



KAUNO TECHNOLOGIJOS UNIVERSITETAS
CHEMINĖS TECHNOLOGIJOS FAKULTETAS

Sigitas Mykolaitis

**PRB KIETAFAZĖS FERMENTACIJOS TAIKYMAS MAISTINIŲ
LUBINŲ SĖKLŲ SKAIDULINĖMIS MEDŽIAGOMIS
PRATURTINTŲ FRAKCIJŲ PERDIRBIMUI Į BIOPRODUKTUS
KVIETINĖS DUONOS IR/AR PIENO RŪGŠTIES GAMYBAI**

Baigiamasis magistro projektas

Vadovas

Prof. habil. dr. Gražina Juodeikienė

KAUNAS, 2016

**KAUNO TECHNOLOGIJOS UNIVERSITETAS
CHEMINĖS TECHNOLOGIJOS FAKULTETAS**

**PRB KIETAFAZĖS FERMENTACIJOS TAIKYMAS MAISTINIŲ
LUBINŲ SĖKLŲ SKAIDULINĖMIS MEDŽIAGOMIS
PRATURTINTŲ FRAKCIJŲ PERDIRBIMUI Į BIOPRODUKTUS
KVIETINĖS DUONOS IR/AR PIENO RŪGŠTIES GAMYBAI**

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

Vadovas

Prof. habil. dr. Gražina Juodeikienė

Recenzentas

dr. Daiva Žadeikė

Projektą atliko

Sigitas Mykolaitis

KAUNAS, 2016



KAUNO TECHNOLOGIJOS UNIVERSITETAS
Cheminės technologijos fakultetas

(Fakultetas)

Sigitas Mykolaitis

(Studento vardas, pavardė)

Maisto mokslo ir saugos programa, 621E40001

(Studijų programos pavadinimas, kodas)

Baigiamojo projekto „PRB kietafazės fermentacijos taikymas maistinių lubinų sėklų skaidulinėmis medžiagomis praturtintų frakcijų perdirbimui į bioproduktus kvietinės duonos ir/ar pieno rūgšties gamybai“

AKADEMINIO SAŽININGUMO DEKLARACIJA

20 ____ m. _____ d.

Kaunas

Patvirtinu, kad mano **Sigito Mykolaičio** baigiamasis projektas tema „PRB kietafazės fermentacijos taikymas maistinių lubinų sėklų skaidulinėmis medžiagomis praturtintų frakcijų perdirbimui į bioproduktus kvietinės duonos ir/ar pieno rūgšties gamybai“ yra parašytas visiškai savarankiškai, o visi pateikti duomenys ar tyrimų rezultatai yra teisingi ir gauti sąžiningai. Šiame darbe nei viena dalis nėra plagijuota nuo jokių spausdintinių ar internetinių šaltinių, visos kitų šaltinių tiesioginės ir netiesioginės citatos nurodytos literatūros nuorodose. Įstatymų nenumatytų piniginių sumų už šį darbą niekam nesu mokėjęs.

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

(vardą ir pavardę įrašyti ranka)

(parašas)

TURINYS

LENTELIŲ IR PAVEIKSLŲ SĄRAŠAS	9
TERMINŲ IR SĄVOKŲ PAAIŠKINIMAI BEI SANTRUMPOS	13
ĮVADAS	13
1. LITERATŪROS ANALIZĖ	15
1.1. Maistinių lubinų sėklų cheminės sudėties apibūdinimas.....	15
1.2. Skaidulinės medžiagos ir jų funkcinės savybės.....	17
1.3. Lubinų panaudojimo galimybės duonos gamyboje	19
1.4. Lubinų įtaka tešlos tekstūros savybėms ir galutinių produktų kokybei.....	19
1.5. Fermentuotų lubinų priedų įtaka kepinų kokybei ir saugai	20
1.6. Lignoceliuliozinių biomasių panaudojimas pieno rūgšties gamybai.....	22
2. TYRIMŲ METODAI IR SĄLYGOS	24
2.1. Tyrimų kryptis	24
2.2. Tyrimo objektai	26
2.3. Tyrimo metodai ir medžiagos	29
2.3.1. Lubinų sėklų cheminės sudėties analizė	29
2.3.2. Lubinų produktų fermentacijos proceso tyrimas	31
2.3.3. Kepinų kokybės vertinimas	38
2.3.3.1. Cheminiai fiziniai metodai	38
2.3.3.2. Juslinis vertinimas	40
2.3.3.3. Veido emocijų analizė FaceReader programa.....	40
2.4. Matematinė statistinė duomenų analizė.....	41
3. TYRIMŲ REZULTATAI IR JŲ ANALIZĖ.....	42
3.1. Fermentinių preparatų priedų įtaka lubinų skaidulinėmis medžiagomis turtingų frakcijų apcukrinimui	42
3.2. Fermentinių aktyvumų pokyčiai perdirbant lubinų skaidulines medžiagas KF sąlygose .	45
3.2.1. Amilazių aktyvumai.....	45
3.2.2. Ksilanazių aktyvumai.....	46
3.3. Ultragarso įtaka fermentiniams aktyvumams vykdant PRB fermentaciją skirtingose sąlygose.....	47
3.3.1. Amilazių aktyvumai.....	48
3.3.2. Ksilanazių aktyvumai.....	49
3.4. Fermentuotų lubinų skaidulinių medžiagų produktų panaudojimo galimybės kepinų maistinės vertės padidimui.....	50

3.4.1. Fermentuotų skaidulinių medžiagų įtaka kepinių kokybės parametrams	51
3.4.2. Fermentuotų skaidulinių medžiagų įtaka juslinėms charakteristikoms taikant tradicinį metodą ir FaceReader programą.	57
3.4.3. Įvairiai apdorotų LSMF įtakos kepinių kokybei patikimumo įvertinimas.....	59
3.5. Lubinų skaidulinių medžiagų biomasės panaudojimas pieno rūgšties (PR) izomerų gavybai	60
3.5.1. PRB fermentacijos įtaka PR susidarymui	60
3.5.2. Fermentinių preparatų priedų įtaka PR išeigoms.....	63
3.5.3. PR gamybos naudojant įvairias biomases palyginamasis įvertinimas.....	68
4. IŠVADOS.....	73
5. LITERATŪRA	74
PRIEDAI	83

Mykolaitis, Sigitas. Magistro baigiamojo projekto pavadinimas: „PRB kietafazės fermentacijos taikymas maistinių lubinų sėklų skaidulinėmis medžiagomis praturtintų frakcijų perdirbimui į bioproduktus kvietinės duonos ir/ar pieno rūgšties gamybai“ / vadovas prof. habil. dr. Gražina Juodeikienė; Kauno technologijos universitetas, Cheminės technologijos fakultetas,

Mokslo kryptis ir sritis: Technologijos mokslai, Maisto technologijos

Reikšminiai žodžiai: lubinų sėklų skaidulinėmis medžiagomis praturtintos frakcijos; fermentinė hidrolizė; PRB fermentacija KF sąlygose; ultragarsinis apdorojimas, kvietiniai kepiniai; pieno rūgšties stereoizomerai.

Kaunas, 2016. 82 psl.

SANTRAUKA

Pastaraisiais dešimtmečiais beatliekinis žaliavos perdirbimas perdirbant šalutinius produktus į naudingus maisto komponentus ir/ar chemines medžiagas sulaukia vis didesnio dėmesio. Antriniai augalinės žaliavos perdirbimo produktai, jei jie nėra racionaliai panaudojami, gali tapti aplinkos taršos šaltiniu. Darbas skirtas PRB kietafazės fermentacijos (KF) panaudojimo galimybių tyrimui maistinių lubinų sėklų skaidulinėmis medžiagomis (LSMF) praturtintų frakcijų perdirbimui į bioproduktus kvietinės duonos ir/ar pieno rūgšties gamybai. Pradiniame eksperimento etape išbandyti skirtingi fermentiniai preparatai (Alphastar ir Celustar) ir jų kombinacijos LSMF sucukrinimui, atrenkant variantus, davusius per trumpiausią laiką didžiausią redukuojančių sacharidų susidarymą. Fermentinis LSMF apdorojimas turėjo statistiškai reikšmingą įtaką amilazinio ir ksilanazinio aktyvumo padidėjimui PRB kietafazės fermentacijos metu (po 24 h). Ultragarsinis PRB fermentuotų LSMF apdorojimas (37 kHz) inaktyvavo fermentus ir šio veiksnio poveikis buvo efektyvesnis amilazių aktyvumui nei ksilanazių. Taikant ultragarsą fermentaciniuose procesuose, įtakos fermentiniams aktyvumams turi fermentacijos sąlygos: didesnis amilazių aktyvumo sumažėjimas nustatytas esant didesniam terpės drėgnumui (65 %) nei naudojant KF (45 %). Vertinant LSMF panaudojimą kvietinės duonos maistinės vertės padidinimui tiek tradiciniais metodais, tiek vystomais metodais (taikant FaceReader kompiuterinę programą), geriausia kepinų kokybė nustatyta, naudojant iki 15 % nuo miltų masės PRB fermentuotų LSMF priedą. Vykdam LSMF perdirbimą į pieno rūgštį (PR), svarbu parinkti pieno rūgšties bakterijų (PRB) padermę, įgalinančią pasiekti didžiausias PR koncentracijas (176,51 mg/kg su *Pediococcus pentosaceus* 9). LSMF apdorojimas prieš PRB fermentaciją, fermentinių preparatų kompozicija yra reikšmingas veiksnys, norint padidinti iki 22 % PR koncentracijas.

Tokiu būdu, taikant inovatyvius technologinius sprendimus, lubinų sėklų perdirbimo į baltymus antriniai produktai gali tapti vertinga žaliava, tinkama maisto produktų ir /ar cheminių medžiagų gamybai.

Mykolaitis, Sigitas. *Master's thesis in Food Science and Safety: „The application of LAB solid state fermentation for the conversion of narrow lupine fractions enriched with dietary fiber to bioproducts for wheat bread and/or lactic acid production“* / supervisor prof. habil. dr. Gražina Juodeikienė. The Faculty of Chemical Technology, Kaunas University of Technology.

Research area and field: Technological Sciences, Food Technology

Key words: fractions enriched by lupine seed fibers; enzymatic hydrolysis, lactic acid bacteria, solid state fermentation; ultrasound processing; baked goods; lactic acid stereoisomers.

Kaunas, 2016. 82 p.

SUMMARY

Waste-free raw materials processing when by-products are recycled into beneficial food ingredients or/and chemicals has been considerably emphasized during the last decades. Secondary products of raw materials of vegetable origin processing if not used rationally can become a source of environmental pollution. The work researches the opportunities of lactic acid bacteria (PRB) under solid state fermentation (KF) use for production of wheat bread and/or lactic acid with the help of fractions enriched with nutritional content of lupine seeds (LSMF) fiber processing into bio products. Different enzyme preparations (Alphastar and Celustar) and their combinations for lupine fractions, enriched with dietary fiber, (LSMF) saccharification selecting variants which provided the greatest composition content of reducing saccharides were tested in the primary stage of the experiment. Enzymatic LSMF processing had a significant statistical impact on the increase of amylase and xylanase activity during PRB solid state fermentation (24 hours). Ultrasound enzymatic LSMF processing of PRB (37 kHz) inactivated enzymes, and the impact of this factor was more effective for amylase than xylanase activity. Using ultrasound in fermentation processes the enzymatic activity is influenced by fermentation conditions: greater reduction of amylase activity is determined at higher humidity of the medium (65 %) than using KF (45 %). Evaluating LSMF usage for nutritional value increase of wheat bread by both traditional and developing methods (applying FaceReader computer programme). The best quality of bakery products is obtained using PRB enzymatic LSMF additive of 15 % flour mass. Processing LSMF into lactic acid (PR) it is important to choose the origin of lactic acid bacteria (PRB), which ensures the highest lactic acid concentrations (176,51) mg/kg with *Pediococcus pentosaceus* 9). LSMF processing before PRB fermentation, composition of enzymatic preparations are important factors for PR concentration increase up to 22 %.

Therefore, applying innovative technological decisions on secondary products of lupine seed processing into proteins can become a valuable raw material suitable for production of food products and/or chemicals.

LENTELIŲ IR PAVEIKSLŲ SĄRAŠAS

2.1 lentelė. Tiriamųjų mėginių su nefermentuotais lubiniais receptūros

2.2 lentelė. Tiriamųjų mėginių su nefermentuotais lubiniais receptūros

2.3 lentelė. Tiriamojo ir tuščio mėginio paruošimo tvarka

3.1 lentelė. Lubinų priedų (nefermentuotų ir fermentuotų) įtakos kvietinės duonos kokybei vertinimo rezultatai

2.1 pav. *I eksperimento kryptis* - KF fermentacijos kombinacijoje su ultragarsu (37 kHz), įtaka fermentiniams aktyvumams: α – amilaziniams ir ksilanaziniams.

2.2 pav. *II eksperimento kryptis* – kepinų, praturtintų LSMF, tešlos gamybos būdo vystymas

2.3 pav. *III eksperimento kryptis* - PR susidarymo iš LSMF tyrimai.

2.4 pav. Baltymų ir skaidulinių medžiagų kiekis skirtingose LSMF




2.5 pav. Absorbcijos verčių priklausomybė nuo gliukozės kiekio




2.6 pav. Absorbcijos verčių priklausomybė nuo ksilozės kiekio

3.1 pav. AlphaStar fermentinio preparato, naudojant įvairius α -amilazės aktyvumus (50 μ l; 100 μ l; 150 μ l), įtaka redukuojančių sacharidų susidarymui laike 30; 60 ir 90 min. LSMF apdorojimo metu.

3.2 pav. Celustar fermentinio preparato, naudojant įvairius ksilanazės aktyvumus (100 μ l; 150 μ l; 200 μ l, 250 μ l ir 300 μ l), įtaka redukuojančių sacharidų susidarymui laike 30; 60 ir 90 min. LSMF apdorojimo metu.

3.3 pav. Alphastar ir Celustar fermentinių preparatų mišinių, naudojant įvairius α -amilazės ir ksilanazės aktyvumus (100A+50C μ l; 125A+50C μ l; 150A+50C μ l, 50A+100C μ l ir 50A+150C μ l), įtaka redukuojančių sacharidų susidarymui laike 30; 60 ir 90 min. LSMF apdorojimo metu.

3.4 pav. α -amilazių aktyvumai,  - žaliaviniuose LSMF (K);  - LSMF PRB fermentacijos metu (po 24; 48 ir 72 val.), naudojant *Pediococcus Acidilactici* (KTU05-7) ir LSMF - , taikant fermentinį lubinų apdorojimą Alphastar fermentiniu preparatu su po to sekančia PRB fermentacija (*Pa* - *Pediococcus Acidilactici* (KTU05-7)).

3.5 pav. Ksilanazės aktyvumai:  - žaliaviniuose LSMF (K);  - LSMF PRB fermentacijos metu (po 24; 48 ir 72 val.), naudojant *Pediococcus acidilactici* (KTU05-7) ir LSMF - , taikant fermentinį jų apdorojimą Celustar fermentiniu preparatu su po to sekančia PRB (*Pa* - *Pediococcus acidilactici* (KTU05-7)).

3.6 pav. Ultragarsinio poveikio (37 KHz) trukmės (40, 60, 80 min.) įtaka α -amilazių aktyvumui PRB fermentuotuose laike 24 val. KF sąlygose (45 % drėgnis) LSMF, paveiktuose prieš fermentaciją Alphastar preparatu (150 μ l), trukmė – 30 min., - 1 val. 37 °C temperatūroje).

3.7 pav. Ultragarsinio poveikio (37 KHz) trukmės (40, 60, 80 min.) įtaka α -amilazių aktyvumui PRB fermentuotuose laike 24 val. KF sąlygose (65 % drėgnis) LSMF, paveiktuose prieš fermentaciją Alphastar preparatu (150 μ l), trukmė – 30 min., - 1 val. 37 °C temperatūroje).

3.8 pav. Ksilanazės aktyvumų pokyčiai nefermentuotuose lubinų miltuose bei fermentuotuose LSMF su Celustar fermentu (200 μ l), (trukmė – 30 min., - 1 val. 37 °C temperatūroje) ir po to paveiktuose 40, 60, 80 min. 37 KHz ultragarsu, a – 45 % drėgnis; b - 65 % drėgnis.

3.9 pav. Kepinių, ruošų su fermentuotais ir nefermentuotais LSMF priedais, drėgnio kiekis, proc. (Pastaba: K – kontrolinis mėginys; 1 – su 5 % nefermentuotų lubinų; 2 – su 10 % nefermentuotų lubinų; 3 – su 15 % nefermentuotų lubinų; 1f – su 5 % fermentuotų lubinų; 2f – su 10 % fermentuotų lubinų; 3f – su 15 % fermentuotų lubinų).

3.10 pav. Kepinių, ruošų su fermentuotais ir nefermentuotais LSMF priedais, nukėpimas. (Pastaba: K – kontrolinis mėginys; 1 – su 5 % nefermentuotų lubinų; 2 – su 10 % nefermentuotų lubinų; 3 – su 15 % nefermentuotų lubinų; 1f – su 5 % fermentuotų lubinų; 2f – su 10 % fermentuotų lubinų; 3f – su 15 % fermentuotų lubinų).

3.11 pav. Kepiniuose, ruoštuose su fermentuotais ir nefermentuotais LSMF priedais, baltymų kiekio tyrimų rezultatai. (Pastaba: K – kontrolinis mėginys; 1 – su 5 % nefermentuotų lubinų; 2 – su 10 % nefermentuotų lubinų; 3 – su 15 % nefermentuotų lubinų; 1f – su 5 % fermentuotų lubinų; 2f – su 10 % fermentuotų lubinų; 3f – su 15 % fermentuotų lubinų).

3.12 pav. Kepinių, ruošų su fermentuotais ir nefermentuotais LSMF priedais, BTR (Pastaba: K – kontrolinis mėginys; 1 – su 5 % nefermentuotų lubinų; 2 – su 10 % nefermentuotų lubinų; 3 – su 15 % nefermentuotų lubinų; 1f – su 5 % fermentuotų lubinų; 2f – su 10 % fermentuotų lubinų; 3f – su 15 % fermentuotų lubinų).

3.13 pav. Kepinių, ruošų su fermentuotais ir nefermentuotais LSMF priedais, savitasis tūris ($\text{cm}^3 \text{g}^{-1}$). (Pastaba: K – kontrolinis mėginys; 1 – su 5 % nefermentuotų lubinų; 2 – su 10 % nefermentuotų lubinų; 3 – su 15 % nefermentuotų lubinų; 1f – su 5 % fermentuotų lubinų; 2f – su 10 % fermentuotų lubinų; 3f – su 15 % fermentuotų lubinų).

3.14 pav. Duonos, ruoštos su fermentuotais ir nefermentuotais LSMF priedais, minkštimo akytumo tyrimų rezultatai. (Pastaba: K – kontrolinis mėginys; 1 – su 5 % nefermentuotų lubinų; 2 – su 10 % nefermentuotų lubinų; 3 – su 15 % nefermentuotų lubinų; 1f – su 5 % fermentuotų lubinų; 2f – su 10 % fermentuotų lubinų; 3f – su 15 % fermentuotų lubinų).

3.15 pav. Fermentuotų ir nefermentuotų LSMF priedų įtaka duonos minkštimo spalvai. (Pastaba: K – kontrolinis mėginys; 1 – su 5 % nefermentuotų lubinų; 2 – su 10 % nefermentuotų lubinų; 3 – su 15 % nefermentuotų lubinų; 1f – su 5 % fermentuotų lubinų; 2f – su 10 % fermentuotų lubinų; 3f – su 15 % fermentuotų lubinų).

3.16 pav. Minkštimo spalvos tono (a) ir spalvos grynumo (b) intensyvumo pokyčiai kepinuose, ruoštuose su fermentuotais ir nefermentuotais LSMF priedais. (Pastaba: K – kontrolinis mėginys; 1 – su 5 % nefermentuotų lubinų; 2 – su 10 % nefermentuotų lubinų; 3 – su 15 % nefermentuotų lubinų; 1f – su 5 % fermentuotų lubinų; 2f – su 10 % fermentuotų lubinų; 3f – su 15 % fermentuotų lubinų).

3.17 pav. Kepinių, ruoštų su fermentuotais ir nefermentuotais LSMF priedais, skoninių bei vizualinių kepinų kriterijų, tyrimų rezultatai. (Pastaba: K – kontrolinis mėginys; 1 – su 5 % nefermentuotų lubinų; 2 – su 10 % nefermentuotų lubinų; 3 – su 15 % nefermentuotų lubinų; 1f – su 5 % fermentuotų lubinų; 2f – su 10 % fermentuotų lubinų; 3f – su 15 % fermentuotų lubinų).

3.18 pav. Kepinių ruoštų su fermentuotais ir nefermentuotais LSMF priedais, emocijų vertinimo rezultatai naudojant FaceReader programą. (Pastaba: K – kontrolinis mėginys; 1 – su 5 % nefermentuotų lubinų; 2 – su 10 % nefermentuotų lubinų; 3 – su 15 % nefermentuotų lubinų; 1f – su 5 % fermentuotų lubinų; 2f – su 10 % fermentuotų lubinų; 3f – su 15 % fermentuotų lubinų).

3.19 pav. pH pokyčiai LSMF fermentacijos metu, naudojant PRB: *P. pentosaceus* KTU05-9 ir *P. acidilactici* KTU05-7 padermes.

3.20 pav. PR susidarymas laike 48 val. LSMF fermentacijos: a) bendro PR kiekio pokyčiai LSMF fermentacijos metu, naudojant *P. pentosaceus* KTU05-9 ir *P. acidilactici* KTU05-07; b) PR izomerų susidarymas LSMF fermentacijos metu, naudojant *P. pentosaceus* KTU05-9; c) PR izomerų susidarymas LSMF fermentacijos metu, naudojant *P. acidilactici* KTU05-07.

3.21 pav. PR susidarymas LSMF fermentacijos metu (trukmė 48 val.), naudojant *P. pentosaceus* KTU05-9 ir *P. acidilactici* KTU05-07; LSMF prieš PRB fermentavimą paveikta Alphastar fermentiniu preparatu; a) PR koncentracijų pokyčiai LSMF, apdoroto Alphastar fermentiniu preparatu, PRB fermentacijos metu, naudojant *P. pentosaceus* KTU05-9 ir *P. acidilactici* KTU05-07; b) PR izomerų pokyčiai LSMF fermentacijos metu, naudojant *P. acidilactici* KTU05-07; c) PR izomerų kiekio pokyčiai LSMF fermentacijos metu, naudojant *P. pentosaceus* KTU 05-9.

3.22 pav. PR susidarymas LSMF fermentacijos metu (trukmė 48 val.), naudojant *P. pentosaceus* KTU05-9 ir *P. acidilactici* KTU05-07; LSMF prieš PRB fermentavimą paveikta Celustar fermentiniu preparatu; a) PR koncentracijų pokyčiai LSMF, apdoroto Celustar fermentiniu preparatu, PRB fermentacijos metu, naudojant *P. pentosaceus* KTU05-9 ir *P. acidilactici* KTU05-07; b) PR izomerų pokyčiai LSMF fermentacijos metu, naudojant *P. acidilactici* KTU05-07; c) PR izomerų kiekio pokyčiai LSMF fermentacijos metu, naudojant *P. pentosaceus* KTU05-9.

3.23 pav. PR susidarymas LSMF fermentacijos metu (trukmė 48 val.), naudojant *P. pentosaceus* KTU05-9 ir *P. acidilactici* KTU05-07; LSMF prieš PRB fermentavimą paveikta Alphastar ir Celustar fermentiniais preparatais; a) PR koncentracijų pokyčiai LSMF, apdoroto Alphastar ir Celustar fermentiniais preparatais, PRB fermentacijos metu, naudojant *P. pentosaceus* KTU05-9 ir *P. acidilactici* KTU05-07; b) PR izomerų pokyčiai LSMF fermentacijos metu, naudojant *P. acidilactici* KTU05-07; c) PR izomerų kiekio pokyčiai LSMF fermentacijos metu, naudojant *P. pentosaceus* KTU05-9.

3.24 pav. PR susidarymas kukurūzų atliekose fermentacijos metu (trukmė 48 val.), naudojant *P. pentosaceus* KTU05-9; vienos kukurūzų atliekos prieš PRB fermentavimą paveiktos IR, kitos nepaveiktos; a) bendro PR kiekio pokyčiai nepaveiktų ir paveiktų IR kukurūzų atliekų fermentacijos metu, naudojant *P. pentosaceus* KTU05-9; b) D(-) PR izomerų susidarymas nepaveiktų ir paveiktų IR kukurūzų atliekų fermentacijos metu, naudojant *P. pentosaceus* KTU05-9; c) L(+) PR izomerų susidarymas nepaveiktų ir paveiktų IR kukurūzų atliekų fermentacijos metu, naudojant *P. pentosaceus* KTU05-9.

3.25 pav. PR susidarymas kukurūzų atliekose fermentacijos metu (trukmė 48 val.), naudojant *P. acidilactici* KTU05-07; vienos kukurūzų atliekos prieš PRB fermentavimą paveiktos IR, kitos nepaveiktos; a) bendro PR kiekio pokyčiai nepaveiktų ir paveiktų IR kukurūzų atliekų fermentacijos metu, naudojant *P. acidilactici* KTU05-07; b) L(+) PR izomerų susidarymas nepaveiktų ir paveiktų IR kukurūzų atliekų fermentacijos metu, naudojant *P. acidilactici* KTU05-07; c) D(-) PR izomerų susidarymas nepaveiktų ir paveiktų IR kukurūzų atliekų fermentacijos metu, naudojant *P. acidilactici* KTU05-07.

TERMINŲ IR SĄVOKŲ PAAIŠKINIMAI BEI SANTRUMPOS

IR – infraraudonieji spinduliai

KF – kietafazė fermentacija

LSMF – lubinų skaidulinių medžiagų frakcijos

PR – pieno rūgštis

PRB – pieno rūgšties bakterijos

Pp9 – *Pediococcus pentosaceus* 9

Pa7 – *Pediococcus acidilactici* 7

TF – tradicinė fermentacija

IVADAS

Lubiniai – ankštiniai augalai, priklausantys pupinių ar ankštinių (lot. *Leguminosae*) augalų šeimai, yra žinomi kaip gausus baltymų šaltinis. Tarptautinėje praktikoje vystomos baltymų iš ankštinių javų grūdų gamybos technologijos, kurių metu susidaro turtingi skaidulinėmis medžiagomis šalutiniai produktai. Vystant beatliekines baltyminių priedų gamybos technologijas, svarbu atrasti efektyvius technologinius sprendimus maistinių skaidulų panaudojimui maisto produktų gamybai ir cheminių medžiagų sintezei. Be to, kai kuriose maisto pramonėse nėra efektyviai panaudojami ir antriniai maisto produktai, pvz., skaidulinėmis medžiagomis turtingi kukurūzų perdirbimo produktai. Tokie vertingi produktai gali atrasti naujas nišas ir būti efektyviai naudojami taikant biotechnologines priemones fermentų, aromatinių medžiagų ar organinių rūgščių gamybai.

KTU Maisto mokslo ir technologijos katedra disponuoja antimikrobinėmis savybėmis pasižyminčių PRB kolekcija. Tyrimais įrodyta, kad jos pasižymi plačiu antimikrobinio spektru ir sulaukė teigiamo įvertinimo maisto pramonėje, vystant antimikrobinis bioproduktus kepinių mikrobiologinio gedimo lėtinimui ir kaip alternatyvius fungicidus sėklinių grūdų apdorojimui ekologinėje žemdirbystėje.

Kultivuojant mikroorganizmus ant naujų fermentacijos terpių (lubinų ir/ar kukurūzų skaidulinių medžiagų) kietafazės fermentacijos sąlygomis (FS), gali būti sukurti bioprocesai, leidžiantys biokonvertuoti šias medžiagas į vertingus naujus produktus ar chemines medžiagas, pvz., pieno rūgštį (PR). PR atitinka GRAS reikalavimus (generally recognized as safe) ir JAV FDA (Maisto ir vaistų valdyba) leidžia ją naudoti kaip maisto priedą, tačiau D(-) – pieno rūgštis yra nepageidautina žmogaus organizmui, nes gali išsukti acidozes ir kalcio organizme sumažėjimą. Privalumas suteikiamas biotechnologinei PR gavybai, kuri yra draugiška aplinka ir jos gavybai galima panaudoti žemės ūkio ir maisto pramonės atliekas bei antrinius produktus. Be to, šis gamybos būdas, skirtingai nuo cheminio, leidžia pagaminti optiškai gryną PR. Be to, FS sąlygose PRB fermentuotos skaidulinės medžiagos, galėtų būti sėkmingai išbandytos kvietinių kepinių gamyboje.

Didinant skaidulinių medžiagų perdirbimo efektyvumą, svarbu parinkti fermentus ir jų kompozicijas, sąlygojančias fermentuojamų pieno rūgšties bakterijomis sacharidų susidarymą. Fermentacijos proceso valdymo klausimas taip pat yra susijęs inovatyvių technologinių sprendimų išbandymu, siekiant padidinti fermentų ar mikroorganizmų aktyvumą bioprocusuose. KTU Maisto mokslo ir technologijos katedroje dirbama, tiriant akustinės technikos taikymo galimybes poringų maistinių sistemų tekstūros tyrimui. Ultragarstinės iradiacijos poveikis

fermentaciniams procesams iki šiol nebuvo vertintas ir būtų perspektyvus, vystant bioproduktų iš skaidulinių medžiagų gamybą.

Darbo tikslas buvo įvertinti kietafazės fermentacijos taikymo galimybes lubinų skaidulinių medžiagų perdirbimui į bioproduktus kvietinės duonos ir pieno rūgšties stereoizomerų gamybai.

Spręstini uždaviniai:

1. Įvertinti fermentinių aktyvumų (amilazių, ksilanazių) pokyčius perdirbant lubinų skaidulines medžiagas KF sąlygose
2. Nustatyti ultragarso įtaka fermentiniams aktyvumams (amilazių, ksilanazių) KF sąlygose
3. Įvertinti fermentinių preparatų priedų įtaka lubinų skaidulinių medžiagų apcukrinimui
4. Nustatyti fermentuotų lubinų skaidulinių medžiagų produktų panaudojimo galimybes kepinių kokybės gerinimui, taikant juslinių charakteristikų įvertinimui FaceReader programą
5. Įvertinti lubinų ir kukurūzų skaidulinių medžiagų biomasių panaudojimo galimybes pieno rūgšties (PR) izomerų gavybai
6. Atlikti pieno rūgšties stereoizomerų susidarymo naudojant įvairias biomasės palyginamąjį įvertinimą.
7. Pateikti rekomendacijas apie lubinų ir kukurūzų beatliekinio perdirbimo galimybes.

1. LITERATŪROS ANALIZĖ

1.1. Maistinių lubinų sėklų cheminės sudėties apibūdinimas

Lubinai – ankštiniai augalai, priklausantis pupinių ar ankštinių (lot. *Leguminosae*) augalų šeimai, yra žinomi kaip gausus baltymų šaltinis, kurie jau seniai naudojami žmogaus ir gyvūnų mityboje [1]. Pagrindinės auginamos jų rūšys yra *Lupinus albus* (baltasis lubinas), *Lupinus angustifolius* (mėlynasis lubinas), *Lupinus luteus* (geltonasis lubinas) ir *Lupinus mutabilis* (andinis lubinas). Šių rūšių lubinai laikomi saldžiaisiais dėl juose esančio mažo (0,003 %) karčių ir galimai nuodingų alkaloidų kiekio [2].

Lubinų sėklose yra daug baltymų, kurie gerai subalansuoti mitybiniu požiūriu pagal amino rūgščių sudėtį. Lubinų produktai, turintys daug lizino ir mažai metionino, yra tinkami, norint praturtinti kvietinius miltus, kuriuose yra mažai lizino ir santykinai nedidelis kiekis sierą turinčių aminorūgščių. Lubinuose yra didelis kiekis tokių medžiagų, kaip karotinoidų, tokoferolių ir lecitino, kurios pasižymi antioksidacinėmis savybėmis [3]. Dėl savo unikalios sudėties ir gerųjų funkcinių savybių, lubinų miltai gali būti naudojami gaminant funkcinį ir mažai riebalų bei ląstelienos turintį maistą, pvz., dešreles ir mėsainius.

Ankštinių augalų produktai, kaip ir grūdai, žmogaus mityboje yra pagrindinis augalų baltymų šaltinis. Juose taip pat gausu maistinių skaidulų ir angliavandenių [4]. Nedideliais kiekiais ankštinių javų produktuose aptinkama lipidų, polifenolių ir biologiškai aktyvių peptidų [5].

Lubinai yra tiek ekonominiu, tiek ir žemdirbystės požiūriu vertingas augalas [6,7]. Lubinų sėklos įvairiose pasaulio vietose yra naudojamos gyvūnų ir žmonių mitybai kaip baltymų šaltinis ne tik dėl jų maistinės vertės, bet ir dėl gebėjimo prisitaikyti prie sudėtingo dirvožemio ir klimato. Pastaraisiais metais ženkliai išaugo žmonių vartojamų lubinų kiekiai [8]. Lubinai priklauso *Genisteeae*, *Fabaceae* ar *Leguminosae* šeimoms [9,5]. *Lupinus* giminėje žinoma daugiau nei 400 rūšių, iš kurių tik keturios yra agronomiškai svarbios [10]: (lot. *albus*: baltasis lubinas, lot. *angustifolius*: mėlynasis arba siauralapis lubinas, lot. *luteus*: geltonasis lubinas ir lot. *mutabilis*: andinis arba *Tarrwi* lubinas) [10,11,9]. Pirmosios trys rūšys kilusios iš Viduržemio jūros regiono, įskaitant Turkiją, o baltasis lubinas (lot. *mutabilis*) priklauso Pietų Amerikai [11]. Šių rūšių lubinai laikomi saldžiaisiais dėl juose esančio mažo (0,003%) karčių ir galimai nuodingų alkaloidų koncentracijos [2], todėl jie nėra kenksmingi gyvūnams bei žmonėms [12]. Australijoje kasmet užauginama 1,6 mln. tonų lubinų sėklų, o tai sudaro 80 % viso pasaulio produkcijos [13]. Kitos pagrindinės lubinus auginančios šalys yra Rusija (augina *luteus* rūšį) ir Lenkija (augina *luteus* rūšį) [10]. Lubinų auginimo (daugiausiai lot. *albus*) tobulinimas vyko labai lėtai, kol augintojai prieš antrąjį pasaulinį karą atrado saldžius (turinčius mažai alkaloidų) genotipus ir tai paskatino lubinų auginimą daugiausiai Vokietijoje, Prancūzijoje, Ispanijoje,

Lenkijoje ir buvusioje TSRS [11]. Lubinai yra naudojami įvairiems tikslams, pavyzdžiui, ganyklų gerinimui ir ornamentikai, erozijos kontrolei ir grunto stabilizavimui [9]. Jie taip pat naudojami kaip ekologiniai pašarai ir siekiant praturtinti dirvožemio atmosferą azotą [6,9,7]. Lubinų sėklos yra geras maistinių medžiagų šaltinis, turintis ne tik baltymų, bet ir riebalų, skaidulinių medžiagų, mineralų ir vitaminų [12,14]. Jose dažniausiai susikaupia dvigubai daugiau baltymų nei jų yra kituose ankštinių javų grūduose, dažniausiai vartojamuose žmonių mityboje. Dėl auginimo sąlygų ir dirvožemio tipo lubinų rūšys ir jų atmainos turi skirtingus baltymų kiekius [12], kurie svyruoja nuo 28 % iki 48 % [15,16,17,18,11,19,20]. Globulinai (α -konglutinas arba 11S baltymas, β -konglutinas arba 7S baltymas ir γ -konglutinas) yra pagrindiniai lubinų sėklų atsarginiai baltymai (80 - 90 %) [21], o prolaminai ir gliuteninai aptinkami mažesniais kiekiais, panašiais į tuos, kurie yra aptinkami daugelyje ankštinių javų grūduose [7]. Lubinų sėklose gerai subalansuota pagrindinių amino rūgščių sudėtis [22]. Jos yra laikomos geru lizino šaltiniu bei turi mažai sierą turinčių aminorūgščių (metionino ir cisteino) [23,7] ir treonino [24]. Maistinės skaidulos sudaro 40 % saldžiojo lubinų sėklos branduolio ir šis kiekis yra didesnis nei daugelyje kitų ankštinių javų grūdų [25,26,27]. Baltųjų lubinų (*Lubinus albus*) sėklų luobelėje yra 89 % netirpių skaidulinių medžiagų. Pagrindinė netirpių maistinių skaidulinių medžiagų sudedamoji dalis yra celiuliozė (79 %). Hemiceliuliozės ir lignino yra, atitinkamai, 14 % ir 7 %, [28]. Nors lubinai priklauso ankštiniams javams ir nepriklauso aliejingiems augalams, tačiau jų sėklose yra maždaug 5 - 20 % aliejaus [9]. Pažymėtina, kad lubinų aliejus išsiskiria subalansuota riebalų rūgščių sudėtimi, kurią sudaro sočiosios riebalų rūgštys (10 %) ir nesočiosios riebalų rūgštys (90 %), iš kurių 32 - 50 % yra oleino rūgšties (18:1), 17 - 47 % - linolo rūgšties (18:2) ir 3 - 11 % linoleno rūgšties (18:3) [29,30].

Lubinų sėklose yra daugiau tirpiųjų sacharidų nei kviečiuose ar kituose ankštiniuose javuose, išskyrus sojų pupeles [12]. Sėklose yra minimalūs krakmolo kiekiai (5 - 12 %) ir didesni kiekiai tirpiųjų bei krakmolo neturinčių polisacharidų (30 - 40 %) [31]. Be to, lubinuose yra fitochemikalų, pvz., polifenolių, dauguma taninų ir flavonoidų, kurie pasižymi antioksidacinėmis savybėmis [32,33,14,34]. Pažymima, kad lubinų sėklose, palyginus su kitais ankštinių javų grūdais, yra mažesni nepageidaujama mitybinio požiūriu komponentų, tokių kaip fitino rūgštis, oligosacharidai, tripsino inhibitoriai, lektinai ir saponinai, kiekiai [12,35,5]. Pagrindinės antimitybinės lubinuose aptinkamos medžiagos yra įvairūs chinolizidinų grupės alkaloidai [36,37,6], tokie kaip lupininas, lupaninas, sparteinas, lupinidinas, hidroksilupaninas, anagirinas, monolupinas, termopsinas, puzilinas, angustifolinas ir kiti [38]. Šie junginiai riboja lubinų vartojimą [8].

1.2. Skaidulinės medžiagos ir jų funkcinės savybės

Lubinių sėklų skaidulinės medžiagos yra naujas maisto ingredientas, kurio sudėtyje yra tirpiųjų ir netirpiųjų sudedamųjų dalių [26] bei oligosacharidų frakcija (potencialūs prebiotikai). Atskiros skaidinių medžiagų rūšys turi savitą fiziologinį poveikį.

Tirpiųjų skaidulinių medžiagų (TSM) fermentacijos metu organizme gaminamos trumposios grandinės riebalų rūgštys (TGRR), dalyvaujančios daugelyje žmogaus sveikatą palaikančių fiziologinių procesų:

- sumažina gaubiamosios žarnos pH (t.y., žarnoje padidina rūgštingumo lygį), kuris apsaugo gleivinę nuo storosios žarnos polipų susiformavimo bei padidina mineralų iš maisto absorbciją;
- suteikia maitinimą kolonocitams, ypač TGRR butiratu, sąlygojantiems butirato susidarymą;
- pagerina gaubiamosios žarnos gleivinės sluoksnio barjero savybes, slopinant uždegiminius bei adhezijos dirgiklius, kurie prisideda prie imuninių funkcijų;
- stabilizuoja gliukozės kiekį kraujyje, veikdamos kasos insulino išsiskyrimą bei kepenų glikogeno skilimo kontrolę;
- skatina gliukozės nešiklių genų ekspresiją žarnyno gleivinėje, reguliuojant gliukozės absorbciją;
- slopina kepenų cholesterolio sintezę ir sumažina MTL cholesterolio bei trigliceridų, atsakingų už aterosklerozę, kraujo lygius;
- skatina T pagalbinių ląstelių, antikūnų, leukocitų, citokinų bei limfos mechanizmų gamybą, kurie daro didelę įtaką imuninei apsaugai.

TGRR, kurias absorbuoja gaubiamoji žarna, praeina pro žarnos sienelę į pradinę cirkuliaciją (vykdant tiekimą kepenims), o kepenys perkelia TGRR į pagrindinę cirkuliacijos sistemą. Apskritai, TGRR veikia daugumą reguliavimo sistemų, tokias kaip gliukozės kraujyje ir lipidų lygio reguliavimo, gaubtinės žarnos aplinką ir imuninę žarnyno funkciją. Pagrindinis TGRR žmogaus organizme yra butiratas, propionatas ir acetatas, iš kurių butiratas yra pagrindinis energijos šaltinis kolonocitams, propionatas skirtas įsisavinimui kepenyse, o acetatas patenka į periferinę cirkuliaciją, kad jį metabolizuotų periferiniai audiniai. Tyrimai parodė teigiamą TSM poveikį kalcio ir kitų mineralų absorbcijai, imuninės sistemos efektyvumui, žarnyno pH, storosios žarnos vėžio rizikos, uždegiminių žarnyno ligų (Krono liga ir Opinis kolitas), hipertenzijos (aukštas kraujospūdis) sumažinimui ir žarnyno reguliarumui. Naujausi bandymai su žmonėmis sustiprino probiotikų vaidmenį, užkertant kelią ir, galbūt, visiškai sustabdant ankstyvos stadijos gaubtinės žarnos vėžį. Buvo teigiama, kad daugelis šių poveikių sveikatai kyla dėl padidėjusios trumposios grandinės riebalų rūgščių (TGRR) gamybos, kurią atlieka

sužadintos gerosios bakterijos. Todėl maistas, didindamas konkrečiai TGRR gaminančių žarnyno bakterijų (pvz., klostridijos ir bakteroidų) augimą, yra plačiai pripažintas naudingu.

Netirpios skaidulinės medžiagos (NSM) yra atsparios fermentacijai plonojoje žarnoje ir sumažina turinio perdavimo laiką žarnyne, tokiu būdu padedant atlaisvinti vidurių užkietėjimą.

NSM privalumai: tobulinant žarnyno funkciją, maistinės skaidulos gali sumažinti ligų ir sutrikimų, tokių kaip diverkulito ligos, hemorojaus ir vidurių užkietėjimo riziką. Padidėjęs fekalijų kiekis ir sumažėjęs perdavimo laikas suteikia mažiau galimybių kancerogenams sąveikauti su žarnyno sienelėmis. Be to, skaidulos gali sumažinti nuodingą sunkiųjų metalų bei pesticidų poveikį.

Oligosacharidai yra neįsisavinamos maisto sudedamosios dalys, kurie žarnyne naudojami kaip žarnyno bakterijų augimo šaltinis. Be maisto šios bakterijos negali išgyventi ir atlikti savo naudingo poveikio storajai žarnai. Buvo įrodyta, kad oligosacharidai skatina naudingųjų bakterijų, tokių kaip bifidobakterijos, augimą ir/arba veiklą bei sumažina patogeninių bakterijų, tokių kaip *E. coli* (žarninė lazdelė), *Clostridia* ir bakteroidų, koncentraciją. Taigi, prebiotikai prisideda prie bendros žarnyno sveikatos.

Pastaruoju metu kalbant apie naudą sveikatai, visos šios skaidulų rūšys papildo viena kitą. Gerai subalansuota proporcija laikoma, kai yra 70 - 50 % netirpiųjų maistinių skaidulų (NMS) bei 30 - 50 % tirpiųjų maistinių skaidulų (TMS) [39]. Šie poveikiai, manoma, kad pasireiškia ne dėl vienos skaidulos tipo, bet dėl skirtingų skaidulų, naudojamų dietos metu.

Dietos, kurias taikant sunaudojama daug skaidulinių medžiagų, gali turėti fiziologinę reikšmę: (i) padeda išvengti vidurių užkietėjimo; (ii) sumažina gaubiamosios žarnos vėžio riziką; (iii) pagerina virškinamojo trakto veiklą; (iv) pagerina gliukozės toleravimą ir reakciją; (v) sumažina hiperlipidemijos, hipertenzijos ir kitų koronarinės širdies ligų rizikos faktorius; (vi) sumažina kai kurių besivystančių vėžio formų riziką; (vii) padidina sotumą, todėl šiek tiek valdomas (reguliuojamas) kūno masė.

Kanada yra pagrindinė šalis, auginanti ankštinių javų grūdus ir juos eksportuojanti visame pasaulyje, tačiau visos sėklos turi mažą pridėtinę vertę rinkoje. Australijos saldžiųjų lubinų (lot. *angustifolius*) sėklose maistinių skaidulinių medžiagų kiekis yra gausesnis nei daugelio kitų ankštinių javų grūdų ir sudaro maždaug 40 % sėklos masės [40]. Jos išgaunamos pramoniniu būdu iš dideliais kiekiais Australijoje auginamų saldžiųjų lubinų sėklų, tačiau daugiausiai naudojama pašarų gamyboje ir dar mažai susilaukė pritaikymo žmonių mityboje [41]. Lubinų sėklų skaidulinės medžiagos pasiteisino ir įrodytas jų taikymo perspektyvumas skaidulinėmis medžiagomis praturtintų produktų, tokių kaip kepiniai ir makaronai, gamyboje [25]. Ankštinių sėklų malimas ir frakcionavimas gali būti svarbus, siekiant praturtinti komercinius maisto produktus skaidulinėmis medžiagomis ir/arba panaudoti juos kaip funkcinius ingredientus.

Ankštyse, valgomosiose ankštinių javų grūdų sėklose, gausu maistinių skaidulinių medžiagų, kurios skatina naudingą fiziologinį poveikį žmonių sveikatai. Ankštinių javų panaudojimo išplėtimas tokiam pritaikymui gali būti skirtas žmogaus sveikatos pagerinimui, o taip pat šios augalinės žaliavos vertės rinkoje padidinimui.

1.3. Lubinų panaudojimo galimybės duonos gamyboje

Lubinų populiarumas maisto produktų gamyboje auga [42,43,44]. Įvairūs mokslininkai tyrė lubinų panaudojimo galimybes įvairių grūdų produktų gamyboje [45]. Lubinų miltai laikomi puikia žaliava maisto papildams, kurių sudėtyje yra gausu baltymų [13,8,19], o taip pat daugiausiai naudojami kaip kiaušinių pakaitalas, pvz., bandelėse, blynuose, sausainiuose ar sviestinėse bandelėse [46], dedami į makaronus [47], traškučius [48] ir duoną [45,17]. Miltai taip pat buvo naudojami kaip sviesto pakaitalas tortų, sviestinių bandelių ir raguolių gamyboje [46]. Lubinų sėklų sudėtyje nėra gliutimo, todėl jis kartais naudojamas kaip sudedamoji dalis, gaminant maistą be gliutimo [49]. Tačiau riešutams alergiški asmenys pranešė apie galimas lubinams alergines reakcijas [50]. Buvo įrodyta, kad lubinų alergenai gali reaguoti su žemės riešutų alergenais Ara h 1 ir Ara h 8, kurie, kaip patvirtino tyrimai, rodo, kad IgE turintys lubinų baltymai yra labai panašūs į Ara h 1, kaip ir sojos pupelių β konglicininai [51]. Dėl šios priežasties lubinų sėklos ir iš jų išgauti produktai buvo neseniai įtraukti į Direktyvos 2000/13/EC IIIa priedą (Direktyva 2006/142/EC), kuriame išvardyti ingredientai, galintys būti alergenais ir jiems reikalingos atžymos ženklime [49].

Lubinų traškučius, kaip naują produktą, buvo pasiūlyta įtraukti į Europos maisto ingredientų sąrašą. Šiuos traškučius galima naudoti kaip maistinius ingredientus gaminant salotas, sriubas ar norint į maistą pridėti geltonos spalvos [46]. Lubinų branduolio skaidulos taip pat turi potencialo tapti žmonių maisto sudedamąja dalimi, nes buvo naudojamos gaminant skanius bei skaidulomis praturtintus kepinius ir makaronus [25,26,27].

1.4. Lubinų įtaka tešlos tekstūros savybėms ir galutinių produktų kokybei

Siekiant pagerinti kvietinių kepinų maistinę vertę, lubinų miltų priedai tam tikromis proporcijomis gali būti maišomi su kvietiniais miltais ir naudojami kepinų ruošimui [13]. Apskritai, įdedant 10 % lubinų miltų, padidinamas tešloje vandens įgėrimas, pagerinama kepinų minkštimo tekstūra, kvapas ir prailginamas kepinų tinkamumo vartoti laikas [52,23]. Taip pat nustatyta, kad 5 % lubinų miltų (nuo bendro miltų kiekio) padidino tešlos stabilumą ir jos tinkamumą mechaniniam apdorojimui [45], tačiau padidinus pakaitinį lubinų kiekį, tešlos

maišymo laikas bei tešlos stabilumo rodiklis sumažėjo [53]. Unikaliuos kvietinių miltų savybės duonos gamyboje labiausiai yra susijusios su glitimo baltymų savybe formuoti viskoelastinį tinklą, kai miltai maišomi su vandeniu. Kvietinių miltų tešlos viskoelastinių savybių blogėjimas, kai kvietiniai miltai pakeičiami lubinų miltais, siejamas su glitimo baltymų stoka lubinų miltuose ir tai neigiamai atsiliepia jų platesniam panaudojimui duonos gamyboje. Eksperimentu įrodyta, kad lubinų baltymų padidinti priedai turi silpninantį poveikį kvietinių miltų tešlos savybėms, nes tuo sumažinamas glitimo baltymų kiekis ir teigiamas jų poveikis tiek tešlos, tiek kepinų minkštimo kokybei [45,53]. Literatūroje teigiama, kad laipsniškas kepalų dydžio mažėjimas vyksta dėl to, kad tešlos ir besiformuojančio minkštimo struktūra gamybos bei kepimo metu nesulaiko dujų [55]. Kvietinių miltų pakeitimas lubinų miltais sumažina kepinų plutos tamsumą, tačiau minkštimo spalva tapo geltonesnė [13], o jų minkštimo struktūra - tankesnė [45,53]. Geltona lubinų miltų spalva atrodo patraukliai akiai ir miltai galėtų būti naudotini daugeliui kitų gaminių, pvz., makaronų ar iš jų skirtų patiekalų gamybai [45,53]. Šalyse, kur makaronai yra pagrindinis maisto patiekalas, kasdieninis normalios spagečių porcijos suvartojimas (masė SM nuo 80 g iki 100 g) reikštų, kad suvartojama 4 - 5 g. lubinų baltymų ir tai yra penktadalis porcijos, kurią turėtų suvartoti kiekvienas hipercholesterolemija sergantis ligonis, siekiant sumažinti širdies ir kraujagyslių ligų riziką [54]. Buvo nustatyta, kad ankštinių javų grūduose esantys fitochemikalai gali turėti teigiamą poveikį širdies bei kraujagyslių ligomis sergantiems asmenims [56]. Fenolinių junginių kiekis ir saldžiųjų lubinų (lot. angustifolius) sudėtis, nepaisant jo silpnų antioksidantinių savybių, dėl apsauginio poveikio kraujagyslėms gali turėti teigiamą reikšmę mažinant širdies ir kraujagyslių ligų riziką [33].

Bandomieji duonos kepiniai buvo atlikti, tiriant lubinų produktų maistinių skaidulų panaudojimo galimybes kepinų praturtinimui, kuomet į kvietinių miltų tešlą buvo pridedama 10 %, 15 %, ir 20 % lubinų skaidulinių medžiagų nuo miltų masės. Nustatyta, kad lubinų produktų maistinių skaidulų priedai į kvietinių miltų mišinį padidina vandens absorbciją (sugeriamumą), palyginus su įprasta tešla. Be to, buvo pastebėti naudingi lubinų produkto maistinių skaidulų poveikiai tešlos reologinėms savybėms, tokioms kaip jos susidarymui, stabilumui maišymo metu. Geriausios kepinų juslinės savybės išgautas kai buvo pridedama 10 % lubinų produkto maistinių skaidulų nuo miltų masės. Be to, buvo pastebėta pakankamai gera minkštimo struktūra [28].

1.5. Fermentuotų lubinų priedų įtaka kepinų kokybei ir saugai

Literatūroje pateikta informacija, kad keičiant kvietinius miltus lubinų miltais stebimi tešlos viskoelastinių savybių pokyčiai, o taip pat kepinų apimties mažėjimas ir minkštimo tekstūros blogėjimas [53]. Siekiant kviečių duoną praturtinti lubinų priedais, reikėtų naudoti

įvairias technologines priemones, leidžiantis pagerinti kepinų su lubinų priedais kokybę. Mūsų nuomone, viena iš šių technologinių priemonių, siekiant pagerinti duonos kokybę bei saugumą, galėtų būti fermentuotų lubinų produktų (raugo) pridėjimas, nes tai pagerintų duonos maistinę vertę bei juslines savybes [57]. Raugo įtaka duonos gamybos efektyvumui yra plačiai nagrinėjama literatūroje. Duonos kokybė, o taip pat jos pokyčiai laikymo metu yra susiję su mikrobiniu užteršimu ir kepinų sauga priklauso nuo raugo fermentacijos proceso savitumų [58,59].

Pastaraisiais metais ženkliai išaugo susidomėjimas probiotinėmis pieno rūgšties bakterijomis (PRB) dėl jų konservuojančio maistui poveikio ir galimybės pagaminti ilgesnės realizacijos trukmės ir saugesnius fermentuotus maisto produktus. PRB, kurias sudaro tokios mikroorganizmų rūšys kaip laktobakterijos ir laktokokai, yra tarp svarbiausių žinomų probiotikų [60], gaminančių antimikrobinius peptidus, vadinamus bakteriociniais [61,62]. Bakteriocinai galėtų užtikrinti fermentuotų augalinių produktų stabilumą, sumažinti mikrobinį užterštumą fermentacijos metu, slopinti patogeninių mikroorganizmų bei pelėsinų mikromicetų augimą [63]. Mikrobiologiškai stabilus antimikrobinis raugas būtų svarbiausias veiksnys duonos kokybei pagerinti ir saugumui padidinti, o vienintelis būdas, leidžiantis užtikrinti raugo stabilumą, yra kruopščiai atrinktų PRB padermių naudojimas.

Ruginiai arba kvietiniai miltai paprastai naudojami tradicinių duonos raugų gamyboje. Turtingi baltymais lubinų miltai, kuriuose yra daug baltymų, gali sukelti problemų, susijusių su biogeninių aminių (BA) susidarymu. Įvairių fermentuotų maisto produktų, ypač tų, kuriuose yra baltymų, pvz., fermentuotose daržovėse, ankštinių javų grūdų produktuose bei kitų produktų (alaus, vyno) sudėtyje yra biogeninių aminių [64]. Histaminas yra fiziologiškai svarbiausias biogeninis aminas. Biogeninius aminus iš konkrečių laisvųjų aminorūgščių suformuoja egzogeninės dekarboksilazės, kurias disponuoja mikroorganizmai, dalyvaujantys fermentacijos procesuose [65,66]. Maisto produktų, kuriuose yra didelės biogeninių aminių koncentracijos, suvartojimas gali sukelti nepageidaujamas reakcijas, tokias kaip pykinimas, galvos skausmas, bėrimas ir kraujospūdžio pokyčius [67]. Mikroorganizmai, tinkami maisto fermentavimui, buvo ištirti pagal jų savybę galimai sumažinti histamino ir tiramino kiekius [68].

Neseniai, iš savainių duonos raugų buvo išskirta antibakterinėmis savybėmis prieš *Bacillus subtilis* pasižyminti PRB *Pediococcus acidilactici*, (gaminanti pediociną Ac807) [69,70]. Kadangi fermentacija galėtų pagerinti ar sustiprinti kvapą, skonį ir pagerinti minkštimo tekstūrą, svarbus atrinkti mikroorganizmus fermentuotų produktų gamybai, kurie užtikrintų tiek maisto produktų saugą, tiek ir jų priimtinumą vartotojui.

Lubinų miltų, gautų iš geltonųjų lubinų ir mėlynųjų lubinų, kuriuose baltymų kiekis yra 42.4 % ir 35.1 % SM, atitinkamai, *Pediococcus acidilactici* fermentacija, ženkliai pagerino

baltymų išgavimą, sumažino tripsino inhibitoriaus aktyvumą bei padidino baltymų virškinamumą. Natūraliai fermentuoti geltonųjų lubinų produktai (10 % nuo miltų masės), palyginus su mėlynųjų lubinų produktais, turėjo šiek tiek didesnę teigiamą poveikį minkštimo aktyvumui (5.4 %) bei sumažino minkštimo kietumą (9.5 %). Vartotojai geriau įvertino su mėlynųjų lubinų fermentuotais produktais pagamintus duonos mėginius, kurie pasižymėjo geresniu skoniu. Fermentuotų lubinų konservavimas džiovinant šaltyje neturėjo didesnio poveikio PRB gyvybingumui, tačiau šis technologinis sprendimas visais atvejais sumažino minkštimo tekstūrą. Be to, fermentacijos metu buvo vertinamas biogeninių aminių susiformavimas. Nustatyta, kad fermentacijos metu padidėjo tam tikrų biogeninių aminių, tokių kaip tiraminas (32.6 - 215.8 mg kg⁻¹), histaminas (20.8 - 96.7 mgkg⁻¹) ir putrescinas (33.7 - 195.2 mg kg⁻¹), koncentracijos. Tai galėjo nutikti dėl fermentacijos pobūdžio, o taip pat dėl naudojamos baltymingos žaliavos. Tačiau biogeniniai aminai dėl santykinai mažų kiekių, esančių galutiniam produkte, nekelia pavojaus vartotojų sveikatai. Taigi, naudojami biotechnologiniai metodai iš esmės pagerino kvietinės duonos maistingumą ir kokybę, todėl tokie kepiniai buvo geriau vertinami vartotojų [71].

Tolesnių tyrimų metu būtų tikslinga išbandyti fermentaciniuose procesuose skaidulines lubinų medžiagas bei nustatyti PRB fermentuotų produktų įtaką galutinių produktų kokybei bei vartotojų priimtinumui, taikiant juslinių savybių vertinimui inovatyvias kompiuterines programas.

1.6. Lignoceliuliozinių biomasijų panaudojimas pieno rūgšties gamybai

Pieno rūgštis (PR) arba 2-hidroksipropankarboksirūgštis yra platforminis chemikalas, o jos druskos jau labai seniai naudojamos komerciniams tikslams [72]. Ji yra naudojama kaip konservantas maisto ir gėrimų sektoriuje ir pH reguliuojanti medžiaga, o farmacijos, kosmetikos ir chemijos pramonėje naudojama kaip tirpiklis ir pradinė medžiaga, gaminant laktatų esterius. Pieno rūgšties poreikis ženkliai išaugo dėl perspektyvų pritaikant jos polimerą – polilaktinę rūgštį (PLA), kuri tapo ekologiška alternatyva plastikui, išgaunamam iš naftos chemijos žaliavų.

Pieno rūgštį, kuri egzistuoja dviem optiškai aktyviomis izomerinėmis formomis L(+) pieno rūgštis ir D(-) pieno rūgštis [73], galima pagaminti cheminiu keliu arba mikrobinės fermentacijos būdu. Cheminiu keliu pagaminamas raceminis DL - pieno rūgšties mišinys, o optiškai gryną L(+) ir D(-) pieno rūgštį galima išgauti mikrobinės fermentacijos metu. Pastaraisiais metais dėl kelių priežasčių sumažėjo cheminiu keliu išgaunamos pieno rūgšties kiekis. Viena iš jų yra tai, kad sintetinė pieno rūgštis, pagaminta iš naftos chemijos pramonės žaliavų yra optiškai neaktyvi, t.y., raceminis mišinys. Kita problema yra aplinkos tarša ir riboti chemijos naftos išteklių [74].

Optiškai grynios pieno rūgšties gamyba yra svarbi polimerų sintezei, kurios metu naudojama pieno rūgštis [75,76]. JAV MVA (Maisto ir vaistų administracija) pieno rūgštį, kuri naudojama kaip maisto priedas, klasifikuoja kaip įprastai pripažįstama saugia (angl. *GRAS – generally recognized as safe*), tačiau D(-) pieno rūgštis kartais kenkia žmogaus medžiagų apykaitai ir gali sukelti acidozę bei kalcio nepakankamumą [75,77].

Tikslinga stereospecifinės rūgšties gamybą, kai gaminama L(+) arba D(-), galima atlikti angliavandenių fermentacijos metu, priklausomai nuo to, kokia bakterijų ir grybelių rūšis yra naudojama [78]. Tiesioginė krakmolo substrato biokonversija į pieno rūgštį gali būti atlikta, naudojant amilolitinis organizmus [79,80]. *Rizopo* rūšies grybai, tokie kaip *oryzae* ir *arrhizus*, turi amilolitinį fermentų aktyvumą, kuris, esant deguoniui, leidžia grybams krakmolą paversti į L(+) - pieno rūgštį [81,82]. Homofermentinės pieno rūgšties bakterijų (*laktobakterijų*) rūšis, kuri sugeba fermentuoti sacharidus, gali būti pritaikyta pieno rūgšties gamyboje. Plačiausiai fermentacijoje naudojamos pieno rūgšties bakterijų rūšys yra *L. bulgaricus*, *L. leichmanii*, *L. delbrückii*, *L. amylophilus* ir *L. plantarum* [72]. Optimali pieno rūgšties gamyba priklauso nuo tinkamos pieno rūgšties bakterijų rūšies pasirinkimo bei kelių kitų veiksnių: anglies šaltinio, pH, temperatūros, inkubacijos laikotarpio, ląstelių perdirbimo bei imobilizacijos [83]. Fermentacijos būdu gaunami sacharidai, kurie gali turėti įvairią cheminę struktūrą, priklausančią nuo substrato šaltinio ir naudojamo hidrolizės būdo, daro poveikį pieno rūgšties gamybos efektyvumui. Todėl buvo atlikta daugybė bandymų, siekiant atrinkti pigią žaliavą ekonomiškai pieno rūgšties gamybai. Pastaruoju metu išaugo susidomėjimas perdirbti žemės ūkio ir pramonės atliekas / šalutinius produktus, tokius kaip kviečių sėlenos, distiliuoti grūdai, alaus gamyboje panaudoti grūdai, melasa po cukraus gamybos iš cukrinių runkelių bei lubinų sėklos, skirtos šiuolaikinių cheminių medžiagų gamybai. Biotechnologinis žemės ūkio ir pramonės atliekų / šalutinių produktų perdirbimas galėtų sumažinti pieno rūgšties gamybos kaštus. Daugumai krakmolingų ir lignoceliuliozės medžiagų prieš fermentaciją reikalingas paruošiamasis apdorojimas, naudojant fizinius ir cheminius arba fermentinius metodus, nes kai kurios pieno rūgšties bakterijos (PRB) negali tiesiogiai panaudoti tų medžiagų [84]. Trūksta informacijos apie fermentinį pieno rūgšties bakterijų aktyvumą, naudojant lignoceliuliozės žemės ūkio ir pramonės atliekų fermentavimo būdus, taip pat trūksta informacijos kaip pieno rūgšties bakterijos ir fermentai gali veikti kartu, siekiant veiksmingo sacharidų pavertimo į pieno rūgštį.

Darbo vienas iš tikslų būtų skirtas biotechnologinei pieno rūgšties gamybai perdirbant lubinų skaidulines medžiagas ir kukurūzų šalutinius produktus, naudojant komercinius fermentus kartu su pieno rūgšties bakterijomis, kurios buvo anksčiau išskirtos iš savaiminio ruginio raugo fermentacijos proceso metu.

2. TYRIMŲ METODAI IR SĄLYGOS

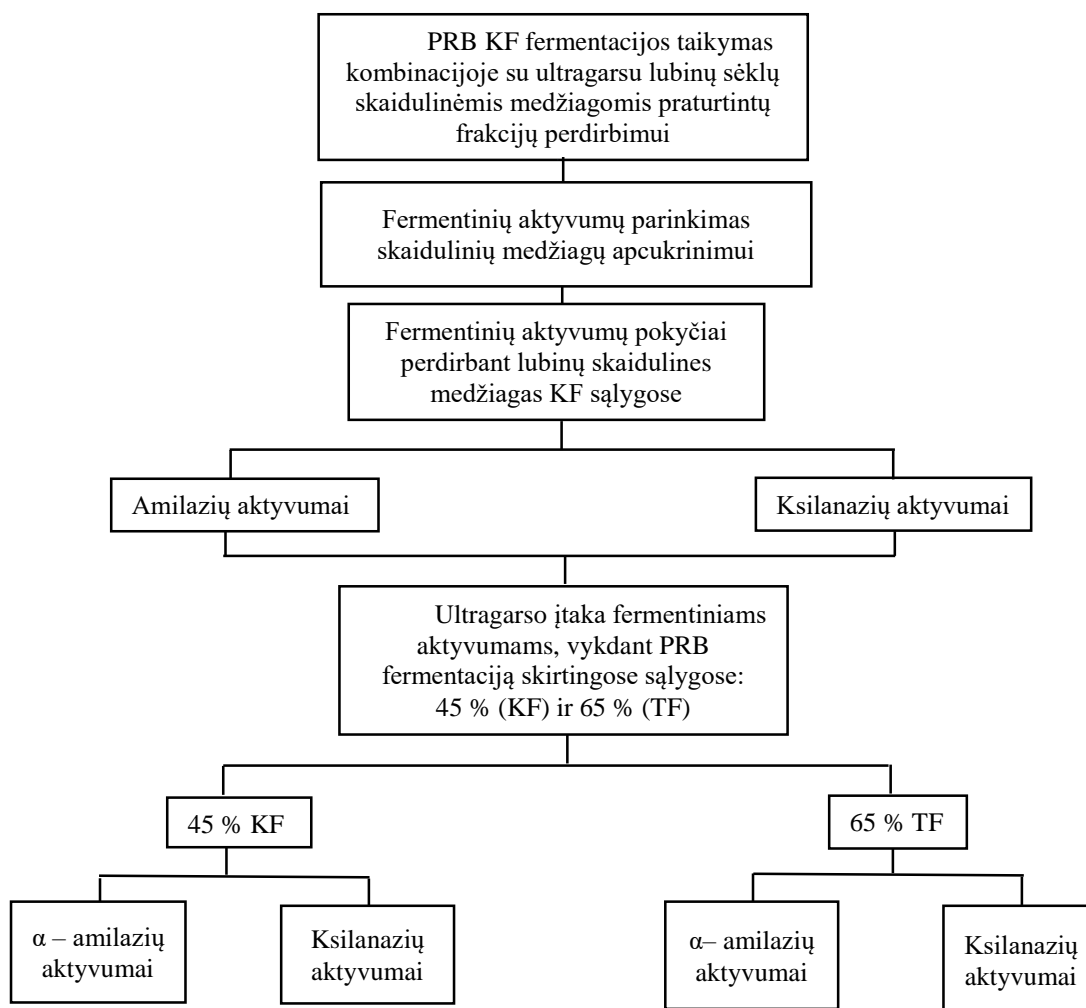
2.1. Tyrimų kryptis

Magistrinio baigiamojo darbo tyrimas atliktas 2014-2016 Kauno Technologijos Universitete, Chemijos technologijos fakultete, Maisto mokslo ir technologijos katedroje (Grūdų ir jų produktų laboratorijoje).

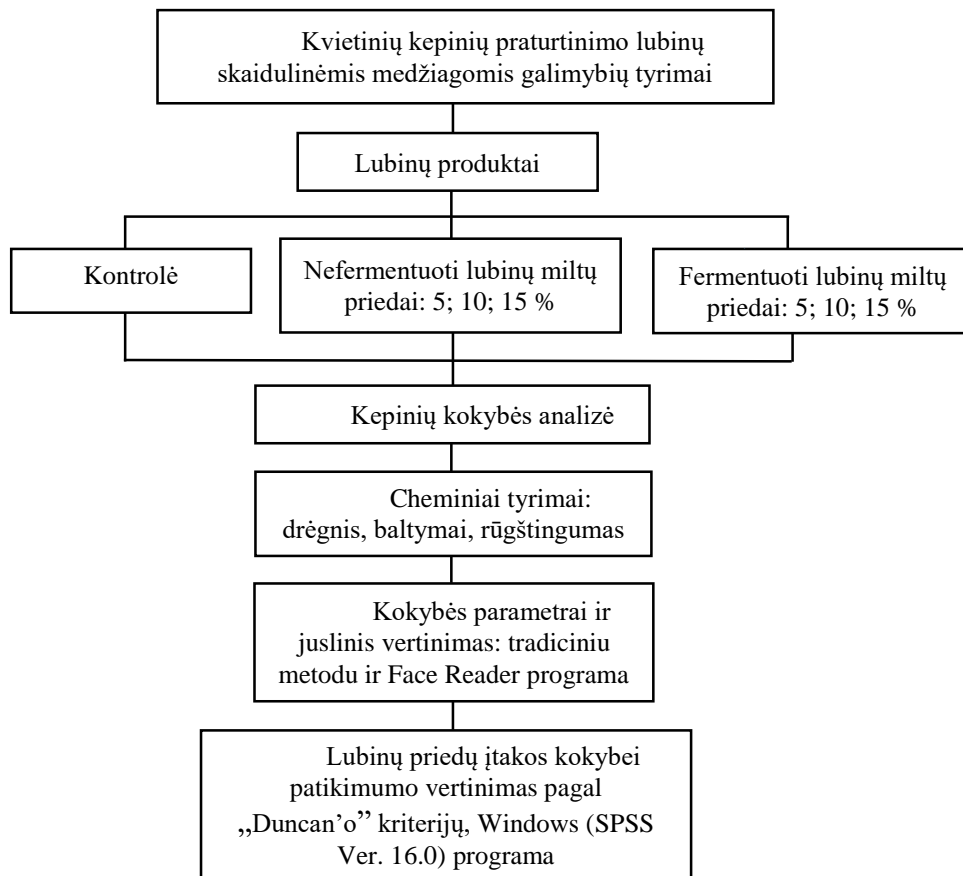
Eksperimentas vykdytas 3 etapais:

1. KF fermentacijos kombinacijos su ultragarsu (37 kHz), įtaka fermentiniams aktyvumams: α -amilaziniams ir ksilanaziniams.
2. Kepinių, praturtintų LSMF, tešlos gamybos būdo vystymas.
3. PR susidarymo iš LSMF tyrimai.

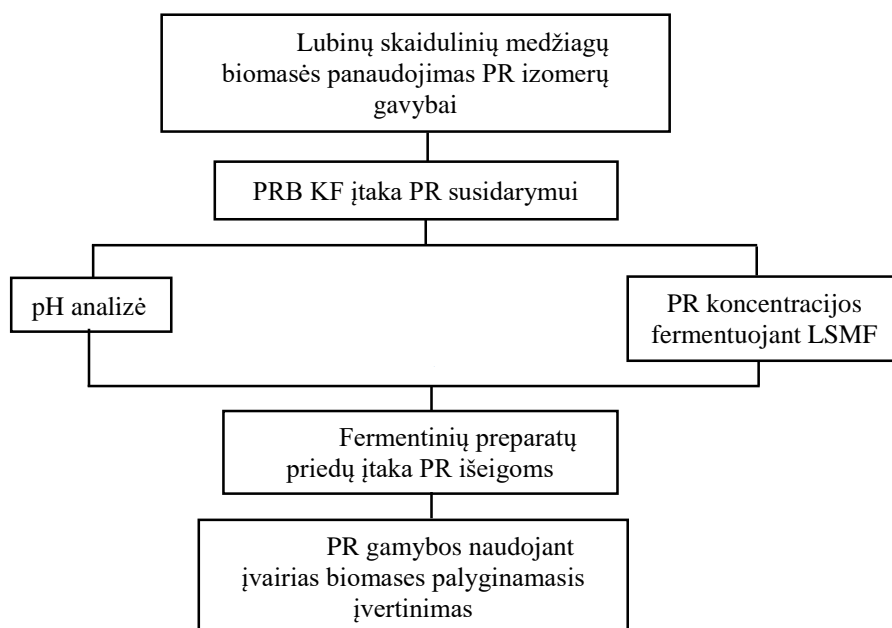
Atliktų tyrimų principinė schema pateikta: 2,1; 2,2 ir 2,3 pav.



2.1 pav. I eksperimento kryptis - KF fermentacijos kombinacijoje su ultragarsu (37 kHz), įtaka fermentiniams aktyvumams: α – amilaziniams ir ksilanaziniams.



2.2 pav. II eksperimento kryptis – kepinų, praturtintų LSMF, tešlos gamybos būdo vystymas

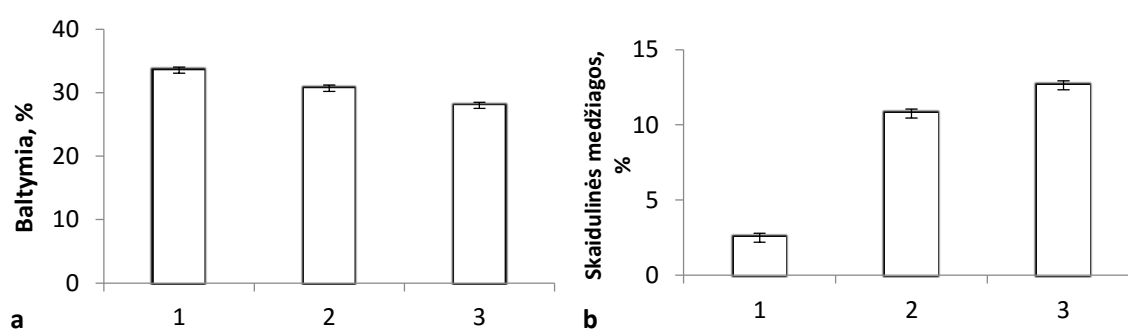


2.3 pav. III eksperimento kryptis - PR susidarymo iš LSMF tyrimai.

2.2. Tyrimo objektai

Tyrimo objektu pasirinkti Lietuvoje selekcionuojamos veislės 1682 siauralapiai lubinai, užauginti 2014 m. Lietuvos agrarinių ir miškų mokslų centro žemdirbystės instituto Vokės filiale. Tyrimams lubinų sėklos sumaltos Pranciškaus Jokubausko malūne (Kalvarijos g. 10, Kaunas). KTU Maisto mokslo ir technologijos katedroje sumaltos lubinų sėklos suskirstytos laboratoriniais sietais į tris frakcijas pagal stambumą. Smulkiausiai frakcijai gauti naudotas 0,230 mm skerspjūvio skylučių sietas, stambesnei frakcijai 0,500 mm ir stambiausiai 1.0 mm sietas.

Eksperimento metu vertintas šių frakcijų drėgnis ir baltymų bei skaidulinių medžiagų kiekis. Baltymų ir skaidulinių medžiagų tyrimų rezultatai pateikti 2.4 pav. (a ir b).



2.4 pav. Baltymų ir skaidulinių medžiagų kiekis skirtingose LSMF. (Pastaba: 1 – smulki frakcija; 2 – stambesnė frakcija ; 3 – stambiausia frakcija).

Nustatyta, kad visų frakcijų drėgnis buvo vienodas 12,45 %. Tuo tarpu frakcijos skyrėsi pagal baltymų kiekį ir skaidulines medžiagas. Daugiausiai baltymų rasta 1 frakcijoje (33,54 %) ir mažiausiai – 3 frakcijoje (28 %). Skaidulinių medžiagų kiekis buvo atvirkščiai proporcingas baltymų kiekiui: 1 frakcijoje nustatyti mažiausi skaidulinių medžiagų kiekiai (2,49 %) ir didžiausi – 3 frakcijoje (12,63 %). Tarpinės skaidulinių medžiagų vertės fiksuotos 2 frakcijoje. Kai kuriems eksperimentams, pvz., tiriant Alphastar aktyvumą, naudota 2 frakcija. Tačiau dauguma eksperimentų vykdyti, naudojant 3 frakciją, turinčią daugiausiai skaidulinių medžiagų.

Be to, tyrimo objektu buvo pasirinkti kukurūzų šalutiniai produktai, gauti iš UAB „Ustukių malūno“ (Nepriklausomybės g. 14, Pasvalys) kukurūzų perdirbimo metu. Šalutiniai kukurūzų produktai apdoroti gamybinėse sąlygose dviem būdais: ekstruzija ir infraraudonaisiais spinduliais. Po apdorojimo kukurūzai buvo išfrakcionuoti separatoriumi į skirtingas frakcijas. Tyrimui naudoti stambiausia kukurūzų perdirbimo šalutinių produktų frakcija, paveikta IR spinduliais. Ji buvo naudota PR gamybai, vykdant palyginamąjį vertinimą su PR koncentracija, nustatyta lubinų fermentacijos metu.

Ultragarso poveikis. Ultragarso vonelėje ultrasonic cleaner proclean 3.0DSP (Vokietija) lubinų produktai buvo paveikti ultragarsu. Ultragarso valymo įrangą sudaro: plovimo vonia (talpa apie 3 litrus), ultragarso generatorius (37 kHz) ir elektroakustinis keitiklis, sukeliantis tam tikro stiprumo ultragarsą. Keitiklis dažnai tvirtinamas prie vonios dugno. Ultragarso generatoriaus galia 160 W. Ultragarso vonia keičia elektros energiją į akustinę energiją, kuri vėliau vandenyje sukelia kavitaciją. Kavitacija – tai garų ar dujų burbuliukų susidarymas skystyje. Ultragarso bangos ultragarso vonioje sklinda tik vandeniui, todėl lubinų tiriamieji mėginiai ruošti 45 % ir 65 % drėgnio (sudarant geresnes sąlygas ultragarso bangoms sklusti per tiriamąjį mėginį). Lubinų mėginiai dedami į ploną polietileno maišelį ir jo kraštai apklijuojami lipnia juosta, siekiant apsaugoti mėginį nuo papildomo sąlyčio su vandeniu.

Ultragarso poveikis atliktas pagal pavaizduotas tyrimų kryptis 2.1 pav. su LSMF KF – terpės drėgnis 45 % ir tradicinės fermentacijos sąlygose (65 % drėgnis). Mėginiai veikti 37 kHz dažnio bangomis 40, 60, 80 min., šio proceso metu palaikant pastovią 20 °C temperatūrą, reguliariai šaldant ledu.

Mikroorganizmai naudoti lubinų miltų fermentacijai. *P. pentosaceus* KTU05-9 ir *P. acidilactici* (KTU05-7) mikroorganizmai išskirti iš lietuviškų spontaninių ruginės duonos raugų. Eksperimentui buvo gauti iš KTU, Maisto mokslo ir technologijos katedros, Grūdai ir grūdų produktai grupės kolekcijos. KTU Maisto mokslo ir technologijos katedroje PRB bakterijos iki eksperimento buvo laikomos -70 °C temperatūroje „MRS broth“ terpėje (CM 0359, Oxoid Ltd, Hampshire, UK), Microbank sistemoje (Pro-Lab Diagnostic, Cheshire, UK). Prieš naudojimą mikroorganizmai atšildyti „MRS broth“ ir padauginti išlaikius termostate 18 valandų, esant optimalioms augimo temperatūroms: *KTU05-7* – 32 °C, *KTU05-9* – 35 °C.

Kepinių gamybai naudotų raugų gamybos technologinė schema. *P. acidilactici* (KTU05-7) fermentuotų lubinų produktų (50 % drėgnio) ruošimui naudota 300 g lubinų miltų (2014 m. derliaus, 1682 genotipo), kurie prieš fermentaciją buvo sumalti laboratoriniu malūnu bei sumaišyti su 217 ml distiliuoto vandens ir įpilta 2 ml *P. acidilactici* (KTU05-7) pienarūgščių bakterijų. Paruoštas raugas buvo laikomas 37 °C temperatūroje, 24 val. termostate.

Nefermentuotų lubinų miltų bandinio paruošimas: 300 g lubinų miltų sumaišomi su 217 ml distiliuoto vandens. Kontrolinė tešla paruošta be pieno rūgšties bakterijų raugo ir be lubinų produktų priedų.

Kvietinės duonos praturtintos fermentuotų ir nefermentuotų lubinų skaidulinėmis medžiagomis gamybos technologija. Tiriamiesiems kepinams pasirinkta kvietinės duonos receptūra pateikta 2.1 ir 2.2 lentelėse. Kvietiniai miltai buvo sumaišyti su 5 %, 10 %, 15 % nefermentuotų lubinų ir su 5 %, 10 %, 15 % fermentuotų lubinų miltų. Kvietiniai miltai, į kuriuos nebuvo įmaišyta lubinų miltų, buvo naudojami duonos kepimo valdymui. Tiriamieji kvietinės duonos ir kvietinės duonos praturtintos fermentuotų ir nefermentuotų lubinų skaidulinėmis medžiagomis kepiniai buvo atlikti laboratorinėmis sąlygomis KTU Maisto mokslo ir technologijos katedroje, naudojant *MIWe Condo* orkaitę (MIWE Michael Wenz GmbH, Arnšteinas, Vokietija). Duonai pagaminti buvo naudojama ši receptūra: 1000 g kvietinių 550 D tipo (gamintojas „Kauno grūdai“, Kaunas, Lietuva), 30 g mielių „SEMA“ (gamintojas LALLEMAND Sp. zo.o., Lublin, Lenkija), 15 g druskos, 1 g duonos pagerintojo ir 600 - 660 ml vandens. Ingredientai buvo sveriami ir sudėti į tešlą, tešla buvo maišoma spiralinėje maišymo mašinoje DIOSNA SP-24-F (DIOSNA Dierks & Sohne GmbH, Vokietija), 2 min. mažu greičiu ir 6 min. vidutiniu greičiu. Kildinimui tešla 1 valandai dedama į fermentavimo kamerą, kurioje temperatūra yra 28 °C, o santykinė oro drėgmė – 75 %. Gražinus tešlą iš fermentavimo kameros, tešla padalinama į 90 - 95 g ruošinius ir rankomis suteikiama apvali forma. Šie ruošiniai 30 min. buvo palikti kambario temperatūroje, kad atsistatytų reologinės savybės, tuomet gražinti į fermentavimo kamerą kildinimui (45 min., 28 °C temperatūroje, santykinė oro drėgmė – 75 %). Po to duona 25 min. kepama *MIWe Condo* orkaitėje (MIWE Michael Wenz GmbH, Arnšteinas, Vokietija) 220 °C laipsnių temperatūroje. Kvietinės bei kvietinės duonos praturtintos fermentuotų ir nefermentuotų LSMF savybių nustatymas ir juslinis vertinimas buvo atliktas po kepimo praėjus 24 val.

2.1 lentelė. Tiriamųjų mėginių su nefermentuotais lubiniais receptūros

Žaliavos	Kiekis, g/ml			
	Kontrolinis mėginys	1 (su 5% nefermentuotų lubinų)	2 (su 10% nefermentuotų lubinų)	3 (su 15% nefermentuotų lubinų)
Kvietiniai miltai 550 D	1000 g	950 g	900 g	850 g
Lubinai	-	50 g	100 g	150 g
Presuotos mielės	30 g	30 g	30 g	30 g
Druska	15 g	15 g	15 g	15 g
Vanduo	600 ml	620 ml	640 ml	660 ml
Pagerintojas	1 g	1 g	1 g	1 g

2.2 lentelė. Tiriamųjų mėginių su fermentuotais lubiniais receptūros

Žaliavos	Kiekis, g/ml			
	Kontrolinis mėginys	1f (su 5% fermentuotų lubinų)	2f (su 10% fermentuotų lubinų)	3f (su 15% fermentuotų lubinų)
Kvietiniai miltai 550 D	1000 g	950 g	900 g	850 g
Lubinai	-	50 g	100 g	150 g
Presuotos mielės	30 g	30 g	30 g	30 g
Druska	15 g	15 g	15 g	15 g
Vanduo	600 ml	600 ml	600 ml	600 ml
Pagerintojas	1 g	1 g	1 g	1 g

2.3. Tyrimo metodai ir medžiagos

2.3.1. Lubinų sėklų cheminės sudėties analizė

Drėgmės kiekio nustatymas džiovavimo metodu

2 g lubinų miltų mėginys vienodu sluoksniu paskleidžiamas išdžiovintame iki pastovios masės ir pasvertame biukse. Biuksas uždengiamas ir su turiniu pasveriamas 1 mg tikslumu (W1). Biuksai ir jų dangteliai atskirai sudedami į džiovavimo spintą. Tiriamaoji ėminio dalis džiovinama iki pastovios masės 130 °C temperatūroje. Baigus džiovinti, biuksai išimami iš džiovavimo spintos, uždengiami ir įdedami į eksikatorių, kuriame atvėsunami iki kambario temperatūros. Atvėسę biuksai su mėginiu pasveriami 1 mg tikslumu (W2). Atlikti 3 lygiagretūs tyrimai.

Drėgmės kiekis, procentais, skaičiuojamas pagal formulę:

$$W = \left(\frac{W_1 - W_2}{W_1} \right) * 100$$

kur:

W – analizuojamo mėginio drėgmės kiekis %,

W1 – analizuojamo mėginio masė, gramais, prieš džiovinimą,

W2 – analizuojamo mėginio masė, gramais, po džiovinimo.

Bendras baltymų kiekio nustatymas Kjeldalio metodu

Bendro lubinų miltų baltymų kiekio nustatymui po 1,0 g tiriamo produkto mėginio sudedama į Kjeldalio kolbas, įpilama 20 ml koncentruotos H₂SO₄, įdedamas katalizatorių mišinys (kalio sulfato milteliai (1000 masės dalių), titano dioksidas (30 masės dalių) ir vario sulfato pentahidratas (30 masės dalių)) ir antiputokšlių (cinko šratų). Kjeldalio kolbos „Behr

Labor Technik“ (Vokietija) mineralizavimo aparate kaitinamos 100 min, kol mineralizatas tampa skaidrus, t. y. kol produkto organinės medžiagos suskyla ir lieka tik mineraliniai junginiai. Kolbos atvėsinaimos.

Atvėsintos kolbos dedamos į „Behr Labor Technik“ (Vokietija) distiliatorių. Distiliuojama 5 min. Kondensatoriaus išėjimo vamzdelio galiukas turi būtų pamerktas į kūginę 300 ml talpos kolbą distiliatui surinkti, į kurią įpilama boro rūgštis (H_3BO_3) tirpalo. Pasibaigus distiliacijai, į kūginę kolbą įlašinami 2–3 lašai Taširo indikatorius tirpalo ir distiliatas titruojamas 0,1N HCl tirpalu, kol distiliato spalva iš žalios spalvos tampa ryškiai violetine.

Tokiomis pat sąlygomis distiliuojamas ir titruojamas kontrolinis (tuščias) mėginys (sieros rūgštis).

Azoto kiekis (N) % apskaičiuojamas pagal formulę:

$$N = [1,4 \times n \times K(V_1 - V_0)]/m$$

čia 1,4 – azoto kiekis, kurį sujungia 1 ml 0,1 N HCl g,

V_1 – 0,1 N HCl kiekis, sunaudotas iš distiliuojamo mineralizato išsiskyrusiam amoniakui sujungti ml,

V_0 – 0,1 M HCl kiekis, sunaudotas tuščiajam mėginiui titruoti ml,

K – druskos rūgštis tirpalo pataisos koeficientas (1)

m – analizuoto mėginio masė g.

Baltymų kiekis apskaičiuojamas pagal formulę:

$$B_{pr} = N \times k$$

čia:

N – azoto (N) kiekis,

k – koeficientas perskaičiuoti azoto kiekį į baltymų kiekį (5,7).

Skaidulinių medžiagų nustatymas naudojant AOAC metodą 984.04

Naudojamos medžiagos: 0,255 N H_2SO_4 , 0,313 N NaOH, asbestas, lininis filtras, kolbos, deginimo indai (tigliai), filtravimo įtaisai, eksikatorius.

Tyrimo eiga: apie 2 g mėginio sumaišomi su 200 ml H_2SO_4 . Mišinys kaitinamas 30 min. su kondensatoriumi išlaikant rūgštis koncentraciją ir filtruojamas bei plaunamas su karštu vandeniu pašalinant rūgštingumą. Toliau mišinys surenkamas ir perkeliamas į kolbą ir sumaišomas su 200 ml NaOH. Mišinys kaitinamas 30 min. su kondensatoriumi ir filtruojamas bei plaunamas su karštu vandeniu iki neutralios būsenos. Tuomet mišinys yra filtruojamas naudojant porcelianinį tigli ir džiovinamas 105 °C temperatūroje iki tol kol nebekinta mėginio svoris ir galutinis svoris yra fiksuojamas. Tada mėginys su tigliu yra patalpinamas į krosnį 600 °C temperatūroje ir kaitinamas 2 – 3 valandas ir atvėsinaimos. Po atvėsinaimos galutinis svoris fiksuojamas.

Skaidulinių medžiagų kiekis apskaičiuojamas pagal formulę:

$$\text{skaidulinės medžiagos, \%} = \frac{\text{mėginio svoris prieš deginimą} - \text{mėginio svoris po deginimo}}{\text{pradinis mėginio svoris}} \times 100 \%$$

Redukuojančių cukrų analizė

Gliukozė yra redukuojantis sacharidas, kurio kiekiui nustatyti taikytas kolorimetrinis metodas pagal tirpalo optinį tankį, susidariusį reaguojant redukuojančiam sacharidui su DNS (3,5 – dinitrosalicilinės rūgšties) reagentu.

Tiriamasis mėginys su lubinų miltais ir fermentų kiekiu homogenizuojamas, centrifuguojamas ir filtruojamas siekiant atskirti denatūravusius baltymus po 30 min. 37 °C temperatūroje inkubacijos. 1 ml tiriamojo mėginio sumaišyta su 1 ml DNS (3,5 – dinitrosalicilinė rūgštis) reagentu. Mišinys kaitinamas 5 min. 100 °C temperatūros vandens vonioje, po to atvėsinaamas iki kambario temperatūros, laike 5 – 10 min. ir skiedžiamas 18 ml distiliuotu vandeniu (bendras tirpalo tūris 20 ml). Gauta tirpalo absorbcija matuojama „Spectronic 1201“ spektrofotometru (Milton Roy, JAV), bangos ilgis 540 nm.

Gliukozės kiekiui nustatyti sudaryta gradavimo kreivė, jai sudaryti naudota 10 mg/ml pradinis gliukozės tirpalas, kuris buvo praskiestas 10 kartų. 1 ml gliukozės darbinio tirpalo (nuo 0 iki 1 ml) ir 1 ml DNS (3,5 – dinitrosalicilinės rūgšties) reagento supilta į mėgintuvėlius, kurie kaitinti 5 min. 100 °C temperatūros vandens vonioje. Gautas tirpalas atvėsintas iki kambario temperatūros per 5 – 10 min. ir skiedžiamas 18 ml distiliuotu vandeniu (bendras tirpalo tūris 20 ml). Gauta tirpalo optinis tankis matuojamas „Spectronic 1201“ spektrofotometru (Milton Roy, JAV), bangos ilgis 540 nm.

Sudaryta kalibracinė kreivė pateikta priede (2.5 pav). Redukuojančių cukrų apskaičiavimas pagal tokią formulę: $y = 0,0867x - 0,0399$ (kur x – gliukozės kiekis, y – jį atitinkanti vidutinė absorbcijos vertė).

2.3.2. Lubinų produktų fermentacijos proceso tyrimas

Amilolitinio aktyvumo nustatymas

α – amilazės aktyvumas nustatomas pagal ICC metodą Nr. 108 (ICC, 1998).

α – amilazės aktyvumo vienetas – tai fermento kiekis, kuris sugeba suskaidyti 1 g tirpaus krakmolo iki įvairios molekulinės masės dekstrinų, vykdant hidrolizę nustatytomis sąlygomis (10

min., 30 °C temperatūra, terpės pH 4,7). Kaip substratas naudojamas 1 % tirpus krakmolo tirpalas.

Metodo esmė. Veikiant α – amilazei, tirpus krakmolas hidrolizuojamas iki įvairios molekulinės masės dekstrinų. Likusio nehidrolizuoto krakmolo kiekis nustatomas kolorimetriniu metodu pagal spalvoto tirpalo, susidariusio reaguojant krakmolui su jodo tirpalu, optinį tankį.

Medžiagos. Ledinė acto rūgštis, fosfatinis buferis, J₂, KJ, bevandens CaCl₂, krakmolas, 0,5 M HCl.

Fosfatinis buferis. (1/15) M, pH 6). Tirpalas A: 11,866g Na₂HPO₄·2H₂O ištirpinama distiliuotame vandenyje. Tirpalas B: 9,070 g KH₂PO₄ ištirpinama distiliuotame vandenyje. Tada A ir B tirpalai sumaišomi tarpusavyje santykiu 1:9 ir pH sureguliuojama iki 6,0. Laikoma stiklo butelyje patalpos temperatūroje.

1 % krakmolo tirpalas. $1 \pm 0,01$ g krakmolas išmaišomas su 50 ml vandeniu. 10 min. tirpalas dedamas į verdantį vandenį, intensyvus maišymas. Atvėsintas iki kambario temperatūros, įpilama 10 ml fosfatinio buferio. Tirpalas praskiedžiamas vandeniu iki 100 ml. Laikoma stiklo butelyje 0 - 4 °C temperatūroje.

Standartinis jodo tirpalas. 0,5 g jodo ir 5 g KJ ištirpinami nedideliame kiekyje vandens. Tirpalas sumaišomas su magnetine maišykle. Po to, praskiedžiama iki 200 ml talpos matavimo kolboje su distiliuotu vandeniu. Laikomas tamsaus stiklo butelyje kambario temperatūroje, ne ilgiau kaip 1 mėn.

Praskiestas jodo tirpalas. 2 ml standartinio jodo tirpalo praskiedžiama su 0,5 M HCl iki 100 ml. Gauta tirpalo absorbcija matuojama spektrofotometru (esant $\lambda = 540$ nm). Absorbcija turi būti $0,22 \pm 0,01$. Kitu atveju tinkamai absorbcijai gauti reikia įlašinti kelis lašus HCl arba standartinio jodo tirpalo.

CaCl₂ tirpalas (pH 6,0) 0,1 g bevandenio CaCl₂ ištirpinama su distiliuotu vandeniu, pH sureguliuojamas iki 6,0 su 0,2 M NaOH ir praskiedžiama iki 1 l su distiliuotu vandeniu. Laikoma stiklo butelyje patalpos temperatūroje.

Lubinų miltų ekstrakto paruošimas. $5 \pm 0,01$ g sumaltų lubinų miltų ir 40 ml distiliuoto vandens homogenizuojama (10 min.) ir nustatomas centrifugato tūris.

Aparatūra ir priemonės. Laboratorinis malūnėlis, analizinės svarstyklės, homogenizatorius, centrifuga SIGMA 4K 15, vandens vonia, spektrofotometras, mikropipetės – dozatoriai, mėgintuvėliai, kvarco kiuvetės.

Analizės atlikimas. Į mėgintuvėlius įpilama po 10 ml 1 % krakmolo tirpalo ir išlaikoma 10 min. 30 °C temperatūros vandens vonioje. Tada įpilama 5 ml tiriamojo lubinų miltų ekstrakto, o į tuščiojo tyrimo mėgintuvėlį – 5 ml CaCl₂ tirpalo. Gerai išmaišoma ir vėl laikoma 10 min. 30 °C temperatūros vandens vonioje. Iš kiekvieno mėgintuvėlio imama po 0,5 ml tiriamojo mišinio,

sumaišoma su 50 ml praskiesto jodo tirpalo ir po 5 min. spektrofotometru ($\lambda = 670 \text{ nm}$) matuojamas gauto tirpalo optinis tankis. Vidutinė absorbcijos vertė naudojama fermento aktyvumui apskaičiuoti.

α – amilazės aktyvumas apskaičiuojamas pagal formulę:

$$AA = \frac{7,264 \cdot m + 0,03766}{m_1} \cdot 1000, AV/g$$

Čia: m – hidrolizuoto krakmolo kiekis, g; m_1 – grūdų masė, paimta 5 ml ekstraktui paruošti, g

Hidrolizuoto krakmolo kiekis apskaičiuojamas pagal formulę:

$$m = \frac{D_1 - D_2}{D_1} \cdot 0,1, g$$

Čia: D_1 – tuščiojo mėginio optinis tankis; D_2 – tiriamojo mėginio optinis tankis, 0,1 – krakmolo kiekis, paimtas tyrimui.

Ksilanolitinio aktyvumo nustatymas

β – ksilanazės aktyvumui nustatyti taikytas kalorimetrinis metodas, naudojant 3,5-dinitrosalicilo rūgšties reagentą (DNS reagentas).

Metodo esmė. Veikiant β – ksinalazei, ksilanas suskaldomas iki redukuojančių sacharidų (daugiausiai ksilozės) ir jų kiekis nustatomas kolorimetriniu metodu pagal spalvoto tirpalo, susidariusio reaguojant ksilozei su 3,5 - dinitrosalicilinės rūgšties reagentu, optinį tankį. Gauto spalvoto tirpalo absorbcija matuojama, esant $\lambda = 540 \text{ nm}$.

β – ksinalazės aktyvumo vienetu (KV) taikomas toks fermento kiekis, kuris nustatytais sąlygomis veikdamas ksilaną (40 °C temperatūra, terpės pH 4,5) per 1 min. sugeba atskelti 1 μmol ksilozės. Kaip substratas naudojamas 1 beržo medienos 4-O-metilo-D-gliukurono-D-ksilano tirpalas.

Medžiagos: D-ksilozė, 3,5 - dinitrosalicilo rūgštis, natrio acetatas, ledinė acto rūgštis, natrio hidroksidas, natrio-kalio tartratas, beržo ksilanas (substratas).

Acetatinis buferis (0,1 M; pH 4,5). Ledinė acto rūgštis (6,08 ml) ir natrio acetatas (13,6 g) ištirpinami 800 ml distiliuoto vandens, sureguliuavus tirpalo pH iki $4,5 \pm 0,01$, praskiedžiami iki 1 litro. Laikoma stiklo butelyje kambario temperatūroje.

DNS reagentas. 3,5 - dinitrosalicilo rūgštis ($1 \pm 0,01 \text{ g}$) ir natrio - kalio tartratas ($30 \pm 0,01 \text{ g}$) ištirpinami 100 ml 0,4 M NaOH. Laikoma tamsaus stiklo butelyje kambario temperatūroje.

1 % ksilano (KS) tirpalas. Beržo ksilanas ($0,5 \pm 0,01$ g) ištirpinamas 0,1 M natrio acetato buferyje (50 ml; pH 4,5; 50 °C). Paruoštas beržo ksilano (25 mg/ml) tirpalas laikomas stiklo butelyje 0 - 4 °C temperatūroje.

Lubinių miltų ekstrakto paruošimas. $5 \pm 0,01$ g sumaltų lubinų miltų ir 40 ml distiliuoto vandens homogenizuojama (10 min.) ir nustatomas centrifugato tūris.

Aparatūra ir priemonės. Laboratorinis malūnėlis (MIAG, Vokietija), homogenizatorius Ultra – Turrax T – 25, analizinės svarstyklės (KERN&Sohn, KERN EG620, Vokietija), vandens vonia (WB-4, Vokietija), spektrofotometras (Electron Corporation Madison, Genesys 10 UV, USA), mikropipetės – dozatoriai (20-5000 µl), mėgintuvėliai, kvarco kiuvetės.

Fermentinė hidrolizė. Reakcijos mišinys (1 ml), sudarytas iš 200 µl tiriamojo lubinų miltų ekstrakto, 50 µl KS tirpalo ir 750 µl acetatinio buferio (0,1 M pH 4,5) inkubuojamas 30 min. 37 °C temperatūroje.

Redukuojančių sacharidų nustatymas. Tirpale atliekamas sacharidų redukcinis amininimas 3,5 – dinitrosalicilo rūgštimi. Ekvivalentiškai tirpalo ir DNS reagento kiekiai (1 ml tiriamo lubinų miltų ekstrakto) ir DNS reagento (500 µl) sumaišomi, gautas mišinys kaitinamas 5 min, 100 °C temperatūros vandens vonioje, po to atvėsinaamas iki kambario temperatūros ir skiedžiamas distiliuotu vandeniu santykiu 1:10. Gauta tirpalo optinis tankis matuojamas spektrofotometru ($\lambda = 540$ nm). Eksperimentas kartojamas tris kartus, vidutinė absorbcijos vertė naudojama fermentų aktyvumui apskaičiuoti.

Fermento aktyvumo apskaičiavimas. Redukuojančių sacharidų kiekio nustatymui sudaryta absorbcijos verčių priklausomybė nuo ksilozės koncentracijos tirpale. Kreivės polinkio kampo vertė naudojama fermentų aktyvumui apskaičiuoti. Sudaryta kalibracinė kreivė pateikta priede (2.6 pav). Redukuojančių cukrų apskaičiavimas pagal tokią formulę: $y = 0,7877x + 0,0142$ (kur x – ksilozės kiekis, y – jį atitinkanti vidutinė absorbcijos vertė). Gauti rezultatai parodė, kad gradavimo kreivė (2.6 Pav.) yra pakankamai tiksli ($R^2 = 0,9959$) ir gali būti naudojama ksilanazės aktyvumui įvertinti mėginiuose. Vidutinė absorbcijos vertė naudojama fermento aktyvumui apskaičiuoti.

Mikrobinių fermentų aktyvumas (AV/g) apskaičiuojamas pagal formulę:

$$KA = \frac{a \cdot PF \cdot \Delta A \cdot V}{b \cdot s \cdot \Delta t \cdot m}, KV/g$$

Čia: a – reakcijos mišinio tūris, ml; b – ekstrakto kiekis reakcijos mišinyje, ml; s – ksilozės standartinės tiesės polinkis, ml/µmol; PF – praskiedimo faktorius; Δt – reakcijos trukmė, min.; m – miežių grūdų masė, naudota ekstraktui paruošti, g; V – miežių grūdų ekstrakto tūris, ml; ΔA – absorbcijos pokytis ($\Delta A = A_{r-jos\ mišinio} - A_{ekstrakto}$)

pH nustatymas

Mėginio paruošimas pH nustatymui. Atliekant lubinų miltų pH nustatymą su *P. acidilactici* (KTU05-7) ir *P. pentosaceus* KTU05-9 bakterijomis buvo naudota 100 g lubinų miltų, kurie buvo sumaišyti su 71,13 ml distiliuoto vandens ir 2 ml *P. acidilactici* (KTU05-7) pienarūgčių bakterijų ir atlikta 96 val. fermentacija. Analogiškai 100 g lubinų miltų, sumaišomi su 71,13 ml distiliuoto vandens ir 2 ml *P. pentosaceus* KTU05-9 ir fermentuojama 96 val. Fermentacijos metu po 0; 24; 48; 72; 96 val. buvo imami mėginiai pH nustatymui.

pH nustatymas atliktas matuokliu (PP-15, Sartorius, Goettingen, Vokietija), kurio minimalus jautrumas 0,01 pH vieneto ir kuris turi stiklinį bei etaloninį elektrodą ir temperatūros kompensatorių.

Matavimų prietaisai prieš darbo pradžią įjungiami į elektros tinklą ir 30 min. reguliuojami žinomo pH (6,88 ir 4,00) buferiniais tirpalais esant 20 ± 1 °C temperatūrai. Prieš buferinių tirpalų naudojimą prietaiso elektrodai švariai nuplaunami distiliuotu vandeniu ir nusausinami filtriniu popieriumi. Tada į 50 - 100 ml prietaiso komplekte esančią stiklinę įpilama 20 ± 1 °C temperatūros 40±5 ml buferinio tirpalo, elektrodai panardinami į tirpalą ir po 10 - 15 s stebimi prietaiso duomenys. Jei jie skiriasi nuo buferinio tirpalo pH daugiau kaip 0,05 tai prietaisas reguliatoriumi kalibruojamas ir paruošiamas darbui. Buferinis tirpalas, kurio pH 20 ± 1 °C temperatūroje yra 6,88 – tai 0,025 M kalio vandenilio fosfato (KH_2PO_4) ir bevandenio fosfato (Na_2HPO_4) tirpalas. Buferinis tirpalas, kurio pH 20 ± 1 °C temperatūroje yra 4,00 – tai 0,05 M kalio hidroftalato ($\text{KHC}_8\text{H}_4\text{O}_4$) tirpalas.

Prietaisą paruošus darbui į 50 - 100 ml stiklinę įpilama 40±5 ml tiriamojo skysčio, kurio temperatūra turi būti 20 ± 2 °C. Tada į stiklinę įmerkiami elektrodai taip, kad jie nelieštų stiklinės sienelių ir dugno ir sukinėjant stiklinę apie elektrodus po 10 - 15 s prietaise užfiksuojami pH duomenys. Po kiekvieno matavimo prietaiso elektrodai nuplaunami acetonu ir distiliuotu vandeniu, kurio temperatūra 30 - 35 °C.

Pieno rūgšties L(+) ir D(-) izomerų nustatymas

Mikroorganizmai ir jų kultivavimo sąlygos naudotos PR izomerų nustatymui. Pieno rūgšties, L(+) ir D(-) izomerų gamybai naudotos antimikrobinėmis savybėmis pasižyminčios PRB (*P. pentosaceus* KTU05-9 ir *P. acidilactici* KTU05-7), kurios buvo atrinktos ir išskirtos iš spontaninių ruginės duonos raugų. KTU Maisto mokslo ir technologijos katedroje PRB bakterijos buvo saugomos -70 °C temperatūroje Microbank sistemoje (Pro-Lab Diagnostic, Cheshire, UK) ir aktyvuotos tolesniam naudojimui „MRS broth“ terpėje (CM 0359, Oxoid Ltd, Hampshire, UK) optimalioje jų dauginimosi temperatūroje.

Pieno rūgšties kiekis nustatomas pagal fermentinį testą (Megazyme International Ireland, Bray Business Park, Bray, Co, Wicklow, IRELAND 2012). Pieno rūgšties izomerų nustatymas atliekamas nuo 0,5 iki 30 mikrogramų L(+) arba D(-) pieno rūgšties diapazone. Mėginio tūris – 1,50 ml tai atitinka PR L(+) ir D(-) koncentracijos apie 0,107 – 0,214 mg/L. Aptikimo riba yra 0,214 mg/L, kuri gauta iš absorbcijos 0,010 ir didžiausio mėginio tūrio 1,50 mL skirtumo. Šio tyrimo metu buvo paruoštas tuščias ir tiriamieji mėginiai.

Analizės atlikimo tvarka ir parametrai: bangos ilgis – 340 nm; kiuvetės – 1 cm šviesos kelias (iš stiklo arba plastmasės); temperatūra ~ 25 °C; galutinis tūris – 2,26 ml L(+) pieno rūgščiai ir 2,24 ml D(-) pieno rūgščiai; tirpalo mėginys – 0,5 – 30 µg bendrai pieno rūgšties kiuvetėje (0,1 – 1,5 ml mėginio tūryje).

Tiriamąjį mėginį paruošimas: Į kiuvetę įpilamas distiliuotas vanduo (1,5 ml) bei tiriamas mėginys (0,1 ml) ir Megazyme testo reagentai (tirpalas 1 (buferis) – 0,5 ml, tirpalas 2 (NAD⁺) – 0,1 ml, suspensija 3 (D-GPT) – 0,02 ml), kiuvetės turinys sumaišomas ir išlaikomas 3 minutes, po to buvo matuojama absorbcija (A₁). Į tą pačią kiuvetę įpilama suspensija 5 (D-LDH) – 0,02 ml, sumaišoma ir dar išlaikoma 5 minutes, po to buvo matuojama absorbcija (A₂). Po antros absorbcijos matavimo į kiuvetę įpilamas paskutinis reagentas – suspensija 4 (L-LGH) – 0,02 ml, sumaišoma ir išlaikoma 10 - 15 minučių ir matuojama absorbcija (A₃). Taip pat paruošiamas tuščias mėginys, tik vietoje tiriamojo mėginio įpilama dar 0,1 ml distiliuoto vandens, tuščiam mėginyje distiliuoto vandens kiekis buvo 1,6 ml.

2.3 lentelė. Tiriamojo ir tuščio mėginio paruošimo tvarka

Įpilti į kiuvetę	Tuščias mėginys	Tiriamasis mėginys
Distiliuotas vanduo (~25 °C)	1.60 mL	1.50 mL
Tiriamasis mėginys	-	0.10 mL
Tirpalas 1 (buferis)	0.50 mL	0.50 mL
Tirpalas 2 (NAD ⁺)	0.10 mL	0.10 mL
Suspensija 3 (D-GPT)	0.02 mL	0.02 mL
Sumaišyti ir po 3 min. pamatuoti absorbciją (A ₁) ir toliau tęsti eksperimentą:		
Suspensija 5 (D-LDH)	0.02 mL	0.02 mL
Sumaišyti ir po 5 min. pamatuoti absorbciją (A ₂) ir toliau tęsti eksperimentą:		
Suspensija 4 (L-LDH)	0.02 mL	0.02 mL
Sumaišyti ir po 10 - 15 min. pamatuoti absorbciją (A ₃).		

Nustatyti absorbcijų skirtumą (A₂ – A₁) tarp tiriamojo mėginio (lubinų miltų, kukurūzų miltų) ir tuščiojo mėginio. Atėmus iš absorbcijų skirtumų tuščio mėginio absorbciją, gaunama ΔA_D-pieno rūgštis.

Nustatyti absorbcijų skirtumą (A₃ – A₂) tiriamojo mėginio ir tuščio mėginio. Atėmus iš absorbcijų skirtumų tuščio mėginio absorbciją, gaunama ΔA_L-pieno rūgštis.

D- ir L- pieno rūgštis koncentracija gali būti apskaičiuojama pagal formulę:

$$c = \frac{V \times MW}{\varepsilon \times d \times v} \times \Delta A_{D\text{-pieno rūgštis}} \quad [\text{g/L}]$$

čia:

V – galutinis tūris, [ml]

MW – pieno rūgštis molekulinė masė, [g/mol]

ε – ekstinkcijos koeficientas NADH 340 nm

d – šviesos kelias, [cm]

v – tiriamo mėginio tūris, [ml]

D-pieno rūgščiai nustatyti naudota tokia formulė:

$$c = \frac{2,24 \times 90,1}{6300 \times 1,0 \times 0,1} \times \Delta A_{D\text{-pieno rūgštis}} \quad [\text{g/L}]$$

L-pieno rūgščiai nustatyti naudota tokia formulė:

$$c = \frac{2,26 \times 90,1}{6300 \times 1,0 \times 0,1} \times 0,3232 \times \Delta A_{D\text{-pieno rūgštis}} \text{ [g/L]}$$

Jeigu mėginys buvo praskiestas, rezultatą reikia padauginti iš praskiedimo koeficiento F.

2.3.3. Kepinių kokybės vertinimas

2.3.3.1. Cheminiai fiziniai metodai

Duonos minkštimo rūgštingumo nustatymas

Minkštimo titruojamasis rūgštingumas nustatytas pagal LST 1990:2007. Duonos rūgštingumas išreiškiamas laipsniais, t.y. 1 N šarmų tirpalo ml skaičiumi, reikalingu nutitruoti rūgštis, esančias 100 g minkštimo (Neimano laipsniais). Rūgštingumui nustatyti imama 25 g duonos minkštimo mėginys, jis susmulkinamas ir suberiamas į 250 ml talpos kūginę kolbą. Supilta dalis vandens (100 ml) ir mėginys ištrintas iki vienalytės masės. Supilamas visas likęs vandens kiekis, skystis filtruojamas. Imami du tiriamieji mėginiai po 50 ml ir titruojama 0,1 N NaOH tirpalu, naudojant indikatorių fenolftaleiną. Duonos rūgštingumas apskaičiuojamas pagal formulę:

$$x = \frac{25 \times 50 \times 4 \times V \times 0,1}{250}$$

čia: V – 0,1 N NaOH ml skaičius, sunaudotas titravimui; 0,1 – pervedimo koeficientas iš 0,1 N į 1 N NaOH; 4 – koeficientas pervedimui į 100 g duonos; 25 – paimta duonos masė, g; 250 – praskiedimui panaudotas vandens kiekis, ml; 50 – paimtas titravimui ištraukos kiekis, ml.

Kepinio savitojo tūrio nustatymas

Tikslus duonos tūris apskaičiuotas pagal AACC metodą 10-05.01(AACC, 2000) ir nustatytas pagal išstumtą tiriamo objekto (kepinio) biraus užpildo tūrį, dalijant duonos tūrį (cm³) iš jo masės (g). Užpildui naudojamos soros. Kepalo apimtis buvo išmatuota pagal sorų tūrio pasikeitimą po svėrimo. Kepalai buvo sudedami į žinomo tūrio indą, į kurį buvo pilami sorai, kol indas užpildomas. Pakeistų kepalų sėklų tūris buvo laikomas kepalų tūriu.

Duonos minkštimo akytumo nustatymas

Minkštimo akytumas buvo nustatytas pagal AACC metodą 10.05 (AACC, 2003), kaip minkštimo porų santykis su visos duonos minkštimo tūriu, išreikškus %. Metodo esmė yra tokia, kad kiekvienos miltų rūšies duonos beporė masė turi beveik pastovų santykinį tankį. Naudotas „Žuravliovo“ cilindras, kuriuo išpjauta 27 cm³ išpjova. Nustatant lubinų duonos minkštimo akytumą, išpjaujami 3 mėginiai ir pasveriami. Duonos akytumas (%) apskaičiuojamas pagal formulę:

$$\text{Minkštimo akytumas, \%} = \frac{V - \frac{m}{p}}{V} \times \frac{100}{p}$$

čia: V – bendras išpjovų tūris, 54 cm³, G – bendras išpjovų svoris, g, d – beporinio minkštimo santykinis tankis, kuris priimamas: kvietinei duonai – 1,31

Duonos tekstūros analizė

Duonos tekstūros savybės įvertintos naudojant *Texture Analyser TA.XT2* (Stable Micro Systems Ltd, JK). Analizatoriaus darbinis kūnas – 20 mm diametro aliuminis cilindras. Matavimo metu darbinio kūno ir tešlos sąlyčio plotas – 3,14 mm². Analizė buvo atlikta naudojant cilindrinis duonos mėginius (skersmuo - 2 cm, aukštis – 3 cm). Įmontuotas „TPA Projektas“ buvo įkrautas ir panaudotas matavimams atlikti pagal šiuos nustatymus: prieš sąlytį darbinio kūno greitis: 1 mm/s, greitis po sąlyčio: 5 mm/s, šie nustatymai buvo apskaičiuoti ir naudojami tiriant: kietumą, lipnumą, kramtomumą, gebėjimą atsistatyti.

Kepinio spalvų koordinatčių nustatymas

Spalvos koordinatės vienodo kontrasto spalvų erdvėje buvo išmatuotos spalvų matuokliu CromaMeter CR-400 (Conica Minolta, Japan). Šviesos atspindžio režime buvo išmatuoti parametrai L*, a* ir b* (atitinkamai šviesumas, raudonumo ir geltonumo koordinatės pagal CIEL*a*b* skalę) ir apskaičiuotas spalvos grynumas ($C=(a^2+b^2)^{1/2}$) bei spalvos tonas ($h^\circ = \arctan(b^*/a^*)$). Dydžiai L*, C, a* ir b* matuojami NBS vienetais, spalvos tonas h^o – laipsniais nuo 0 iki 360 °. NBS vienetas – tai JAV nacionalinio standartų biuro vienetas ir atitinka vieną spalvų skiriamosios gelios slenkstį. Pieš kiekvieną matavimų seriją prietaisas buvo kalibruojamas su baltos spalvos standartu, kurio spalvos koordinatės XYZ spalvų erdvėje X =

81,3; Y = 86,2; Z = 92,7. Duomenys pateikti kaip dviejų matavimų vidurkiai. Spalvų koordinatės apdorotos programa Universal Software V.4-10. L* vertė nurodo baltos ir juodos spalvos santykį, kepinio šviesumą, ryškumą. Kuo didesnė ši reikšmė, tuo kepinys šviesesnis. a* vertė – parodo raudonos ir žalios spalvos santykį, b* vertė – atspindi geltonos ir mėlynos spalvos santykį.

2.3.3.2. Juslinis vertinimas

Juslinė duonos analizė buvo atlikta pagal ISO 6658 metodą (ISO 6658, 2005). 10 žmonių vertintojų grupė, sudaryta iš KTU Maisto produktų technologijos katedros studentų, kurių amžius buvo nuo 20 iki 25 metų įvertino duonos trupinių spalvos, kvapo, skonio ir rūgštingumo intensyvumą, kiekvienai juslinei savybei naudodami 7 taškų linijos skalę nuo 7 (labai stiprus) iki 1 (labai nežymus). Duonos mėginių pripažinimas buvo įvertintas naudojant 7 taškų hedoninę skalę (1 = labai nepatiko, 7 = labai patiko). Juslinio vertinimo metu vertintojams buvo nurodyta gerti vandenį ar skalauti burną, siekiant po kiekvieno vertinimo išplauti gomurį.

2.3.3.3. Veido emocijų analizė FaceReader programa

Veido išraiškų fiksavimas valgant duoną ir jų analizavimas atliktas naudojant FaceReader 5 programą (Noldus Information Technology, Wageningen, Olandija). FaceReader yra veido išraiškų analizės programinė įranga, kuri anksčiau tyrimuose buvo naudojama maisto produktų analizei [85]. Ši programa automatiškai analizuoja 7 pagrindines vertintojo veido išraiškas (neutralus, laimingas, liūdnas, piktas, pasišlykštėjęs, išsigandęs, nustebeš), skalėje nuo 0 iki 1 išreiškiant emocijos intensyvumą. Tyrime dalyvavo 10 žmonių vertintojų grupė, sudaryta iš KTU Maisto mokslo ir technologijos katedros studentų, kurių amžius buvo nuo 20 iki 25 metų. Emociniam vertinimui kepiniai buvo supjaustyti 1 cm storio bei 5 cm dydžio gabaliukais. Kepiniai buvo sudėti į plastikines lėkštes ir koduoti vieno, dviejų skaitmenų bei raidžių kodais.

Prieš kompiuterį su Face Reader 5 programa, sėdinčių dalyvių buvo paprašyta paragauti pristatomos duonos mėginio (10 g) ir šiek tiek pagalvoti apie pirmąjį įspūdį ir bevalgant žiūrėti tiesiai į kamerą. Visa degustacija buvo nufilmuota naudojant *Microsoft LifeCam Studio* kamerą, pritvirtintą prie nešiojamojo kompiuterio bei nukreiptą į dalyvius. Įrašai, kurių skiriamoji geba 640×480 bei 25 kadrai per sekundę buvo išsaugoti AVI formatu ir išanalizuoti kadras po kadro, naudojant Face Reader 5 programinę įrangą (Noldus Information Technology, Wageningen, Olandija). Didelis dėmesys buvo skirtas tiriamojo žmogaus veido apšvietimui, nes tai yra labai

svarbus veiksnys tinkamam programos veikimui. Įrašai buvo išsaugomi ir analizuojami naudojant programą Repeat Measures ANOVA, kiekvieno vertintojo veido emocijų intensyvumą procentaliai paskirstant minėtoms emocijų kategorijoms nuo 0 (visiškai neišreikšta) iki 1 (maksimaliai išreikšta pagal naudojamą modelį).

2.4. Matematinė statistinė duomenų analizė

Matematinė statistinė tyrimo duomenų analizė atlikta, naudojant MS Excel programinį paketą ir statistikos programą Windows (SPSS Ver. 16.0). Reikšmės, duomenų analizės metu buvo laikomos $P < 0,05$.

Vykdamas duonos tyrimų analizę bei L(+) ir D(-) izomerų koncentracijos PR gamybos analizę, standartinių nuokrypių vertės apskaičiuotos, naudojant MS Excel programą.

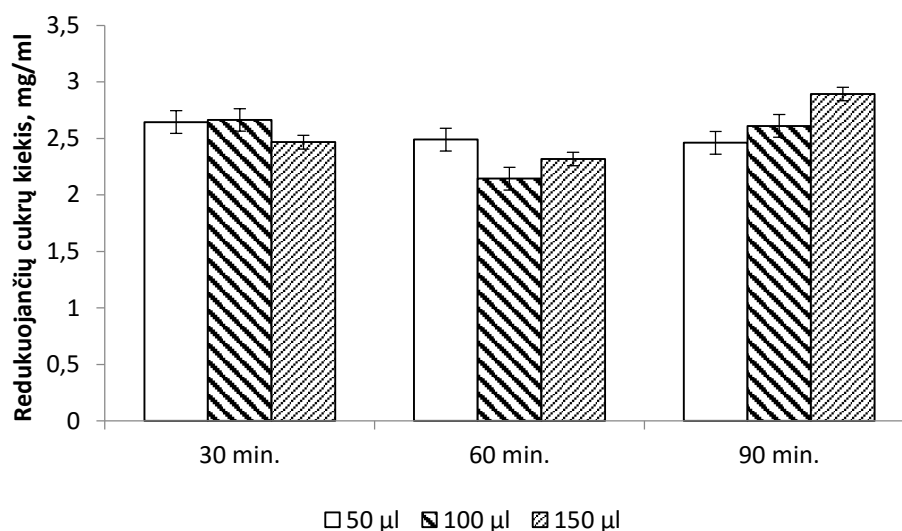
3. TYRIMŲ REZULTATAI IR JŲ ANALIZĖ

3.1. Fermentinių preparatų priedų įtaka lubinų skaidulinėmis medžiagomis turtingų frakcijų apcukrinimui

Pastaruoju metu vis didesnis dėmesys skiriamas racionaliam skaidulinių medžiagų panaudojimui. Jos dažniausiai susidaro augalinių produktų perdirbimo metu. Vystant ankštinių javų grūdų ir lubinų sėklų frakcionavimo technologijas, stengiamasi atskirti baltymais turtingus malimo produktus. Likusios frakcijos (po baltymų atskyrimo frakcijose), kaip susidariusi biomasė, dažniausiai nukreipiama pašarų gamybai ar lieka nepanaudota. Vystant beatliekines augalinių produktų gamybos technologijas, pirmumas suteikiamas maistinių išteklių didinimui ir jų panaudojimui maisto gamybai. Daugiausiai patirties sukaupta taikant skaidulines medžiagas kepinų gamybos technologijose. Pridėjus skaidulinių medžiagų į duonos tešlą, dažniausiai kyla įvairių technologinių problemų: tešloje lieka nepakankamai baltymų glitimo karkasui susiformuoti, sumažėja dujų sulaikymo pajėgumas ir suardoma duonos minkštimo struktūra. Neigiama skaidulinių produktų įtaka duonos gamybos procesui priklauso nuo jų rūšies. Todėl būtina parinkti efektyvias technologines priemones kepinio kokybei ir priimtimumo vartotojams pagerinimui. Dažniausiai taikomas papildomas skaidulinių medžiagų apdorojimas, sauso glitimo ar fermentų priedais. Plečiant skaidulinių medžiagų panaudojimą maisto gamyboje, aktualu būtų įvertinti ksilanaziniu aktyvumu pasižyminčiu fermentinių preparatų panaudojimo galimybes lubinų produktų apcukrinimui. Esant lubinų frakcijų sudėtyje krakmolo kartu su ksilanaziniais preparatais gali būti išbandytas kepinų kokybės pagerinimui ir amilaziniu aktyvumu pasižymintys fermentiniai preparatai.

Šiame darbe išbandyti skirtingi fermentiniai preparatai (Alphastar ir Celustar) ir jų mišiniai, tiriant jų įtaką lubinų frakcijų praturtintų skaidulinėmis medžiagomis sucukrinimo procesui.

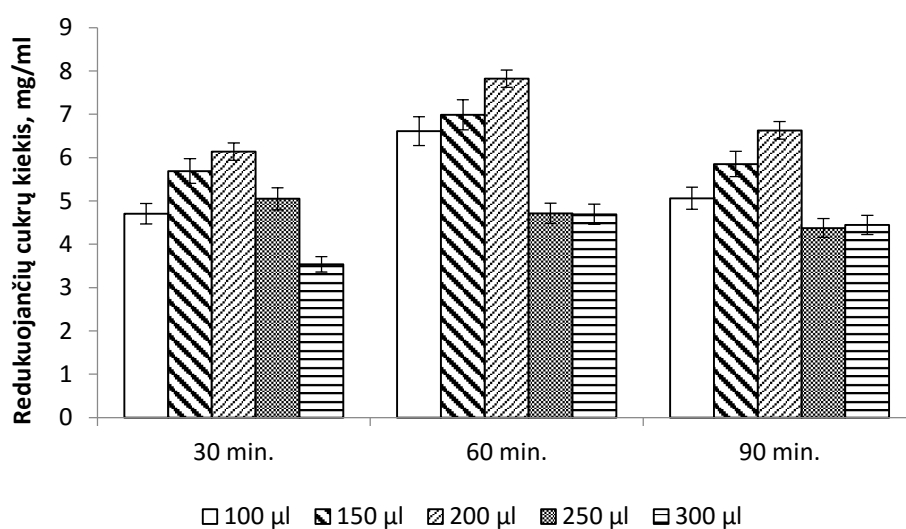
Alphastar fermentinio preparato poveikis, naudojant įvairius jo kiekius (50 µl; 100 µl; 150 µl), lubinų skaidulinėmis medžiagomis praturtintų frakcijų apcukrinimui (trukmė 30 min., 60 min. ir 90 min.) pateiktas 3.1 pav.



3.1 pav. AlphaStar fermentinio preparato, naudojant įvairius α -amilazės aktyvumus (50 μ l; 100 μ l; 150 μ l), įtaka redukuojančių sacharidų susidarymui laike 30; 60 ir 90 min. LSMF apdorojimo metu. Pastaba: AlphaStar fermentinis preparatas skiestas (1:5).

Iš gautų rezultatų matyti, kad statistiškai reikšmingas redukuojančių sacharidų padidėjimas nustatytas tik po 90 min. trukusio fermentinio lubinų produktų apdorojimo, naudojant 150 μ l Alphastar (skiedimas 1:5).

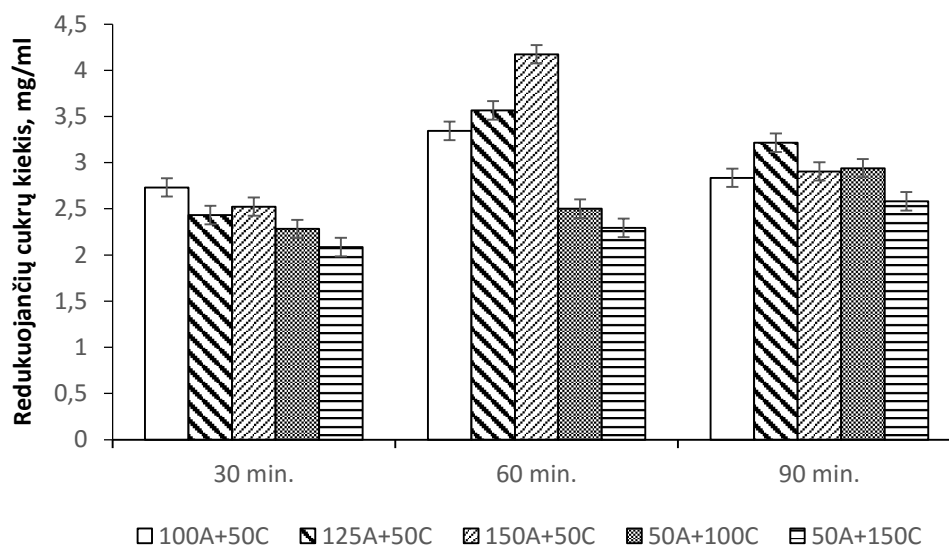
Celustar fermentiniu preparatu skirtingais kiekiais (100 μ l; 150 μ l; 200 μ l; 250 μ l; 300 μ l) veiktos LSMF laike 30; 60 ir 90 min. pateiktos (3.2 pav.).



3.2 pav. Celustar fermentinio preparato, naudojant įvairius ksilanazės aktyvumus (100 μ l; 150 μ l; 200 μ l, 250 μ l ir 300 μ l), įtaka redukuojančių sacharidų susidarymui laike 30; 60 ir 90 min. LSMF apdorojimo metu. Pastaba : Celustar fermentinis preparatas skiestas (1:5)

Nustatyta, kad apdorojant lubinus Celustar fermentiniu preparatu, daugiausiai redukuojančių sacharidų susidarė po 60 min. trukusio apdorojimo, naudojant skaidulinių medžiagų skaidymui 200 μ l šio preparato (skiedimas 1:5).

Tolesnio eksperimento metu lubinų produktų apcukrinimui laike 30; 60 ir 90 min. naudotos skirtingų fermentinių preparatų kombinacijos: (i) įvairūs Alphastar fermentinio preparato kiekiai (100; 125 ir 150 μ l) kombinacijoje su pastoviu Celustar preparato kiekiu (50 μ l) ir (ii) pastovus Alphastar fermentinio preparato kiekis (50 μ l), keičiant Celustar fermentinio preparato aktyvumus (100 ir 150 μ l).



3.3 pav. Alphastar ir Celustar fermentinių preparatų mišinių, naudojant įvairius α -amilazės ir ksilanazės aktyvumus (100A+50C μ l; 125A+50C μ l; 150A+50C μ l, 50A+100C μ l ir 50A+150C μ l), įtaka redukuojančių sacharidų susidarymui laike 30; 60 ir 90 min. LSMF apdorojimo metu.

Iš tyrimų rezultatų, pateiktų (3.3 pav.), matyti, kad efektyviau vyksta polisacharidų skaidymas, panaudojus lubinų apdorojimui Alphastar preparatą kombinacijoje su Celustar, pasiekiant reikšmingai didesnę redukuojančių medžiagų susidarymą po 60 min. (4,3 mg/ml) nei vien tik naudojant amilazinį preparatą (3.1 pav.). Tęsiant hidrolizės procesą nuo 60 min. iki 90 min. (3.2 ir 3.3 pav.), daugumoje mėginių stebimas redukuojančių medžiagų sumažėjimas. Manoma, kad tai gali būti susiję su pašalinės mikrofloros lubinų produktuose veikla, konvertuojant redukuojančius sacharidus į metabolizmo produktus.

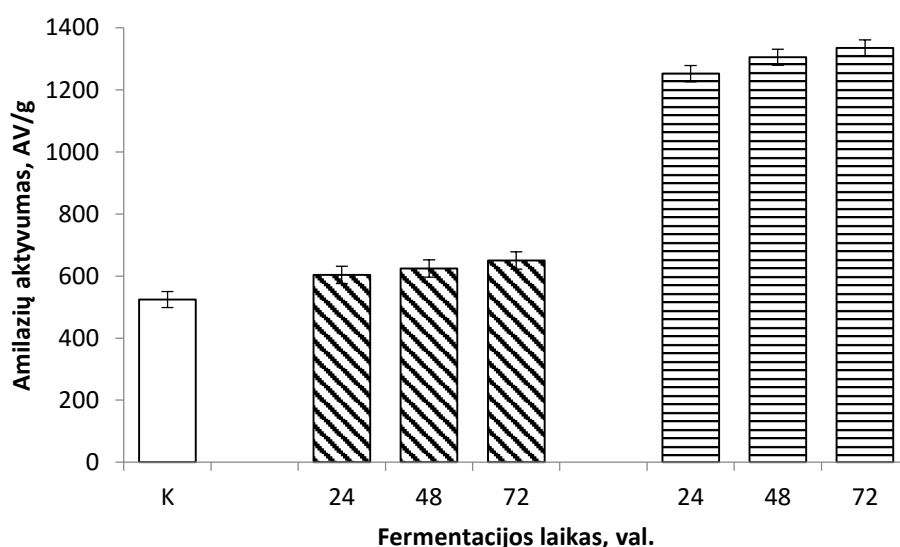
Tolesnio eksperimento metu naudoti atskirų fermentinių preparatų kiekiai (Alphastar – 150 μ l ir Celustar – 200 μ l), kurie sąlygojo didžiausią redukuojančių sacharidų susidarymą.

3.2. Fermentinių aktyvumų pokyčiai perdirbant lubinų skaidulines medžiagas KF sąlygose

Literatūroje aprašyti tyrimų rezultatai apie pieno rūgšties bakterijų fermentinius aktyvumus [86]. Jiems įtakos daugiausiai turi fermentacijos terpė, o taip pat kiti faktoriai, pvz., fermentacijos terpės drėgnis. Įvertinant tai, šiame darbe papildomai atlikti fermentinių aktyvumų tyrimai, taikant vien tik lubinų produktų PRB fermentaciją ir PRB fermentaciją kombinuojant su papildomu lubinų apdorojimu fermentiniais preparatais. Kontrole naudoti lubinų produktai be fermentacijos.

3.2.1. Amilazių aktyvumai

Amilazių aktyvumai vertinti nefermentuotoje lubinų žaliavoje, PRB fermentacijos metu dviem atvejais: (i) be žaliavos fermentinės hidrolizės ir (ii) apdorojus lubinus amilaziniu Alphastar preparatu (3.4 pav.).



3.4 pav. α -amilazių aktyvumai, - žaliaviniuose lubinų miltuose (K); - lubinų miltuose PRB fermentacijos metu (po 24; 48 ir 72 val.), naudojant *Pediococcus Acidilactici* (KTU05-7) ir - lubinų miltuose taikant fermentinį lubinų apdorojimą Alphastar fermentiniu preparatu su po to sekančia PRB fermentacija (*Pa* - *Pediococcus Acidilactici* (KTU05-7)).

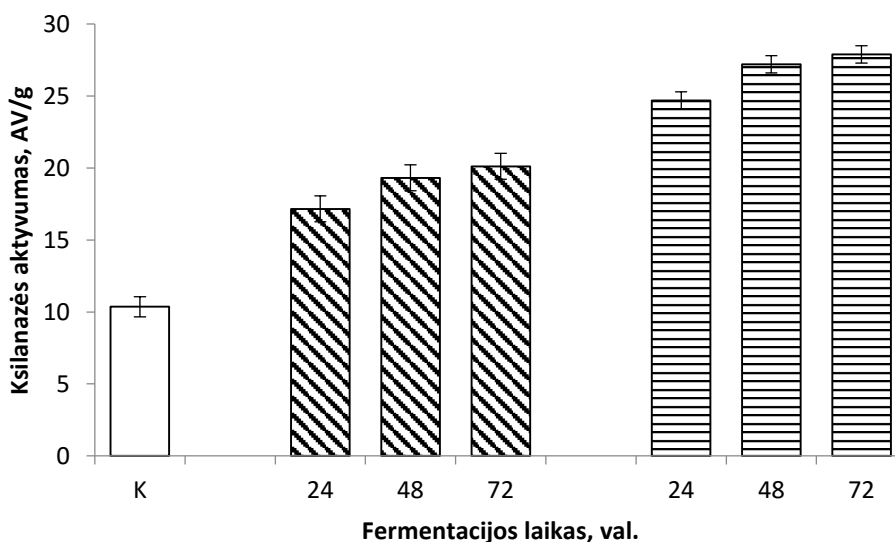
Nustatyta, kad naudotos PRB pasižymi amilaziniu aktyvumu ir statistiškai reikšmingas šio fermentinio aktyvumo padidėjimas (15 %), lyginant su kontrole, stebimas jau po 24 h. Lyginant amilazinio aktyvumo pokyčius PRB fermentacijos metu, nustatyta amilazinio aktyvumo

didėjimo tendencija ir po 72 val. fermentacijos šio parametro vertės buvo 7,7 % didesnės lyginant su nustatytomis po 24 val.

Naudojant fermentinį preparatą žaliavinių lubinų apdorojimui, fiksuotas jau po 24 val. fermentacijos 2,1 karto didesnis amilazinis aktyvumas, lyginant su žaliava be fermentinio apdorojimo. Tolesnės fermentacijos metu (po 48 val.) amilazinis aktyvumas didėjo (4,2 %), tačiau jis statistiškai reikšmingai nepakito galinės fermentacijos stadijos metu (laike 48 - 72 val.).

3.2.2. Ksilanazių aktyvumai

Ksilanazių aktyvumai vertinti analogiškai kaip ir amilazių žaliaviniuose lubinuose, o taip pat PRB fermentacijos metu (po 24; 48 ir 72 val.), naudojant ir nenaudojant žaliavų apdorojimą fermentiniu preparatu (3.5 pav.).



3.5 pav. Ksilanazės aktyvumai: - žaliaviniuose lubinų miltuose (K); - lubinų miltuose PRB fermentacijos metu (po 24; 48 ir 72 val.), naudojant *Pediococcus acidilactici* (KTU05-7) ir - lubinų miltuose, taikant fermentinį jų apdorojimą Celustar fermentiniu preparatu su po to sekančia PRB (*Pa* - *Pediococcus acidilactici* (KTU05-7)).

PRB fermentacijos metu, lyginant su žaliaviniais lubiniais (K), buvo stebimas jau po 24 val. reikšmingas ksilanazinio aktyvumo padidėjimas (65,6 %). Tolesnės fermentacijos metu fiksuotas statistiškai reikšmingas ksilanazinio aktyvumo didėjimas, lyginant su šio parametro vertėmis pradiniam fermentacijos etape (po 24 val.), tiek po 48 val. (12,5 %), tiek ir po 72 val. (17,2 %).

Naudojant fermentinį žaliavos apdorojimą, fiksuotas vidutiniškai 40,9 % didesnis ksilanazinio aktyvumo padidėjimas nei mėginiuose, nenaudojant ksilanaziniu aktyvumu pasižymintio fermentinio preparato priedų. Laike fermentacijos (po 48 val.) mėginiuose, apdorotuose fermentiniu preparatu, nustatytas reikšmingas ksilanazinio aktyvumo padidėjimas. Tolesnės fermentacijos metu ksilanazinis aktyvumas reikšmingai nepadidėjo.

Literatūroje siūlomi įvairūs fermentiniai preparatai ir jų kompozicijos fermentacinių procesų intensyvinimui ir gatavų maisto produktų kokybės gerinimui [87]. Tačiau daugumoje atvejų, esant padidintam fermentų aktyvumui, pvz., kvietinės duonos gamyboje, kyla įvairių technologinių problemų: blogėja tešlos reologinės savybės, mažėja duonos tūris, minkštimo aktyvumas ir elastingumas, todėl blogėja kepinio priimtumas vartotojams. Šią neigiamą padidinto fermentų aktyvumo įtaką mokslininkai aiškina tuo, kad pridėjus fermentų priedų tešloje gali būti suhidrolizinami pagrindiniai jos sudėtiniai komponentai (baltymai, krakmolas, nekrakmolo polisacharidai), padidėjant tirpios frakcijos kiekiui, todėl sumažėja dujų sulaikymo pajėgumas ir suardoma duonos minkštimo struktūra. Literatūroje siūlomi įvairūs fermentinio aktyvumo reguliavimo būdai, mažinantys padidinto jų aktyvumo įtaką galutinio produkto kokybei. Be fermentinio aktyvumo parinkimo vienam ar kitam technologiniam procesui, fermentacinių procesų valdymui taikomi fermentų inhibitoriai. Pastaruoju metu literatūroje vis plačiau nagrinėjama ultragarsinio poveikio įtaka fermentacinių procesų efektyvumo didinimui. Nustatyta, kad naudojant žemo dažnio (20 kHz) kavitaciją, fiksuojamas fermentinių aktyvumų didėjimas [88].

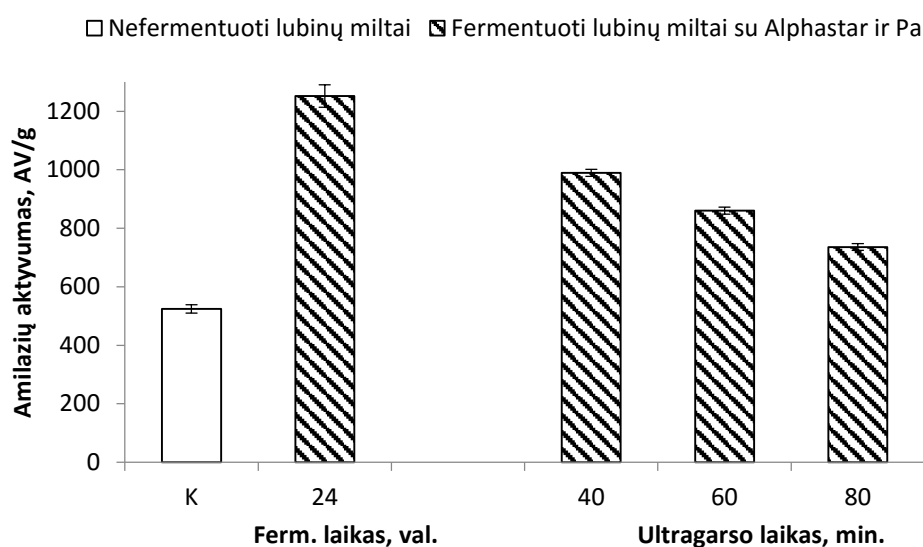
Šio eksperimento metu bus tiriama ultragarsinio poveikio įtaka fermentiniams (amilazių ir ksilanazių) aktyvumams, naudojant PRB fermentaciniame procese didesnę ultragarsinį poveikį (37 kHz).

3.3. Ultragarso įtaka fermentiniams aktyvumams vykdant PRB fermentaciją skirtingose sąlygose

Šiame darbo etape vertinta ultragarsinio poveikio (37 kHz) įtaka fermentiniams aktyvumams (amilazių ir ksilanazių), vykdant PRB fermentaciją įvairiose sąlygose: (i) KF – terpės drėgnis 45 % ir tradicinės fermentacijos sąlygose (65 % drėgnio). Abiem atvejais fermentacijai naudota ta pati PRB (*P. acidilactici* KTU05-7).

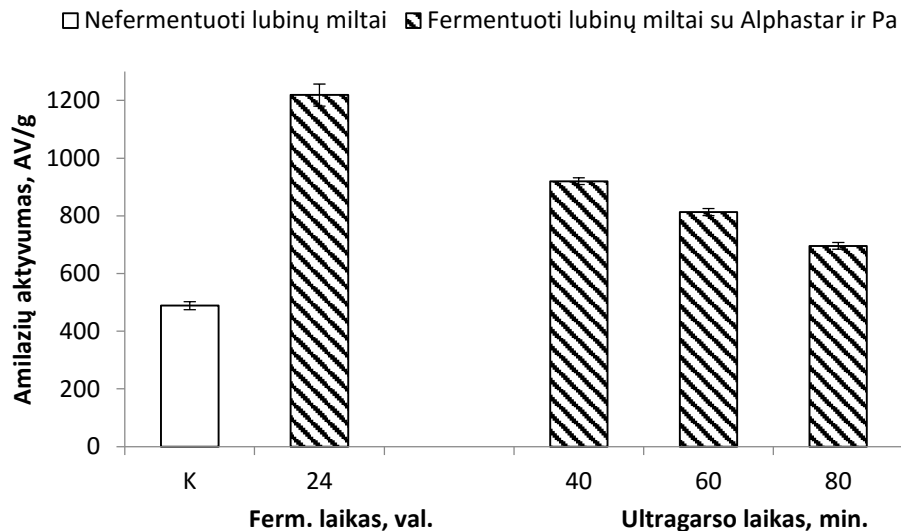
3.3.1. Amilazių aktyvumai

P. acidilactici KTU05-7 fermentuotuose laike 24 val. lubinų miltuose KF sąlygose nustatytas, lyginant su kontrole (lubinų miltuose be apdoravimo fermentais ir PRB fermentacijos), 2,4 kartų didesnis amilazių aktyvumas (3.6 pav.). Po 40 min. trukusio fermentuoto mėginio apdoravimo ultragarsu nustatytas, lyginant su fermentuotu mėginiu be ultragarsinio poveikio vidutiniškai 21 % amilazių aktyvumo sumažėjimas. Ilginant fermentuoto mėginio ultragarsinio apdoravimo trukmę (nuo 40 min. iki 80 min.), buvo fiksuojamas vienareikšmiai visais laiko tarpais amilazių aktyvumo mažėjimas (nuo 989,2 iki 736,1 AV/g).



3.6 pav. Ultragarsinio poveikio (37 KHz) trukmės (40, 60, 80 min.) įtaka α -amilazių aktyvumui PRB fermentuotuose laike 24 val. KF sąlygose (45 % drėgnis) lubinų miltuose, paveiktuose prieš fermentaciją Alphastar preparatu, 150 μ l (skiedimas 1:5), trukmė – 30 min., - 1 val. 37 °C temperatūroje).

Vykdamas lubinų miltų, paveiktų Alphastar preparatu, PRB fermentaciją tradicinėse sąlygose (65 % drėgnio), nustatytas 2,5 karto didesnis amilazinis aktyvumas nei lubinų miltuose be bioapdoravimo (3.7 pav.). Ultragarsinis fermentuotų miltų apdoravimas mažina amilazinį aktyvumą ir didžiausias šio parametro verčių pokytis (24,5 %) nustatytas po 40 min. Ilginant bioapdorotų lubinų ultragarsinio apdoravimo trukmę nuo 40 min. iki 60 min. ir nuo 60 iki 80 min., amilazių aktyvumas sumažėjo, atitinkamai 11,6 % ir 14,3 %.

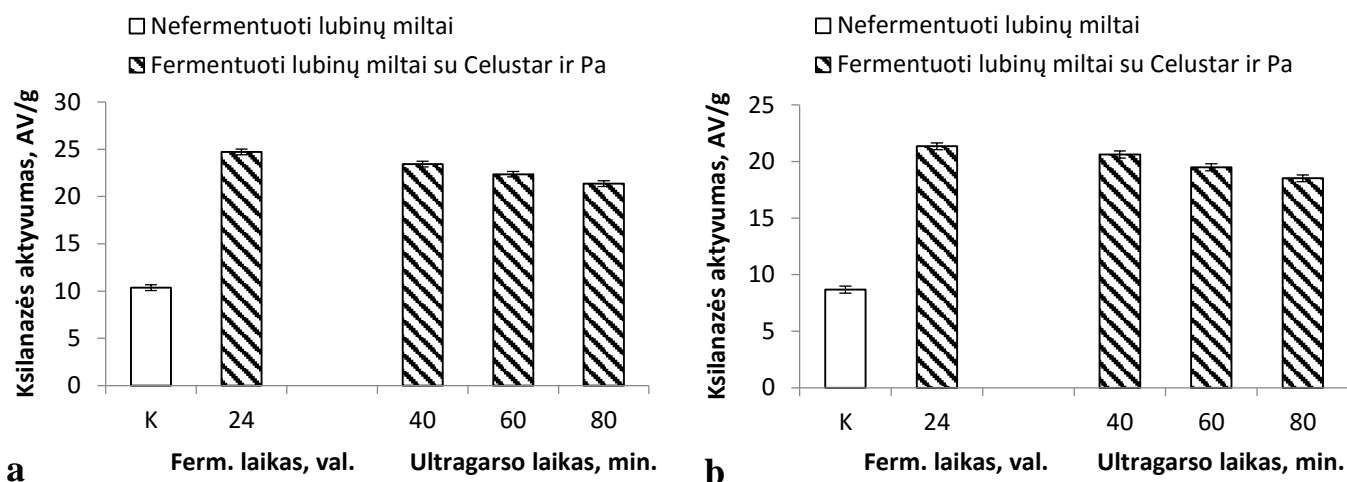


3.7 pav. Ultragarsinio poveikio (37 KHz) trukmės (40, 60, 80 min.) įtaka α -amilazių aktyvumui PRB fermentuotuose laike 24 val. KF sąlygose (65 % drėgnis) lubinų miltuose, paveiktuose prieš fermentaciją Alphastar preparatu, 150 μ l (skiedimas 1:5), trukmė – 30 min., - 1 val. 37 °C temperatūroje).

Lyginant fermentacijos sąlygų (KF ir tradicinės) įtaką ultragarsinio poveikio efektyvumui, nustatyta, kad didesnis amilazių aktyvumo sumažėjimas apdorojant ultragarsu (vidutiniškai 2,4 %) buvo fiksuojamas didesnio terpės drėgno atveju (65 %) nei KF (45 %).

3.3.2. Ksilanazių aktyvumai

Ultragarsinio apdorojimo (37 KHz) bioapdorotiems lubinų miltams, paveiktiems prieš fermentaciją Celustar preparatu, trukmės (40, 60, 80 min.) ir po to PRB fermentuotiems laike 24 val. skirtingose sąlygose (KF - 45 % ir tradicinės fermentacijos - 65 % drėgno), įtakos ksilanazių aktyvumui tyrimų rezultatai pateikti, atitinkamai 3.8 a ir 3.8 b pav.



3.8 pav. Ksilanazės aktyvumų pokyčiai nefermentuotuose lubinų miltuose bei fermentuotuose lubinų miltuose su Celustar preparatu, 200 μ l (skiedimas 1:5), (trukmė – 30 min., - 1 val. 37 °C temperatūroje) ir po to paveiktuose 40, 60, 80 min. 37 KHz ultragarsu, a – 45 % drėgnis; b - 65 % drėgnis.

Nustatyta, kad PRB fermentacijos metu (po 24 val.) padidėja 2,3 karto ksilanazių aktyvumas bioapdorotuose KF sąlygose lubinuose ir šis parametro verčių pokytis naudojant tradicinę fermentaciją fiksuotas 2,4 karto. Ultragarso fermentuotų lubinų apdorojimas (po 40 min.) reikšmingai sumažino ksilanazių aktyvumus tiek mėginiuose, fermentuotuose KF sąlygose, tiek ir tradicinės fermentacijos, atitinkamai 5,1 % ir 3,4 %. Ultragarso trukmės (80 min.) poveikis ksilanazių aktyvumų sumažėjimui mėginiuose, ruoštuose tradicinės fermentacijos sąlygose nei KF, nustatytas atitinkamai 13,5 % (45 % drėgnis) ir 13,2 % (65 % drėgnis).

Tokiu būdu, atlikti tyrimai rodo ultragarso inhibicinį poveikį fermentiniams aktyvumams, atveriant naujas ultragarso taikymo galimybes. Be to, pažymėtina, kad šio veiksnio inhibicinis poveikis yra efektyvesnis amilazių aktyvumui nei ksilanazių. Taikant ultragarso fermentaciniuose procesuose fermentinių aktyvumų kontrolei, atkreiptinas dėmesys į fermentacijos sąlygų parinkimą.

3.4. Fermentuotų lubinų skaidulinių medžiagų produktų panaudojimo galimybės kepinų maistinės vertės padidinimui

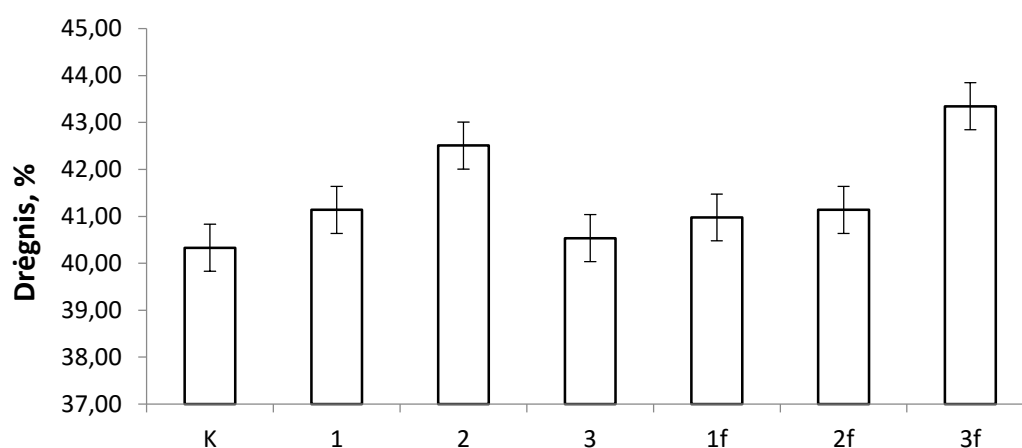
Pastaruoju metu ypatingas dėmesys atkreiptas į skaidulinių medžiagų stygių maisto racione. Lietuvos gyventojai vartoja pernelyg daug riebalų, sočiųjų riebalų rūgščių, cholesterolio, cukraus, bet nepakankamai valgo daržovių, įvairių grūdų produktų, todėl maisto davinyje per

mažai sudėtinių angliavandenių ir skaidulinių medžiagų. Šalyje skaidulinių medžiagų suvartojama vidutiniškai 14 - 19 g per parą, kai Pasaulinė sveikatos organizacija rekomenduoja 25 - 30 g. Maistinės skaidulinės medžiagos pasižymi įvairiu teigiamu fiziologiniu poveikiu: skatina žarnyno peristaltiką, absorbuoja toksinus, ligas sukeliančias bakterijas, sudaro palankią terpę žarnyno mikrofloros vystymuisi ir kt. Todėl labai svarbu padidinti maisto davinyje skaidulinių medžiagų kiekį, kuriant naujus produktus su padidintu skaidulinių medžiagų kiekiu. Kuriant naujus aukštos maistinės vertės produktus, vienas iš pagrindinių reikalavimų, kad jie taip pat pasižymėtų gera jusline kokybe (išvaizda, skoniu ir kvapu, tekstūra ir pan.) ir būtų saugūs, priešingu atveju, jie nepajėgs įsitvirtinti perpildytoje rinkoje.

Kompleksinis subalansuotos mitybos problemų sprendimas galimas, vystant naujas duonos rūšis su kasdieninius poreikius tenkinančiais skaidulinių medžiagų, mineralinių medžiagų ir vitaminų kiekiais bei jų gamybos technologijas.

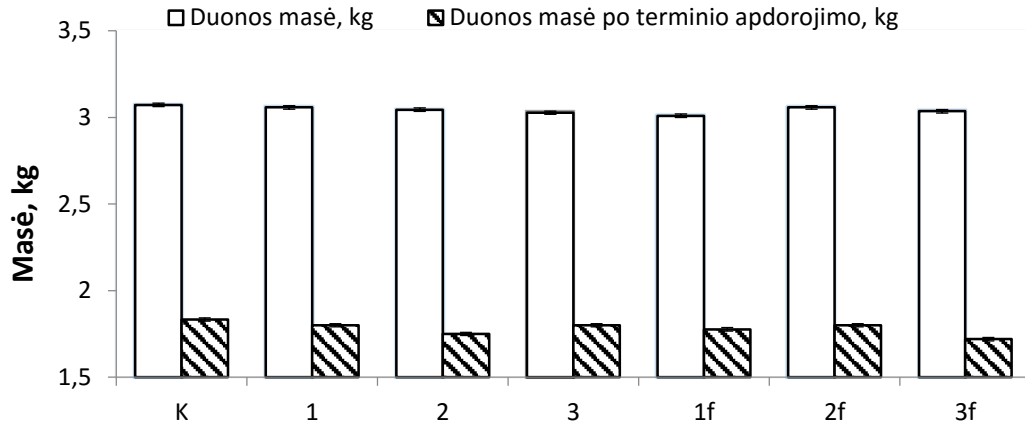
3.4.1. Fermentuotų skaidulinių medžiagų įtaka kepinių kokybės parametrams

Išbandant skaidulinėmis medžiagomis turtingas lubinų frakcijas kvietinės duonos gamyboje, aktualu įvertinti šių priedų įtaką kepinių kokybei. Tam tikslui išbandyti įvairūs nefermentuotų ir fermentuotų su skirtingomis PRB lubinų priedų kiekiais kepinių receptūrose. Apie lubinų priedų įtaką galinio produkto kokybei buvo sprendžiama pagal minkštimo drėgnį ir drėgnio pokyčius kepimo metu (3.9 ir 3.10 pav.), baltymų kiekį (3.11 pav.), kepinių rūgštingumą (3.12 pav.), kepinių tūrinę apimtį (3.13 pav.) ir minkštimo akytumą (3.14 pav.) bei minkštimo spalvą (3.15 ir 3.16 pav.)



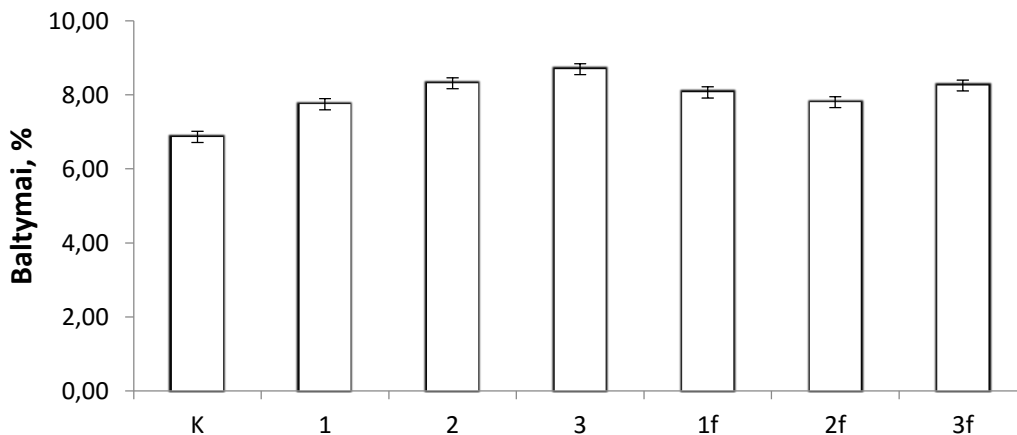
3.9 pav. Kepinių, ruoštų su fermentuotais ir nefermentuotais LSMF priedais, drėgnio kiekis, proc. (Pastaba: K – kontrolinis mėginys; 1 – su 5 % nefermentuotų lubinų; 2 – su 10 % nefermentuotų lubinų; 3 – su 15 % nefermentuotų lubinų; 1f – su 5 % fermentuotų lubinų; 2f – su 10 % fermentuotų lubinų; 3f – su 15 % fermentuotų lubinų).

Iš pateikto grafiko (3.9 pav.) matyti, kad kepinys su 15 % fermentuotų lubinų priedu, pasižymėjo didžiausiu minkštimo drėgnio kiekiu (43,3 %) ir atitinkamai 7 % drėgnio kiekis buvo didesnis lyginant su kontroliniu mėginiu.



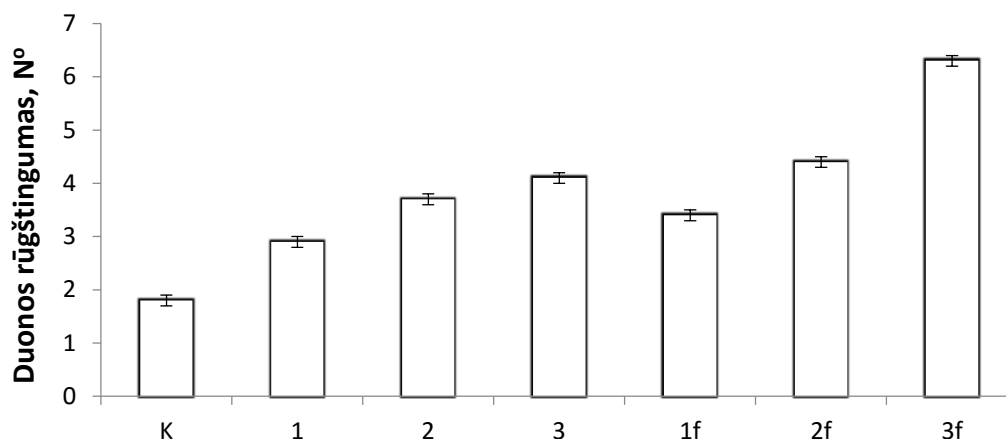
3.10 pav. Kepinių, ruoštų su fermentuotais ir nefermentuotais LSMF priedais, nukepimas. (Pastaba: K – kontrolinis mėginys; 1 – su 5 % nefermentuotų lubinų; 2 – su 10 % nefermentuotų lubinų; 3 – su 15 % nefermentuotų lubinų; 1f – su 5 % fermentuotų lubinų; 2f – su 10 % fermentuotų lubinų; 3f – su 15 % fermentuotų lubinų).

Didžiausias masės nuostolis (1,3 %) po terminio apdorojimo gautas mėginio 2 – su 10 % nefermentuotų lubinų priedu, o mažiausiu masės nuostoliu (1,2 %) pasižymėjo mėginys 1f - su 5 % fermentuotų lubinų priedu.



3.11 pav. Kepiniuose, ruoštuose su fermentuotais ir nefermentuotais LSMF priedais, baltymų kiekio tyrimų rezultatai. (Pastaba: K – kontrolinis mėginys; 1 – su 5 % nefermentuotų lubinų; 2 – su 10 % nefermentuotų lubinų; 3 – su 15 % nefermentuotų lubinų; 1f – su 5 % fermentuotų lubinų; 2f – su 10 % fermentuotų lubinų; 3f – su 15 % fermentuotų lubinų).

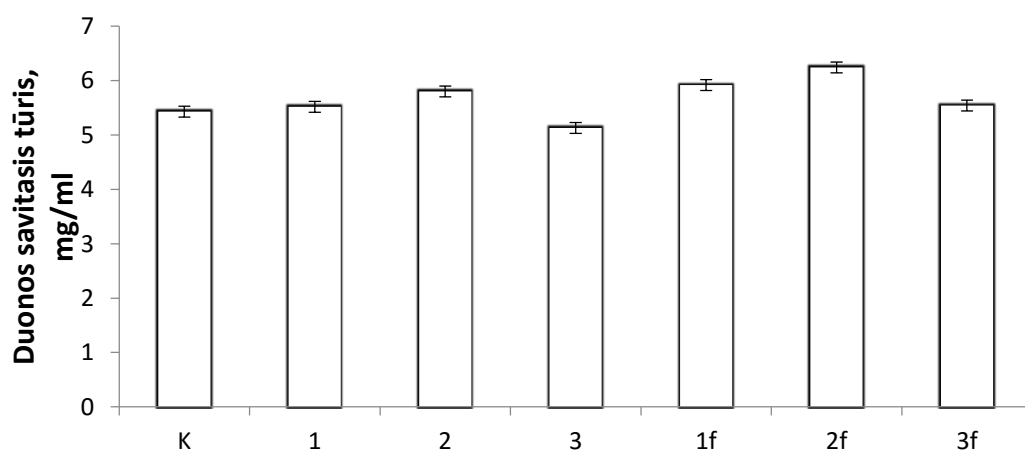
Didžiausias baltymų kiekis nustatytas mėginyje su 15 % nefermentuotų lubinų priedu (8,7 %) ir atitinkamai 21,1 % pasižymėjo didesniu baltymų kiekiu lyginant su kontroliniu mėginiu, kuris pasižymėjo mažiausiu baltymų kiekiu.



3.12 pav. Kepinių, ruošų su fermentuotais ir nefermentuotais LSMF priedais, BTR (Pastaba: K – kontrolinis mėginys; 1 – su 5 % nefermentuotų lubinų; 2 – su 10 % nefermentuotų lubinų; 3 – su 15 % nefermentuotų lubinų; 1f – su 5 % fermentuotų lubinų; 2f – su 10 % fermentuotų lubinų; 3f – su 15 % fermentuotų lubinų).

Grafike matyti (3.12 pav.), kad mažiausiu kepinų bendru titruojamu rūgštingumu (BTR) pasižymėjo kontrolinis mėginys (1,8 °N), o didžiausiu BTR pasižymėjo duonos mėginiai 3 (4,1 °N) ir 3f (6,3 °N), kurie atitinkamai buvo ruošti su 15% nefermentuotų lubinų ir su 15 % fermentuotų lubinų priedu ir pasižymėjo, atitinkamai 56 % ir 71 % didesniu duonos rūgštingumu lyginant su kontroliniu kepinu.

Kepinių tūrinė apimtis pavaizduota 3.13 paveiksle.

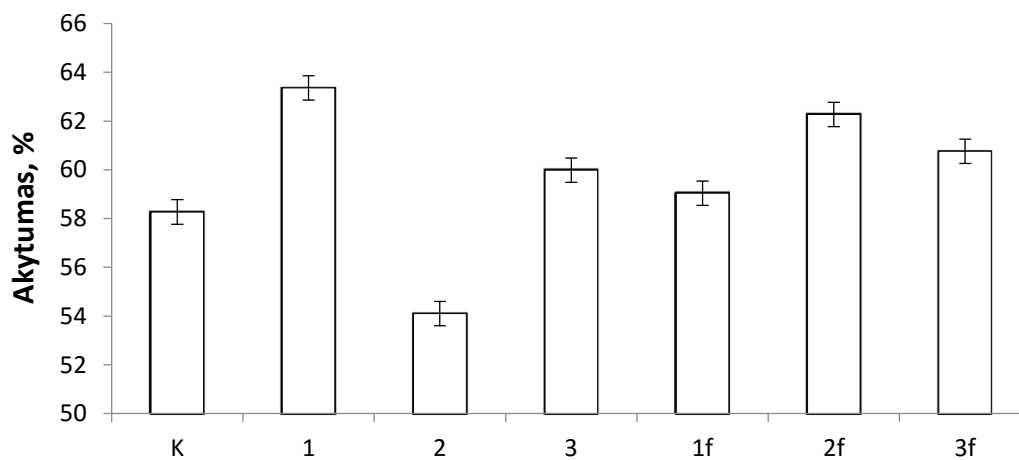


3.13 pav. Kepinių, ruošų su fermentuotais ir nefermentuotais LSMF priedais, savitasis tūris ($\text{cm}^3 \text{g}^{-1}$). (Pastaba: K – kontrolinis mėginys; 1 – su 5 % nefermentuotų lubinų; 2 – su 10 % nefermentuotų lubinų; 3 – su 15 % nefermentuotų lubinų; 1f – su 5 % fermentuotų lubinų; 2f – su 10 % fermentuotų lubinų; 3f – su 15 % fermentuotų lubinų).

Tiriamieji mėginiai 1 (su 5 % nefermentuotų lubinų), 2 (su 10 % nefermentuotų lubinų), 1f (su 5 % fermentuotų lubinų), 2f (su 10 % fermentuotų lubinų), 3f (su 15 % fermentuotų lubinų) gauti didesnio savitojo tūrio nei kontrolinis mėginys (K). Duonos mėginys 2f su 10 % fermentuotų lubinų pasižymėjo didžiausiu duonos savituoju tūriu lyginant su visais kitais mėginiais ir lyginant su kontroliniu mėginiu buvo didesnis, atitinkamai 12,9 %.

Tiriamasis mėginys 3 pagamintas su 15 % nefermentuotų lubinų gautas mažiausio savitojo tūrio ir atitinkamai 5,8 % mažesnio savitojo tūrio negu kontrolinis mėginys.

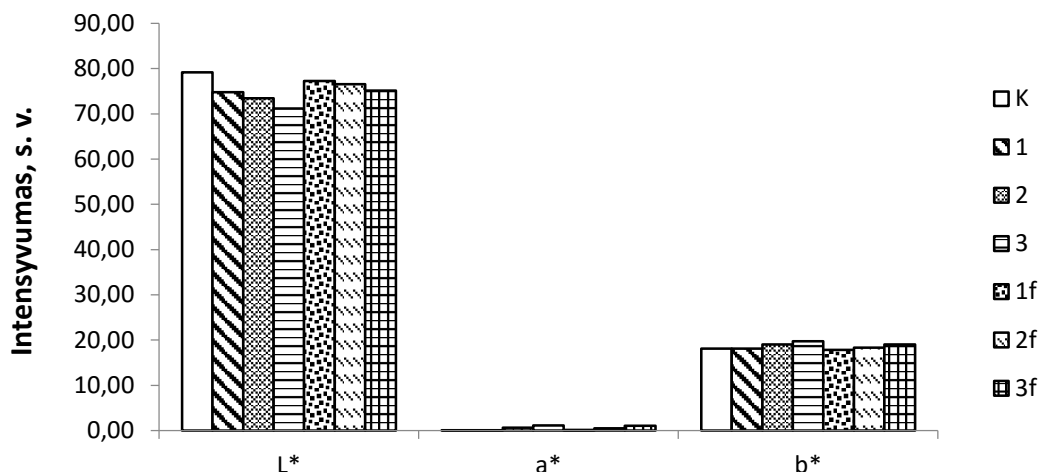
Kepinių akytumas pavaizduotas 3.14 paveiksle.



3.14 pav. Duonos, ruoštos su fermentuotais ir nefermentuotais LSMF priedais, minkštimo akytumo tyrimų rezultatai. (Pastaba: K – kontrolinis mėginys; 1 – su 5 % nefermentuotų lubinų; 2 – su 10 % nefermentuotų lubinų; 3 – su 15 % nefermentuotų lubinų; 1f – su 5 % fermentuotų lubinų; 2f – su 10 % fermentuotų lubinų; 3f – su 15 % fermentuotų lubinų).

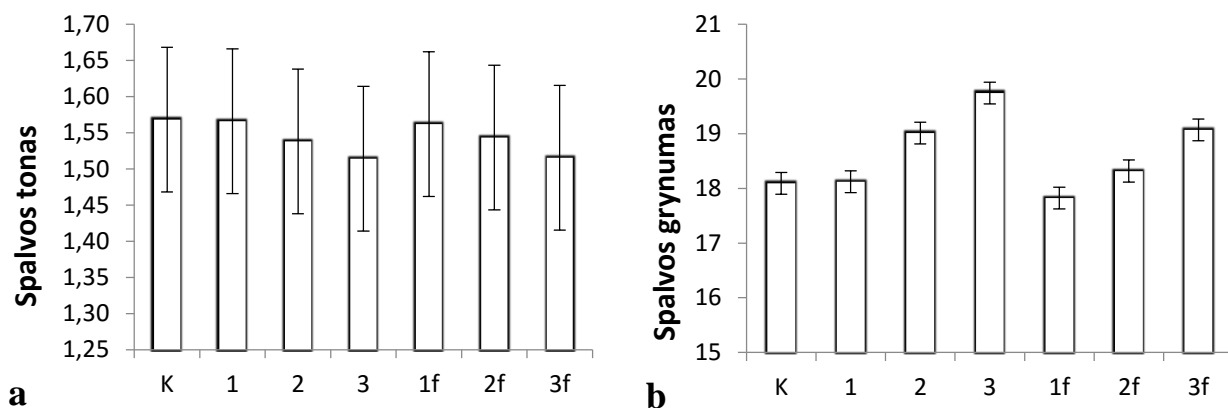
Didžiausias akytumas nustatytas mėginių 1 ir 2f (su 5 % nefermentuotų lubinų ir 10 % fermentuotų lubinų priedu), atitinkamai 63,3 % ir 62,2 % ir lyginant su kontroliniu mėginiu jie pasižymėjo, atitinkamai 8 % ir 6,4 % didesniu akytumu nei kontrolinis mėginys. Mėginys 2 (su 10 % nefermentuotų lubinų) gautas mažiausio akytumo, atitinkamai 54,1 % ir lyginant su kontroliniu mėginiu, atitinkamai 7,7 % mažesnis

Spalvos nustatymas kepinuose pavaizduotas 3.15 paveiksle.



3.15 pav. Fermentuotų ir nefermentuotų LSMF priedų įtaka duonos minkštimo spalvai. (Pastaba: K – kontrolinis mėginys; 1 – su 5 % nefermentuotų lubinų; 2 – su 10 % nefermentuotų lubinų; 3 – su 15 % nefermentuotų lubinų; 1f – su 5 % fermentuotų lubinų; 2f – su 10 % fermentuotų lubinų; 3f – su 15 % fermentuotų lubinų).

Atliekant kepinų minkštimo spalvų analizę, nustatyta, kad lubinų skaidulinių medžiagų kiekis, skirtingai įtakojo kepinų spalvą. Iš koordinatės (L*) tyrimo duomenų (3.15 pav.) matyti, kad didėjant lubinų skaidulinių medžiagų kiekiui nuo 5 % iki 15 %, minkštimo spalva tamsėjo, kintant L* koordinatės vertėms nuo 74,8 iki 71,2. Analogiškai šio parametro vertės didėjo nuo 77,2 iki 75,2 ir tiriant fermentuotų lubinų priedų įtaką kepinio minkštimo spalvai: didėjant fermentuotų lubinų priedų kiekiui (nuo 5 % iki 15 %) minkštimo spalva tamsėjo. Lyginant tarpusavyje tiriamus kepinus, ruoštus su skirtingais lubinų miltų priedais, stebėti skirtingi minkštimo spalvos savitumai, fermentuoti kepiniai (nuo 5 % iki 15 %) pasižymėjo didesnėmis (L*) koordinatės vertėmis, t.y. didesniu kepinų šviesumu negu nefermentuoti kepiniai (nuo 5 % iki 15 %). Tiriant kepinus, kurių receptūroje naudoti lubinų miltai (be bioapdoravimo) ryškesnis buvo (sprendžiant pagal b* koordinatės pokyčius) minkštimo gelsvumo intensyvumas nei kepinų, ruošų su fermentuotais lubinų priedais. Naudojant kepinų ruošimui didžiausius lubinų miltų priedus (15 % nefermentuotų ir 15 % fermentuotų miltų) buvo nustatytas didžiausias rausvumo atspalvis minkštyme, sprendžiant pagal a* koordinatę.



3.16 pav. Minkštimo spalvos tono (a) ir spalvos grynumo (b) intensyvumo pokyčiai kepinuose, ruoštuose su fermentuotais ir nefermentuotais LSMF priedais. (Pastaba: K – kontrolinis mėginys; 1 – su 5 % nefermentuotų lubinų; 2 – su 10 % nefermentuotų lubinų; 3 – su 15 % nefermentuotų lubinų; 1f – su 5 % fermentuotų lubinų; 2f – su 10 % fermentuotų lubinų; 3f – su 15 % fermentuotų lubinų).

Didžiausiu spalvos tonu (ho) pasižymėjo kontrolinis kepinys, ruoštas be lubinų miltų priedų (1,568), o mažiausiu - kepinys su 15 % nefermentuotų lubinų (1,514). Didžiausiu spalvos grynumo išsiskyrė kepinys, ruoštas su 15 % nefermentuotų lubinų priedu, o mažiausiu spalvos grynumu (C) pasižymėjo kepinys, ruoštas su 5 % nefermentuotų lubinų priedu.

Tyrimų rezultatai rodo, kad labai svarbu atlikti kvietinės duonos gamyboje lubinų skaidulinių medžiagų fermentaciją. Kvietinės duonos, ruoštos su fermentuotais lubiniais, minkštimas buvo didesnio aktyvumo nei dedant nefermentuotų lubinų priedą į tešlą. Taip pat teigiama fermentacijos proceso įtaka išryškėjo ir kepinio savitajam tūriui, o tuo pačiu tiriamieji kvietiniai kepiniai buvo praturtinti didesniais lubinų skaidulinių medžiagų kiekiais.

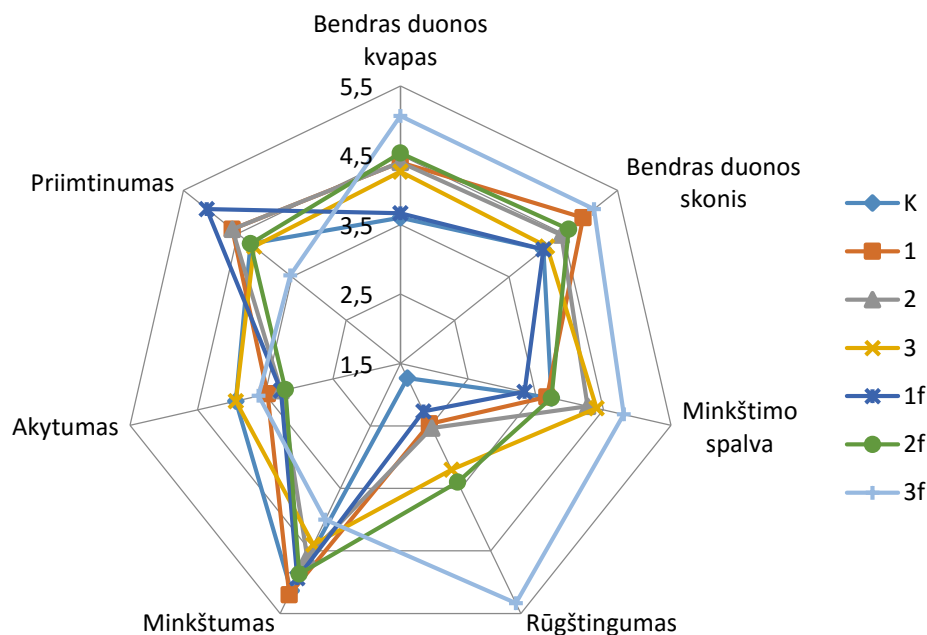
Nustatyta, kad skaidulinių medžiagų fermentacija sąlygojo didesnę organinių rūgščių susikaupimą, ypač dedant į tešlą didesnius fermentuotų lubinų kiekius (10 % ir 15 %). Nefermentuotų lubinų priedai į tešlą, taip pat turėjo teigiamą įtaką organinių rūgščių susidarymui gatavuose kepinuose. Tai galima paaiškinti tuo, kad su lubinų priedais praturtinama fermentacijos terpė ir taip intensyvinama PRB veikla ir organinių rūgščių susidarymas.

Tokiu būdu, vartojant skaidulinius medžiagomis turtingų lubinų priedų kompoziciją kvietinei duonai praturtinti, rekomenduojama taikyti fermentacijos procesą lubinų apdorojimui, o fermentuotų produktų kiekis turėtų sudaryti iki 15 % nuo miltų masės.

3.4.2. Fermentuotų skaidulinių medžiagų įtaka juslinėms charakteristikoms taikant tradicinį metodą ir FaceReader programą.

Juslinis vertinimas parodė, kad kepinų tešlos ruošimas su fermentuotais ir nefermentuotais lubiniais turėjo įtakos bendram duonos kvapui, skoniu, minkštumo spalvai ir kai kurioms tekstūros savybėms: akytumui ir minkštumui.

Sensorinės analizės nustatymas kepinuose pavaizduotas 3.17 paveiksle.

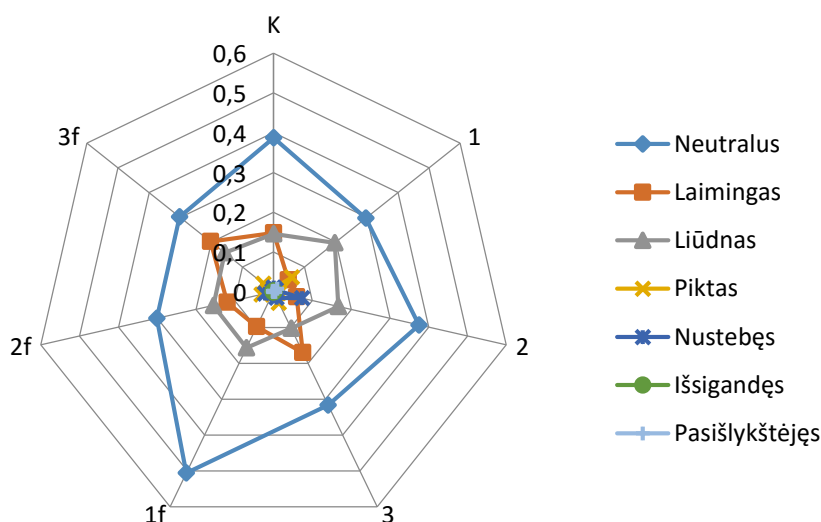


3.17 pav. Kepinių, ruošų su fermentuotais ir nefermentuotais LSMF priedais, skoninių bei vizualinių kepinų kriterijų, tyrimų rezultatai. (Pastaba: K – kontrolinis mėginys; 1 – su 5 % nefermentuotų lubinų; 2 – su 10 % nefermentuotų lubinų; 3 – su 15 % nefermentuotų lubinų; 1f – su 5 % fermentuotų lubinų; 2f – su 10 % fermentuotų lubinų; 3f – su 15 % fermentuotų lubinų).

Juslinis kviečių bei lubinų duonos įvertinimas pavaizduotas 3.17 pav. Kvietinė duona, į kurią buvo įdėta 15 % fermentuotų lubinų miltų, buvo apibūdinta kaip turinti intensyviausią spalvą, kvapą, skonį bei rūgštingumą. Didesnis pridedamų lubinų miltų kiekis bei fermentavimas buvo svarbus veiksnys, padidinantis duonos spalvos intensyvumą. Tai gali būti paaiškinama tuo, jog pridedant ankštinių augalų, sukuriama tamsesnė plutos spalva, kaip, pavyzdžiui, Maillard'o reakcijos dėl santykinai aukštesnio lizino lygio [89]. Įdėjus nefermentuotų lubinų miltų, palyginti su kontroline duona, buvo gauti panašūs skonio ir akytumo rezultatai. Kvietinė duona, į kurią įmaišyta 5 % fermentuotų lubinų miltų pasirodė kaip labiausiai priimtina.

Tradicinis juslinis ir vartojimo bandymas, kuris yra plačiai naudojamas įvairiems maisto produktams, prieš pradėdant juos pardavinėti, negali pakankamai nuspėti klientų pripažinimo bei rinkos veikimo [85]. Šių bandymų metodai yra grindžiami sąmoningu / racionalių sprendimų priėmimo procesu. Tačiau vartotojų pasirinkimus realiame gyvenime vietoje sąmoningų bei racionalių mechanizmų daugiausiai lemia nesąmoningi. Nors emocijų įvertinimas suteikia naujos informacijos, kuri gali būti nepriimtina, tačiau vis dėlto įdomu susieti emocijas ir priimtinumą.

Emocinio vertinimo nustatymas naudojant Face Reader programą pavaizduotas 3.18 paveiksle.



3.18 pav. Kepinių ruošų su fermentuotais ir nefermentuotais LSMF priedais, emocijų vertinimo rezultatai naudojant FaceReader programą. (Pastaba: K – kontrolinis mėginys; 1 – su 5 % nefermentuotų lubinų; 2 – su 10 % nefermentuotų lubinų; 3 – su 15 % nefermentuotų lubinų; 1f – su 5 % fermentuotų lubinų; 2f – su 10 % fermentuotų lubinų; 3f – su 15 % fermentuotų lubinų).

Veido išraiškų intensyvumas, kurį kiekvieno mėginio metu nustato *Face Reader* programinė įranga, yra pavaizduotas 3.18 pav. Buvo nustatyta, kad yra skirtumai tarp veido išraiškų, kylančių valgant fermentuotą duoną su 5 %, 10 %, 15 % lubiniais ir nefermentuotą duoną su 5 %, 10 %, 15 % lubiniais. Tirti duonos mėginiai skyrėsi pagal jų sukeltas emocines išraiškas „neutralus“, „laimingas“, „liūdnas“, „piktas“, „nustebeš“, „išsigandęs“ ir „pasišlykštėjęs“. Į kvietinę duoną įmaišius 5 %, 10 %, 15 % fermentuotų lubinų miltų buvo sukelta intensyvesnė teigiama veido išraiška „laimingas“ nei duona, į kurią buvo įmaišyta nefermentuotų 5 %, 10 %, 15 % lubinų miltų. „Neutralios“ išraiškos intensyvumas buvo didžiausias valgant 1f duoną (0,500), su 5 % fermentuotais lubiniais. Stipriausią veido išraišką

„laimingas” sukėlė 3f mėginys (0,202) su 15 % fermentuotais lubinų priedais. Išraiška „liūdnas” stipriausiai buvo išreikšta, valgant 1 mėginio duoną (0,197) su 5 % nefermentuotais lubiniais. Išraiškos „piktas”, „nustebęs” stipriausiai buvo išreikštos valgant 1 (0,058) ir 2 (0,073) mėginius su 5 % ir 10 % nefermentuotais lubinų priedais.

3.4.3. Įvairiai apdorotų LSMF įtakos kepinių kokybei patikimumo įvertinimas

Šiame skyriuje pateikti kepinių, ruošų naudojant įvairiai apdorotas LSMF, kokybės patikimumo vertinimo rezultatai, taikant Duncan‘o kriterijų, pavaizduoti (3.1 lentelėje).

3.1 lentelė. Lubinų priedų (nefermentuotų ir fermentuotų) įtakos kvietinės duonos kokybei vertinimo rezultatai

Duonos kokybės kriterijai	K	1	2	3	1f	2f	3f
Duonos savitasis tūris (cm ³ g ⁻¹)	5,43 ^b	5,52 ^b	5,80 ^c	5,13 ^a	5,92 ^c	6,24 ^d	5,54 ^b
Duonos akytumas, %	58,29 ^b	63,36 ^e	59,98 ^c	54,10 ^a	59,03 ^c	62,27 ^e	60,76 ^d
Kietumas	5,20 ^b	6,20 ^d	6,80 ^e	7,60 ^f	4,90 ^a	5,60 ^c	6,30 ^d
Lipnumas	4,10 ^a	4,80 ^b	5,60 ^c	6,70 ^e	4,20 ^a	4,90 ^b	5,80 ^d
Kramtomumas	4,05 ^e	4,30 ^f	3,70 ^d	3,20 ^b	3,90 ^e	3,40 ^c	2,90 ^a
Gebėjimas atsistatyti	0,42 ^a	0,47 ^c	0,44 ^b	0,46 ^c	0,51 ^d	0,53 ^e	0,52 ^d

Pastaba ^{a-f} reiškia, kad skirtingos raidės lentelės langeliuose rodo statistiškai reikšmingus skirtumus tarp mėginių kokybės kriterijų vidurkių (P<0,05). Čia: K – kontrolinis mėginys (be lubinų priedų); 1 – su 5 % nefermentuotų lubinų; 2 – su 10 % nefermentuotų lubinų; 3 – su 15 % nefermentuotų lubinų; 1f – su 5 % fermentuotų lubinų; 2f – su 10 % fermentuotų lubinų; 3f – su 15 % fermentuotų lubinų).

Nefermentuotų lubinų miltų priedai (5 iki 10 %) padidino kepinių savitąjį tūrį, lyginant su kontroliniu mėginiu, atitinkamai 1,6 % ir 6,3 %. Tuo tarpu didesnis šio priedo kiekis (15 %) kepinio receptūroje sumažino duonos savitąjį tūrį (5,8 %). Analogiškos tendencijos nustatytos ir vertinant kepinio minkštimo akytumą: mažesni nefermentuotų miltų priedai (5 % ir 10 %) didino šio parametro vertes, lyginant su kontrole, atitinkamai 8 % ir 2,8 %, kai padidintas priedų kiekis (15 %) blogino minkštimo kokybę, mažinant minkštimo akytumo vertes (7,7 %). Fiksuota, kad kepiniai su nefermentuotų lubinų priedais pasižymėjo didesniu minkštimo kietumu nei kontroliniai kepiniai (16,1 %; 23,5 % ir 31,6 %, atitinkamai). Duonos kepinių (ruošų su 5 %, 10 %, 15 % nefermentuotų lubinų priedu) minkštimas pasižymėjo didesniu gebėjimu atsistatyti, lyginant su kontrole (K), (atitinkamai, 10,6 %; 4,5 %; 8,7 %). Duonos mėginiai su 5 %, 10 % nefermentuotų lubinų priedu ženkliai padidino kepinių lipnumą (atitinkamai, 14,5 %; 26,7 %) ir tuo statistiškai reikšmingai skyrėsi nuo kontrolinio. Didžiausias minkštimo lipnumo padidėjimas

lyginant su kontroliniu duonos mėginiu (38,8 %) fiksuotas tiriant duonos mėginį, ruošimą su 15 % nefermentuotų lubinų priedu. Vertinant minkštimo kramtomumą nustatyta, kad 5 % nefermentuotų lubinų kepinio receptūroje, 5,8 % didino šio parametro vertes, lyginant su kontrole, kai 10 ir 15 % – mažino 9,4 % ir 26,5 %, atitinkamai.

Fermentuotų lubinų priedai didino kepinių savitąjį tūrį tiek lyginant su kontrole (be apdoravimo), tiek ir su kepiniais, ruoštais naudojant receptūrose nefermentuotų lubinų miltų priedus, atitinkamai 8,3 %; 13 %; 2 % ir 6,7 %; 7 % ; 7,4 %. Be to, kepinuose, ruoštuose su fermentuotų miltų priedais, buvo stebima minkštimo akytumo didėjimo tendencija. Tiriant minkštimo kietumą, fiksuota, kad 5 % fermentuotų lubinų priedas mažino, lyginant su kontrole, šio parametro vertes (6,1 %), kai padidinti priedų kiekiai (10 ir 15 %) sąlygojo minkštimo kietumo padidėjimą (7,1 % ir 17,5 %). Pažymėtina, kad kepinių minkštimas, naudojant jų ruošimui fermentuotų lubinų priedus, lyginant su nefermentuotų, buvo mažesnio kietumo (26,5 %; 21,4 % ir 20,6 %, atitinkamai). Be to, minkštimo savybė atsistatyti, ruošiant kepinius su fermentuotais lubiniais (5; 10 ir 15 %), buvo didesnė nei kontrolinių kepinių ir tiriamų kepinių su nefermentuotų lubinų priedais (17,6 %; 20,7 %; 19,2 % ir 7,8 %; 17 %; 11,5 %). Tiriamų kepinių, ruošimų su fermentuotais lubinų priedais, minkštimo lipnumas buvo didesnis nei kontrolinio kepinio, tačiau mažesnis nei kepinių, ruošimų su nefermentuotais lubinų priedais. Kramtomumo parametro vertės, vertinant tiriamus kepinius, ruoštus su fermentuotų lubinų priedais, buvo visais atvejais mažesnės, lyginant tiek su kontrole, tiek su nefermentuotais lubinų priedais.

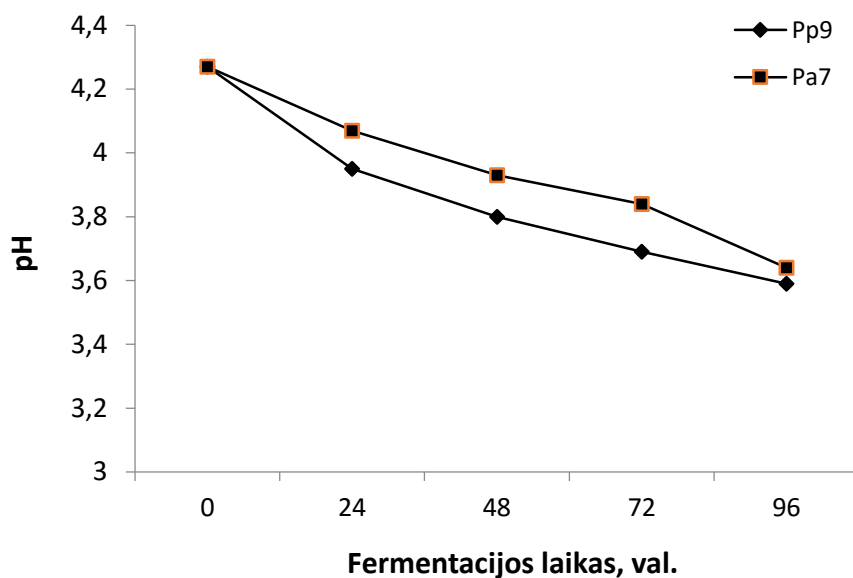
3.5. Lubinų skaidulinių medžiagų biomasės panaudojimas pieno rūgšties (PR) izomerų gavybai

3.5.1. PRB fermentacijos įtaka PR susidarymui

Iš literatūros žinoma, kad gaminant pieno rūgštį (PR) fermentacijos būdu naudojamos *Rhizopus* grybų padermės tokios kaip *R. oryzae* ir *R. arrhizus* [81,82] arba pieno rūgšties bakterijos (PRB). Kadangi grybų kultivavimui reikalingas deguonis ir tai didina PR gamybos kaštus, vis didesnis dėmesys skiriamas paieškai PRB padermių, gebančių produkuoti dideles PR koncentracijas. Kita vertus PRB turi būti atsparios rūgščiai terpei, norint sumažinti šarminimo agento kiekį jų stabiliam kultivavimui.

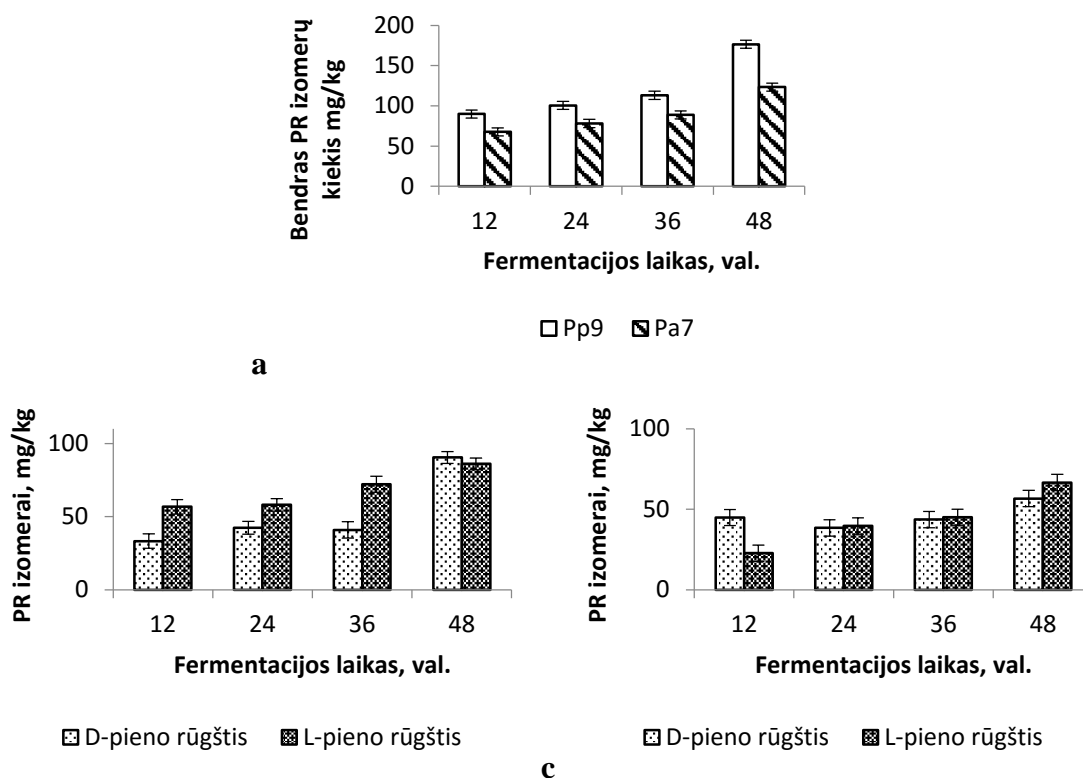
Šio darbo tikslas buvo patikrinti antimikrobinę PRB, turimų KTU kolekcijoje (*P. acidilactici* KTU05-07 ir *P. pentosaceus* KTU05-9), gebą produkuoti PR ir jos izomerus lubinų miltų frakcijoje, praturtintoje skaidulinėmis medžiagomis.

pH analizė LSMF fermentacijos metu. Pradiniame etape vertintas pH pokytis lubinų produktų PRB fermentacijos metu, fiksuojant visuose mėginiuose šio rodiklio verčių mažėjimą ilgėjant proceso trukmei (laike 96 val.). Pradinė pH vertė prieš LSMF fermentaciją buvo 4,27.



3.19 pav. pH pokyčiai LSMF fermentacijos metu, naudojant PRB: *P. pentosaceus* KTU05-9 ir *P. acidilactici* KTU05-7 padermes.

LSMF fermentacijos su *P. pentosaceus* KTU05-9 metu mėginiuose buvo stebimi didesni pH pokyčiai (pH mažėjo greičiau) t.y. laike 24 val. fermentacijos pH sumažėjo vidutiniškai 2,9 % daugiau lyginant su *P. acidilactici* KTU05-7 paderme. Ta pati tendencija buvo stebima ir toliau tęsiant fermentaciją. Proceso pabaigoje pH vertės LSMF mėginiuose su *P. pentosaceus* KTU05-9 ir *P. acidilactici* padermėmis pasiekė, atitinkamai 3,59 ir 3,64. Šis pH sumažėjimas siejamas su organinių rūgščių susidarymu iš fermentuojamų sacharidų ir yra labai svarbus požymis PR gavyboje. Pagal literatūrą žemiausios pH vertės fermentuojant kviečių sėlenas gali pasiekti 3,5 - 3,8 [90,91,92].



3.20 pav. PR susidarymas laike 48 val. LSMF fermentacijos: a) bendro PR kiekio pokyčiai LSMF fermentacijos metu, naudojant *P. pentosaceus* KTU05-9 ir *P. acidilactici* KTU05-07; b) PR izomerų susidarymas LSMF fermentacijos metu, naudojant *P. pentosaceus* KTU05-9; c) PR izomerų susidarymas LSMF fermentacijos metu, naudojant *P. acidilactici* KTU05-07.

Pieno rūgšties susidarymas lubinų miltų frakcijų (LSMF), praturtintų skaidulinėmis medžiagos, PRB fermentacijos metu. LSMF visos fermentacijos metu (iki 48 val.) buvo fiksuojamas tiek bendro PR kiekio, tiek ir jos izomerų L(+) ir D(-) koncentracijų didėjimas (3.20 pav.). Ši tendencija stebima su abiem tirtomis PRB (*P. pentosaceus* KTU05-9 ir *P. acidilactici* KTU05-07), tačiau skirtingu intensyvumu atskirais fermentacijos etapais. Naudojant LSMF fermentacijai *P. pentosaceus* KTU05-9, reikšmingai 24,8 % didesnės PR koncentracijos, lyginant su *P. acidilactici*, nustatytos jau 12 val. trukusios fermentacijos. Po 24 val. ir 36 val. LSMF fermentacijos su šia PRB paderme nustatyta, atitinkamai, 22,2 % ir 21,5 % daugiau PR nei su *P. acidilactici* KTU05-07. Staigus PR koncentracijos padidėjimas fiksuotas po 48 val. fermentacijos su abiem tirtomis PRB, tačiau su *P. pentosaceus* KTU05-9 PR kiekio padidėjimas buvo 43,1 % didesnis nei su *P. acidilactici* KTU05-07.

Tiriant PR izomerus, nustatyta, kad LMF fermentacijos metu (48 val.) susidaro abiejų PR izomerų mišinys, kuriame D(-) ir L(+) izomerų santykis priklausė nuo PRB padermės ir sudarė 0,85, naudojant *P. pentosaceus* KTU05-9 ir 1,1 - *P. acidilactici* KTU05-07. Be to, buvo stebima PRB padermė įtaka atskirų PR izomerų susidarymui skirtinguose LSMF fermentacijos etapuose.

LSMF fermentacijos su *P. pentosaceus* KTU05-9 metu fiksuotas po pirmo fermentacijos etapo (12 val.) reikšmingai didesnis L(+) izomero susidarymas nei D(-) izomero, kuris sudarė 41,3 % proc. Naudojant LSMF fermentacijai *P. pentosaceus* KTU05-9, nustatyta pradiniu etapu (po 12 val.) skirtingai nei su *P. acidilactici* KTU05-07 didesnis D(-) izomero koncentracijos priaugis (35,3 %) nei L(+) izomero. Laike tolesnės fermentacijos (24 ir 36 val.) mėginiuose, ruoštuose su *P. pentosaceus* KTU05-9, fiksuotas tolesnis reikšmingas L(+) izomero didėjimas ir šio izomero koncentracijos nustatytos po 24 ir 36 val., atitinkamai, 26,9 % ir 43,27 % didesnės nei D(-) izomero. Pastebėta, kad L(+) izomerą laike 24 - 36 val. fermentacijos intensyviau pradėjo gaminti *P. acidilactici* KTU05-07 ir po 24 ir 36 val. fermentacijos šio izomero koncentracijų vertės susilygino su D(-) izomero (39,04 mg/kg vidurkis – po 24 val.; 44,36 mg/kg vidurkis – po 36 val.). Fermentacijos pabaigoje (po 48 val.) mėginiuose su *P. pentosaceus* KTU05-9 D(-) izomero susidarymas buvo intensyvesnis nei L(+)-izomero ir atvirkščios tendencijos buvo stebimos mėginiuose su *P. acidilactici* KTU05-07, kur išliko reikšmingai intensyvesnis L(+) izomero susidarymas, lyginant su D(-) (atitinkamai, D/L 1,1 ir 1,9). Bendra PR koncentracija po fermentacijos su *P. pentosaceus* KTU05-9 ir *P. acidilactici* po 48 val. pasiekė 176.5 ir 123.4 mg/kg, esant atskirų izomerų D/L santykiui mišinyje 1,1 ir 0,85.

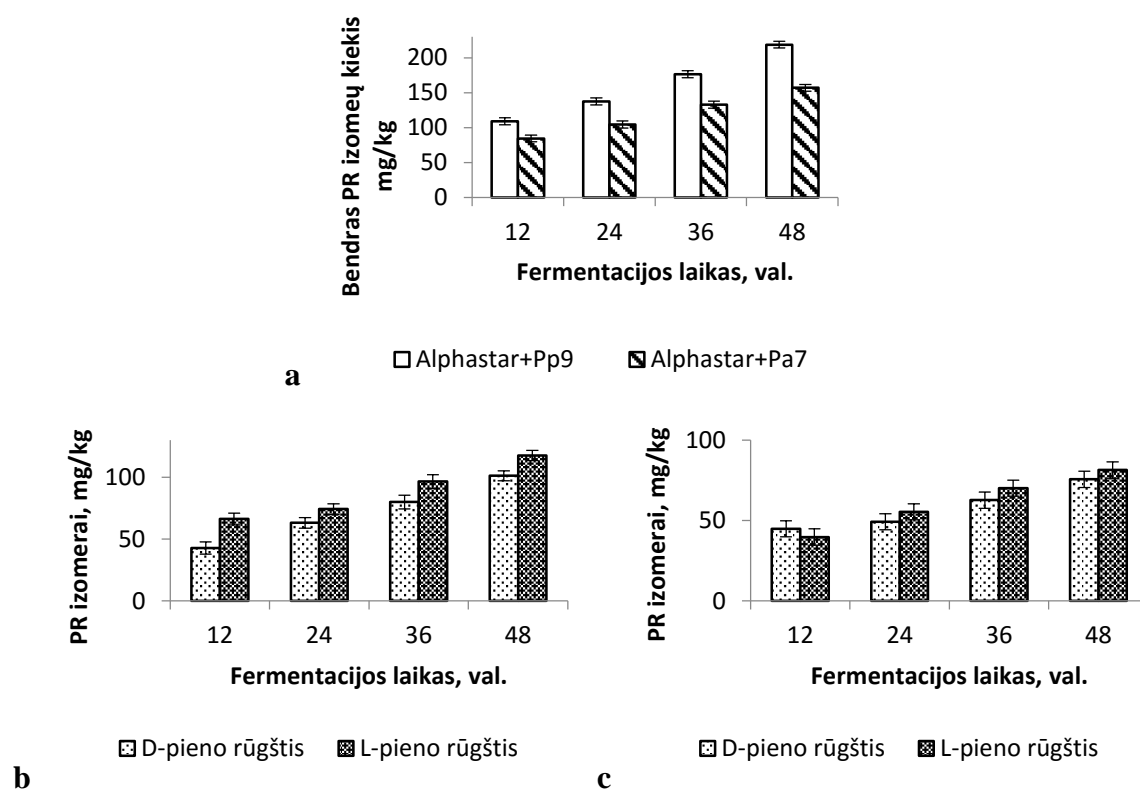
Nustatytos susidariusios PR koncentracijos fermentuojant LSMF koreliuoja su kitų autorių tyrimų rezultatais [93]. Kai kurie autoriai teigia, kad optimalus pH pieno rūgšties gamybai svyruoja ribose 5,0 - 7,0, tuo tarpu pH, žemesnis nei 5,7, buvo optimalus tik *Lactobaccillus* padermėms. Tačiau šio eksperimento tyrimų rezultatai leidžia manyti, kad abi *Pediococcus* padermės (KTU05-9 ir KTU05-07) sugebėjo intensyviai gaminti PR, kurios kiekis didėjo visos PRB fermentacijos metu, esant žemoms pH vertėms – 3,81 ir 3,92. LSMF buvo tinkama terpė pieno rūgšties gavybai, tuo tarpu PRB padermės, kurios buvo parinktos šiam tyrimui atskleidė savo galimybę pagaminti PR izomerų mišinį, net ir esant stipriai rūgštinei terpei.

3.5.2. Fermentinių preparatų priedų įtaka PR išeigoms

Tiesioginė krakmolingos žaliavos biokonversija į PR gali būti vykdoma, naudojant amilolitiniu aktyvumu pasižyminčius mikroorganizmus [79,80]. *Rhizopus* grybų padermės tokios kaip *R. oryzae* ir *R. arrhizus* pasižymi fermentiniu aktyvumu ir esant terpėje deguonies krakmolą konvertuojamas į L(+) pieno rūgštį [81,82]. Pieno rūgšties bakterijos (PRB), naudojamos PR gamybai, yra reiklios fermentacijos terpei ir vienas iš svarbiausių veiksnių jos susidarymui yra anglies šaltinis, o taip pat pH, temperatūra, inkubacijos laikotarpis ir ląstelių dauginimasis. Sacharidai, asimiliuojami mikroorganizmų PR gavybos metu, priklausomai nuo

substrato šaltinio gali būti įvairios cheminės struktūros. Daugumai krakmolingų ir lignoceliuliozinių medžiagų reikalingas papildomas apdorojimas fizikiniais ir cheminiais arba fermentiniais metodais, siekiant papildyti terpę fermentuojamomis medžiagomis [84]. Yra informacijos stoka apie lignoceliuliozinės žaliavos, tokias kaip lubinų skaidulinės frakcijos, apdorojimo fermentiniais preparatais įtaką PR susidarymui.

Šio tyrimo tikslas buvo įvertinti turtingų skaidulinėmis medžiagomis lubinų miltai frakcijų (LMF) perdirbimo į PR izomerus galimybes, naudojant priminiam jų apdorojimui įvairius fermentinius preparatus (Alphastar ir Celustar) ir jų kombinacijas ir po to vykdant PRB fermentaciją antimikrobinėmis PRB padermėmis (*P. acidilactici* KTU05-07 ir *P. pentosaceus* KTU05-9).



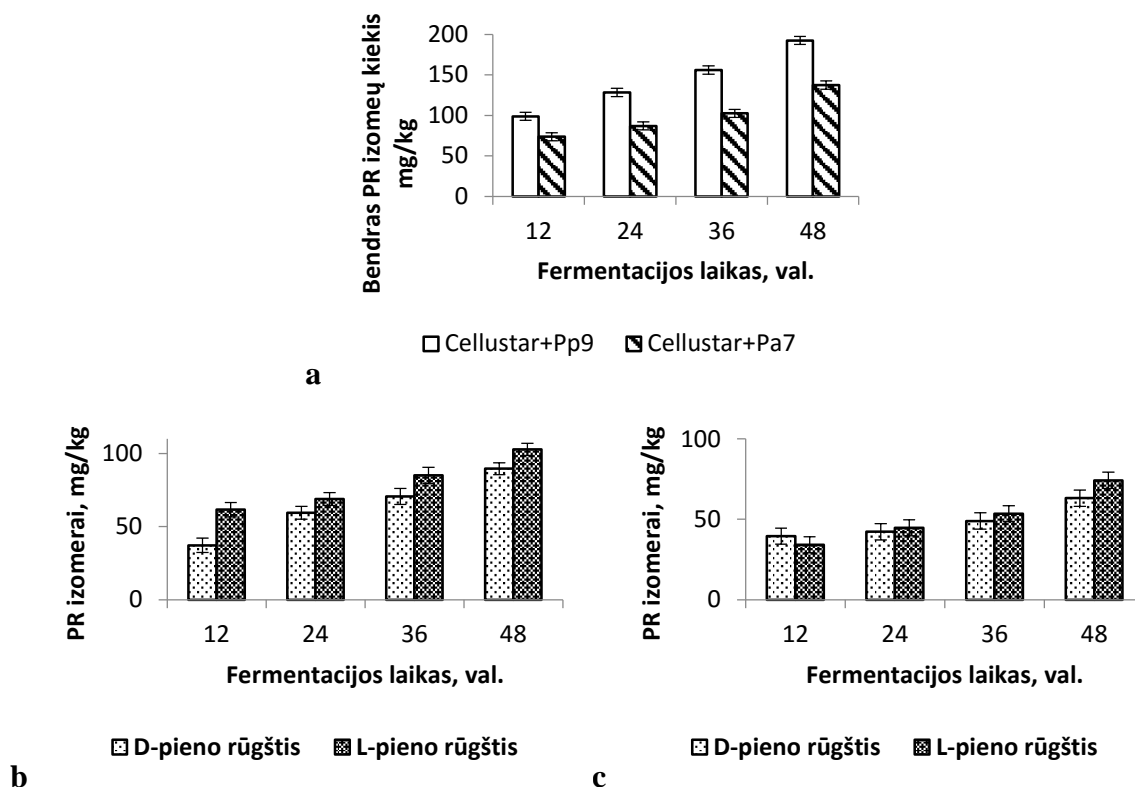
3.21 pav. PR susidarymas LSMF fermentacijos metu (trukmė 48 val.), naudojant *P. pentosaceus* KTU05-9 ir *P. acidilactici* KTU05-07; LSMF prieš PRB fermentavimą paveikta Alphastar fermentiniu preparatu; a) PR koncentracijų pokyčiai LSMF, apdoroto Alphastar fermentiniu preparatu, PRB fermentacijos metu, naudojant *P. pentosaceus* KTU05-9 ir *P. acidilactici* KTU05-07; b) PR izomerų pokyčiai LSMF fermentacijos metu, naudojant *P. acidilactici* KTU05-07; c) PR izomerų kiekio pokyčiai LSMF fermentacijos metu, naudojant *P. pentosaceus* KTU 05-9.

Panaudojus Alphastar fermentinį preparatą LSMF apdorojimui, nustatytas reikšmingas PR koncentracijos padidėjimas (vidutiniškai 25,2 %) viso fermentacijos proceso metu, lyginant su PRB fermentacija be LSMF fermentinės hidrolizės (3.21 pav). Teigiama LSMF fermentinio apdorojimo įtaka PR susidarymui, lyginant su kontrole (be fermentinio apdorojimo), fiksuota tiriamuose mėginiuose, fermentuotuose tiek su *P. acidilactici* KTU05-07 (25,17 %), tiek ir su *P. pentosaceus* KTU05-9 (25,3 %). Pastebėta, kad PR koncentracijų pokyčiai, taikant LSMF apdorojimui Alphastar fermentinį preparatą, buvo stabilesnis viso fermentacijos proceso metu. Po 48 val. fermentacijos nustatyti didžiausi PR kiekiai, kurie sudarė mėginyje, fermentuotame *P. pentosaceus* KTU05-9 - 218,76 mg/kg, o naudojant fermentacijai *P. acidilactici* KTU05-07 - 156,99 mg/kg.

Nustatyta, kad LSMF apdorojimas Alphastar fermentiniu preparatu, lyginant su PRB fermentacija be LSMF fermentinės hidrolizės, sąlygojo PR L(+) izomero padidėjimą *P. pentosaceus* KTU 05-9 fermentacijos metu (po 48 val.) 26,8 %, o ruošiant mėginius su *P. acidilactici* KTU05-07 - 18,1 %. L(+) izomero prieaugis fermentacijos metu (po 48 val.) su abiem PRB padermėmis buvo vidutiniškai 11,1 % didesnis nei D(-) izomero. Lyginant tarpusavyje tirtas PRB padermes, *P. pentosaceus* KTU 05-9 sąlygoje 30,8 % didesnę L(+) izomero susidarymą po 48 val. fermentacijos nei *P. acidilactici* KTU05-07.

Naudotas šiame eksperimente AlphaStar fermentinis preparatas yra bakterinės kilmės. Fermentai priklauso endoamilazėms, skaldančioms krakmole daugiausiai α -1,6-glikozidinius ryšius (transglikozidacija). α -glikozidinis ryšys yra labai stabilus. Jo spontaniškos hidrolizės greitis kambario temperatūroje yra apie $2 \times 10^{-15} \text{ s}^{-1}$ [94]. Pagal aminorūgščių sekos panašumus (Henrissat klasifikacija), dauguma α -amilazių priklauso tai pačiai – 13-tai glikozidhidrolazių šeimai [95,96,97,98]. 13-tai glikozidhidrolazių šeimai priklausantys fermentai paspartina šį greitį taip smarkiai, kad juos galima laikyti vienais efektyviausių žinomų fermentų. Šių fermento poveikio efektyvumą patvirtino ir gauti tyrimo rezultatai.

Tolesnio eksperimento metu vertinta LSMF apdorojimo ksilanaziniu preparatu (Celustar) įtaka PR ir jos izomerų susidarymui (3.22 pav.)



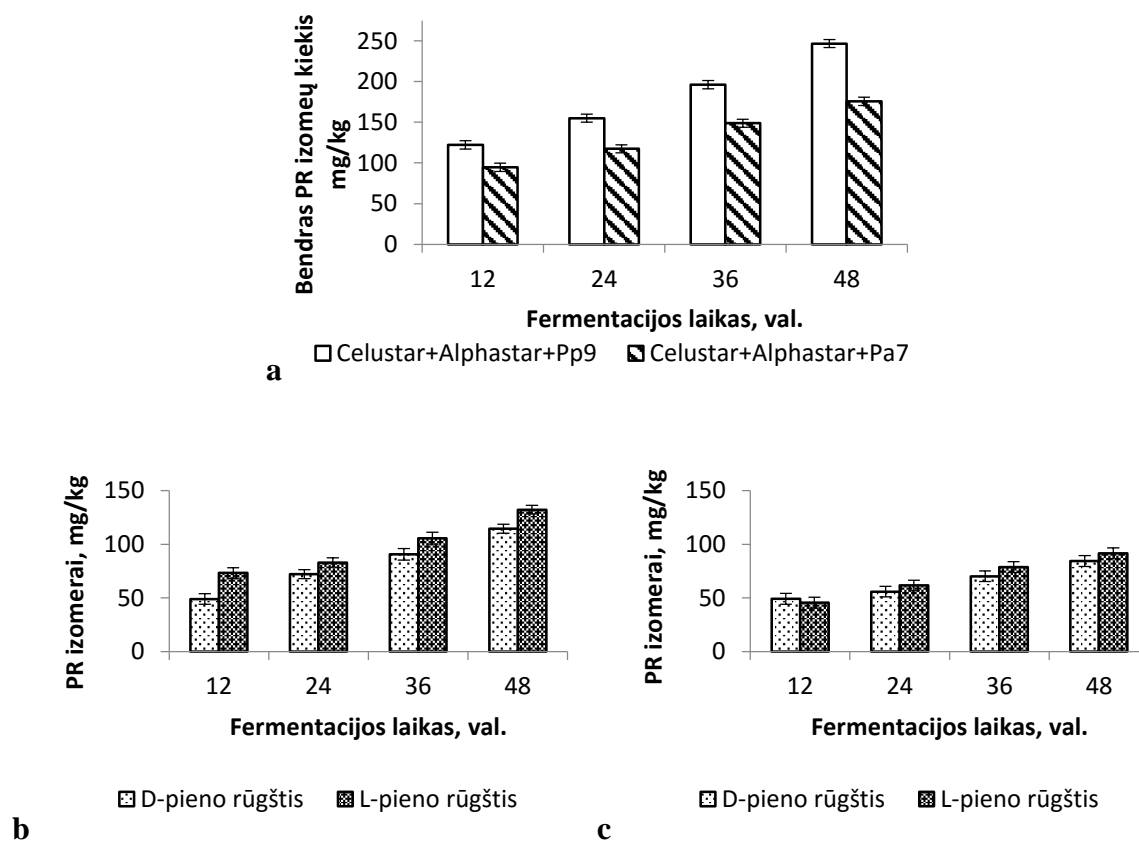
3.22 pav. PR susidarymas LSMF fermentacijos metu (trukmė 48 val.), naudojant *P. pentosaceus* KTU05-9 ir *P. acidilactici* KTU05-07; LSMF prieš PRB fermentavimą paveikta Celustar fermentiniu preparatu; a) PR koncentracijų pokyčiai LSMF, apdoroto Celustar fermentiniu preparatu, PRB fermentacijos metu, naudojant *P. pentosaceus* KTU05-9 ir *P. acidilactici* KTU05-07; b) PR izomerų pokyčiai LSMF fermentacijos metu, naudojant *P. acidilactici* KTU05-07; c) PR izomerų kiekio pokyčiai LSMF fermentacijos metu, naudojant *P. pentosaceus* KTU05-9.

Taikant Celustar fermentinį preparatą LSMF apdorojimui, teigiamas poveikis PR susidarymui stebimas po 24 ir 36 val. fermentacijos; didesnės PR koncentracijos, lyginant su kontrole be fermentinio apdoravimo (3.22 pav.), nustatytos mėginiuose, fermentuotuose su *P. pentosaceus* KTU05-9, atitinkamai, 21,7 % ir 27,4 % ir naudojant *P. acidilactici* KTU05-07. 10,1 % ir 13,3 %. Po 48 val. fermentacijos mėginiuose, fermentuotuose su *P. pentosaceus* KTU05-9, susikaupė 28,6 % daugiau PR nei mėginiuose, fermentuotuose su *P. acidilactici* KTU05-07. Fermentuotuose LSMF mėginiuose PR sudaro L(+) ir D(-) izomerų mišinys su tokiu izomerų D(-)/L(+) santykiu: 0,87 – naudojant *P. pentosaceus* KTU05-9 ir 0,85 - *P. acidilactici* KTU05-07. Tokiu būdu, ksilanazinio preparato Celustar poveikis PR susidarymui buvo mažesnis nei amilazinio (Alphastar), susidarant galiniame fermentuotame LSMF produkte panašioms PR koncentracijoms kaip ir kontroliniuose mėginiuose (be LSMF apdoravimo fermentais). Tačiau

skirtingai nei kontroliniuose mėginiuose viso fermentacijos proceso metu buvo stebimas stabilus PR susidarymas.

Naudotas eksperimente Celustar fermentinis preparatas turi du pagrindinius fermentinius aktyvumus – celiulazinį ir ksilanazinį. Pagrindiniai kriterijai β -ksilanazių atrankai yra jų funkcionalumas procesuose, kurie skiriasi substrato specifiškumu ir selektyvumu, optimalia jų veikimui temperatūra ir pH. Tinkamas terpės pH yra labai svarbus veiksnys β -ksilanazių gamyboje. Nustatyta, kad grybinės β -ksilanazės yra daug aktyvesnės rūgštinėje terpėje (pH 3,5 - 5,5) ir stabilios pH ribose nuo 3,0 iki 10,0. Tuo tarpu bakterinės β -ksilanazės aktyviausios pH ribose nuo 6,0 iki 7,0 ir yra stabilios siauresniame pH intervale – nuo 5,0 iki 7,3. Ksilanazės biosintezė iš *Aspergillus niger*, esant skirtingiems pH, parodė, kad didžiausias fermento aktyvumas buvo gautas, esant terpės pH 4,5. Esant didesnei ar mažesnei pH vertei, ksilanazės gamyba sulėtėja. Tai susiję su tuo, jog šarminis pH slopina mikroskopinių grybų veiklą [99,100]. Vykdyto eksperimento metu fermentuojant LSMF pH kito intervale nuo 4,2 iki 3,8, kuris buvo optimalus grybinių ksilanazių poveikiui.

Papildomai tirtos Celustar fermentinio preparato kombinacijoje su Alphastar panaudojimo galimybės PR susidarymui PRB fermentacinių procesų metu (3.23 pav.).



3.23 pav. PR susidarymas LSMF fermentacijos metu (trukmė 48 val.), naudojant *P. pentosaceus* KTU05-9 ir *P. acidilactici* KTU05-07; LSMF prieš PRB fermentavimą paveikta Alphastar ir Celustar fermentiniais preparatais; a) PR koncentracijų pokyčiai LSMF, apdoroto Alphastar ir Celustar fermentiniais preparatais, PRB fermentacijos metu, naudojant *P. pentosaceus* KTU05-9 ir *P. acidilactici* KTU05-07; b) PR izomerų pokyčiai LSMF fermentacijos metu, naudojant *P. acidilactici* KTU05-07; c) PR izomerų kiekio pokyčiai LSMF fermentacijos metu, naudojant *P. pentosaceus* KTU05-9.

LSMF apdorojimas fermentinių preparatų kombinacija turėjo reikšmingą įtaką PR ir jos izomerų susidarymui. Tai išryškėjo po 24 ir 36 val. fermentacijos PR kiekio padidėjimas, lyginant su mėginiais be fermentinio apdoravimo (atitinkamai, 34,4,0 % ir 41,5 %), sąlygojant galiniame produkte (po 48 val. fermentacijos) vidutiniškai 29,0 % didesnę PR susidarymą. Be to, taikant LSMF ši apdorojimui, buvo stebimas sinergetinis fermentų poveikis PR susidarymui, lyginant su LSMF apdorojimu pavieniais fermentiniais preparatais (Alphastar ir Celustar). Galiniuose produktuose (po 48 val.), naudojant kombinuotą fermentinį LSMF apdorojimą, lyginant su pavieniais Alphastar ir Celustar preparatais, nustatytos, atitinkamai, 11,1 % ir 21,9 % didesnės PR koncentracijos.

Literatūroje randama nemažai duomenų, kad fermentų kompozicijos veikia efektyviau fermentaciniuose procesuose nei pavieniai jų sudarantys fermentai. [101,102,103] duomenimis, hemiceliulazių mišinys, lyginant su viena β -ksilanaze, daugiau sumažina netirpių arabinoksilanų ir padidina tirpių arabinoksilanų kiekį, kadangi tarp ląstelių sienelių polisacharidus skaldančių fermentų pasireiškia sinergistinis efektas. [102,104] taip pat nustatė sinergistinį poveikį tarp α -amilazės bei kitų krakmolą skaldančių fermentų (β -amilazės, α -gliukozidazės, maltogeninės amilazės, izoamilazės), susidarant didesniai oligosacharidų bei mažos molekulinės masės dekstrinų kiekiui. Šiuo atveju mielės aprūpinamos didesniu sacharidų kiekiu ir padidėja dujų bei kitų metabolizmo produktų susidarymo pajėgumas.

Atlikti tyrimai rodo, kad fermentinis LSMF apdorojimas daugiafermentinė kompozicija ir fermentuojamų sacharidų susidarymo skatinimas yra esminis veiksnys, norint suintensyvinti fermentacijos procesą ir padidinti PR koncentracijas.

3.5.3. PR gamybos naudojant įvairias biomasės palyginamasis įvertinimas.

Maisto pramonėje be lubinų biomasės galimi ir kiti šalutiniai produktai ar atliekos, pvz., kukurūzų perdirbimo atliekos, kurių panaudojimas taip pat yra patrauklus PR gavybai. Jų perdirbimas galėtų būti unifikuotas su kitomis biomasėmis, parenkant fermentinius preparatus ir

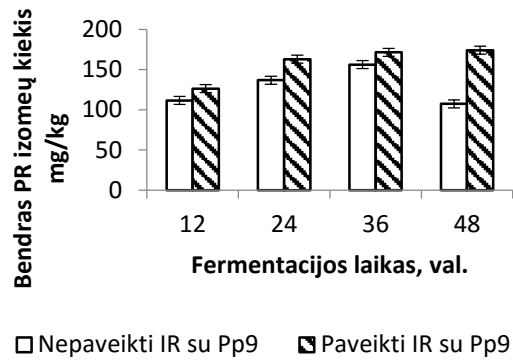
PRB padermes, sąlygojančias didžiausias PR išeigas. Kai kurios iš biomasių yra greitai gendančios, o užsitęsęs jų pristatymui gali prasidėti ir mikrobiologinis gedimas. Įvertinant šiuos faktorius, nepriimtinus PRB fermentaciniuose procesuose, aktualu parinkti jų kokybės stabilizavimo būdus. Vienas iš galimų fizinių apdorojimo būdų, susidarančių šalutinių produktų apdorojimui, galėtų būti infraraudonoji spinduliuotė.

Šio darbo etapo tikslai buvo: (i) įvertinti kukurūzų perdirbimo metu susidarančių atliekų perdirbimo į PR galimybes, naudojant jų kokybės stabilizavimui (prieš PRB fermentaciją) infraraudonąją spinduliuotę (IR); (ii) nustatyti PRB padermės įtaką PR išeigoms įvairiais fermentacijos tarpsniais (po 12; 24; 36 ir 48 val.). PR tyrimų rezultatai pateikti (3.24) ir (3.25) paveiksluose.

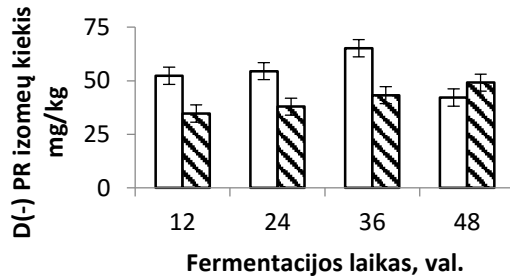
Nustatyta, kad kukurūzų perdirbimo šalutiniai produktai, paveikti IR (3.24 pav.), intensyviau kaupė PR, lyginant su mėginiais be apdorojimo, ir maksimali jos koncentracija fiksuota, praėjus 24 val. po Pp9 fermentacijos (162,88 mg/kg) nei be IR apdorojimo (136,88 mg/kg). Fermentuojant mėginius be papildomo žaliavos stabilizavimo IR su ta pačia PRB (Pp9), PR maksimalios koncentracijos nustatytos 12 val. vėliau (t.y. praėjus 36 val.) ir jos buvo 8,9 % mažesnės nei taikant žaliavai IR apdorojimą.

Teigiama IR apdorojimo įtaka PR susidarymui stebėta ir naudojant kukurūzinių atliekų fermentacijai Pa7, sąlygojant intensyvesnį PR susidarymą nei mėginiuose be šio apdorojimo. Po 24 val. Pa7 fermentacijos nustatytos apdorotame IR mėginyje PR koncentracija buvo 16,1 % didesnė nei mėginyje, netaikant IR stabilizavimo. Pažymėtina, kad mėginiuose be IR apdorojimo maksimalios PR vertės (naudojant Pa7) fiksuotos tik po 36 val. (152,0 mg/kg) ir jos tolesnės fermentacijos metu (laike 48 val.) padidėjo 14,2 %.

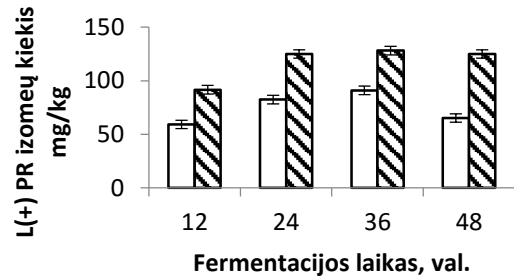
Vertinant PR izomerus, nustatyta, kad IR apdorojimas didino L (+) izomero susidarymą ir ta pati tendencija išliko su abiem tirtomis PRB po 48 val fermentacijos, pasiekus maksimalias šio PR izomero koncentracijas (124,97 mg/kg - Pp9; 136,8 mg/kg – Pa7); be IR poveikio L (+) izomero koncentracijos nustatytos, atitinkamai 65,17 mg/kg (Pp9) ir 90,0 mg/kg (Pa7).



a



b

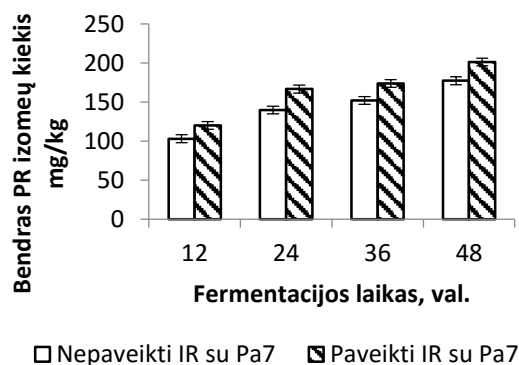


c

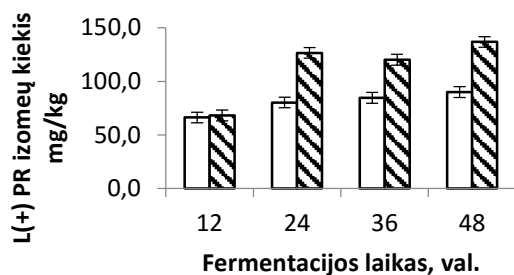
3.24 pav. PR susidarymas kukurūzų atliekose fermentacijos metu (trukmė 48 val.), naudojant *P. pentosaceus* KTU05-9; vienos kukurūzų atliekos prieš PRB fermentavimą paveiktos IR, kitos nepaveiktos; a) bendro PR kiekio pokyčiai nepaveiktų ir paveiktų IR kukurūzų atliekų fermentacijos metu, naudojant *P. pentosaceus* KTU05-9; b) D(-) PR izomerų susidarymas nepaveiktų ir paveiktų IR kukurūzų atliekų fermentacijos metu, naudojant *P. pentosaceus* KTU05-9; c) L(+) PR izomerų susidarymas nepaveiktų ir paveiktų IR kukurūzų atliekų fermentacijos metu, naudojant *P. pentosaceus* KTU05-9.

Lyginant PRB padermių įtaką PR susidarymui, nustatyta, kad Pa7 sąlygojo L (+) izomero gavybą po 48 val. fermentacijos 25,6 % proc. didesnėmis koncentracijomis nei naudojant Pp9.

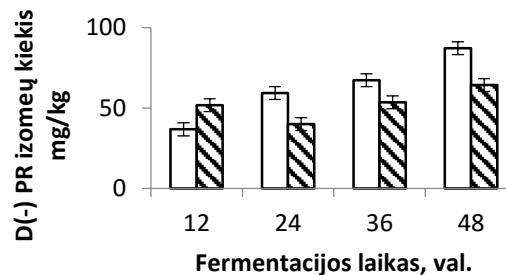
PR izomerų santykis (D/L) galiniuose kukurūzų atliekų fermentacijos etapuose (po 48 val.) sudarė vidutiniškai, naudojant Pp9 – 0,48 ir Pa7 – 0,66.



a



b



c

□ Nepaveikti IR su Pa7 ▨ Paveikti IR su Pa7

□ Nepaveikti IR su Pa7 ▨ Paveikti IR su Pa7

3.25 pav. PR susidarymas kukurūzų atliekose fermentacijos metu (trukmė 48 val.), naudojant *P. acidilactici* KTU05-07; vienos kukurūzų atliekos prieš PRB fermentavimą paveiktos IR, kitos nepaveiktos; a) bendro PR kiekio pokyčiai nepaveiktų ir paveiktų IR kukurūzų atliekų fermentacijos metu, naudojant *P. acidilactici* KTU05-07; b) L(+) PR izomerų susidarymas nepaveiktų ir paveiktų IR kukurūzų atliekų fermentacijos metu, naudojant *P. acidilactici* KTU05-07; c) D(-) PR izomerų susidarymas nepaveiktų ir paveiktų IR kukurūzų atliekų fermentacijos metu, naudojant *P. acidilactici* KTU05-07.

KTU Maisto mokslo ir technologijos katedroje vykdyti tyrimai, analizuojant PR įvairių biomasių PRB fermentacijos metu (trukmė 48 val.), parodė, kad PR susidarymas reikšmingai ($P < 0.05$) priklausė nuo PRB padermės. Naudojant *P. pentosaceus* KTU05-9 kviečių sėlenose ir salyklojų fermentacijai, susidarė didžiausias PR kiekį (78.1 ir 65.6 mg/kg, atitinkamai), tuo tarpu mažiausias PR kiekis gautas mėginiuose, ruoštuose su *L. sakei* (6.25 ir 6.7 mg/kg, atitinkamai). Kitos PRB (*P. acidilactici*, *P. pentosaceus* KTU05-8 ir KTU05-9), naudotos žlaugtų fermentacijai, sąlygojo PR susidarymą mažesnėmis koncentracijomis (vidutiniškai 19,9 mg/kg). Fermentuojant žlaugtus, didžiausi PR kiekis fiksuotas mėginiuose, ruoštuose su *P. acidilactici*, *P. pentosaceus* KTU05-8 ir KTU05-9 (nuo 62.9 iki 74.4 mg/kg). Ištyrus PR izomerus fermentuojamose biomasėse, nustatytas izomerų mišinys, kur vyravo didesnės L(+)-izomero koncentracijos nei D(-) izomero.

Tokiu būdu, vykdant biomasių perdirbimą į PR, svarbu parinkti PRB padermę, įgalinančią pasiekti didžiausias PR koncentracijas. Kita vertus, aktualus fermentinių preparatų parinkimas biomasių apcukrinimui ir PRB fermentacijos terpės papildymui fermentuojamais sacharidais.

4. IŠVADOS

1. Išbandyti skirtingi fermentiniai preparatai (Alphastar ir Celustar) ir jų kombinacijos lubinų skaidulinių medžiagų frakcijų sucukrinimui, atrenkant variantus, davusius per trumpiausią laiką didžiausią redukuojančių sacharidų susidarymą (Alphastar 150 µl po 90 min. - 2,893 mg/ml, Celustar 200 µl po 60 min., 7,824 mg/ml bei Alphastar ir Celustar mišiniu 150A+50C po 60 min., 4,174 mg/ml).

2. Fermentinis lubinų skaidulinių medžiagų frakcijų apdorojimas turėjo statistiškai reikšmingą įtaką amilazinio ir ksilanazinio aktyvumo padidėjimui (15 % ir 65,6 % po 24 h), vykdant pieno rūgšties bakterijų fermentaciją kietafazės fermentacijos sąlygose.

3. Ultragarsinis pieno rūgšties bakterijomis fermentuotų lubinų skaidulinių medžiagų frakcijų apdorojimas (37 kHz) inaktyvavo fermentus ir šio veiksnio poveikis buvo efektyvesnis amilazių aktyvumui nei ksilanazių.

4. Taikant ultragarsą fermentaciniuose procesuose, įtakos fermentiniams aktyvumams turi fermentacijos sąlygos: 2,4 % didesnis amilazių aktyvumo sumažėjimas nustatytas esant didesniai terpės drėgnei (65 %) nei naudojant kietafazę fermentaciją (45 %).

5. Vertinant lubinų skaidulinių medžiagų frakcijų panaudojimą kvietinės duonos maistinės vertės padidinimui tiek tradiciniais metodais, tiek vystomais metodais (taikant FaceReader kompiuterinę programą), geriausia kepinų kokybė nustatyta, naudojant iki 15 % nuo miltų masės pieno rūgšties bakterijomis fermentuotų lubinų skaidulinių medžiagų frakcijų priedą.

6. Vykdant lubinų skaidulinių medžiagų frakcijų perdirbimą į pieno rūgštį, svarbu parinkti pieno rūgšties bakterijų padermę, įgalinančią pasiekti didžiausias pieno rūgšties koncentracijas (176,51 mg/kg su *Pediococcus pentosaceus* 9). Lubinų skaidulinių medžiagų frakcijų apdorojimas prieš pieno rūgšties bakterijų fermentaciją fermentinių preparatų kompozicija yra reikšmingas veiksnys, norint padidinti iki 22 % pieno rūgšties koncentracijas.

Tokiu būdu, taikant inovatyvius technologinius sprendimus, lubinų sėklų perdirbimo į baltymus antriniai produktai gali tapti vertinga žaliava, tinkama maisto produktų ir /ar cheminių medžiagų gamybai.

5. LITERATŪRA

1. Petterson D.S. The use of lupins in feeding system. *Asian Journal of Animal Science*. 2000, 13(6), 861–882. ISSN 1011-2367.
2. Wasche A., K. Muller & U. Knauf. New processing of lupinprotein isolates and functional properties. *Nahrung/Food*. 2001, 45, 393–395. ISSN 1613-4133.
3. Lampart-Szczapa E., J. Korczak, M. Nogala-Kalucka & R. Zawirska-Wojtasiak. Antioxidant properties of lupin seed products. *Food Chemistry*. 2003, 83, 279–285. ISSN 0308-8146.
4. Rochfort S., J. Panozzo. Phytochemicals for health, the role of pulses. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2007, 55, 7981–7994. ISSN 1520-5118.
5. Pastor-Cavada E., R. Juan, J.E. Pastor, M. Alaiz, J. Vioque. Analytical nutritional characteristics of seed proteins in six wild *Lupinus* species from Southern Spain. *Food Chemistry*. 2009, 117, 466–469. ISSN 0308-8146.
6. Sujak A., A. Kotlarz, W. Strobel. Compositional and nutritional evaluation of several lupin seeds. *Food Chemistry*. 2006, 98, 711–719. ISSN 0308-8146.
7. Gulewicz P., C. Martínez-Villaluenga, J. Frias, D. Ciesiołka, K. Gulewicz, C. Vidal-Valverde. Effect of germination on the protein fraction composition of different lupin seeds. *Food Chemistry*. 2008, 107, 830–844. ISSN 0308-8146.
8. De Cortes-Sánchez M., P. Altares, M.M. Pedrosa, C. Burbano, C. Cuadrado, C. Goyoaga, M. Muzquiz, C. Jiménez-Martínez, G. Dávila-Ortiz. Alkaloid variation during germination in different lupin species. *Food Chemistry*. 2005, 90, 347–355. ISSN 0308-8146.
9. Uzun B., C. Arslan, M. Karhan, C. Toker. Fat and fatty acids of white lupin (*Lupinus albus* L.) in comparison to sesame (*Sesamum indicum* L.). *Food Chemistry*. 2007, 102, 45–49. ISSN 0308-8146.
10. Reinhard H., H. Rupp, F. Sager, M. Streule, O. Zoller. Quinolizidine alkaloids and phomopsins in lupin seeds and lupin containing food. *Journal of Chromatography A*. 2006, 1112, 353–360. ISSN 0021-9673.
11. Mülayim M., A. Tamkoc, M. Babaoglu. Sweet white lupins versus local bitter genotype: agronomic characteristics as affected by different planting densities in the Göller region of Turkey. *European Journal of Agronomy*. 2002, 17, 181–189. ISSN 1161-0301.

12. Martinez-Villaluenga C., J. Frias, C. Vidal-Valverde. Functional lupin seeds (*Lupinus albus* L. and *Lupinus luteus* L.) after extraction of α -galactosides. *Food Chemistry*. 2006a, 98, 291–299. ISSN 0308-8146.
13. Pollard N. J. F. L. Stoddard, Y. Popineau, C. W. Wrigley, F. MacRitchie. Lupin flours as additives: Dough mixing, breadmaking, emulsifying and foaming. *Cereal Chemistry*. 2002, 79, 662–669. ISSN 0009-0352.
14. Zielinska D., J. Frias, M. K. Piskula, H. Kozłowska, H. Zielinski, C. Vidal-Valverde. Evaluation of the antioxidant capacity of lupin sprouts germinated in the presence of selenium. *European Food Research and Technology*. 2008, 227, 1711–1720. ISSN 1438-2377.
15. Sousa I. M. N., P. J. Morgan, J. R. Mitchell, S. E. Harding, S.E. Hill. Hydrodynamic characterization of lupin proteins: Solubility, intrinsic viscosity, and molar mass. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 1996, 44, 3018–3021. ISSN 1520-5118.
16. Ögüt H. Some physical properties of white lupin. *Journal of Agricultural Engineering Research*. 1998, 69, 273–277. ISSN 1537-5110.
17. Papavergou E. J., J. G. Bloukas, G. Doxastakis. Effect of lupin seed proteins on quality characteristics of fermented sausages. *Meat Science*. 1999, 52, 421–427. ISSN 0309-1740.
18. Linnemann A. R., D. S. Dijkstra. Toward sustainable production of protein-rich foods: appraisal of eight crops for Western Europe. Part I. Analysis of the primary links of the production chain. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2002, 42, 377–401. ISSN 1549-7852.
19. Sironi E., F. Sessa, M. Duranti. A simple procedure of lupin seed protein fractionation for selective food applications. *European Food Research and Technology*. 2005, 221, 145–150. ISSN 1438-2377.
20. Capraro J., Ch. Magni, M. Fontanesi, A. Budelli, M. Duranti. Application of two-dimensional electrophoresis to industrial process analysis of proteins in lupin-based pasta. *LWT-Food Science and Technology*. 2008, 41, 1011–1017. ISSN 0023-6438.
21. Rodríguez-Ambriz S. L., A. L. Martínez-Ayala, F. Millán, C. Dávila-ortíz. Composition and functional properties of *Lupinus campestris* protein isolates. *Plant Foods for Human Nutrition*. 2005, 60, 99–107. ISSN 0921-9668.
22. Drakos A., G. Doxastakis, V. Kiosseoglou. Functional effects of lupin proteins in comminuted meat and emulsion gels. *Food Chemistry*. 2007, 100, 650–655. ISSN 0308-8146.

23. Martínez-Villaluenga, C., E. Sironi, C. Vidal-Valverde, M. Duranti. Effects of oligosaccharide removing procedure on the protein profiles of lupin seeds. *European Food Research and Technology*. 2006b, 223, 691–696. ISSN 1438-2377.
24. Pisariková B., Z. Zralý, F. Bunka, M. Trckova. Nutritional value of white lupine cultivar Butan in diets for fattening pigs. *Veterinární Medicina*. 2008, 53, 124–134. ISSN 0375-8427.
25. Clark R. L., S. J. Johnson. Sensory acceptability of foods with added lupin (*Lupinus angustifolius*) kernel fiber using pre-set criteria. *Journal of Food Science*. 2002, 67, 356–362. ISSN 1750-3841.
26. Hall R. S., S.K. Johnson, A. L. Baxter, M. J. Ball. Lupin kernel fiber-enriched foods beneficially modify serum lipids in men. *European Journal of Clinical Nutrition*. 2005, 59, 325–333. ISSN 0954-3007.
27. Smith S. C., R. Choy, S. K. Johnson, R. H. Hall, A. C. M. Wildeboer - Veloo, G. W. Welling. Lupin kernel fiber consumption modifies fecal microbiota in healthy men as determined by rRNA gene fluorescent in situ hybridization. *European Journal of Nutrition*. 2006, 45, 335–341. ISSN 1436-6207.
28. Ciesiołka D., P. Gulewicz, C. Martinez-Villaluenga, R. Pilarski, M. Bednarczyk, Gulewicz K. Products and biopreparations from alkaloid-rich lupin in animal nutrition and ecological agriculture. *Folia Biologica*. 2005, 53, 59–66. ISSN 0015-5497.
29. Bhardwaj H. L., A. A. Hamama, L. C. Merrick. Genotypic and environmental effects on lupin seed composition. *Plant Food Human Nutrition*. 1998, 53, 1–13. ISSN: 0921-9668.
30. Hamama A. A., H. L. Bhardwaj. Phytosterols, triterpene alcohols, and phospholipids in seed oil from white lupin. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 2004, 81, 1039–1044. ISSN 0003-021X.
31. Erbas M., M. Certel, M. K. Uslu. Some chemical properties of white lupin seeds (*Lupinus albus* L.). *Food Chemistry*. 2005, 89, 341–345. ISSN 0308-8146.
32. Tsaliki E., V. Lagouri, G. Doxastakis. Evaluation of the antioxidant activity of lupin seed flour and derivatives (*Lupinus albus* ssp. *graecus*). *Food Chemistry*. 1999, 65(1), 71–75. ISSN 0308-8146.
33. Ooman B. D., N. Tiger, M. Olson, P. Balasubramanian. Phenolics and antioxidative activities in narrowleafed lupins (*Lupinus angustifolius* L.). *Plant Foods for Human Nutrition*. 2006, 61, 91–97. ISSN 0921-9668.
34. Martínez-Villaluenga C., H. Zieliński, J. Frias, M. K. Piskula, H. Kozłowska, C. Vidal-Valverde. Antioxidant capacity and polyphenolic content of high-protein lupin products. *Food Chemistry*. 2009, 112, 84–88. ISSN 0308-8146

35. Fernandez-Orozco R., J. Frias, R. Muñoz, H. Zielinski, M. K. Piskula, H. Kozłowska, C. Vidal-Valverde. Effect of fermentation conditions on the antioxidant compounds and antioxidant capacity of *Lupinus angustifolius* cv. Zapaton. *European Food Research and Technology*. 2008, 227, 979–988. ISSN 1438-2377.
36. El-Adawy T. A., E. H. Rahma, A. A. El-Bedawey, A. F. Gafar. Nutritional potential and functional properties of sweet and bitter lupin seed protein isolates. *Food Chemistry*. 2001, 74, 455–462. ISSN 0308-8146.
37. Jiménez-Martínez C., H. Hernández-Sánchez, G. Álvarez- Manilla, N. Robledo-Quintos, J. Martínez- Herrera, G. Dávila-Ortíz. Effect of aqueous and alkaline thermal treatments on chemical composition and oligosaccharide, alkaloid and tannin contents of *Lupinus campestris* seeds. *Journal of Science and Food Agriculture*. 2001, 81, 1–8. ISSN 1097-0010.
38. Maknickienė Z., A. Ražukas. Narrow-leaved forage lupine (*Lupinus angustifolius* L.) breeding aspects. *Žemės Ūkio Mokslai*. 2007, 14, 27–31.
39. Grigelmo-Miguel N., M. I. Abadias-Seros and O. Martin-Belloso. Characterisation of low-fat high-dietary fibre frankfurters. *Meat Science*. 1999, 52(3), 247-256. ISSN 0309-1740.
40. Guillon F. & M. M. Champ. Carbohydrate fractions of legumes: uses in human nutrition and potential for health. *British Journal of Nutrition*. 2002, 88, Suppl. 3, S293–S306. ISSN 0007-1145.
41. D. S. Petterson. Composition and food uses of lupins. In: *Lupins as Crop Plants*, Gladstones JS. Atkins, et al., eds. *Biology, Production and Utilization*. Wallingford: CAB International, 1998, pp. 353–384
42. Xu J., A. A. Mohamed. Thermal and rheological properties of *Lupinus albus* flour. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 2003, 80, 763–766. ISSN 0003-021X.
43. Xu J., A. A. Mohamed, P. Hojilla-Evangelista, D.J. Sessa. Viscoelastic properties of lupin proteins produced by ultrafiltration-diafiltration. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 2006, 83, 553–558. ISSN 0003-021X.
44. Xu J., A. A. Mohamed, D.J. Sessa. Rheological properties of lupin proteins suspensions. *International Journal of Agricultural Research*. 2008, 3, 317–324. ISSN 2224-0616.
45. Dervas G., G. Doxastakis, S. Hadjisavva-Zinoviadi, N. Triantafillakos. Lupine flour addition to wheat flour doughs and effect on rheological properties. *Food Chemistry*. 1999, 66, 67–73. ISSN 0308-8146.
46. Tronc E. Lupin flour: a new ingredient for human food. *Grains Legumes*. 1999, 25, 3,24.

47. Rayas-Duarte P., C. M. Mock, L. D. Satterlee. Quality of spaghetti containing buckwheat, amaranth, and lupin flours. *Cereal Chemistry*. 1996, 73, 381–387. ISSN 0009-0352.
48. Lampart-Szczapa E., W. Obuchowski, K. Czaczyk, B. Pastuszewska, L. Buraczewska. Effect of lupin flour on the quality and oligosaccharides of pasta and crisps. *Nahrung/Food*. 1997, 41, 219–223. ISSN 1613-4133.
49. Scarafoni A., A. Ronchi, M. Duranti. A realtime PCR method for the detection and quantification of lupin flour in wheat flour-based matrices. *Food Chemistry*. 2009, 115, 1088–1093. ISSN 0308-8146.
50. Magni C., A. Herndl, E. Sironi, A. Scarafoni, C. Ballabio, P. Restani, R. Bernardini, E. Novembre, A. Vierucci, M. Duranti. One and two-dimensional electrophoretic identification of IgE-binding polypeptides of *Lupinus albus* and other legume seeds. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 2005, 53, 4567–4571. ISSN 1520-5118.
51. Galan A. M. G., M. Broheé, E. Scaravelli, A. J. Van Hengel, H. Chassaing. Development of real-time PCR assay for the detection of lupin residues in food products. *European Food Research and Technology*. 2010, 230, 597–608. ISSN 1438-2377
52. Fudiyansyah N., D. S. Petterson, R. R. Bell, A. H. Fairbrother. A nutritional, chemical and sensory evaluation of lupin (*L. angustifolius*) tempe. *International Journal of Food Science and Technology*. 1995, 30, 297–305.
53. Doxastakis G., I. Zafiriadis, M. Irakli, H. Marlani, C. Tananaki. Lupin, soya and triticale addition to wheat flour doughs and their effect on rheological properties. *Food Chemistry*. 2002, 77, 219–227. ISSN 0308-8146.
54. Doxastakis G., M. Papageorgiou, D. Mandalou, M. Irakli, E. Papalamprou, A. D'Agostina, D. Resta, G. Boschini, A. Arnoldi. Technological properties and nonenzymatic browning of white lupin protein enriched spaghetti. *Food Chemistry*. 2007, 101, 57–64. ISSN 0308-8146.
55. Lucisano M., C. Pompei. Baking properties of lupin flour. *Lebensmittel-Wissenschaft und -Technologie*. 1981, 14, 323–330.
56. Campos-Vega R., G. Loarca-Piña, B. D. Oomah. Minor components of pulses and their potential impact on human health. *Food Research International*. 2010, 43, 461–482. ISSN 0963-9969.
57. Katina K., E. Arendt, K. H. Liukkonen, K. Autio, L. Flander & K. Poutanen. Potential of sourdough for healthier cereal products. *Trends in Food Science and Technology*. 2005, 16, 104–112. ISSN 0924-2244.

58. Capline E. & G. F. Fitzgerald. Food fermentations: role of microorganisms in food production and preservation. *International Journal of Food Microbiology*. 1999, 50, 131–149. ISSN 0168-1605.
59. Lavermicocca P., F. Valerio, A. Evidente, S. Lazzaroni, A. Corsetti & M. Gobbetti. Purification and characterization of novel antifungal compounds by sourdough *Lactobacillus plantarum* 21B. *Applied and Environment Microbiology*. 2000, 66, 4084–4090. ISSN 1098-5336.
60. Fuller R. Probiotics in man and animals. *Journal of Applied Bacteriology*. 1989, 66, 365–378. ISSN 1365-2672.
61. Vaughan A., V. G. H. Eijsink, T. F. O’Sullivan, K. O’Hanlon & D. van Sinderen. An analysis of bacteriocins produced by lactic acid bacteria isolated from malted barley. *Journal of Applied Microbiology*. 2001, 91, 131–138. ISSN 1365-2672.
62. Altuntas E. G., S. Cosansu & K. Ayhan. Some growth parameters and antimicrobial activity of a bacteriocin-producing strain *Pediococcus acidilactici* 13. *International Journal of Food Microbiology*. 2010, 141, 28–31. ISSN 1365-2672.
63. Juodeikienė G., J. Šalomskienė, L. Bašinskienė, D. Vidmantienė, V. Narbutaitė & N. Kasnauskytė. The influence of novel fermented products on wheat bread spoilage and staling. *Food Chemistry and Technology*. 2009, 43, 36–46.
64. Kalač P., J. Šavel, M. Križek, T. Pelikanova & M. Prokopova. Biogenic amine formation in bottled beer. *Food Chemistry*. 2002, 79, 431–434. ISSN 0308-8146.
65. Hernandez-Jover, T., M. Izquierdo-Pulido, M. T. Veciana-Nogues, A. Marine-Font, & M. C. Vidal-Carou. Biogenic amines and polyamine contents in meat and meat products. *Journal of Agricultural Food Chemistry*. 1997, 45(6), 2098–2102. ISSN 1520-5118.
66. Bodmer S., C. Imark & M. Kneubuhl. Biogenic amines in foods: histamine and food processing. *Inflammation Research*. 1999, 48, 296–300. ISSN 1023-3830.
67. Ladero V., M. Calles-Enriquez, M. Fernandez & M. A. Alvarez. Toxicological effects of dietary biogenic amines. *Current Nutrition and Food Science*. 2010, 6, 145–156. ISSN 1573-4013.
68. Fadda S., G. Vignolo & G. Oliver. Tyramine degradation and tyramine / histamine production by lactic acid bacteria and *Kocuria* strains. *Biotechnology Letters*. 2001, 23, 2015–2019. ISSN 0141-5492.
69. Digaitienė A., A. Hansen, G. Juodeikienė & J. Josephsen. Microbial population in Lithuanian spontaneous rye sourdoughs. *Ekologija i Technika*. 2005, 5, 193–198. ISSN 1230-462X.

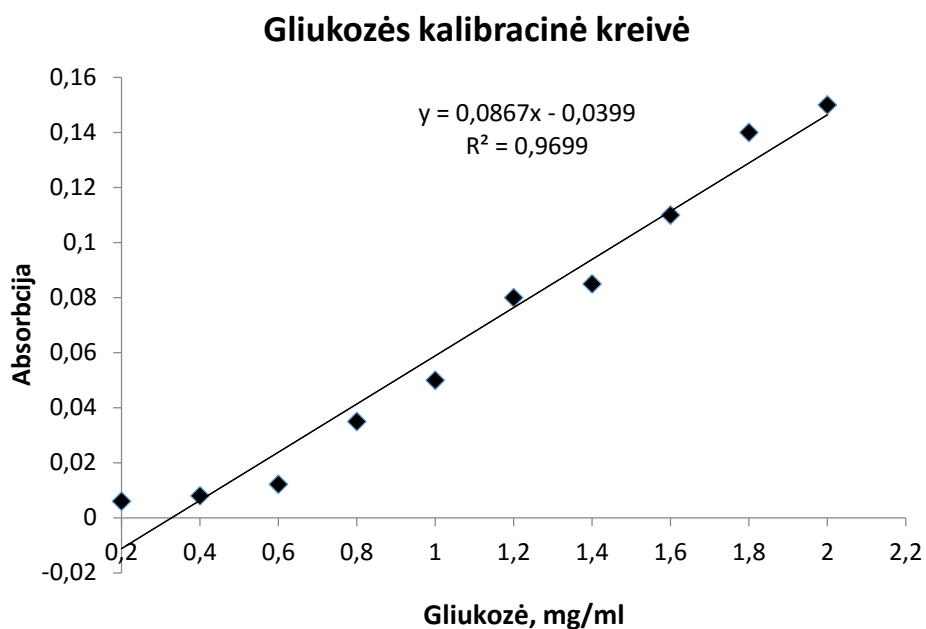
70. Narbutaitė V., A. Fernandez, N. Horn, G. Juodeikienė & A. Narbad. Influence of baking enzymes on antimicrobial activity of five bacteriocin-like inhibitory substances produced by lactic acid bacteria isolated from Lithuanian sourdoughs. *Letters in Applied Microbiology*. 2008, 47, 555–560. ISSN 1472-765X
71. Bartkiene E., G. Juodeikiene, D. Vidmantiene. P. Viskelis & D. Urbonaviciene. Nutritional and quality aspects of wheat sourdough bread using *L. luteus* and *L. angustifolius* flours fermented by *Pediococcus acidilactici*. *International Journal of Food Science and Technology*. 2011, 46, 1724–1733. ISSN 0950-5423.
72. Wee Y. J., J. N. Kim, H. W. Ryu. Biotechnological Production of Lactic Acid and Its Recent Applications. *Food Technol. Biotechnol.* 2003, 44, 163–172. ISSN 1330-9862.
73. Bizzari S. N., A. Kishi. Lactic acid, its salts and esters. *Chemical economics handbook. SRI International, Menlo Park, Calif.* 2003, 174, 73–79.
74. Sheldon R. A. Utilisation of biomass for sustainable fuels and chemicals: molecules, methods and metrics. *Catal. Today*. 2011, 167(1), 3–13. ISSN 0920-5861.
75. Litchfield J. H. Microbial production of lactic acid. *Adv. Appl. Microbiol.* 1996, 42, 45–95. ISBN 978-0-12-804802-3.
76. Lunt J. Large-scale production, properties and commercial applications of polylactic acid polymers. *Polym. Degrad. Stabil.* 1998, 59, 145–152. ISSN 0141-3910.
77. Datta R., S. P. Tsai, P. Bonsignore, S. H. Moon, J. R. Frank. Technological and economic potential of poly (lactic acid) and lactic acid derivatives. *FEMS Microbiol. Rev.* 1995, 16, 221–231. ISSN 1574-6976.
78. Gonzalez M. I., S. Alvarez, F. Riera, R. J. Alvatez. Economic evaluation of an integrated process for lactic acid production from ultrafiltered whey. *Journal of Food Engineering*. 2007, 80, 553–561. ISSN 0260-8774.
79. Ohkouchi Y., Y. Inoue. Direct production of L (+)- lactic acid from starch and food wastes using *Lactobacillus manihotivorans* LMG18011. *Bioresource. Technology*. 2006, 97(13), 1554–1562. ISSN 0960-8524.
80. Altaf M., B. J. Naveena, M. Venkateshwar, E. V. Kumar, G. Reddy. Single step fermentation of starch to L (+) lactic acid by *Lactobacillus amylophilus* GV6 in SSF using inexpensive nitrogen sources to replace peptone and yeast extract—optimization by RSM. *Process Biochemistry*. 2006, 41, 465–472. ISSN 0032-9592.
81. Oda Y., K. Saito, H. Yamauchi, M. Mori. Lactic acid fermentation of potato pulp by the fungus *Rhizopus oryzae*. *Curr Microbiol.* 2002, 45(1), 1–4. ISSN 0343-8651.
82. Schlieger H. G. General Microbiology 7th edition. *Cambridge University Press*. 1993, pp. 655. ISBN 9780521439800.

83. Hofvendahl K., B. Hahn-Hägerdal. Factors affecting the fermentative lactic acid production from renewable resources. *Enzyme Microbial Technology*. 2000, 26(2-4), 87–107. ISSN 0141-0229.
84. Okano K., T. Tanaka, C. Ogino, H. Fukuda, A. Kondo. Biotechnological production of enantiomeric pure lactic acid from renewable resources: recent achievements, perspectives, and limits. *Appl. Microbiol. Biot.* 2010, 85, 413–423. ISSN 0175-7598.
85. Danner, L., L. Sidorkina, M. Joechl & K. Duerrschmid. Make a Face! Implicit and Explicit Measurement of Facial Expressions Elicited by Orange Juices using Face Reading Technology. *Food Quality and Preference Part B*. 2014, 32, 167-172. ISSN 0950-3293.
86. Songre-Quattara L. T., C. Mouquet-Rivier, C. Icard-Verniere, C. Humblot, B. Diawara, J. P. Guyot. Enzyme activities of lactic acid bacteria from a pearl millet fermented gruel (ben saalga) of functional interest in nutrition. *International Journal of Food Microbiology*. 2008, 128(2), 395–400. ISSN 0168-1605.
87. Selinheimo E, K. Kruus, J. Buchert, A. Hopia, K. Autio. Effects of laccase, xylanase and their combination on the rheological properties of wheat doughs. *Journal of Cereal Science*. 2006, 43(2), 152–159. ISSN 0733-5210.
88. Ishimori, Y., I. Karube and S. J. Suzuki. *Journal of Molecular Catalysis*. 1981, 12, 253. ISSN 1381-1169.
89. Duodu, K., A. Minnaar, V. Preedy, R. Watson & V. Patel. Legume Composite Flours and Baked Goods: Nutritional, Functional, Sensory, and Phytochemical Qualities. *Flour and breads and their fortification in health and disease prevention*. 2011, pp. 193-203. ISBN 9780123808875.
90. Bruemmer J. M., K. Lorenz. European developments in wheat sourdoughs. *Cereal Foods World*. 1991, 36, 310–312. ISSN 0146-6283.
91. Lund B., A. Hansen, M. J. Lewis. The influence of dough yield on acidification and production of volatiles in sourdoughs. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie*. 1989, 22, 150–153.
92. Hansen B., A. Hansen. Volatile Compounds in Wheat Sourdoughs Produced by Lactic-Acid Bacteria and Sourdough Yeasts. *Zeitschrift für Lebensmittel- Untersuchung Und-Forschung*. 1994, 198, 202–209.
93. Bartkienė E., V. Krunglevičiūtė, G. Juodeikienė, D. Vidmantienė, Z. Maknickienė. Solid state fermentation with lactic acid bacteria to improve the nutritional quality of lupin and soya bean. *J. Sci. Food Agric*. 2015, 95(6), 1336-42. ISSN 1097-0010.

94. Wolfenden R., X. Lu, G. Young. Spontaneous hydrolysis of glycosides. *Journal of the American Chemical Society*. 1998, 120, 6814–6815. ISSN 1520-5126.
95. Henrissat B. A. Classification of glycosyl hydrolases based on amino acid sequence similarities. *Biochemical Journal*. 1991, 280(2), 309–316. ISSN 1470-8728.
96. Henrissat, B., A. Bairoch. New families in the classification of glycosyl hydrolases based on amino acid sequence similarities. *Biochemical Journal*. 1993, 293, 781–788. ISSN 1470-8728.
97. Henrissat, B., A. Bairoch. Updating the sequencebased classification of glycosyl hydrolases. *Biochemical Journal*. 1996, 316, 695–696. ISSN 1470-8728.
98. Davies D., B. Henrissat. Structure and mechanisms of glycosyl hydrolases. *Structure*. 1995, 3, 853–859. ISSN 0969-2126.
99. Courtin, C. M., G. G. Gelders, J. A. Delcour. The use of two endoxylanases with different substrate selectivity provides insight into functionality of arabinoxylans in wheat flour breadmaking. *Cereal Chemistry*. 2001, 78, 564–571. ISSN 0009-0352.
100. Ikram-ul-Haq et al. Studies on the biosynthesis of enzyme xylanase by submerged fermentation from *Aspergillus niger* GCBMX-45. *Pakistan Journal of Biological Sciences*. 2002, 104, 315–320. ISSN 1812-5735.
101. Laurikainen T. et al. Effects of enzymes in fibre-enriched baking. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 1998, 76, 239–249. ISSN 1097-0010.
102. Qi Si, J. Synergistic effect of enzymes for breadmaking. *Cereal Foods World*. 1997, 42, 802–807. ISSN 0146-6283.
103. Maat J. et al. Xylanses and their application in baking. In J. Visser et al. Xylan and Xylanases. *Amsterdam: Elsevier*. 1992, pp. 349–360. Prieiga per: doi: 10.1.1.453.2937.
104. Kim J. H., T. Maeda, N. Morita. Effect of fungal α -amylase on the dough properties and bread quality of wheat flour substituted with polished flours. *Food Research International*. 2006, 39, 117–126. ISSN 0963-9969.

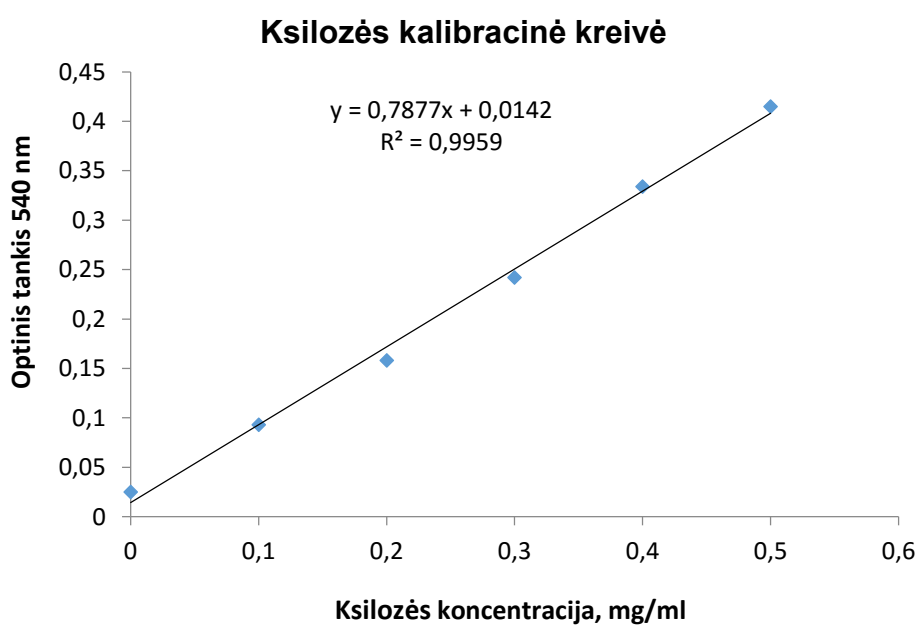
PRIEDAI

1 priedas



2.5 pav. Absorbcijos verčių priklausomybė nuo gliukozės kiekio

2 priedas



2.6 pav. Absorbcijos verčių priklausomybė nuo ksilozės kiekio

