



**EUROPOS ŽEMĖS ŪKIO FONDAS KAIMO PLĖTRAI:
EUROPA INVESTUOJA Į KAIMO VIETOVES
PROJEKTĄ REMIA LIETUVOS RESPUBLIKA**



**LIETUVOS RESPUBLIKOS
ŽEMĖS ŪKIO MINISTERIJA**



**LIETUVOS KAIMO PLĖTROS 2014–2020 METŲ PROGRAMOS PRIEMONĖS
„BENDRADARBIAVIMAS“ VEIKLOS SRITIS „PARAMA EIP VEIKLOS
GRUPĖMS KURTI IR JŲ VEIKLAI VYSTYTI“**

Projekto „Uždaro ciklo bioaktyvių medžiagų ūkio modelis“

Nr. 35BV-KK-22-1-05005-PR001

Rekomendacijos

Šaltalankiai dažnai vadinami šiuolaikiniu „supermaistu“ dėl savo išskirtinių maistinių ir gydomųjų savybių. Jie yra vertingi ne tik kaip vaistinis augalas, bet ir kaip natūrali imunitetą stiprinanti priemonė. Šaltalankių uogos ir iš jų išgaunamos sultys yra gausios vitaminų ir mineralų, o sėklų aliejus plačiai naudojamas farmacijos, kosmetikos pramonėje bei kaip maisto papildas. Vaisių minkštyme randama įvairių organinių rūgščių, cukrų ir vitaminų, o sėklose – vertingas aliejus. Šaltalankių uogos pasižymi dideliu vitamino C kiekiu, taip pat jose gausu karoteno, cholino, nikelio, mangano, geležies, fosforo, folio rūgšties, flavonoidų ir vitaminų B₁, B₂, P, E bei K. Dėl savo antioksidacinių savybių šaltalankiai padeda neutralizuoti laisvuosius radikalus, stabdo senėjimo procesus, skatina odos elastingumą ir ląstelių regeneraciją, taip pat stiprina organizmo atsparumą ligoms. Be to, šaltalankių sudėtyje esantys flavonoidai, fenolinės rūgštys ir taninai suteikia jiems stiprių antioksidacinių, kardioprotekcinų ir žaizdų gijimą skatinančių savybių. Vitaminas C, kuris yra vienas pagrindinių šaltalankių vaisių komponentų, ne tik veikia kaip antioksidantas, bet ir palaiko ląstelių membranų vientisumą. Karotenoidai, įskaitant likopeną ir β-karoteną, prisideda prie

kolageno sintezės ir odos atsinaujinimo. Šaltalankių auginimas neapsiriboja vien uogų derliumi – šio augalo lapai ir šakos, likusios po uogų nurinkimo, taip pat yra vertingos žaliavos. Jie gali būti panaudojami kuriant aukštos pridėtinės vertės produktus, prisidedant prie tvarios žemės ūkio praktikos ir atliekų mažinimo. Šaltalankių lapuose ir šakelėse gausu biologiškai aktyvių junginių, įskaitant fenolinius junginius, proantocianidinus, flavanoidus ir antioksidantus, kurie turi didelį potencialą farmacijos, kosmetikos ir maisto pramonėje. Efektyviai pritaikant šias šalutines žaliavas, galima ne tik sumažinti aplinkos taršą, bet ir sukurti vertingus ekstraktus su sveikatai naudingomis savybėmis.

Dėl šių vertingų savybių šaltalankiai yra plačiai naudojami įvairiose sveikatos priežiūros srityse. Jų aktyviosios sudedamosios dalys, tokios kaip vitaminas E, karotenoidai ir nepakeičiamos riebalų rūgštys, padeda palaikyti širdies sveikatą, stiprina imuninę sistemą, padeda gydyti odos žaizdas bei mažina uždegimus. Šaltalankių pagrindu gaminami produktai vis dažniau naudojami kaip natūralios terapinės priemonės. Šaltalankių antrinių žaliavų biokoncentratų gamyba gali būti efektyviai pritaikyti tiek farmacijoje, tiek maisto pramonėje. Vienas iš biokoncentratų gavimo būdų yra kietafazė ekstrakcija, atliekama naudojant *Naviglio* ekstraktorių. Šis metodas, pagrįstas dinaminiu slėgio taikymu, leidžia išgauti didesnes biologiškai aktyvių junginių koncentracijas per trumpesnę laiką, išsaugant jų biologinį aktyvumą. Be to, naudojant mažesnę kiekį tirpiklių, ši technologija yra draugiškesnė aplinkai ir ekonomiškai patrauklesnė. *Naviglio* ekstraktorius suteikia galimybę efektyviai perdirbti šaltalankių šakas ir lapus, paverčiant juos aukštos pridėtinės vertės produktais maisto, farmacijos ar kosmetikos pramonėje, taip prisidedant prie žiedinės ekonomikos ir tvaraus išteklių naudojimo. Ši tvari praktika padeda sumažinti atliekų kiekį ir maksimaliai išnaudoti augalo potencialą. Tolesnėse rekomendacijose pateikiamos įžvalgos, kaip optimaliai išgauti ir pritaikyti šiuos bioaktyvius junginius.

Rekomendacijos šaltalankių antrinėms žaliavoms bei technologiniams ekstrakcijos procesui biologiškai aktyvių junginių praturtintiems ekstraktams išgauti.

1. Rekomenduojama optimizuoti šaltalankių uogų išspaudų ekstrakcijos sąlygas, atsižvelgiant į ciklų skaičių ir trukmę, siekiant maksimalios biologiškai aktyvių medžiagų koncentracijos ir gauti ekstraktus su vertingais biologiškai aktyviais junginiais. Ilgesnės ekstrakcijos trukmės (pvz., 60 ciklų, 10 min.) gali padidinti vitamino E koncentraciją, tačiau trumpesni procesai (20 ciklų, 5 min.) taip pat gali pasiekti panašių rezultatų, mažinant laiko ir energijos sąnaudas.



1 pav. Šaltalankių antrinių žaliavų biokoncentratų gavimo principinė schema.

2. Siekiant didesnės vitamino E ir β -karoteno koncentracijos bei gauti ekstraktus su biologiškai aktyviais junginiais, rekomenduojama naudoti šviežią žaliavą ir užtikrinti optimalias ekstrakcijos sąlygas. Didesnis vitamino E kiekis ($78,04 \pm 2,31$ mg/100 g) ir beveik dvigubai didesnė β -karoteno koncentracija ($2,43 \pm 0,03$ mg/100 g) gali būti pasiekti taikant tinkamus gamybos procesus. Omega-3 riebalų rūgščių koncentracija taip pat gali būti padidinta (0,37 %) parinkus tinkamus parametrus. Optimizuotas procesas leidžia išgauti aukštos biologinės vertės ekstraktus su didesne biologiškai aktyvių medžiagų koncentracija.
3. Papildomo šaltalankių uogų išspaudų smulkinimo taikymas nėra būtinas, jei siekiama išlaikyti galutinio aliejinio ekstrakto kokybę ir išgauti ekstraktus su biologiškai aktyviais junginiais. Nors smulkinimas gali pagreitinti biologiškai aktyvių medžiagų išgavimą, jis taip pat padidina oksidacijos riziką. Be to, tyrimai parodė, kad smulkinimas gali sumažinti vitamino E, vitamino D₃ ir β -karoteno koncentraciją. Todėl rekomenduojama apsvarstyti šio žingsnio praleidimą, ypač jei siekiama išvengti kokybės praradimo.
4. Šaltalankių lapuose randama daug vitaminų, mineralų ir biologiškai aktyvių junginių, tokių kaip proantocianidinai ir fenoliniai junginiai. Dėl didelio skaidulų, baltymų ir mineralų kiekio šie lapai yra vertingas mitybos šaltinis. Aukštas kalcio ir magnio kiekis bei

didelė antioksidacinė vertė suteikia galimybių šaltalankių lapus panaudoti funkcinio maisto kūrimui.

5. Trumpesnės ekstrakcijos sąlygos (pvz., 20 ciklų po 2 min.) leidžia efektyviai išgauti proantocianidinus ir fenolinius junginius iš šaltalankių lapų, nors ilgesni ciklai (pvz., 60 ciklų po 10 min.) užtikrina didžiausią šių junginių koncentraciją. Tvarios vandeninės ekstrakcijos metodai yra aplinkai palankesni nei etanolio pagrindu atliekamos ekstrakcijos. Etanolio ir vandens mišiniai suteikia didesnę biologinių aktyvių junginių, tokių kaip proantocianidiniai ir fenoliniai junginiai, koncentraciją, palyginti su vandenine ekstrakcija. Didžiausia fenolinių junginių koncentracija ($77,89 \pm 0,81$ mg/g) buvo pasiekta naudojant etanolio ekstrakciją. Tačiau tai reikalauja papildomų tirpiklių pašalinimo procesų, todėl jų naudojimas labiau tinka specializuotiems maisto ir kosmetikos produktams.

6. Ekstrakcijos procesai, atliekami trumpesniais ciklais (pvz., 20 ciklų po 2 min.), yra tinkami pritaikyti realiomis ūkinėmis sąlygomis, nes jie sumažina energijos sąnaudas ir yra tvarūs. Šis metodas taip pat tinkamas maisto produktų kūrimui, kur reikalinga tirpiklių vengimas. Tuo tarpu, jei reikalinga didžiausia biologinių aktyvių junginių koncentracija, rekomenduojama naudoti etanolio ekstrakciją, laikantis optimizuotų sąlygų. Šaltalankių lapų ekstraktai gali būti plačiai pritaikomi maisto, sveikatos ir kosmetikos pramonėje. Jie gali būti naudojami kaip antioksidantų, priešuždegiminių ir imunitetą stiprinančių medžiagų šaltinis, taip pat odos priežiūros priemonėse, gerinant regeneracijos procesus ir mažinant uždegimus.

7. Rekomenduojama naudoti šaltalankių šakeles, likusias po uogų nurinkimo, ekstraktų gamybai, siekiant sumažinti atliekų kiekį ir prisidėti prie tvaraus žemės ūkio praktikos. Šakelių panaudojimas leidžia maksimaliai išnaudoti visą augalą ir gauti vertingų biologiškai aktyvių medžiagų.

8. Siekiant didžiausios biologiškai aktyvių medžiagų, tokių kaip proantocianidiniai ir fenoliniai junginiai iš šaltalankių šakelių, koncentracijos, rekomenduojama taikyti alkoholinę ekstrakciją. Alkoholinės ekstrakcijos metu galima pasiekti iki 64,72 mg/g proantocianidinų ir iki 50,79 mg/g fenolinių junginių, todėl šis metodas yra tinkamas produktams, kuriems reikalinga didesnė bioaktyviųjų medžiagų koncentracija.

9. Vandeninė ekstrakcija yra ekonomiškesnė ir tvaresnė alternatyva, užtikrinanti iki 90,37 % antioksidacinį efektyvumą. Rekomenduojama taikyti šį metodą, kai prioritetas teikiamas aplinkosaugai ir mažesniai tirpiklių naudojimui. Jis tinkamas maisto pramonės ir kasdienio vartojimo produktams, kuriems nereikalinga maksimali bioaktyvių medžiagų koncentracija.

10. Šaltalankių šakelių ekstraktai, turintys didelį proantocianidinų ir fenolinių junginių kiekį, rekomenduojami naudoti farmacijos, kosmetikos ir maisto pramonėje. Jie gali būti naudojami kaip natūralūs antioksidantai, priešuždegiminiai ar antimikrobiniai komponentai įvairiuose produktuose.

11. Rekomenduojama atsižvelgti į galutinio produkto paskirtį ir pasirinkti tinkamą ekstrakcijos metodą. Alkoholinė ekstrakcija tinka produktams, kuriems reikalinga didžiausia bioaktyvių junginių koncentracija, o vandeninė ekstrakcija – produktams, kuriems svarbi tvarumo ir ekonomiško pusiausvyra.

Rekomendacijos šaltalankių antrinių žaliavų biologiškai aktyvių junginių ekstrakcijos proceso ir produktų mikrobiologinei saugai užtikrinti

Vertinant šaltalankių išspaudų, lapelių, šakelių ir jų ekstraktų mikrobiologinę saugą tikslinga nustatyti užterštumą įvairiais mikroorganizmais. Tyrimai atlikti naudojant standartinius mikrobiologinius tyrimo metodus.

Bendras mikroorganizmų skaičius nustatytas sėjimo į Petri lėkštes metodu, naudojant terpę bendram mikroorganizmų skaičiui nustatyti (Plate Count Agar, LAB M) pagal LST EN ISO 4833-1:2013 Maisto ir pašarų mikrobiologija. Bendrasis metodas. Kolonijų skaičiavimo 30 °C temperatūroje metodas.

Atskirų bakterijų nustatymas, kaip koliforminių bakterijų skaičius prie 37 °C, KSV/g; salmonelių aptikimas 25 g, bendras mezofilinių pieno rūgšties bakterijų skaičius, KSV/g, numanomų bifidobakterijų skaičius, KSV/g, bendrasis sulfitus redukuojančių bakterijų (klostridijų) skaičius, KSV/g, mielių skaičius, KSV/g, pelėsinų grybų skaičius, KSV/g, monocitogeninių listerijų (*Listeria monocytogenes*) aptikimas prie 37 °C, 25 g, atliekamas naudojant šiuos tyrimo metodus: LST EN ISO 11133:2014 Maisto, pašarų ir vandens mikrobiologija. Mitybos terpių ruošimas, gamyba, laikymas ir veiksmingumo tyrimas (ISO 11133:2014, pataisyta 2014-11-01 versija). LST EN ISO 6887-1:2017 Maisto grandinės mikrobiologija. Tiriamųjų mėginių, pradinės suspensijos ir dešimtkarčių skiedinių ruošimas mikrobiologiniams tyrimams. 1 dalis. Pradinės suspensijos ir dešimtkarčių skiedinių ruošimas. Bendrosios taisyklės (Tapati ISO 6887-1:2017). LST ISO 4832:1999 Mikrobiologija. Koliforminių bakterijų skaičiavimas. Kolonijų skaičiavimo metodas. LST EN ISO 4833-1:2013 Maisto ir pašarų mikrobiologija. Bendrasis metodas. Kolonijų skaičiavimo 30 °C temperatūroje metodas.

LST ISO 16649-2:2002 Maisto ir pašarų mikrobiologija. Bendrasis β -gliukuronidazę gaminančių žarninių lazdelių (*Escherichia coli*) skaičiavimo metodas. 2 dalis. Kolonijų skaičiavimo 44°C temperatūroje, naudojant 5-brom-4-chlor-3-indolil β -D-gliukuronidą, metodas.

LST ISO 21527-1:2008 Maisto ir pašarų mikrobiologija. Bendrasis bendrasis mielių ir pelėsinių grybų skaičiavimo metodas. 1 dalis. Kolonijų skaičiavimo būdas produktuose, kurių vandens aktyvumas didesnis kaip 0,95 (tapatus ISO 21527-1:2008).

LST ISO 21527-2:2008 Maisto ir pašarų mikrobiologija. Bendrasis mielių ir pelėsinių grybų skaičiavimo metodas. 2 dalis. Kolonijų skaičiavimo būdas produktuose, kurių vandens aktyvumas yra 0,95 arba mažesnis (tapatus ISO 21527-2:2008).

LST EN ISO 6579-1:2017 Maisto grandinės mikrobiologija. Bendrasis salmonelių aptikimo, skaičiavimo ir serotipavimo metodas. 1 dalis. Salmonelių (*Salmonella* ssp.) aptikimas (tapatus ISO 6579-1:2017)

LST EN ISO 11290-1:2017 Maisto grandinės mikrobiologija. Bendrasis monocitogeninių listerijų (*Listeria monocytogenes*) ir kitų listerijų rūšių aptikimo ir skaičiavimo metodas. 1 dalis. Aptikimo metodas.

LST ISO 29981:2010 Pieno gaminiai. Numanomų bifidobakterijų skaičiavimas. Kolonijų skaičiavimo 37 °C temperatūroje būdas (tapatus ISO 29981:2010).

Etanolinių, vandeninių, aliejinių ekstraktų antimikrobinės savybės vertintos difuzijos į agarą metodu. Pasirinktos testavimo kultūros *Escherichia coli* ATCC 8739, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus cereus* ATCC 11778, *Salmonella typhimurium* (ATCC 14028), *Listeria monocytogenes* ATCC 13932, mielės *Candida albicans*.

Antibakterinis aktyvumas įvertintas difuzijos į agarą metodu. Bakterijų ląstelių suspensijai paruošti bakterijų kultūros 18 h buvo auginamos 37 °C terpėje ant nuožulnaus agaro. Nuplauta bakterijų suspensija buvo skiedžiama pagal Mc Farlando standartą Nr. 0,5, gerai sumaišoma purtykle ir 1 ml suspensijos supilamas į 100 ml ištirpintos ir atvėsintos iki 47 °C temperatūros standžios terpės bendram bakterijų skaičiui nustatyti, dar kartą gerai permaišoma, kad ląstelės tolygiai pasiskirstytų. Tokiu būdu paruoštas bakterijų ląstelių suspensijos mišinys su terpe skubiai išpilstomas po 10 ml į 90 mm skersmens stiklines Petri lėkštes. Terpei sustingus, joje padaromos 6 įdubos (8 mm skersmens), į kurias pilama po 50 μ l ekstraktų.

Antimikrobinis poveikis bakterijų kultūroms buvo vertinamas po 24 h, o mielių kultūroms – po 24 h – 48 h kultivavimo pagal skaidrių zonų, susidariusių aplink įdubas,

skersmenį milimetrais. Jei aplink įdubas skaidrios zonos nesusidaro, daroma išvada, kad tirta medžiaga ar koncentracija neturi baktericidinio poveikio tiriamai kultūrai.

Atliekant uogų išspaudų fermentaciją, 800 g uogų išspaudų pasterizuojamos 80 °C temperatūroje 10 min. ir užsėjamos 10 ml *Limosiactobacillus reuteri* 18 val. kultūros MRS sultinyje. Fermentacija atliekama 37°C temperatūroje 48 ir 72 valandas, tada vertinami mikrobiologiniai rodikliai ir atliekama vandeninė ir etanolinė ekstrakcija.

Gauti rezultatai rodo, kad pašaliniai mikroorganizmai nustatomi tiek šaltalankių išspaudose, lapeliuose, šakelėse, tiek ir jų ekstraktuose. Išspaudų mikrobiologinį stabilumą laikymo metu turi užtikrinti džiovinimas arba sušaldymas. Ekstraktų, vandeninių ir etanolinių, mikrobiologinių rodiklių stabilumą užtikrina liofilizavimas. Aliejiniai ekstraktai nepasižymi mikrobiologiniu užterštumu ir yra mikrobiologiškai stabilūs laikymo metu.

Bendrosios rekomendacijos visiems šaltalankių antrinių žaliavų ekstrakcijos procesams

Rekomenduojama:

- Užtikrinti nuolatinę paviršių higieną ir įrangos valymą pagal suderintą higienos planą / ar proceso aprašą.
- Naudoti tik sertifikuotas medžiagas ir pakuotes, tinkamas kontaktui su maistu ir biokatyviais maisto komponentais, įsivertinant ekstrahento prigimtį.
- Periodiškai tikrinti ekstrakcijoms naudojamo vandens kokybę pagal geriamojo vandens higienos normatyvus.
- Visuose procesuose užtikrinti kritinių parametrų (temperatūros, trukmės, alkoholio koncentracijos) monitoringą ir registravimą.
- Užtikrinti, kad visos žaliavos būtų atsekamos iki konkretaus tiekėjo ir derliaus datos.

Šaltalankių išspaudų ekstrakcijos rekomendacijos

Rekomenduojama:

- Taikyti vandens ir vandens–etanolio ekstrakcijas žemoje temperatūroje (24–27 °C), trukmė 4–10 val.
- Naudoti etanolio koncentraciją, viršijančią 30 %, kad būtų užtikrintas mikrobiologinis stabilumas.
- Ekstraktą nedelsiant filtruoti, kad būtų sumažinta oksidacinių ir mikrobiologinių pokyčių rizika.
- Išekstrahuotas biologiškai aktyvias medžiagas sandėliuoti -80 °C temperatūroje, naudojant sandarius indus, atsparius etanoliui.

Šaltalankių lapelių ekstrakcijos rekomendacijos

Rekomenduojama:

- Lapelių ekstrakcijai naudoti tiek vandenį, tiek vandens–etanolio mišinį, palaikant 25–27 °C temperatūrą.

- Optimali ekstrakcijos trukmė: 2–6 val. esant nuolatinei maišymo funkcijai.
- Siekiant išlaikyti antioksidacinį aktyvumą, venkti per didelės šiluminės apkrovos (neviršyti 30 °C).
- Po filtravimo naudoti stiklines arba metalines pakuotes, saugias sąlyčiui su bioaktyviomis medžiagomis.

Šaltalankių šakelių ekstrakcijos rekomendacijos

Rekomenduojama:

- Išankstinė šakelių džiovinimo procedūra (iki 10 % drėgmės), kad būtų sumažinta mikrobiologinė rizika.
- Ekstrakcijai naudoti vandens–etanolio mišinį, užtikrinant antimikrobinį poveikį ir sumažinant taninų nepageidaujamą poveikį.
- Dėl šakelių struktūros ekstrakcijos trukmė turėtų būti ilgesnė (iki 10 val.), tačiau saugai užtikrinti yra būtina kontroliuoti temperatūrą.
- Sandėliuoti ekstraktą tamsioje aplinkoje, siekiant apsaugoti nuo fenolinių junginių skaidymosi.

Šaltalankių bioaktyvių medžiagų sandėliavimo ir pakavimo rekomendacijos

- Visi ekstraktai turi būti fasuojami tiesiogiai po filtravimo ir laikomi žemoje temperatūroje ($\leq -18\text{ }^{\circ}\text{C}$ arba $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$).
- Rekomenduojama naudoti vakuuminius maišelius ar stiklinius buteliukus su sandariais dangteliais.
- Kiekvienai partijai turi būti priskirtas unikalus identifikavimo numeris su visais proceso parametrais.

Rekomendacijos dėl savikontrolės dokumentacijos

- Taikyti SVT (Svarbių valdymo taškų) ir PDT (Priežiūros dokumentavimo taškų) sistemas visose ekstrakcijos grandyse.
- Vesti temperatūros, trukmės, etanolio koncentracijos įrašus.
- Organizuoti kasmetinius mikrobiologinius tyrimus (bendras kiekis, pelėsiai, mielės).
- Bent kartą per metus atlikti migracijos tyrimus, susijusius su produktų pakuotėmis.

Projekto pareiškėjas ir partneriai

	Ūkininkė Daiva Kvedaraitė	
---	--	---