,15 ^C	a7,95 ^{BC}	a8,33 ^C	b9,08 ^D

*Statistinė to paties mėginio analizė skirtingomis tyrimo dienomis.

**Statistinė skirtingų mėginių analizė tą pačią dieną.

17 lentelė. *Pieno rūgšties* bakterijų augimas termiškai apdorotame kumpyje, lg KVS/g

Dienos								
Mėginys	0	7	15	22	27	32	36	40
CC	a*0 ^{A**}	a0 ^A	a3,81 ^B	a4,54 ^B	a6,12 ^C	a5,68 ^C	a4,3 ^B	a3,88 ^B
CCI	b0 ^A	b0 ^A	b4,38 ^B	b6,44 ^C	b6,87 ^C	b6,47 ^D	c4,3 ^D	c3,88 ^C
CCR	a3,15 ^A	a3,32 ^A	ab5,13 ^B	b6,66 ^C	ab7,22 ^C	a8,22 ^C	b8,11 ^C	c7,24 ^C
CR	b3,2 ^A	c3,72 ^A	ab4,54 ^B	b6,08 ^C	b7,15 ^D	b7,45 ^D	c8,68 ^E	b5,49 ^C

* Statistinė to paties mėginio analizė skirtingomis tyrimo dienomis.

**Statistinė skirtingų mėginių analizė tą pačią dieną.

18 lentelė. *Aerobinės mezofilinės* bakterijų augimas termiškai apdorotame kumpyje, lg KVS/g

Dienos								
Mėginys	0	7	15	22	27	32	36	40
CC	a*0 ^{A**}	a0 ^A	a4,43 ^{BC}	a4,37 ^B	ab6,86 ^E	a5,1 ^{BCD}	a5,12 ^{CD}	a5,11 ^D
CCI	b4,05 ^A	c3,69 ^A	b6,59 ^B	d9,17 ^{DE}	b9,22 ^B	d10,14 ^E	c8,1 ^C	b8,79 ^{CD}
CCR	a0 ^A	a0 ^A	a4,21 ^B	b5,09 ^C	a6,5 ^D	b6,8 ^D	b6,65 ^D	b9,12 ^E
CR	b4,1 ^A	b2,85 ^B	a4,72 ^C	c6,25 ^D	b7,38 ^E	c8,76 ^F	c8,68 ^F	c10,03 ^G

* Statistinė to paties mėginio analizė skirtingomis tyrimo dienomis.

**Statistinė skirtingų mėginių analizė tą pačią dieną.