



KAUNO TECHNOLOGIJOS UNIVERSITETAS
CHEMINĖS TECHNOLOGIJOS FAKULTETAS

Eduardas Mačiulis

**SEZONIŠKUMO ĮTAKOS VARŠKĖS SŪRIO GAMYBOS IŠEIGOMS IR
BALTYMŲ POKYČIAMS TYRIMAI**

Baigiamasis magistro projektas

Vadovas

Doc., dr. Jonas Damašius

Kaunas, 2016

KAUNO TECHNOLOGIJOS UNIVERSITETAS
CHEMINĖS TECHNOLOGIJOS FAKULTETAS

**SEZONIŠKUMO ĮTAKOS VARŠKĖS SŪRIO GAMYBOS IŠEIGOMS IR
BALTYMŲ POKYČIAMS TYRIMAI**

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

Vadovas

Doc., dr. Jonas Damašius
2016 06 03

Recenzentas

Doc. dr. Milda Keršienė
2016 06 06

Projektą atliko

Eduardas Mačiulis
2016 06 03

Kaunas, 2016



KAUNO TECHNOLOGIJOS UNIVERSITETAS

Cheminės technologijos fakultetas

(Fakultetas)

Eduardas Mačiulis

(Studento vardas, pavardė)

Maisto mokslo ir saugos programa, 621E40001

(Studijų programos pavadinimas, kodas)

„Sezoniškumo įtakos varškės sūrio gamybos išeigoms ir baltymų pokyčiams tyrimai“

AKADEMINIO SAŽININGUMO DEKLARACIJA

20 16 m. birželio 3 d.

Kaunas

Patvirtinu, kad mano **Eduardo Mačiulio** baigiamasis projektas tema „Sezoniškumo įtakos varškės sūrio gamybos išeigoms ir baltymų pokyčiams tyrimai“ 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)

Mačiulis, Eduardas. Sezoniškumo įtakos varškės sūrio gamybos išeigoms ir baltymų pokyčiams tyrimai. Magistro baigiamasis darbas / vadovas *doc. dr. Jonas Damašius*; Kauno technologijos universitetas, Cheminės technologijos fakultetas.

Mokslo kryptis ir sritis: Technologijos mokslai, Maisto technologijos

Reikšminiai žodžiai: pienas, varškės sūris, išrūgos.

Kaunas, 2016. 71 psl.

SANTRAUKA

Žalio pieno gamyba yra sudėtingas procesas, kuris priklauso nuo daugybės skirtingų veiksnių, kaip galvijų rūšies, laktacijos periodo, galvijaus amžiaus, pašarų ir skirtingų metų laikų. Nuo šių veiksnių priklauso pieno išeigos bei jo cheminė sudėtis. Didesnis superkamo pieno kiekis ne visada lemia didesnes pieno produktų išeigas, ypač tų, kurie pasižymi didesniu baltymų kiekiu. Tai lemia žaliavos cheminė sudėtis t.y. didesni kazeininių baltymų ir kitų komponentų kiekiai.

Vienas iš pieno produktų, kuris savo sudėtyje turi didelį baltymų kiekį ir gaminamas ištisus metus yra tradicinis varškės sūris. Dėl kintančios žaliavos, šiame darbe vertinta galima sezoniškumo įtaka varškės sūrio gamybos išeigoms ir baltymų pokyčiams. Varškės sūrio gamybos technologinio proceso metu be varškės sūrio susidaro ir šalutinis produktas – rūgščios išrūgos. Siekiant pilnai įvertinti baltymų pokyčius pieno mišinyje, rūgščiose išrūgose bei varškės sūryje, buvo analizuojamas bendras baltymų kiekis, kazeininių ir išrūginių baltymų kiekiai bei esantis nebaltyminio azoto kiekis. Nustatyta, kad pieno sudėčiai turėjo įtakos metų laikai. Žiemos periodu – pienas baltymingesnis, riebesnis, gaunamos geresnės sūrio išeigos.

Be naudotų cheminių tyrimo metodų baltymų pokyčiams nustatyti, kurie iš esmės yra brangūs, ilgai trunkantys ir reikalaujantys papildomų įgūdžių jiems atlikti, buvo naudota ir instrumentinė analizė. Pirmiausiai baltymų identifikavimui nustatyti pagal molekulinę masę panaudota vertikalioji elektroforezės sistema. Nustatyta, kad pagrindiniai baltymai pieno mišinyje, išrūgose ir sūrio bandinyje yra α – laktalbuminas, β – laktaglobulinas, serumo albuminas, laktoferinas, α_s – kazeinas, β – kazeinas, κ – kazeinas.

Vėliau pasitelkiant Furjė transformacijos - artimųjų infraraudonųjų spindulių spektroskopiją ir gautus cheminės analizės metu rezultatus, buvo sudarytos kalibracinės kreivės. Tokiu būdu sukurtas varškės sūrio gamybos metu baltymams nustatyti greitas analizės metodas.

Apibendrinant gautus tyrimus nustatyta, kad sezoniškumas turi įtaką varškės sūrio gamybos išeigoms. O su naujai sukurtu greituoju analizės metodu, galima preliminariai nustatyti technologinio proceso kiekybines charakteristikas.

Mačiulis, Eduardas. The Research of Seasonal Influence on the Curd Cheese Production Yields and Protein Changes. Master Final Thesis / supervisor Asocc. prof. dr. Jonas Damašius; Kaunas University of Technology, Faculty of Chemical Technology.

Research area and field: Technological Sciences, Food Technology

Keywords: milk, curd cheese, whey.

Kaunas, 2016. 71 p.

SUMMARY

The process of the raw milk production is considered depended on a lot of different factors, such as kind of the cattle, the period of lactation, the age of the cattle, fodder and also from the different seasons. The yield of the milk and its chemical composition are depended from these factors. The larger yield of the milk is not always depended on the increased quantity of the purchased milk, especially which is distinguished in a higher content of protein. This is due to the chemical composition of the raw material that is to say the larger quantities of casein protein or other component's quantities.

One of the product which is considered having a sufficient large amount of protein in its composition is being produced whole year and is called a traditional curd cheese. Due to the changeable raw materials, the possible influence of the seasonality to the production of the yield curd cheese and the changes of the protein are estimated in this Thesis. During the production of the curd cheese and the whole technological process apart from the curd cheese there is a side product made – acid whey. In order to fully value the changes of the protein in the mixture of the milk, acid whey and also in the curd cheese, the general quantity of protein, the quantities of casein and whey and in existing non-protein nitrogen were analysed. It was found that the mixture of the milk was influenced by seasonality. Milk is considered to have more protein, to be fatty and the better yield of the cheese is received during winter period.

The instrumental analysis is also being used in this Thesis apart from the chemical research method in order to establish the changes of protein which is expensive and also requiring and taking a lot of time and additional skills. Firstly, for the identification of the molecular mass there was the vertical electrophoresis system used. It was found, that the main protein in the mixture of milk and in the ripeness of the whey are α – lactalbumin, β – lactoglobulin, albuminous of the serum, laktoferin, α_s – casein, β – casein, κ – casein.

According to later Fourier Transform – Near Infrared Rays Spectroscopy results were received on the chemical analysis and the calibration curves were made. In this way the fast analysis method was created in order to establish the protein during the curd production process. To sum up all the research, it was established that seasonality has an influence on the whey of the production of the curd cheese. The fast analysis method which was newly created, we can set the qualitative characteristic of the preliminary technological process.

LENTELIŲ SĄRAŠAS

1.1. lentelė. Pieno cheminė sudėtis.....	13
1.2. lentelė. Riebalų rūgščių sudėtis karvės piene	16
1.3. lentelė. Vitaminų kiekis piene	18
1.4. lentelė. Pieno baltymų aminorūgščių sudėtis	19
1.5. lentelė. Kazeino micelės sudėtis.....	20
1.6. lentelė. Pieno baltymų klasifikacija.....	22
1.6. lentelė. Lietuviško varškės sūrio cheminė sudėtis 100 g produkto	24
1.7. lentelė. Rūgščių išrūgų cheminiai ir fizikiniai rodikliai	30
2.1. lentelė. baltymų standarto paruošimas.....	46
2.2. lentelė. Bandinių paruošimas.....	46
3.1. lentelė. Rūgščių išrūgų baltyminės sudėties pokyčiai	54
3.2. lentelė. 13 % riebumo varškės sūrio sudėties rodiklių kitimas metų eigoje.....	55
3.3. lentelė. Baltymų junginiai nustatyti elektroforezės būdu	58
3.4. lentelė. NIR junginių grupės.....	59
3.5. lentelė. Tiriamųjų objektų kalibracinių kreivių kokybiniai rodikliai	63

PAVEIKSLŲ SĄRAŠAS

1 pav. Kazeino micelės struktūra.....	21
2 pav. 13 % riebumo varškės sūrio gamybos technologinė shema	26
3 pav. Lieso varškės sūrio sutraukos mikrostruktūra skirtingais varškės gamybos periodais.....	27
4 pav. Principinė FT – NIR spektrofotometro schema	34
5 pav. NIR spektras	35
6 pav. SDS-PAGE analizės principinė schema	37
7 pav. Tiriamajame darbe vykdytų eksperimentų schema	39
8 pav. Kjeldalio mineralizavimo blokas (Labor-Technik GmbH - Vokietija)	40
9 pav. Distiliaviavimo blokas Unit S4 (Labor-Technik GmbH - Vokietija)	41
10 pav. MilkoScan™ FT 120 (Foss, Danija).....	43
11 pav. Nova safety (Funke Gerber, Vokietija) centrifūga	45
12 pav. Vertikalios elektroforezės principinė schema.....	45
13 pav. FT – NIR MPA™ spektrofotometras (Bruker optika, Vokietija).....	47
14 pav. Sūrių išėigos priklausomybė nuo pieno mišinio sudėties	50
15 pav. Pieno mišinio kazeininių ir išrūginių baltymų sudėties kitimas	51
16 pav. Pieno mišinio, išrūgų, varškės sūrio bandinių nebaltyminio azoto kitimas.....	52
17 pav. Bendras, kazeininių ir išrūginių baltymų kitimas, kai sūrio S.M. 100 %	56
18 pav. SDS-PAGE analizės rezultatai.....	57
19 pav. Tiriamojo darbo objektų spektrai.....	60
20 pav. Pieno mišinio kalibracinės kreivės	61
21 pav. Išrūgų kalibracinės kreivės	62
22 pav. Varškės sūrio kalibracinės kreivės.....	63

SANTRUMPOS

KSA – kraujo serumo albuminai.

NAJ – nebaltyminiai azoto junginiai.

SDS-PAGE – natrio dodecilsulfato denatūruojanti poliakrilamidinio gelio elektroforezė (angl. *sodium dodecylsulphate polyacrylamidic gel electrophoresis*).

FT – NIR – Furjė transformacijos – artimųjų inforaudonųjų spindulių spektroskopija.

FT – IR - Furjė transformacijos – vidutinio ilgio inforaudonųjų spindulių spektroskopija.

PLS – statistinis mažiausias kvadratų metodas.

R² – koreliacijos koeficientas.

RMSECV - mažiausia kvadratų validacinė paklaida.

UAT – ultra aukšta temperatūra.

LDS – ličio dodecilsulfatas.

S.M. – sausosios medžiagos

TURINYS

1. LITERATŪROS APŽVALGA.....	13
1.1. Pieno cheminė sudėtis ir savybės.....	13
1.1.1. Pieno baltymų cheminė sudėtis ir savybės.....	19
1.1.2. Sezoniškumo įtaka pieno sudėčiai	22
1.2. Varškės sūrio sudėtis ir savybės.....	23
1.3. Šalutinis varškės sūrio gamybos produktas	29
1.4. Pieno pramonėje naudojami instrumentiniai analizės metodai.....	32
1.4.1. FT – IR pritaikymas pieno pramonėje	32
1.4.2. FT – NIR pritaikymas pieno pramonėje	34
1.4.3. Elektroforezės metodas	36
2. TYRIMŲ OBJEKTAI IR METODAI	38
2.1. Tiriamojo darbo objektai.....	38
2.2. Cheminiai reagentai ir medžiagos.....	39
2.3. Tyrimų metodai.....	40
2.3.1. Bendras azoto ir baltymų kiekis piene, išrūgose ir sūryje.....	40
2.3.2. Nebaltyminio azoto kiekio nustatymas piene, išrūgose ir sūryje.....	41
2.3.3. Nekazeininio azoto kiekio nustatymas piene, išrūgose ir sūryje	42
2.3.4. Pieno mišinio baltymų, riebumo nustatymas	43
2.3.5. Titruojamasis rūgštingumas	43
2.3.6. Sausųjų medžiagų kiekis sūryje	44
2.3.7. Riebalų kiekis sūryje.....	44
2.3.8. Baltymų sudėties nustatymas elektroforezės metodu	45
2.3.9. Kalibracinių kreivių kūrimas FT-NIR spektrofotometru	47
2.3.10. Statistinė analizė	48
3. REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS	49
3.1. Sezoniškumo įtakos varškės sūrio gamybos išeigoms ir cheminės sudėties pokyčiams tyrimai.....	49
3.1.1. Sūrio išeigos priklausomybė nuo pieno mišinio sudėties	49
3.1.2. Pieno mišinio baltymų kiekybiniai pokyčiai.....	51
3.1.3. Nebaltyminio azoto kiekis pieno mišinyje, išrūgose ir sūryje	52
3.1.4. Išrūgų baltymų kiekybiniai pokyčiai.....	53
3.1.5. Sūrio cheminės sudėties kiekybiniai pokyčiai	54
3.2. Pieno mišinio, išrūgų ir varškės sūrio kokybinė baltymų kokybinė sudėtis	57
3.3. Varškės sūrio gamybos metu, kazeininių ir išrūginių baltymų kiekiui nustatyti, greitojo analizės metodo kūrimas.....	59
IŠVADOS	64
LITERATŪRA.....	65

PADĖKA	70
GYVENIMO APRAŠYMAS (CV)	71

IVADAS

Kiekvieną dieną milijonai žmonių visame pasaulyje vartoja pieną ir pieno produktus. Pienas šiems žmonėms gyvybiškai svarbus ne tik kaip maisto šaltinis, tačiau ir kaip pragyvenimo šaltinis – ūkininkams, perdirbėjams, prekybininkams. Tačiau dar ir dabar didelei žmonijos daliai pienas ir pieno produktai nėra prieinami, todėl labai svarbu, kuo geriau įsisavinti visas pieno teikiamas gerąsias savybes, mažinti gamybos nuostolius, didinti efektyvumą bei pasiekti geriausius gamybos rezultatus.

Lietuva garsėja savo lietuvišku varškės sūriu, kuris yra specifinis produktas, būdingas mūsų regionui, todėl 2013 m. Europos Komisija į geografiškai saugomų produktų sąrašą įtraukė šį produktą, kuris mūsų krašte buvo gaminamas jau viduramžiais. Tačiau lietuviško varškės sūrio tema nėra atlikta daug mokslinių darbų, mažai žinoma apie cheminius baltymų pokyčius, kuriuos sukelia sezoniškumo veiksniai.

Pieno pramonės sektorius sparčiai modernizuojamas, lieka vis mažiau rankinio darbo. Tačiau lietuviško varškės sūrio gamyba net ir pramoniniu būdu nėra pilnai automatizuota, reikalauja daug rankų darbo. Dėl šios priežasties gaminant šį sūrį sunku gauti pagal standartus reikalingus nuolat vienodus cheminius rodiklius – sausųjų medžiagų kiekį, riebumą. Cheminiai metodai, kurie naudojami tiriant varškės sūrį, reikalauja didelių laiko sąnaudų, reagentų, taip pat reikalingas žmonių darbo preciziškumas. Remiantis Furjė transformacijos – artimųjų inforaudonųjų spindulių spektroskopija (toliau – FT-NIR) galima sukurti varškės sūrio gamybai skirtą instrumentinį greitąjį metodą, kuris leistų nustatyti riebalus, sausąsias medžiagas, bendrąjį baltymų, išrūginių baltymų ir kazeininių baltymų kiekį.

Lietuvos pieno pramonėje nėra plačiai paplitusi praktika tirti pieno išrūginių, kazeininių baltymų, nebaltyminio azoto kiekį. Dažniausiai vertinamas tik bendras baltymų kiekis, o tai sukelia sunkumų gaminant sūrius, varškę. Pasitelkus FT-NIR ir Remiantis Furjė transformacijos – inforaudonųjų spindulių spektroskopija (toliau – FT-IR) metodus galima sukurti greituosius metodus šiems komponentams tirti. Taip pat sukūrus metodą, kuris leistų nustatyti kiek piene, sūryje ir išrūgose yra išrūginių, kazeininių baltymų, gaminant sūrį pramoniniu būdu galima efektyviai keisti parametrus, kurie labiausiai priartintų prie didžiausios sūrio išeigos ir mažiausių nuostolių. Lietuvos pieno pramonės įmonėse nėra efektyviai naudojamos sūrio gamybos metu likusios išrūgos. Taip pat ne visos įmonės analizuoja, kokia yra išrūgų cheminė sudėtis, todėl šis metodas leistų tiksliau žinoti, kokius nuostolius patiria įmonė dėl neefektyvaus technologinio proceso, kurio metu prarandami baltymai.

Pieno pramonėje pasitaiko ir sukčiavimo atvejų, kai falsifikuojamas pienas. Į žalią pieną sąmoningai pridedama priedų ir taip pakeičiama jo pirminė sudėtis. Taip pat karvės šeriamos papildais, kurie pakelia piene esantį bendrąjį azoto kiekį, tačiau tai nėra baltymai – dažniausiai tai būna urėja, ar tiesiog amino rūgštys. Dažniausiai įmonėse esantys „Milkoscan“ FT 120 ir „Lactoscope“ įrengimai sukalibruoti taip, jog rodytų tik bendrąjį azoto kiekį, todėl pašalinės medžiagos identifikuojamos kaip baltymai ir tai sunkina technologinį procesą, negaunama tokia sūrio išeiga, kokios tikėtasi.

Todėl **Baigiamojo magistro projekto tikslas** – nustatyti sezoniškumo įtaką varškės sūrio gamybos išėigoms ir cheminės sudėties (baltymų) pokyčiams, bei naudojant FT – NIR įrangą sukurti baltymams nustatyti greitąjį analizės metodą. Šiam tikslui įgyvendinti yra išsikeliami tokie **tiriamąjo darbo uždaviniai**:

1. Nustatyti sezoniškumo įtaką varškės sūrio gamybos išėigoms;
2. Įvertinti skirtingu sezoniškumu cheminės sudėties (baltymų) pokyčius pieno mišiniuose, išrūguose ir varškės sūryje.
3. Atlikti pieno mišinio, išrūgų ir varškės sūrio baltymų kokybinės sudėties tyrimus.
4. Sukurti varškės sūrio gamybos metu, kazeiniams ir išrūginiams baltymams piene, išrūgose ir sūryje nustatyti greitąjį metodą, pasitelkiant FT – NIR įrangą.

1. LITERATŪROS APŽVALGA

1.1. Pieno cheminė sudėtis ir savybės

Pienas – tai daugiakomponentė nevienodos sudėties ir itin sudėtinga sistema, kurios dispersinėje terpėje yra ištirpusios bei nevienodai pasiskirsčiosios sausosios medžiagos [1]. Pieną gamina laktuojantys žinduoliai [2]. Pienas vaidina labai svarbų vaidmenį žinduolių gyvenime – tai yra pirmasis maistas, kuriuo maitinasi ką tik gimęs jauniklis. Nors nėra nustatyta tikslios laktacijos funkcijos atsiradimo priežasties, tačiau mokslininkai laktaciją sieja su apsaugine funkcija [3]. Laktacija – svarbus vystymosi elementas visų žinduolių istorijoje – *kloakiniams*, *sterbliniams* ar *euteriniams* gyvūnams. Ši funkcija išsivystė prieš daugiau nei 250 milijonų metų *synapsid* rūšies gyvūnams, kurių vieninteliai šiuolaikiniai palikuonys ir yra žinduoliai [4]. Ankstyvieji *synapsids* rūšies gyvūnai dėdavo kiaušinius su apsauginiu sluoksniu, kuris saugojo kiaušinius nuo išdžiūvimo. Evoliucijos metu šiek tiek kito šių išskyrų atliekamos funkcijos jauniklių vystymesi – pradiniam laikotarpyje šios išskyras tiesiog atliko apsauginį vaidmenį, vėliau vystantis pieno liaukoms iš plaukų folikolų bei apokritinių liaukų, šios išskyras tapo turtingos antimikrobinių bei maistingų medžiagų įvairove, kurios buvo pritaikytos maitinti jauniklius [3].

Pienas – tai koloidinė sistema, kurioje pieno riebalų lašeliai (dispersinė fazė) stabilizuoti, bei disperguoti vandens fazėje (dispersinėje terpėje). Pieno struktūrai didžiausią įtaką turi riebalai ir baltymai, iš kurių labiausiai – kazeinas. Tačiau stabilizuojant emulsiją, kontroliuojant pH ir joninę jėgą dalyvauja ir išrūginiai baltymai, laktozė, mineralinės medžiagos [5]. Nors pieno sudėtis priklauso nuo karvių veislės, tačiau netgi toje pačioje bandoje esančių karvių pieno sudėtis skiriasi. Orientaciniai skaičiai pateikti 1.1 lentelėje [6].

1.1. lentelė. Pieno cheminė sudėtis [6]

Rodiklio pavadinimas	Vidutinis kiekis piene (%)	Rezultatų intervalas (%)	Vidutinis kiekis sausojoje medžiagoje (%)
Vanduo	87,1	85,3 - 88,7	-
Sausosios pieno neriebalinės medžiagos	8,9	7,9 - 10,0	-
Riebalų kiekis sausojoje medžiagoje	31	22 - 38	-
Laktozė	4,6	3,8 - 5,3	36
Riebalai	4,0	2,5 - 5,5	31
Baltymai	3,3	2,3 - 4,4	25
Kazeinas	2,6	1,7 - 3,5	20
Mineralinės medžiagos	0,7	0,57 - 0,83	5,4
Organinės rūgštys	0,17	0,12 - 0,21	1,3

Didžiausią dalį medžiagų, esančių piene, sudaro vanduo. Piene vanduo išskiriamas į keturias rūšis: laisvasis, kristalizacinis, brinkimo ir absorbcinis vanduo [7]. Piene 95 – 97 % sudaro laisvasis pieno vanduo. Šis vanduo nėra susijęs su pienu sudedamosiomis dalimis, tai pienu organinių ir neorganinių junginių tirpiklis [7]. Laisvasis vanduo lengvai pašalinamas apdorojant pienu mechaniniu, fizikiniu ar šiluminiu būdu. Koloidiniame būvyje ištirpusių pienu sudedamųjų dalių (baltymų, fosfolipidų, polisacharidų) paviršiuje susikaupęs vanduo yra absorbcinis [8]. Absorbcinis pienu vanduo sudaro 2 – 3,5 % bendrojo pienu vandens. Brinkimo vanduo – pienu koloidinių micelių vanduo, didžiausią jo dalį sudaro pienu baltymų micelėse esantis vanduo. Pienu brinkimo vanduo taip pat lengvai pašalinamas pienu apdorojant šiluminiu, mechaniniu ar fizikiniu – cheminiu būdu. Kristalizacinis vanduo – sujungtas su pienu sudedamųjų dalių kristalais. Šio vandens didžiausią dalį sudaro laktozės kristalizacinis vanduo. Jis pašalinamas tik kaitinant pienu 125 – 135 °C temperatūroje [7].

Pienas yra geras maistinių medžiagų, tokių kaip anglis, azoto bei mikroelementai šaltinis. Taip pat piene yra gausu vitaminų bei mineralinių medžiagų. Tačiau pienas yra unikalus dėl savo cukraus – laktozės, kuri natūraliai būdinga tik pienui [6]. Dauguma mikroorganizmų stokoja fermento laktazės, kuri reikalinga skaidyti laktozę į jos komponentus – gliukozę ir galaktozę. Laktozė sudaro 30 % visos pienu išskiriamos energinės vertės. Pienu cukraus piene yra 4,6 %. Laktozė – disacharidas, susidedantis iš β – D – galaktopiranozės ir α – D – gliukopiranozės [9]. Laktozė turi laisvą hidroksilą, todėl pasižymi redukuojančiomis savybėmis. Temperatūros veikiamą laktozę jungiasi su pienu cheminiais junginiais ir susidaro nauji junginiai, kurie gali pakeisti gaminamo produkto kokybę. Laktozė nepakinta trumpai kaitinant 90 °C – 95 °C temperatūroje, tačiau sterilizuojant 120 – 122 °C temperatūroje laktozė gali jungtis su baltymais ir aminorūgštimis. Susidaro rudos spalvos junginiai – melanoidinai, kurie gali turėti karamelės kvapą bei prieskonį. Pienu temperatūrai pasiekus 160 – 170 °C, laktozės molekulėje esanti gliukozė transformuojasi į fruktozę, o vėliau į laktuliozę [9].

Gaminant raugintus pienu produktus laktozės svarbiausia funkcija yra sudėtingas skilimo procesas – rauginimas. Rauginimo metu vyksta pienu baltymų pokyčiai, susiformuoja produkto struktūra. Laktozės rūgimą sukelia pienu rūgšties raugo bakterijų išskiriamas fermentas β – galaktozidazė (laktazė), kuri katalizuoja disacharido laktozės hidrolizę ir ši suskyla į du monosacharidus – gliukozę ir galaktozę bei susidaro piruvo rūgštis. Vėliau redukuojantis piruvo rūgščiai susidaro pienu rūgštis [2]. Taip pat susidaro daug mažos molekulinės masės junginių, tarp jų įvairių rūgščių, nuo kurių kiekio priklauso produkto skonis, aromatas ir konsistencija [9].

Pienu riebalai – kalingiausia pienu sudedamoji dalis. Karvės pienas turi maždaug 4 % riebalų [6]. Šviežiame piene riebalai yra emulguoti ir pasiskirstę globulių pavidalu. Pienu riebalų globulė yra struktūriškai ir kompozitiškai sudėtinga [19]. Pienu riebalus sudaro: trigliceridai (95 %), digliceridai (1,3 % – 1,6 %), monogliceridai (0,02 % – 0,04 %), laisvosios riebalų rūgštys (0,3 %), fosfolipidai (0,9 %),

cholesterolis (0,3 %) [2]. Fosfolipdų kiekis piene mažas, bet jie piene atlieka antioksidantų funkciją. Didžioji dalis fosfolipdų (58 %) kartu su baltymais įeina į riebalų globulių sudėtį, o kita dalis pasiskirsčiusi pieno plazmoje [19].

Vidutinis globulių skersmuo yra 2 – 6 μm , tačiau svyravimo ribos gana plačios: nuo 100 iki 10000 nm. Kadangi pieno riebalų globulės yra įvairaus dydžio, žalio pieno riebalų emulsija yra nepatvari. Žalią pieną laikant riebalų globulės išskyla į paviršių ir sudaro grietinėlės sluoksnį. Greičiausiai išskyla didelės globulės [2].

Kiekvienas pieno riebalų globulės sluoksnis tvarkingai išsidėstęs pagal lydymosi temperatūrą. Riebalai su aukščiausių lydymosi temperatūrą turinčiomis rūgštimis yra kiečiausi ir išsidėsto globulės paviršiuje. Tolyne nuo paviršiaus išsidėsto riebalai, kurie savo sudėtyje turi riebalų rūgštis su mažesne lydymosi temperatūra. Pačiame globulės centre riebalai yra skysti [7]. Visi pieno riebalai melžimo metu yra skystos būsenos ir kristalizuojasi iki 100 %, kai temperatūra sumažėja žemiau $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$. Platus pieno riebalų lydymosi temperatūros intervalas leidžia frakcionuoti pieno riebalus pagal lydymosi temperatūrą [20].

Pieno riebalų globulės paviršiaus sluoksnis susideda iš skirtingų trigliceridų ir vadinamas pieno riebalų globulės membrana. Sezoniškumas, mitybos pokyčiai, veislė ir laktacijos ciklas keičia pieno riebalų globulės trigliceridų sudėtį. Be to, pieno riebalų globulės sudėtis keičiasi karvės tešmenyje netgi po melžimo [21].

Flokuliacija, koalescencija, riebalų išsisluoksniavimas, pieno riebalų lipolizė turi didelę įtaką pieno koloidinės sistemos stabilumui, tačiau pieno riebalų globulės membrana sumažina tokių reiškinių poveikį [19]. Taip pat pieno riebalų globulės membrana mažina paviršiaus įtempimą, todėl nuo jos stiprumo ir elastingumo priklauso emulsijos stabilumas. Membrana yra apie 10 nm storio ir susideda iš baltymų, glikoproteinų, fermentų, fosfolipidų, trigliceridų, vandens bei cholesterolio [19]. Pieno riebalų globulės paviršius nėra labai patvarus. Jis gali būti pažeistas arba visai suardytas dėl mechaninio poveikio (mušant sviestą) bei cheminio (veikiant rūgštims). Šių poveikių metu riebalų rutulėliai gali sulipti, sudaryti riebalų kruopeles arba išsiskirti skystis [2]. Sūrio gaminimo metu, jei pieno mišinys homogenizuojamas per dideliame slėgyje, pieno mišinio paviršiuje atsiranda pieno riebalų rutulėliai. Taip prarandami riebalai, nes šie rutulėliai dažniausiai pasišalina į išrūgas.

Pieno baltymai, kurie randami pieno riebalų globulės membranoje sudaro iš viso $\sim 1\%$ esančių piene baltymų kiekį [22]. Žaliam piene pieno riebalų globulės membranos storis ir atstumas tarp membranų skiriasi. Tačiau pienas pasterizuojamas ir homogenizuojamas, todėl membranos storis suvienodinamas, o emulsija tampa stabilesnė. Homogenizacija padidina pieno riebalų globulės bendrą paviršiaus plotą nuo 4 iki 8 kartų [19]. Kano – Ruiz teigia, kad šį padidėjusį paviršiaus plotą padengia naujas „sintetinis“ paviršius,

kuris susideda iš senojo pieno riebalų globulės membranos (10 %), kazeino (70 %) bei išrūginių baltymų – daugiausiai β – laktoglobulino [23].

Pieno riebalai turi 140 skirtingų riebiųjų rūgščių. Pagrindinės pateikiamos riebiosios rūgštys, kurios sutinkamos piene, pateiktos 1.2. lentelėje. Didelę įtaką riebiųjų rūgščių sudėčiai piene turi metų laikas, laktacijos periodas, pašarai, galvijo veislė. Nuo riebalų rūgščių sudėties, kiekio bei tarpusavio santykio priklauso riebalų savybės [24].

Riebalų rūgštys gali būti sočiosios ir nesočiosios. Didesnę biologinę vertę turi nesočiosios riebalų rūgštys, ypač polinesočiosios. Šių rūgščių biologinė vertė priklauso ne tik nuo bendro atskiros rūgšties kiekio, bet ir nuo jos struktūros, nuo dvigubųjų ryšių erdvinio išsidėstymo. Vasaros sezone, palyginus su žiemos sezonu, riebaluose daugiau nesočiųjų riebalų rūgščių [2]. Linolo ir linoleno rūgštys yra svarbiausios. Jos organizme nesusidaro, todėl jos vadinamos nepakeičiamomis. Arachidono rūgštis taip pat nepasigamina organizme, tačiau ją organizmas gali susintetinti iš linolo rūgšties dalyvaujant vitaminui B₆. Konjuguotosios linolo rūgštys daugiau randama raugintuose pieno produktuose (varškė, varškės sūris, kefyras). Moksliniais tyrimais nustatyta, jog pieno rūgšties bakterijos paprastą linolo rūgštį paverčia konjuguotąja [25].

1.2. lentelė. Riebalų rūgščių sudėtis karvės piene [26]

Anglies atomų skaičius	Rūgšties pavadinimas	Kiekis
C4:0	Butano (sviesto) rūgštis	3,1-4,4
C6:0	Heksano (kaprono) rūgštis	1,8-2,7
C8:0	Oktano (kaprilo) rūgštis	1,0-1,7
C10:0	Dekano (kaprino) rūgštis	2,2-3,8
C12:0	Dodekano (laurino) rūgštis	2,6-4,2
C14:0	Tetradekano (miristino) rūgštis	9,1-11,9
C14:1	9-tetradeceno (miristoleo) rūgštis	0,5-1,1
C15:0	Pentadekano rūgštis	0,9-1,4
C16:0	Heksadekano (palmitino) rūgštis	23,6-31,4
C16:1	9-heksadeceno (palmitoleo) rūgštis	1,4-2,0
C18:0	Oktadekano (stearino) rūgštis	10,4-14,6
C18:1 cis	9-oktadeceno (oleino) rūgštis	14,9-22,0
C18:1 trans	9-oktadeceno (oleino) rūgštis	3,9
C18:2	9,12-oktadekadieno (linolo) rūgštis	1,2-1,7
C18:2 conj	9,12-oktadekadieno (konj. linolo) rūgštis	0,8-1,5
C18:3	9,12,15-oktadekatrieno (α -linoleno) rūgštis	0,9-1,2
C20:0	Eukozano (arachino) rūgštis	0,1-1,3

Piene aptinkami vitaminai pagal savo fizikines – chemines savybes yra skirstomi į tirpstančius riebaluose (A, D, E, K) bei tirpstančius vandenyje (B₁, B₂, B₃, B₆, B₁₂, C, H, P) [27]. Vitaminai yra svarbi pieno sudedamoji dalis. Didžioji dalis piene esančių vitaminų yra laisvos formos, todėl žmogaus

organizmas juos labai lengvai įsisavina. Terminio apdorojimo metu piene vitaminų kiekis nežymiai sumažėja. Riebaluose tirpių vitaminų kiekis praktiškai nepakinta [2]. Vitaminų kiekis piene yra nepastovus ir priklauso nuo pašarų kokybės, galvijo virškinamojo trakto mikroorganizmų, metų laiko, galvijo veislės, fiziologinės būklės, individualių savybių [28]. Vitaminų kiekis ir paros norma žmogaus organizmui pateikta 1.5. lentelėje.

Vitamins A (retinolis) grupės vitaminai į pieną patenka iš galvijo kraujo, todėl jų kiekis priklauso nuo pašarų kokybės. Daugiausiai vitamino A ir karotenoidų yra vasaros laikotarpio piene, kai galvijo pašaruose yra daug karoteno. Vitaminas A priskiriamas prie gamtinių pigmentų, suteikia pienui gelsvą atspalvį, o sviestui – ryškiai geltoną spalvą. Pasterizacijos metu šio A grupės vitaminų gali sumažėti iki 20 – 30 % [32]. Vitamins A kiekis piene taip pat mažėja laikymo metu [2].

Gyvulio organizme Vitamins D₃ sintetinamas iš ergosterino, kurio yra augaliniuose pašaruose, veikiant ultravioletiniai spinduliuotei. Todėl vitamino D₃ kiekis priklauso nuo pašarų ir metų laiko. Vasarą šio vitamino kiekis piene būna 5 – 8 kartus didesnis nei žiemą. [29]. D grupės vitaminai pasižymi stabilumu. Išlieka nepakitę pasterizuojant, sterilizuojant, atsparūs oksidacijai ir šviesos poveikiui [30].

Vitamins E (tokoferolis) yra grupė tokoferolių iš kurių svarbiausias yra α – tokoferolis. Didžiausias tokoferolių kiekis piene yra vasaros metu [2].

Vitamins K (filochinonas) yra grupė vitaminų iš kurių svarbiausi yra K₁ (sintetinamas augaluose) ir K₂ (sintetinamas žarnyno bakterijų). Šis vitaminas atsparus temperatūros poveikiui.

Vitamins C (askorbo rūgštis) labai neatsparus šviesos ir deguonies poveikiui. Šio vitamino ženkliai sumažėja dėl oksidacijos – redukcijos reakcijų, taip pat pasterizacijos, pieno rauginimo metu. Vitaminą C sintetina galvijo skrandžio mikroorganizmai. Šio vitamino daugiausiai rudens ir žiemos sezono piene [31].

Vitamino B₁ (tiaminas) laisvos vitamino formos piene kiekis yra nepastovus – nuo 50 iki 70 % (nuo bendro kiekio). Kita jo dalis yra junginiuose su baltymais. Tiaminas, neįprastai vandenyje tirpiems vitaminams, yra atsparus temperatūros poveikiui. Piene tiaminas labai reikalingas pieno rūgšties bakterijų vystymuisi [2].

Vitamins B₂ (riboflavinas) jautrus šviesai, tačiau atsparus temperatūros poveikiui, šarminėje terpėje greitai suyra, o rūgščioje ir neutralioje terpėje išlieka stabilus. Vitamins B₂ išrūgoms suteikia žalsvą spalvą [31].

Vitaminą B₆ (piridoksina) sudaro grupė junginių (piridoksolis, piridoksalis, piridoksaminas) pasižymintį panašiomis biologinėmis savybėmis. Šis vitaminas atsparus temperatūros poveikiui, tačiau nestabilus šviesos poveikyje. Piene 86 % vitamino B₆ yra laisvos formos, kita dalis – kofermentų sudėtyje. Rudens sezono būna daugiausiai šio vitamino [30].

Vitamins B₉ (folio rūgštis) yra būtinas pieno rūgšties bakterijų vystymuisi. Didesnis folio rūgšties kiekis piene pagerina raugintų pieno produktų kokybę. Folio rūgštį gamina galvijo virškinamojo trakto

mikroorganizmai. Pieno terminio apdoravimo metu iki 20 % šio vitamino suyra, tačiau raugintuose produktuose folio rūgštis randami žymiai didesni kiekiai, nei piene, todėl manoma, kad pieno rūgštis bakterijos sintetina folio rūgštį [33].

Vitaminą B₁₂ (kobalaminą) sintetina galvijų virškinimo sistemos mikroorganizmai. Nors šio vitamino kiekis nepriklauso nuo galvijui duodamų pašarų, tačiau metų eigoje vitamino B₁₂ kiekis skiriasi – daugiausiai randama rudenį. Piene vitamino B₁₂ daugiausiai yra baltymų sudėtyje (70 %) [2].

Biotiną (vitaminas H) sintetina galvijų skrandžio mikroorganizmai. Jis atsparus temperatūros ir šviesos poveikiui. Biotinas ypač svarbus pieno rūgštis bakterijų ir mielių vystymuisi. Dėl biotino trūkumo gyvulių mitybos racione, gali sumažėti α – albuminų ir β – globulinų sintezė, baktericidinis bei bakteriostatinis lizocimo aktyvumas [29].

Pantoteno rūgštis (vitaminas B₅) taip pat labai reikalingas pieno rūgštis bakterijų ir mielių vystymuisi. Jei piene trūksta šio vitamino, pieno rūgštis bakterijos vystosi lėtai, todėl šio vitamino trūkumas gali turėti neigiamos įtakos raugintų pieno produktų gamybos procesams [30].

1.3. lentelė. Vitaminų kiekis piene [34]

Vitaminas	RPN Reglamentas Nr. 1169/2011	Vidutiniškai 100 g piene	Dalis reikalingo paros kiekio (%) suvartojus 100 g pieno
A (retinolis), µg	800	40	5,0
D (kalciferolis), µg	5	0,05	1,0
E (tokoferolis), µg	12	0,11	0,9
K (filochinonas), µg	75	3,5	4,6
C (askorbo rūgštis), mg	80	1,0	1,25
B1 (tiaminas), mg	1,1	0,04	3,64
B2 (riboflavinas), µg	1,4	0,17	12,1
Niacinas, nikotino rūgštis, mg	16	0,1	0,62
B6 (piridoksinas), mg	1,4	0,05	3,57
Folio rūgštis (vitaminas B9), µg	200	5,0	2,5
B12 (kobalaminas), µg	2,5	0,4	16,0
Biotinas (vitaminas H), µg	50	3,0	6,0
Pantoteno rūgštis (vitaminas B5), mg	6	0,27	4,5

Piene mineralinės medžiagos yra organinių ir neorganinių druskų pavidalu. Kalcio citratas, kalio dihidrofosfatas, kalio hidrofosfatas, kalio citratas piene yra joninės būklės [7]. Dalis šių junginių susidaro galvijų organizme, kita dalis iš pašarų, todėl mineralinių medžiagų kiekis piene priklauso nuo galvijų veislės, jo fiziologinės būklės, pašarų bei metų laiko. Laktacijos pradžioje ypač daug fosforo, kalcio, natrio bei magnio. Vėlesniu laktacijos periodu šie kiekiai sumažėja, bet paskutinėmis laktacijos savaitėmis didėja fosforo, chloridų bei kalcio kiekis ir pienas įgyja kartumo prieskonį.

Makroelementai turi didelę reikšmę pieno produktų gamybos procesams, nuo jų priklauso technologinių procesų eiga, gaminamų produktų kokybė. Kalcis ypač svarbus kazeino micelėms. Apie 22 % kalcio yra kazeino micelių sudėtyje. Kalcio jonų kiekis turi didelę įtaką kazeino micelių dydžiui – kuo mažesnis kalcio kiekis pieno mišinyje, tuo kazeino dalelės yra mažesnės. Kalcio jonų perteklius, gali įtakoti ne tik kazeino micelių padidėjimą, bet ir jų koaguliaciją. Esant didesniai kalcio kiekiui kazeino dalelių koaguliacija tampa priklausoma nuo temperatūros ir keliant temperatūrą greitėja koaguliacija [26]. Kitas labai svarbus makroelementas yra fosforas. Fosforas yra neorganinių ir organinių junginių sudėtyje. 63 – 66 % fosforo įeina į kazeino dalelių, fosfolipidų, įvairių kofermentų ir nukleorūgščių sudėtį [7].

Piene mikroelementų yra apie 30. Mikroelementų kiekis piene priklauso nuo galvijų fiziologinės būklės, laktacijos laiko, pašarų. Mikroelementai piene yra baltymuose, biologiškai aktyviuose junginiuose ir kitose pieno sudedamosiose dalyse. Pvz. cinkas yra kazeino micelės paviršiuje, varis junginiuose su kazeinu, išrūgų baltymais ir fosfolipidais [35]. Jodas piene yra aminorūgštyse įeinančiose į baltymų (daugiausiai kazeino) sudėtį. Tokių aminorūgščių vien tik kazeine yra 13 [36].

1.1.1. Pieno baltymų cheminė sudėtis ir savybės

Pieno baltymai yra svarbiausia, biologiškai vertingiausia, sudėtingiausia ir didžiausią įtaką sūrio gamybai pieno sudėtinė dalis. Organiniai junginiai, sudaryti iš α – aminorūgščių, turintys šarmines amino – NH_2 ir rūgštines karboksilo – COOH grupes vadinami baltymais. Pieno baltymus sudaro du pagrindiniai komponentai – kazeinas ir išrūginiai baltymai. Visos žmogaus organizmui reikalingos pakeičiamas ir nepakeičiamas aminorūgštis turi pieno baltymai. Dėl šios priežasties pieno baltymai vadinami visaverčiais [52]. Aminorūgščių sudėtis ir kiekis pateikta 1.4. lentelėje [51].

1.4. lentelė. Pieno baltymų aminorūgščių sudėtis [51]

Amino rūgšties pavadinimas		Kiekis, %			
visas	sutrumpintas	β - laktoalbumine	α - laktoalbumine	Pieno baltyme	Kazeine
<i>Nepakeičiamos aminorūgštys</i>					
Fenilalaninas	Fen	3,2	4,2	4,7	5,0
Izoleucinas	Ile	6,2	6,4	4,8	6,1
Leucinas	Leu	13,6	10,4	7,8	9,2
Lizinas	Liz	11,5	11,7	9,1	8,2
Metioninas	Met	1,0	3,2	2,3	2,1
Treoninas	Tre	4,4	5,0	5,5	4,9
Triptofanas	Tri	2,0	5,3	1,9	1,7
Valinas	Val	5,4	4,2	6,2	7,2

Piene baltymų yra apie 3,3 %. Pieno baltymai tarpusavyje skiriasi sandara, fizikinėmis, cheminėmis ir biologinėmis savybėmis [7]. Pieno struktūrą stipriai įtakoja koloidinės prigimties baltymų komponentai – 80 % piene esančių baltymų sudaro kazeinas. Kazeinas turi dvi pagrindines funkcijas: transportinę –

perduoda kalcį iš motinos organizmo jaunikliams ir apsauginę – kazeinas sudaro su koloidiniu kalcio fosfato sudėtingos struktūros micelę. Be to, iš šios micelės kalcis yra daug lengviau pasisavinamas organizmo, ypač kūdikių [12]. Įprastai kazeino kiekis piene kinta nuo 2,4 % iki 2,8 %. Pagrindiniai kazeino baltymai yra α_{s2} –, α_{s1} –, β – ir κ –, jų santykis piene atitinkamai yra 1 : 4 : 4 : 1. Ši grupė baltymų koaguliuoja parūgštintus pieną iki 4,5 pH. γ – kazeinas yra β – kazeino proteolitinio skilimo produktas [53].

Kazeinas yra fosfoproteidas, kurio fosfatinės grupės esterine jungtimi sujungtos su aminorūgšties serino radikalais ir per šias fosfatinės grupes tarp kazeino submicelių susidaro kalcio fosfato tilteliai bei formuojasi kazeino – kalcio – fosfato kompleksas. Įvairios funkcinės grupės, kurios sąlygoja kazeino elektrinį krūvį, hidropolines savybes, cheminę sąveiką su kitais junginiais išsidėsto kazeino molekulės paviršiuje. Kazeinas pasižymi hidrofilinėmis savybėmis [55]. Tarp polinių baltymų grupių ir vandens molekulės dipolių veikiant elektrostatinėms sąveikos jėgoms, vandens molekulės prisijungia prie jonizuotų kazeino grupių. Hidrostatinis apvalkalėlis, kuris apsauso ir stabilizuoja baltymus, susidaro vykstant kazeino hidratacijai aplink baltymų molekulę. Hidrofilinės kazeino savybės priklauso nuo jo tekstūros, elektrinio krūvio, aplinkos pH ir kitų veiksnių [54].

Foksas nustatė, jog 95 % kazeino yra koloidinės dalelės, žinomos kaip micelės [10]. Kazeinas, priklausomai nuo temperatūros, mechaninio ir joninio ryšio yra 10 – 300 nm dydžio [11]. Esant kazeino dydžiui tarp 10 – 30 nm kalbama apie kazeino submiceles, o esant dydžiui tarp 30 – 200 nm – apie kazeino micleles. Submicelės susijungia į kazeino micleles, veikiant kalcio jonams ir kalcio fosfatams. Kazeino micelės paviršiuje išsidėsto laisvos funkcinės grupės, kurios lemia elektrinį krūvį, reakcijų galimybes bei hidrofilines savybes. Micelės paviršiuje išsidėsto submicelės, kurių sudėtyje yra daugiau κ – kazeino, o su mažu κ – kazeino kiekiu submicelės išsidėsto micelės viduje [10]. Kazeino micelės sudėtis pateikta 1.5. lentelėje.

1.5. lentelė. Kazeino micelės sudėtis [2]

Kazeino frakcijos	Kiekis, %	Mineralinės medžiagos	Kiekis, %
α_{s1} – kazeinas	33	Kalcis	2,9
α_{s2} – kazeinas	11	Magnis	0,2
κ – kazeinas	33	Neorganiniai fosfatai	4,3
β – kazeinas	11	Citratai	0,5
γ – kazeinas	4		
Iš viso:	92	Iš viso:	8,0

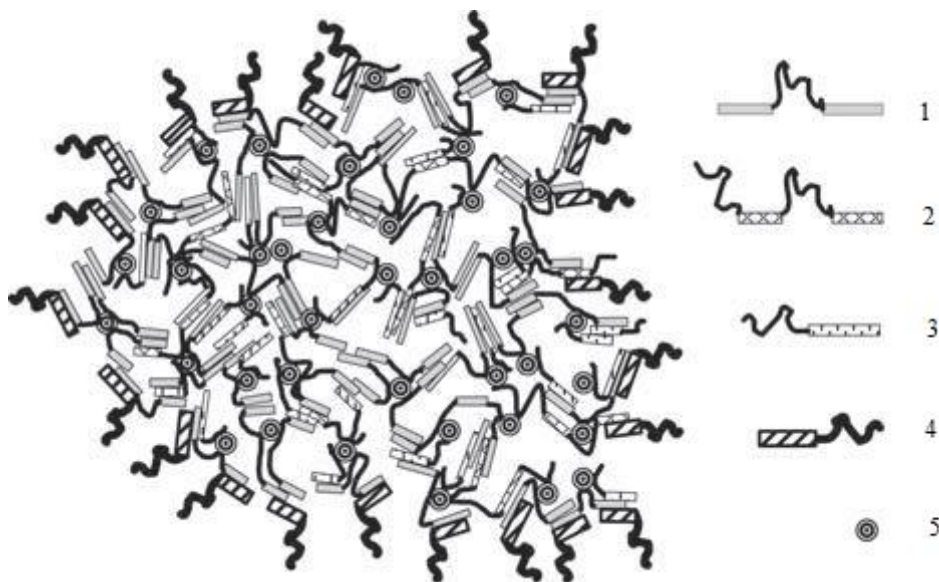
Piene, mažėjant kalcio ir fosforo kiekiui, kazeino micelių dydis mažėja, bet kuo mažesnės dalelės, tuo pienas termiškai stabilesnis. Kazeino dalelių dydis labai svarbus gaminant varškės sūrius – kuo dalelės didesnės, tuo gaunama didesnė išeiga. Dalis kazeino (5 – 10 % bendro kazeino kiekio) nesusijungia į kazeino micleles ir lieka tirpaus kazeino pavidalo. Dažniausiai tai būna kai kurios kazeino frakcijos (pvz., β

– kazeinas). Laikant pieną žemoje temperatūroje, arba skiedžiant vandeniu tirpaus kazeino ir kalcio kiekis didėja, o kazeino micelės mažėja, skyla į mažesnes mieceles, išsilaisvina dalis kalcio fosfato tiltelių [2].

Pieno pasterizacijos metu kaitinant pieną iki 85 °C, kazeino micelės, kurios yra vienalytės žaliame piene, absorbuoja β – laktoglobuliną ir suformuoja β – laktoglobulino – κ – kazeino kompleksą [13]. β – laktoglobulinų adsorbacija prasideda pH esant (6,4) ir lemia padidėjusį hidrofobiškumą prie micelių paviršiaus. Didesnis hidrofobiškumas stabilizuoja micelę ir neleidžia joms toliau agreguotis. Esant pH vertei (5,5) micelės hidratacijos sluoksnio praradimas palengviną agregaciją ir pradeda formuotis gelis. Nors koloidinis kalcio fosfato ryšio stiprumas tarp kazeino micelių yra mažas, tačiau elektrostatinė sąveika išlaiko micelės struktūrą. Esant pH vertei (7) dėl padidėjusio hidrofobiškumo β – laktoglobulino – κ – kazeino kompleksas ištirpsta pieno plazmoje. Esant didesnei ar mažesnei, nei pH (7) reikšmei, kazeino micelės stabilumas yra mažesnis. κ – kazeino praradinimas mažina micelių stabilumą, nes sumažėja plaukuotos micelės sluoksnio paviršius ir erdvinės jėgos kiekis [14].

Tiriant dispersinę pieno sistemą nustatyta, kad piene esančių elektrostatiinių jėgų neužtenka stabilizuoti kazeino micelių ir sustabdyti micelių flokuliaciją. Tačiau flokuliacijos piene nebuvimas rodo erdvinės stūmos svarbą. Erdvinė stūma buvo įrodyta κ – kazeino išsidėstymu kazeino micelės paviršiuje. Erdvės stūma leidžia κ – kazeinui išplėsti savo polipeptidus keletą nanometrų už micelių paviršiaus [13].

Kitas baltymų kompleksas, kuris susiformuoja terminio apdorojimo metu, α – laktoalbuminas jungiasi su β – laktoglobulinu esant temperatūrai aukštesnei nei 90 °C ir β – laktoglobulinas su α_{s2} – kazeinu esant 140 °C (UAT). Kalcio fosfato vietos pasikeitimas, gali veikti micelės išdidėjimą [15].



1 pav. Kazeino micelės struktūra: 1. α_{s1} – kazeinas; 2. α_{s2} – kazeinas; 3. β – kazeinas; 4. κ – kazeinas; 5. koloidinis kalcio fosfatas; [17]

1.6. lentelė. Pieno baltymų klasifikacija [2,16, 19]

Baltymai	Vidutinis kiekis, % (bendro baltymų kiekio)	Kiekis, % (bendro kazeino/išrūginių baltymų kiekio)	Izoelektrinis taškas	Molekulinė masė
<i>Kazeino frakcijos</i>				
α_{s1} – kazeinas	34	40	4,1	22 000 - 24 000
α_{s2} – kazeinas	8	10	4,6	25 200
κ – kazeinas	9	15	4,1	~ 19 000
β – kazeinas	25	35	4,5	~ 24 000
γ – kazeinas	4	-	5,8 - 6,0	12 000 – 21 000
<i>Išrūginiai baltymai</i>				
β – laktoglobulinas	9	45	5,3	~ 18 000
α – laktoalbuminas	4	20	4,2 – 4,5	~ 14 000
KSA	1	5	4,7	~ 66 400
Ig1, Ig2	1,4	7,0	5,5 – 6,8	150 000 – 163 000
IgA	0,2	1,0	-	~ 400 000
IgM	0,1	0,5	3,3 – 3,7	~ 1000 000
Proteozopeptonai	0,1	0,5	-	4 000 – 41 000
NAJ	4	21	-	-
Laktoferinas	-	-	-	86 000
*Pastabos. KSA – kraujo serumo albuminas, NAJ – nebaltyminiai azoto junginiai.				

Baltymų grupė, kuri lieka tirpale nusodinus dispersinės būsenos kazeiną, vadinama išrūginiai baltymai (20 % bendrojo baltymų kiekio). Jų kiekis piene svyruoja tarp 0,5 – 0,8 % [16]. Šiai baltymų grupei priklauso išrūgų baltymai, imunoglobulinai, kraujo serumo albuminas, proteozopeptonai, nebaltyminis azotas. Taip pat prie išrūginių baltymų priskiriami fermentai, hormonai, laktoferinas, lizocimas, riebalų globulės apvalkalėlio baltymai. Nebaltyminės azotinės medžiagos yra laisvosios aminorūgštys, mažos molekulinės masės azoto junginiai, kurie pereina į pieną tiesiogiai iš galvijo kraujo [16]. Pagrindiniai išrūginiai baltymai yra β – laktoglobulinas ir α – laktoglobulinas, kurių santykis piene yra 2:1. Plačiau apie šią baltymų grupę 1.3 skyriuje.

1.1.2. Sezoniškumo įtaka pieno sudėčiai

Atliktais tyrimais nustatyta, kad didelę įtaką pieno sudėčiai turi sezoniškumas. Apskritai, šiaurinio pusrutulio dalyje, riebalų ir baltymų kiekis minimumą pasiekia – rugpjūtį, o maksimumą – spalį. Baltymų kiekiui metų laikas turi mažesnę įtaką, nei riebalams, todėl baltymų/riebalų santykis žiemos sezone yra mažesnis, nei vasaros sezone. Kazeino santykis (kazeino kiekis/ bendras baltymų kiekis) keičiantis metų laikams išlieka pastovus, t.y. kazeino kiekis piene keičiasi, tačiau proporcingai bendram baltymų kiekiui. Buvo išvesta korelacija tarp kazeininių baltymų ir bendro baltymų kiekio. Buvo tirta Ontario regiono

(Kanada) karvių bandą, kurioje dominuojanti karvių veislė buvo Holšteino fryzo. Nustatytas kazeino kiekis bendrame baltymų kiekyje buvo 77 % (N = 1067, SD = 1,07 %, rezultatų amplitudė = 70,31-81,06%). Pagal šiuos duomenis, kazeino kiekis gali būti nuspėjamas iš bendro baltymų kiekio (N x 6,38) [26]:

$$\text{Kazeinas} = (0,833 \times \text{bendras baltymų kiekis}) - 0,208$$

Kazeino/baltymų santykiui didelę įtaką turi somatinių ląstelių kiekis. Somatinių ląstelių kiekis apibūdina karvės tešmens sveikatos būklę, todėl tai vienas iš pagrindinių rodiklių, kuris nusako pieno kokybę. Piene esant somatinių ląstelių iki 100 – 200 tūkst./ml keičiasi baltymų proporcijos – mažėja kazeino, daugėja išrūginių baltymų koncentracija [37]. Fermentą plazminą aktyvinančiai veikia somatinės ląstelės. Dėl šios priežasties sergančių karvių piene prasideda baltymų irimas, didžioji dalis kazeino suskaldoma tešmenyje dar prieš išmelžiant pieną. Superkant pieną, leistinas somatinių ląstelių skaičius yra ne didesnis kaip 400 tūkst./ml. Sveikos karvės piene somatinių ląstelių gali būti iki 200 tūkst./ml, o vidutiniškai būna 50 – 75 tūkst./ml.

Nors Lietuvoje superkant pieną kazeino kiekis nėra įtrauktas į privalomų pieno sudėties rodiklius, tačiau įmonėms gaminančioms raugintus pieno produktus ypač svarbus kazeino kiekis piene. Vienas iš paprastų metodų nustatyti piene esančių kazeinų kiekį yra stebėti somatinių ląstelių skaičių piene.

1.2. Varškės sūrio sudėtis ir savybės

Pienas savo sudėtyje turi mažą rūgšties bei didelį drėgmės kiekį, todėl jei nesiimama papildomų konservavimo priemonių – produktas greitai sugenda. Sūrio gamyba – vienas iš metodų pratęsti pieno galiojimo laiką [54]. Sūrio gamybos metu, pritaikant pasterizaciją, įjungiant acidofilinių pienarūgščių bakterijų mikrokultūras, vykstant dehidratacijai, taikant atšaldymą, pakuojant sustabdomas nepageidaujamų mikroorganizmų augimas [54]. Sūrio mikrostruktūra susideda iš sudėtinio baltymų riebalų vandeninio sluoksnio. Natūralūs sūriai gaminami koaguluojant pieną dviem būdais: veikiant fermentui chimozinui arba veikiant pienarūgšties bakterijoms, kai pasiekiamas pieno izoelektrinis taškas. Fermentinės koaguliacijos būdu pagamintas sūris turi didesnę pH vertę, daugiau sausųjų medžiagų bei brandinamas ilgesnį laiką. Pienarūgštiniu būdu gaminti sūriai vartojami švieži arba po trumpo brandinimo. Šie dviejų sūrių tipai turi skirtingas baltymų struktūras – chimozinu ar kitais koeguliantais gaminamo sūrio gelis pasižymi plonais baltymų sluoksniais, o pienarūgšties bakterijomis koaguluojamas gelis pasižymi storesniais baltymų sluoksniais [5].

Lietuviškas varškės sūris išskirtinai gaminamas tik Lietuvoje ir yra saugomas pagal Europos Sąjungos geografinės nuorodos taisyklės. Tai trikampės prizmės formos nenokintas sūris, kuris vartojamas šviežias, taip pat gali būti rūkinamas, kepamas ar džiovinamas [39]. Sūris gali turėti audinio žymių ir raukšlių nuo surišto audinio sūrio sūrgalyje [38].

Lietuviškam varškės sūriui savitumą suteikia specifinis gamybos būdas – pienas sutraukinamas tik pieno bakterijų raugu, nenaudojant fermentų. Tai suteikia varškei charakteringą pienarūgštį skonį. Kitas,

savitumą lemiantis veiksnys – savita forma, kurią sūris įgauna, kai į trikampės formos sūrmaišius pagaminta varškė pripildoma rankomis, platesniame sūrmaišio gale audinys surišamas mazgu ir sūris paslegiamas po sūrių presavimo plokštėmis. Sūriai gali būti su Lietuvoje tradiciškai randamais priedais – kmynais, įvairiomis žolelėmis, taip pat gali būti pridedama prieskonių, druskos. Sūrio dydis gali būti nuo kelių šimtų gramų iki kelių kilogramų. Sūris gaminamas be jokių maisto priedų, kvapiųjų medžiagų bei dažiklių [39].

Lietuviškas varškės sūris gali būti nuo baltos iki gelsvos spalvos. Kepto sūrio spalva – nuo gelsvos iki rusvos, pjūvyje – nuo baltos iki geltonos, o paviršius gali būti padengtas žolelėmis ir prieskoniais. Rūkyto sūrio paviršius spalva – nuo tamsiai geltonos iki rudos, pjūvis – nuo baltos iki geltonos [39].

Lietuviško varškės sūrio tekstūra – vienalytė, tankoka, pjaustant gali trupėti. Kepto sūrio – vienalytė, šiek tiek elastinga, tanki. Džiovinto sūrio tekstūra vienalytė, kieta, labai sunkiai pjaustosi, laužiant trupa. Sūrio kvapui ir skoniui būdingas specifinis pienarūgštis su naudojamų prieskonių kvapu ir aromatu. Rūkyto sūrio – papildomai jaučiamas išreikštas rūkinimo kvapas ir skonis [38]. Dažniausiai Lietuvoje gaminamų varškės sūrių cheminė sudėtis pateikta 1.6. lentelėje.

1.6. lentelė. Lietuviško varškės sūrio cheminė sudėtis 100 g produkto [2]

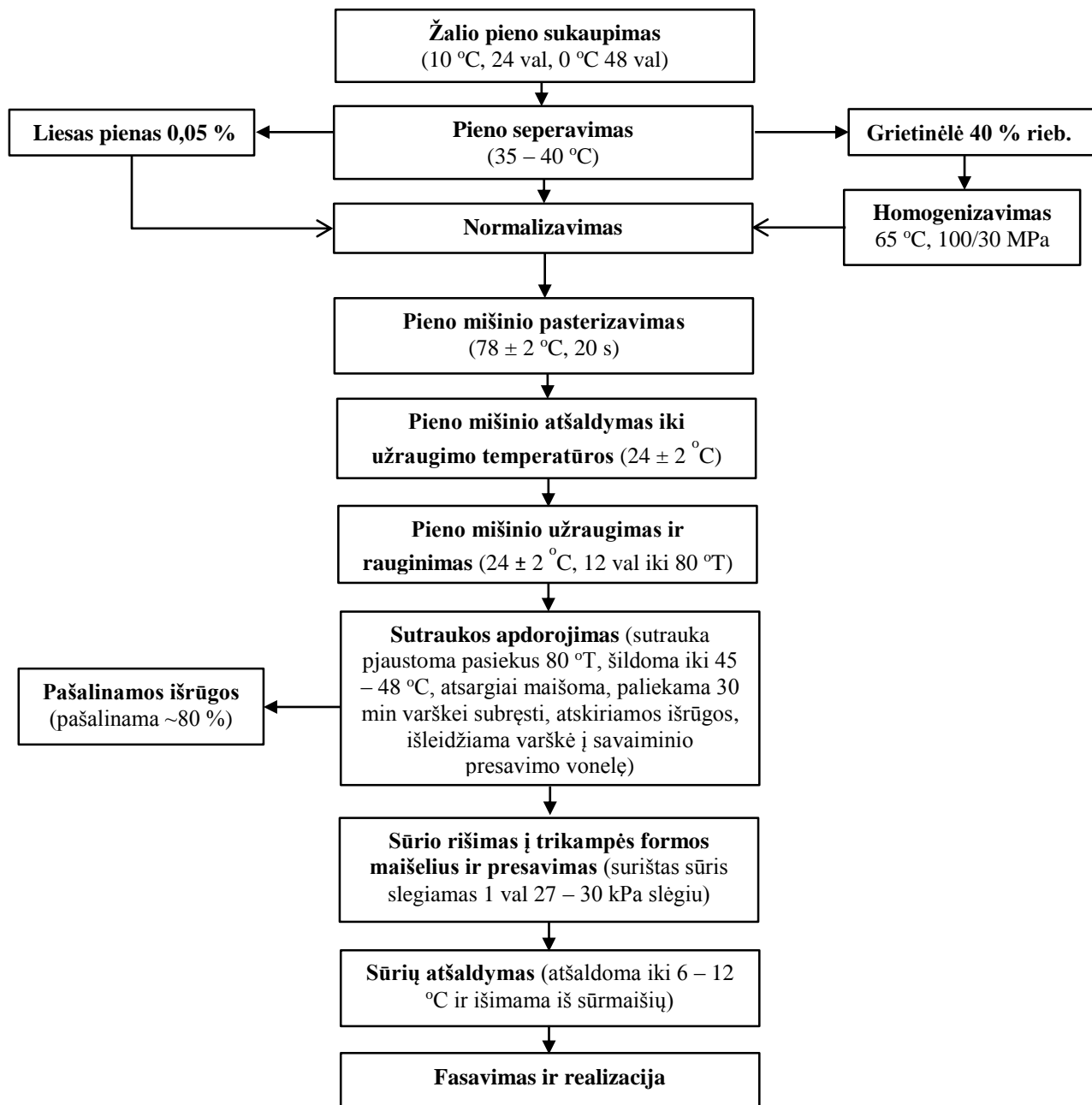
Sudėtis	13 % rieš. varškės sūris	22 % rieš. varškės sūris
Vandens, g	62,3	55,0
Sausųjų medžiagų, g	37,7	45,0
Baltymų, g	20,1	18,2
Riebalų – iš viso, g	13,0	22,0
Iš jų: sočiųjų riebalų rūgščių, g	7,77	13,1
mononesočiųjų riebalų rūgščių, g	0,78	6,44
polinesočiųjų riebalų rūgščių, g	0,43	1,26
Cholesterolio, mg	53,0	90,0
Angliavandenių, g	3,6	3,8
Mineralinių medžiagų, g	1,0	1,0
Natrio, mg	44,0	51,0
Magnio, mg	10,0	10,0
Fosforo, mg	230,0	230,0
Kalio, mg	118,0	114,0
Kalcio, mg	97,0	96,0
Geležies, mg	0,2	0,2
Cinko, mg	1,04	1,05
Seleno, µg	3,0	3,0
Jodo, µg	7,0	7,0

1.6. lentelėlės tęsinys

Sudėtis	13 %rieb. varškės sūris	22 %rieb. varškės sūris
Vitaminas A (retinolio ekv), μg	100,0	100,0
Vitaminas D, μg	0,0	0,0
Vitaminas E (tokoferolio ekv), mg	0,40	0,38
Vitaminas B ₁ , mg	0,1	0,05
Vitaminas B ₂ , mg	0,3	0,3
Niacino (vitamino PP), mg	0,3	0,1
Niacino ekv., mg	3,6	3,5
Folio rūgštis, μg	35	35
Vitaminas B ₆ , mg	0,10	0,11
Vitaminas B ₁₂ , μg	1,0	1,0
Vitaminas C, mg	0,5	0,5

Lietuviško varškės sūrio gamybai naudojamas karvės pienas, mezofilinės pieno rūgšties bakterijų kultūrų raugas, kai kurioms sūrio rūšims druska, prieskoniniai augalai – kmynai, česnakai, mėtos ir kt. Sūrio gamybai naudojamos žaliavos gali būti ir ne iš Lietuvos [39]. Lietuviškas varškės sūris gaminamas iš žalio karvės pieno, kuris standartizuojamas pagal riebalus, homogenizuojamas, pasterizuojamas ir atšaldomas iki pieno užraugimo temperatūros (23 – 30 °C), užraugiamas pieno rūgšties bakterijų kultūrų raugu. Sudėjus raugą į pieno mišinį, pienas gerai išmaišomas ir laukiama ~12 val., kol susidarys tanki sutrauka [38]. Susidarius tinkamai sutraukai, kurios titruojamasis rūgštingumas šiltu metų laiku siekia 70 – 75 °T, o šaltu metų laiku 75 – 80 °T, arba pH vertė yra 4,6 – 4,7 (izoelektrinis taškas) sutrauka supjaustoma, palaukiama 30 min, kol atsiskirs išrūgos ir atsargiai išmaišoma. Tuomet pradama kaitinti sutrauką ir atsargiai maišoma, tam, kad viršutiniai sluoksniai leistųsi žemyn, o apatiniai kiltų į viršų [8]. Kai gamintuve varškė susiformuoja – nuleidžiamos išrūgos, leidžiama varškei gamintuve subręsti ir varškė išleidžiama į savaiminio suslėgimo varškės vonelę, išklotą sūdrobe. Tam, kad sutrauka neatvėstų ir neužsitęstų išrūgų išsiskyrimas, patalpos temperatūra turi būti ne žemesnė kaip 16 °C. Jei sūris papildomas priedais, pvz. druska, kmynais, į varškę dozuojamas reikiamas kiekis priedų ir tinkamai išmaišius varškę su priedais, varškė rankomis dedama į trikampės formos sūdrobės maišelius. Platesniame sūrio gale sūrmaišio audinys surišamas mazgu. Nuo sūrio varškės kaitinimo temperatūros, varškės sausųjų medžiagų kiekio, priklauso sūrių presavimo laikas. Presuojama tol, kol pasiekama atitinkama specifikacijose nurodyta sūrio drėgmė. Paprastai presuojama tokiu slėgiu: 27 – 30 kPa (22 % riebumo sūriai) arba 30 – 40 kPa (13 % riebumo ir liesi sūriai). Presavimo trukmė nuo 30 min iki 1 val 30 min. Sūrius iš sūrmaišių galima išiminti, kai sūriai atvėsta iki 6 – 12 °C [39]. Sūriai fasuojami į polimerinių medžiagų maišelius, pergamentą ar vakuomo maišelius. Lietuviški varškės sūrių tekstūra labai trapi, todėl jie fasuojami gamybos vietoje. Ant pakuotės nurodoma konkretaus gamintojo pavadinimas, adresas, sūrio pavadinimas, riebalų kiekis %, sudėtis,

grynasis kiekis, užrašas „Tinka vartoti iki ... (data)“ [39]. Varškės sūrio technologinė schema parodyta 2. paveiksle.



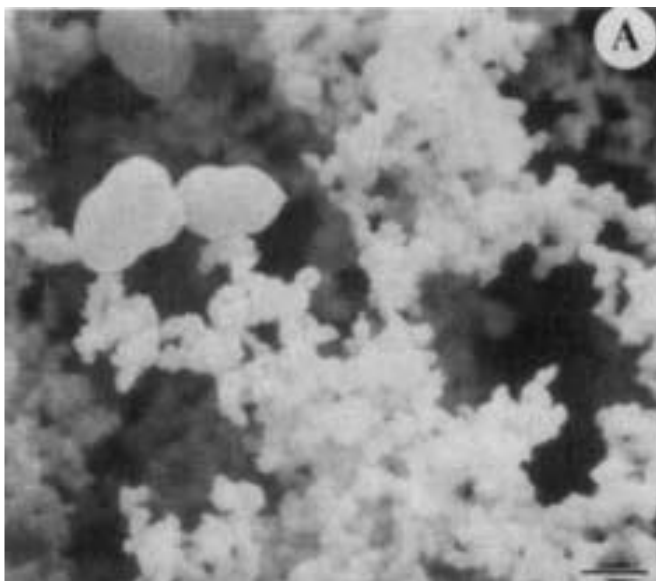
2 pav. 13 % riebumo varškės sūrio gamybos technologinė schema

Sūrio, kurio gamybai naudojamas normalios sudėties pieno, išeiga yra apie 10 % pieno masės. Likęs kiekis - apie 90 % viso kiekio, iš kurio 80 % pašalinama sutraukos apdorojimo metu, o 10 % sūrio presavimo metu, pašalinamas kaip išrūgos, kurios vėliau perdirbamos į išrūgų sūrį, išrūgų miltelius ar atiduodamas gyvuliams šerti. Tačiau norint sumažinti išrūgų kiekį, pienas gali būti ultrafiltruojamas į tirštesnį pieną ir naudojamas sūrių gamyboje. Nors išrūginiai baltymai tiesiogiai ir nepresideda prie baltymų tinklo

struktūros, tačiau veikia kaip užpildanti medžiaga, kuri suriša vandenį sūrio struktūroje, prisideda prie tolygesnės tekstūros [5].

Kuo didesnis pieno mišinyje esančių baltymų kiekis – tuo greitesnė baltymų koaguliacija. Esant didesniai baltymų kiekiui, į baltymų struktūrą surišamas didesnis vandens kiekis, sūris pasižymi didesne drėgme ir didesne išeiga. Viena iš greitos koaguliacijos pasekmių – susidaro stambesnis baltymų tinklas ir todėl sumažinamas pieno riebalų įsisavinimas. Tačiau baltymų tinklo stambumą galima sumažinti mažinant pieno koaguliacijos temperatūrą [5].

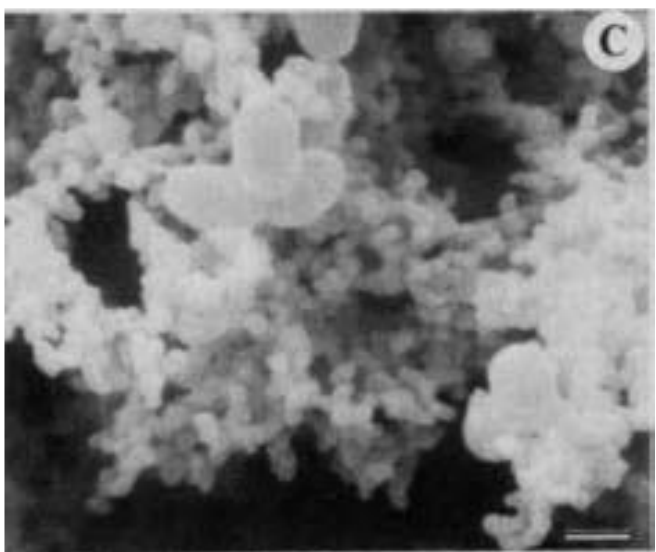
Lieso varškės sūrio sutraukos mikrostruktūra skirtingais varškės gamybos periodais pavaizduota 3 paveiksle.



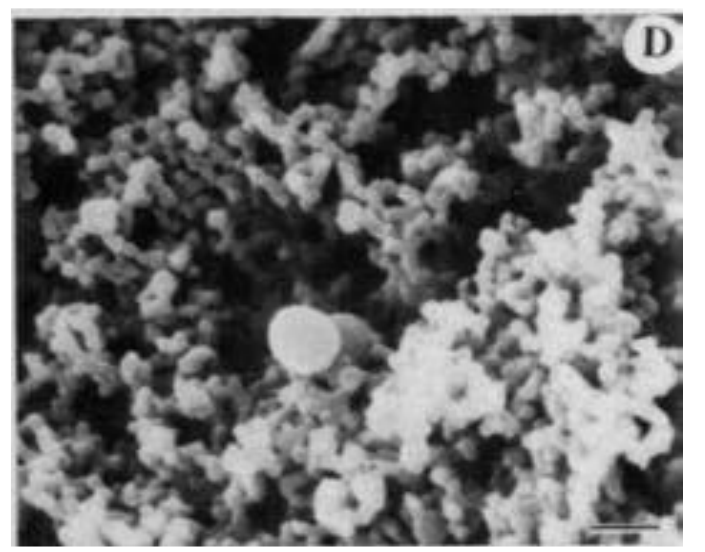
a) varškės sutrauka gelio formavimosi pradžioje



b) gelio mikrostruktūra po sutraukos pjaustymo proceso

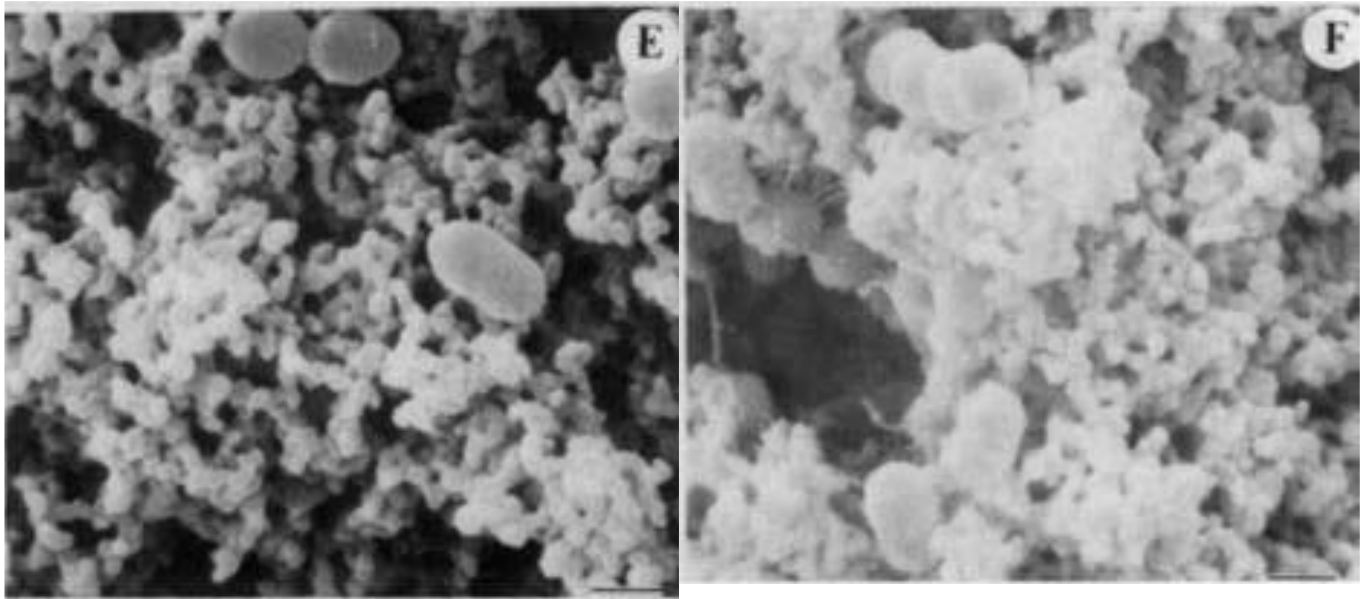


c) gelio struktūra pradėjus kaitinimo procesą



d) gelio mikrostruktūra kaitinant 40 °C;

3 pav. Lieso varškės sūrio sutraukos mikrostruktūra skirtingais varškės gamybos periodais [40]



e) gelio struktūra kaitinant 50 °C

f) varškės sutrauka baigus kaitinimo procesą 55 °C temperatūroje

3 pav. Tęsinys

Vykstant rūgštinei koaguliacijai, pienas sutraukinamas mažinant pieno pH. Tai pasiekama naudojant pieno rūgšties bakterijas. Bakterijų proteolitiniai fermentai taip pat vaidina savo rolę traukinant pieną, nes šie fermentai gali suskaldyti κ -kazeiną. Tačiau pagrindinė pieno traukinimo mechanizmo esmė – kazeinas tampa netirpus, kai pasiekiamas pieno izoelektrinis pH (4,6) taškas. Pieno rūgštinis rauginimas – tai sudėtingas procesas, kurio metu pieno baltymo kazeinas pakeičia savo agregatinį būvį, pereidamas iš zolio į gelį. Dėl laktozės rūgimo susidarant įvairioms organinėms rūgštims, kyla terpės vandenilio jonų koncentracija ir artėjant (nuo pH 5,2 – 5,3) prie kazeino izoelektrinio taško tarpusavyje susidurdamos kazeino micelės pradeda disperguotis, sudaryti vandenyje netirpius į siūlus panašius agregatus [9]. pH vertei artėjant link 4,6 – 4,7, agregavimosi procesai vyksta greičiau ir pieno masėje susiformuoja edvinis pieno baltymų tinklas. Šio tinklo kilpelėse užsidaro dispersinė aplinka su visomis joje esančiomis sudedamosiomis pieno dalimis [57]. Gijos, kurios susiformuoja iš pieno rūgšties bakterijų, absorbuojamos pieno baltymų matricos [5]. Terpėje susidarius vienodam teigiamų ir neigiamų krūvių kiekis pasiekiamas kazeino izoelektrinis taškas.

Rauginimo pradžioje į pieną kartu su raugais patekusios pienarūgštės bakterijos dauginasi, raugina laktozę ir išskiria pieno rūgštį. Kol dar nėra susiformavę bakterijų fermentinės sistemos, pienarūgštė mikroflora savo baltymų ir fermentų sintezei naudoja piene esančias laisvasias aminorūgštis. Vėliau bakterijų egzofermentai katalizuoja pieno baltymų hidrolizę ir taip aprūpina šias bakterijas reikalingomis aminorūgštimis.

Pieno rūgščiai susidarant ir disocijuojant vandenilio jonai slopina laisvų karboksilinių $-\text{COO}^-$ bei fosfatinių $-\text{PO}_3^{3-}$ kazeino grupių disociaciją. Šios grupės disocijuotomis grupėmis virsta, kai atsiranda

vienodas teigiamų ir neigiamų krūvių kiekis. Tokioje aplinkoje vyksta baltymų makromolekulių konformaciniai pokyčiai, mažėja baltymų tirpumas, stabilumas. Nuo kazeino – kalcio – fosfato komplekso atskyla dalis kalcio fosfato, organinio kalcio ir kompleksas demineralizuojasi.

Rūgštinė pieno sutrauka, pagal kazeino micelių tarpusavio jungčių pobūdį, yra koaguliacinės struktūros. Koaguliacinės struktūros dalelės palaikomos tarp molekulių jėgų, tarp dalelių yra ploni disperguotos aplinkos sluoksniai. Dėl šios priežasties struktūra elastinga, plastiška. Koaguliacinėms struktūroms būdingi tiksotropijos (suardytos struktūros atsinaujinimas) ir sinerezės – savaiminio sutraukos tankėjimo (gelio susispaudimo ir dispersinės aplinkos išsipresavimo) reiškiniai.

Sinerezinės ir reologinės savybės (elastingumas, plastiškumas, stangrumas, trapumas, klampumas, pajėgumas išskirti išrūgas) labai priklauso nuo raugų sudėties ir savybių, pieno sudėties ir savybių, šiluminio ir mechaninio apdorojimo režimo, baltymų koaguliacijos trukmės [58]. Rūgštiniu būdu gaminant varškę pasireiškia sinerezė, kai pH reikšmės yra 4,2 – 5. Norint pašalinti iš sutraukos pakankamą kiekį išrūgų, reikia pasiekti gana aukštą temperatūrą ~50 °C. Mažai drėgmės turintis sūris negali būti gaminamas rūgštiniu būdu [6]. Varškės grūdelių paviršius susideda iš denatūruotų baltymų. Išorinis varškės grūdelio sluoksnis susideda iš storesnės baltymų matricos, tačiau ne tokios storos, kad galėtų apsaugoti nuo išrūgų pašalinimo iš varškės grūdelio.

Sutraukos kaitinimo metu parenkama temperatūra ir brandinimo laikas yra kritinis komponentas – jei parenkama per aukšta temperatūra ir per greitai sukaitinama, susiformuoja per dideli gelio gabalai, kurie netinkami sūrio gamyboje. Jei parenkama per žema temperatūra, susiformuoja didelis varškės nuosėdų kiekis, kurios yra skystos, dalis pašalinama kartu su išrūgomis, o likusi varškė yra per skysta ir gamybos metu nepasiekiamas norima sūrio konsistencija [6]. Tam, kad tam tikras kiekis išrūginių baltymų taptų netirpūs – reikia atitaikyti laiko ir temperatūros santykį. Šie baltymai daugiausiai jungiasi su kazeino micelėmis ir regeneruojami sūryje po koaguliacijos ir sinerezės. Drėgmės kiekis varškėje išlieka didelis net ir ilgą laiką kaitinant sutrauką. Per ilgai kaitinant sutrauką gali atsirasti rūgščių junginių varškėje. Po varškės kaitinimo proceso kazeino micelės dydis svyruoja nuo 90 nm iki 210 nm [6].

1.3. Šalutinis varškės sūrio gamybos produktas

Išrūgos yra sūrio, varškės ir kazeino gamybos šalutinis produktas, kuris lieka apdorojus pieną rūgštimis, fermentais arba dėl fizikinių – cheminių procesų poveikio. Išrūgos gali būti fermentinės, kurių pH yra nuo 6,02 iki 6,58 ir rūgštinės, kurių pH yra tarp 3,57 ir 4,34 [41]. Fermentinės išrūgos gaunamos gaminant varškę fermentiniu būdu, ar sūrius, tokius kaip: Čederio, Gouda, Tilžės ar Ementalio. Rūgštinėmis išrūgomis vadinamas skystis, kuris lieka gaminant sūrį, varškę ar kazeiną rūgštiniu būdu [42]. Jei iš išrūgų iš dalies pašalinami pieno baltymai membraninės technologijos būdu (pvz. ultrafiltracija), tai šios išrūgos vadinamos varškės, sūrių ar kazeino gamybos išrūgų filtratu. Skirtingose įmonėse tirtų rūgštinių išrūgų cheminė sudėtis pateikia 1.7. lentelėje.

1.7. lentelė. Rūgščių išrūgų cheminiai ir fizikiniai rodikliai [43]

Įmonė	Sausosios medžiagos, %	pH	Mineralinės medžiagos, %	NaCl, %	Laktozė, %	Baltymai, %	Riebumas, %
1	6,57	4,07	1,88	1,30	3,13	0,42	0,4
2	6,72	4,34	1,35	0,87	3,56	0,61	0,18
3	5,54	4,01	0,63	0,18	2,71	0,38	0,27
4	7,48	3,57	1,46	0,94	2,77	0,60	0,38
5	6,79	3,93	0,73	0,19	3,60	0,65	0,67
6	4,59	4,19	0,57	0,21	2,8	0,37	0,13

Rūgščiose išrūgose taip pat lieka mineralinių medžiagų – kalio (0,14 %), kalcio (0,11 %), natrio (0,33 %), magnio (0,023 %), aliuminio (1,7 ppm), cinko (2,17 ppm), vario (0,3 ppm). Mangano, chromo, nikelio, kadmio, švino, gyvsidabrio išrūgose yra tik pėdsakai [43].

Išrūginiai baltymai arba serumo baltymai, lieka tirpale, kai pieno pH yra 4,6 t.y. tuomet, kai nusodinami kazeininiai baltymai [5]. Išrūgų baltymai daugiausiai sudaryti iš β – laktoglobulinų (50 %), ir α – laktoalbuminų (20 %). β – laktoglobulinas yra atsparesnis šilumos poveikiui. Reikšmingas β – laktoglobulinų požymis yra penkios cisteino liekanos, iš kurių keturios yra įtrauktos į du intrapolipeptidinius (–SS–) disulfidinius ryšius. Dėl likusios vienintelės laisvos tiolinės grupės, kaitinant pieną, β – laktoglobulinas reaguoja su kitais β – laktoglobulinais, κ – kazeinu ir α – laktoalbuminu. α – laktoalbuminas yra globulinis baltymas su keturiom disulfidinėmis jungtimis, kurios yra labai svarbios atstatant pakitusią baltymo struktūrą, kurią sukelia kaitinimas. Du kalcio atomai yra stipriai sujungti su α – laktoalbuminu, taigi kalcio pašalinimas įtakoja baltymo atsparumą kaitinimui [5].

Serumo baltymų denatūracijos laipsnį įtakoja šiluminio apdorojimo laikas ir temperatūra. Baltymai denatūruoti pradeda esant aukštesnei temperatūrai nei 70 °C. Palyginus su natūraliais išrūgų baltymais, denatūravę išrūgų baltymai yra mažiau tirpūs ir labiau jautrūs kalcio jonų koncentracijai. Taip pat denatūravę β – laktoglobulinai jungiasi su κ – kazeinu ir sudaro stabilesnę micelės struktūrą [6]. Išrūginiai baltymai pasižymi antioksidacinėmis savybėmis, stabdo gedimo procesus pieno produktuose, todėl praturtinus pieno mišinį išrūginiais baltymais sūrio gamybos metu, galima prailginti sūrio galiojimo laiką. Taip pat išrūginiai baltymai turi unikalių technologinių savybių, kurios leidžia pagerinti produkto skonį, aromatą ir konsistenciją [44].

Išrūgų baltymai gali būti atskiriami ultrafiltracija arba terminės koaguliacijos būdais. Terminės koaguliacijos metu baltymai denatūruoja. Denatūracijos laipsnis priklauso nuo apdorojimo laiko ir temperatūros. Šis procesas prasideda esant 65 °C temperatūrai ir tęsiasi iki 85 °C, o aukštesnėje temperatūroje kaitinant – išrūgų baltymai pradeda koaguliuoti [45]. Denatūruodamos baltymų micelės praranda savo sferinę struktūrą, ji tarsi “išsivynioja”, jos viduje esančios aktyvios funkcinės grupės –SH–,

–SS– gali dalyvauti jungimosi reakcijose [47]. Taip pat gali atskilti H₂S ir susidaryti dimetilsulfidas (CH₃-S-CH₃). Susidarius šioms junginiams piene jaučiamas virinto pieno prieskonis [46].

β – laktoglobulinas yra globulinas, kurio molekulinė masė 18,4 kDa. Piene dažniausiai būna dimero formos. β – laktoglobulinas sudarytas iš 162 aminorūgščių liekanų, turi –SS– ir –SH– grupes, todėl lengvai jungiasi su kitais baltymais. Šio baltymo tirpumas priklauso nuo pH ir joninės jėgos, tačiau parūgštinus pieną nenusėda. Denatūracija prasideda 30 °C temperatūroje. β – laktoglobulinas, kuris denatūruojamas aukštesnėje temperatūroje, sudaro kompleksus su κ – kazeinu ir koaguliuoja vykstant ne tik fermentinei, bet ir rūgštinei koaguliacijai. Todėl rauginant pieną aukštesnėje temperatūroje galima pasiekti geresnes išeigas [35].

α -laktoalbumas yra albuminas, kurio molekulinė masė 14 kDa. α -laktoalbumas pasižymi stipriu hidrofiliškumu, stabilus veikiant aukštai temperatūrai, nekoaguliuoja veikiant fermentams. Dalelės labai mažos – nuo 15 iki 20 nm. α – laktoalbumo izoelektrinis taškas yra pH 4,2 – 4,5 [26].

Imunoglobulinai (IgG, IgA, IgM ir IgE) piene pasižymi bakteriostatinėmis (bakterijoms trukdančioms vystytis) ir baktericidinėmis (bakterijas sunaikinančiomis) savybėmis. Šie baltymai piene bakterijas agliutina (suklijuoja), nusodina ir taip neleidžia joms vystytis. Be to, imunoglobulinai gali ištirpinti, sunaikinti bakterijų ląsteles bei neutralizuoti toksinus [35].

Kraujo serumo albumino denatūracija vyksta 40 – 50 °C temperatūroje. Po denatūracijos, pakitus albumino globulių struktūrai, atsiranda didesnė galimybė joms jungtis tarpusavyje ir sudaryti nuosėdas [35].

Proteozopeptonai yra termostabiliausi išrūgų baltymai. Jie susideda iš keturių komponentų – vienas iš jų yra gliukopeptidas, kiti trys – fosfoproteidai, kurie susidaro skylant β – kazeinui. Kadangi pieno laikymo metu β – kazeinas skyla, todėl ir proteozopeptonų kiekis didėja [2].

Laktoferinas, kaip ir imunoglobulinai, pasižymi bakteriostatinėmis ir baktericidinėmis savybėmis. Laktoferinas piene randamas trijų formų: be geležies jonų, prisijungęs vieną arba du geležies jonus. Laktoferinas prisijungęs geležies jonus užkerta kelią vystytis bakterijoms, kurioms būtina geležis. Trukdo vystytis tokioms bakterijoms kaip: *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Bacillus subtilis* [48].

Lizocimas, kaip ir laktoferinas bei imunoglobulinai, stabdo bakterijų vystymąsi, tirpina bakterijų apvalkalėlius. Trukdo vystytis net *Clostridium botulinum*, *Listeria monocytogenes*, *Clostridium perfringens*. Aukštesnėje nei 60 °C tampa neaktyvus, todėl gali būti naudojamas pieno produktuose po terminio apdoravimo [49]. Tyrimais nustatyta, jog gaminant grūdėtą varškę su lizocimo priedu, gauta itin teigiama lizocimo įtaka, kaip natūralaus konservanto, riebalų kitimo procesuose [50].

Nebaltyminių azotinių junginių kiekis priklauso nuo metų laiko – didesnis kiekis šių junginių yra vasaros metu gautame piene, ypač jei gausiai azoto trąšomis buvo tręšiamos ganyklos. Kai kurias medžiagas, pvz. peptidus ir aminorūgštis, naudoja pieno rūgšties bakterijos rauginimo metu, todėl jos yra

labai svarbios raugintų pieno produktų gamyboje. Pieno rūgšties bakterijos vystosi intensyviau, kai piene daugiau laisvųjų aminorūgščių ir peptidų [35].

1.4. Pieno pramonėje naudojami instrumentiniai analizės metodai

Vartotojai, perdirbėjai ir reguliavimo institucijos vis labiau reikalauja užtikrinimo iš gamintojų, kad jų produktas būtų autentiškas, toks koks aprašytas specifikacijose, t.y. į produktus nebuvo primaišyta teršalų ar brangesnės sudedamosios dalys nepakeistos pigesnėmis.

Autentiškumas yra svarbus kokybės kriterijus mitybos ir maisto saugos prasme. Todėl vis labiau įmonėse plinta instrumentiniai analitiniai metodai, kurie pritaikomi rutininei analizei. Tokie metodai kaip skysčių chromatografija, dujų chromatografija, FT – IR, FT – NIR, vertikaloji gelinė elektroforezė naudojami analizuojant žaliavas ir galutinius produktus.

1.4.1. FT – IR pritaikymas pieno pramonėje

Pieno pramonės įmonėse dažnai naudojamas MilkoScan FTTM 120 naudoja specialios paskirties FT – IR interferometrą [64]. Spektroskopija remiasi detektoriaus aptinkamo signalo amplitudės ir atitinkamo dažnio bangos ilgio sulyginimu su turima duomenų bazėje. IR spektroskopija yra analizės metodas skirtas nustatyti organines, taip pat neorganines medžiagas. Visi IR šaltinio dažniai skenuojami 400 – 4 000 cm⁻¹ diapozone. Duomenys apie visą spektrą gaunami labai greitai ir IR šaltinio spinduliuojamas spektras patenka į spindulio skaidytuvą, kuris pusę spindulių nukreipia į nejudantį veidrodį, o kitą pusę – į slankųjį veidrodį, o iš jo į detektorius [65].

MilkoScan FTTM 120 naudoja netiesioginio matavimo principą – susiejama cheminių jungčių energijos absorbcija su tikrosiomis komponentų koncentracijomis, kurios išmatuotos pamatiniais metodais. Šis prietaisas gali būti naudojamas nenugriebtam pienui, grietinėlei, cukraus turintiems paprastiems pieno produktams. Taip pat galima įrenginį sukalibruoti, jog nustatytų pieno kazeininius, išrūginius baltymus [63]. Kiti produktai taip pat gali būti analizuojami šiuo metodu, tačiau reikalingos papildomos sąlygos. Rauginti pieno produktai – kaip jogurtas, sūris, grietinė gali būti matuojami FT – IR, tačiau šiuos produktus reikia praskiesti su NaOH tirpalu. Koncentruoti produktai, kaip tirštintas pienas, pieno milteliai, tirštintas pienas su cukrumi skiedžiami dejonizuotu vandeniu [65].

Furjė transformacijos principas remiasi tuo, kad bet kokia funkcija yra sinuso funkcijų suma, kuri apibūdinama dviem dydžiais – dažniu (bangos ilgiu) ir amplitude (intensyvumu). Kadangi Furjė transformacija yra matematinė procedūra ir reikalauja didelio kiekio skaičiavimų, ją naudoti kasdieniniame darbe galima tik pritaikant naujausius technologinius pasiekimus [63].

Matavimas su MilkoScan FTTM yra netiesioginis analizės metodas, todėl jam reikalingas kalibravimas, kuris remiasi pamatinio metodo rezultatais. Riebalams nustatyti dažniausiai naudojami Rose Gottlieb, Schmid – Bondzynski – Ratzlaff ar Gerber metodai. Baltymų nustatymas yra Kjeldahl metodas,

kuris yra ir pats tiksliausias [64]. Tačiau šis metodas remiasi viso azoto nustatymu, taigi, nustatomas ne tik baltymuose esantis azotas, bet ir azotas esantis nebaltyminiuose junginiuose. Standartinis metodas laktozei nustatyti yra poliarimetrija, kuri remiasi poliarizuotos šviesos optiniu sukimu. Angliavandeniai suka poliarizacijos plokštumą skirtingu jiems būdingu kampu. Matuojamas sukimo kampas ir pagal tai apskaičiuojamas angliavandenių kiekis. Sausosios medžiagos kiekis nustatomas išdžiovinant vandenį iš tiriamojo objekto [64].

Analizuojant riebalus, jie gali būti nustatomi prie trijų skirtingų IR kanalų – riebalai A, riebalai B, riebalai C [64].

Riebalų A kanalo absorbcija vyksta prie 5,7 μm . Ji vyksta dėl C=O jungčių ilgio svyravimo riebalinių rūgščių karbonilo grupėse. Taip nustatomas riebalų molekulių skaičius, kuris nepriklauso nuo atskirų riebalinių rūgščių molekulių ilgio ir masės. Tačiau, jei laisvosios riebiosios rūgšties vidutinis grandinės ilgis pasikeičia, trigliceridų molekulių skaičius riebalų masės vienetui taip pat pasikeis. Sviesto riebalų sudėtis priklauso nuo metų laiko, vietovės, karvių veislės. Todėl naudojant prietaisą reikia kalibruoti iš naujo. Šis kanalas labiau tinkamas augaliniams riebalams matuoti, kuriuose rūgščių sotumo laipsnis gali žymiai keistis [64].

Riebalų B kanalo absorbcija vyksta prie 3,5 μm . Ji vyksta dėl riebiųjų rūgščių sočiųjų C–H jungčių ilgio svyravimų. Šis matavimas susietas su molekulių dydžiu ir jų skaičiumi bandinyje. Ilgėjant molekulės grandinei C–H jungčių skaičius žymiai didėja. Išilginis C–H jungčių svyravimas žymiai mažėja greta esant dvigubosioms jungtimis. Absorbcija mažėja priklausomai nuo riebalinės rūgšties nesotumo laipsnio. Tačiau šis matavimo kanalas mažiau jautrus karvių pieno lūžio rodiklio kitimams, nei kanalas A, nes A kanalo matavimas atsižvelgia į grandinės ilgio kitimus [64].

Riebalų C kanalo absorbcija vyksta prie 6,8 μm ir vyksta dėl lenkiamųjų svyravimų sočiosiose riebiųjų rūgščių grandinės C–H jungtyse. Šis nustatymas siejamas su molekulių dydžiu ir skaičiumi bandinyje kaip ir riebalų B atveju. Tačiau infraraudonųjų spindulių energiją prie 6,8 μm sugeria tik $-\text{CH}_2^-$ grupės. Riebalų C bangos ilgis naudojamas kalibravimui, kai analizuojami produktai su dideliu riebalų kiekiu, pvz. riebi grietinėlė [64].

Baltymų kanalo absorbcija vyksta prie 6,5 μm ir vyksta dėl lenkiamųjų svyravimų peptidinėse –N–H jungtyse. Šiuo matavimu nustatomas amino rūgščių kiekis. Baltymų sudėtis piene gana pastovi, todėl toks baltymų analizavimas metų eigoje problemų nesukelia [63].

Angliavandenių kanalo absorbcija vyksta prie 9,5 μm . Angliavandeniams būdinga hidroksilo grupė (OH^-). Jungtis tarp hidroksilo grupės bei anglies atomo absorbuoja energiją [64].

Sausųjų medžiagų kanalo absorbcija vyksta prie 8,6 μm . Šioje vietoje vyksta absorbcija dėl C–C jungčių ilgio svyravimų angliavandeniuose ir riebaluose [65].

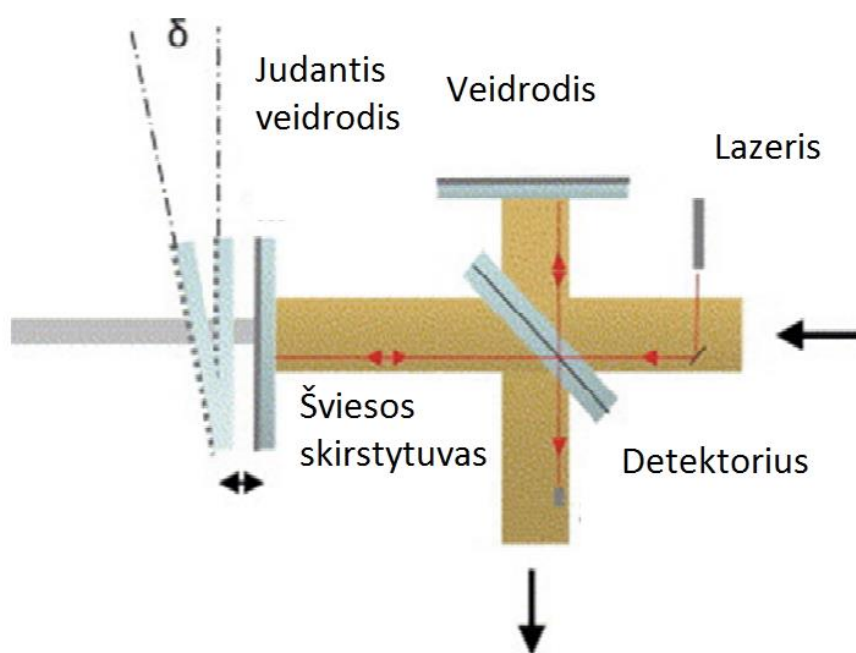
1.4.2. FT – NIR pritaikymas pieno pramonėje

Furjė transformacijos – artimųjų infraraudonųjų spindulių spektroskopija (FT – NIR) remiasi artimųjų infraraudonųjų spindulių spektroskopijos metodu. Bangos ilgis yra $4\ 000 - 14\ 000\ \text{cm}^{-1}$ [67]. Šį metodą sugalvojo prancūzų matematikas Joseph Fourier (angl.). Šio metodo esmė – tolydžia funkcija išreikšti trigonometrinių funkcijų suma. Furjė spektrofotometras, tai prietaisas, kurio veikimas pagrįstas elektromagnetinių bangų interferencija [68].

Furjė transformacija taikoma laike kintančių procesų spektrinei analizei ir signalų apdorojimui. Tiesioginė transformacija proceso aprašą laiko ašyje keičia į aprašą dažnio ašyje. Atvirkštinė transformacija – dažnių aprašą keičia aprašu laike. Proceso aprašas dažnių ašyje vadinamas spektru [68].

Standartinio spektrofotometro pagrindinis elementas yra prizmė arba gardelė. Prizmė tiriamąjį šviesos spindulį paverčia vaivorykšte. Siauru plyšiu išskyrę iš vaivorykštės reikalingą spektrinę spalvą – jo intensyvumą galime išmatuoti šviesai jautriu detektoriumi [67].

Furjė spektrofotometro pagrindą sudaro interferometras. Šis interferometras, pasinaudodamas šviesos interferencijos reiškiniu, leidžia pasiekti žymiai ryškesnę konstruktyviąją ir destruktiviąją šviesos sąveikas. FT – NIR principinė schema pavaizduota 4 paveiksle.

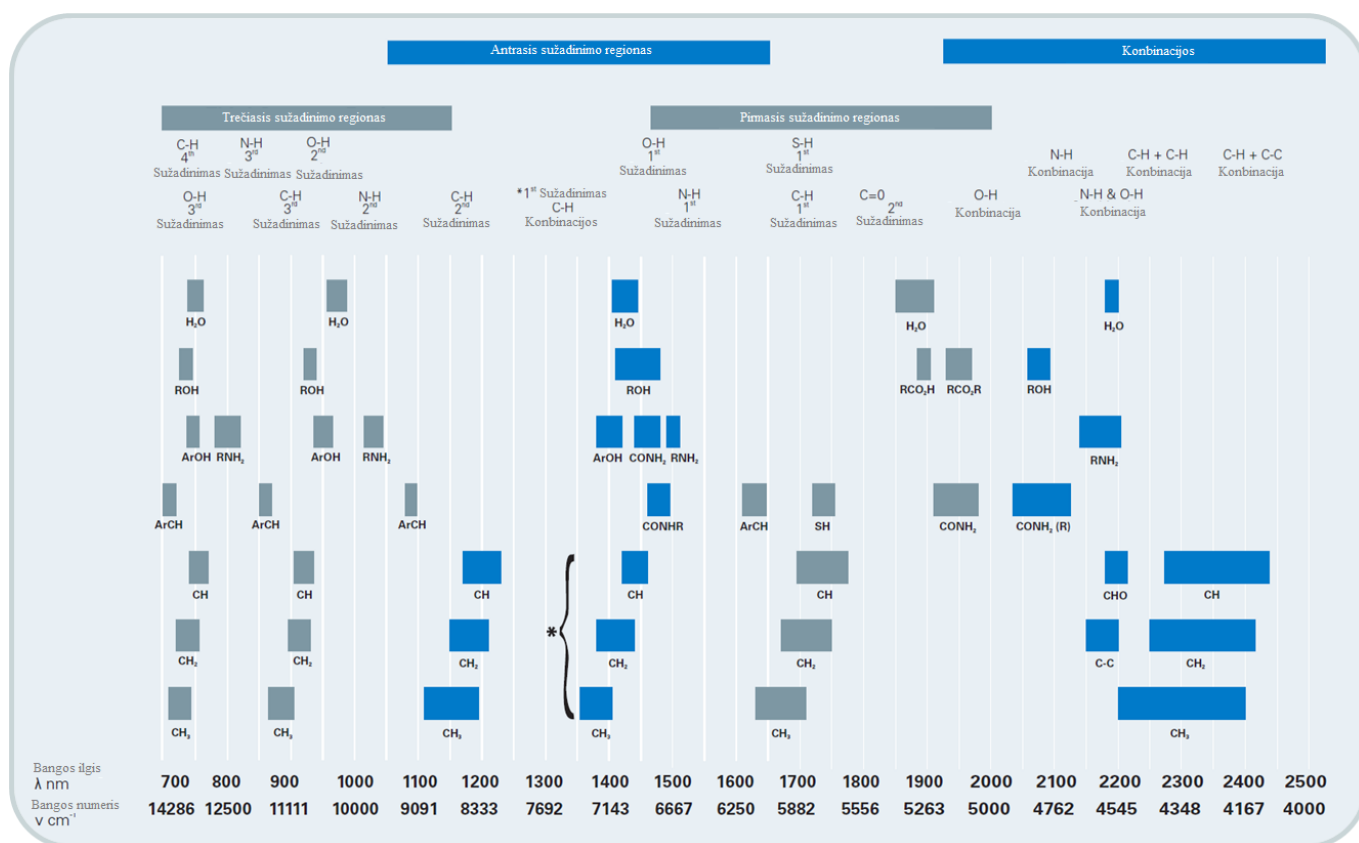


4. pav. Principinė FT – NIR spektrofotometro schema

Kairysis Furjė spektrofotometro veidrodis yra paslankus. Dvi jo padėties, parodytos 4 paveiksle. Krintantį šviesos spindulį, brėžinio viduryje esantis pusiau skaidrus veidrodis, suskaido į du silpnesnius vienas kitam statmenus spindulius. Vienas iš jų atsispindėdamas nuo viršutinio veidrodžio patenka į detektorius [67]. Kitas – atsispindi nuo paslankaus veidrodžio. Tokiu būdu dvi koherentinės šviesos

spinduliai patenka į detektorių, t.y. vienas atsispindėjęs nuo viršutinio veidrodžio (kurio padėtis fiksuota), o kita – nuo paslankaus kairiojo veidrodžio [69].

Keičiant paslankaus veidrodžio padėtį, detektoriaus registruojamas signalas osciliuoja tarp nulio ir maksimalios vertės. Realiuose prietaisuose paslankusis veidrodis stumdomas pastoviu greičiu ir detektoriaus schema registruoja tik mušimo signalą. Supaprastintoje eksperimentinėje analizėje nėra atsižvelgiama į labai svarbią šviesos koherentiškumo ilgį [69]. Koherentiškumo ilgis, tai atstumas, kuriame banga išskaidyta į dvi dalis interferuodama, pati su savimi ir vis dar duoda tamsias ir šviesias juostas. Lazerių spinduliuojama šviesa pasižymi dideliu koherentiškumo ilgiu [67].



5 pav. NIR spektras

FT – NIR yra greitas, patikimas ir nedestruktyvus metodas, kuris plačiai naudojamas kokybiškai ir kiekybiškai analizuojant įvairius produktus, nenaudojant cheminių reagentų ar tirpiklių. Su FT – NIR galima analizuoti skystus produktus – pieną, išrūgas, grietinėlę, jogurtą. Taip pat kietus produktus – sūrį, sviestą, grietinę, varškę [69]. Artimųjų infraraudonųjų spindulių šviesa svyruoja nuo 4 000 – 14 000 cm^{-1} ir yra pakankama, jog galeėtų sužadinti molekulę pereiti iš įprastos būsenos į sužadintą būseną. Junginių kombinacijos, tam tam tikruose spektro regionuose, parodyta 5 paveiksle. Palyginus IR su NIR, NIR gali prasiskverbti daug toliau į mėginio vidų. FT – NIR labai patogus metodas nagrinėti birius, skystus, kietus produktus be jokio, arba tik su minimaliu mėginio paruošimu [68].

1.4.3. Elektroforezės metodas

Atliekant kokybinę pieno, išrūgų ir varškės sūrio analizę, galima baltymus analizuoti pasitelkiant elektroforezės metodą. Šio metodo esmė – elektrinio lauko veikiamų elektringųjų koloidinių dalelių arba polimero molekulių pernaša elektrolito tirpale vieno ar kito elektrodo link [9]. Elektroforezės metu koloidiniame tirpale medžiaga pernešama viena kryptimi [61]. Dispersinės fazės ir dispersinės terpės sąlyčio zonoje susidaro dvigubasis elektrinis sluoksnis – koloidinė dalelė įgyja tam tikro ženklo ir dydžio krūvį. Dauguma biologiniu požiūriu svarbios molekulės – peptidai, aminorūgštys, baltymai, nukleorūgštys turi grupių, kurios gali jonizuotis. Dėl šios priežasties, šie junginiai gali egzistuoti kaip katijonai, arba anijonai, t.y. turėti krūvį. Molekulės, kurios yra skirtingos masės, bet turinčios panašaus dydžio krūvį, skiriasi viena nuo kitos krūvio kiekiu, tenkančiu masės vienetui. Dėl šių veiksmų elektringosios dalelės tirpale, veikiamos elektrinio lauko, yra atskiriamos [60].

Dvigubą elektrinio sluoksnio susidarymas prie tarpfazinių paviršių lemia dispersinės sistemos fazių judėjimas elektriniame lauke. Žinomos trys tarpusavyje susijusios dvigubą elektrinio sluoksnio susidarymo priežastys: paviršiaus funkcinių grupių disociacija, elektrolito jonų adsorbcija bei polinių molekulių orientacija tarpfazinėje riboje. Dalelė įgauna teigiamąjį arba neigiamąjį krūvį dėl tarpusavio sąveikos. Dvigubą elektrinį sluoksnį sudaro du lygiagretūs elektrodai. Vienas elektrodas – tai potencialą suteikiantys jonai, tiesiog esantys prie dalelės paviršiaus, o antrasis – skystoje fazėje esantys priešjonai [61].

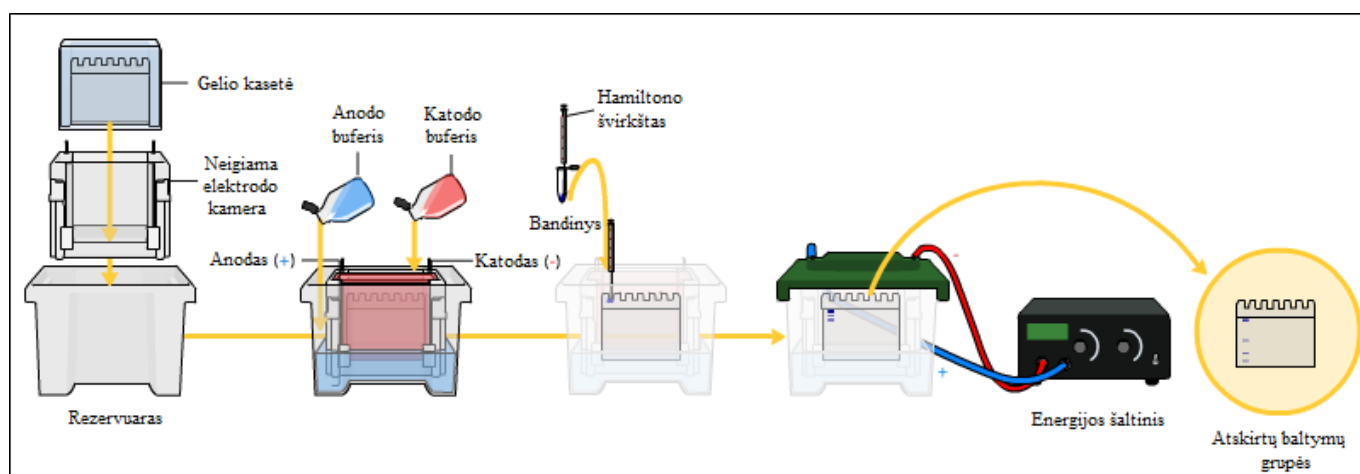
Baltymų molekules sudarančių aminorūgščių sudėtyje – šoninėse grandinėse yra daug įvairių rūgštinių ir bazinių grupių, kurios pasižymi skirtingomis disociacijos konstantomis [62]. Dėl šios priežasties, esant tam tikrai pH reikšmei, baltymų molekulių joninė būseną tirpale apibūdinama sudėtinga jonogeninių grupių jonizacine pusiausvyra [62]. pH vertė, kuri apibūdina šią būseną, vadinama izoelektriniu tašku. Skirtingi baltymai turi įvairias aminorūgščių konfigūracijas, todėl ir izoelektriniai baltymų taškai yra skirtingi.

Vykstant elektroforezei, dalelių judrumui įtaką turi daugybė veiksnių: bandinio būseną, elektrinio lauko parametrai, nešiklio ir buferinio tirpalo charakteristikos. Bandinio būseną nusako trys parametrai – krūviu, dalelės matmenimis ir forma. Didėjant dalelės suminiui krūviui – judrumas didėja. pH turi įtaką krūvio dydžiui. Dalelės daro įtaką judrumui. Kuo stambesnė dalelė – tuo judrumas mažesnis. Tai susiję su trinties jėga bei stambių molekulių elektrostatine sąveika su aplinka. Jei dalelės vienodų matmenų, bet skirtingos formos, molekulių judrumas yra skirtingas. Tai taip pat siejama su trinties jėgomis bei elektrostatine sąveika [63].

Nuolatinės srovės stipris, įtampa ir varža turi įtakos dalelių atskyrimui. Elektros srovės stiprį elektroforezės metu lemia buferinis tirpalas ir bandinio dalelių pernaša [62]. Dalelių nueitas kelias elektroforezės metu tiesiogiai proporcingas trukmei. Dėl šios priežasties elektroforezės metu srovės stipris

neturėtų būti keičiamas. Dalelių judėjimo greitis atvirkščiai proporcingas varžai [63]. Varža priklauso nuo buferinio tirpalo joninės jėgos, nešiklio rūšies bei jo smulkumo. Vykstant elektroforezei išsiskiria šiluma, todėl varža mažėja ir dalelių migracija greitėja. Tačiau tuo pačiu elektroforezės celė atiduoda šilumą aplinkai, todėl stengiamasi parinkti tokį srovės stiprį, jog sistema būtų pusiausvyroji – kiek atiduodama šilumos, tiek išskiriama į aplinką. Pastovų nešiklio pH palaiko buferiniai tirpalai. Dažniausiai vartojami formiatiniai, acetatiniai, citratiniai, fosfatiniai [63].

Natrio dodecilsulfato denatūruojanti poliakrilamidinio gelio elektroforezė (SDS-PAGE) principinė schema pavaizduota 6 paveiksle.



6. pav. SDS-PAGE analizės principinė schema

Elektroforezės aparatūra susideda iš dviejų pagrindinių dalių: maitinimo šaltinio ir elektroforezės rezervuaro. Naudojami dviejų tipų nuolatinės srovės šaltiniai – žemosios (100 – 500 V) ir aukštosios (500 – 10 000 V). Elektroforezės rezervuarą sudaro buferinė tirpalų kamera, nešiklių padėklai ir elektrodai. Elektrodai dažniausiai pagaminti iš platinos vielos, bet tinka ir elektrodai iš nerūdijančio plieno, anglies [63]. Elektroforezėje naudojama labai daug nešiklių. Natrio dodecilsulfato denatūruojanti poliakrilamidinio gelio elektroforezė (SDS-PAGE) analizėje kaip nešikliai naudojami poliakrilamido geliai. Baltymai nustatomi juos denatūruojant natrio dodecil sulfatu (SDS – angl. sodium dodecyl sulfate).

Natrio dodecil sulfato molekulės tirpale turi neigiamą krūvį plačiame pH intervale ir suteikia baltymui bendrą neigiamą krūvį. Tokiu atveju, molekulių polipeptidinės grandinės prisijungia SDS kiekį, kuris yra proporcingas polipeptidinės grandinės ilgiui. Tam, kad baltymo disulfidinės jungtys išsivyniotų, mėginys turi būti paveiktas redukuojančiomis medžiagomis. Baltymai, kurie paveikti natrio dodecil sulfatu ir redukuojančiomis medžiagomis, denatūruoja.

Dauguma junginių gautų elektroforezės metu yra nespaltoti. Todėl po dalelių atskyrimo elektroforezės gelis yra išdžiovinamas ir išryškintos dėmės. Jeigu tame pačiame gelyje kartu su nežinomų polipeptidų mišiniu bus paleisti baltymai, kurių molekulinę masę žinoma, pagal baltymų migravimo nuotolio priklausomybę nuo molekulinės masės galima nustatyti ir nežinomų baltymų molekulinę masę.

2. TYRIMŲ OBJEKTAI IR METODAI

2.1. Tiriamojo darbo objektai

- **Pieno mišinys**

Pieno mišinys – tai normalizuotas pienas, kuris skirtas gaminti 13 % riebumo varškės sūrį. Pienas normalizuojamas sroviniu normalizatoriumi, išseparuotą ir homogenizuotą grietinėlę sumaišius su liesu pienu, gaunant atitinkamo riebumo pieno mišinį. Mišinio riebumas sezono metu keičiasi. Riebumas tiesiogiai priklauso nuo baltymų kiekio piene – kuo didesnis kiekis baltymų, tuo didesnė išeiga ir tam, kad būtų gaunamas 13 % riebumo sūris, reikia gaminti riebesnį pieno mišinį ir kuo mažesnis pieno mišinio baltymų kiekis, tuo reikia gaminti liesesnį pieno mišinį. Po pieno normalizavimo mišinys homogenizuojamas ir pasterizuojamas. Tuomet įmonės laboratorijoje ištiriami pieno mišinio reprezentacinės partijos pirminiai rodikliai: rūgštingumas, baltymai, riebumas, lyginamasis svoris. Atšaldžius pieno mišinį iki 0 – 6 °C pieno mišinys vežamas į universiteto laboratoriją.

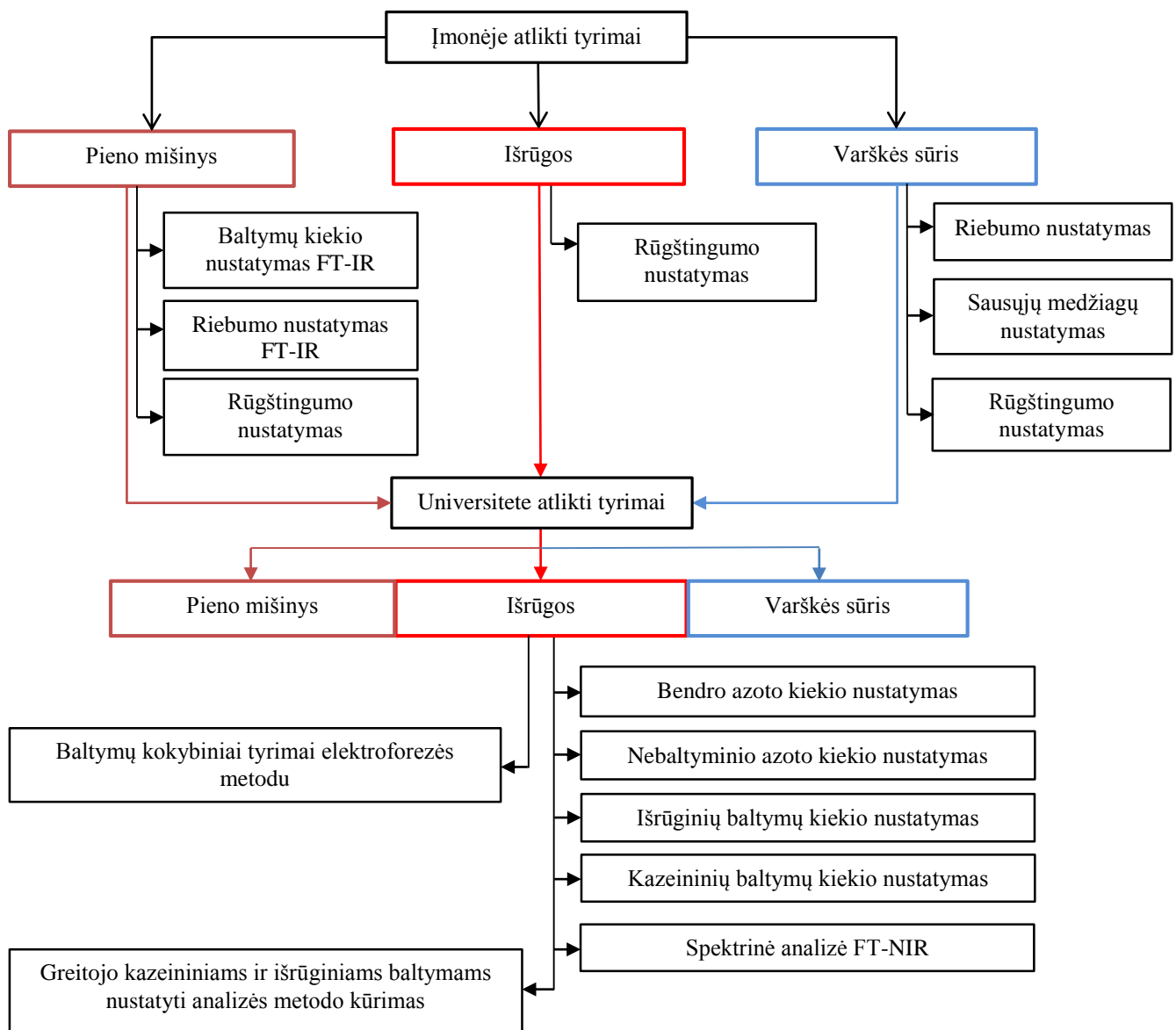
- **Rūgščios išrūgos**

13 % riebumo varškės sūrio gamybos metu gaunamas šalutinis gamybos produktas – išrūgos. Įmonės laboratorijoje ištiriamas reprezentacinio išrūgų mėginio rūgštingumas. Tada atšaldytos rūgščios išrūgos iki 0 – 6 °C vežamos į universiteto laboratoriją, kur atliekami tolimesni tyrimai.

- **Varškės sūris**

13 % riebumo varškės sūris gaminamas iš normalizuoto pieno mišinio. Pieno mišinys po homogenizavimo ir pasterizavimo užraugiamas pienarūgštėmis bakterijomis. Rauginimas vyksta atvirose voniose. Rauginimo temperatūra 24 – 26 °C, kuri taip pat svyruoja ir priklauso nuo metų laiko. Po 12 val. pieno mišiniui pasiekus (70 – 75 °T žiemos sezone ir 75 – 80 °T vasaros sezone) rūgštingumą ir susidarius tankiai sutraukai pradedama sutrauką pjaustyti ir šildyti. Šildoma iki 45 – 48 °C, tada palaukiama 30 min ir nuleidžiamos išrūgos. Iš atvirų rauginimo vonių išleidžiama varškė į nusausinimo vonelės iš kurių varškė rankomis dedama į sūrmaišius ir plačiajame gale užrišamas mazgas. Surišti sūriai ~1 val presuojami po sūrio slėgimo plokštėmis, iki tol, kol pasiekiami atitinkama sūrių drėgmė, kuri reikalaujama pagal įmonės standartus. Išimti sūriai iš po presavimo plokščių atšaldomi iki 6 – 10 °C. Tik tuomet galima pradėti sūrius išiminėti iš sūrmaišių. Toliau įmonės laboratorijoje atliekami sūrio riebumo, drėgnumo, rūgštingumo rodiklių nustatymas. Sūris, kurio nustatytas riebumas, drėgnumas ir rūgštingumas – atšaldomas iki 2 – 6 °C, suvakuuojamas ir vežamas tolimesniems tyrimams į universiteto laboratoriją.

Tiriamojo darbo metu atlikti eksperimentiniai tyrimai pateikti 7 paveiksle.



7 pav. Tiriamajame darbe vykdytų eksperimentų schema

Pieno mišinio, išrūgų ir varškės sūrio tyrimai buvo atliekami ištisus metus vertinat gautų produktų išeigas bei cheminės sudėties pokyčius keturiems sezonams (vasaros, žiemos pavasario ir rudens). Tuo tarpu išrūginių ir kazeininių baltymų pokyčiai vertinti dviem laikotarpiais: vasaros (gegužės, birželio, liepos, rugpjūčio mėnesiais) ir žiemos (rugsėjo, spalio, kovo, balandžio mėnesiais).

2.2. Cheminiai reagentai ir medžiagos

Pieno mišinio, išrūgų ir sūrio tyrimams naudoti reagentai ir medžiagos:

- Bendro azoto kiekio nustatyme: sieros rūgštis (H_2SO_4 ($d = 1,84$)), natrio šarmas ($NaOH$ (33 %)), boro rūgštis (H_3BO_3), druskos rūgštis (HCl (0,01 M)), antiputokšlis, Kjeldalio tabletės, Taširo indikatorius (2 g metilo raudonojo ir 1 g metileno mėlio, ištirpintų 1000 ml 95 % etanolio).
- Nebaltyminio azoto kiekio nustatyme: trichloracto rūgštis ($C_2HCl_3O_2$ (18 %)), sieros rūgštis (H_2SO_4 ($d=1,84$)), natrio šarmas ($NaOH$ (33 %)), boro rūgštis (H_3BO_3), druskos rūgštis (HCl (0,01 M)),

antiputokšlis, Kjeldalio tabletės, Taširo indikatorius (2 g metilo raudonojo ir 1 g metileno mėlio, ištirpintų 1000 ml 95 % etanolio).

- Nekazeininio azoto nustatyme: acto rūgštis (CH_3COOH (10 %)), natrio acetatas (CH_3COONa (0,25 N)), sieros rūgštis (H_2SO_4 (d = 1,84)), natrio šarmas (NaOH (33 %)), boro rūgštis (H_3BO_3), druskos rūgštis (HCl (0,01 M)), antiputokšlis, Kjeldalio tabletės, Taširo indikatorius (2 g metilo raudonojo ir 1 g metileno mėlio, ištirpintų 1000 ml 95 % etanolio).

- Titruojamo rūgštingumo nustatyme: natrio šarmas (0,1 N), fenolftaleinas (1 g fenolftaleino ištirpinamas nedideliame 70 % etilo alkoholio kiekyje ir skiedžiama iki 100 ml), kobalto suflatas ($\text{CuSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ (2,5 %)).

- Sūrio riebumo nustatyme: sieros rūgštis (H_2SO_4 (d=1,82)), izoamilo alkoholis.

- Sūrio sausųjų medžiagų nustatyme: parafinas.

Baltymų identifikavimui elektroforezės metode:

- Baltymų markerio paruošimas: baltymų markeris Bio-Rad (angl. Broad Range Marker) mėginius redukuojantis agentas (10X) (angl. sample Reducing Agent), 4X ličio dodecilsulfato buferis (angl. LDS Sample Buffer).

- Bandinių paruošimas: tris-Buffer, ličio dodecilsulfato buferis (angl. LDS Sample Buffer), mėginius redukuojantis agentas (10X) (angl. sample Reducing Agent), gelio elektroforezei (20X MOBS buferis, Comassie blue dažai).

2.3. Tyrimų metodai

2.3.1. Bendras azoto ir baltymų kiekis piene, išrūgose ir sūryje

Kjeldalio metodas pripažįstamas kaip tiksliausias, nustatant azotą, kuris yra bandiniuose ir nustatomas remiantis ISO 8968 – 1:2014 „Pienas ir pieno gaminiai. Azoto kiekio nustatymas. Kjeldalio principas ir žalio baltymo skaičiavimas“ metodu. Azoto kiekio nustatymui naudojamos įrangos dalys yra pavaizduotos 8 ir 9 paveiksluose.



8 pav. Kjeldalio mineralizavimo blokas (Labor-Technik GmbH - Vokietija)

Metodas pagrįstas tiriamo organinio junginio mineralizavimu koncentruotoje sieros rūgštyje šios rūgšties virimo temperatūroje. Tiriamoji medžiaga oksiduojasi iki anglies dvideginio ir vandens, o bandinyje esantis azotas išsiskiria kaip amoniakas, kuris sieros rūgštis aplinkoje sudaro amonio druską. Toliau amoniakas atskiriamas iš amonio druskos naudojant stiprią bazę. Amoniakas distiliavimo metu surenkamas į indą su boro rūgštimi, o rūgštis pertekliu surinktuve nutitruojamas standartiniu NaOH tirpalu.



9 pav. Distiliaviavimo blokas Unit S4 (Labor-Technik GmbH - Vokietija)

Azoto kiekis (N) % tiriamajame mėginyje skaičiuojamas atsižvelgiant į tyrimui paimtos medžiagos masę, titruojant sunaudotas HCl kiekį, jos koncentraciją ir praskiedimą:

$$N = \frac{1,4007 \cdot (V_t - V_o) \cdot M}{m} \quad (1)$$

čia: M – vandenilio chlorido rūgštis (HCl) tirpalo tiksli koncentracija, mol/l

V₁ – 0,01 M HCl kiekis, ml sunaudotas titruoti mineralizatą

V_o – 0,01 M HCl kiekis, ml sunaudotas titruoti tuščią mėginį

m – analizuoto mėginio masė, g

Baltymų kiekis procentais gaunamas azoto kiekį padauginus iš koeficiento 6,38.

2.3.2. Nebaltyminio azoto kiekio nustatymas piene, išrūgose ir sūryje

Nebaltyminio azoto kiekis išrūgų, pieno ir sūrio bandiniuose nustatomas remiantis modifikuotu ISO 8968 – 4:2001 „Pienas. Azoto kiekio nustatymas. Nebaltyminio azoto kiekio nustatymas” metodu. Metodo esmė – visi piene, išrūgose ir sūryje esantys baltymai nusodinami trichloracto rūgštimi, kuris chemiškai denatūruoja baltymus. Kadangi piene, išrūgose ir sūryje yra skirtingas baltymų kiekis, todėl reikia imti skirtingą kiekį tiriamojo objekto. Pieno imama 10 ml, išrūgų 20 ml, o varškės sūrio 1 g. Ruošiant sūrio bandinį paimama 1 g sūrio, jis ištrinamas grūstuvėje ir maišant bei praplaunant su trichloracto rūgštimi

bandinys pernešamas į 50 ml matavimo kolbą, kurioje su trichloracto rūgštimi praskiedžiama iki 50 ml. Mėginys po 20 min filtruojamas. Filtratas turi būti skaidrus. Jeigu taip nėra – baltymų nusodinimo ir filtravimo operacijos kartojamos.

Filtrato imama 20 ml, jis supilamas į mineralizavimo kolbą. Mineralizavimas vyksta taip pat, kaip ir nustatant bendrą azoto kiekį piene, t.y. pagal ISO 8968 – 1:2014 „Pienas ir pieno gaminiai. Azoto kiekio nustatymas. Kjeldalio principas ir žalio baltymo skaičiavimas“ metodą.

Nebaltyminio azoto kiekis (X) masės procentais yra lygus:

$$X = \frac{1,4007 \cdot (V_t - V_o) \cdot M \cdot m_1}{m \cdot m_2} \quad (2)$$

čia: M – vandenilio chlorido rūgšties (HCl) tirpalo tiksli koncentracija, mol/l

V_t – 0,01 M HCl kiekis, ml sunaudotas titruoti mineralizatą

V_o – 0,01 M HCl kiekis, ml sunaudotas titruoti tuščią mėginį

m – analizuoto mėginio masė;

m_1 – tiriamojo mėginio kartu su 40 ml trichloracto rūgšties masė, g;

m_2 – tiriamojo filtrato masė, g;

Nebaltyminio azoto kiekį padauginus iš 6,38 apskaičiuojamas nebaltyminio azoto procentinis kiekis.

2.3.3. Nekazeininio azoto kiekio nustatymas piene, išrūgose ir sūryje

Nekazeininiai azoto junginiai piene, išrūgose ir sūryje nustatomi nusodinant kazeininius baltymus acto rūgšties ir natrio acetato tarpalais. Po nusodinimo kazeinas nufiltruojamas, o filtrate lieka nekazeininis azotas. Nekazeininiai azoto kiekis filtrate yra nustatomas pagal standartą modifikuotą LST EN ISO 8968 – 1:2014.

Nekazeininiam azotui nustatyti piene į 100 ml matavimo kolbutę pipete atmatuojama 10 ml pieno, išrūgoms – 10 ml išrūgų. Tada įpilama 40 – 50 ml distiliuoto vandens (40 – 42 °C), paskiau 1,5 ml 10 % acto rūgšties, sumaišoma ir paliekama. Po 20 min įpilama 4,5 ml 0,25 N natrio acetato ir iki žymės vandens, sumaišoma ir po valandos filtruojama. Tiriant sūrį – imama 3 g sūrio, jis trintuvėje ištrinamas ir įpilama 20 ml distiliuoto vandens (40 – 42 °C), vėliau, praplaunant trintuvę su 20 – 30 ml distiliuoto vandens, ištirpintas sūris pernešamas į matavimo kolbutę, įpilama 1,5 ml 10 % acto rūgšties, praskiedžiama distiliuotu vandeniu iki 100 ml ir po valandos filtruojama. Filtratas turi būti visiškai skaidrus. Mineralizavimui į Kjeldalio kolbą įpilama 25 ml skaidraus filtrato, 20 ml koncentruotos sieros rūgšties, įberinama 10 - 20 mg seleno, įdedama antiputokšlio tabletė bei katalizatorius. Deginama mineralizatoriuje 90 min, 70 °C, tol kol mineralizuojamas bandinys taps žalsvas ir skaidrus.

Nekazeininio azoto kiekis piene, išrūgose ir sūryje (X) masės procentais yra lygus:

$$X = \frac{1,4007 \cdot (V_t - V_o) \cdot M \cdot m_1}{m \cdot m_2} \quad (3)$$

čia: M – vandenilio chlorido rūgšties (HCl) tirpalo tiksli koncentracija, mol/l

V_t – 0,01 M HCl kiekis, ml sunaudotas titruoti mineralizatą;

V_o – 0,01 M HCl kiekis, ml sunaudotas titruoti tuščią mėginį;

m – analizuoto mėginio masė;

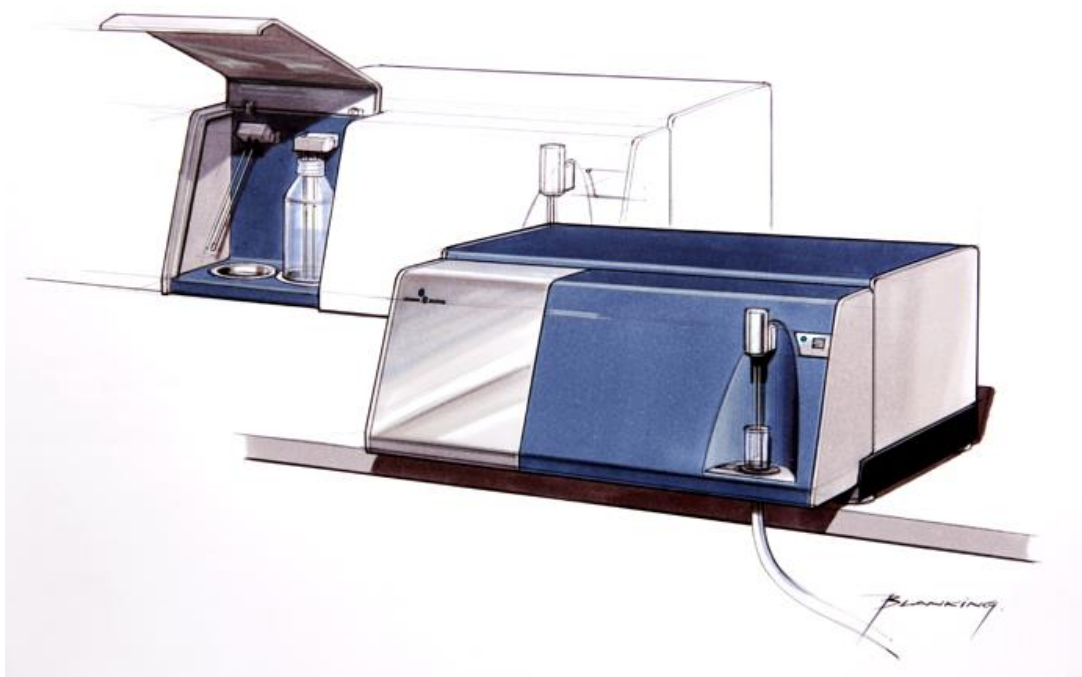
m_1 – tiriamojo mėginio kartu acto rūgštimi, natrio acetatu ir distiliuotu vandeniu, masė, g;

m_2 – tiriamojo filtrato masė, g;

Nekazeininio azoto kiekį padauginus iš 6,38 apskaičiuojamas nekazeininio azoto procentinis kiekis.

2.3.4. Pieno mišinio baltymų, riebumo nustatymas

Pieno mišinio cheminės sudėties rodikliai įmonėje nustatinėjami instrumentiniu prietaisu MilkoScan™ FT 120 pagal ISO 9622:2013 standartą. Įrenginys remiasi FT – IR matavimo principu. Su MilkoScan™ FT 120 įrengimu galima greitai išanalizuoti pieno sudėtinės dalis ir nustatyti jų kiekį piene, pvz. riebalų, baltymų, laktozės, angliavandenių. Iš viso įrengimas gali nustatyti iki 24 skirtingus parametrus, tačiau šiame tiriamajame darbe buvo nustatinėjami pieno mišinio baltymai ir riebalai. Prietaisas rezultatus gali pateikti per 30 s. Mėginio paruošimas yra labai paprastas: mėginys įpilamas į specialią stiklinę ir įdedamas MilkoScan™ FT 120 analizatorius. Pieno kokybės rodiklių rezultatai perduodami į kompiuterį.



10 pav. MilkoScan™ FT 120 (Foss, Danija)

2.3.5. Titruojamasis rūgštingumas

Rūgštingumas – tai rodiklis, kuris apibūdina piene ir pieno produktuose esančių rūgščių ir šarmų pusiausvyrą. Titruojamasis rūgštingumas – tai nustatytos koncentracijos natrio hidroksido tirpalo kiekis, reikalingas 100 ml arba 100 g produkto esančioms rūgštims neutralizuoti, indikatoriumi naudojant

fenolftaleiną. Metodo esmė – pieno ir pieno gaminių laisvųjų rūgščių, druskų, baltymų laisvųjų rūgštinių grupių bei ištirpusio CO₂ neutralizavimas naudojant natrio šarmą. Nustatant pieno ir pieno gaminių mėginių rūgštingumą – mėginiai praskiedžiami distiliuotu vandeniu. Vanduo hidrolizuoja fosforo druskas, todėl praskiesto mėginio rūgštingumas yra apie 2 °T mažesnis.

Nustatant pieno ir išrūgų titruojamąjį rūgštingumą imama 10 ml pieno ir 20 ml distiliuoto vandens, įlašinama 3 lašai fenolftaleino. Mišinio temperatūra turi būti 20 ± 1 °C.

Nustatant varškės sūrio rūgštingumą, pasveriamas 5 g mėginio, ištrinamas su grūstuve ir įpilama 50 ml 35 – 40 °C vanduo, įlašinami 3 lašai fenolftaleino.

Spalvos etalono tirpalo paruošimas pieno, išrūgų ar varškės produktų analizei naudojama kobalto sulfatas (2,5 %). Kobalto suflato tirpalas (2,5 %) įpilamas į 10 ml pieno ir 20 ml distiliuoto vandens tirpalą ir išmaišius gaunamas silpnai rausvas tirpalas, kuris yra spalvos etalonas.

2.3.6. Sausųjų medžiagų kiekis sūryje

Sausųjų medžiagų kiekis sūrio bandiniuose nustatytas išdžiovinus sūrio mėginį parafine. Pirmiausiai pasveriamas aliuminis indelis, svarstyklės sukalibruojamos ir pasveriamas 10 g mėginio. Tuomet laikant specialiu laikikliu aliuminį indelį, jame esantis mėginys atsargiai kaitinamas ant dujų degiklio liepsnos ir žiūrима, jog mėginys neputotų ir nesitaškytų. Mėginys kaitinamas, kol išsiskiria visa drėgmė – mėginys nebeputoja, nespragsi, baltymai pagelsta. Išgaravus visai drėgmei mėginys, ant nutarintų svarstyklių, vėl pasveriamas ir mėginio sausos medžiagos apskaičiuojamos pagal formulę:

$$S. M. = \frac{m_m - m_k}{m_m} * 100 \quad (4)$$

čia: S.M. – sausosios medžiagos, %

m_m – mėginio masė, g;

m_k – mėginio masė po drėgmės išgarinimo, g;

2.3.7. Riebalų kiekis sūryje

Riebalų kiekis sūrio mėginiuose nustatytas gravimetriniu metodu, remiantis LST EN ISO 11870:2009 „Pienas ir pieno gaminiai. Riebalų kiekio nustatymas. Bendrieji butirometriniai metodai“. Šio metodo esmė – riebalų išskyrimas iš tiriamojo pavyzdžio, veikiant jį koncentruota sieros rūgštimi, izoamilo alkoholiu ir išcentrine jėga. Koncentruota sieros rūgštis suardo riebalų apvalkalėlius ir kazeino fosfatą paverčia tirpia kazeino sieros rūgšties druska. Izoamilo alkoholis centrifuguojant padeda riebalams išsiskirti. Sudaręs su sieros rūgštimi esterį, izoamilo alkoholis ištirpsta sieros rūgštyje ir neturi įtakos tiriamojo mėginio riebalų kiekiui.

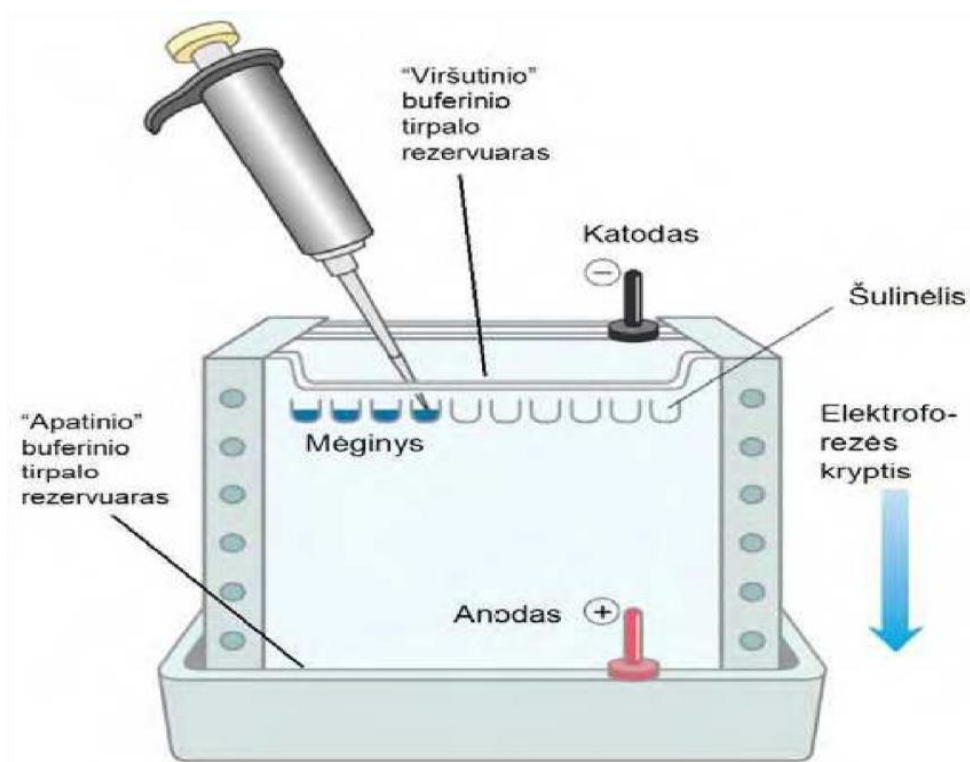
Tiriamojo darbo metu naudota Nova safety centrifūga pavaizduota 11 paveiksle.



11 pav. Nova safety (Funke Gerber, Vokietija) centrifūga

2.3.8. Baltymų sudėties nustatymas elektroforezės metodu

Elektroforezė – tai krūvį turinčių molekulių judėjimas elektriniame lauke. Tai metodas, kurį taikant atskiriami baltymai. Metodo esmė – tarp dviejų elektrodų sukuriama laukas ir baltymai ima judėti šulinėliu. Molekulių judrumas priklauso nuo jų dydžio ir krūvio. Elektroforezėje naudojami buferiniai tirpalai palaiko pastovią pH reikšmę ir užtikrina biomolekulių pastovų krūvį. Tirpale esančios druskos užtikrina elektros laidumą. 12 paveiksle pavaizduota tiriamajame darbe naudotos vertikaliosios natrio dodecilsulfato denatūruojanti poliakrilamidinio gelio elektroforezės (SDS-PAGE) principinė schema.



12 pav. Vertikalios elektroforezės principinė schema

Sūrio ir išrūgų bandiniuose esantys baltymai buvo indentifikuojami taikant šį eletroforezės metodą. Elektroforezės vykdymo etapai:

- Baltymų standarto paruošimas (Broad Range Marker) yra pateikti 2.1. lentelėje;

2.1. lentelė. baltymų standarto paruošimas

Reagentai		Kiekis, µl
Broad Range Marker Bio – Rad	Baltymų markeris	4
Sample Reducing Agent (10X)	Redukuojantis agentas	15
MiliQ H ₂ O	Distiliuotas vanduo	93,5
4X LDS Sample Buffer	LDS buferis	37,5
Iš viso:		150

Prieš naudojimą baltymų standartas atšildytas kambario temperatūroje.

- Bandinių paruošimas;

Analizuojamas baltymų tirpalas praskiedžiamas iki 7 mg/ml su 100 mM Tris-Buffer. Išrūgose baltymų yra ~0,6 %, todėl jų skiesti nereikia. Ruošiant sūrio bandinį, 1 g sūrio iširpinamas 20 ml 0,1 N NaOH. Sūrio baltymų tirpale baltymų yra ~1,6 %, pieno ~3,2 %, todėl praskiedžiama iki 7 mg/ml. Pieno skiedimas: 2 µl pieno, 8 µl 100 mM Tris – Buffer. Sūrio baltymo tirpalo skiedimas: 4 µl sūrio baltymų tirpalo, 6 µl 100 mM Tris – Buffer.

Bandinių paruošimas pateiktas 2.2. lentelėje:

2.2. lentelė. Bandinių paruošimas

Bandinių kiekis	Neredukuoti bandiniai			Redukuoti bandiniai		
	Baltymų tirpalas (~0,2 – 0,7 % baltymų), µl	4X ličio dodecilsulfato buferis, µl	Distiliuotas vanduo, µl	Baltymų tirpalas (~0,2 – 0,7 % baltymų), µl	4X ličio dodecilsulfato buferis, µl	mėginius redukuojantis agentas (10X), µl
X1	6,5	2,5	1	6,5	2,5	1
X5	32,5	12,5	5	32,5	12,5	5

Paruošti bandinio buferiai sumaišomi su analizuojamu baltymų tirpalu. Paruošti bandiniai centrifuguojami, o po to pakaitinami 10 min 80 °C temperatūroje nuolat maišant.

- Gelio buferio 1X (1X MES Running Buffer) paruošimas;
40 ml 20X MOBS Buffer atskiedžiamas su 760 ml distiliuoto vandens kiekiu ir išmaišomas.
- Elektroforezės atlikimas

Išimama viena gelio kasetė iš pakuotės ir atsargiai nuplaunama distiliuotu vandeniu. Nuplovus kasetę nulupama apsauginė juostelė ir atsargiai išimamos šakutės. Su nedideliu kiekiu 1X MOBS gelio buferiu pašalinami oro burbuliukai iš gelio šulinėlių. Paruošta elektroforezei galio kasetė įdedama į gelio kamerą. Vidinė gelio kameros pusė užpildoma gelio buferiu. Išorinė kamera su gelio buferiu užpildoma iki pusės. Į

gelio šulinėlius išvirkščiami paruošti standartai ir neredukuoti/redukuoti bandiniai. Užpildžius visus šulinėlius, išorinė gelio kamera iki viršaus užpildoma gelio buferiu ir kamera uždaroma. Prijungiamas maitinimo šaltinis ir leidžiama 200 V srovė apie 50 min, kol bandiniai pasiekia šulinėlių apačią. Bandiniams pasiekus šulinėlių apačią, išjungiama maitinimo šaltinis, išimama iš kameros gelio kasetė ir nuplaunama distiliuotu vandeniu. Gelio peiliu labai atsargiai atidaroma gelio kasetė ir įdedamas gelis į Coomassie dažus ir laikomas 24 val. Po 24 val labai atsargiai ir nesuplėšant gelis pernešamas į distiliuoto vandens dėžutę ir palaikomas 1 val, kol dažai nusiplaun nuo gelio. Procedūra pakartojama 2 kartus.

2.3.9. Kalibracinių kreivių kūrimas FT-NIR spektrofotometru

Nustačius FT – NIR MPA™ spektrofotometru (Bruker optika, Vokietija) tyrimo objektų – sūrio, pieno mišinio, išrūgų spektrus kuriamos kalibracinės kreivės ir naujas greitasis cheminės sudėties nustatymo metodas.



13 pav. FT – NIR MPA™ spektrofotometras (Bruker optika, Vokietija)

Kuriant greitąjį sudėties nustatymo metodą reikia atlikti pieno mišinio, išrūgų ir sūrio spektrinę analizę bei nustatyti cheminių rodiklių rezultatus, kurie gaunami pamatiniais metodais. Kiekvienas tyrimo objektas turi savitą spektrą, kuris būdingas tik tam tikram produktui.

Cheminiiais – pamatiniais metodais nustatoma pieno mišinio riebumą, bendrą baltymų kiekį, kazeininių, išrūginių baltymų kiekį, nebaltyminio azoto kiekį sukuriama kalibracinė kreivė. Atlikus visų

tirtų pieno mišinių spektrinę analizę – sukuriama 13 % riebumo sūriui gaminti naudojamo pieno mišinio kalibracinė kreivė ir jam analizuoti greitasis metodas.

Atlikus visų tirtų išrūgų bandinių spektrinę analizę ir cheminiais – pamatiniais metodais nustačius išrūgų bendrą, kazeininių, išrūginių baltymų kiekį, nebaltyminio azoto kiekį – sukuriama kalibracinė kreivė ir greitasis metodas nustatyti po gamybos proceso likusiam šalutiniui gamybos produktui.

Atlikus visų tirtų varškės sūrio bandinių spektrinę analizę ir cheminiais – pamatiniais metodais nustačius 13 % sūrio riebumą, sausąsias medžiagas, bendrą, kazeininių ir išrūginių baltymų kiekį, nebaltyminio azoto kiekį sukuriama kalibracinė kreivė ir greitasis metodas 13 % riebumo sūrio cheminei sudėčiai nustatyti.

Atliekant pieno mišinio ir išrūgų bandinių spektrinę analizę, mėginiai buvo pašildomi vandens vonelėje iki 40 °C, tada atsargiai suplakami bei įpilami į 0,5 mm kiuvetę skirtą spektrinei analizei. Spektras gautas nuo 1100 iki 2500 nm 2 nm intervalų atstumu. Spektrofotometre įrengtas 40 °C temperatūros palaikymo modulis. FT – NIR analizėje sūrio bandiniai (120 g) buvo dedami į Petrį lėkšteles, pašildomi iki 20 °C temperatūros, pasiekus reikiamą temperatūrą lėkštelės dedamos į FT – NIR įrenginį.

Sūrio bandiniai buvo paruošiami juos sutarkuojant 0,6 mm tarka ir griežinėlius nehomogenizuojant patalpinant ant analizatoriaus lekštutės. Spektas analizuojamas OPUS LAB programine įranga. Tam, kad būtų išvengta atsitiktinių klaidų - kiekvienas bandinys buvo analizuojamas tris kartus. Iš viso buvo matuota po 25 vnt sūrio, pieno mišinio ir išrūgų bandinių, kurie buvo matuojami po tris kartus, t.y. iš viso buvo atlikta 225 matavimų.

Atliekant metodo validaciją ir kalibraciją, pagal statistinį pasiskirstymą bandiniai pagal jų statistinį patikimumą palyginus su vidutiniu spektru, lyginami nuo labiausiai ir mažiausiai tikėtino. Taigi, keletas sūrio, pieno mišinio ir išrūgų bandinių rezultatai kurie išsiskyrė – buvo išimami. Kalibracijos kreivės teisingumas, nusakomas didžiausiu R^2 (koreliacijos koeficientas), mažiausia standartinė kalibravimo paklaida (SEC) ir mažiausia kvadratų validacinė paklaida (RMSECV).

2.3.10. Statistinė analizė

Laboratorijoje atlikti eksperimentai kartoti tris kartus, rodiklių matavimus atliekant tris kartus. Tyrimų rezultatai ir statistiniai duomenys apskaičiuoti naudojant kompiuterinę programą “IBM SPSS Statistics”. Skirtumams įvertinti naudotas Stjudento t-testas. Duomenys buvo laikomi statistiškai reikšmingais, kai $p < 0,05$.

3. REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS

3.1. Sezoniškumo įtakos varškės sūrio gamybos išeigoms ir cheminės sudėties pokyčiams tyrimai

Pieno mišinio, išrūgų ir varškės sūrio tyrimai buvo atliekami ištisus metus vertinat gautų produktų išeigas bei cheminės sudėties pokyčius. Pagal įmonėje gautus tyrimų rezultatus, vertinta sūrių išeigų priklausomybė nuo pieno mišinio sudėties pokyčių keturiems sezonams (vasaros, žiemos pavasario ir rudens). Tuo tarpu, išrūginių ir kazeininių baltymų pokyčiai vertinti dviem laikotarpiais, t.y vasaros (gegužės, birželio, liepos, rugpjūčio mėnesiais) ir žiemos (rugsėjo, spalio, kovo, balandžio mėnesiais). Pirmuoju atveju, pienas gaunamas galvijams besiganat pievose, antru – laikant galvijus uždaroje patalpose. Kiekvieną savaitę analizuota pilna, pramoniniu būdu pagaminta gamybinė partija.

Kiekybinės cheminės sudėties pokyčiai vertinti nustatant:

- pieno mišiniui – riebumą, bendro azoto kiekį, baltyminio ir nebaltyminio azoto, išrūginių ir kazeininių baltymų kiekį ir rūgštingumą.
- išrūgoms – bendrą azoto kiekį, baltyminio ir nebaltyminio azoto, išrūginių ir kazeininių baltymų kiekį bei rūgštingumą.
- Varškės sūriams – bendrą azoto kiekį, baltyminio ir nebaltyminio azoto, išrūginių ir kazeininių baltymų kiekį, sausąsias medžiagas, riebumą ir rūgštingumą.

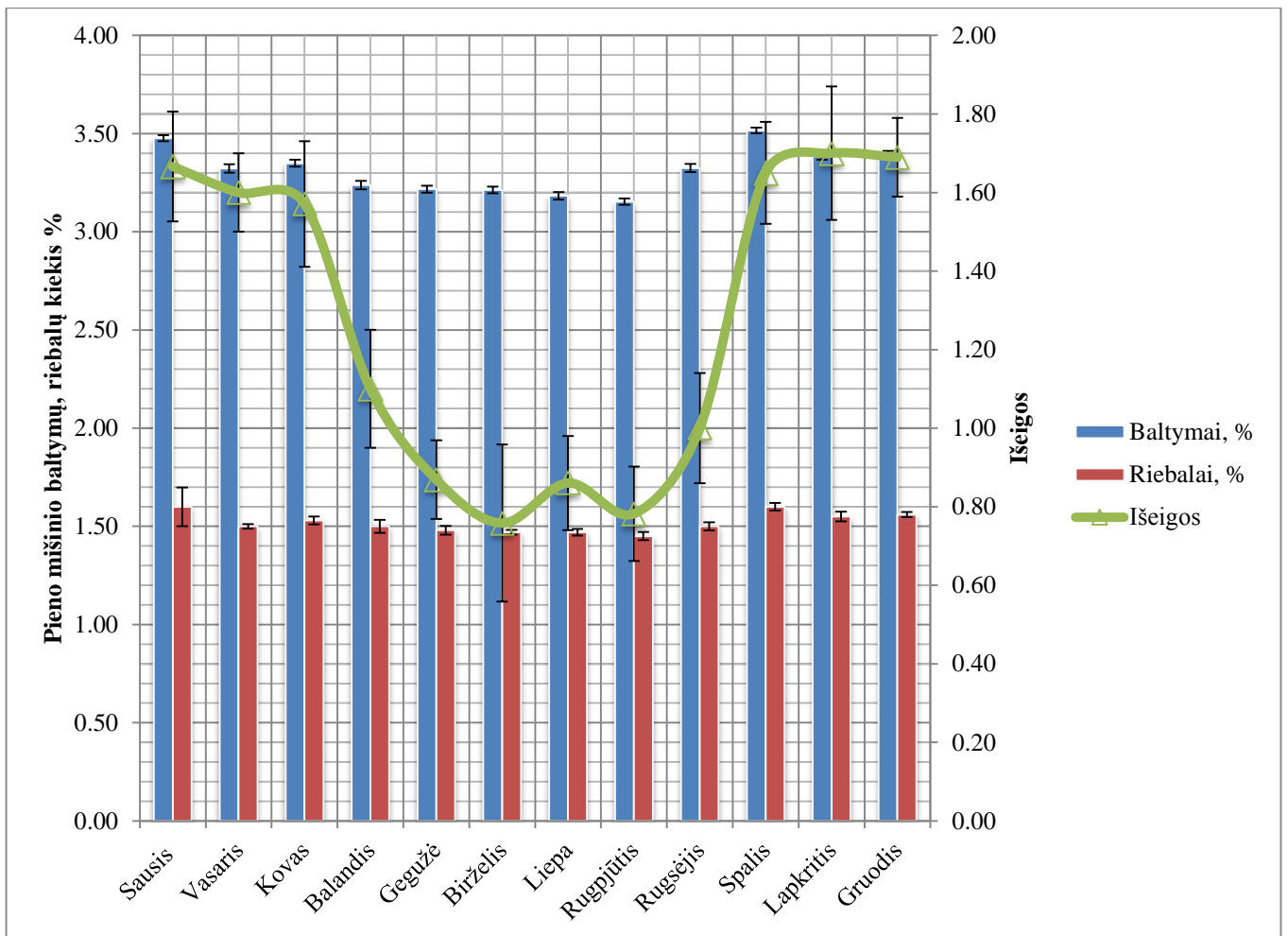
3.1.1. Sūrio išeigos priklausomybė nuo pieno mišinio sudėties

Pirmiausiai įvertinta sūrio išeigos priklausomybė nuo pieno mišinio sudėties. Dėl baltymų kiekio ir riebumo pokyčių keičiasi varškės sūrio išeiga. Todėl šių rodiklių kiekiai, buvo nustatyti Miloscan FT120 įrenginiu. Santykinės sūrių išeigos priklausomybė nuo pieno mišinio pateikta 14 paveiksle.

Žiemos sezone gaunamos didžiausios išeigos, todėl pagal šį sezoną lyginti kiti sezonai. Nustatyta, kad gaunamos sūrių išeigos yra didesnės 5,5 % palyginus su pavasario ($p<0,05$), vasaros 10,21 % ($p<0,05$) ir rudens 2,29 % ($p<0,05$) sezonais.

Tai galima paaiškinti tuo, kad šaltuoju metų periodu karvės duoda mažesnę pieno kiekį, tačiau geresnių kiekybinių parametru – baltymingesnę, riebesnę. Šiuo periodu – spalio, lapkričio, gruodžio, sausio, vasario, kovo mėnesiais pieno baltymų kiekis pieno mišinyje, iš kurio gaminamas 13 % sūris, svyruoja nuo 3,35 % iki 3,52 %. Šie rodikliai žymiai didesni, nei šiltuoju metų laikotarpiu. Šiltuoju metų periodu karvės duoda didesnę kiekį žalio pieno, tačiau blogesnių kiekybinių parametru.

Pieno mišinio baltymingumą analizuojant pagal sezoniškumą, nustatyta, kad žiemos sezono pieno mišinys turėjo 0,31 % daugiau baltymų lyginant su rudens sezono. Tačiau reikšmingų skirtumų nenustatyta ($p>0,05$). Lyginant žiemos sezono pieno mišinį su pavasario ir vasaros sezonu, nustatyta, kad žiemos sezono pienas baltymingesnis atitinkamai 3,97 % ir 6,73 % ($p<0,05$).



14 pav. Sūrių išėigos priklausomybė nuo pieno mišinio sudėties

Įvertinus pieno mišinio riebumo skirtumus, nustatyta, kad žiemos sezone, gaminant 13 % riebumo sūrį, buvo naudotas riebiausias pieno mišinys, kurio vertės siekė 1,55 % riebumo. Palyginus su pavasario, vasaros ir rudens sezonais, žiemos sezone pieno mišinys buvo riebesnis atitinkamai 3,32 % ($p < 0,05$), 6,15 % ($p < 0,05$) ir 0,22 % ($p > 0,05$).

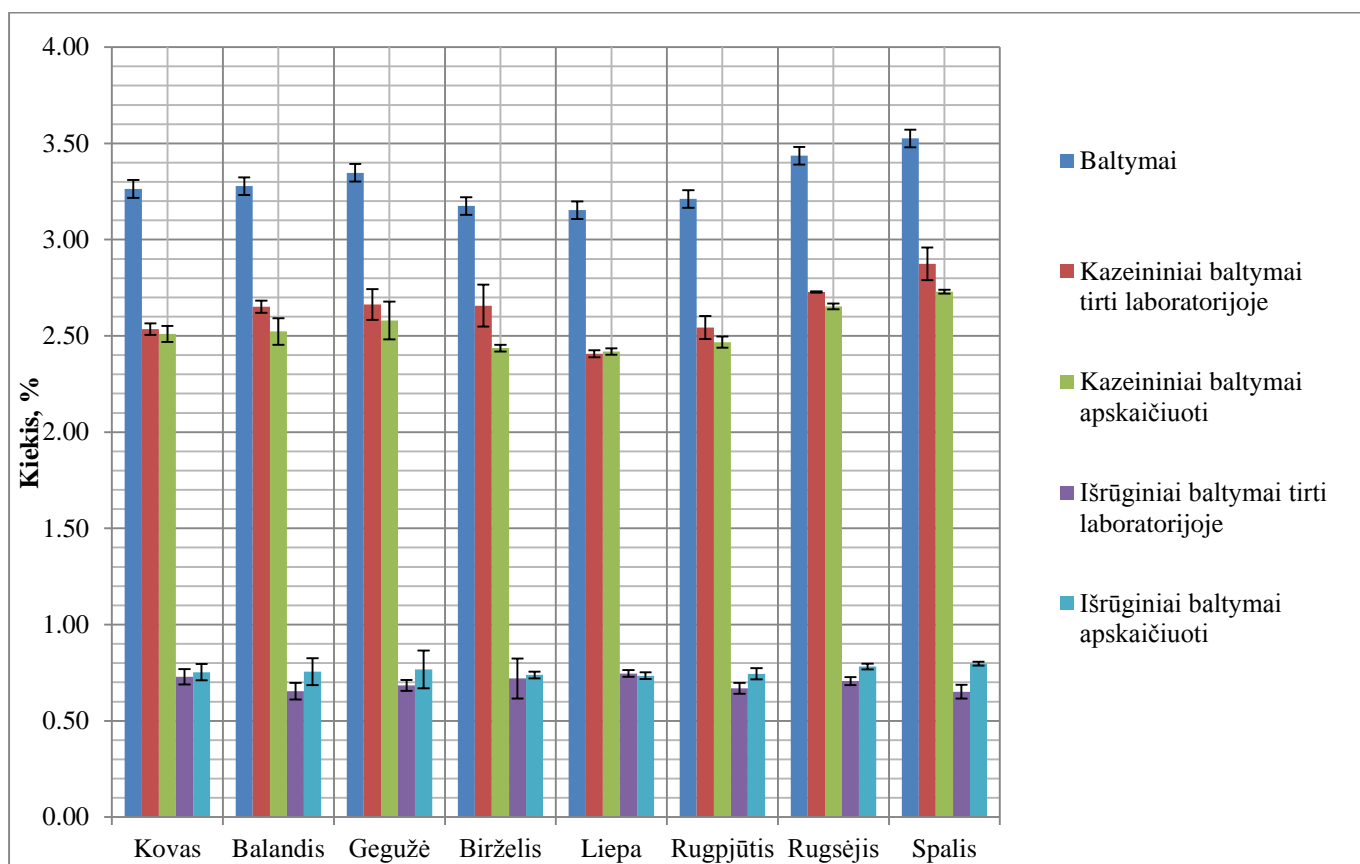
Įvertinus skirtingų sezoniškumų (žiemos, pavasario, vasaros ir rudens) pieno baltymingumą ir išėigų vertes, gaunama stipri koreliacinė vertė ($R^2 = 0,9183$). Tai pagrindžia teoriją, jog įprastomis sąlygomis, didesnio baltymingumo pienas suteiks didesnes gamybines išėigas.

Pieno mišinys normalizuojamas pagal pieno mišinio baltymų kiekį, taikant prielaidą, kad kuo mišinys baltymingesnis, tuo didesnė sūrio išėiga. Todėl reikia riebesnio mišinio tam, kad būtų gauta reikiamo riebumo sūrio sudėtis. Įvertinus pieno mišinio priklausomybę tarp baltymų ir riebalų kiekio gaunama labai stiprus koreliacijos ryšys ($R^2 = 0,945$).

3.1.2. Pieno mišinio baltymų kiekybiniai pokyčiai

Pieno sudėčiai didelę įtaką turi metų laikas. Normaliomis sąlygomis, riebalų ir baltymų kiekis minimumą pasiekia rugpjūtį, o maksimumą – spalį. Mokslinėje literatūroje aprašoma, kad kazeininių baltymų santykis lyginant su bendru baltymų kiekiu, keičiantis metų laikams, išlieka pastovus [26].

Baltymų sudėties kitimas viso sezono metu pavaizduotas 15 paveiksle. Pateiktame paveiksle, palyginti laboratorijoje gauti rezultatai su teoriniu kazeininių ir išrūginių baltymų apskaičiavimu.



15 pav. Pieno mišinio kazeininių ir išrūginių baltymų sudėties kitimas

13 % sūriui gaminti skirto normalizuoto pieno mišino kiekybinei analizei atlikome bendro azoto, baltyminio ir nebaltyminio azoto, kazeininių ir išrūginių baltymų, rūgštingumo nustatymus. Metų eigoje skyrėsi mišinių baltymingumas. Didžiausias bendras baltymų kiekis nustatytas spalio mėnesį 3,56 %, mažiausias liepos mėnesį 3,15 % ($p < 0,05$). Spalio mėnesio pieno baltymų kiekį procentiškai lyginant su kitais mėnesiais, gaunama, kad spalio mėnesio pieno baltymingumas labiausiai skyrėsi palyginus su birželio 11,06 % ir liepos 11,82 % mėnesiais gaunamo pieno ($p < 0,05$).

Kaip ir bendras baltymų kiekis, taip ir kazeininių baltymų kiekis piene didžiausias buvo spalio mėnesį 2,86 %, o mažiausias liepos mėnesį 2,41 % ($p < 0,05$). Spalio mėnesio kazeininių baltymų kiekį procentiškai palyginus su kitais mėnesiais, nustatoma, kad spalio mėnesio pieno kazeininių baltymų kiekis labiausiai skyrėsi nuo liepos mėnesio piene esančio kazeininių baltymų kiekio 19,43 % ($p < 0,05$).

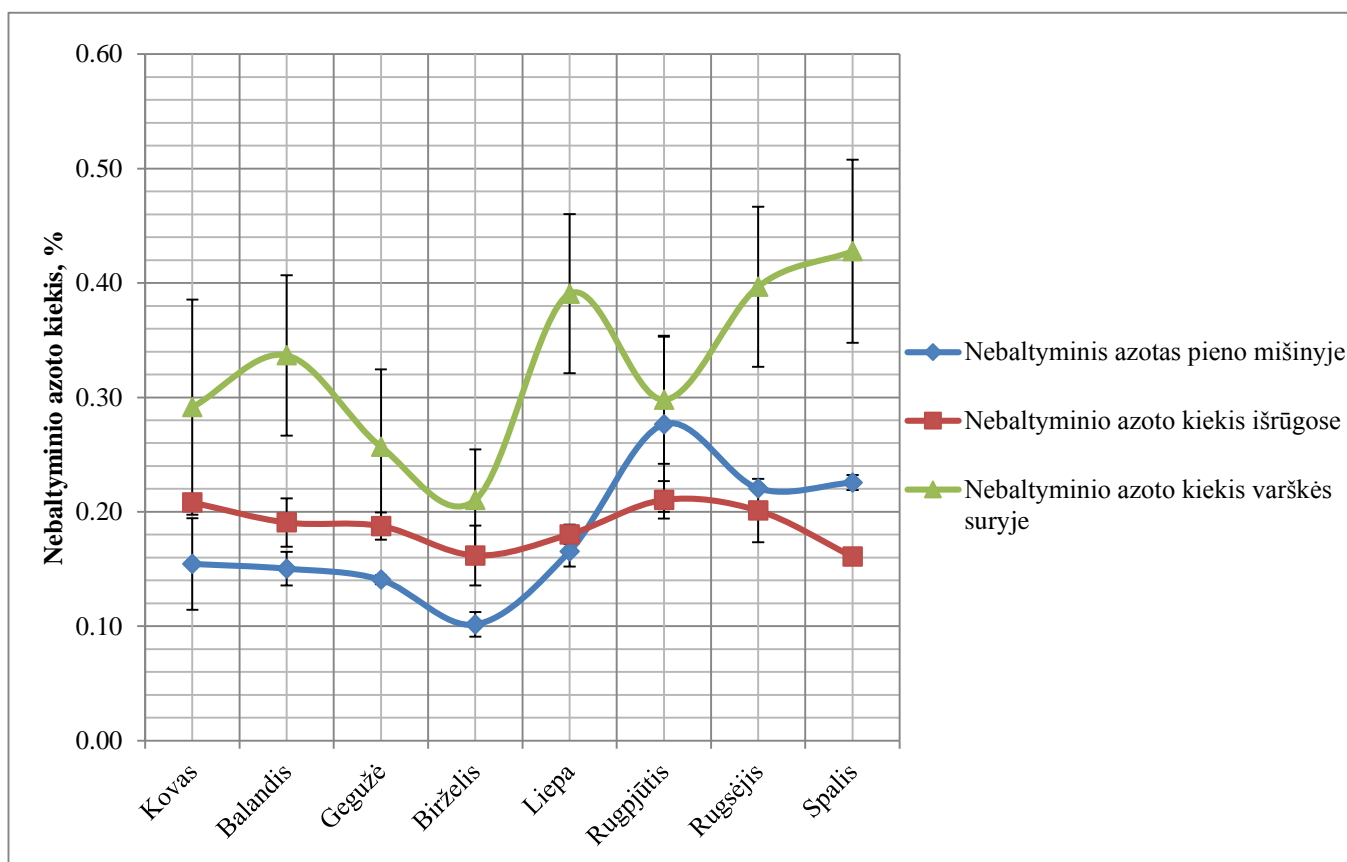
Išrūginių baltymų didžiausias kiekis nustatytas liepos mėnesį (0,75 %), mažiausias spalio (0,651 %) ir balandžio mėnesiais (0,653 %) ($p > 0,05$). Liepos mėnesį išrūginių baltymų kiekį procentiškai palyginus su spalio ir balandžio mėnesiais, nustatyta, jog piene esančio išrūginių baltymų kiekis skyrėsi atitinkamai 14,56 % ir 14,13 % ($p > 0,05$).

Teoriškai apskaičiavus pieno mišinio kazeininių baltymų kiekį ir palyginus su laboratorijoje atliktais tyrimais, gauti nedideli skirtumai. Statistiškai reikšmingų skirtumų neaptikta ($p > 0,05$). Palyginus teoriškai apskaičiuotą išrūginių baltymų kiekį su laboratorijoje gautais rezultatais nustatyti didesni skirtumai ($p < 0,05$). Laboratorijoje nustatyti rezultatai mažesni nei apskaičiuoti. Taip galėjo atsitikti dėl nebaltyminio azoto kiekio skaičiavimo metodikos. Šiame tiriamajame darbe nebaltyminis azotas nesumuojamas į bendrą baltymų balansą, kai tuo tarpu skirtingose literatūros šaltiniuose nebaltyminis azotas priskiriamas išrūginiams baltymams [14, 26].

Įvertinus priklausomybę tarp pieno bendro baltymingumo bei kazeininių baltymų kiekio piene, gautas stiprus koreliacinis ryšys ($R^2 = 0,7428$) pagrindžia teoriją, jog įprastomis sąlygomis, kazeininių baltymų kiekio santykis su bendru baltymų kiekiu keičiantis metų laikams išlieka pastovus [26].

3.1.3. Nebaltyminio azoto kiekis pieno mišinyje, išrūgose ir sūryje

Pieno mišinio, išrūgų, sūrio bandinių nebaltyminio azoto kitimas yra pateiktas 16 paveiksle.



16 pav. Pieno mišinio, išrūgų, varškės sūrio bandinių nebaltyminio azoto kitimas

Nebaltyminio azoto kiekis pieno mišinysje svyravo nuo 0,15 % iki 0,28 %. Didžiausias nebaltyminio azoto kiekis pieno mišinysje užfiksuotas rugpjūčio mėnesį 0,28 %. Procentiškai palyginus rugpjūčio mėnesį nustatyto nebaltyminio azoto kiekį su žiemos laikotarpiu nustatyta, kad rugpjūčio mėnesį nebaltyminio azoto buvo daugiau 86,25 % ($p < 0,05$).

Išrūgose nebaltyminio azoto kiekis svyravo nuo 0,16 % iki 0,21 % ($p > 0,05$). Išrūgose taip pat didžiausias nebaltyminio azoto kiekis randamas rugpjūčio mėnesį.

Mokslinėje literatūroje aprašoma, jog nebaltyminės azotinės medžiagos yra laisvosios aminorūgštys, mažos molekulinės masės azoto junginiai, kurie pereina į pieną tiesiogiai iš galvijo kraujo [16]. Todėl nebaltyminių azotinių junginių kiekis piene priklauso nuo metų laiko – didesnis šių junginių kiekis yra vasaros sezono piene, ypač karvėms ganantis gausiai azoto trąšomis tręstose ganyklose [35]. Gauti rezultatai patvirtina šią teoriją, nes tiriamojo darbo metu daugiausiai nebaltyminio azoto piene nustatyta, kai karvės išvedamos į ganyklas.

Varškės sūryje daugiausiai nebaltyminio azoto randama spalio mėnesį – 0,43 %. Palyginus varškės sūrį, kuris gamintas žiemos periodu su gamintu vasaros periodu, gauta, kad žiemos laikotarpio sūryje yra 29,17 % daugiau nebaltyminio azoto ($p > 0,05$).

3.1.4. Išrūgų baltymų kiekybiniai pokyčiai

Sūrių gamybos metu šalutinis gamybos produktas yra išrūgos. Išrūgose lieka daug biologiškai vertingų medžiagų – laktozės, riebalų, kazeininių, išrūginių baltymų. Įmonėms svarbu, jog išrūgose būtų kuo mažesnis baltymų kiekis. Pagal šį rodiklį galima spręsti ar varškės sūrio gamybos technologinis procesas yra teisingas – kuo daugiau išrūgose baltymų, tuo mažesnė išeiga ir daugiau prarandama baltymų.

Po 13 % sūrio gamybos likusių išrūgų baltymų analizei buvo atlikta bendro baltymų (azotinių medžiagų), nebaltyminių ir baltyminių medžiagų, išrūginių baltymų ir kazeininių baltymų kiekių nustatymai. Rezultatai pateikti 3.1. lentelėje.

Bendras baltymų kiekis parodo, koks apskritai yra išrūgose azotinių medžiagų kiekis – kazeininių, išrūginių baltymų, nebaltyminio azoto kiekis. Bendras baltymų kiekis kito gan plačiose ribose – didžiausias bendras baltymų kiekis užfiksuotas kovo mėnesį 0,83 %, mažiausias liepos mėnesį 0,64 % ($p < 0,05$). Tam įtakos turėjo besikeičiantis metų laikas, pieno, iš kurio gaminamas varškės sūris, sudėtis, gamybos proceso ypatumai. Užsienio literatūroje randama informacija apie rūgščių išrūgų sudėtį mažai skyrėsi nuo šiame darbe gautų rezultatų [41].

Tikrųjų baltymų didžiausias kiekis išrūgose užfiksuotas kovo mėnesį 0,6 %. Mažiausias tikrųjų baltymų kiekis buvo liepos mėnesį 0,46 % ($p < 0,05$). Nors technologinis procesas turi didelę įtaką baltymų kiekiui išrūgose, tačiau išvedus koreliaciją, tarp pieno mišinysje ir išrūgose esančio baltymų kiekio,

gaunamas stiprus koreliacinis ryšys ($R^2= 0,7947$). Tai reiškia, jog kuo daugiau piene yra baltymų, tuo daugiau baltymų bus ir išrūgose.

3.1. lentelė. Rūgščių išrūgų baltyminės sudėties pokyčiai

Laikotarpis	Rodikliai, %				
	Baltymų kiekis,	Tikrųjų baltymų kiekis	Kazeininių baltymų kiekis	Išrūginių baltymų kiekis	Nebaltyminis azotas
Kovas	0,83 ± 0,07	0,60 ± 0,05	0,22 ± 0,04	0,40 ± 0,06	0,21 ± 0,03
Balandis	0,73 ± 0,12	0,54 ± 0,07	0,12 ± 0,07	0,42 ± 0,08	0,19 ± 0,04
Gegužė	0,71 ± 0,08	0,53 ± 0,05	0,16 ± 0,09	0,37 ± 0,05	0,19 ± 0,02
Birželis	0,67 ± 0,08	0,51 ± 0,04	0,14 ± 0,04	0,36 ± 0,01	0,16 ± 0,05
Liepa	0,64 ± 0,01	0,46 ± 0,01	0,12 ± 0,06	0,34 ± 0,05	0,18 ± 0,02
Rugpjūtis	0,70 ± 0,07	0,48 ± 0,07	0,05 ± 0,04	0,44 ± 0,05	0,21 ± 0,03
Rugsėjis	0,77 ± 0,08	0,57 ± 0,04	0,05 ± 0,02	0,52 ± 0,03	0,20 ± 0,04
Spalis	0,73 ± 0,01	0,56 ± 0,01	0,04 ± 0,02	0,52 ± 0,03	0,16 ± 0,01

Išrūgose labiausiai kito kazeininių baltymų kiekis. Didžiausias kazeininių baltymų kiekis nustatytas kovo mėnesį 0,22 %, o mažiausias spalį – 0,04 %. Įprastai kazeininių baltymų kiekis išrūgose neturėtų būti didelis (< 0.05 %). Literatūroje pateikiamas kazeininių baltymų kiekis išrūginiuose baltymuose yra 0,05 % [28]. Padidėjęs kazeininių baltymų kiekis rodo, jog ne visiškai teisingas technologinis sūrių gamybos procesas. Kazeininių baltymų kiekis išrūgose gali padidėti dėl šių priežasčių – susiformuoja per smulki varškė, traukinant varškę per daug greitai maišoma, traukinama varškė per žemoje temperatūroje, sutraukinus varškę nepalaukiama, kol varškė subręs, per aukšta pasterizacijos temperatūra, problemos su žaliava. Iš gautų rezultatų galima daryti išvadą, jog kovo – liepos mėnesiais įmonėje, iš kurios buvo imami išrūgų mėginiai – technologinis procesas nebuvo visiškai sklandus ir buvo patiriami nuostoliai dėl kazeininių baltymų perėjimo į išrūgas.

Išrūginių baltymų daugiausiai buvo rugsėjo ir spalio mėnesiais 0,52 %, kai pradėjo didėti piene esantis baltymų kiekis. Mažiausias išrūginių baltymų kiekis užfiksuotas liepos mėnesį 0,34 % ($p<0,05$). Išvedus koreliaciją tarp išrūginių baltymų ir pieno bendro baltymų kiekio gaunamas vidutinis koreliacinis ryšys ($R^2= 0,6827$).

3.1.5. Sūrio cheminės sudėties kiekybiniai pokyčiai

Siekiant įvertinti, kokius kiekybinius pokyčius gali sukelti sezoniškumo įtaka, buvo tirta sūrių bendras baltymų, kazeininių ir išrūginių baltymų, nebaltyminio azoto kiekis, riebumas ir sausosios medžiagos (3.2. lentelė).

3.2. lentelė. 13 % riebumo varškės sūrio sudėties rodiklių kitimas metų eigoje

Laiko- tarpis	Rodikliai, %					
	Baltymai	Tikrieji baltymai	Kazeininiai baltymai	Išrūginiai baltymai	Riebumas	Sausosios medžiagos
Kovas	24,99 ± 0,78	24,43 ± 0,44	23,84 ± 0,42	0,88 ± 0,24	11,93 ± 1,10	36,00 ± 1,53
Balandis	26,75 ± 0,44	26,08 ± 0,35	25,98 ± 0,38	0,43 ± 0,14	12,75 ± 1,19	37,25 ± 1,50
Gegužė	25,51 ± 1,47	25,25 ± 0,93	24,90 ± 1,27	0,35 ± 0,30	12,50 ± 0,29	37,00 ± 1,00
Birželis	24,26 ± 1,89	24,05 ± 1,16	23,32 ± 2,27	0,73 ± 0,38	11,67 ± 0,29	35,33 ± 1,53
Liepa	24,42 ± 0,57	24,03 ± 0,44	23,44 ± 0,49	0,59 ± 0,37	12,25 ± 0,65	36,88 ± 2,66
Rugpjūtis	26,64 ± 1,56	26,34 ± 0,90	25,52 ± 1,41	0,82 ± 0,26	12,75 ± 0,29	38,25 ± 0,96
Rugsėjis	25,47 ± 1,80	25,07 ± 1,16	24,37 ± 1,65	0,70 ± 0,33	12,25 ± 1,06	37,00 ± 1,41
Spalis	25,83 ± 1,51	25,41 ± 0,73	24,59 ± 1,47	0,81 ± 0,13	12,50 ± 0,71	37,50 ± 0,71

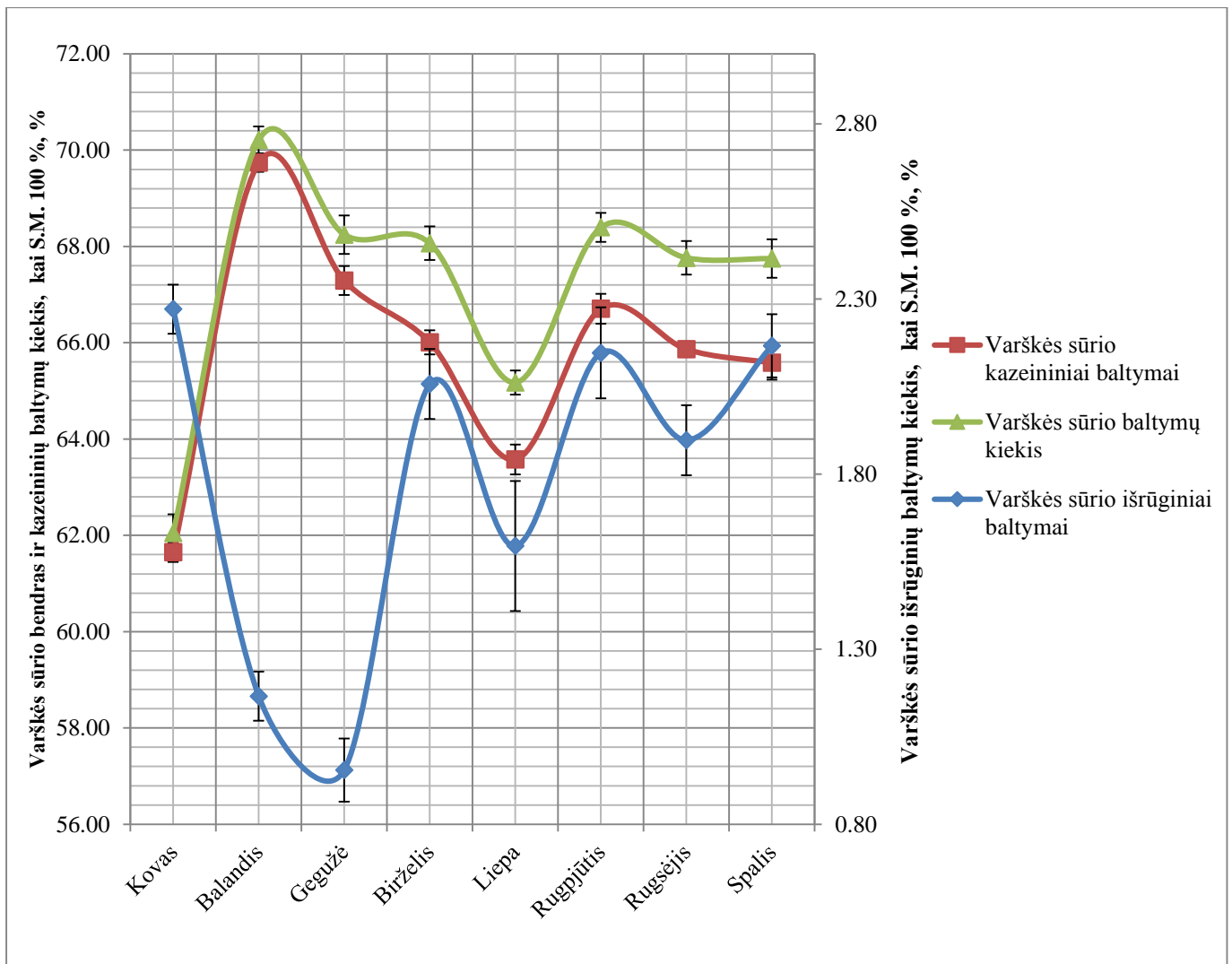
Duomenys rodo, kad daugiausiai tikrųjų baltymų buvo rugpjūčio 26,34 % ir balandžio 26,08 % mėnesiais. Mažiausias tikrųjų baltymų kiekis užfiksuotas birželio 24,05 % ir liepos 24,03 % mėnesiais. Įvertinus sezoniškumo įtaką gauta $p > 0,05$.

Išrūginių baltymų kiekis kito gana plačiose ribose – didžiausias kiekis nustatytas kovo mėnesį 0,88 %, o mažiausias kiekis gegužės mėnesį 0,35 % ($p < 0,05$). Pieno traukinimo metu pieno baltymų tinklo kilpelėse užsidaro dispersinė aplinka su visomis joje esančiomis sudedamosiomis pieno dalimis – tame tarpe ir išrūginiais baltymais [57]. Todėl išrūginių baltymų kiekis sūryje parodo, kaip pavyko varškės traukinimo metu išrūginius baltymus užrakinti į kazeino kalcio – fosfato kompleksą. Iš šios teorijos ir gautų rezultatų galima daryti išvadas, jog tai padaryti geriausiai sekėsi kovo mėnesį, o blogiausiai gegužės mėnesį.

Nebaltyminis azotas metų eigoje kito gana nežymiai – nuo 0,29 % kovo mėnesį iki 0,43 % spalio mėnesį ($p < 0,05$).

Sūrio riebumas kito nuo 11,93 % kovo mėnesį iki 12,75 % rugpjūčio mėnesį ($p > 0,05$). Riebumo vertės priklauso nuo sūrio sausųjų medžiagų – kuo sūris sausesnis, tuo sūryje procentiškai didesnis kiekis riebalų. Sausiausias sūris gamintas rugpjūčio mėnesį 38,25 %, o turintis daugiausiai drėgmės – kovo mėnesį 36,00 % ($p > 0,05$). Tarp sausųjų medžiagų ir riebalų gautas stiprus koreliacinis ryšys ($R^2 = 0,8664$).

Iš gautų duomenų matome, kad baltymų kiekis sūryje priklauso nuo sūrio sausųjų medžiagų – kuo varškės sūris sausesnis, tuo sūryje daugiau baltymų. Gaunamas stiprus koreliacinis ryšys tarp baltymų kiekio ir sausųjų medžiagų ($R^2 = 0,7276$). Todėl lyginant, kaip sezoniškumo atžilgiu kito baltymų kiekis varškės sūryje, perskaičiuotas baltymų kiekis, lyg sūrio sausosios medžiagos sudarytų 100 %. Kiek kazeininių ir išrūginių baltymų sūryje būtų, jei sausosios medžiagos sūryje sudarytų 100 % yra pateikta 17 paveiksle.

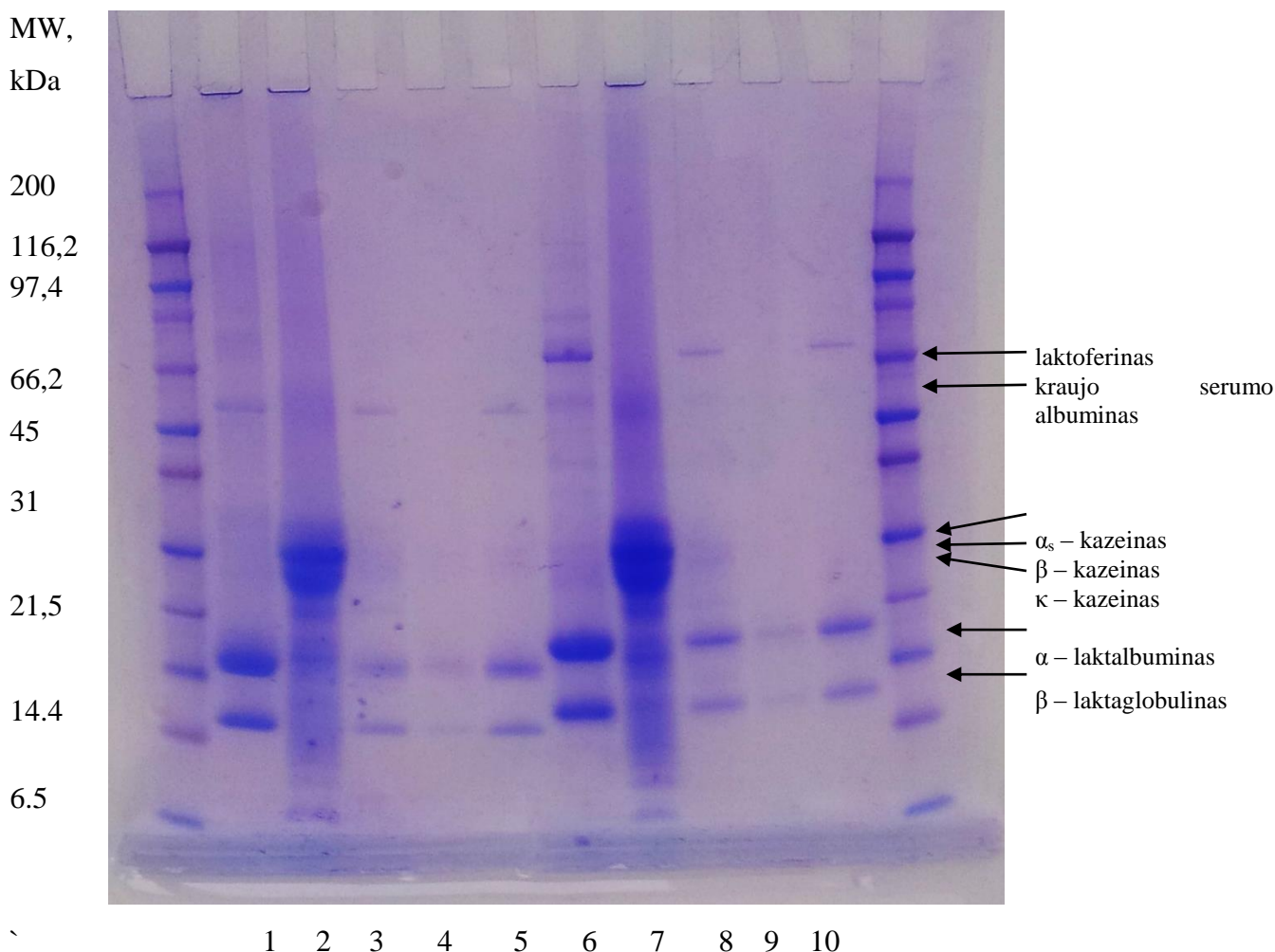


17. pav. Bendras, kazeininių ir išrūginių baltymų kitimas, kai sūrio S.M. 100 %

Tokiomis sąlygomis didžiausias išrūginių baltymų kiekis nustatytas kovo mėnesį 2,44 %. Kovo mėnesį ir sūrio išeiga buvo viena didžiausių 1,57. Mažiausias išrūginių baltymų kiekis nustatytas gegužės mėnesį 0,95 % ($p < 0,05$). Taip pat gegužės mėnesį buvo nustatata viena mažiausių išeigų 0,87. Varškės sūryje daugiausiai kazeininių baltymų sausojoje masėje buvo balandžio mėnesį 69,73 %, mažiausiai liepos mėnesį 63,57 % ($p < 0,05$).

3.2. Pieno mišinio, išrūgų ir varškės sūrio kokybinė baltymų kokybinė sudėtis

Siekiant identifikuoti kokybiškai pieno mišinyje, išrūgose ir sūryje esančius baltymus, mėginiai buvo frakcionuojami pagal molekulinę masę, panaudojant natrio dodecilsulfatu denatūruojančią poliakrilamidinio gelio elektroforezę (SDS – PAGE). Gauti analizės rezultatai yra pateikti 18 paveiksle.



18 pav. SDS-PAGE analizės rezultatai. 1. Neredukuotas išrūgų mėginys; 2. Neredukuotas sūrio mėginys; 3. Neredukuotas pieno mėginys, iš kurio atskirti kazeininiai baltymai; 4. Neredukuotas sūrio mėginys, iš kurio atskirti kazeininiai baltymai; 5. Neredukuotas išrūgų mėginys, iš kurių atskirti kazeininiai baltymai; 6. Redukuotas išrūgų mėginys; 7. Redukuotas sūrio mėginys; 8. Redukuotas pieno mėginys, iš kurio atskirti kazeininiai baltymai; 9. Redukuotas sūrio mėginys, iš kurio atskirti kazeininiai baltymai; 10. Redukuotas išrūgų mėginys, iš kurių atskirti kazeininiai baltymai.

Skirtinguose elektroforezės gelio takeliuose yra pieno mišinys, išrūgos ir varškės sūris, ištirpintas natrio šarmo tirpale. Identifikuoti baltymai yra pateikti 3.3. lentelėje. Pieno mišinio bandiniai, iš kurių pašalinti kazeininiai baltymai, patalpinti 3 ir 8 šulinėliuose. Piene mišinyje, iš kurio pašalinti kazeinai, aptikta ir identifikuota 7 junginiai: α – laktalbuminas, β – laktaglobulinas, kraujo serumo albuminas, laktoferinas bei kazeino baltymų frakcijų pėdsakai.

Išrūgų bandiniai pažymėti 1, 5, 6 ir 10 šulinėliuose. Išrūgose aptikti 9 junginiai, iš kurių 7 identifikuoti: α – laktalbuminas, β – laktaglobulinas, serumo albuminas, laktoferinas ir kazeinų baltymų frakcijų pėdsakai.

Varškės sūrio bandiniai patalpinti 2, 4, 7 ir 9 šulinėliuose. Sūryje aptikta ir identifikuotos kazeino frakcijos: α_s – kazeinas, β – kazeinas, κ – kazeinas.

3.3. lentelė. Baltymų junginiai nustatyti elektroforezės būdu [66]

Nr.	Dydis, kDa	Junginys
1.	15	α – laktalbuminas
2.	20	β – laktaglobulinas
3.	19	κ – kazeinas
4.	24	β – kazeinas
5.	25	α_s – kazeinas
6.	66	serumo albuminas
7.	86	laktoferinas

Rezultatai sutampa su kitų autorių publikuojamais straipsniais apie pieno baltymų sudėtį ir baltymų molekulių dydį [14, 16, 18, 22, 40].

3.3. Varškės sūrio gamybos metu, kazeininių ir išrūginių baltymų kiekiui nustatyti, greitojo analizės metodo kūrimas

Atlikta pieno mišinio, sūrio ir išrūgų spektrinė analizė naudojant FT-NIR spindulių absorbciją, kuri junginiuose iššaukia vibraciją, priklausomai nuo absorbuotos šviesos dažnio, pasikeičiant atstumams tarp atomų (valentiniai svyravimai) arba kampams tarp jungčių (deformaciniai svyravimai). Atlikti tiriamojo darbo objektų spektrinės ir cheminės analizės tyrimai, leidžia sukurti naują instrumentinės analizės metodą.

NIR spindulių spektroskopijoje spektrai užrašomi 4 000 – 14 000 cm^{-1} bangos ilgių intervale. Skirtingų regionų suteikiama informaciją apie mėginyje esančius junginius pateikta 3.4 lentelėje.

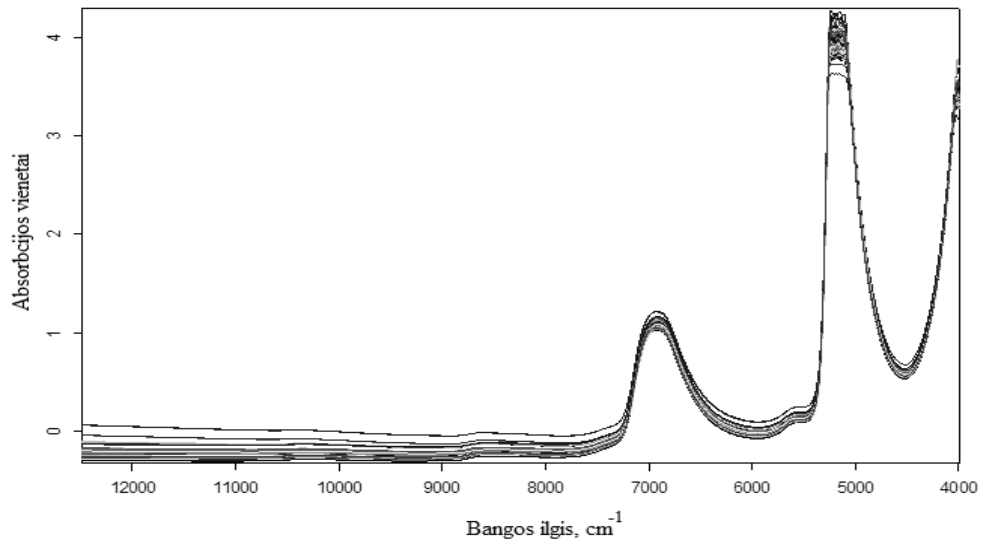
3.4. lentelė. NIR junginių grupės

Junginių grupė	Regiono dažnio intervalas (cm^{-1})
Alifatiniai angliavandeniliai	6 300 – 5 550; 9 100 – 7 800; 5 000 – 6 900
Aromatiniai angliavandeniliai	ca. 6 000; ca. 9 000; 4 700 – 4 000; 7 300 – 6 900
Karboksirūgštys	ca. 6 900; ca. 5 250; 4 900 – 4 600
Aminai	7 000 – 6 500; 5 200 – 4500
Vanduo (labai stipri absorbcija)	7 500 – 6 400; 5 400 – 4 900

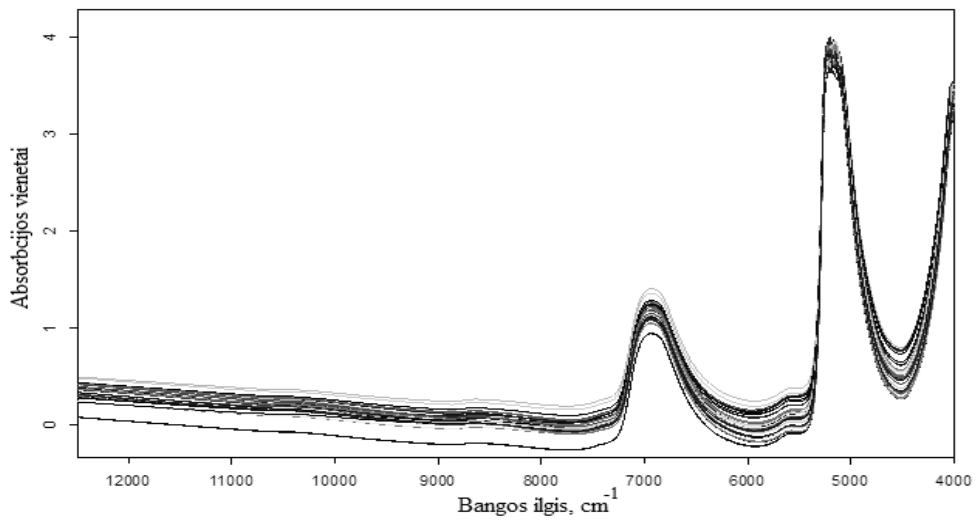
FT – NIR metodo matematinė analizė remiasi mažiausiu kvadratų metodu (angl. PLS) metodu. Šiam metodui reikalingas teisingas regiono dažnio intervalo parinkimimas, duomenų pirminis apdorojimas ir optimalus faktorių skaičius. Kuriant naują metodą, pirmiausiai reikia sukurti kalibracines kreives – reikalingas didelis kiekis testinių bandinių. Priklausomai nuo bandinio cheminės sudėties grynumo, kalibracinei kreivei sukurti reikia nuo 20 iki 200 bandinių. Kuo daugiau komponentų turi bandinys, tuo daugiau reikia bandinių. Dviejų grynų komponentų mėginys gali būti sukalibruotas keliais spektrais. Kompleksinės sistemos, tokie kaip natūralūs bandiniai – pienas, išrūgos, sūris reikalauja žymiai didesnių pastangų kuriant kalibracines kreives. Jei cheminiais metodais nustatytos reikšmės koreliuoja su spektrais, tuomet kuriamas naujas metodas. Kuriant naują metodą, cheminiais metodais nustatytos reikšmės ir spektrai įvedami į OPUS LAB operacinę sistemą. Taip pat reikia apibrėžti spektro regioną, kuriame bus kuriamas metodas. Turint didelį kiekį rezultatų, patartina validacijai ir kalibracijai priskirti tokį patį kiekį spektrų. Turint nedidelį kiekį bandinių ir rezultatų, patartina spektrus iš karto priskirti kalibracijos metodui. Bet tokiu atveju nebus testinio spektro. Parinktys, kurios validacijos metu suteikia didžiausią R^2 reikšmę, turi būti naudojamos kalibruojant. Pašalinus visus taškus, kurie iškrenta iš validacijos kreivės, kuriama kalibracijos kreivė ir naujas metodas, skirtas analizuoti bandiniams.

Kalibracijos kokybė nusakoma – R^2 (koreliacijos koeficientas) ir RMSECV (mažiausia kvadratų validacinė paklaida). R^2 reikšmė turi būti kuo artimesnė 1. Patikimus rezultatus kietiems produktams duoda kalibracinės kreivės, kurių R^2 yra 90 %, o skystiems produktams 99 %.

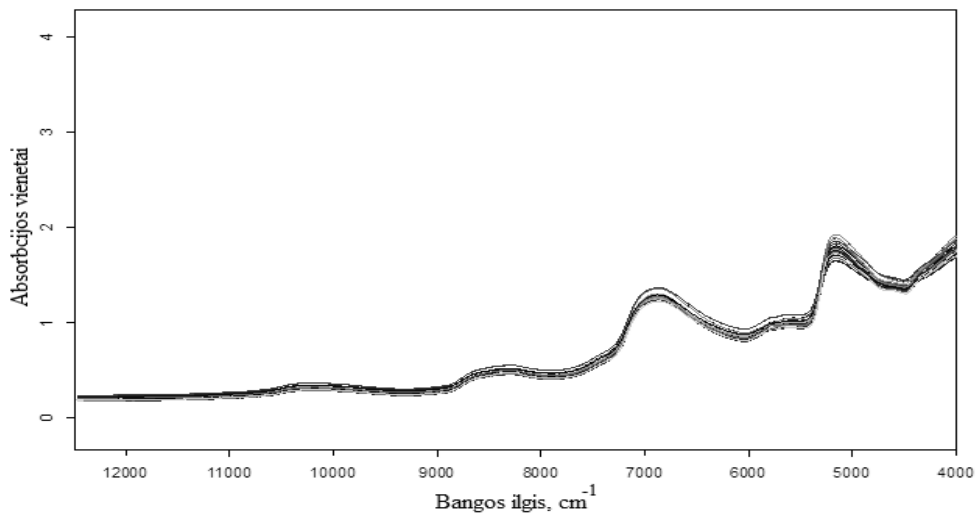
Pieno mišinų, sūrio ir išrūgų NIR absorbciniai spektrai pateikti 19 a), b) ir c) paveiksle.



a)



b)



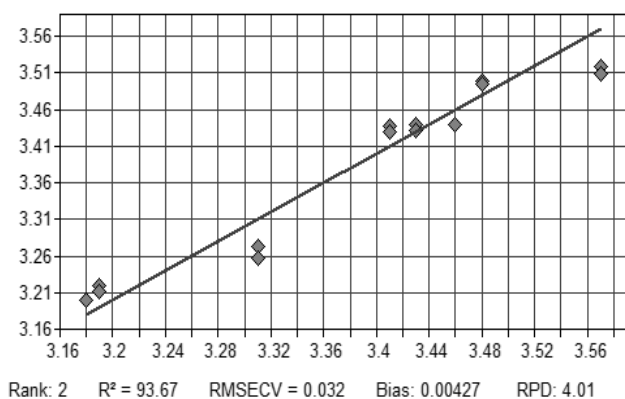
c)

19 pav. Tiriamojo darbo objektų spektrai: a) išrūgų; b) pieno mišinio; c) sūrio.

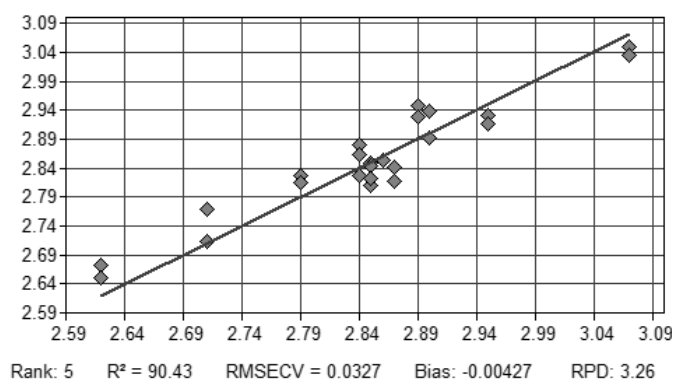
Pieno mišinio (a) ir išrūgų (b) sūrių (c) spektrai gana panašūs – didžiausi absorbcijos vienetai buvo pasiekti 5000 cm^{-1} ir 7000 cm^{-1} regionuose, bet skyrėsi absorbcijos intensyvumas. Kaip ir parodyta 3.3. lentelėje, šiame regione aptinkami aminai, vanduo, karboksirūgštys. Tai atitinka tiriamųjų objektų cheminę sudėtį – aminai (baltymai), karboksirūgštys (riebalai), vanduo.

Kuriant kalibracines kreives, varškės sūrio analizės metodui, vertinama informacija, kurią spektras suteikia nuo 9000 cm^{-1} iki 4000 cm^{-1} .

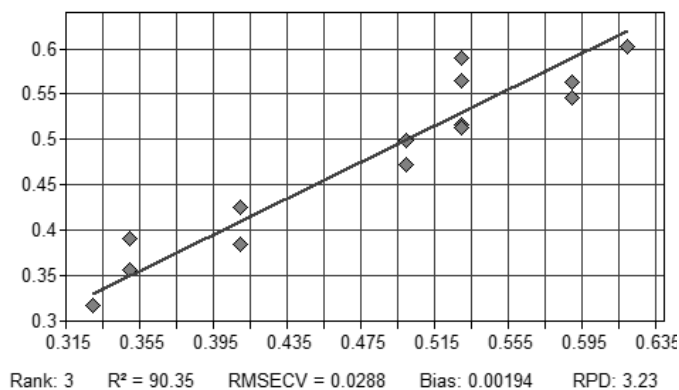
Kuriant kalibracines kreives, pieno mišinio ir išrūgų analizės metodui, vertinama informacija, kurią spektras suteikia nuo 7200 cm^{-1} iki 5500 cm^{-1} .



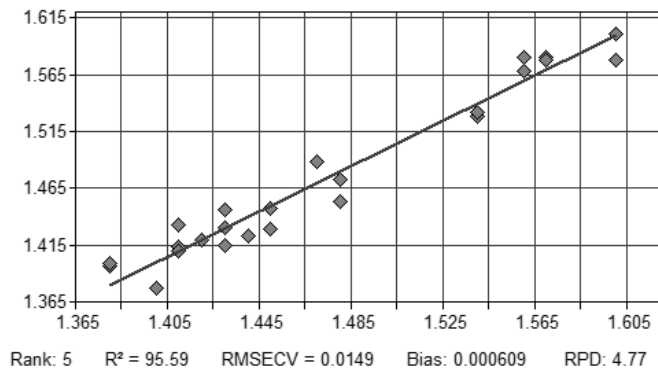
a) Bendrasis baltymų kiekis



b) Kazeininių baltymų kiekis



c) Išrūginių baltymų kiekis



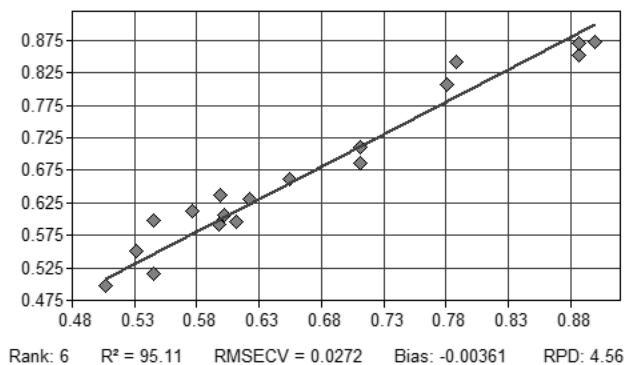
d) Riebumas

20 pav. Pieno mišinio kalibracines kreivės

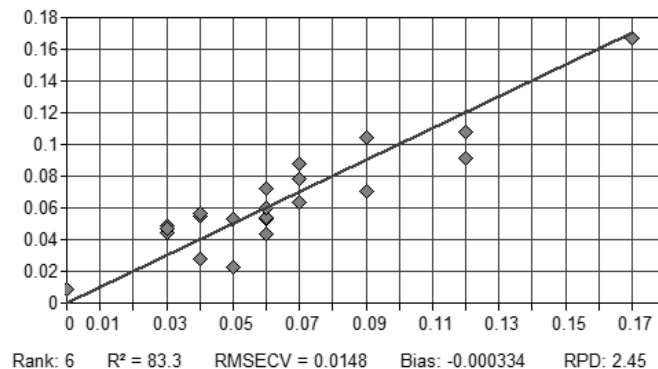
Kuriant pieno mišinio sudėčiai nustatyti instrumentinį analizės metodą, tiriamasis objektas vertintas pagal keturis komponentus – bendrąjį baltymų, kazeininių baltymų, išrūginių baltymų kiekį ir mišinio riebumą. Tiksliausiai sukalibruota pagal pieno mišinio riebumą, kurio R^2 yra 95,59 %. Bendrojo baltymų kiekio parentro R^2 yra 93,67 %. 20 paveiksle pateiktos kalibracines kreivės.

Kuriant išrūgų baltyminei sudėčiai nustatyti instrumentinį analizės metodą, tiriamasis objektas vertintas pagal tris komponentus – bendrąjį baltymų, kazeininių baltymų ir išrūginių baltymų kiekį.

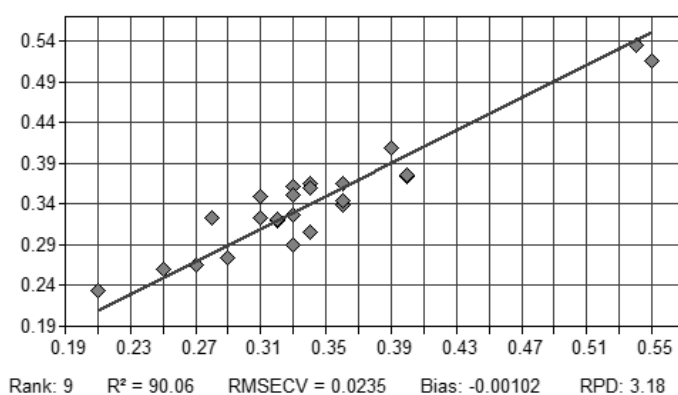
Tiksliausiai sukalibruota pagal bendrąjį baltymų kiekį, kurio R^2 yra 95,11 %. 21 paveiksle pateiktos kalibracinės kreivės.



a) Bendrasis baltymų kiekis



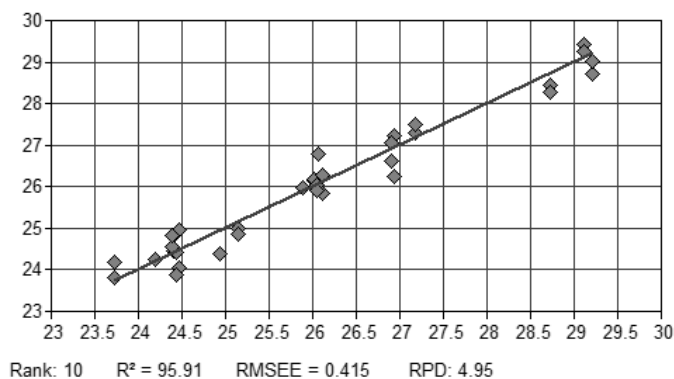
b) Kazeininių baltymų kiekis



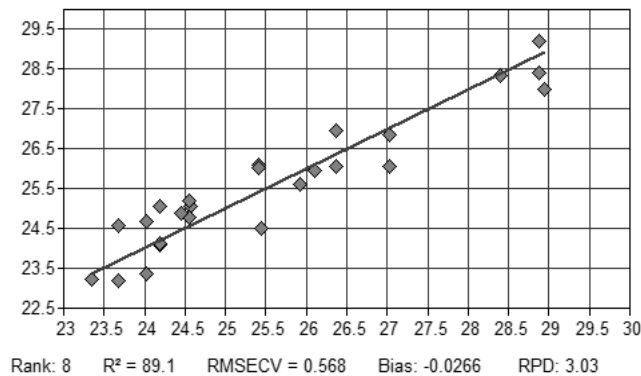
c) Išrūginių baltymų kiekis

21 pav. Išrūgų kalibracinės kreivės

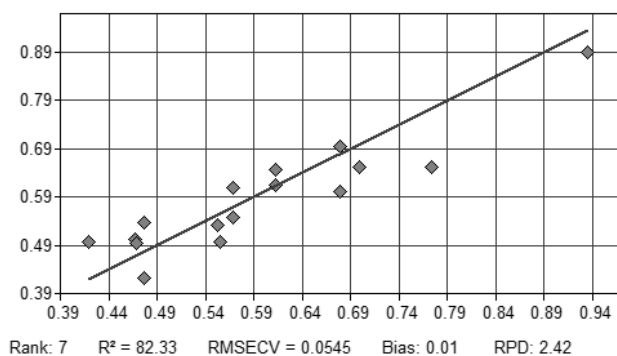
Kuriant varškės sūrio instrumentinį analizės metodą, tiriamasis objektas vertintas pagal penkis komponentus – azotinių junginių, bendrąjį baltymų, kazeininių baltymų, išrūginių baltymų kiekį, sausąsias medžiagas ir riebumą. Tiksliausiai pavyko sukalibruoti pagal azotinių junginių kiekį, kurio R^2 yra 95,91 %. 22 paveiksle pateiktos kalibracinės kreivės. Sausųjų medžiagų koreliacinis koeficientas ($R^2 = 92,35 \%$), bendro baltymų kiekio ($R^2 = 89,1 \%$).



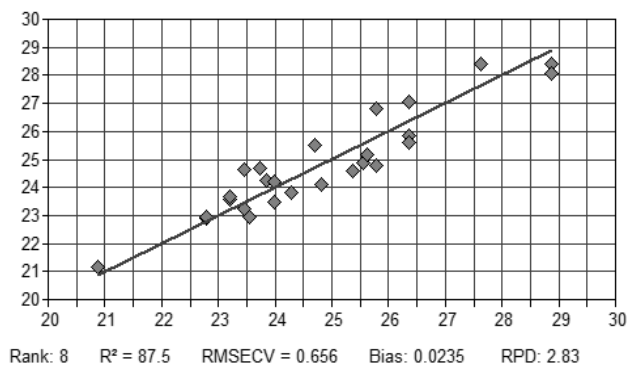
a) Azotinių junginių kiekis



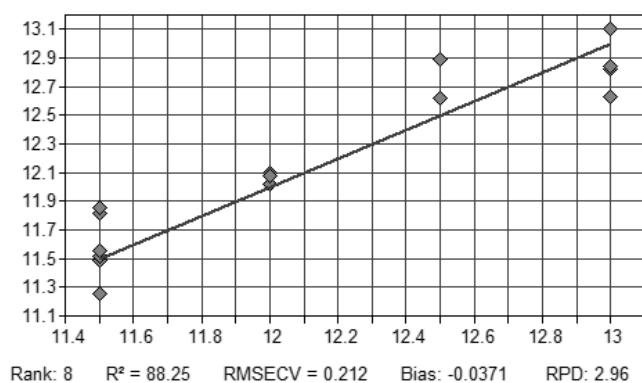
b) Bendrasis baltymų kiekis



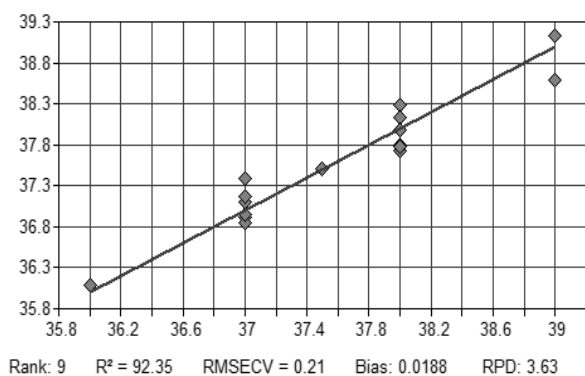
c) Išrūginių baltymų kiekis



d) Kazeininių baltymų kiekis



e) Riebumas



f) Sausųjų medžiagų kiekis

22 pav. Varškės sūrio kalibracinės kreivės

Geriausios kalibracinės kreivės ir tiksliausias metodas buvo sukurtas pieno mišinio cheminiai kiekybiniai sudėčiai nustatyti. Literatūroje rašoma, jog kietiems produktams galima naudoti tokius metodus, kurių kalibracinių koeficientų R^2 didesnis, nei 90 %, todėl ir šį naujai sukurtą greitąjį sūrio analizės metodą galima taikyti instrumentinei analizei.

Išrūgų kalibracinės kreivės buvo mažiausiai tikslios. Mažiausia koreliacija nustatyta kazeininiam baltymams. Taip gali būti todėl, jog kazeininių baltymų analizuojamuose išrūgų bandiniuose buvo nedidelis kiekis. 3.4. lentelėje pateikiamos tiriamųjų objektų kalibracinių kreivių kokybiniai rodikliai.

3.5. lentelė. Tiriamųjų objektų kalibracinių kreivių kokybiniai rodikliai

%	Pieno mišinys		Išrūgos		Sūris	
	R^2 , %	RMSECV	R^2	RMSECV	R^2	RMSECV
Azotiniai junginiai	-	-	-	-	95,51	0,415
Tikrųjų baltymų kiekis	95,91	0,415	95,11	0,027	89,10	0,568
Kazeininiai baltymai	90,43	0,033	83,30	0,015	87,50	0,656
Išrūginiai baltymai	90,35	0,029	90,06	0,024	82,33	0,055
Riebumas	95,39	0,015	-	-	88,25	0,212
Sausosios medžiagos	-	-	-	-	92,35	0,210

IŠVADOS

1. Projekte įvertinta sezoniškumo įtaka varškės sūrio gamybos išeigoms. Nustatyta, kad varškės sūrio išeiga priklausė nuo metų laiko ir buvo tiesiogiai proporcinga pieno mišinio baltymų kiekiui ($R^2= 0,9183$). Didžiausios išeigos užfiksuotos žiemos periodu – lapkričio, gruodžio ir sausio mėnesiais.

2. Skirtingu sezoniškumu cheminės sudėties (baltymų) pokyčiai vertinti pieno mišiniuose, išrūguose ir 13 % riebi. varškės sūryje. Didžiausias baltymų kiekis piene nustatytas žiemos periodu ir svyravo nuo 3,35 % iki 3,52 %. Nustatyta stipri pieno mišinio ir riebumo koreliacinė priklausomybė ($R^2= 0,945$). Nustatyta, jog keičiantis baltymų kiekiui piene, kazeininių baltymų/bendras baltymų santykis metų eigoje išlieka pastovus. Nustatyta, jog išrūgose baltymų kiekis didėja didėjant baltymų kiekiui piene ($R^2= 0,7947$).

3. Atlikti pieno, sūrio ir išrūgų baltymų kokybinės sudėties tyrimai naudojant elektroforezės metodą. Nustatyti pieno mišinyje, išrūgose ir sūryje esantys baltymai: α – laktalbuminas, β – laktaglobulinas, serumo albuminas, laktoferinas, α_s – kazeinas, β – kazeinas ir κ – kazeinas.

4. Atlikus spektrinę analizę ir gaunant kalibracines kreives, sukurtas greitasis analizės metodas panaudojant FT – NIR įrangą, bendram baltymų kiekiui, kazeininiams ir išrūginiams baltymams piene, išrūgose ir sūryje nustatyti.

LITERATŪRA

1. **Yasmin A.**, ir kt.. Seasonal variation in milk vitamin contents available for processing in Punjab, Pakistan. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 2012, 11.2, pp. 99-105.
2. **Urbienė, S.** Pieno ir jo sudedamųjų dalių biologinė reikšmė. Kaunas: Akademija, 2015, 200 p. ISSN 1392-7191
3. **Oftedal, O.T.** The evolution of milk secretion and its ancient origins. *Animal*. 2012. 6.03, 355–368.
4. **Michael L.P** ir Jay Schulkin. Maternal regulation of offspring development in mammals is an ancient adaptation tied to lactation. *Applied & Translational Genomics*. 2013, 130, pp. 55–63.
5. **Tamime, A.** Ir kt. Structure of dairy products. Ayr: Blackwell, 2007, 288 p. ISBN: 978-1-4051-2975-6.
6. **Walstra P.** ir kt. Dairy Science and Technology. Second edition. Boca Raton: Taylor & Francis Group, 2006, 763 p. ISBN 0-8247-2763-0
7. **Haug A.** ir kt. Bovine milk in human nutrition – a review. *Lipids in Health and Disease*, 2007, 6:25.
8. **Robinson, R. K.** Modern Dairy Technology: Volume 2 Advances in Milk Products. Springer Science & Business Media, 2012, 516 p. ISBN: 978-1-4684-8172-3
9. **Fennema's.** Food chemistry. Fourth Edition (Edited: Srinivasan Damodaran, Kirk L. Parkin, Owen R. Fennema). CRC Press. 2008.1144 p. ISBN 978-0-8493-9272-6.
10. **Walstra, P.** Dairy technology: principles of milk properties and processes. CRC Press, 2013, 349 p. ISBN : 0824727630.
11. **Staniškienė B.**, Šernienė L., Šiugždaitė J. Pieno ir jo produktų kokybės įvertinimas. Kaunas: Naujasis lankas, 2007, 256 p. ISBN 3–900051–00–3.
12. **Farrell Jr.**, ir kt., Higher order structures of the caseins: a paradox? *Advanced Dairy Chemistry*, Springer US, 2013, pp. 161-184.
13. **Turovsky, T.** ir kt. Celecoxib encapsulation in β -casein micelles: structure, interactions, and conformation. *Langmuir*, 2015, 31.26 pp 7183-7192.
14. **Lin, L.** ir kt. Effect of ultrasonic treatment on the morphology of casein particles. *Ultrasonics sonochemistry*, 2014, 21.2, pp. 513-519.
15. **Dalgleish, D.G.**, ir Corredig, M. The structure of the casein micelle of milk and its changes during processing. *Annual review of food science and technology* 2012, 3, pp. 449-467.
16. **Chiara M.**, ir kt. Valorisation of Cheese Whey, a *By-Product from the Dairy Industry*, 2014, pp. 549 – 570.
17. **McMahon, D. J.**, ir Oommen, B.S. Casein micelle structure, functions, and interactions." *Advanced dairy chemistry*. Springer US, 2013, pp. 185-209.

18. **Farrell, H. M.** ir Uversky, V. N.. New views on protein structure: application to the caseins: protein structure and functionality . *In Advances in Biopolymers: Molecules, Clusters, Networks, and Interactions* (M. L. Fishman , P. X. Qi and L. Whisker , eds), ACS Symposium Series. 2006, pp. 1 – 18.
19. **Lopez, C.** Focus on the supramolecular structure of milk fat in dairy products. *Reproduction Nutrition Development*, 2005, 45, pp. 497–511.
20. **Ma, J.** ir kt. Amphiphilic copolymer stabilized core–shell structural casein-based emulsion. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 2015, 471, pp. 65-72.
21. **Moran, D.P.** Fats in food products. Springer Science & Business Media, 2012, 345 p.
22. **Zhang, L.**, ir kt. Changes over lactation in breast milk serum proteins involved in the maturation of immune and digestive system of the infant. *Journal of proteomics*, 2016.
23. **Sfakianakis, P.**, ir kt. Comparative study on high-intensity ultrasound and pressure milk homogenization: Effect on the kinetics of yogurt fermentation process. *Food and bioprocess technology*, 2015, 8.3, pp. 548-557.
24. **Kalač P.**, Samková E. The effects of feeding various forages on fatty acid composition of bovine milk fat: a review. *Czech J. Anim. Sci.*, 2010, 55, (12): 521–537.
25. **Bisig W.** ir kt.. Influence of processing on the fatty acid composition and the content of conjugated linoleic acid in organic and conventional dairy products. *Lait*. 2007, 87, pp. 1–19.
26. **Hill, A. R.**, ir P. Kethireddipalli. Dairy products: cheese and yogurt. *Biochem. Foods* 3. 2013, pp. 319-362.
27. **Plozza, T.**, ir kt. The simultaneous determination of vitamins A, E and β -carotene in bovine milk by high performance liquid chromatography–ion trap mass spectrometry (HPLC–MSn). *Food chemistry*, 2012, 134.1, pp. 559-563.
28. **Bylund, G.** Dairy processing handbook. Lund: Tetra Pak, 2015, 482 p.
29. **Urbienė, S.** 2005. Pieno sudėtis ir savybės. Žaliava produktų gamybai. Akademija. 127 p.
30. **Law, B.A.** Microbiology and biochemistry of cheese and fermented milk. Springer Science & Business Media, 2012, 365 p. ISBN 978-1-4612-8427-7.
31. **Lazarte, C.E.**, ir kt. Phytate, zinc, iron and calcium content of common Bolivian food, and implications for mineral bioavailability. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2015, 39, pp. 111-119.
32. **Nozière P.** ir kt. Review Carotenoids for ruminants: From forages to dairy products. *Animal Feed Science and Technology*, 2006, 131, 418-450.

33. **Perez, E.**, ir kt. Milk protein–vitamin interactions: Formation of beta-lactoglobulin/folic acid nano-complexes and their impact on in vitro gastro-duodenal proteolysis. *Food Hydrocolloids* 2014, 38, pp. 40-47.
34. Europos Parlamento ir Tarybos reglamentas (ES) Nr. 1169 – 2011, 2011 m. spalio 25 d., dėl informacijos apie maisto teikimą vartotojams.
35. **Boland, M.**, ir kt. Milk proteins: from expression to food. Academic Press, 2014. ISBN 9780124051713.
36. **Черняев С. И.**, и другие. 2010. Йод + молоко=здоровье. *Молочная промышленность*. No 10. С. 33-34).
37. **Streit, M.**, ir kt. Genome-wide association analysis to identify genotype× environment interaction for milk protein yield and level of somatic cell score as environmental descriptors in German Holsteins. *Journal of dairy science*, 2013, 96.11 pp. 7318-7324.
38. **Guinee, T. P.** Protein in Cheese and Cheese Products: Structure-Function Relationships. *Advanced Dairy Chemistry*. New York: Springer, 2016, pp. 347-415.
39. Europos Parlamento ir Tarybos reglamentas (ES) Nr. 510/2006, 2006 m. lapkričio 11 d. Komisijos reglamentas (EB) dėl Saugomos geografinės nuorodos.
40. **Guinee, T.P.** Protein in Cheese and Cheese Products: Structure-Function Relationships. *Advanced Dairy Chemistry*. Springer, New York. 2016. pp. 347-415.
41. **Alsaed, A. K.** ir Ahmed, R. Concentrating and drying of whey and utilization of the produced products in bakery and confectionery. A progress report, *Department of Nutrition and Food Technology, Faculty of Agriculture, University of Jordan, Amman, Jordan*, 2010, 26(8), pp. 716 – 724.
42. **Liutkevičius A.** Pieninkystės ir pieno pieno produktų rinkos terminų aiškinamasis žodynas. Vilnius: Lietuvos maisto institutas, 2002, 76 p.
43. **Alsaed, Ali K.**, ir kt. Characterization, concentration and utilization of sweet and acid whey. *Pakistan Journal of Nutrition* 2013,12.2, pp. 172.
44. **Crowther, J.**, ir kt. Characterization and Comparison of Beta-Lactoglobulin Orthologs. *The FASEB Journal*. 2015, 29.1 Supplement, pp. 895-13.
45. **Urbienė S.**, ir kt.. Sauso išrūgų baltymų koncentrato funkcinių savybių tyrimai. LŽŪU mokslo darbai. 2002, 54(7), pp. 96-102.
46. **Zhang, Z.**, ir kt. Properties of partially denatured whey protein products: Formation and characterisation of structure. *Food Hydrocolloids*, 2016, 52, 95-105.
47. **Ozrenk E.**, ir Inci S.S.. The Effect of Seasonal Variation on the Composition of Cow milk in Van Province. *Pakistan Journal of Nutrition* 2008, 7.1. 161-164, ISSN 1680-5194.

48. **Hutchens, T.** Ir kt. Lactoferrin: Structure and function. Vol. 357. Springer Science & Business Media, 2012, 298 p. ISBN: 978-1461360872.
49. **Chen, R. J.**, ir kt. A novel SNP of lysozyme gene and its association with mastitis trait in Chinese Holstein. *Arch Tierz.* 2013, 58, pp. 589-592.
50. **Urbienė S.**, Sasnauskaitė L. Fermento lizocimo įtaka grūdėtos varškės kokybei laikymo metu. *Žemės ūkio mokslai.* 2010, 17.1-2, pp. 60-67.
51. **Etzel, M. R.** Manufacture and use of dairy protein fractions. *Journal of Nutrition*, 2004, 134, pp. 996 – 1002.
52. **Szwajkowska M.**, ir kt. Bovine milk proteins as the source of bioactive peptides influencing the consumers' immune system – a review. *Animal Science Papers and Reports*, 2011, 29.4, pp. 269-280.
53. **Michaelidou A.M.** Factors influencing nutritional and health profile of milk and milk products. *Small Ruminant Research*, 2008, 79, pp. 42-50.
54. **Lowe E.K.**, ir kt.. Heat-Induced Redistribution of Disulfide Bonds in Milk Proteins. 2. Disulfide Bonding Patterns between Bovine β – Lactoglobulin and χ – Casein. *J. Agric. Food. Chem.*, 2004, 52, pp. 7669-7680.
55. **Urista C.M.**, ir kt. Review: Production and functionality of active peptides from milk. *Food Science and Technology International*, 2012, 17, 4, pp. 293-317.
56. **Jasińska, M.**, ir kt., (). Effect of packaging and season of milk production on selected quality characteristics of organic acid curd cheese during storage. *Acta Sci. Pol., Technol. Aliment* 2014, 13.3, pp. 231-242.
57. **Holzmüller, W.**, ir kt., Impact of cream washing on fat globules and milk fat globule membrane proteins. *International Dairy Journal.* 2016, 59, pp. 52-61.
58. **Salzano, A.M.**, ir kt. Mono-dimensional blue native-PAGE and bi-dimensional blue native/urea-PAGE or/SDS-PAGE combined with nLC–ESI-LIT-MS/MS unveil membrane protein heteromeric and homomeric complexes in *Streptococcus thermophilus*. *Journal of proteomics.* 2013, 94, pp. 240-261.
59. **Rath, A.**, ir kt. Detergent binding explains anomalous SDS-PAGE migration of membrane proteins. *Proceedings of the National Academy of Sciences.* 2009, 106.6, pp. 1760-1765.
60. **Gubić, J.**, ir kt. Characterization of several milk proteins in Domestic Balkan donkey breed during lactation, using lab-on-a-chip capillary electrophoresis. *Chemical Industry and Chemical Engineering Quarterly.* 2016, 22(1), pp. 9-15.
61. **Dunn, M. J.** Gel electrophoresis of proteins. Elsevier, 2014, 203 p.
62. **Birren, B.**, ir Eric L., Pulsed field gel electrophoresis: a practical guide. Academic Press, 2012, 245 p.

63. **Calamari, L.**, ir kt., Improving the prediction ability of FT-MIR spectroscopy to assess titratable acidity in cow's milk. *Food chemistry*. 2016, 192, pp. 477-484.
64. **Pereira N. M.**, ir kt. Evaluation of methods of analysis to determine the somatic cell count in raw milk, kept in the cooling tank. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*. 2014, 69.3, pp. 193-198.
65. **Luginbühl, W.**, Evaluation of designed calibration samples for casein calibration in Fourier transform infrared analysis of milk. *LWT-Food Science and Technology*. 2002, 35.6, pp. 554-558.
66. **Gubić, J.**, ir kt. Characterization of several milk proteins in Domestic Balkan donkey breed during lactation, using lab-on-a-chip capillary electrophoresis. *Chemical Industry and Chemical Engineering Quarterly*. 2016, 13-13.
67. **Wang, Y.**, ir kt. A Non-destructive method to assess freshness of raw bovine milk using FT-NIR spectroscopy." *Journal of food science and technology* 2015, 52.8, pp. 5305-5310.
68. **Lenart, J.**, ir kt., Application of FT-NIR spectroscopy on the determination of the fat and protein contents of lyophilized cheeses. *Acta Alimentaria* 2012, 41.3, 351-362.
69. **Zhao, M.**, ir kt. Prediction of naturally-occurring, industrially-induced and total trans fatty acids in butter, dairy spreads and Cheddar cheese using vibrational spectroscopy and multivariate data analysis. *International Dairy Journal* 2015, 51, pp. 41-51.
70. **LST ISO 8968 – 1:2014**. Pienas ir pieno gaminiai. Azoto kiekio nustatymas. 1 dalis. Kjeldalio principas. Vilnius: LST departamentas, 2014.
71. **LST ISO 8968 – 4:2001**. Pienas. Azoto kiekio nustatymas. Vilnius: LST departamentas, 2001.
72. **LST ISO 11870:2009**. Pienas ir pieno gaminiai. Riebalų kiekio nustatymas. Bendrieji butirometrinių metodų taikymo nurodymai. Vilnius: LST departamentas, 2009.
73. **ISO 9622:2013 (IDF 141:2013)**. Milk and liquid milk products. Guidelines for the application of mid-infrared spectrometry.

PADĒKA

Nuoširdžiai dēkoju darbo vadovui doc. dr. Jonui Damašiui ūž visokeriopā pagalbā rašant baigiamāji magistro darbā bei atliekant tiriamāji darbā, ūž vertingā informacijā ir pastabas, darbo organizavimā. Taip pat dēkoju Eglei Damašienei ūž pagalbā atliekant tiriamāji darbā. Dēkoju prof. dr. Daivai Leskauskaitei, UAB „Lukšiu pieninēs“ kolektyvui, direktoriui Genadijui Butkui. Taip pat dēkoju visiem katedros dēstytojams ūž suteiktas žinias.

GYVENIMO APRAŠYMAS (CV)

Vardas, pavardė: Eduardas Mačiulis

Gimimo data: 1990-03-03

Gimimo vieta: Šakiai, Lietuva

IŠSILAVINIMAS

Aukštasis išsilavinimas:

- 2009-2013 Kauno technologijos universitetas,
Cheminės technologijos fakultetas,
Chemijos inžinerijos bakalauras
Specializacija – maisto produktų technologija
- 2013-2016 Kauno technologijos universitetas,
Cheminės technologijos fakultetas,
Maisto mokslas ir sauga, magistro dieninės studijos

DARBINĖ VEIKLA

- 2013-2016 UAB „Lukšių pieninė“