

KAUNO TECHNOLOGIJOS UNIVERSITETAS

RŪTA JUKONYTĖ

RYŽIŲ MALIMO ŠALUTINIŲ PRODUKTŲ
PERDIRBIMAS Į DIDESNĖS PRIDĖTINĖS
VERTĖS KOMPONENTUS TAIKANT
APDOROJIMO ULTRAGARSU IR
MIKROBINĖS FERMENTACIJOS METODUS

Daktaro disertacija
Technologijos mokslai, chemijos inžinerija (T 005)

2023, Kaunas

Disertacija rengta 2016–2022 metais Kauno technologijos universiteto Cheminės technologijos fakultete, Maisto mokslo ir technologijos katedroje. Mokslinius tyrimus rėmė Lietuvos mokslo taryba.

Mokslinė vadovė:

dr. Daiva ŽADEIKĖ (Kauno technologijos universitetas, technologijos mokslai, chemijos inžinerija, T 005).

Interneto svetainės, kurioje skelbiama disertacija, adresas:

<http://ktu.edu>

Redagavo:

Rozita Znamenskaitė (leidykla „Technologija“)

TURINYS

SANTRUMPOS.....	5
ĮVADAS	7
1. LITERATŪROS APŽVALGA	11
1.1. Ryžių malimo šalutiniai produktai ir jų charakteristika	11
1.1.1. Pagrindiniai ryžių ir jų malimo šalutinių produktų cheminės sudėties komponentai	11
1.1.2. Ryžių malimo šalutinių produktų maistinė ir funkcinė vertė	12
1.1.3. Antimonybiniai faktoriai ryžių malimo šalutiniuose produktuose	14
1.2. Ryžių malimo šalutinių produktų funkcinės savybės ir jų modifikavimo būdai	15
1.2.1. Ryžių malimo šalutinių produktų funkcinės savybės	15
1.2.2. Ryžių malimo šalutinių produktų funkcionalizavimo būdai	16
1.2.3. Biotechnologinės priemonės ryžių malimo šalutinių produktų komponentams modifikuoti	17
1.2.4. Terminiai ir fizikiniai apdorojimo būdai.....	19
1.3. Atsparus virškinimui krakmolos, jo fizikinės, cheminės ir funkcinės savybės	20
1.3.1. Ryžių krakmolos ir jo charakteristika	20
1.3.2. Atsparaus virškinimui krakmolo tipai ir fizikinės cheminės savybės	22
1.3.3. Atsparaus virškinimui krakmolo prebiotinės savybės.....	25
1.3.4. Atsparaus virškinimui krakmolo nustatymo būdai	25
1.3.5. Krakmolo modifikavimo grūdų produktuose galimybės.....	28
1.3.6. Krakmolo modifikavimo galimybės taikant apdorojimą ultragarsu	29
1.4. Ryžių malimo šalutinių produktų panaudojimas maisto produktų mitybinei vertei pagerinti ir augalų substratų funkcionalumui padidinti.....	30
1.4.1. Ryžių malimo šalutinių produktų panaudojimas funkcinių maisto produktų gamybai	30
1.4.2. Ryžių malimo šalutinių produktų panaudojimas daržo augalų substrato komponentų gamybai	32
1.5. Literatūros apžvalgos apibendrinimas ir darbo tikslo pagrindimas	34
2. TYRIMŲ OBJEKTAI IR METODAI	36
2.1. Tyrimų objektai	36
2.2. Cheminių reagentų sąrašas.....	41
2.3. Tyrimų metodai	42
2.3.1. Cheminės sudėties įvertinimo metodai	42
2.3.2. Ryžių malimo šalutinių produktų fermentabilumo tyrimo metodai	43
2.3.3. Antigrybinio ir fermentinio aktyvumų tyrimo metodai.....	45
2.3.4. Fenolinių junginių, antioksidacinio aktyvumo ir antimonybinių faktorių tyrimo metodai.....	46
2.4. Krakmolo kiekybinės ir kokybinės analizės metodai.....	48
2.4.1. Ryžių malimo šalutinių produktų apdorojimas ultragarsu	50
2.4.2. Eksperimento plano sudarymas ir proceso optimizavimas	50
2.4.3. Išskirto atsparaus virškinimui krakmolo fizikinių, cheminių ir technologinių savybių tyrimo metodai	51
2.5. Funkcinio produkto matricos tekstūros įvertinimo metodai.....	52
2.5.1. Produkto struktūros modeliavimas	52
2.5.2. Funkcinio produkto tekstūros stabilumo ir imobilizuotų pieno rūgšties bakterijų gyvybingumo laikant įvertinimo metodai	53

2.6. Ryžių malimo šalutinių produktų panaudojimo augalų substrato komponentų gamybai tyrimo metodai	54
3. TYRIMŲ REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS	55
3.1. Ryžių malimo šalutinių produktų fermentabilumo ir metabolitų bioaktyvumo įvertinimas	55
3.1.1. Kai kurių <i>Lactobacillus</i> spp. ir <i>Pediococcus</i> spp. padermių augimo kinetikos ir gyvybingumo ryžių malimo šalutinių produktų terpėje įvertinimas	55
3.1.2. Pieno rūgšties gamyba ryžių malimo šalutinių produktų fermentacijos terpėje	61
3.1.3. Pieno rūgšties bakterijų ksilanolitinis ir proteolitinis aktyvumai ryžių malimo šalutinių produktų fermentacijos terpėje.....	64
3.1.4. Pusiau kietafazės fermentacijos įtaka aminorūgščių profiliui ryžių malimo šalutinių produktų substrate	66
3.1.5. Antigrybinis pieno rūgšties bakterijų aktyvumas ryžių malimo šalutinių produktų fermentacijos terpėje.....	67
3.1.6. Pusiau kietafazės fermentacijos įtaka fenolinių junginių ir antitymitybinių faktorių pokyčiams ryžių malimo šalutinių produktų terpėje	74
3.2. Aukštojo dažnio ultragarso panaudojimas atsparaus virškinimui krakmolo kiekiui padidinti ryžių malimo šalutiniuose produktuose	77
3.2.1. Ultragarso parametrų įtaka atsparaus virškinimui krakmolo susidarymui ryžių malimo šalutiniuose produktuose	78
3.2.2. Eksperimentinio plano ir matematinio modelio sudarymas	79
3.2.3. Ultragarso apdorojimo temperatūrinio režimo įtaka morfologinėms, fizikinėms, cheminėms ir funkcinėms atsparaus virškinimui krakmolo savybėms	82
3.3. Funkcionalizuotų ryžių malimo šalutinių produktų panaudojimas funkcinių produktų gamybai	91
3.3.1. Imobilizavimo sistemos apdorotų ultragarsu ryžių malimo šalutinių produktų ir bruknių uogų išspaudų pagrindu sudarymas	91
3.3.2. Produkto stabilumas ir imobilizuotų pieno rūgšties bakterijų gyvybingumas laikant	100
3.4. Funkcionalizuotų ryžių malimo šalutinių produktų panaudojimas daržo augalų ligų prevencijai ir augimo intensyvumui pagerinti	103
3.4.1. Funkcionalizuotų ryžių malimo šalutinių produktų filtratų antigrybinio aktyvumo įvertinimas prieš grybinės kilmės lauko patogenus	103
3.4.2. Funkcionalizuotų ryžių malimo šalutinių produktų įtaka daržo augalų daigumui, augimo intensyvumui ir chlorofilo susidarymui.....	109
IŠVADOS	114
LITERATŪRA	115
MOKSLINIŲ PUBLIKACIJŲ DISERTACIJOS TEMA SĄRAŠAS	136
INFORMACIJA APIE DISERTACIJOS AUTOREĮ	139
PADEKA	139
PRIEDAI.....	140

SANTRUMPOS

Ag	agaras
AI	aliejaus įgėrimo indeksas
ALA	alaninas
Alg	natrjo alginatas
AMG	amilogliukozidazė
AR	aminorūgštys
ARG	argininas
ASP	asparto rūgštis
AVK	atsparus virškinimui krakmolai
BAPA	6-benzilaminopurino tirpalas
BFJ	bendras fenolinių junginių kiekis
BG	brinkimo galia
BKK	bendras krakmolo kiekis
BR	bruknių uogų išspaudos
BTR	bendras titruojamasis rūgštingumas
CEP	centrinis kompozicinis eksperimento planas
CYS	cisteinas
DAS	daržo augalų substratas
D/L	D(–) ir L(+) pieno rūgšties izomerų santykis
DMMS	didelės molekulinės masės skaidulinės medžiagos
DMSO	dimetilsulfoksidas
DNAR	iš dalies nepakeičiamos aminorūgštys
DNS	3,5-dinitrosalicilo rūgšties reagentas
FOS	fruktooligosacharidai
FR	fenolinės rūgštys
FT-IR	Furjė transformacijos infraraudonųjų spindulių spektroskopija
GLY	glicinas
GLU	glutamo rūgštis
GOPOD	peroksidazės reagentas
GVK	greitai virškinamas krakmolai
HIS	histidinas
ILE	izoleucinas
KE	katechino ekvivalentas
KF	kietafazė fermentacija
Ks	ksantano derva
KSV	kolonijas sudarančių vienetų skaičius
KT	kondensuoti taninai
LEU	leucinas
LYS	lizinas
MET	metioninas
MGK	minimali gelio susidarymo koncentracija
MHS	Mueller-Hinton agaro terpė
MRS	de Man, Rogosa ir Sharpe mitybinė terpė

NAR	nepakeičiamosios aminorūgštys
PAA	kasos α -amilazė
PAM	paviršiaus atsako metodas
PAR	pakeičiamosios aminorūgštys
PCA	<i>plate count</i> agarų terpė
PDA	bulvių dekstrozės agarų terpė
PHE	fenilalaninas
PKF	pusiau kietafazė fermentacija
PR	pieno rūgštis
PRB	pieno rūgšties bakterijos
PRO	prolinas
RP	ryžių malimo šalutiniai produktai
SBA	savitasis biomasės augimas
SD	standartinis nuokrypis
SDA	Soboroud dekstrozės agarų terpė
SEM	skenuojantysis elektroninis mikroskopas
SER	serinas
SK	skaidulinės medžiagos
SKNV	skaidulinės medžiagos, netirpios vandenyje
SKTV	skaidulinės medžiagos, tirpios vandenyje, nusodinamos 78 % etanoliu
SKTVE	skaidulinės medžiagos, tirpios vandenyje ir 78 % etanolyje
SP	santykinė paklaida
TDM	dirvožemio transplantacijos mišinys
THR	treoninas
TIV	tripsino inhibitoriai
TYR	tirozinas
TMS	tirpiosios maistinės skaidulos
TRE	tanino rūgšties ekvivalentas
TRP	triptofanas
TV	tirpumas vandenyje
UG	ultragarsas
UESC	ultraefektyvioji skysčių chromatografija
VAL	valinas
VII	vandens įgėrimo indeksas
VK	virškinamasis krakmolas
V/U	vaisių/uogų
X-ray	rentgeno spindulių difrakcija

IVADAS

Temos aktualumas. Pastaraisiais metais Europos ir pasaulio mastu siekiama spręsti aplinkos užterštumo, efektyvaus išteklių naudojimo, ekologijos ir tvarios gamybos plėtros problemas. Vykdam agroinovacijas ir tobulinant maisto biotechnologijas, siekiama ne tik pagerinti maisto produktų kokybę, bet ir sumažinti pramonės atliekų kiekį, pasitelkus biorafinavimo koncepciją – perdirbti žemės ūkio ir maisto pramonėje susidarančius šalutinius produktus ir juos panaudoti, suteikiant pridėtinę vertę. Agrožaliavų ir maisto pramonės šalutinių produktų perdirbimo į vertingus komponentus technologijų plėtra, įvertinant jų galimą panaudojimą maisto produktams gaminti, yra vienas iš aktualių ES politikos tikslų.

Dėl šios priežasties mokslo pasaulyje vis daugiau dėmesio skiriama įvairių grūdų, vaisių/uogų ir daržovių perdirbimo metu susidariusiems šalutiniams produktams, kurių dideli kiekiai lieka nepanaudoti arba panaudojami neracionaliai. Iki šiol gamybos atliekos keldavo tik ekonomines ir taršos problemas, pastaruoju metu jos sulaukia dėmesio kaip potencialus vertingų maisto ingredientų šaltinis. Vertingos grūdinių atliekų maisto medžiagos (baltymai, skaidulos) ir vaisių/uogų išspaudų bioaktyvieji junginiai, pasižymintys antioksidaciniu aktyvumu, priešnavikiniu, antivirusiniu, antibakteriniu ir antmutageniniu poveikiu, galėtų papildyti maisto komponentus, taip ne tik apsaugant maistą nuo mikrobiologinio gedimo, bet ir prisidedant prie įvairių susirgimų rizikos mažinimo (1, 2).

Ryžių sėlenos (RP) yra vienas pagrindinių ryžių malimo šalutinių produktų, kurių kiekis pasaulio mastu sudaro 76 mln. tonų per metus (3); todėl sulaukia vis didesnio dėmesio iš mokslo visuomenės ne tik dėl to, kad yra plačiai prieinamos ir pigios, bet ir dėl vertingųjų komponentų, tokių kaip baltymai, maistinės skaidulos, atsparus virškinimui krakmolai (AVK), vitaminai, mineralai ir fitocheminės medžiagos (4).

Pastaruoju metu AVK charakterizuojamas kaip funkcinis biopolimeras, kurio fiziologinis poveikis panašus į maistinių skaidulų (5). Ryžių perdirbimo šalutiniai produktai gali būti naudojami kaip AVK šaltinis, tačiau natūralus jo kiekis priklauso nuo ryžių veislės ir gali būti palyginti mažas (6). Be to, didesnė tradicinių maisto gamybos procesų dalis sumažina nevirškinamą krakmolo dalį maiste (7). AVK kiekis gali būti padidintas technologinių procesų metu (8, 9), taip pat taikant fizinius ar hidroterminės modifikacijos metodus (10, 11). Pastaraisiais metais didelį susidomėjimą kelia inovatyvios maisto perdirbimo technologijos, efektyviai keičiančios maisto komponentų fizikines bei chemines savybes ir technologines charakteristikas (12, 13). Alternatyvūs metodai, taikomi augalinės kilmės išspaudoms ir/ar grūdų šalutiniams produktams modifikuoti, pagerina jų funkcines bei technologines savybes, o biotechnologiniai metodai, taikomi vertingiesiems komponentams išgauti, gali sėkmingai gyvuoti ir pramonėje.

Ultragarstinė kavitacija yra vienas iš inovatyvių būdų, taikomų įvairios augalinės kilmės biomasei stabilizuoti, modifikuoti, mikroorganizmų fermentinėms sistemoms aktyvinti ir vertingiesiems ingredientams efektyviau išgauti (14). Didžioji dalis mokslinių tyrimų AVK kiekio padidinimo srityje iki šiol buvo sutelkti tik į gryno

krakmolo modifikavimą (15, 16), todėl aktualu ištirti krakmolo modifikavimo ultragarsu galimybes visoje ryžių malimo šalutinių produktų matricoje.

Pusiaus kietafazė fermentacija (PKF) antimikrobinėmis pieno rūgšties bakterijomis (PRB) yra veiksmingas biotechnologinis procesas, pagerinantis produkto juslines savybes bei maistinę vertę ir užtikrinantis produktų saugą (17). PRB gebėjimas augti grūdų perdirbimo šalutinių produktų substratuose be priedų ir gyvybingumas laikymo metu yra svarbūs kriterijai, išsaugant maisto produktų technologines ir fiziologines savybes. Remiantis literatūra, grūdai, tokie kaip ryžiai, miežiai, kviečiai ir pseudogrūdai, yra potencialūs substratai mikroorganizmams kultivuoti (18); tokiu būdu jie gali būti sėkmingai perdirbti į didesnės pridėtinės vertės produktus, taikant fermentacijos technologiją. Be to, PRB fermentacija yra svarbus bioprocetas, kuris plačiai taikomas antimitybiniais faktoriams, tokiems kaip tripsino inhibitoriai, fitatai ir taninai, sumažinti grūdinėje žaliavoje (19).

Šioje srityje, taikant apdorojimo UG technologiją ir mikrobinę fermentaciją, kuriamos naujos maisto sistemos iš RP biopolimerų ir antimikrobinų komponentų. Pasitelkus minėtas technologijas galima išplėsti ryžių malimo šalutinių produktų antrinio panaudojimo galimybes optimizuojant sąlygas AVK gamybai, įvertinant tiek antimikrobinio aktyvumo, tiek antimitybinių faktorių pokyčius RP.

Viena iš galimybių, leidžiančių racionaliai panaudoti RP vertinguosius komponentus, būtų funkcinį maisto produktą iš RP ir vaisių/uogų išspaudų su imobilizuotomis antimikrobinėmis pieno rūgšties bakterijomis kūrimas. Produktai, kuriuose bioaktyvieji komponentai yra imobilizavimo medžiagoje arba gali būti imobilizuojami, pasižymi nutraceutinėmis savybėmis, yra inovatyvi koncepcija funkcinio maisto produktų gamybos srityje. Augalinės kilmės biologiškai aktyvios medžiagos turi teigiamą poveikį žmogaus organizmui, veikdamos kaip skirtingo tipo antioksidantai ir fermentų veiklos modulatoriai (20). Grūdų sėlenų, vaisių/uogų bioaktyviųjų junginių ir antimikrobinų mikroorganizmų simbiotinių ryšių derinimas, kuriant naujas maisto technologijas, yra pažangi priemonė, padedanti užtikrinti maisto saugą ir su tuo susijusių rizikų valdymą. Be to, fermentuoti maisto produktai, siejami su sklandžia virškinimo sistemos veikla ir normalios mikrobiotos palaikymu, cholesterolio kiekio mažinimu kraujo serume ir vitaminų sinteze žmogaus organizme (21, 22), turi teigiamą įtaką imunitetui, infekcinių ligų ir maisto alergijų prevencijai (23). Tokie produktai, parinkus gelį sudarančius ir/ar tirštinančius augalinės kilmės polisacharidus, užtikrintų imobilizuotų antimikrobinų mikroorganizmų stabilumą produkto laikymo metu.

Kita galimybė, leidžianti racionaliai panaudoti grūdų perdirbimo šalutinių produktų vertingąsias medžiagas, yra substrato komponentų daržo augalams auginti tobulinimas. Tai potenciali sintetinių priedų alternatyva, kuri padėtų spręsti su ekologija ir pertekliniu antrinių produktų susidarymu susijusias problemas pramonėje. Tradicinėje žemdirbystėje iki šiol plačiai naudojamos sintetinės trąšos didina vandens bei dirvožemio užterštumą ir toksinių medžiagų kaupimąsi ekosistemose. Šios priežastys skatina ieškoti alternatyvių, aplinkai draugiškų technologijų dirvožemio saugai ir augalinių produktų kokybei užtikrinti. Tokia alternatyva gali būti organinės kilmės komponentai, kurių sudėtyje yra antimikrobinų mikroorganizmų. Be to, tokių

komponentų bioaktyviosios medžiagos, t. y. fermentacijos metu susidarę peptidai, aminorūgštys, organinės ir fenolinės rūgštys, ne tik būtų veiksminga biologinės kontrolės priemonė kovojant su įvairiais grybeliniais ir bakteriniais fitopatogonais, bet ir teigiamai veiktų augalų augimą ar sėklų daigumą.

Darbo tikslas. Ištirti apdorojimo ultragarsu bei mikrobinės fermentacijos įtaką bioaktyviųjų komponentų pokyčiams ryžių malimo šalutiniuose produktuose ir įvertinti apdorotų ryžių malimo šalutinių produktų panaudojimo galimybes maisto produktų bei augalų auginimo substrato gamybai.

Darbo uždaviniai:

1. Atrinkti ryžių malimo šalutinių produktų pusiau kietafazei fermentacijai tinkamas pieno rūgšties bakterijas ir nustatyti jų įtaką pieno rūgšties izomerų susidarymui, antimikrobinių bei fermentinių aktyvumų ir fenolinių junginių bei antimitybinų faktorių pokyčiams.

2. Ištirti apdorojimo ultragarsu įtaką virškinimui atsparaus krakmolo kiekio padidinimui ryžių malimo šalutiniuose produktuose ir įvertinti ultragarso bei temperatūros įtaką atsparaus virškinimui krakmolo morfologinėms, fizikinėms, cheminėms ir technologinėms savybėms.

3. Įvertinti ryžių malimo šalutinių produktų panaudojimo galimybes funkcinio maisto produkto su bruknių uogų išspaudomis gamybai, parenkant stingdiklius ar tirštiklius ir įvertinant bakterinių ląstelių gyvybingumą bei produkto stabilumą laikymo metu.

4. Ištirti ryžių malimo šalutinių produktų panaudojimo galimybes daržo augalams skirto substrato gamybai, įvertinant jų priedų įtaką daržo augalų (pomidorų ir pupelių) ligų prevencijai ir augimo intensyvumui.

Mokslinis darbo naujumas. Pirmą kartą išanalizuotas ryžių malimo šalutinių produktų tinkamumas fermentacijai įvairiomis *Lactobacillus* spp. ir *Pediococcus* spp. pieno rūgšties bakterijomis, įvertinant L(+)-pieno rūgšties susidarymą, aminorūgščių kokybinę bei kiekybinę sudėtį ir fermentacijos metabolitų slopinantį poveikį kai kurių *Penicillium* spp., *Fusarium* spp., *Aspergillus* spp. mikroorganizmų augimui.

Pirmą kartą įvertinta apdorojimo aukštojo dažnio (850 kHz) ultragarsu įtaka virškinimui atsparaus krakmolo susidarymui ryžių malimo šalutiniuose produktuose (sėlenose), esant skirtingiems UG parametrams. Optimizuoti apdorojimo ultragarsu parametrai (temperatūra, trukmė, galia) virškinimui atsparaus krakmolo maksimaliam susidarymui ir sudaryta matematinio modelio lygtis jo kiekiui prognozuoti.

Praktinė darbo vertė. Ryžių malimo šalutiniai produktai gali būti panaudoti kaip fermentacijos terpė įvairių pieno rūgšties bakterijų dauginimui ir bioaktyviųjų metabolitų, pasižyminčių fermentiniu, antigrybiniu ir antibakteriniu aktyvumu, gamybai be hidrolizinių fermentų ar maistinių medžiagų priedų.

Apdorojimas aukštojo dažnio (850 kHz) ultragarsu esant 40 °C temperatūrai gali būti pritaikytas funkcinio komponento – virškinimui atsparaus krakmolo – kiekio

padidininimui ryžių malimo šalutiniuose produktuose. Taip funkcionalizuoti ryžių malimo šalutiniai produktai gali būti panaudoti antimikrobinių pieno rūgšties bakterijų imobilizavimui ir funkcinių maisto produktų gamybai.

Gautų rezultatų pagrindu sukurta naujo produkto (batonėlio) receptūra iš apdorotų ultragarsu bei fermentuotų antimikrobinėmis pieno rūgšties bakterijomis ryžių malimo šalutinių produktų ir bruknių uogų išspaudų, parenkant optimalią šių komponentų kombinaciją ir stingdiklius, užtikrinančius tekstūros stabilumą ir pieno rūgšties bakterijų gyvybingumą laikant. Produktas pristatytas KTU parodoje „Technorama 2022“, ten sulaukė didelio susidomėjimo ir palankaus įvertinimo.

Fermentuoti antimikrobinėmis pieno rūgšties bakterijomis ryžių malimo šalutiniai produktai gali būti rekomenduoti kaip bioaktyvūs daržo augalų – pupelių ir pomidorų – auginimo substrato komponentai, padidinantys jų atsparumą šaknų puvinį sukeliantiems patogenams, taip pat pagerinantys šių augalų sėklų daigumą ir augimo intensyvumą.

Ginamieji disertacijos teiginiai

1. Ryžių malimo šalutiniai produktai yra tinkama terpė pieno rūgšties bakterijų dauginimui ir bioaktyviųjų metabolitų, pasižyminčių fermentiniu, antigrybiniu ir antibakteriniu aktyvumu, gamybai.
2. Taikant aukštojo dažnio (850 kHz) ultragarsą galima padidinti virškinimui atsparaus krakmolo (3 tipo) kiekį ryžių malimo šalutiniuose produktuose.

gausu B grupės vitaminų, tokių kaip tiamino (B_1), riboflavino (B_2), niacino (B_3) ir vitamino B_6 . Gausu mineralinių medžiagų (kalio, fosforo, cinko, magnio, geležies ir jodo), taip pat nesočiųjų riebalų rūgščių, pasižyminčių teigiamu poveikiu žmonių sveikatai.

RP baltymai yra vertingi ir pasižymi dideliu virškinamumo laipsniu ir hipoalergiškumu (39). Baltymuose gausu nepakeičiamųjų aminorūgščių, tokių kaip triptofanas, histidinas, cisteinas ir argininas (40), dėl kurių biologinės ir funkcinės baltymo savybės apima antioksidacinę, antihipertenzinę, antidiabetinę ir riebalų kiekį produkte mažinantį poveikį (41). Didelė baltymų maistinė vertė leidžia panaudoti juos specialios paskirties (kūdikių) maisto produktų gamybai (30, 42). Ryžiuose nėra gliadinų, taip pat baltymų fraksijų, susijusių su celiakija (43). RP baltymai sudaryti iš 37 % albuminų, 36 % globulinų, 22 % glutelinų ir 5 % prolaminų (44).

RP yra bioaktyviųjų peptidų (iki 20 aminorūgščių liekanų), kurie pasižymi įvairiomis fiziologinėmis funkcijomis, priklausančiomis nuo aminorūgščių sudėties. Šie baltymai reguliuoja baltymų apykaitą, skrandžio ir žarnyno veiklą, taip pat gerina mineralinių medžiagų pasisavinimą, skatina naudingosios žarnyno mikrofloros vystymąsi, veikia kaip imunomodulatoriai, antimikrobinės medžiagos (45).

Pagal žaliavą, bendras maistinių skaidulų kiekis RP svyruoja nuo 25 % iki 40 %. Palyginimui, avižų sėlenose yra beveik dvigubai mažiau maistinių skaidulų, tačiau RP yra mažesni tirpiųjų skaidulų kiekiai (7–13 %), likusį kiekį sudaro netirpiosios skaidulos, į kurių sudėtį įeina celiuliozė, hemiceliuliozė ir arabinoksilanai (46, 47). Netirpiųjų ryžių skaidulų komponentai, tokie kaip celiuliozė ir ligninas, dažniausiai nėra fermentuojami storojoje žarnoje, todėl padidina gaubtinės žarnos turinį dėl vandens sulaikymo ir tuo pagerina žarnyno veiklą (48). O štai tirpiosios skaidulinės medžiagos yra lengvai fermentuojamos, padidina masės klampumą skrandyje; dėl šios priežasties padidėja sotumo jausmas, lėtinama žarnyno peristaltika ir gliukozės absorbcija plonojoje žarnoje (49).

RP reguliuoja ir stabilizuoja gliukozės bei glikozilinto hemoglobino koncentraciją kraujyje (26). Atlikti tyrimai rodo, kad RP ir jų komponentai kontroliuoja hiperglikemiją ir su ja susijusias komplikacijas (50).

Nuriebtinti RP vis plačiau naudojami maisto produktų, turtingų biologiškai ir fiziologiškai aktyviomis medžiagomis, gamybai. Iš RP pagaminti produktai turi didelį potencialą funkcinio maisto gamyboje, taip pat farmacijos pramonėje dėl teigiamo poveikio sveikatai profilaktiniu ar medicininio aspektu (51). Be baltymų, riebalų, maistinių skaidulų, vitaminų, mineralų, šiuose RP gausu tokių bioaktyviųjų komponentų, kaip fitosteroliai (β -sitosterolis, stigmasterolis, kapesterolis), fenolinės rūgštys (kumaro, fitino, ferulo rūgštys), karotinoidai (α -karotinas, β -karotinas, liuteinas ir likopenas) (48, 52). Šie komponentai pasižymi įvairiu biologiniu aktyvumu, dėl kurio gali prisidėti prie organizmo biologinių funkcijų gerinimo.

Vienas iš jų, γ -orizanolis, laikomas bene veiksmingiausiu natūraliu antioksidantu (53). Chemiškai γ -orizanolis yra komponentų, tokių kaip transferulo rūgšties esteriai, triterpeno alkoholiai ir steroliai, darinys (49). γ -orizanolis ne tik mažina cholesterolio kiekį kraujyje, bet ir teigiamai veikia centrinę nervų sistemą, psichinę būklę, taip pat pasižymi priešūždegiminiu, antialerginiu poveikiu (54, 55).

Šis natūraliai aptinkamas γ -orizanolis kartu su vitaminu E pasižymi dideliu laisvųjų radikalų surišimo aktyvumu, tai padeda apsaugoti ląsteles nuo oksidacinio streso (56).

Svarbu paminėti, kad viena iš pagrindinių rudųjų ryžių ir RP mažesnio vartojimo priežasčių yra trumpa tinkamumo vartoti trukmė dėl didelio lipidų kiekio ryžių malimo šalutiniuose produktuose. RP pritaikymą maisto pramonėje riboja jų greitas gedimas dėl fermentų lipazės ir lipoksidazės veikimo (57, 58). Šie fermentai greitai hidrolizuoja lipidus į laisvąsias riebalų rūgštis ir glicerolį, tai lemia drastišką RP kokybės sumažėjimą (4). Norint efektyviai panaudoti RP, rekomenduojama inaktyvuoti lipazę, kuri atsakinga už RP sudedamųjų dalių hidrolizę. Iškart po malimo RP gali būti stabilizuojami, ekstruduojant (59), kaitinant mikrobangomis (60), infraraudonąja spinduliuote (61), taip pat apdorojant hidroterminiu būdu (62). Maisto pramonėje, siekiant užtikrinti didelę komponentų išeigą, mažą kainą ir kuo mažesnę bioaktyviųjų sudedamųjų dalių praradimą, yra svarbu parinkti ir optimizuoti stabilizavimo būdą.

1.1.3. Antimitybiniai faktoriai ryžių malimo šalutiniuose produktuose

Pagrindiniai antimitybiniai faktoriai, kurie yra grūdinėse kultūrose, tai saponinai, taninai, fitino rūgštis, lektinai, proteazės ir amilazės inhibitoriai (63). Fitino rūgštis slopina fermentų, reikalingų baltymų skaidymui plonojoje žarnoje ir skrandyje, veiklą, veikia mineralų biologinį prieinamumą (64). Taninai, sudarydami grįžtamuosius ir negrįžtamuosius tanino ir baltymų kompleksus tarp taninų hidroksilo grupės ir baltymų karbonilo grupės, paveikia baltymų virškinamumą ir sumažina nepakeičiamųjų aminorūgščių įsisavinimą virškinimo metu (65). Proteazės inhibitoriai yra natūralūs augalų inhibitoriai, kurie slopina fermentų katalitinį aktyvumą, blokuodami aktyviąją fermentų zoną (66).

Viena didžiausių su sveikata susijusių problemų priežasčių yra mikroelementų, vitaminų ir mineralų trūkumas žmonių mityboje (67). Be to, ne tik mikroelementų suvartojimas, bet ir jų biologinis prieinamumas yra svarbus mitybos veiksnys, siekiant patenkinti žmogaus maistinių medžiagų poreikius. Neapdorotuose maisto produktuose prastas mineralų biologinis prieinamumas mažina šių maisto produktų maistinę vertę, todėl gali pasireikšti medžiagų apykaitos sutrikimai (68). Vienas iš pagrindinių faktorių, daugiausiai veikiančių kalcio ir kitų mikroelementų, tokių kaip geležis, varis ir cinkas, biologinį prieinamumą, yra fitatai, kurie sudaro chelatus. Kai kurie kiti faktoriai, tokie kaip polifenoliai ir oksalatai, taip pat laikomi antimitybiniais, nes gali riboti maisto mineralų biologinį prieinamumą (63). Tačiau fitocheminės medžiagos, pvz., fenoliniai junginiai, pasižymi antioksidaciniu aktyvumu, nes jie gali pašalinti reaktyviojo deguonies formas, slopindami kompleksų su geležies jonais susidarymą (63).

Ryžių grūduose, palyginus su kitomis grūdinėmis kultūromis, randami maži kiekiai alergijas sukeliančių medžiagų (57). Pagrindinės antimitybinės medžiagos ryžiuose, tokios kaip fitatai, tripsino inhibitoriai, taninai ir polifenoliai, daugiausiai yra susitelkusios embriono ir aleurono sluoksniuose (69). Todėl, nors RP yra pigi žaliava, jų įtraukimas į maisto gamybą ribotas dėl antimitybinių faktorių, kurie RP frakcijoje yra aptinkami didesniais kiekiais (70).

draugiškesnė technologija. Be to, UG veikimas žemos temperatūros aplinkoje leidžia išsaugoti junginių funkcionalumą (81).

1.2.3. *Biotechnologinės priemonės ryžių malimo šalutinių produktų komponentams modifikuoti*

Pagrindinės biotechnologinės priemonės, taikomos augalinės žaliavos apdorojimui, yra kietafazė fermentacija, naudojant įvairius grybinės kilmės mikroorganizmus, mieles bei pieno rūgšties bakterijas, ir fermentinė hidrolizė įvairiais fermentais, skaidančiais skaidulines medžiagas ir baltymus.

Taikant tradicines ir alternatyvias priemones šalutinių produktų apdorojimui, galima padidinti biologiškai vertingų natūralių komponentų kiekius, kurie maisto produktams suteiktų didesnę pridėtinę vertę (82) (1.3 lent.). Toks funkcionalizavimas padidina bioaktyviųjų komponentų įsisavinimą ir prieinamumą fermentams, tai naudinga žmogaus sveikatai (83).

Vienas iš kietafazės fermentacijos (KF) kokybės kriterijų – tai mikroorganizmų gebėjimas prisitaikyti ir augti šalutinių produktų substratuose be priedų ir gyvybingumas laikant. Remiantis literatūra, grūdai, tokie kaip miežiai, kviečiai, ryžiai, yra potencialūs substratai mikroorganizmams augti (18, 84). Fermentacija atrinktais mikroorganizmais galėtų būti vienas iš tvarių modifikavimo būdų, suteikiančių fermentuotiems maisto produktams didesnę maistinę vertę ir priimtinas organoleptines savybes (85). RP funkcionalizavimui taikomi įvairūs fermentacijos procesai.

1.3 lentelė. Apdorojimo būdai ir jų efektyvumas (26)

Bioprocesas	Efektyvumas
Kietafazė fermentacija	Padidintas tirpiųjų fenolinių rūgščių kiekis
	Padidintas antioksidacinis aktyvumas
	Padidintas tirozinazės aktyvumo slopinimas
	Sumažintas sočiųjų riebalų rūgščių kiekis
	Padidintas fermento peroksidazės slopinimas
	Padidintas fosfolipidų kiekis
	Polisacharidų polimerizacijos laipsnio sumažinimas
	Padidintas tirpiųjų maistinių skaidulų tirpumas
	Priešuždegiminės savybės
	Pagerintos fizikinės ir cheminės savybės (vandens ir aliejaus absorbcija, tirpumas vandenyje, cholesterolio absorbcija)
Fermentinė hidrolizė	Padidintas bendras fenolinių junginių kiekis ir antioksidacinis aktyvumas
	Didesnis B grupės vitaminų tirpumas
	Padidintas trumpųjų grandinių riebalų rūgščių (acto rūgšties ir propiono rūgšties) kiekis

Mikrobinė fermentacija. Pagal Razak ir kt., RP fermentacijai panaudojus mikroskopinius grybus, įskaitant mieles (*Rhizopus oligosporus*, *Rhizopus oryzae* ir *Monascus purpureus*, *Saccharomyces cerevisiae* ir *Aspergillus spp.*), nustatytas antioksidacinio aktyvumo ir bioaktyviųjų junginių kiekio padidėjimas (86).

Fermentacijai naudojant kelių mikroorganizmų kombinacijas, galima gauti dvigubai didesnę fenolinių rūgščių (ferulo ir galo rūgščių) kiekį, lyginant su nefermentuotais RP (86, 87). Kiti autoriai parodė, kad naudojant *Aspergillus awamori* ir *A. oryzae*, galima gauti didesnius bendrų fenolinių junginių kiekius, o kartu ir didesnę antioksidacinę aktyvumą (88). Nuriebinųjų RP atveju, mikrobinė fermentacija reikšmingai padidina TMS vandens ir aliejaus absorbcijos gebą (89). Fermentuojant RP *Saccharomyces cerevisiae* mielėmis pasireiškia antistresinis poveikis žmogaus organizmui, taip pat sustiprinamas imuninis atsakas prieš vėžinius susirgimus (90, 91). Kupski ir kt. (92) nustatė, kad fermentuojant RP *Rhizopus oryzae*, baltymų kiekis padidėjo 43 %, taip pat gautas didesnis fenolinių junginių kiekis turėjo įtakos didesniam antioksidaciniam aktyvumui.

Fermentacija *Fusarium* spp. rūšimis – dar vienas galimas RP apdorojimo būdas, tačiau šie ar kiti mikroskopiniai grybai gali mikotoksinais užteršti grūdinę žaliavą (93, 94).

Fermentacija pieno rūgšties bakterijomis. Fermentacija PRB yra veiksmingas biotechnologinis procesas, taikomas produktų saugai užtikrinti ir mitybinei bei funkicinei vertei padidinti (17). Parenkant fermentacijai mikrobines kultūras, pagrindiniai kriterijai yra mikroorganizmų biomasės augimo ir organinių rūgščių susidarymo greitis, taip pat antimikrobinų ir antigrybinių junginių gamyba (95). PRB fermentacijai naudojamos dėl savo probiotinių savybių ir jų gaminamų metabolitų antimikrobinio poveikio.

PKF proceso metu dažniausiai naudojami *Lactobacillus* spp. ir *Pediococcus* spp. mikroorganizmai, kurie skirstomi į homofermentinius, heterofermentinius ir fakultatyvinius heterofermentinius. Homofermentinės bakterijos fermentuoja heksozes iki pieno rūgšties (>85 %), fermentuoja fruktozę, tačiau nefermentuoja pentozų. Fakultatyvios heterofermentinės bakterijos fermentuoja heksozes iki pieno rūgšties, o pentozės yra šių PRB fermentuojamos iki pieno ir acto rūgšties. Heterofermentinės PRB fermentuoja heksozes iki pieno ir acto rūgšties, etanolio ir CO₂, o pentozės fermentuojamos iki pieno ir acto rūgšties.

PKF technologija gali būti taikoma ne tik produkto funkcinėms savybėms pagerinti, bet ir kaip priemonė išgauti funkcinis maisto komponentus (26). PRB fermentacijos metu, be organinių rūgščių, gamina baltymines medžiagas, kurios pasižymi antimikrobinėmis savybėmis (bakteriocinai), t. y. slopina pašalinių mikroorganizmų dauginimąsi (95). Bakteriocinai sumažina mikrobinę užterštumą fermentacijos proceso metu, slopina patogeninių mikroorganizmų veiklą ir mikroskopinių grybų augimą.

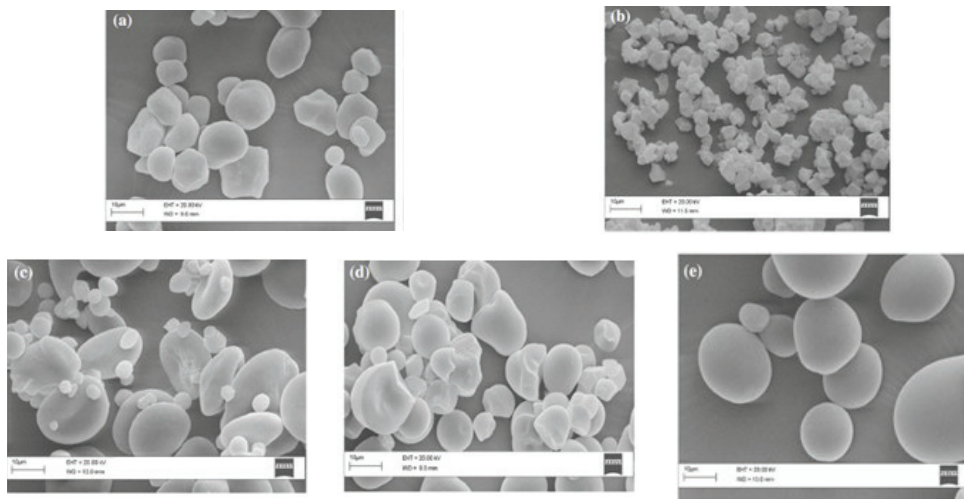
Remiantis literatūros duomenimis, PKF procesas taip pat yra veiksminga priemonė antimonybinių faktorių pašalinimui grūdinėje žaliavoje (70). Vykdam biologinės detoksikacijos technologijas, agropramonės atliekų PKF procese pagrindinis dėmesys skiriamas fitino rūgšties ir tripsino inhibitorių pašalinimui arba jų kiekio sumažinimui.

Fermentinė hidrolizė. Be mikrobinės fermentacijos, fermentinė hidrolizė plačiai taikoma grūdinės žaliavos maistinių skaidulų modifikavimui dėl santykinai mažesnių sąnaudų, paprastos įrangos ir draugiškumo aplinkai. Įrodyta, kad fermentinė

1.4 lentelė. Krakmolo grūduose kiekis ir charakteristikos

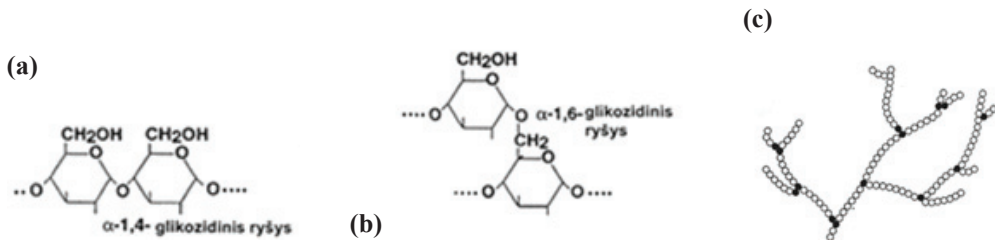
Šaltinis	Kraskmolos, %	Amilozė, %	Granulių dydis, μm	Kleisteri- zacijos temp., °C	Literatūra
Kukurūzai	75	28	5–18	62–72	(126)
Ryžiai	80	18,5	3–8	68–78	
Kviečiai	65	26	<30	58–64	
Rugiai	60	–	<20	57–70	

Kiekvienos grūdų rūšies krakmolo grūdėliai turi būdingą dydį ir formą (1.5 pav.), tai priklauso nuo augalo šaltinio (128). Ryžių krakmolo granulių dydis svyruoja nuo 3 μm iki 8 μm ir yra daugiakampės, ovalios, netaisyklingos arba lygios formos (129).



1.5 pav. Krakmolo granulių SEM (didinimas ×4000): (a) kukurūzų; (b) ryžių; (c) kviečių; (d) tapijokos; (e) bulvių (130)

Krakmolo kleisterizacijos temperatūra priklauso nuo amilozės bei amilopektino kiekio ir jų santykio. Amilozė yra linijinės struktūros krakmolo polisacharidas (1.6 pav. (a)), sudarytas iš anhidroglukozės likučių, sujungtų tarpusavyje α-1,4-glikozidiniais ryšiais, jos vidutinė molekulinė masė yra apie 10^5 – 10^6 kDa (131). Amilopektinas yra šakotos struktūros krakmolo polisacharidas (1.6 pav. (b)), sudarytas iš trumpų linijinių kamieninių grandinių ir skirtingo ilgio šoninių šakų bei atšakų, prijungtų prie kamieno α-1,6-glikozidiniais ryšiais. Amilopektino makromolekulės yra vienos iš didžiausių gamtoje, jų vidutinė molekulinė masė yra apie 10^7 – 10^9 kDa. Amilopektino makromolekulės gali išsidėstyti tiek amorfinėse, tiek kristalinėse srityse. Amorfinėse srityse yra išsišakojusios makromolekulės dalys, kristalinėse – lygiagrečiai išsidėsčiusios linijinės makromolekulės dalys (126).



1.6 pav. (a) Amilozės; (b) amilopektino; (c) krakmolo makromolekulių fragmentai

1.3.2. Atsparaus virškinimui krakmolo tipai ir fizikinės cheminės savybės

Atsparus virškinimui krakmolą (AVK) yra apibūdinamas kaip augalinės kilmės angliavandenis, atsparus virškinimui plonojoje žarnoje (132), todėl jis patenka į storąją žarnyną, kur yra iš dalies arba visiškai fermentuojamas. AVK fiziologinis poveikis panašus į maistinių skaidulų poveikį (133, 134, 135), todėl paprastai laikomas viena iš bendro maistinių skaidulų kiekio sudedamųjų dalių.

Pirmą kartą į AVK dėmesys buvo atkreiptas nustatant bendrą skaidulinių medžiagų kiekį Prosky metodu (136). Atlikti tyrimai parodė, kad grūduose vyrauja ne tik skaidulinės medžiagos bei nekrakmolo polisacharidai, bet ir kitos krakmolo formos, kurios nėra priskirtinos skaiduloms (137). Taip pat nustatyta, kad AVK nėra greitai virškinamas kaip paprastas krakmolą ir kad ši savybė suteikia biologinę naudą. Kai kurios savybės panašios į skaidulų, tačiau esama ir kitų, kurios priskiriamos tik AVK.

Atsparaus virškinimui krakmolo aptinkama įvairiuose ankštiniuose augaluose, grūdiniuose maisto produktuose, javų ir bulvių produktuose. Didžiausiais kiekiais pasižymi ankštiniai augalai ir grūdai (1.5 lent.).

Ryžių perdirbimo šalutiniai produktai taip pat gali būti AVK šaltinis, tačiau natūralus AVK kiekis ryžiuose priklauso nuo ryžių veislės ir gali būti palyginti mažas (1,6 g/100 g) (6). Kalbant apie AVK funkcionalumą, manoma, kad AVK suvartojimas turėtų sudaryti nuo 10 % iki 20 % paros angliavandenių poreikio. Tačiau daugumoje maisto produktų AVK yra mažiau nei 5 %, be to, didesnė dalis įprastinių maisto gamybos procesų sumažina nevirškinamojo krakmolo dalį maiste (7). Tačiau didesni kiekiai gali sukelti viduriavimą, pilvo pūtimą, apsunkinti žarnyno bakterijų veikimą (139).

Pagal savo chemines ir fizikines savybes AVK suskirstytas į penkis tipus (134). Kiekvienas tipas pasižymi skirtingu atsparumu fermentams, taip pat šaltiniais, iš kurių gali būti išgaunamas.

1.5 lentelė. Skaidulinių medžiagų, krakmolo ir atsparaus virškinimui krakmolo kiekiai kai kuriuose grūduose ir jų produktuose (g/100 g) (138)

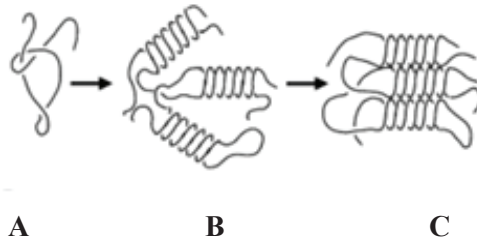
Krakmolo šaltinis	Bendras krakmolo kiekis	Bendras skaidulinių medžiagų kiekis	Atsparus virškinimui krakmolas
<i>Ankštiniai augalai</i>			
Raudonosios pupelės	42,6	36,8	24,6
Lęšiai	53,3	33,1	25,4
Juodieji žirniai	53,9	32,8	17,7
<i>Grūdai</i>			
Miežiai	55,2	17,0	18,2
Kukurūzai	77,9	19,6	25,2
Baltieji ryžiai	95,1	1,5	14,1
Kviečiai	50,8	17,0	13,6
Avižos	43,4	37,7	7,2
<i>Miltai</i>			
Kukurūzų	84,3	2,8	11,0
Kviečių	68,8	12,1	1,7
Ryžių	86,9	5,1	1,6

AVK1 – krakmolas, įsiterpęs pluoštinių augalų ląstelių sienelėse krakmolo-baltymų komplekso pavidalu, ir krakmolo granulės yra neprieinamos fermentams dėl ląstelių sienelių ir baltymų matricos (138). AVK1 randamas iš dalies lukštentuose nesmulkintuose grūduose ir sėklose, ankštinėse daržovėse (pupelėse, riešutuose, žirniuose ir lęšiuose).

AVK2 – krakmolas, kuris dėl savo natūralios kristalinės struktūros ir būdingų krakmolo graniulių savo sudėtyje turi didesnę amilozės kiekį. Tai nekleisterizuotas krakmolas, kuriame B tipo kristalinės struktūros atsparios krakmolo granulės lėtai hidrolizuojamos α -amilazės. AVK2 tipo granulės yra atsparios skaidymui dėl savo konfigūracijos ir struktūros (linijinės struktūros amilozė), kuri riboja virškinimo fermentų prieinamumą. AVK2 tipo gausu krakmologuose vaisiuose, žaliose daržovėse (bulvėse, bananuose) ir didelį amilozės kiekį turinčiuose produktuose (kukurūzų krakmole) (140). Šis tipas yra unikalus, nes jis išsaugo savo struktūrą ir atsparumą net perdirbant ir paruošiant daugelį maisto produktų (141).

AVK3 susidaro produktuose virimo ar kito apdorojimo ir atšaldymo proceso metu, tada pasikeičia krakmolo struktūra, kuri tampa atspari virškinimui. Šis procesas vadinamas krakmolo retrogradacija, tai yra laipsniškas krakmolo dalelių agregavimasis į netirpiuosius mikrokristalinius darinius, kai agreguoja linijinis komponentas amilozė (142). Aušinant vandeninius krakmolo tirpalus, retrogradacijos procesas greitėja. AVK3 susidarymo metu krakmolo granulės yra visiškai hidratuotos, amilozė yra pašalinama iš graniulių, vėstant polimero grandinės reorganizuojasi, stabilizuojasi vandeniliniai ryšiai, dvi gretimos krakmolo molekulės kristalizuojasi ir susidaro atsparios dvigubos spiralės (128) (1.7 pav.). Dalinė rūgštinė hidrolizė,

šaldymo ir atšildymo ciklas sustiprina krakmolo retrogradaciją ir todėl gali būti naudojami AVK3 kiekiui padidinti (128).



1.7 pav. Krakmolo retrogradacijos proceso schema. **A** – atsitiktinė spiralė; **B** – susijungimų zonos – dvigubos spiralės; **C** – kristalinė struktūra (128)

AVK4 – chemiškai modifikuotas krakmolos, įskaitant krakmolą, kuris buvo eterizuotas, esterintas arba kryžmiškai sujungtas su cheminėmis medžiagomis tokiu būdu, kad jų virškinamumas taptų neprieinamas fermentams (143). Vykdoma esterifikacija arba prijungiamos cheminės grupės. Šie pakitimai neleidžia virškinamojo trakto amilazėms hidrolizuoti susidariusių polimeramų (104).

AVK5 – amilozės ir lipidų spiralinės struktūros kompleksas, kuris susidaro, susijungus krakmolo molekulėms, turinčioms didelį amilozės kiekį (144). AVK5 pasižymi didesne kleisterizacijos temperatūra ir yra labiau linkęs retrograduoti (145). Paprastai krakmolo ir lipidų struktūra bei kiekis maisto produktuose priklauso nuo krakmolo prigimties (146). AVK5 apibūdinamas kaip polisacharidas, kurį sudaro vandenyje netirpios poli- α -1,4-gliukano molekulės, kurios nėra jautrios α -amilazių veikimui (138).

Didėjantis vartotojų informuotumas apie naudingą maistinių skaidulų vaidmenį sveikatai padidino skaidulomis praturtintų grūdinių bei negrūdinių produktų paklausą ir gamybą. Pastaraisiais metais jaučiamas didelis susidomėjimas AVK kaip maisto priedu, nes jo fiziologinis poveikis panašus į maistinių skaidulų. Lyginant su tradicinėmis netirpiosiomis maistinėmis skaidulomis, tokiomis kaip grūdinės sėlenos, AVK turi didelį pranašumą, nes mažiau paveikia produkto juslines savybes, tekstūrą, bendrą išvaizdą; tai dažnai būna labiau priimtina vartotojams (128).

Moksliniais tyrimais nustatyta, kad AVK padidina trumposios grandinės riebalų rūgščių, acetato, butirato, propionato ir kitų, gamybą žarnyne. Šios rūgštys slopina angliavandenių skilimą kepenyse, todėl AVK gali padidinti riebalų kiekį žarnyne, kurį galima sunaudoti energijai (138). Trumposios grandinės riebalų rūgščių gamyba daro teigiamą poveikį žarnyno sveikatai, suteikia didesnę sotumo jausmą, įskaitant didesnę magnio ir kalcio įsisavinimą, epitelio proliferaciją, bakterijų rūšių pusiausvyrą ir tulžies druskų bakterijų apykaitą, apsaugo nuo žarnyno vėžio (128).

Šio krakmolo poveikis taip pat siejamas su sumažėjusiu kraujospūdžiu, glikemijos indeksu, kuris mažina diabeto riziką, ir yra susijęs su cholesterolio bei trigliceridų kiekio mažėjimu (147). AVK yra mažo glikemijos indekso produktas, taip pat jis mažesnio kaloringumo (8 kJ/g), palyginti su greitai virškinamu krakmolu

(15 kJ/g) (147), todėl jis gali būti virškinamųjų angliavandenių pakaitalas, sumažinant galutinio produkto energetinę vertę.

1.3.3. Atsparaus virškinimui krakmolo prebiotinės savybės

AVK gali ne tik suteikti teigiamą fiziologinį poveikį kaip funkcinis ingredientas (6), bet ir veikti kaip išskirtinis prebiotikas (148). AVK neišsavinamas plonajame žarnyne, todėl aprūpina gerąsias bakterijas skaidomaisiais angliavandeniais. Nustatyta, kad skaidant AVK pasigamina didesnis kiekis sviesto rūgšties, nei skaidant kitus nevirškinamuosius angliavandenius. Butiratas yra vienas pagrindinių epitelinių ląstelių energijos šaltinių, susijęs su gaubtinės žarnos normalia veikla, ir dalyvauja reguliuojant imuninę sistemą, kai sergama uždegiminėmis žarnyno ligomis (149, 150).

Trumpųjų grandinių fruktooligosacharidai (FOS) ir AVK gali veikti sinergetiškai, padidindami laktobakterijų ir bifidobakterijų skaičių storosios žarnos turinyje. Galima išskirti keletą prebiotinių skaidulų tipų, atsižvelgiant į jų fermentavimo greitį. *In vitro* tyrimuose nustatyta, kad fermentavimo greitis priklauso nuo angliavandenių grandinės ilgio. FOS virškinimo sistemoje greitai fermentuojami dėl trumpųjų grandinių, o AVK skaidomas lėtai. Todėl pagal prebiotikų skaidymo kinetiką galima nustatyti žarnyno sritį, kurioje poveikis bus aiškesnis. Taigi, FOS aktyviai veiktų pirmosiose storosios žarnos dalyse, o AVK pasiekia distalinę gaubtinės žarnos dalį (151). Tokiu būdu funkciniai maisto produktai, kurių sudėtyje yra skirtingų tipų maisto skaidulų, storojoje žarnoje gali sukelti stipresnį poveikį, reikšmingai padidinantį probiotikų kiekį, dėl to tokia įvairiapusė sveika mityba gali suteikti papildomos naudos (152).

Tarp skirtingų AVK fiziologinių vaidmenų jo prebiotinis poveikis kelia didelį susidomėjimą. AVK kaip prebiotikas gali būti naudojamas funkciniuose maisto produktuose: kaip fermentuojamas substratas mikrobiotos, ypač laktobakterijų ir bifidobakterijų, augimui skatinti; kaip maisto produktas, skatinantis teigiamą fiziologinį poveikį; probiotikų inkapsuliavimui, siekiant pagerinti jų stabilumą (153). AVK naudojimas mikroinkapsuliavimo procesuose leido išspręsti tokias problemas, kaip probiotikų atsparumas terminiam apdorojimui, kontroliuojamas jautrių junginių atsipalaidavimas virškinimo proceso metu (154). Taigi, esant AVK, sukurama mikroaplinka, kurioje naudingosios bakterijos išgyvena apdorojimo ir laikymo sąlygas ir išsiskiria reikiamoje virškinimo trakto terpėje (155). Iyer (156) atlikti tyrimai parodė, kad probiotinių bakterijų inkapsuliavimas, naudojant AVK, ne tik stabilizuoja, bet ir pagerina probiotinių mikroorganizmų gyvybingumą šaldytuose pieno produktuose laikymo metu (154). Pagal Shimoni ir kt. (153) atliktus tyrimus, tiesioginis kukurūzų AVK3 vartojimas pakeitė lipidų apykaitą ir sumažino susirgimų storosios žarnos vėžiu riziką.

1.3.4. Atsparaus virškinimui krakmolo nustatymo būdai

AVK nustatymo ir analizės metodai yra sudėtingi ir ilgai trunkantys. Dažniausiai tam taikomas metodas skaidulinių medžiagų kiekio nustatymui, kurio metu nustatomi lėtai virškinami polisacharidai.

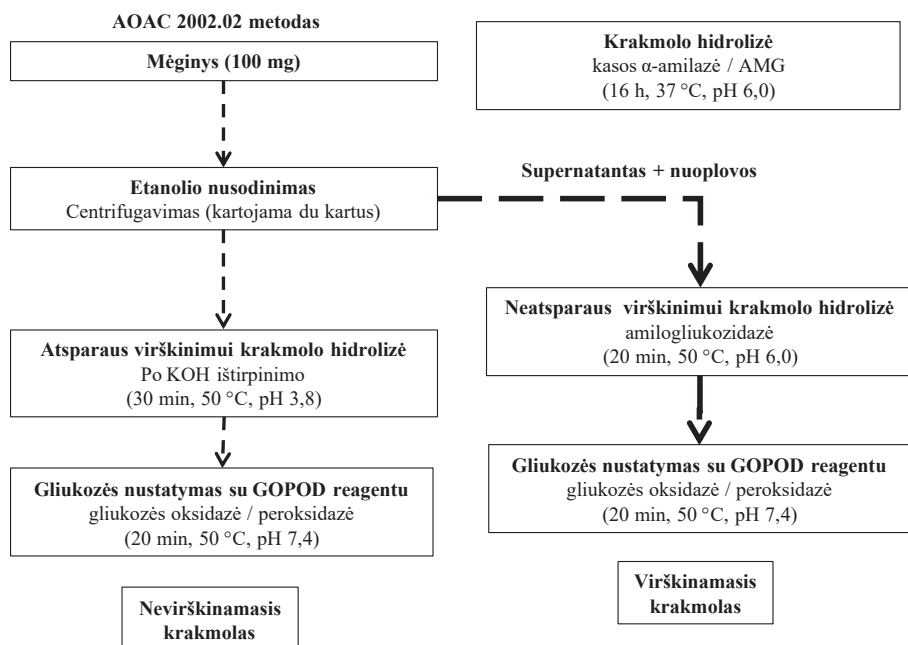
Pagrindiniai skaidulinių medžiagų nustatymo metodai paremti AOAC 985.29 ir AACC 32-05, vadinamaisiais Prosky metodais (157). Bendras skaidulinių medžiagų (SK) kiekis nustatomas pagal AOAC 985.29 oficialų metodą (136). Tai fermentinis gravimetrinis analizės metodas, naudojant fermentus α -amilazę, proteazę ir amilogliukozidazę. Šio proceso metu išekstrahuojami lipidai, virškinami angliavandeniai ir suskaidomi baltymai, likusios nesuvirškintos skaidulos įvertinamos gravimetrinės analizės metodu. Tyrimo metu nustatomos didelės molekulinės masės skaidulinės medžiagos, tačiau neišmatuojamas AVK, nenustatomos tirpiosios SK.

Vėliau SK nustatymo metodas buvo modifikuotas pagal Lee (158). Skirtumas tarp senojo ir naujojo metodo yra buferinės sistemos ir plovimo tirpalai. Buferinio tirpalo pakeitimas iš fosfatinio į 2 (N-morfolino) etansulfonrūgšties (MES) / tris (hidroksimetil) aminometano (TRIS) (0,05 M, pH 8,2) buferį, pakeičiant pH vertę, kuri turi įtakos fermentiniams pokyčiams virškinimo metu, taip pat SK kiekiui (128). Šiame metode supaprastintos fermentinės hidrolizės sąlygos, taip pat taikomas filtravimas po fermentinės hidrolizės prieš nusodinant etanoliu. Toks pakeitimas leidžia atskirti didelės molekulinės masės SK, netirpias vandenyje (SKNV) ir tirpias vandenyje, nusodinamas etanoliu (SKTVE).

Tiek Prosky, tiek Lee metodai nenustato visų SK komponentų dėl keleto priežasčių. Visų pirma, vykstant krakmolo hidrolizei amilazėmis 95 °C temperatūros aplinkoje, hidrolizuojausi didelė dalis AVK (AVK1, AVK2, AVK3), todėl yra neįvertinamas galutinis AVK kiekis. Antra, nenustatomos tirpios vandenyje ir etanolyje SK, nes lieka liekanose, nevirškinamieji oligosacharidai taip pat nėra nustatomi.

1982 metais Englyst ir kt. (159) tyrėjai pirmą kartą pripažino krakmolo frakciją, atsparią fermentinei hidrolizei, atlikdami krakmolo polisacharidų nustatymą. Fermentinės hidrolizės sąlygos buvo sudarytos analogiškos virškinimo sąlygoms žmogaus plonojoje žarnoje. Hidrolizė buvo atlikta 37 °C temperatūros aplinkoje, naudojant kiaulių kasos α -amilazę (priešingai nei bakterinę) ir amilogliukozidazę. Po 20 min fermentinio virškinimo, nustatomas greitai virškinamas krakmolas, po 100 min – lėtai virškinamas krakmolas. Mėginyje likęs krakmolas – tai AVK.

Dešimtojo dešimtmečio pradžioje buvo visiškai suformuluota atsparaus virškinimui krakmolo fiziologinė reikšmė. Sukurta keletas naujų, modifikuotų metodų. Champ (160) metodas buvo pagrįstas Berry (161) metodo pakeitimais ir tiesiogiai išmatuotas atsparus virškinimui krakmolas. Mėginio dydis buvo padidintas nuo 10 mg iki 100 mg, mėginys buvo virškinamas tik kasos α -amilaze (ne kasos fermento α -amilazės ir pululanazės fermentais, naudojamais pagal Englyst ir Berry metodus), ir hidrolizė buvo atliekama, esant pH 6,9 (pH 5,2 buvo taikoma pagal Englyst ir Berry metodus).

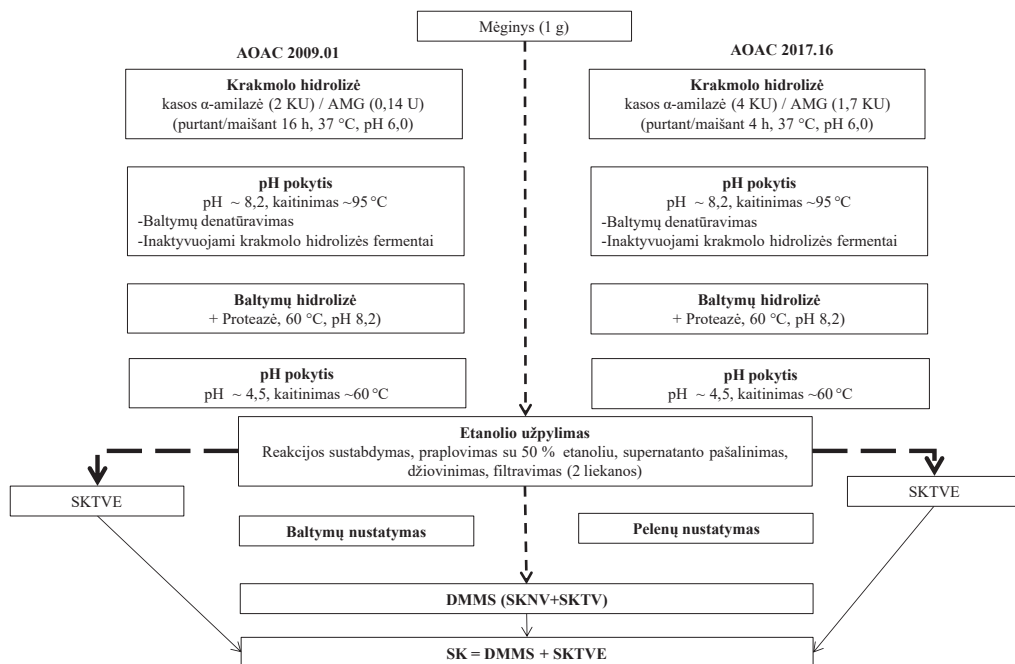


1.8 pav. AOAC 2002.02 metodo schema (162)

Šiuo metu AVK nustatymui taikomas spektrofotometrinis metodas pagal AOAC 2002.02 (1.8 pav.). 100 mg paruošto mėginio hidrolizuojama kasos α -amilaze ir amilogliukozidaze (AMG) 16 valandų 37 °C temperatūroje. Tuo pačiu metu veikiant dviem fermentams, krakmolas hidrolizuojamas į D-gliukozę. AVK granulės yra nusodinamos etanoliu ir atskiriamos centrifuguojant, po to AVK granulės ištirpinamos lediniame 2 M KOH. Šis tirpalas neutralizuojamas, o krakmolas kiekybiškai hidrolizuojamas AMG į gliukozę. Susidaręs D-gliukozės kiekis nustatomas naudojant gliukozės oksidazės–peroksidazės reagentą (GOPOD) (161).

Lyginant šį metodą su modifikuotu greituoju metodu AVK nustatymui, naudojami didesnio aktyvumo fermentai, todėl hidrolizė sutrumpėja nuo 16 h iki 4 h (1.8 pav.). Kadangi vidutinis maisto buvimo laikas plonojoje žarnoje yra maždaug 4 h, šis sutrumpintas fermentinis skaidymas suteikia fiziologiškai reikšmingesnių rezultatų mėginiams, kuriuose yra AVK. Greitojo nustatymo metu po 20 min nustatomas greitai virškinamas krakmolas, lėtai virškinamas krakmolas nustatomas 20–120 min laikotarpiu. Po dviejų valandų hidrolizės išmatuojamas bendras virškinamojo krakmolo kiekis, sudarantis visą krakmolo kiekį, suvirškinamą plonojoje žarnoje. AVK – krakmolas, kuris nėra suvirškinamas po 4 h (159).

Modifikuota AVK nustatymo schema pateikta 1.9 pav. Didesnis PAA ir AMG fermentų aktyvumas neleidžia susidaryti atspariems maltodekstrinams, trumpesnė inkubavimo trukmė artima fiziologinėms sąlygoms.



1.9 pav. Atsparaus virškinimui krakmolo nustatymo metodo schema (162)

1.3.5. Krakmolo modifikavimo grūdų produktuose galimybės

Didelio susidomėjimo sulaukia naujos maisto perdirbimo technologijos, efektyviai gerinančios maisto produktų mitybinę vertę (12). Didžioji dalis iki šiol atliktų tyrimų, skirtų augalinės žaliavos krakmolo modifikavimui ir AVK kiekių padidinimui, buvo nukreipta į sistemas, sudarytas iš krakmolo (15, 16), nors krakmolą kaip toks nėra valgomas, todėl būsimi tyrimai, nukreipti į AVK, turėtų būti atliekami maisto matricoje.

AVK vartojimas, susijęs su nauda sveikatai, skatina kurti naujus metodus, kurie galėtų veiksmingai padidinti nevirškinamojo krakmolo kiekį grūdų pagrindu pagamintuose produktuose. Atsparaus virškinimui krakmolo kiekis gali būti padidintas technologinių procesų (9, 10), fizinio ar hidroterminio krakmolingos žaliavos apdorojimo metu (8, 11).

Vienas iš tokių technologinių procesų, taikomų AVK kiekiui padidinti, yra sterilizavimas, kuris turi didžiausią komercializavimo potencialą. O štai kiti terminiai metodai nėra tinkami pramoniniam taikymui dėl didelių sąnaudų, mažo efektyvumo, sudėtingų veikimo etapų ir naudojamos specializuotos įrangos (138, 163).

Sterilizuojant nenaudojamos cheminės medžiagos, todėl galutiniame etape nesusidaro šalutiniai produktai, šiam technologiniam procesui reikalinga įranga, tokia kaip autoklavas, galintis užtikrinti didelę temperatūrą ir slėgį (164). Sterilizavimo procesas apima krakmolo mėginio, suspenduoto vandenyje, kaitinimą, tada aušinimą, kad susidarytų retrograduota amilozė (165). Didesnės temperatūros taikymas kartu su didesniu slėgiu sukelia greitesnę retrogradaciją, o aušinimo temperatūra lemia geresnę

retrogradaciją. Sudarytos technologinės sąlygos turi įtakos kleisterizacijos ir retrogradacijos procesams, kurie vėliau gali paveikti gaminamo AVK kiekį (138).

Aušinimo proceso metu, po sterilizavimo, galima padidinti AVK kiekį, koreguojant apdorojimo sąlygas, pvz., šildymo bei aušinimo temperatūrą ir laiką, taip pat šildymo–aušinimo ciklą skaičių (166). AVK susidarymui reikalingas tinkamas vandens kiekis, kada vyksta hidratuoto krakmolo kleisterizacija, kurios metu iš granulių išplaunamos amilozės grandinės; aušinimo etape vyksta krakmolo retrogradacija, kurios metu linijinės lanksčios amilozės grandinės persikristalizuoja ir suformuoja sandariai supakuotas dvigubas spirales, stabilizuotas vandenilniais ryšiais (8). Atsiradus amilozės kristalizacijos zonai ir sandariai supakuotoms dviguboms spiralėms, amilazė gali neleisti kontaktuoti su α -1,4 glikozidine jungtimi krakmolo kristalinėje srityje ir neleisti amilazės aktyvaus centro jungimosi vietai prisijungti prie krakmolo molekulės, tokiu būdu amilozės kristalai tampa atsparūs amilazės veikimui (167).

Trumpesnio apdorojimo autoklave atveju krakmolas nėra visiškai kleisterizuojamas, todėl amilozės molekulės nėra visiškai išsilaisvinusios ir jos hidrolizė nevyksta (168, 169). Ilgėjant apdorojimo autoklave trukmei, AVK kiekis laipsniškai didėja.

Autoklavavimo trūkumai: išgaunant iš produktų krakmolą, prarandamas didelis kiekis baltymų ir kitų maistinių medžiagų, taip pat aktyviųjų ingredientų, esančių žemės ūkio produktuose; pakaitinus ir atšaldžius krakmolo suspensiją, krakmolą sunku išdžiovinti dėl kleisterizacijos proceso; džiovinimo proceso metu krakmolo kokybė taip pat gali pablogėti (9).

Fizikiniai ir hidroterminiai procesai AVK padidinimui. Fizikiniai procesai priskiriami prie natūralių procesų, kurių metu modifikacija vyksta be jokių cheminių medžiagų. Procesas yra veiksmingas, lankstus šilumos šaltinių atžvilgiu, mažų sąnaudų, nesudaro cheminių likučių, todėl tai itin patrauklu pramonei (170). Apdorojimas hidroterminiu būdu – tai fizikinis krakmolo modifikavimo metodas, kai AVK apdorojama ribotos drėgmės sąlygomis (10–30 %) tam tikrą laiką, nuo 15 min iki 16 h, aukštesnėje nei kleisterizacijos temperatūra (80–120 °C) (171,172).

Hidroterminiu būdu apdoroto AVK kiekio pokyčiai priklauso nuo krakmolo šaltinio ir fizikinių apdorojimo sąlygų, tokių kaip drėgmės kiekis, temperatūra ir apdorojimo trukmė (173, 174). Zavareze ir Dias (175) nustatė, kad esant didesniai amilozės kiekiui krakmole buvo gautas 53 % didesnis AVK kiekis jį apdorojant hidroterminiu būdu.

1.3.6. Krakmolo modifikavimo galimybės taikant apdorojimą ultragarsu

Krakmolas dažniausiai naudojamas kaip priedas gaminti maisto produktus. Tačiau maisto produktams reikalingas pageidaujamas funkcionalumas ir unikali fizikinės bei cheminės savybės retai patenkinamos esant gamtiniam krakmolui. Todėl gamtinis krakmolas modifikuojamas cheminiu, fermentiniu, fiziniu būdu, kad būtų sukurti nauji maisto produktai. Modifikuojant krakmolą galima ne tik padidinti teigiamas krakmolo savybes, bet ir sukurti naujus krakmolo darinius, kurie pasižymi

naujomis funkcinėmis savybėmis, taip pat pakeičiamos ir technologinės savybės. Vienas iš modifikavimo būdų yra ultragarso taikymas.

Apdorojimas UG yra veiksmingas krakmolo modifikavimo metodas, pasižymintis įvairiais pranašumais, susijusiais su kokybe ir didesnėmis pritaikymo galimybėmis, ribotu cheminių medžiagų panaudojimu ir trumpesniu apdorojimo laiku, todėl laikomas aplinkai nekenksmingu apdorojimu (176). Pagal gamtinę krakmolo kilmę, fizinę krakmolo būseną ir apdorojimo ultragarsu proceso sąlygas (galia, dažnį, laiką ir temperatūrą), pasikeičia ultragarsu apdoroto krakmolo struktūra, sumažinamas klampumas, tirpumas ir pasikeičia skaidrumas (177, 178, 179, 180). Ultragarsu daugiausia pažeidžiama amorfinė krakmolo granulių sritis, paviršius tampa akytas ir pagerinamos fizikinės bei cheminės savybės, tokios kaip brinkimo galia, tirpumas ir kleisterio susidarymas (181). Apdorojimas UG padidina krakmolo poringumą, o tai reiškia padidėjusį jo paviršiaus plotą ir savo ruožtu padidėjusį krakmolo molekulių cheminį reaktyvumą tolesnėms reakcijoms (182).

Didelio intensyvumo ultragarsas (20 kHz dažnis ir 170 W galia 30 min) turi įtakos krakmolo granulėms ir gali veiksmingai pakeisti vidutinį granulių dydį bei jų pasiskirstymą (124). Pritaikant apdorojimo ultragarso parametrus (temperatūra 25–65 °C, trukmė 10–20 min, ultragarso amplitudė 50–100 %) jie turi įtakos kukurūzų krakmolo fizikinėms, cheminėms ir viskoelastinėms savybėms, taip pat granulių paviršius yra pažeidžiamas (177).

Siekdami įvertinti molekulinį struktūrinius pokyčius apdorojant bulvių krakmolo granules ultragarsu, Zhu ir kt. (180) bulvių krakmolo suspensijai taikė įvairius ultragarsinio apdorojimo būdus (60 W, 105 W ir 155 W galios, 20 kHz dažnio 30 min). Pagal gautus rezultatus matyti, kad padidinus ultragarso galią labiau išbrinksta kompaktiškos krakmolo kristalinės struktūros. O štai B tipo kristalinės struktūros pokyčių nepastebėta.

Ultragarso galia – tai parametras, kuris turi įtakos kavitacijos atsiradimui. Didesnė galia sukelia greitesnį ultragarso bangų sklidimą terpėje (183). Todėl didelės ultragarso galios taikymas padidina krakmolo ekstrahavimo išeigą dėl didesnio krakmolo molekulės skilimo, kurio metu jis išsiskiria iš granulės į terpę (184).

Atsižvelgiant į teigiamą apdorojimo ultragarsu poveikį, šis metodas pritaikytas padidinti AVK kiekį; kukurūzų krakmolo AVK kiekis padidėjo iki 6,2 % po 16 min apdorojant UG (185). Ding, Luo ir Lin (186) nustatė, kad apdorojimas UG palengvino AVK susidarymą, dėl kurio atsirado virškinimą slopinančių savybių.

1.4. Ryžių malimo šalutinių produktų panaudojimas maisto produktų mitybinei vertei pagerinti ir augalų substratų funkcionalumui padidinti

1.4.1. Ryžių malimo šalutinių produktų panaudojimas funkcinį maisto produktų gamybai

Funkciniai maisto produktai sulaukia didelio susidomėjimo dėl jų poveikio mitybai, saugai ir sveikatai. O štai grūdų perdirbimo šalutiniai produktai, kurie savo sudėtyje turi vertingų komponentų, tokių kaip maistinės skaidulos, baltymai, mineralai ir antioksidantai, šaltinis, yra perspektyvūs ir naudingi komponentai maisto

ir farmacijos pramonei. Grūdų ir vaisių/uogų perdirbimo šalutinių produktų pavertimas į vertingus maisto priedus apima naujausius augalinių medžiagų perdirbimo pasiekimus pagal tvarumo principus.

RP savo sudėtyje turi funkcinį komponentų, kurie suteikia maisto produktams pridėtinę vertę (187). Polifenoliai, būdami galimi antioksidantai, apsaugo nuo įvairių patologinių būklių, susijusių su oksidaciniu stresu ir uždegimu, dėl to yra vertingi kaip maistinės medžiagos (188). Reguliarus šviežio maisto, kuriame gausu polifenolių, įtraukimas į racioną gali turėti naudingiausią poveikį ilgalaikiai nervų sistemos apsaugai, nes padidina prisitaikančią natūralią organizmų apsaugą ir moduliuoja patologinius mechanizmus, susijusius su neurodegeneracija (189, 190). RP funkcionalizavimo būdai, kurie gali paskatinti RP pagrindu pagamintų maisto produktų gamybą dideliu mastu, atitiktų pasaulinę funkcinį maisto produktų paklausą (191). Šia prasme perspektyviausias būdas naudoti bioaktyvias medžiagas kaip maisto priedą yra inkapsuliuojant ir (arba) imobilizuojant, taip pat kuriant veiksmingas tiekimo sistemas, kurios gali išspręsti vertingųjų medžiagų įsisavinimo problemą, šitaip sukuriant ypatingą naudą žmogaus organizmui.

Bioaktyviosios imobilizavimo sistemos. Tai nauja technologijos koncepcija funkcinį maisto produktų gamyboje, kai bioaktyvieji komponentai yra imobilizavimo medžiagoje arba yra imobilizuojami, norint sukurti saugų ir pasižymintį konkrečiomis savybėmis maisto produktą.

Bioaktyvieji komponentai gali būti javų ir vaisių maistinės skaidulos, taip pat uogų fenoliai, kurie yra susiję su dideliu antioksidaciniu pajėgumu ir antimikrobinu aktyvumu; taip pat AVK gali būti siūlomas kaip prebiotikas ar funkcinis ingredientas (192).

Gausūs vertingų antioksidaciniu aktyvumu pasižyminčių fenolinių junginių (fenolinių rūgščių, atsparaus virškinimui krakmolo) RP galėtų būti panaudoti kitų tarpinių pridėtinės vertės produktų gamybai. Tai ne tik sumažintų tokių atliekų srautus, bet ir prisidėtų prie taršos pramoninėmis atliekomis mažinimo problemos sprendimo. Grūdų malimo šalutiniuose produktuose esančios biologiškai veiklios medžiagos turi platų teigiamą poveikį žmogaus organizmui kaip skirtingo tipo antioksidantai, fermentų veiklos modulatoriai.

Bruknių uogos yra bioaktyviųjų junginių, tokių kaip flavanoliai ir jų dariniai, šaltinis (193). Įrodyta, kad bruknių ekstraktai pasižymi neuroprotekciniu, priešuždegiminiu (188), priešvėžiniu ir kardioprotekciniu poveikiu (194).

Taip pat moksliniais tyrimais įrodyta, kad uogų/vaisių pektinas yra potencialus prebiotikas, didinantis naudingųjų bakterijų augimą žarnyne – vertingas šalutinis produktas, kurį galima gauti iš vaisių/uogų (V/U) perdirbimo atliekų (195). Pektinas – augalinis heteropolisacharidas, sudarytas iš D-galakturono rūgšties liekanų, sujungtų α -1,4-glikozidinėmis jungtimis. Antrinės augalininkystės žaliavos turi didelį potencialą, kaip natūralių maistinių skaidulų šaltinis. Ypač atkreiptinas dėmesys į vaisių ir uogų išspaudas, kurios išlaiko žaliavų cheminės sudėties savitumus: jose yra vitaminų, skaidulų, mineralinių ir pektininių medžiagų. Šiuo atžvilgiu vaisių ir uogų išspaudų naudojimas naujų maisto produktų gamyboje, įskaitant funkcinis tikslus, yra aktualus ir atitinka dabartinės maisto mokslo tendencijas.

Prebiotinėmis savybėmis pasižyminčių funkcionalizuotų RP ir V/U veikliųjų junginių simbiotinių ryšių derinimas, kuriant naujas maisto technologijas, yra pažangi priemonė, padedanti užtikrinti maisto saugą ir su tuo susijusių rizikų valdymą. Sukurtos maisto sistemos užtikrintų tokių veikliųjų junginių funkcionalumą ir stabilumą, išlaikant antimikrobines ir antioksidacines savybes produkte.

Vadinasi, RP ir uogų išspaudų pagrindu pagamintas priimtinas kramtomojo tipo produktas, praturtintas grūdų skaidulomis ir V/U fitocheminėmis medžiagomis, gali būti įdomus funkcinis produktas masiniam vartojimui kaip nauja veikliųjų medžiagų tiekimo sistema.

Probiotiniai fermentuoti produktai. Fermentuotų maisto produktų funkcinės savybės atsiranda dėl fermentacijos metu mikroorganizmų gaminamų bioaktyviųjų metabolitų, tokių kaip vitaminai, bioaktyvieji peptidai, organinės rūgštys arba riebalų rūgštys. Naujai atrastos specifiskesnės probiotinių bakterijų padermės daro didelę įtaką imunitetui, infekcinių ligų gydymui ir daugelio šeimininko oksidacijos sukeltų sutrikimų prevencijai (196, 197). Probiotikų vartojimo pagrindinis tikslas – sustiprinti natūralią žarnyno mikroflorą.

Atsparių virškinimui angliavandenių prebiotinis poveikis taip pat kelia didelį susidomėjimą dėl poveikio imobilizuotų probiotinių ląstelių stabilumui, padidinant apsaugą ir kontroliuojant išsiskyrimą virškinimo metu (198). Simbiotinių ryšių tarp uogų fenolinių junginių, grūdų maistinių skaidulų ir antimikrobinių probiotinių mikroorganizmų derinys, kuriant naujas maisto technologijas, būtų pažangi priemonė valdant produktų saugą ir teigiamai veikiant sveikatą (199). Nutraceutinių medžiagų veiksmingumas priklauso nuo bioaktyviųjų komponentų stabilumo, biologinio aktyvumo ir biologinio prieinamumo (200). Maisto produktų, kuriuose gausu augalinės kilmės polisacharidų ir polifenolių, gamybą riboja nepakankama polisacharidų dispersija ir bioaktyviųjų fitocheminių medžiagų biologinis prieinamumas, susijęs su jų mažu tirpumu ir (arba) stabilumu. Literatūroje atkreiptas dėmesys į kietafazės ir pusiau kietafazės fermentacijos panaudojimo galimybes augalinės kilmės žaliavų komponentams modifikuoti ir bioprieinamumui didinti (201).

1.4.2. Ryžių malimo šalutinių produktų panaudojimas daržo augalų substrato komponentų gamybai

Pastaruoju metu, kai nuolat ieškoma naujų agrožaliavų įvairių bioproduktų gamybai, agropramonėje susidarantys dideli kiekiai šalutinių produktų, vertinant šiuo aspektu, turi neišnaudotą potencialą. Be to, dirvožemio biologinis ir mitybinis potencialas yra svarbūs kriterijai, siekiant pagerinti pasėlių derlių ir užtikrinti maisto saugą (202). Sodo augalų augimo reguliavimas ir aplinkos streso palengvinimas yra svarbūs veiksniai, apibūdinantys kultūrinių augalų produktyvumą.

Temperatūra, šviesa, vanduo, maistinės medžiagos ir biostimuliatoriai yra svarbiausi veiksniai, turintys įtakos augalų augimui. Dirvožemis ir vanduo yra svarbūs veiksniai augalų augimui, todėl jų būklės kontrolė ir gerinimas turi būti užtikrinti, naudojant įvairias organines maistines medžiagas, įkomponuojant jas į augalų auginimo substratus.

Šiais laikais, sparčiai tobulėjant ekologijai, vis daugiau ūkininkų siekia chemines trąšas pakeisti organinėmis medžiagomis. Organinės kilmės atliekas dažniausiai sudaro žemės ūkio, pramonės, komunalinės atliekos (203). Taikant fizines, chemines ir biologines apdorojimo technologijas kenksmingų medžiagų pašalinimui ir funkcionalizavimui, galima gauti tinkamus substratus. Atliekų apdorojimo procese naudojami mikroorganizmai, kurie patys savaime pasižymi tam tikromis augalų augimą skatinančiomis savybėmis (204).

Didėjant informacijos kiekiui apie aplinkos tvarumą, pramonės suinteresuotumas teikti novatoriškus šalutinių grūdų produktų valdymo sprendimus, pagrįstus tvariu požiūriu, sparčiai auga. Tokiu atveju galimas agrarinės pramonės atliekų perdirbimas, taikant aplinką tausojančias technologijas, pagerintų jų perdirbimo tvarumą. Organinės kilmės atliekos, kuriose yra daug vertingų maistinių medžiagų, sulauktų dar didesnio susidomėjimo dėl savo sudėtyje esančių komponentų. Medžiagos, kurios daro teigiamą įtaką augalų augimui, palankiai veikia dirvožemį ir didina išteklių panaudojimo efektyvumą (205, 206). Ekologiški pramoniniai šalutiniai produktai, kurių pagrindą sudaro javų sėlenos, gali būti naudojami kaip biotrąšos, o pagrindinės maistinės medžiagos gali būti natūralus naudingas priedas, gerinantis biologinį aktyvumą ir augalų augimą (191).

Augalų substratų komponentai, kuriuose yra medžiagų ir mikroorganizmų, skatinančių sėklų daigumą ir augalų augimo intensyvumą, padeda augalui lengviau įsisavinti naudingąsias medžiagas, padidina jų derlingumą ir kokybę. Dažniausiai tokie organinės kilmės trąšų komponentai naudojami šiltnamiuose auginamiems augalams, vaismedžiams, lauko daržovėms, gėlėms ir dekoratyviniams augalams (206).

Vienas iš tokių ekologiškų alternatyvių organinių substratų galėtų būti funkcionalizuotos RP, kurių sudėtis praturtinta maistinėmis medžiagomis ir biologiškai aktyviais junginiais. Ryžiuose gausu fenolinių rūgščių, tokių kaip ferulo, *p*-kumaro, galo ir kt. (207), kurios reikalingos augalų auginimo procesui. Apdorotos fiziniiais ar terminiais būdais RP gali būti naudojamos kaip substratas dirvožemio struktūrai pagerinti (208). Tiek kietafazė fermentacija, tiek UG taikomi RP apdorojimui, siekiant padidinti vertingųjų komponentų kiekį ir pagerinti jų ekstrakcijos efektyvumą.

Bioaktyviųjų medžiagų naudojimas augalų substrate gerina biologinį aktyvumą, šaknų augimą, augalų aprūpinimą mikroelementais. Vyksta maistinių medžiagų mainai, kurie padidina dirvožemio vandens sulaikymą (191). Fermentuoti antimikrobinėmis PRB ryžių malimo šalutiniai produktai turi daugiau nepakeičiamųjų ir sąlygiškai nepakeičiamųjų aminorūgščių (AR), kurios teigiamai veikia augalų augimą. Yra žinoma, kad AR, kuriose gausu azoto, skatina ląstelių augimą, palaiko reikiamą pH, sintetindamos kitus junginius (209). AR yra vienas pagrindinių aspektų, reguliuojančių augalų augimą, jų susidarymą ir chlorofilo sintezę.

Be to, augalų ligos yra vis didėjanti visuotinio atšilimo problema. Dirvožemyje plintantys grybeliniai patogenai yra vienas iš labiausiai paplitusių šaknų puvinį sukeliančių veiksnių, dėl kurių prarandamas žemės ūkio ir sodo augalų derlius; o tai daro įtaką šiltnamių augalų produktyvumui ir produkcijos kokybei. Pomidorų augalų

šaknų puvinys paprastai vadinamas *Fusarium* spp., tai apima šaknų užkrėtimą, kuris sukelia vytimą ir 10–80 % derliaus praradimą (210, 211). Pupelių šaknų puvinius dažniausiai sukelia *Rhizoctonia*, *Fusarium* ir *Pythium* patogenai, kurie ilgai išlieka užkrėstoje dirvoje (212).

Pastaruoju metu įrodyta, kad PRB veiksmingai kovoja su įvairiais grybeliniais ir bakteriniais fitopatogenais, taip pat mažina augalų biotinį ir abiotinį stresą (213). Fermentuotų RP ekstraktai pasižymi priešgrybeliniu poveikiu prieš atitinkamus *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp. ir *Fusarium* spp. (214), taip pat antibakterinį aktyvumą prieš *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Salmonella typhimurium* ir *Pseudomonas aeruginosa* (84).

Dėl gebėjimo gaminti organines rūgštis ir metabolitus, kurie pasižymi antimikrobinėmis savybėmis, PRB naudojamos ne tik maisto produktų konservavimui, bet ir reikšmingų teigiamų sveikatos pokyčių skatinimui (213). PRB metabolizmas fermentacijos metu padeda sumažinti kai kuriuos toksiškus ir antimitybinius faktorius, taip pat skatina biologiškai prieinamų, biologiškai aktyvių junginių gamybą (215, 216). PRB laikomos saugia technologijos dalimi, kuri nesukelia rizikos (217).

Tokius funkcionalizuotus organinius substratus, kuriuose yra augalų vystymuisi reikalingų medžiagų, galima naudoti visuose augalų auginimo etapuose, pradedant nuo sėklų apdorojimo, taip inicijuojant įvairius biocheminius ir fiziologinius pokyčius augaluose. Parenkant substratą ir jo apdorojimo būdą, svarbu nustatyti aktyviuosius komponentus ir jų poveikį augalui.

Taigi, galima teigti, kad RP galėtų būti naudojami organinių sodo augalų auginimo substrato komponentų, turinčių padidintą funkcionalumo aspektą – priešgrybelinį aktyvumą ir pagerintą mitybos potencialą, gamybai.

1.5. Literatūros apžvalgos apibendrinimas ir darbo tikslo pagrindimas

Didėjant maisto gamybos šalutinių produktų susidarymo kiekiams, jų panaudojimas tapo pasaulinį susidomėjimą pelnusia problema. Šalutinių produktų sudėtyje yra natūralių biologiškai aktyvių junginių, tokių kaip vitaminai, mineralai, riebalų rūgštys, antioksidantai, maistinės skaidulos ir probiotikai (218, 219). Todėl jie gali būti naujų funkcinių maisto produktų sudedamosios dalys. Pagal literatūros analizę ryžių malimo šalutiniai produktai – tai maisto atliekos, kuriose yra dideli kiekiai maistinių ir biologiškai aktyvių medžiagų, mažinančių neužkrečiamųjų lėtinių ligų riziką. Taigi, RP yra tvarus funkcinis ingredientas, savo sudėtyje turintis vertingų komponentų; dėl šių priežasčių RP pasirinktos tyrimo objektu, siekiant jas perdirbti ir panaudoti funkcinių maisto produktų bei daržo augalų augimą gerinančių substratų komponentų gamybai.

Literatūros apžvalgoje nagrinėjami RP apdorojimo būdai ir perdirbimo technologijos. Vieni dažniausiai taikomų būdų yra hidroterminis ir terminis žaliavos apdorojimas. Tačiau ieškoma alternatyvių būdų, kuriems reikėtų mažesnių laiko ir energijos sąnaudų; tai yra plačiai taikoma mikrobinė fermentacija, fermentinė hidrolizė ir apdorojimas ultragarsu.

Vienas iš efektyvių būdų ryžių malimo šalutinių produktų maistinės vertės ir jos komponentų funkcionalumo pagerinimui yra fermentacija PRB, todėl aktualu parinkti mikroorganizmus, efektyviai veikiančius pasirinktoje terpėje. Taip pat tikslinga atrinkti rūgščiai terpei ir temperatūrai atsparias PRB, įvertinti jų adaptacijos ir dauginimosi RP terpėje intensyvumą. Antra vertus, svarbu ištirti PRB gebėjimą RP terpėje gaminti bioaktyviomis savybėmis pasižyminčius metabolitus, tokius kaip L(+)-pieno rūgštis, taip pat įvertinti PRB ksilanolitinį, proteolitinį ir antimikrobinį aktyvumus.

Antrasis iš būdų RP funkcionalizuoti yra apdorojimas ultragarsu, kuris suteikia plačias panaudojimo galimybes. Apdorojimas ultragarsu yra netoksiškas ir saugus procesas, kurio metu, vykstant kavitacijai, gali būti sumažinta žaliavos mikrobiologinė tarša ir vykti žaliavos makrokomponentų modifikavimas. Platus ultragarso pritaikymo spektras apima gaminio juslines, maistines, funkcines savybes, prailgina tinkamumo vartoti trukmę.

Literatūrinėje apžvalgoje pagrindinis dėmesys skiriamas atspariam virškinimui krakmolui (AVK), kaip RP funkciniam komponentui, ir jo kiekio didinimui, taikant apdorojimą aukštojo dažnio ultragarsu. Didžioji dalis iki šiol atliktų tyrimų, skirtų augalinės žaliavos krakmolo modifikavimui ir kiekio padidinimui, nukreipti į grynojo krakmolo sistemas, nors krakmolas vienas, kaip toks, nėra valgomas, todėl svarbus aspektas – ištirti AVK susidarymą visoje RP matricoje, veikiant ją aukštojo dažnio ultragarsu.

Apdorojimas ultragarsu turi skirtingą poveikį mikroorganizmams, fermentams, krakmolo struktūriniais pokyčiams, todėl proceso efektyvumo užtikrinimui būtina optimizuoti apdorojimo UG parametrus, turinčius reikšmingos įtakos AVK susidarymui. AVK funkcinį ir technologinių savybių įvertinimui tikslinga nustatyti temperatūros įtaką AVK morfologinėms, fizikinėms, cheminėms ir funkcinėms savybėms, taikant šiuolaikinius analizės metodus.

Analizuojant fermentuotą RP ir apdorotą UG pritaikymo galimybes, atkreiptas dėmesys į jų biologiškai aktyvių junginių profilius, pateiktus mokslinėje literatūroje. Fitocheminės medžiagos, maistinės skaidulos ir atsparus virškinimui krakmolas – tai vienos iš pagrindinių sudedamųjų dalių, kurios moduliuoja žarnyno gleivinės imunitetą ir prevenciškai veikia prieš gaubtinės ir tiesiosios žarnos vėžio atsiradimą.

Vertinant funkcionalizuotą (fermentuotą antimikrobinėmis PRB ir apdorotą UG) RP panaudojimą funkcinio produkto prototipo gamybai, aktualu atrinkti atsparias rūgštinei terpei ir pasižyminčias antimikrobinėmis savybėmis pieno rūgšties bakterijas, taip pat parinkti augalinės kilmės stingdiklius ir tirštiklius, užtikrinančius tekstūros stabilumą, ir įvertinti produkto stabilumą laikant.

Remiantis literatūros duomenimis, RP būtų galima panaudoti organinio augalų substrato komponentų gamybos plėtrai. Šiuo aspektu svarbu įvertinti funkcionalizuotą RP ekstraktų antimikrobinį aktyvumą prieš augalų šaknų bei stiebo ligas sukeliančius patogenus ir nustatyti RP priedų poveikį augalų sėklų daigumui, daigų augimo intensyvumui bei chlorofilo susidarymui augaluose.

Apibendrinant, disertacinis darbas skirtas ištirti ryžių malimo šalutinių produktų perdirbimo į didesnės pridėtinės vertės komponentus apdorojimo ultragarsu bei

mikrobinės fermentacijos metodus ir jų panaudojimo galimybes, parenkant tinkamus procesų parametrus.

2. TYRIMŲ OBJEKTAI IR METODAI

2.1. Tyrimų objektai

Ryžių malimo šalutiniai produktai. Tiriamajame darbe naudoti ryžių malimo šalutiniai produktai (RP), gauti po rudųjų ryžių poliravimo, malimo procesų. Ši žaliava gauta iš UAB „Ustukių malūnas“ (Pasvalys, Lietuva) 2016–2021 m. laikotarpiu. Visų partijų cheminė sudėtis pateikta 2.1 lentelėje.

Pirmoji žaliavos partija (2016 m.) naudota RP žaliavos fermentabilumo skirtingomis PRB tyrimui. Eksperimentui naudota nefrakcionuota žaliava, kuri prieš eksperimentą sterilizuota autoklave (121 °C; 15 min). Bendras vidutinis mikroorganizmų skaičius po sterilizavimo nustatytas $<10^{-1}$ KSV/g.

Antroji žaliavos partija (2018 m.) naudota funkcinio produkto gamybai. Žaliava prieš eksperimentą išfrakcionuota į 3 frakcijas (sietų akučių skersmuo 200 µm, 315 µm ir 500 µm) miltelių medžiagų frakcionavimo įranga (EFL 300, *Sonic Sifter*, *Endecotts Limited*, Londonas, Jungtinė Karalystė). Funkcinio produkto gamybai pasirinkta viena iš RP frakcijų (315 µm), kurioje nustatytas didžiausias atsparaus virškinimui krakmolo kiekis (AVK 8,80 g/100 g s. m.) (g/100 g s. m.: baltymai – 14,62; riebalai – 5,66; krakmolai – 51,95; nevirškinamosios skaidulos – 26,43; pelenai – 1,35).

2.1 lentelė. Ryžių malimo šalutinių produktų cheminė sudėtis (g/100 g)

	I partija	II partija	III partija
Drėgnis	11,38 ± 0,12	10,55 ± 0,04	8,23 ± 0,26
Baltymai	8,89 ± 0,32	13,07 ± 0,62	10,29 ± 0,15
Riebalai	1,27 ± 0,32	5,06 ± 0,52	5,69 ± 0,63
Maistinės skaidulos	7,46 ± 0,96	23,64 ± 0,87	11,95 ± 0,79
Krakmolai	68,72 ± 0,36	46,47 ± 0,27	62,33 ± 0,15
Pelenai	2,28 ± 0,11	1,21 ± 0,12	1,51 ± 0,14

Trečioji žaliavos partija (2021 m.) naudota, optimizuojant apdorojimo UG sąlygas atsparaus virškinimui krakmolo (AVK) gamybai, ir biotrašų komponentų kūrimui. AVK optimizavimo eksperimentui pasirinkta 315 µm dalelių dydžio frakcija, kurioje nustatytas didesnis krakmolo kiekis, o biotrašų komponentų kūrimui naudota 500 µm dalelių dydžio frakcija (2.2 lent.).

Visi RP mėginiai eksperimento metu laikyti sandariose pakuotėse šaldiklyje –18 °C temperatūros aplinkoje.

Žaliavos cheminė sudėtis kito pagal luobelės kiekį rudųjų ryžių grūduose ir jų poliravimo lygį. Mikrobinės fermentacijos eksperimentai, atlikti su visomis žaliavos partijomis, parodė, kad cheminės sudėties skirtumai (didesni riebalų ar skaidulinių medžiagų kiekiai) neturėjo reikšmingos įtakos tiek PRB gyvybingumui, tiek analizuotų medžiagų rezultatams. AVK susidarymas, apdorojant UG, analizuotas

disertacinio darbo metu skirtingose RP partijose, priklausė ne nuo žaliavos sudėties, o tik nuo apdorojimo UG parametru.

2.2 lentelė. RP frakcijų išeiga ir jų cheminė sudėtis (g/100 g s. m.)

Dalelių dydis	Išeiga, %	Baltymai	Riebalai	Krakmolas	SK	Pelenai
500 μm	24	15,42 ± 0,08	11,14 ± 0,55	61,25 ± 0,63	10,84 ± 0,84	1,34 ± 0,82
315 μm	71	11,20 ± 0,71	5,38 ± 0,81	66,41 ± 0,51	15,12 ± 0,72	1,89 ± 0,99
200 μm	5	10,54 ± 0,36	6,34 ± 0,99	73,69 ± 0,31	8,46 ± 0,64	1,88 ± 0,73

Pieno rūgšties bakterijos (PRB). Ryžių žaliavos fermentacijai naudota vienuolika heterofermentinių PRB, gautų iš LSMU Maisto saugos ir kokybės katedros Maisto/pašarų (bio)technologijos mokslo grupės kolekcijos. PRB buvo išskirtos iš spontaniškai fermentuotų kvietinių ir ruginių raugų, identifikuotų fenotipiniais ir molekuliniais metodais (220). Kultūros apsauginėje terpėje (25 % glicerolyje) saugotos –80 °C temperatūroje šaldiklyje (*Angelantoni Platilab 110H*). Eksperimentui bakterijos atgaivintos MRS terpėje (CM 0359, *Oxoid Ltd.*, Hampšyras, Jungtinė Karalystė), laikant 48 h 30 °C temperatūros aplinkoje fakultatyvinėmis anaerobinėmis sąlygomis. Darbe naudotų PRB sąrašas pateiktas 2.3 lentelėje.

2.3 lentelė. Tyrimui naudotos pieno rūgšties bakterijos ir jų padarmės

Pieno rūgšties bakterija	Pieno rūgšties bakterijos padarmė
<i>Lactobacillus plantarum</i>	Lp135
<i>Lactobacillus plantarum</i>	Lp18
<i>Lactobacillus brevis</i>	Lb140
<i>Lactobacillus brevis</i>	Lb173
<i>Lactobacillus paracasei</i>	Lpc244
<i>Lactobacillus uvarum</i>	Lu245
<i>Lactobacillus farraginis</i>	Lf206
<i>Pediococcus acidilactici</i>	Pa236
<i>Pediococcus acidilactici</i>	Pa29
<i>Pediococcus pentosaceus</i>	Pp100
<i>Pediococcus pentosaceus</i>	Pp22

Indikatoriniai mikroorganizmai. Antigrybinio ir/ar antibakterinio PRB metabolitų poveikio įvertinimui naudoti mikroskopiniai grybai ir bakterijos, tarp kurių yra ir patogeninių mikroorganizmų (2.4 lent.), gauti iš Lietuvos agrarinių ir miškų ūkio tyrimų centro, Vytauto Didžiojo universiteto Augalų biologijos ir maisto mokslų katedros ir Kauno technologijos universiteto Cheminės technologijos fakulteto Maisto mokslo ir technologijos katedros kolekcijų.

Indikatoriniai mikroorganizmai laikyti aseptinėmis sąlygomis tamsoje 4 °C temperatūros aplinkoje. Mikroskopiniai grybai atgaivinti perkeliant jų micelį ant atitinkamos terpės: bulvių dekstrozės agaro (PDA) (*Oxoid, LTD*) (1 l: 10 g mielių ekstrakto, 20 g peptono, 20 g gliukozės ir 18 g agaro), Sabouraud dekstrozės agaro (SDA) (*Oxoid, LTD*) (1 l: 10 g peptono, 40 g gliukozės ir 15 g agaro) ar Mueller-

Hinton agaras (MHS) (1 l: 2 g mielių ekstrakto, 17,5 g rūgštinio kazeino, 1,5 g krakmolo ir 17 g agaras) (*Oxoid*, CM0405). Petri lėkštelės 7 dienas laikytos 25–30 °C temperatūros aplinkoje aerobinėmis sąlygomis, tamsoje. Konidijos po 7 dienų iš grybienos surinktos nuo PDA, SDA, MHS agaras grybų kultūrų. Tyrimui naudotos suspensijos, atitinkančios McFarland'o standartą nr. 2 ($\sim 10^6$ KSV/ml).

2.4 lentelė. Indikatoriniai mikroorganizmai

Indikatoriniai mikroorganizmai	Temperatūra	Dauginimo ir tyrimo terpės	Kolekcija
<i>Fusarium graminearum</i> C	25 °C	PDA ¹	LA ⁵
<i>Fusarium graminearum</i> D	25 °C	PDA	LA
<i>Fusarium graminearum</i> E	25 °C	PDA	LA
<i>Fusarium graminearum</i> F	25 °C	PDA	LA
<i>Fusarium graminearum</i> G	25 °C	PDA	LA
<i>Fusarium culmorum</i>	25 °C	PDA	LA
<i>Fusarium avenaceum</i>	20–25 °C	PDA	LA
<i>Fusarium nivale</i>	22 °C	PDA	LA
<i>Mucor mucedo</i>	25 °C	PDA	LA
<i>Rhizopus oryzae</i>	28–30 °C	MHS ²	LA
<i>Penicillium viridicatum</i>	25 °C	SDA	LA
<i>Penicillium spinulosum</i>	25 °C	SDA	LA
<i>Penicillium palitans</i>	25 °C	SDA	LA
<i>Alternaria alternata</i>	25 °C	SDA	LA
<i>Cladosporium herbarum</i>	18–28 °C	SDA	LA
<i>Aspergillus terreus</i>	35–40 °C	SDA	LA
<i>Aspergillus niger</i>	25 °C	SDA	LA
<i>Aspergillus versicolor</i>	22–26 °C	SDA	LA
<i>Aspergillus fumigatus</i>	25 °C	SDA	LA
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	26–30 °C	SDA	VDU ⁶
<i>Pythium volutum</i>	18–26 °C	PDA	VDU
<i>Verticillium wilt</i>	21–30 °C	MHS ³	VDU
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	37 °C	PCA ⁴	MMT ⁷
<i>Escherichia coli</i>	37 °C	PCA	MMT
<i>Bacillus cereus</i>	28–35 °C	PCA	MMT
<i>Salmonella typhimurium</i>	35–37 °C	PCA	MMT
<i>Staphylococcus aureus</i>	37 °C	PCA	MMT

¹Bulvių dekstrozės agaras (*Oxoid*, CM0139); ²Sabouraud dekstrozės agaras (*Oxoid*, CM0041); ³Mueller-Hinton agaras (*Oxoid*, CM0405); ⁴PCA (*Liofilchem srl.*, Italija); ⁵Lietuvos agrarinių ir miškų ūkio tyrimų centras; ⁶Vytauto Didžiojo universiteto Augalų biologijos ir maisto mokslų katedra; ⁷Maisto mokslo ir technologijos katedra, KTU.

Patogenai (*Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*) daugini, pernešant jų ląsteles sterilia kilpele ant nuožulnaus plate count agaras (PCA) (*Liofilchem srl.*, Italija) (1 l: 2,5 g mielių ekstrakto, 5 g triptono, 1 g gliukozės ir 9 g agaras) ir laikyti 24 h 37 °C temperatūros aplinkoje, vėliau mėgintuvėliai laikyti iki 2 mėnesių 4 °C temperatūros aplinkoje.

Visų indikatorinių mikroorganizmų ir patogenų sporų suspensijos paruošimui naudotas peptono tirpalas (100 ml vandens ištirpinta 1 g peptono ir 0,5 g NaCl). Paruoštas peptono tirpalas išpilstomas į mėgintuvėlius (po 10 ml). Mėgintuvėliai yra autoklavuojami (121 °C, 15 min). Visų indikatorinių mikroorganizmų ir patogenų sporų kiekis reguliuotas taikant *Neubauer chamber* ląstelių skaičiavimo metodą (221). Indikatorinių mikroorganizmų kiekis reguliuojamas pagal McFarland'o standartą nr. 0,5 ($\sim 10^8$ KSV/ml).

Fermentai. Fermentų preparatas *Celustar XL*, kurio sudėtyje yra celiulazinio ($\geq 20\,000$ AV/ml), ksilanazinio ($\geq 15\,000$ AV/ml), taip pat proteazinio (≥ 1500 AV/ml) aktyvumų (optimalios veikimo sąlygos pH 6,0, 50 °C) (*Dyadic International*, JAV), naudotas RP hidrolizei, kuriant augalų biotrašas.

Gamtinis ryžių krakmolai. Toks krakmolai (S-7260, *Sigma Aldrich*, Sent Luisas, Montanos valstija, JAV) naudotas kaip kontrolinis mėginys atsparaus virškinimui krakmolo fizikinių, cheminių ir morfologinių savybių palyginamajam įvertinimui.

Atsparus virškinimui krakmolai. AVK išskirtas iš ryžių pagal metodų skyriuje pateiktą schemą (2.1 pav.). Išskirtas AVK ir krakmolai liofilizuotas, išdžiovintas ir naudotas morfologinių, fizikinių, cheminių ir funkcinių savybių įvertinimui.

Bruknių uogų išspaudos. Liofilizuoti bruknių uogų (*Vaccinium vitis-idaea* L.) išspaudų milteliai (BR), gauti iš Lietuvos agrarinių ir miškų mokslų centro Sodininkystės ir daržininkystės instituto Biochemijos ir technologijos laboratorijos (Dotnuva, Lietuva), naudoti funkcionalaus produkto gamybai. Eksperimentui liofilizuotos bruknių uogos išfrakcionuotos ir pasirinkta 230 μ m dalelių dydžio frakcija (g/100 g: drėgmė – 3,9; baltymai – 7,8; riebalai – 10,69; pelenai – 1,05; maistinės skaidulos – 75,95), pH – 2,82, pektinas – 2,7 g/100 g.

RP-BR struktūros modeliavimas. Sudarytos skirtingos modelinės sistemos iš RP ir BR. RP ruošta pagal PKF aprašymą (žr. 2.3.2 poskyrį). PRB ląstelių stabilizavimui atrinktos *L. brevis* 173 ir *P. acidilactici* 236 bakterijos, jų suspensijos ruoštos pagal 2.1 poskyrį. BR priedas pridedamas, keičiant jo kiekį (10 %; 20 %; 30 %; 40 %; 50 %) nuo bendros sausųjų medžiagų masės. Mišinių struktūrizavimui taikytas apdorojimas UG mažos temperatūros aplinkoje (40 °C; 20 min; $v/m = 1,3$ W/cm²), naudojant ultragarsinę vonelę (modelis 5/1575), sujungtą su 120W-HF generatoriumi (*Meinhardt Ultraschalltechnik*, Leipcigas, Vokietija).

Po PRB stabilizavimo, natrio alginatas (10 %), ksantano derva (5 %) miltelių pavidalu įdedami į masę (skaičiuojant nuo sausųjų medžiagų masės), intensyviai maišant 30 min 35 °C temperatūroje. RP-BR mėginys su vandeniu maišomas santykiu 1:3, kai dedamas agaras, nes likęs vandens kiekis įpilamas kartu su jame ištirpintu agaru. Tam agaro milteliai tirpinti atitinkamame vandens kiekyje, pakaitinant iki 90 °C temperatūros, ir tirpalas atvėsintas iki 45 °C.

Visi mėginiai struktūrizuoti, laikant 4 °C temperatūroje 24 h.

Funkcinis maisto produktas. Funkcinio maisto produkto prototipas sukurtas iš funkcionalizuotų RP, pridedant bruknių uogų išspaudų (santykis 1:1) ir kitų komponentų. Imobilizavimui naudota PRB padėrmė *L. brevis* (Lb173). PRB

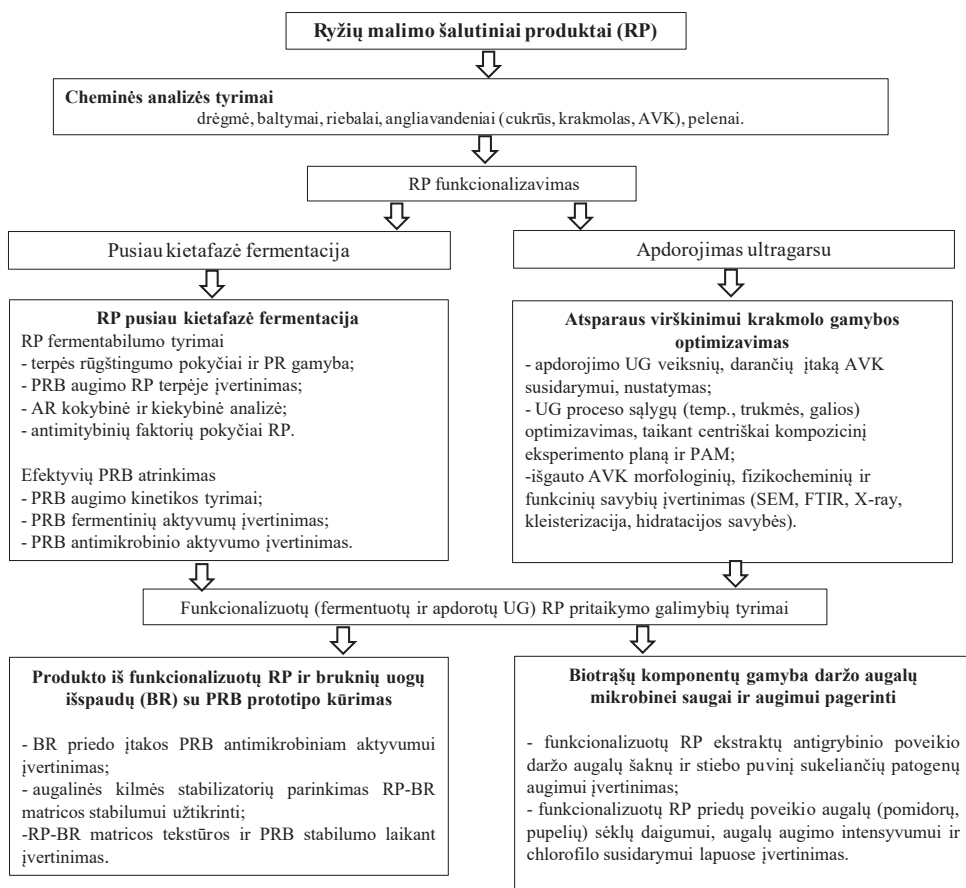
stabilizavimas vykdytas pagal metodų skyriuje nurodytą procedūrą (žr. 2.5.1 poskyrį). Produkto receptūra sumodeliuota pagal šį principą. Liofilizuoti fermentuoti ir apdoroti ultragarsu RP mėginiai sumaišyti su bruknių uogų išspaudomis (BR), santykiu 50/50, pridėjus atitinkamus stingdiklius ir tirštiklius. Masė formuojama silikono formelėse, struktūrizuojama 24 h, laikant 4 °C temperatūros aplinkoje, šaldytuve, sandariai uždarytuose maišeliuose.

Daržo augalai. Kuriant ryžių malimo šalutinių produktų funkcionalizuotus biotrasų komponentus daržo augalų ligų prevencijai ir augimo intensyvumui pagerinti, pasirinktos veislės „Aura“ sodo pupelės (*Phaseolus vulgaris* L.) ir veislės „Promyk“ valgomieji pomidorai (*Solanum lycopersicum* L.), kurių sėklos įsigytos iš UAB „Agrofirma“ (Kaunas, Lietuva).

RP ekstraktai. RP žaliava apdorota skirtingais būdais (žr. 2.6 posk.). Gauti ekstraktai liofilizuoti ir naudoti kaip daržo augalų auginimo substrato (DAS) priedas atliekant eksperimentus su augalais vazonėliuose, taip pat kaip dirvožemio priedas atliekant šiltnamio eksperimentą.

Stingdikliai. Ryžių malimo šalutinių produktų-bruknių uogų matricos gelinei tekstūrai išgauti naudoti augalinės kilmės polisacharidai: ksantano derva (*R&D Laboratories Ltd.*, Antrimas, Jungtinė Karalystė), natrio alginatas iš *Merck* (*Merck KgaA*, Darmštatas, Vokietija) ir agaras (*Agar agar*, Alvo) įsigytas vietiniame prekybos centre.

Pagrindinės eksperimento tyrimų kryptys pateiktos 2.1 pav.



2.1 pav. Pagrindinės eksperimentinių tyrimų kryptys

2.2. Cheminių reagentų sąrašas

Kjeldalio tabletės (*Thompson & Capper Ltd.*, Jungtinė Karalystė), L/D-pieno rūgšties nustatymo testas K-DLATE 07/14 (*Megazyme Int.*, Viklou, Airija), skaidulinių medžiagų nustatymo testas K-TDFR-100A (*Megazyme Int.*, Viklou, Airija), krakmolo nustatymo testas K-RSTAR (*Megazyme Int.*, Viklou, Airija), pektino nustatymo testas K-PECID (*Megazyme Int.*, Viklou, Airija), amilozės ir amilopektino nustatymo testas K-AMYL (*Megazyme Int.*, Viklou, Airija), atsparaus virškinimui krakmolo nustatymo testas K-RSTAR (*Megazyme Int.*, Viklou, Airija), TRIS ($\geq 99,9\%$, *Sigma-Aldrich*, Vokietija), glicinas ($\geq 99,0\%$, *Sigma-Aldrich*, Vokietija), kazeinas (*Sigma-Aldrich*, Vokietija), pepsinas (*Sigma-Aldrich*, Vokietija), tulžies druska (*Sigma-Aldrich*, Vokietija), natrio kalio tartaras ($\geq 99,0\%$, *Sigma-Aldrich*, Vokietija), kalio dihidrofosfatas ($\geq 99,0\%$, *Sigma-Aldrich*, Vokietija), dikalio hidrofosfatas ($\geq 99,0\%$, *Sigma-Aldrich*, Vokietija), natrio fosfatas ($\geq 99,0\%$, *Sigma-Aldrich*, Vokietija), acetonitrilas (HPLC, *Penta*, Čekija), metanolis (HPLC, *Macron*, ES), dietileteris ($\geq 99,8\%$, *Sigma-Aldrich*, Vokietija), acetonas ($\geq 99,0\%$, *Sigma-*

Aldrich, Vokietija), dimetilsulfoksidas (99,5 %, *Sigma Aldrich*, Vokietija), amonio geležies (III) sulfato dodekahidratas ($\geq 99,0$ %, *Sigma Aldrich*, Vokietija) ir 6-benzilaminopurinas (analitinis standartas) gauti iš UAB „Labochema LT“ (Vilnius, Lietuva).

NaCl ($\geq 99,5$ %, *Reachem s. r. o.*, Slovakija), NaOH ($\geq 99,9$ %, *Reachem s. r. o.*, Slovakija), KOH ($\geq 99,9$ %, *Reachem s. r. o.*, Slovakija), Na₂CO₃ ($\geq 99,99$ %, *Reachem s. r. o.*, Slovakija), (D-gliukozė ($\geq 99,5$ %, *Sigma-Aldrich*, Vokietija), fosforo rūgštis (85,0 %), druskos rūgštis (37,0 %), sieros rūgštis ($\geq 98,0$ %), ledinė acto rūgštis, skruzdžių rūgštis (50,0 %), orto-fosforo rūgštis (85,0 %), citrinų rūgštis 1-hidratas, natrio acetatas 3-hidratas ($\geq 99,0$ %), kalio dihidrofosfatas (≥ 99 %) ir butanolis-2 (≥ 99 %) gauti iš UAB „Eurochemicals“ (Vilnius, Lietuva).

MRS broth with tween 80 terpė (*Biolife*, Italija), PCA terpė (*Liofilchem s. r. l.*, Italija), PDA terpė (*Liofilchem s. r. l.*, Italija), SDA terpė (*Oxoid*, LTD), MHS terpė (*Oxoid*, CM0405) ir peptonas (*Liofilchem s. r. l.*, Italija) gauti iš UAB „Biometrija“ (Vilnius, Lietuva).

3,5-dinitrosalicilo rūgštis (98,0 %, *Sigma-Aldrich*, Vokietija), Folin-Ciocalteu's reagentas (2 N, *Sigma-Aldrich*, Vokietija) gauti iš UAB „Bioeksma“ (Vilnius, Lietuva).

Etanolis (96,6 %) gautas iš AB „MV Group Production“ (Kaunas, Lietuva).

2.3. Tyrimų metodai

2.3.1. Cheminės sudėties įvertinimo metodai

Drėgmės kiekis žaliavoje nustatytas pagal LST ISO 712:2010 metodą, džiovinant mėginį 105 °C temperatūros aplinkoje iki pastovaus svorio.

Bendras baltymų kiekis nustatytas Kjeldalio metodu, pagal LST ISO 20483:2007 standartą. Bendras baltymų kiekis apskaičiuotas gautą azoto kiekį dauginant iš koeficiento ryžiams 5,95.

Riebalų kiekis nustatytas išdžiovintą iki pastovaus svorio mėginį ekstrahuojant heksanu 3 h Soksleto aparate pagal LST 136:1984.

Krakmolo kiekis nustatytas pagal *Megazyme* K-RSTAR testą (*Megazyme Int.*, Viklou, Airija).

Redukuojantieji sacharidai nustatyti spektrofotometriniu metodu, naudojant 3,5-dinitrosalicilo rūgšties reagentą (DNS) (222).

Bendras skaidulinių medžiagų kiekis nustatytas pagal AOAC 985.29 metodą.

Pelenų kiekis nustatytas pagal AOAC 942.05 metodą, deginant mėginį mufelinėje krosnyje 550 °C temperatūroje.

Angliavandenių kiekis nustatytas ir apskaičiuotas pagal formulę:

Angliavandeniai, % = 100 – drėgnis, % – baltymai, % – riebalai,
% – mineralinės medžiagos, % (2.1).

Kokybinis pektino nustatymas uogų išspaudose atliktas metodu, pagrįstu pektino ekstrakcija citrinos rūgštimi, naudojant *Megazyme Pectin Identification assay kit* testą (223). Mėginys ekstrahuotas 0,5 N citrinos rūgštimi (pH = 2) 75 min 70 °C temperatūros aplinkoje. Pektinas išgautas iš mėginio ekstrakto, nusodinant 95 %

etanoliu. Gautos nuosėdos išdžiovintos 65 °C temperatūros aplinkoje iki pastovios masės, pektino kiekis išreikštas procentais nuo išspaudų s. m. masės.

2.3.2. Ryžių malimo šalutinių produktų fermentabilumo tyrimo metodai

Bakterijų tolerancijos rūgščiai terpei įvertinimas. Bakterijų rūšių gebėjimas išgyventi mažo pH sąlygomis įvertintas, nustatant jų gyvybingų ląstelių skaičių po išlaikymo 3 h 37 °C MRS terpėje, parūgštintoje iki pH = 2,5 1 M HCl tirpalu. Pastoviais intervalais (0 h; 1 h; 2 h; 3 h) imtas 0,1 ml mėginys, kuriame nustatytas bakterijų skaičius. Skiediniai 10^{-4} – 10^{-8} po 100 µl pasėti ant MRS agaro Petri lėkštelėse, atliekant tris lygiagrečius sėjimus, ir inkubuoti 48 h 30 °C temperatūros aplinkoje. Gyvybingų ląstelių skaičius išreikštas kolonijas sudarančių vienetų (KSV) skaičiaus dešimtainiu logaritmu viename mililitre terpės ($\log_{10}$ KSV/ml).

Temperatūros įtaka bakterijų augimo RP terpėje kinetikai. Bakterijų biomasės augimo kinetikai įvertinti atliktas PRB skaičiaus nustatymas pradiniu momentu, po 6 h ir kas 12 h visu fermentacijos (72 h) laikotarpiu (iš viso 8 kartus). Bakterijų augimas RP terpėje vertintas pastovios 30 °C ir 37 °C temperatūros aplinkoje. PRB skaičius nustatytas pagal pieno rūgšties bakterijų skaičiaus nustatymo metodą (p. 42) ir išreikštas $\log_{10}$ KSV/g. Bakterijų augimo kinetikoje analizuotos skirtingos bakterijų augimo fazės: lėtoji, stacionarioji ir žūties fazės. Savitasis biomasės augimo (SBA) greitis apskaičiuotas pagal bakterijų kiekio ($\log_{10}$ KSV/g) pokytį per laiko vienetą (h).

Pusiau kietafazė fermentacija. RP pusiau kietafazė fermentacija (PKF) vykdyta, sumaišius sterilizuotas RP ir distiliuotą sterilizuotą vandenį santykiu 1:3 (drėgnis – 68 %), po to pridėdant 2 % (*m/v*) atitinkamos grynos PRB kultūros, ruoštos pagal 2.1 poskyrį. Mėginiai trimis pakartojimais fermentuoti 72 h 30 °C temperatūros aplinkoje aerobinėmis sąlygomis (buteliukuose su užsukamu kamščiu, termostate). Pradiniu momentu ir kas 12 h paimti (iš viso 72 h laikotarpiu) mėginiai pH, BTR, pieno rūgšties kiekiui, aminorūgščių profiliui ir bakterijų skaičiui įvertinti.

Terpės pH ir titruojamojo rūgštingumo įvertinimas. Fermentuotų mėginių pH vertės išmatuotos tiesiogiai pH elektrodu (PP-15, Sartorius, Vokietija). Bendras titruojamasis rūgštingumas (BTR) nustatytas pagal LST 1553:1998. BTR išreikštas 1 N NaOH kiekiu (ml), reikalingu neutralizuoti organines rūgštis, esančias 100 g mėginio. Kiekvienas mėginys analizuotas du kartus.

Pieno rūgšties bakterijų skaičiaus nustatymas. Pieno rūgšties bakterijų skaičius nustatytas pagal LST EN ISO 6887-1:2017. Analizei paimta 10 g mėginio ir sumaišyta su 90 ml fiziologinio tirpalo (9 g NaCl/l). Atlikus atitinkamus mėginio praskiedimus, atrinkti 10^{-6} – 10^{-9} skiediniai (po 1 ml) įpilti į dvi Petri lėkštes, po to pilta 15–20 ml sterilizuotos (121 °C, 15 min) ir atvėsintos iki 45 °C temperatūros MRS agaro terpės. Skiedinys išmaišytas su terpe sukamaisiais ir vertikaliais bei horizontaliais judesiais. Sustingus terpei, apverstos lėkštelės laikytos 72 h 30 °C termostate anaerobinėmis sąlygomis. Vertinimui atrinktos lėkštelės, kuriose mikroorganizmų kolonijų skaičius sudaro nuo 10 vnt. iki 300 vnt. Kolonijas sudarančių vienetų skaičius (KSV) 1 ml (arba g) produkto apskaičiuotas pagal formulę:

$$N = \frac{\sum C}{V \times [n_1 + (0,1 \times n_2)] \times d} \quad (2.2);$$

čia: $\sum C$ – kolonijų, suskaičiuotų visose neatmestose lėkštelėse iš dviejų vienas po kito einančių vertinamų skiedimų, suma; V – užsėto skiedinio tūris lėkštelėje, ml; n_1 – pirmojo skiedinio vertinamų lėkštelių skaičius; n_2 – antrojo skiedinio vertinamų lėkštelių skaičius; d – pirmojo vertinamo skiedinio skiedimo koeficientas.

Pieno rūgšties ir L-/D-izomerų kiekio nustatymas. Bendras pieno rūgšties (PR) kiekis ir pieno rūgšties L- ir D-PR izomerų koncentracijos fermentuotuose mėginiuose nustatytos naudojant *Megazyme K-DLATE* rinkinį (*Megazyme Int.*, Viklou, Airija). Analizei ruoštas mėginio ekstraktas; homogeniškas mėginys (10 g) centrifuguotas (4500 aps/min, 20 min), gauto centrifugato 1 ml praskiesta iki 100 ml distiliuotu vandeniu.

Mėginiai katalizuojant D-laktato dehidrogenazei ir esant nikotinamido – adenino dinukleotidui, vyksta D(–) PR izomero oksidacija iki piruvato. Antrosios reakcijos metu, katalizuojant D-glutamato-piruvato transaminazei, iš piruvato ir D-glutamato susidaro D-alaninas ir 2-oksigliutaratas. Abiejų reakcijų metu susidaręs nikotinamido – adenino dinukleotido kiekis yra proporcingas D(–)-pieno rūgšties izomero kiekiui ir yra nustatomas išmatavus tirpalų optinius tankius spektrofotometru (*Genesys 10 UV-Vis*, *Thermo Scientific*, Vokietija), esant 340 nm bangos ilgiui. Tokios pat reakcijos vyksta ir nustatant L(+)-pieno rūgšties izomero kiekį, tik jas katalizuoja L-laktato dehidrogenazė ir D-glutamato-piruvato transaminazė. Gautos absorbcijos vertės naudotos L(+) bei D(–)-pieno rūgšties izomerų ir bendro PR kiekiams apskaičiuoti (g/l ekstrakto) ir perskaičiuoti į g/100 g žaliavos (medžiagos koncentracija mėginyje 333 g/l). Kiekvienas mėginys analizuotas du kartus pagal gamintojo instrukcijas.

Aminorūgščių chromatografinė analizė. Aminorūgščių (AR) kiekybinė ir kokybinė analizė atlikta ultraefektyviaja skysčių chromatografija (UESC) su fluorescencijos detektoriumi, naudojant įrenginį *SHIMADZU Prominence LC20AD* (*Shimadzu Corp.*, Japonija), kuriame yra fluorescencinis detektorius ir integratorius, leidžiantis išmatuoti smailių plotus. Analizė atlikta Maisto institute, Kaune. Naudota atvirkštinių fazių (RP tipo) UESC kolonėlė, *YMC-Triart C18* nejudamoji fazė, kurios dalelės yra 3 µm skersmens; ilgis 150 mm; vidinis skersmuo 3 mm; prieškolonė RP C18.

Analizei naudoti 36 h fermentuoti atitinkamai PRB ir RP mėginiai. Mėginys (1 g) hidrolizuotas 7,5 ml 6 M HCl, išlaikant 24 h 37 °C temperatūros aplinkoje. Po to mėginys centrifuguotas (5000 aps/min, 20 min) ir 2,5 ml centrifugato praskiesta distiliuotu vandeniu iki 10 ml, o 1 ml tirpalo filtruota pro 0,45 µm PVDF filtrą.

UESC analizės procedūros judančiosios fazės tekėjimo greitis – 0,5 ml/min; injekcijos tūris – 1 µl; kolonėlės temperatūra – 45 °C; detektoriaus matavimo bangos ilgis – 450 nm ir 305 nm; eliuavimas – gradientinis, judančioji fazė *A* ir *B* (1,46 min – 11; 10,46 min – 13; 16,46 min – 31; 23,96 min – 37; 31,46 min – 70; 31,49 min – 100; 40,46 min – 100; 40,49 min – 11 pagal tūrį).

Analitinės sąlygos: mobilioji fazė – tirpiklis *A* (20 mmol/l kalio fosfato buferis (pH = 6,5), tirpiklis *B* (45/40/15 acetonitrilas/metanolis/vanduo); srauto greitis – 0,8 ml/min, kolonėlės temperatūra – 35 °C; aptikimas: RF-20Axs Ex, esant 350 nm, Em, esant 450 nm, iki Ex, esant 266 nm, Em, esant 305 nm (9,0 min).

Metodo linijiškumas įvertintas taikant amino rūgščių etaloninio tirpalo koncentracijas nuo 10 μmol/l iki 200 μmol/l. Tiesiškumui įvertinti apskaičiuotas koreliacijos koeficientas (R^2). Vertinant rezultatų atsikartojimą, apskaičiuota santykinė standartinė paklaida.

2.3.3. Antigrybinio ir fermentinio aktyvumų tyrimo metodai

Fermentinių aktyvumų nustatymas. PRB ksilanazinis ir proteazinis aktyvumai vertinti RP terpėje 60 h fermentacijos laikotarpiu. Mėginio ekstraktai ruošti, maišant 30 min magnetine maišykle 10 g homogeniško mėginio su 30 ml 0,1 M acetatinio buferio (pH = 4,5) (ksilanazės aktyvumui) arba 50 mM kalio fosfato buferio (pH = 7,5) (proteazės aktyvumui), po to centrifuguojant (4500 aps/min, 20 min). Gauti ekstraktai naudoti atitinkamo fermentinio aktyvumo nustatymui.

Proteolitinis aktyvumas nustatytas spektrofotometrinio metodu pagal *Sigma-Aldrich* nespecifinio proteazės aktyvumo tyrimo metodiką, naudojant substratą 0,65 % kazeiną (224).

Ksilanazės aktyvumas nustatytas kalorimetriniu metodu pagal redukuojančiųjų cukrų pokyčius reakcijos mišinyje, naudojant 3,5-dinitrosalicilo rūgšties reagentą (222). Reakcijos mišinį (tūris 1 ml) sudaro 200 μl atitinkamo RP ekstrakto/50 μl substrato (0,5 % beržo ksilano) ir 750 ml acetatinio buferio (0,1 M; pH = 4,5). Mišinys inkubuotas 30 min 40 °C temperatūros vandens vonioje su purtykle. Po inkubacijos analogiškai reakcijos mišinio ir DNS reagento kiekiai (po 500 μl) sumaišomi, įpilama 1 ml distiliuoto vandens ir gautas mišinys kaitinamas 100 °C temperatūros vandens vonioje 5 min. Po to mėginys atvėsinaamas, skiedžiamas šaltu distiliuotu vandeniu iki 5 ml ir spektrofotometru matuojama tirpalo absorbcija ($\lambda = 540$ nm). Lygiagrečiai tirti du kontroliniai mėginiai: mėginys tik su RP ekstraktu ($A_{\text{ekstr.}}$) ir mėginys tik su substratu ($A_{\text{substr.}}$). Eksperimentas kartotas tris kartus, vidutinė absorbcijos vertė taikyta redukuojančiųjų sacharidų kiekiui apskaičiuoti. Redukuojančiųjų sacharidų kiekiui nustatyti sudaryta absorbcijos verčių priklausomybė nuo ksilozės koncentracijos tirpale. Kreivės polinkio kampo vertė taikyta fermentų aktyvumui apskaičiuoti. Vienas ksilanazės aktyvumo vienetas išreikštas fermento kiekiu, reikalingu atskelti 1 μmol ksilozės ekvivalento per minutę iš beržo ksilano (0,5 %) reakcijos sąlygomis (pH = 4,5, 40 °C).

Antigrybinio ir antimikrobinio aktyvumo įvertinimas difuzijos į agarą metodu. PRB metabolitų antigrybinis ir antimikrobinis aktyvumas fermentuotų RP terpėje prieš indikatorinius mikroorganizmus nustatytas difuzijos į agarą (225) ir disko difuzijos į agarą metodais (226).

Koncentruoto PRB kultūros filtrato paruošimui bakterijos dauginamos 24 h MRS terpėje optimalioje temperatūroje (30–35 °C). Bakterinės ląstelės atskirtos centrifuguojant (4500 aps/min, 20 min, 5 °C), gautas supernatantas filtruotas pro

sterilų 0,45 µm PVDF filtrą (*Merck*, Vokietija) ir padalintas į du submėginius. Viena dalis mėginių filtrato neutralizuota 5 M NaOH tirpalu iki pH = 6,5.

Antigrybinio aktyvumo įvertinimui RP filtrato mėginiai ruošti taip: fermentuotus 24 h, 48 h, 72 h 30 °C RP mėginius centrifuguojant (4500 aps/min, 20 min), gautus centrifugatus filtruojant pro sterilų 0,45 µm PVDF filtrą (*Merck*, Vokietija). Mėginiai padalinti į du submėginius, kurių viena dalis neutralizuota 1 M NaOH tirpalu iki pH = 6,5.

Antimikrobinio aktyvumo įvertinimui RP-BR filtrato mėginiai ruošti taip: fermentuoti 24 h, 48 h 35 °C temperatūros aplinkoje, po fermentacijos centrifuguoti (12 000 aps/min, 10 min, 4 °C), gautus centrifugatus filtruojant pro sterilų 0,45 µm PVDF filtrą (*Merck*, Vokietija). Mėginiai padalinti į du submėginius, kurių viena dalis neutralizuota steriliu 2 M NaOH tirpalu iki pH = 6,4.

Antigrybiniams ir antimikrobiniams tyrimams į sterilias Petri lėkštesles išpilstytos terpės pagal atitinkamą indikatorinį mikroorganizmą, kurios pateiktos 2.4 lentelėje (25 ml); terpės paviršiuje paskleista po 100 µl kiekvieno indikatorinio mikroorganizmo suspensijos. Sustingusiam agare steriliu cilindru išpjauta po 4–5 įdubas, kurių skersmuo 6 mm. PRB kultūros filtratas, fermentuotų RP filtratas ir neutralizuotų tų pačių mėginių filtratai (100 µL) sudozuojami į kiekvieną įdubą. Taikant disko difuzijos į agarą metodą, ant agaro paviršiaus dedami sterilūs 6 mm skersmens filtravimo popieriaus diskeliai (*Oxoid Ltd.*), impregnuoti 100 µl PRB kultūros filtratu ar fermentuoto mėginio filtratu.

Taikant šiuos metodus, antigrybinis ir antimikrobinis aktyvumas prieš mikroorganizmus nustatytas po 24 h ir 48 h inkubacijos 25 °C temperatūros aplinkoje. Antigrybinis ir antimikrobinis aktyvumas įvertintas prieš mikroskopinius grybus ir bakterijas pagal skaidrios zonos (augimo slopinimo) dydį aplink įdubą, išmatuojant skaidrios zonos skersmenį (mm) horizontalia ir vertikalia kryptimis. Iš gautų duomenų apskaičiuota slopinimo zonos skersmens vidutinė vertė. Antigrybinio ir antibakterinio aktyvumumo slopinimo zonos išreikštos mm.

Tiek antigrybinio, tiek antimikrobinio aktyvumo mėginiai analizuoti tris kartus.

2.3.4. Fenolinių junginių, antioksidacinio aktyvumo ir antimonybinių faktorių tyrimo metodai

Bendro fenolinių junginių kiekio nustatymas ryžių malimo šalutiniuose produktuose. Bendras fenolinių junginių kiekis (BFJ) RP nustatytas spektrofotometrinio metodu, naudojant Folin-Ciocalteu reagentą (227). RP sausų ir fermentuotų mėginių vandeniniai ekstraktai ruošti 1 g mėginio maišant su 10 ml dist. vandens (1:10, m/v) 30 min magnetine maišykle 20 °C temperatūros aplinkoje.

Paskui mėginiai centrifuguoti 3000 aps/min 10 min 4 °C temperatūros aplinkoje. 0,5 ml mėginio ekstrakto sumaišyta su 5 ml Folin-Ciocalteu reagento (0,5 N), ir 4 ml 7,5 % Na₂CO₃ tirpalo. Reakcijos mišinys stipriai suplaktas ir inkubuotas 90 min kambario temperatūros aplinkoje, tamsoje. Po išlaikymo matuota tirpalo absorbcija, esant 765 nm bangos ilgiui. BFJ kiekis mėginio ekstrakto išreikštas galo rūgšties ekvivalentų (GAE) kiekiu 100 g žaliavos sausųjų medžiagų (GAE mg/g

s. m.). Galo rūgšties kiekis apskaičiuotas iš kalibracinės tiesės lygties ($y = 0,0105x$, $R^2 = 0,9844$). Kiekvienas tiriamasis mėginys analizuotas du kartus.

Taninų kiekio nustatymas. Analizei mėginio ekstraktas ruoštas iš 1 g RP ir 10 ml vandens, arba iš 5 g fermentuotų RP homogeniško mėginio ir 6 ml vandens, maišant mėginius 1 h magnetine maišykle kambario temperatūros aplinkoje, tada centrifuguojant (3000 aps/min, 15 min), o gautus centrifugatus filtruojant per popierinį filtrą.

Taninų kiekis Folin-Ciocalteu metodu nustatytas pagal Hirinder P. S. Makkar (228) metodiką. Gautas ekstraktas (0,02 ml) sumaišytas su 0,5 ml distiliuoto vandens, 0,25 ml 1 N Folin-Ciocalteu reagento ir 1,25 ml 7 % natrio karbonato tirpalo. Po 40 min išlaikymo išmatuota tirpalų absorbcija, esant 725 nm bangos ilgiui. Taninų kiekis mėginyje išreikštas tanino rūgšties ekvivalentų (TRE) kiekiu 100 g žaliavos sausųjų medžiagų (g/100 g s. m.).

Kalibracinei tanino rūgšties tiesei sudaryti ruošti skirtingų koncentracijų (5; 10; 15; 20 ir 25 $\mu\text{g/ml}$) vandeniniai tanino rūgšties tirpalai. Tanino rūgšties kiekis ekstrakto apskaičiuotas iš tanino rūgšties kalibracinės tiesės lygties ($y = 0,0397x$; $R^2 = 0,9962$) pagal tirpalo absorbciją.

Kondensuotųjų taninų kiekio nustatymas. Kondensuotieji taninai nustatyti pagal Hirinder P. S. Makkar metodiką butanolio-HCl-Fe metodu (229). Reakcijos mišinys sudarytas iš 0,5 ml mėginio ekstrakto, 2,9 ml butanolio-HCl (12 N) tirpalo (95:5, v/v) ir 0,1 ml geležies reagento (2 % geležies amonio sulfatas 2 N HCl tirpale). Mėgintuvėliai uždengti ir kaitinti 95 °C vandens vonioje 1 h. Po to mėginiai atvėsinti iki kambario temperatūros ir centrifuguoti (3000 aps/min, 10 min). Tirpalų absorbcija matuota, esant 550 nm bangos ilgiui. Kondensuotųjų taninų kiekis ekstrakto išreikštas katechino ekvivalentų (KE) kiekiu 100 g s. m. žaliavos.

Katechino kiekiui ekstrakto nustatyti sudaryta katechino kalibracinė tiesė ($y = 0,0011x - 0,0025$; $R^2 = 0,9873$), matuojant skirtingos koncentracijos katechino tirpalų vandeninyje (10; 25; 50; 75 ir 100 $\mu\text{g/ml}$) absorbcijas.

Tripsino inhibitorių kiekio nustatymas. Tripsino inhibitorių kiekis (TIV) RP terpėje nustatytas pagal Liu ir kt. (230) pateiktą metodiką. RP žaliavos ekstraktas ruoštas 1 g RP žaliavos maišant su 10 ml 0,01 M NaOH (pH = 9). Fermentuoto mėginio ekstraktas ruoštas 5 g fermentuoto mėginio sumaišius su 6 ml dist. vandens ir suregulavus pH iki 9, naudojant 0,1 M NaOH tirpalą. Mėginiai maišyti magnetine maišykle 1 h, po to centrifuguoti (3000 aps/min, 15 min), gauti supernatantai filtruoti per popierinį filtrą. Mėginio ekstraktas naudotas kaip inhibitoriaus tirpalas.

Tripsino aktyvumo nustatymui reakcijos mišinys, sudarytas iš 1 ml mėginio ekstrakto, 2,5 ml BAPA (6-benzilaminopurinas) tirpalo (0,4 mg/ml), laikytas 15 min 37 °C vandens vonioje. Po to, įpylus po 1 ml tripsino tirpalo (20 $\mu\text{g/ml}$), laikyta dar 15 min. Reakcija sustabdyta 0,5 ml 30 % acto rūgšties tirpalu (A_{410S}). Kiekvienam mėginiui ruoštas tuščias bandinys (su inhibitoriumi), naudojant mėginio ekstraktą, acto rūgštį pilant prieš tripsiną (A_{410SB}). Taip pat ruoštas antras tuščias bandinys (be inhibitoriaus), vietoj ekstrakto naudojant dist. Vandens (A_{410R}), ir trečias tuščias bandinys (be inhibitoriaus), acto rūgštį pilant prieš tripsiną (A_{410RB}). Mėginiai 1 h laikyti kambario temperatūros aplinkoje, tada centrifuguoti (3000 aps/min, 15 min).

Mėginių absorbcija išmatuota, esant 410 nm bangos ilgiui. Tripsino inhibitorių vienetų (TIV) kiekis, reiškiantis absorbcijos sumažėjimą 0,02 dydžiu, apskaičiuotas grame mėginio (TIV/g s. m.).

Visi fenolinių junginių ir antimitybinių faktorių tyrimai kartoti tris kartus.

Fenolinių rūgščių chromatografinė analizė. Ji atlikta ultraefektyviaja skysčių chromatografija (UESC), naudojant *Waters Acquity UPLC* sistemą (Milfordas, Masačusetso valstija, JAV), sujungtą su *MaXis 4G Q-TOF* masės spektrometru ir valdoma *HyStar* programine įranga (*Bruker Daltonic*, Bremenas, Vokietija) Farmakognozijos katedroje, LSMU. Naudota *Acquity C18* kolonėlė (1,7 μ m, 100 mm $\times$ 2,1 mm (*Waters*, Milfordas, Masačusetso valstija, JAV), esant atskyrimo temperatūrai 40 °C. Mėginys (1 g) ekstrahuotas vandeniu (10 ml), tada centrifuguotas (4500 aps/min, 15 min) ir 1 ml centrifugato praskiestas distiliuotu vandeniu iki 10 ml, 1 ml tirpalo filtruotas 0,45 μ m PVDF filtru ir analizuotas.

Mobilioji fazė, susidedanti iš tirpiklio *A* (1 % skruzdžių rūgšties itin gryname vandenyje) ir tirpiklio *B* (acetonitrilas), buvo išplauta tokia tvarka: 95 % *A* per 0,0 min; 0–5 % *B* per 0 min; 5–20 % *B* per 0–9 min; 20–50 % *B* po 9–12 min, 50–100 % *B* per 12–14 min, ir išlaikė šias sąlygas 1 min. Galiausiai pradinės sąlygos buvo vėl įvestos per 1 min ir palaikomos dar 1 min. Šie parametrai buvo tokie: 4 kV kapiliarinė įtampa; galinės plokštės pradžia 0,5 kV; džiovinimo dujų srautas 10,0 l/min; purkštuvo slėgis 2,5 baro; skenavimo diapazonas 79–2400 m/z; įpurškimo tūris 100 μ L; srautas 0,45 mL/min⁻¹.

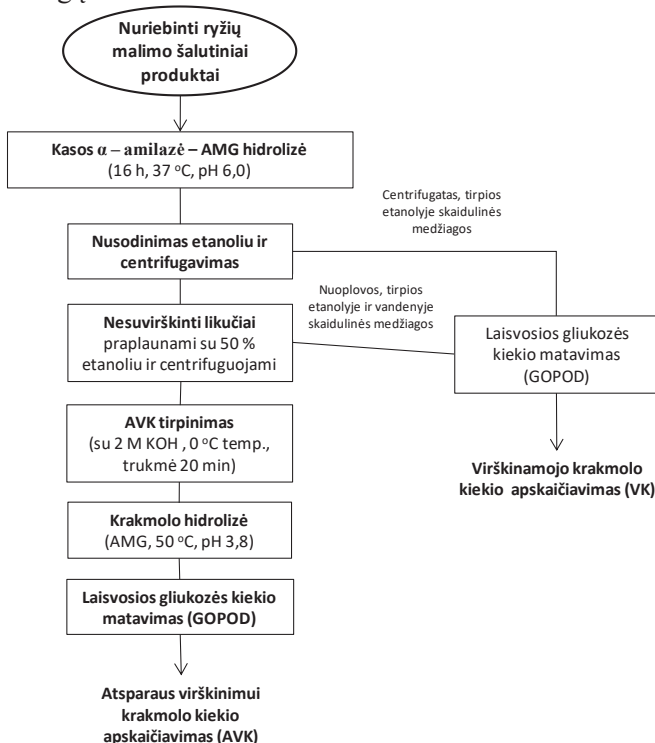
Kiekybinė analizė atlikta taikant tiriamų fenolinių junginių išorinius etalonus. Kalibravimo kreivės sudarytos naudojant šešių koncentracijų standartinius tirpalus, paruoštus UESC klasės metanolyje. Tiesiškumui įvertinti apskaičiuotas koreliacijos koeficientas (R^2). Vertinant rezultatų atsikartojimą buvo apskaičiuota santykinė standartinė paklaida. Analizuojamų junginių įvertinimų ribos: LOQ (S/N = 10) ir LOD (S/N = 3).

2.4. Krakmolo kiekybinės ir kokybinės analizės metodai

Amilozės kiekio nustatymas. Amilozės kiekis nustatytas, naudojant *Megazyme Amylose/Amylopectin* testą (*Megazyme Int.*, Viklou, Airija). Tiriamieji mėginiai suardomi, kaitinant 15 min dimetilsulfoksido (DMSO). Esantys lipidai pašalinti, nusodinant krakmolą etanolu ir atkuriant nusodintą krakmolą, ištirpinus nusodintą mėginį acetato/druskos tirpale. Amilopektinas tiksliai nusodinamas, pridėdant Con A reagento ir pašalinamas centrifuguojant. Amilozė fermentiškai hidrolizuojama iki D-gliukozės, kuri nustatoma, naudojant gliukozės oksidazės/peroksidazės reagentą (GOPOD). Amilozės koncentracija mėginyje nustatyta kaip Con A reagento, nusodinto mėginio supernatanto ir amilozės koncentracija krakmolo mėginyje, kaip GOPOD absorbcijos santykis esant 510 nm bangos ilgiui.

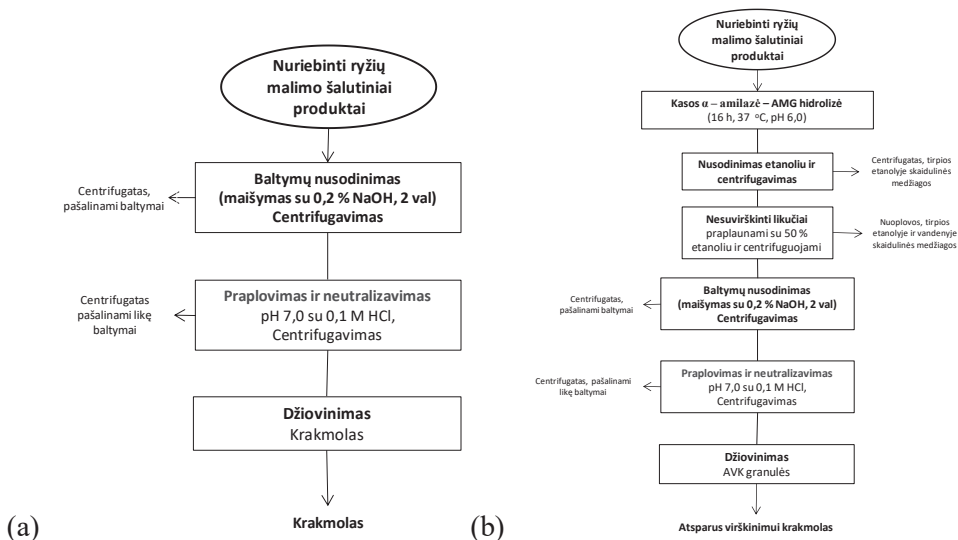
Atsparaus virškinimui krakmolo (AVK) kiekio nustatymas. AVK kiekis nustatytas naudojant *Megazyme* rinkinį K-RSTAR (*Megazyme Int.*, Viklou, Airija). Metodo esmė (2.2 pav.): RP mėginyje (100 mg $\pm$ 5 mg) esantis virškinamas krakmolą suskystinamas ir hidrolizuojamas kasos α -amilaze ir amilogliukozidaze (PAA/AMG) iki D-gliukozės, išlaikant 16 h 37 °C temperatūros aplinkoje (pH 6,0). Į

reakcijos tirpalą pilamas 95 % etanolis, iškritusios nuosėdos atskiriamos centrifuguojant (3000 aps/min, 10 min) ir du kartus plaunamos 50 % (v/v) etanoliu. Nuosėdose esantis AVK ištirpinamas 2 M KOH, intensyviai maišant ledinio vandens vonioje 20 min. Tirpalas neutralizuojamas acetato buferiu, o krakmolas kiekybiškai hidrolizuojamas į D-gliukozę su AMG. AVK kiekis mėginyje apskaičiuojamas pagal D-gliukozės kiekį, išskirtinai susidariusį po hidrolizės AMG, kuris nustatytas naudojant reagentą GOPOD. Virškinamojo krakmolo (VK) kiekis nustatytas pagal D-gliukozės kiekį (GOPOD) pradiniam centrifugate ir plovimų skystyje. AVK ir VK, taip pat bendras krakmolo kiekis ($BKK = AVK + VK$) išreikšti gramais 100 g mėginio sausų medžiagų.



2.2 pav. AVK kiekio nustatymo schema

Kraukmolo ir AVK išskyrimas iš ryžių. Kraukmolo ir AVK išskyrimo iš ryžių schemos pateiktos 2.3 pav. Išskyrimas prieš ir po skaidymo virškinimo fermentais procedūros šarminės ekstrakcijos būdu atliktas pagal Ashwar ir kt. (231). Kraukmolas išskirtas, mėginį (10 g) ir 40 ml 0,2 % NaOH maišant 2 h magnetine maišykle, po to centrifuguojant (3200 aps/min, 15 min). Ekstrahavimo procedūra kartota du kartus. Po baltymų ekstrakcijos kraukmolo nuosėdos du kartus plautos 150 ml distiliuoto vandens centrifuguojant. Išskirtas kraukmolas ir AVK liofilizuoti ir naudoti morfologinių, fizikinių, cheminių ir funkcinų savybių įvertinimui.



2.3 pav. Kraakmo (a) ir AVK (b) išskyrimo iš RP schema

2.4.1. Ryžių malimo šalutinių produktų apdorojimas ultragarsu

Pradiniai eksperimentai atlikti siekiant atrinkti pagrindinių UG proceso parametrų, kurie gali turėti įtakos AVK kiekiui RP matricoje, diapazonus. Eksperimentui RP mėginys sumaišytas su distiliuotu vandeniu santykiu 1:3 (m/v) (232). Paruoštas mėginys plastikiniame sandariai uždarytame maišelyje (mėginio storis 15 mm) apdorotas 850 kHz ultragarsu (UG), naudojant ultragarsinę didelės galios vonelę (modelis 5/1575), sujungtą su 120W-HF generatoriumi (*Meinhardt Ultraschalltechnik*, Leipcigas, Vokietija). Mėginiai apdoroti skirtingos temperatūros aplinkoje (30–70 °C), skirtingu trukmės intervalu (15–35 min) ir pritaikant 50 % intensyvumo apdorojimą ultragarsu. Po apdorojimo ultragarsu kiekvienas mėginys išlaikytas 24 h 4 °C temperatūros aplinkoje, šaldytuve. Tada mėginiai išdžiovinami 50 °C konvekciniu būdu iki pastovaus svorio ir juose nustatytas AVK kiekis pagal 2.4 poskyryje Aprašytą metodiką. Kiekvienas eksperimentas kartotas keturis kartus.

2.4.2. Eksperimento plano sudarymas ir proceso optimizavimas

Paviršiaus atsako metodas (PAM) ir centrinis kompozicinis eksperimento planas (CEP) taikyti, siekiant optimizuoti UG apdorojimo sąlygas AVK gamybai padidinti, įvertinant pasirinktų nepriklausomųjų kintamųjų poveikį: temperatūros (T , °C), apdorojimo trukmės (t , min) ir UG galios (P , W/cm²). Tyrimų planą sudaro 20 eksperimentų su šešiais centrinio taško pakartojimais, atlikti atsitiktine tvarka su keturiais pakartojimais. Remiantis eksperimentiniais duomenimis sudarytas matematinis modelis, kurio determinacijos koeficientas >80 %. UG apdorojimo sąlygų optimizavimas atliktas taikant PAM metodą. Vertintas AVK kiekis (dY , g/100 g s. m.), papildomai susidaręs, veikiant ryžių žaliavą ultragarsu, lyginant su pradiniu kiekiu žaliavoje. Rezultatai analizuoti, naudojant *Design-Expert vers.*

13.0.1.0 programinę įrangą (*StatEase Inc.*, Mineapolis, Minesotos valstija, JAV). Modelio tinkamumas įvertintas, atliekant eksperimentinių duomenų dispersinę analizę (ANOVA), taikant tinkamumo patvirtinimo koeficientą ir Fišerio kriterijų (*F*).

2.4.3. Išskirto atsparaus virškinimui krakmolo fizikinių, cheminių ir technologinių savybių tyrimo metodai

Vandens ir aliejaus absorbcijos geba. Krakmolo vandens įgėrimo indeksas (VII) ir aliejaus įgėrimo indeksas (AII) nustatyti pagal Ahmado ir kt. (233) pateiktą metodiką su tam tikrais pakeitimais. Tyrimui 0,5 g liofilizuoto krakmolo sumaišyti mėgintuvėlyje su 6 ml distiliuoto vandens ar rapsų aliejaus. Po purtymo 1 h 37 °C vandens vonioje, skysta frakcija atsargiai pašalinama centrifuguojant (2000 aps/min, 15 min). Šlapios nuosėdos pasvertos, o vandens / aliejaus įgėrimo indeksas išreikštas įgerto vandens / aliejaus kiekiu procentais nuo pradinės (sausos) mėginio masės (g/g).

Tirpumas vandenyje ir brinkimo galia. Krakmolo tirpumas vandenyje (TV) ir brinkimo galia (BG) nustatyti pagal Li ir kt. (234) su tam tikrais pakeitimais. Krakmolo mėginys (0,5 g) (K) mėgintuvėlyje sumaišytas su distiliuotu vandeniu (5 ml) ir inkubuotas 30 min 30 °C vandens vonioje, nuolat purtant (50 rpm). Tada centrifuguotas (3500 aps/min, 20 min). Gautos šlapios nuosėdos pasvertos (K_d), o centrifugatas išdžiovintas 105 °C aplinkoje iki pastovios masės (S). Tirpumas vandenyje ir brinkimo galia apskaičiuoti pagal formules:

$$TV (\%) = S \times 100 / K \quad (2.3);$$

$$BG (\%) = (K_d \times 100) / [K (100 - S)] \quad (2.4);$$

čia *S* – išdžiovinto centrifugato masė (g), K_d – drėgnų nuosėdų masė (g), o *K* – pradinė mėginio masė (g).

Minimalios gelio susidarymo koncentracijos nustatymas. Minimali gelio susidarymo koncentracija (MGK) nustatyta, analizuojant įvairių koncentracijų krakmolo suspensijos gebėjimą sudaryti gelį po kaitinimo ir aušinimo. Eksperimentui mėgintuvėliai su 5 ml 2–20 % krakmolo suspensijomis vandenyje kaitinti 1 h purtant purtyklėje verdančio vandens vonioje (98 °C), tada greitai atšaldyti lediniame vandenyje ir 2 h laikyti 4 °C temperatūroje. MGK laikyta ta krakmolo koncentracija, kurios sudarytas gelis po kaitinimo ir atšaldymo neiškrito arba neišslydo iš apversto mėgintuvėlio.

Krakmolo granulių morfologijos įvertinimas. Gautų krakmolo granulių morfologija kokybiškai įvertinta, naudojant skenuojantį elektroninį mikroskopą (SEM) (*Quanta 200 FEG*, FEI, JAV) Mechanikos inžinerijos ir dizaino fakulteto Laboratorijų centre, Kauno technologijos universitete. Kiekvienas miltelių pavidalo mėginys uždėtas ant lipnios juostos, pritvirtintos prie aliuminio strypo ir tiriamas, taikant didinimą 2500×

Krakmolo kristališkumo analizė. Krakmolo kristališkumas analizuotas naudojantis *D8 Advance* rentgeno spindulių difraktometru *Bruker AXS* (*Bruker*, Karlsruhe, Vokietija) Silikatų technologijos katedroje, Kauno technologijos universitete. Duomenys renkami taikant CuK_α spinduliuotę ($U = 40 \text{ kV}$ ir $I = 40 \text{ mA}$), Bragg-Brentano geometriją, naudojant 0,02 mm skylių skersmens nikelio filtrą

greito skaičiavimo detektorių *Bruker LynxEye*. Mėginiai nuskaityti 2 θ diapazone nuo 3° iki 70°, 6°/min greičiu. Santykinis kristališkumas nustatytas įvertinant sričių, esančių žemiau ir virš kreivės, atitinkančių atitinkamai amorfinės ir kristalines sritis, plotus (235). Amorfinio ploto ir bendro ploto santykis laikytas santykinu kristališkumu ir išreikštas procentais nuo bendro ploto.

Krakmolo cheminių grupių analizė. Krakmolo mėginių cheminių grupių analizė atlikta Furjė transformacijos infraraudonųjų spindulių spektroskopija (FT-IR) Polimerų chemijos ir technologijos katedroje, Kauno technologijos universitete. FT-IR spektrai užregistruoti naudojant FT-IR spektrometrą (*Frontier, PerkinElmer Inc., JAV*) su vienu atspindžio horizontaliu ATR (susilpnintas bendras atspindys) elementu, aprūpintu deimantiniu kristalu. Duomenys įrašyti nuo 4000 cm⁻¹ iki 560 cm⁻¹ su 4 cm⁻¹ skiriamąja geba.

Kleisterio susidarymas ir įvertinimas. Krakmolo kleisterizacijos temperatūra, didžiausia ir galutinė klampa analizuoti *Brabender Micro-Visco* amilografu (*Brabender GmbH, Duisburgas, Vokietija*) Polimerų chemijos ir technologijos katedroje, Kauno technologijos universitete. Kiekvieno mėginio suspensija (10 % m/m) kaitinta nuo 25 °C iki 95 °C 6,5 °C/min greičiu, 15 min išlaikyta 95 °C, atšaldyta iki 50 °C 6,5 °C/min greičiu ir išlaikyta 2 min 50 °C aplinkoje. Viso eksperimento metu mentelės sukimosi greitis buvo 250 aps/min. Mėginiai analizuoti du kartus.

2.5. Funkcinio produkto matricos tekstūros įvertinimo metodai

2.5.1. Produkto struktūros modeliavimas

Pieno ir acto rūgščių kokybinė ir kiekybinė analizė. Šiai analizei taikyta ultraefektyvioji skysčių chromatografija (angl. UHPLC), naudojant *Shimadzu LC-20AD* chromatografinę sistemą su diodų matricos detektoriumi ir *Lab Solutions* programinę įrangą (*Shimadzu Corp., Japonija*), organinių rūgščių išskyrimui naudota atvirkštinių fazių *Hydrosphere C₁₈* (150 × 4,6 I. D.) 5 μm kolonėlė (*YMC Co., Ltd., Japonija*), kurios judančioji fazė – 20 mM Na₂HPO₄ buferis (pH 2,5, pH reguliuotas su H₃PO₄), eliuento tėkmės greitis 1,0 mL/min, temperatūra 40 °C, injekcijos tūris 5 μl. UV detekcijai naudotas bangos ilgis 210 nm, analizės trukmė 30 min, minimali aptikimo riba 2 mg/l, standartinis nuokrypis <5 %. Tyrimai atlikti Farmakognozijos katedroje, LSMU.

Analizei atlikti 10 g fermentuotų RP mėginių su *L. brevis* 173 bei *P. acidilactici* 236 bakterijomis ir 30 ml distiliuoto vandens homogenizuota 2 min (9500 aps/min) ir centrifuguota (4500 aps/min; 20 min). Gauti supernatantai atskirti ir filtruoti per membraninį PVDF 0,22 μm filtrą (*Merck, Vokietija*). Surinkti filtratai naudoti chromatografinėi analizei. Etalonu naudoti standartiniai rūgščių tirpalai, paruošti ištirpinus atitinkamos rūgšties standartą (*Sigma-Aldrich, Vokietija*) distiliuotame vandenyje.

Fenolinių junginių nustatymas. Bendras fenolinių junginių (BFJ) kiekis bruknių išspaudose buvo nustatytas spektrofotometrinio Folin-Ciocalteu

metodu (193). Analizuotas metanolinis ekstraktas, paruoštas 0,4 g mėginio arba 1 g ultragarsu apdoroto mėginio sumaišius su 70 % metanolio iki 10 ml tūrio.

Mėginio ekstrakte esančių flavonoidų ir fenolio rūgščių chromatografinė analizė atlikta atvirkštinės fazės didelio efektyvumo skysčių chromatografija (RPHPLC), naudojant *Waters 2695* chromatografą su *Waters 2998* fotodiodų matricos detektoriumi (PDA) (Milfordas, JAV), Farmakognozijos katedroje, LSMU. Mėginys (0,4 g) BR miltelių buvo ištirpintas 10 ml metanolio/vandens mišinio (70:30, t/v) ir 1 ml BR ekstrakto filtruojamas per PVDF 0,22 µm filtrą (*Merck*, Vokietija) prieš chromatografinę analizę. Kiekybinei analizei naudoti tiriamų fenolinių junginių išoriniai etalonai. Kalibravimo kreivės sudarytos, naudojant šešių koncentracijų standartinius tirpalus, paruoštus UESC klasės metanolyje. Tiesiškumui įvertinti apskaičiuotas koreliacijos koeficientas (R^2). Vertinant rezultatų atsikartojamumą, apskaičiuota santykinė standartinė paklaida. Analizuojamų junginių įvertinimų ribos: LOQ (S/N = 10) ir LOD (S/N = 3).

Terpės pH įvertinimas. Funkcinio produkto mėginių pH vertės išmatuotos tiesiogiai pH elektrodu (PP-15, *Sartorius*, Vokietija). pH vertės matuotos nepdorotuose ir apdorotuose ultragarsu RP, taip pat visose skirtingose sistemose su skirtingu BR priedo kiekiu 60 valandų laikotarpiu (kas 12 h).

Pieno rūgšties bakterijų skaičiaus nustatymas. Pieno rūgšties bakterijų skaičius ir jų gyvybingumas nustatytas pagal LST EN ISO 6887-1:2017 (aprašymas p. 42). Matavimai atlikti kas 12 valandų 72 h laikotarpiu neapdorotuose ir apdorotuose ultragarsu RP.

PRB ląstelių stabilizavimo procedūra. Atrinktas RP ir BR mėginys (10 g) ir sterilus distiliuoto vandens (santykis 1:4, m/v) masė po apdorojimo UG, atvėsinta iki 30 °C ir sumaišyta su PRB ląstelėmis (48 h, 30 °C, MRS terpėje; 10⁹ KSV/ml) pagal metodiką, pateiktą p. 36 pridodant tiek, kad ląstelių kiekis vidutiniškai pagal PRB skaičiaus nustatymą (p. 42) sudarytų 10⁸ KSV/g masės. PRB stabilizuotos maišant mėginį 1 h sandariai uždengtame inde termostate su purtykle 35 °C temperatūroje, po to mėginiai inkubuoti 5 h termostate su purtykle tomis pačiomis sąlygomis.

2.5.2. Funkcinio produkto tekstūros stabilumo ir imobilizuotų pieno rūgšties bakterijų gyvybingumo laikant įvertinimo metodai

Gelio susidarymo greitis. Jis vertintas akustiniu prietaisu (MATMUO, Lietuva). Akustiniu prietaisu (klampos matuokliu) tirti RP/BR mėginiai su stingdikliais, laikant kambario temperatūroje 6 h. Akustinis prietaisas matuoja bekontakčiu būdu garso sklido atstumą, remiantis akustinio aidolokacinio signalo sklido trukme nuo ultragarsinio siųstuvo–imtuvo iki mėginio poveikio modulio viršutinės plokštumos ir atgal. Išvedus signalo sklido greičio reikšmių vidurkį, gaunamas vidutinis atstumas h (mm), kurį nukrenta kūnas analizuojamoje produkto masėje per laiko vienetą. Analizei atlikti produkto masė (30 g) po apdorojimo ultragarsu supilta į matavimo kiuvetę (skersmuo – 90 mm, aukštis – 15 mm). Matavimai atlikti, naudojant cilindrinį plieno plunžerį (30,255 g, plokštelės skersmuo – 10 mm), vieno matavimo trukmė 300 s. Mėginių tekstūra vertinta 6 h laikotarpiu kas 2 h.

Gelių tekstūros analizė. Struktūrizuotų imobilizavimo sistemų tekstūra vertinta tekstūros analizatoriumi TA.XT2i (*Stable Micro Systems*, Godalmingas, JK), naudojant 10 mm skersmens cilindrinį plunžerį (penetracijos greitis 1 mm/s, penetracijos gylis 6 mm). Analizuojamo gaminio kietumas nustatytas kaip didžiausios suspaudimo jėgos smailė. Klampumo indeksas įvertintas kaip neigiamosios jėgos smailės plotas. Kohezija nustatyta kaip didžiausia neigiamoji jėga, atitinkanti darbą, reikalingą darbiniam kūnui ištraukti iš analizuojamo gaminio.

Funkcinio produkto stabilumo laikymo metu tyrimas. Vertinant produkto tekstūros stabilumą ir PRB gyvybingumą, PR-RB mėginiai (skersmuo – 20 mm, storis – 9 mm) uždarytose plastikinėse pakuotėse laikyti skirtingos temperatūros aplinkoje (4 °C ir 18 °C) 56 dienas, kas 7 dienos nustatant imobilizuotų PRB ląstelių skaičių ir mėginio masės pokyčius procentais, lyginant su pradine mėginio mase.

2.6. Ryžių malimo šalutinių produktų panaudojimo augalų substrato komponentų gamybai tyrimo metodai

RP žaliavos apdorojimas. RP žaliavos funkcionalizavimui taikyti skirtingi būdai: 1) apdorojimas UG; 2) pusiau kietafazė fermentacija (PKF) ir 3) kombinuota procedūra (UG + fermentinė hidrolizė). Analizuoti mėginiai: kontrolinis mėginys – neapdorotos RP_{NE} (RP); RP_{UG} – RP apdorotos UG (20 min, 40 °C, 1,6 W/cm²; m/v santykis 1:4), RP_{UG+FH} – RP apdorotos UG ir hidrolizuotos *Cellustar XL* (60 min; 50 °C; pH 6, m/v santykis 1:4, 400 CU/100 g); RP_F – RP fermentuotos 36 h 30 °C aplinkoje, naudojant 2 % grynos PRB (Lb173, Lu245, Pa29) kultūros, m/v santykis 1:4).

Visi mėginiai ruošti tris kartus, liofilizuoti ir naudoti kaip daržo augalų substrato (DAS) priedas, atliekant eksperimentus su augalais vazonėliuose, taip pat, kaip dirvožemio transplantacijos mišinio (TDM) priedas šiltnamio eksperimente.

Augalų auginimo procedūra. Eksperimentas atliktas Vytauto Didžiojo universiteto Augalų biologijos ir maisto mokslų institute. Eksperimentui atrinktos „Aura“ veislės pupelės (*Phaseolus vulgaris* L.) ir „Promyk“ veislės valgomieji pomidorai (*Solanum lycopersicum* L.). Eksperimento metu vertintas augalų sėklų daigumas, taip pat augalų augimo intensyvumas pagal ūglių bei šaknų pokyčius auginimo metu. Augalai auginami plastikiniuose vazonėliuose, naudojant 0,5 litro komercinio DAS. Sėklos buvo sėjamos tiesiai į substratą be priedų arba pridedant iš anksto apdorotų RP (10 % nuo substrato masės). Eksperimentas atliktas su 8 pupelių ir 16 pomidorų augalais su kiekvienu atitinkamu RP priedu. Pupelių ir pomidorų daigai po 21 augimo dienos buvo perkelti į TDM. Augalai buvo auginami šiltnamyje kontroliuojamomis sąlygomis (25 °C temperatūra, 50–60 % oro drėgmė), laistant vandeniu iš čiaupo.

Sėklų daigumo ir augalų augimo efektyvumo įvertinimas. Pomidorų ir pupelių augalų augimo efektyvumas nustatytas pagal Ranal ir de Santana (236). Sėklų sudygimo dažnis, šaknų ilgis ir ūglių aukštis matuoti kas 7 dienas 42 dienų laikotarpiu pupelėms ir 56 dienų laikotarpiu pomidorams. Daigumo dažnis išreikštas sudygusių sėklų procentine dalimi nuo bendro sėklų skaičiaus, naudotų sodinimo eksperimente. Eksperimentinių daigų aukštis matuotas nuo substrato pagrindo taško iki sodinuko

viršūnės, o šaknų ilgis – ilgiausios šaknies ilgis, pasibaigus auginimo laikotarpiui šiltnamyje. Atliktas trijų augalų, atrinktų atsitiktine tvarka, augimo parametrų įvertinimas.

Chlorofilo nustatymas. Chlorofilo kiekis augalų lapuose išmatuotas po 42 dienų auginimo pagal Costache ir kt. metodiką (237) su tam tikrais pakeitimais. Chlorofilui (Chl) nustatyti šviežia augalinė medžiaga homogenizuota (*IKA Ultra-Turrax T-25*, Vokietija). Iš homogenizuotos masės (100 mg) Chl ekstrahuotas 100 % acetonu santykiu 1:50 (m/v) sandariai uždarytuose vamzdeliuose. Po centrifugavimo (3000×g; 10 min), atliktas Chl A ir Chl B kiekio įvertinimas spektrofotometrinio metodu, matuojant tirpalų absorbciją, naudojant, atitinkamai 662 nm ir 645 nm bangos ilgius. Chl kiekis buvo apskaičiuotas pagal toliau pateiktas lygtis (237). Visi mėginiai analizuoti tris kartus:

$$\text{Chl A} = 11,75 \times A_{662} - 2,350 \times A_{645} \quad (2.5);$$

$$\text{Chl B} = 18,61 \times A_{645} - 3,960 \times A_{662} \quad (2.6).$$

Statistinė duomenų analizė. Visi atlikti tyrimai kartoti mažiausiai po tris kartus. Gautų rezultatų vidutinės vertės ir standartinio nuokrypio vertės apskaičiuotos, naudojant *Microsoft Excel* programinį paketą, rezultatai pavaizduoti grafiškai. Statistinė duomenų analizė atlikta, naudojant SPSS programinę įrangą (ver. 27.0, IBM, JAV). Reikšmingi skirtumai tarp vidurkių buvo įvertinti, taikant vieno veiksnio dispersinę analizę (ANOVA) su $p < 0,05$ reikšmingumo lygiu.

3. TYRIMŲ REZULTATAI IR JŲ APITARIMAS

3.1. Ryžių malimo šalutinių produktų fermentabilumo ir metabolitų bioaktyvumo įvertinimas

3.1.1. Kai kurių *Lactobacillus spp.* ir *Pediococcus spp.* padermių augimo kinetikos ir gyvybingumo ryžių malimo šalutinių produktų terpėje įvertinimas

Pagrindiniai mikroorganizmų kultūrų atrankos grūdinės kilmės substratų fermentacijai kriterijai yra pageidaujamos technologinės ir maistinės savybės, tokios kaip bakterijų biomasės augimas, terpės rūgštėjimo greitis ir bioaktyviųjų junginių sintezė (95). Bakterijų gebėjimas augti grūdų perdirbimo šalutinių produktų substratuose be priedų ir gyvybingumas laikant yra svarbūs kuriamų produktų technologinėms ir funkcinėms savybėms.

Šiame skyriuje vertintas rudųjų ryžių malimo šalutinių produktų, kaip fermentacijos substrato gebėjimas palaikyti įvairių PRB augimą, nepridedant hidrolizinių fermentų ar maistinių medžiagų, pagal rūgštingumo pokyčius, L- ir D-pieno rūgšties susidarymą, metabolitų, pasižyminčių ksilanaziniu ir proteaziniu aktyvumu, kurie yra svarbūs baltymų ir skaidulinių medžiagų skaidymui, susidarymą, taip pat metabolitų, pasižyminčių antigrybiniu ir antibakteriniu aktyvumu, gamybą. Tyrime naudota 11 PRB rūšių [*Lactobacillus plantarum* (Lp18 ir Lp135), *Lactobacillus brevis* (Lb140 ir Lb173), *Pediococcus pentosaceus* (Pp22 ir Pp100), *Pediococcus acidilactici* (Pa236 ir Pa29), *Lactobacillus paracasei* (Lpc244),

Lactobacillus uvarum (Lu245), *Lactobacillus farraginis* (Lf206)] išskirtų iš spontaniškai fermentuotų kvietinių ir ruginių raugų (2.3 lent.).

PRB atsparumo rūgštinei terpei įvertinimas. PRB rūšių tolerancija rūgštinėms sąlygoms ir temperatūrai yra svarbūs kriterijai, siekiant jas panaudoti kaip probiotines kultūras įvairiuose maisto produktų gamybos procesuose (238). PRB laikomos toleruojančios rūgštinės sąlygas, jei gyvybingų ląstelių skaičius išlieka didesnis nei 10^6 KSV/g po 3 val. išlaikymo pH = 2,5 terpėje, tai atitinka maisto virškinimo skrandyje sąlygas ir trukmę (239). Be to, PRB rūšių gebėjimas fermentuoti pagrindinius substrate esančius angliavandenius galėtų būti vienas jų atrankos kriterijų, kadangi tai padidintų energijos šaltinių prieinamumą ir prisidėtų prie efektyvaus terpės pH sumažėjimo bei metabolitų gamybos.

Tyrimas parodė, kad po išlaikymo 3 h pH = 2,5 terpėje, analizuotų PRB gyvybingumas sudarė 32,4–88,6 %, tai priklausė nuo rūšies (3.1 lent.). Nustatyta, kad *Lactobacillus* spp. Bakterijos yra labiau atsparios rūgštinei terpei, palyginus su *Pediococcus* spp. Bakterijomis: didžiausią išgyvenamumą (vidutiniškai 88,4 %) parodė Lpc244 ir Lf206, taip pat Lb140 ir Lb173 (atitinkamai 81,4 % ir 82,2 %). Mažiausiai gyvybingų ląstelių išliko Pa29 ir Pp100 padermių atveju (atitinkamai 32,4 % ir 48,6 %), o Pp22 ir Pa236 mikroorganizmai nepasižymėjo atsparumu pH = 2,5 terpėje.

3.1 lentelė. Pieno rūgšties bakterijų (PRB) atsparumas mažo pH (2,5) sąlygoms (pH = 2,5, 3 h, 37 °C)

PRB	Gyvybingų ląstelių skaičius, log ₁₀ KSV/ml				Išgyvenamumas, %
	0 h	1 h	2 h	3 h	
Lpc244	9,45 ± 0,1 ^b	9,40 ± 0,1 ^b	9,29 ± 0,3 ^b	8,37 ± 0,4 ^a	88,6
Lu245	9,04 ± 0,1 ^d	8,27 ± 0,2 ^c	7,56 ± 0,1 ^b	6,82 ± 0,1 ^a	75,4
Lf206	8,50 ± 0,2 ^b	8,46 ± 0,1 ^b	8,44 ± 0,1 ^b	7,50 ± 0,4 ^a	88,2
Lb140	8,37 ± 0,1 ^b	8,31 ± 0,3 ^b	8,17 ± 0,1 ^b	6,81 ± 0,1 ^a	81,4
Lb173	8,85 ± 0,1 ^b	8,73 ± 0,1 ^b	8,65 ± 0,2 ^b	7,27 ± 0,1 ^a	82,2
Lp18	8,87 ± 0,3 ^b	8,72 ± 0,1 ^b	8,67 ± 0,1 ^b	6,69 ± 0,2 ^a	75,4
Lp135	8,06 ± 0,2 ^c	7,65 ± 0,1 ^b	7,64 ± 0,3 ^b	5,54 ± 0,1 ^a	68,7
Pa236	7,62 ± 0,1 ^c	5,19 ± 0,2 ^b	2,86 ± 0,2 ^a	<0,5	–
Pa29	7,78 ± 0,2 ^c	5,36 ± 0,2 ^b	2,95 ± 0,1 ^a	2,52 ± 0,2 ^a	32,4
Pp22	7,31 ± 0,1 ^c	6,14 ± 0,1 ^b	3,39 ± 0,2 ^a	<0,5	–
Pp100	7,36 ± 0,1 ^d	5,59 ± 0,3 ^c	4,12 ± 0,3 ^b	3,58 ± 0,1 ^a	48,6

Duomenys eilutėse, pažymėti skirtingomis mažosiomis raidėmis, skiriasi statistškai reikšmingai ($p < 0,05$). PRB rūšys: Lpc244 – *L. paracasei*; Lu245 – *L. uvarum*; Lf206 – *L. farraginis*; Lb140, Lb173 – *L. brevis*; Lp18, Lp135 – *L. plantarum*; Pa236, Pa29 – *P. acidilactici*; Pp22, Pp100 – *P. pentosaceus*.

Atliktas tyrimas parodė, kad tolerancija rūgštinei terpei yra susijusi su PRB rūšimi. Šį faktą patvirtina skirtumai, nustatyti tarp *P. pentosaceus* ir *L. plantarum*

rūšių. Be to, anksčiau buvo įrodyta, kad *L. plantarum* bakterijos turi mažesnę gebėjimą išgyventi mažo pH sąlygomis (240). Mūsų rezultatai rodo, kad abi *L. plantarum* (Lp18 ir Lp135) padermės gali toleruoti rūgštinę terpę, tačiau reikia turėti omenyje, kad bakterijų kultūrų atsparumas maisto matricose gali skirtis nuo bandinio terpės.

Bakterijų augimas ir sacharidų pokyčiai ryžių malimo šalutinių produktų fermentacijos terpėje. Šio tyrimo rezultatai parodė, kad RP yra tinkama terpė analizuotų PRB rūšių, besiskiriančių adaptacijos laikotarpiu, augimui. Skirtingų PRB gyvybingų ląstelių skaičiaus pokyčiai 60 h fermentacijos laikotarpiu pateikti 3.2 lentelėje, o rūgštingumo pokyčiai – 3.3 paveiksle.

Vertinant analizuotų PRB augimą RP terpėje, didžiausias gyvybingų ląstelių skaičius per pirmąsias 12 h fermentacijos nustatytas Lf206 ir Lb173 mėginiuose (vidutiniškai $9,36 \log_{10}$ KSV/g), o iš pediokokų – Pp100 ($9,24 \log_{10}$ KSV/g), Pp22 ir Pa29 mėginiuose (vidutiniškai $9,14 \log_{10}$ KSV/g) (3.2 lent.). Tyrimas parodė, kad greičiausiai 12 h fermentacijos laikotarpiu RP terpėje adaptavosi visos pediokokų padermės, Lf206 ir Lb140 padermės (vidutinis ląstelių skaičiaus pokytis $1,78 \log_{10}$ KSV/g), o likusios *lactobacilli* adaptavosi šiek tiek lėčiau (ląstelių skaičiaus pokytis $0,72$ – $1,20 \log_{10}$ KSV/g) (3.2 lent.).

3.2 lentelė. Analizuotų PRB gyvybingų ląstelių skaičiaus ($\log_{10}$ KSV/g) pokyčiai RP terpėje fermentacijos metu (trukmė 60 h, temperatūra 30 °C)

PRB	Fermentuoti RP mėginiai					
	0 h	12 h	24 h	36 h	48 h	60 h
Lpc244	$8,23 \pm 0,03^c$	$8,77 \pm 0,02^b$	$8,79 \pm 0,04^b$	$8,83 \pm 0,01^b$	$9,54 \pm 0,01^a$	$9,52 \pm 0,13^a$
Lu245	$8,10 \pm 0,00^b$	$9,09 \pm 0,02^a$	$9,23 \pm 0,05^a$	$9,29 \pm 0,03^a$	$9,44 \pm 0,01^a$	$9,42 \pm 0,13^a$
Lf206	$7,50 \pm 0,11^b$	$9,39 \pm 0,02^a$	$9,41 \pm 0,04^a$	$9,44 \pm 0,03^a$	$9,49 \pm 0,01^a$	$9,47 \pm 0,11^a$
Lb140	$7,40 \pm 0,10^b$	$9,08 \pm 0,02^a$	$9,18 \pm 0,04^a$	$9,29 \pm 0,02^a$	$9,32 \pm 0,01^a$	$9,30 \pm 0,00^a$
Lb173	$7,70 \pm 0,10^b$	$9,32 \pm 0,01^a$	$9,35 \pm 0,05^a$	$9,48 \pm 0,02^a$	$9,55 \pm 0,01^a$	$9,54 \pm 0,13^a$
Lp18	$7,80 \pm 0,10^c$	$8,52 \pm 0,03^b$	$9,33 \pm 0,05^a$	$9,38 \pm 0,04^a$	$9,44 \pm 0,03^a$	$9,42 \pm 0,12^a$
Lp135	$7,26 \pm 0,05^c$	$8,44 \pm 0,02^b$	$8,56 \pm 0,04^{ab}$	$8,76 \pm 0,03^a$	$9,07 \pm 0,03^a$	$9,45 \pm 0,00^a$
Pa236	$7,20 \pm 0,11^c$	$8,92 \pm 0,02^{ab}$	$9,10 \pm 0,04^a$	$9,37 \pm 0,03^a$	$9,47 \pm 0,05^a$	$9,45 \pm 0,56^a$
Pa29	$7,20 \pm 0,01^b$	$9,15 \pm 0,02^a$	$9,19 \pm 0,03^a$	$9,21 \pm 0,03^a$	$9,28 \pm 0,00^a$	$9,25 \pm 0,11^a$
Pp22	$7,10 \pm 0,05^b$	$9,12 \pm 0,02^a$	$9,14 \pm 0,04^a$	$9,17 \pm 0,03^a$	$9,20 \pm 0,00^a$	$9,31 \pm 0,12^a$
Pp100	$7,50 \pm 0,01^c$	$9,24 \pm 0,02^{ab}$	$9,27 \pm 0,04^{ab}$	$9,28 \pm 0,03^{ab}$	$9,46 \pm 0,01^a$	$9,62 \pm 0,13^a$

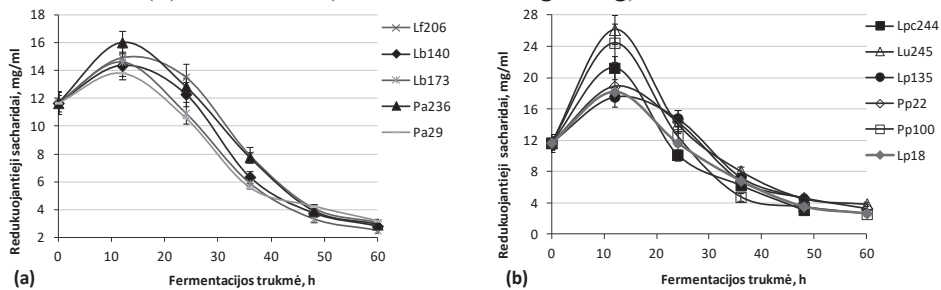
Duomenys eilutėse, pažymėti skirtingomis mažosiomis raidėmis, skiriasi statistškai reikšmingai ($p < 0,05$). PRB: Lpc244 – *L. paracasei*; Lu245 – *L. uvarum*; Lf206 – *L. farraginis*; Lb140, Lb173 – *L. brevis*; Lp18, Lp135 – *L. plantarum*; Pa236, Pa29 – *P. acidilactici*; Pp22, Pp100 – *P. pentosaceus*.

Rezultatai parodė, kad visos analizuotos PRB 12–48 h laikotarpiu išliko aktyvios ir efektyviai dauginosi RP terpėje, pasiekiant didžiausią ląstelių skaičių iki $9,48 \log_{10}$ KSV/g (Lb173) po 36 h ir iki $9,54 \log_{10}$ KSV/ml (Lpc245 ir Lb173) po 48 h fermentacijos. Didžiausias gyvybingų ląstelių skaičius po 60 h fermentacijos

nustatytas Pp100 ($9,62\log_{10}$ KSV/g), Lpc244 ir Lb173 ($9,52$ ir $9,54\log_{10}$ KSV/g) mėginuose (3.2 lent.). Pažymėtina, kad daugumai analizuotų PRB po 60 h fermentacijos nustatytas nežymus ląstelių skaičiaus mažėjimas ($0,01$ – $0,03\log_{10}$ KSV/g).

Analizuojant sacharidų suvartojimo kiekį 60 h RP pusiau kietafazės fermentacijos (PKF) metu (3.1 pav.), nustatyta, kad redukuojančiųjų sacharidų koncentracija fermentacijos terpėje pirmąsias 12 h didėjo visais atvejais, o ilgesnė fermentacija sacharidų koncentraciją tolygiai mažino. Tai rodo, kad didžioji sacharidų dalis (65,29 %), susidariusi PKF metu, veikiant PRB fermentinei sistemai, buvo sunaudota 12–36 h laikotarpiu, o sacharidų kiekis, likęs terpėje po 60 h, sudarė 3 mg/ml. Tuo galima paaiškinti ir didžiausią PR susidarymo intensyvumą 24–36 h fermentacijos laikotarpiu (3.1 pav.).

Lactobacillus spp. padermės parodė didesnę sacharidų suvartojimą, o kartu ir rūgštėjimo intensyvumą RP terpėje (3.1 pav.), taip pat intensyvesnę PR gamybą, palyginus su *Pediococcus* spp. padermėmis. Pusiau kietafazė fermentacija *L. uvarum*, *L. farraginis* ir *P. pentosaceus* bakterijomis leido padidinti L(+)-PR gamybą iki vidutiniškai 0,34 g/100 g, o štai *P. acidilactici* ir *P. pentosaceus* padermės gamino mažesnius L(+)-PR kiekius (vidutiniškai 0,32 g/100 g).



3.1 pav. Redukuojančiųjų sacharidų koncentracijos (mg gliukozės/ml terpės) pokyčiai, fermentuojant RP skirtingomis PRB: Lpc244 – *L. paracasei*; Lu245 – *L. uvarum*; Lf206 – *L. farraginis*; Lb140, Lb173 – *L. brevis*; Lp18, Lp135 – *L. plantarum*; Pa236, Pa29 – *P. acidilactici*; Pp22, Pp100 – *P. pentosaceus*

Temperatūros įtaka bakterijų augimo RP terpėje kinetikai. Bakterijų dauginimosi kinetikos RP terpėje PKF metu, taikant skirtingas temperatūras, įvertinimui pasirinktos skirtingų rūšių padermės, kurios greičiausiai adaptavosi ir dauginosi RP terpėje be priedų (Lb173, Lf206, Pp100 ir Pa236).

Rezultatai parodė, kad atrinktos PRB demonstravo tipiškas augimo kreives (3.2 pav.). Biomasės susidarymas reikšmingai priklausė ($p = 0,001$) nuo PRB padermės ir fermentacijos temperatūros. Analizuojant kinetines kreives nustatyta, kad ilgiausia lėtąja faze abiem atvejais pasižymėjo Pp100 ir Lb173 padermės. Nuo 6 h fermentacijos PRB augo eksponentiškai; didžiausias savitasis biomasės augimo (SBA) greitis 30°C temperatūros aplinkoje 6–12 h laikotarpiu nustatytas Pp100 ir Lf206 padermėms (vidutiniškai $0,157\log_{10}$ KSV/g/h), o mažiausias SBA nustatytas Pa236 padermei ($0,116\log_{10}$ KSV/g/h). Stabiliumu RP terpėje pasižymėjo Pa236 ir Lb173 padermės, jų vystymosi stacionari fazė tęsėsi atitinkamai nuo 12 h iki 60 h ir

kultivavimui tinkamiausia 30 °C temperatūra ir 36 h trukmė, o iš pediokokų – Pp100 ir Lf206 padermės, kurių kultivavimui tinkamos abi analizuotos (30 °C ir 37 °C) temperatūros.

3.1.2. Pieno rūgšties gamyba ryžių malimo šalutinių produktų fermentacijos terpėje

Fermentacijos RP metu atlikta terpės rūgštingumo analizė parodė, kad PRB rūgščių sudarymo pajėgumo skirtumai gali turėti įtakos vieno pagrindinių metabolitų – pieno rūgšties (PR) ir jos izomerų (L(+)-PR ir D(–)-PR) gamybai (3.3 lent.). Tyrimo metu analizuotas PR susidarymas ir nustatytas L/D santykis, kintant pH vertėms nuo 4,80 iki 2,71 (3.3 pav.).

Eksperimento metu nustatyta, kad efektyviausiai PR gamino Lb173 ir Pa29 (atitinkamai 0,24 g/100 g žaliavos ir 0,23 g/100 g žaliavos) per pirmąsias 24 h, taip pat ši tendencija išliko ir 36 h laikotarpiu (PR susidarė atitinkamai 0,34 g/100 g žaliavos ir 0,25 g/100 g žaliavos).

Po 60 h fermentacijos daugiausia PR (0,48 g/100 g žaliavos) RP terpėje gamino Lb173, kiek mažesni PR kiekiai nustatyti fermentuojant Lp18 ir Lu245 (atitinkamai 0,41 ir 0,42 g/100 g žaliavos), o Lf206, Lb140, Pa236 ir Pp100 pagamintas PR kiekis nustatytas ribose nuo 0,36 iki 0,38 g/100 g žaliavos (3.3 lent.).

Mažesnis L-PR susidarymas pastebėtas 24 h fermentuotuose Lu245 (L/D = 0,63–1,44) ir Lp18 (L/D = 0,91–1,01) mėginiuose, taip pat 36 h fermentuotuose Lf206 (L/D = 0,52–1,20) ir Pp100 (L/D = 0,53–1,39) mėginiuose. Per pirmąsias 12 h daugiausia L(+)-PR gamino Lp135 ir Lb140 ir Pp22 padermės (L/D atitinkamai 1,49–1,79), taip pat Lb173 (L/D = 1,92). Didžiausias L-PR susidarymas užfiksuotas po 12 h fermentacijos Lb173 ir Lp135 mėginiuose (L/D atitinkamai 1,92 ir 1,79) (3.3 lent.). Remiantis gautais rezultatais, ilgesnė nei 12 h fermentacija daugeliu atvejų lėmė bendro PR kiekio padidėjimą, tačiau sumažino L(+)-PR ir padidino D(–)-PR procentinį kiekį.

Gauti rezultatai patvirtina, kad fermentacijos procesą galima kontroliuoti, pasirinkus tinkamą PRB padermę (249). Pagal Hofvendahl ir kt. (250), vyraujančio PR izomero kiekis galimai padidėja, didėjant terpės pH, bet sumažėja, didinant temperatūrą ir nekontroliuojant pH. Taniguchi ir kt. (251), atliekant nuriebintų RP sucukrinimą ir fermentaciją, nustatė, kad galima gauti nuo 0,25 g/100 g iki 0,31 g/100 g L-PR, tai priklauso nuo bakterijų padermės. Pagal Yong Wang (252), fermentuojant nuriebintas RP *Lactobacillus lactis*, PR kiekis terpėje nustatytas ribose nuo 0,53 g/100 g iki 0,94 g/100 g, jis priklauso nuo RP hidrolizato kiekio ir yra tinkamas maistinių medžiagų šaltinis L-PR gamybai.

Remiantis literatūra, PR kiekis taip pat priklauso nuo naudojamos fermentacijai *Lactobacillus* spp. bakterijos. Fermentuojant nuriebintas RP *Lb. delbrueckii*, gauta 2,8 g/100 g PR (253, 254), fermentuojant ruduosius ryžius *Lb. plantarum*, gauta 1,2 g/100 g PR (255). Juodeikienė ir bendraautoriai, naudodami kviečių sėlenų fermentacijai *L. sakei*, gavo nuo 1,95 g/100 g iki 3,81 g/100 g PR, tai priklausė nuo fermentacijos trukmės (256).

3.3 lentelė. Pieno rūgšties (PR) (g/100 g žaliavos), L-PR, D-PR izomerų gamyba ir L/D izomerų santykio kitimas, fermentuojant RP skirtingomis PRB

PRB		PR, g/100 g					
		0 h	12 h	24 h	36 h	48 h	60 h
Lpc244	PR	0,09 ± 2,01 ^d	0,18 ± 0,69 ^d	0,21 ± 2,31 ^c	0,25 ± 0,86 ^b	0,30 ± 3,16 ^c	0,30 ± 4,06 ^b
	L	0,06 ± 1,23	0,11 ± 0,86	0,13 ± 2,01	0,13 ± 1,24	0,15 ± 0,68	0,16 ± 2,14
	D	0,03 ± 0,37	0,07 ± 1,06	0,08 ± 0,92	0,12 ± 1,36	0,15 ± 0,84	0,15 ± 2,02
	L/D	1,92	1,69	1,51	1,12	1,03	1,05
Lu245	PR	0,11 ± 2,44 ^e	0,13 ± 3,12 ^c	0,19 ± 2,26 ^b	0,25 ± 2,24 ^d	0,35 ± 4,72 ^e	0,42 ± 5,73 ^f
	L	0,04 ± 0,92	0,06 ± 0,67	0,11 ± 0,68	0,12 ± 1,42	0,15 ± 2,11	0,22 ± 0,68
	D	0,07 ± 1,21	0,07 ± 0,86	0,08 ± 0,68	0,13 ± 2,35	0,20 ± 0,69	0,20 ± 0,67
	L/D	0,63	0,79	1,44	0,94	0,79	1,05
Lf206	PR	0,15 ± 1,41 ^f	0,20 ± 4,52 ^e	0,25 ± 2,16 ^e	0,29 ± 3,14 ^d	0,33 ± 4,12 ^d	0,37 ± 2,73 ^{de}
	L	0,05 ± 0,56	0,09 ± 0,68	0,13 ± 1,38	0,16 ± 1,26	0,17 ± 2,16	0,18 ± 0,87
	D	0,10 ± 0,96	0,11 ± 1,37	0,12 ± 1,24	0,13 ± 0,84	0,16 ± 0,97	0,19 ± 1,35
	L/D	0,52	0,83	1,12	1,20	1,08	0,93
Lb140	PR	0,21 ± 0,84 ^k	0,23 ± 2,13 ^f	0,26 ± 2,02 ^f	0,30 ± 1,35 ^{de}	0,32 ± 3,02 ^d	0,36 ± 4,22 ^d
	L	0,13 ± 1,02	0,14 ± 1,35	0,14 ± 0,67	0,16 ± 0,68	0,17 ± 1,21	0,19 ± 0,68
	D	0,08 ± 0,68	0,09 ± 0,67	0,12 ± 2,04	0,14 ± 0,69	0,15 ± 0,67	0,17 ± 0,84
	L/D	1,61	1,49	1,23	1,09	1,15	1,09
Lb173	PR	0,02 ± 0,67 ^a	0,09 ± 1,12 ^a	0,24 ± 3,32 ^e	0,34 ± 5,17 ^f	0,41 ± 3,72 ^g	0,48 ± 5,12 ^g
	L	0,02 ± 0,68	0,06 ± 0,75	0,15 ± 0,68	0,19 ± 2,03	0,22 ± 1,37	0,27 ± 1,36
	D	0,00 ± 0,54	0,03 ± 1,34	0,09 ± 1,17	0,15 ± 0,68	0,19 ± 2,04	0,21 ± 2,03
	L/D	4,71	1,92	1,60	1,25	1,19	1,25

3.3 lentelės tęsinys. Pieno rūgšties (PR) (g/100 g žaliavos), L-PR, D-PR izomerų gamyba ir L/D izomerų santykio kitimas, fermentuojant RP skirtingomis PRB

PRB		PR, g/100 g					
		0 h	12 h	24 h	36 h	48 h	60 h
Lp18	PR	0,23 ± 1,36 ^m	0,26 ± 2,04 ^g	0,30 ± 5,62 ^h	0,34 ± 2,33 ^g	0,37 ± 3,86 ^d	0,41 ± 5,17 ^f
	L	0,11 ± 0,54	0,12 ± 1,35	0,15 ± 2,05	0,16 ± 1,51	0,17 ± 0,87	0,17 ± 0,69
	D	0,12 ± 0,76	0,13 ± 1,27	0,15 ± 1,37	0,18 ± 1,37	0,20 ± 2,05	0,24 ± 2,13
	L/D	0,91	0,93	1,01	0,84	0,85	0,72
Lp135	PR	0,09 ± 0,68 ^d	0,18 ± 1,08 ^d	0,25 ± 3,39 ^e	0,26 ± 2,73 ^{bc}	0,29 ± 2,73 ^b	0,33 ± 5,12 ^c
	L	0,07 ± 0,34	0,11 ± 0,67	0,15 ± 0,68	0,16 ± 0,61	0,17 ± 0,74	0,20 ± 1,35
	D	0,03 ± 0,68	0,06 ± 1,37	0,10 ± 0,61	0,11 ± 0,63	0,12 ± 0,58	0,13 ± 1,08
	L/D	2,39	1,79	1,57	1,51	1,34	1,54
Pa236	PR	0,18 ± 0,69 ^h	0,23 ± 2,17 ^f	0,27 ± 3,17 ^g	0,32 ± 5,31 ^f	0,36 ± 6,01 ^e	0,38 ± 5,27 ^e
	L	0,10 ± 0,67	0,12 ± 1,35	0,15 ± 2,07	0,17 ± 1,35	0,18 ± 1,29	0,20 ± 0,68
	D	0,07 ± 0,31	0,11 ± 0,68	0,12 ± 3,37	0,15 ± 2,05	0,18 ± 1,37	0,19 ± 1,17
	L/D	1,48	1,16	1,25	1,10	1,00	1,05
Pa29	LA	0,07 ± 0,37 ^c	0,20 ± 2,07 ^e	0,23 ± 1,35 ^d	0,25 ± 2,05 ^b	0,29 ± 0,69 ^b	0,34 ± 4,41 ^c
	L	0,03 ± 0,68	0,09 ± 0,37	0,10 ± 0,69	0,11 ± 2,27	0,13 ± 0,67	0,14 ± 0,37
	D	0,03 ± 0,68	0,11 ± 1,34	0,13 ± 0,87	0,14 ± 1,33	0,16 ± 0,74	0,19 ± 1,34
	L/D	0,92	0,83	0,77	0,77	0,77	0,75
Pp22	PR	0,04 ± 1,34 ^b	0,10 ± 0,37 ^b	0,14 ± 1,21 ^a	0,15 ± 2,32 ^a	0,18 ± 1,33 ^a	0,19 ± 1,23 ^a
	L	0,02 ± 0,68	0,06 ± 0,67	0,08 ± 0,35	0,08 ± 1,37	0,09 ± 1,25	0,10 ± 0,69
	D	0,02 ± 0,54	0,04 ± 0,33	0,06 ± 0,74	0,07 ± 0,68	0,09 ± 1,05	0,09 ± 0,68
	L/D	1,16	1,76	1,30	1,22	1,04	1,06
Pp100	PR	0,16 ± 2,03 ^g	0,18 ± 0,87 ^d	0,23 ± 2,73 ^d	0,29 ± 1,35 ^d	0,32 ± 2,74 ^d	0,38 ± 2,04 ^e
	L	0,06 ± 0,56	0,07 ± 0,34	0,11 ± 0,67	0,16 ± 1,21	0,19 ± 0,67	0,20 ± 1,34
	D	0,10 ± 1,34	0,11 ± 0,69	0,12 ± 1,35	0,13 ± 0,68	0,13 ± 1,15	0,18 ± 2,05
	L/D	0,53	0,61	0,90	1,21	1,39	1,16

Duomenys stulpeliuose, pažymėti skirtingomis mažosiomis raidėmis, skiriasi statistiškai reikšmingai ($p < 0,05$). PRB: Lp244 – *L. paracasei*; Lu245 – *L. ivarum*; Lf206 – *L. farraginis*; Lb140, Lb173 – *L. brevis*; Lp18, Lp135 – *L. plantarum*; Pa236, Pa29 – *P. acidilactici*; Pp22, Pp100 – *P. pentosaceus*.

Apibendrinimas. Analizuotos PRB padermės gali būti charakterizuojamos kaip gaminančios DL-PR padermės, kuriose L(+)-PR sudarė nuo 34,2 % iki 82,5 % bendro PR kiekio, tai reikšmingai priklausė nuo PRB padermės ir fermentacijos trukmės ($F = 5294,263$, $p < 0,0001$ ir $F = 4,268$, $p = 0,012$).

3.1.3. Pieno rūgšties bakterijų ksilanolitinis ir proteolitinis aktyvumai ryžių malimo šalutinių produktų fermentacijos terpėje

Mikroorganizmai, galintys efektyviai fermentuoti žaliavas ir mažo pH sąlygomis užtikrinti didelę reikiamos stereospecifinės pieno rūgšties išeigą, yra pageidaujami pramonėje (257). Tačiau sacharidų kiekis žaliavoje yra ribojantis faktorius bakterijų augimui ir kartu metabolitų gamybai, nes sacharidai yra svarbūs PRB metaboliniam aktyvumui (258).

Vertintas efektyviausiai fermentuojančių RP žaliavą PRB (Lf206, Pa236, Lu245, Pa29, Pp100, Lb140, Lb173) endoksilanazinis bei proteazinis aktyvumai, siekiant išsiaiškinti galimą jų vaidmenį baltymų hidrolizei ir ryžių maistinių skaidulų tirpumo padidinimui. Mikroorganizmų fermentinis aktyvumas yra vienas iš kriterijų, vertinant fermentuotų RP pritaikymo galimybes probiotinių maisto produktų gamybai. PRB fermentinių aktyvumų RP terpėje analizė leidžia geriau suprasti jų vaidmenį fermentacijos procese, taip pat nustatyti konkrečias savybes, kurios gali būti svarbios, naudojant šiuos organizmus bioaktyviųjų metabolitų gamybai.

Eksperimentui atrinktų PRB ksilanolitinis aktyvumas RP terpėje 60 h fermentacijos laikotarpiu kito nuo 1,65 iki 36,48 KV/g, o proteolitinis aktyvumas – nuo 1,38 iki 13,47 PV/g, tai priklausė nuo bakterijos rūšies ir fermentacijos trukmės (3.4 lent.).

Nustatyta, kad fermentiniai aktyvumai reikšmingai priklausė ($p < 0,05$) nuo PRB rūšies ir fermentacijos trukmės. Mažiausiu proteolitininiu aktyvumu pasižymėjo Lf206 ir Pa236 atitinkamai 2,68–3,43 PV/g ir 2,01–3,52 PV/g, didžiausias proteolitinis aktyvumas nustatytas Lu245 ir Pp100 atitinkamai 2,56–11,47 PV/g ir 1,78–13,47 PV/g. Mažiausiai proteolitinis aktyvumas fermentacijos metu kito Lf206 ir Lp29 mėginiuose (atitinkamai 2,68–3,20 PV/g ir 3,26–3,68 PV/g).

24 h fermentacijos laikotarpiu PRB proteolitinis aktyvumas kito 2,39–5,68 PV/g ribose, didžiausias proteolitinis aktyvumas po 48 h nustatytas Lu245 ir Pp100 fermentuotuose RP (atitinkamai 11,47 ir 9,46 PV/g), o po 60 h fermentacijos didžiausias proteolitinis aktyvumas nustatytas Pp100 ir Lu245 mėginiuose (atitinkamai 13,47 ir 10,14 PV/g) (3.4 lent.).

Didžiausias ksilanolitinis aktyvumas nustatytas Lu245 ir Lb140 mėginiuose po 48 h fermentacijos (atitinkamai 28,15 ir 26,42 KV/g), taip pat Lb173 ir Lf206 mėginiuose po 60 h fermentacijos (atitinkamai 36,48 ir 34,83 KV/g). Mažiausiu ksilanaziniu aktyvumu pasižymėjo Pp100 ir Pa236 metabolitai (atitinkamai nuo 1,65 iki 8,63 KV/g ir nuo 2,22 iki 10,22 KV/g) visu fermentacijos laikotarpiu (3.4 lent.). Žinoma, kad didesnis PRB ksilanolitinis aktyvumas leidžia padidinti energijos šaltinių prieinamumą PRB, taip efektyviai gaminant organines rūgštis ir sumažinant terpės pH.

Fermentuotas substratas yra mikroorganizmų, gaminančių įvairius naudingus biotechnologijai fermentus, šaltinis. Fermentai, tokie kaip ksilanazės ir proteazės, yra fermentuotų produktų technologinio ir maistinio potencialo kriterijai. Šie fermentai yra naudojami maisto produktų gamyboje, siekiant pašalinti antitumorigeninius faktorius ir padidinti funkcinį junginių, tokių kaip laisvos AR ir bioaktyvių peptidų, kiekį, taip pat padidinti tirpiųjų skaidulinių medžiagų prieinamumą virškinimo fermentams (97, 98). Remiantis literatūra, ląstelių proteinazė, peptidų transportavimo sistemos ir tarpląstelinės peptidazės sudaro PRB proteolitinę sistemą, kuri hidrolizuoja baltymus į svarbius greitai mikrobų augimui peptidus ir aminorūgštis (259).

3.4 lentelė. PRB proteolitinis ir ksilanolitinis aktyvumai RP fermentacijos terpėje (60 h, 30 °C)

PRB	Proteolitinis aktyvumas, PV/g				Ksilanolitinis aktyvumas, KV/g			
	0 h	24 h	48 h	60 h	0 h	24 h	48 h	60 h
Lf206	3,20 ± 0,24 ^{EB}	3,29 ± 0,24 ^{AB}	3,43 ± 0,29 ^{BB}	2,68 ± 0,21 ^{BA}	2,16 ± 0,24 ^{CA}	12,42 ± 0,52 ^{EB}	18,55 ± 0,34 ^{DC}	34,83 ± 0,19 ^{CD}
Pa236	3,12 ± 0,51 ^{EC}	3,52 ± 0,21 ^{BD}	2,27 ± 0,11 ^{AB}	2,01 ± 0,18 ^{AA}	2,22 ± 0,21 ^{CA}	9,85 ± 0,41 ^{EC}	7,42 ± 0,23 ^{BB}	10,22 ± 0,64 ^{BD}
Lu245	2,56 ± 0,44 ^{DA}	5,68 ± 0,28 ^{DB}	11,47 ± 0,51 ^{GD}	10,14 ± 0,48 ^{EC}	1,57 ± 0,05 ^{AA}	12,78 ± 0,17 ^{EB}	28,15 ± 0,15 ^{GD}	26,32 ± 0,26 ^{EC}
Pa29	3,26 ± 0,82 ^{EA}	3,59 ± 0,12 ^{BC}	3,68 ± 0,01 ^{BC}	3,48 ± 0,15 ^{CB}	2,35 ± 0,42 ^{CA}	9,98 ± 0,32 ^{EC}	8,87 ± 0,01 ^{BB}	11,69 ± 0,24 ^{BD}
Pp100	1,78 ± 0,49 ^{BA}	3,25 ± 0,36 ^{AB}	9,46 ± 0,06 ^{FC}	13,47 ± 0,88 ^{DD}	1,65 ± 0,14 ^{AA}	6,80 ± 0,44 ^{AC}	4,46 ± 0,23 ^{AB}	8,63 ± 0,64 ^{AD}
Lb140	1,38 ± 0,42 ^{AA}	5,50 ± 0,29 ^{DD}	5,15 ± 0,19 ^{CC}	3,73 ± 0,08 ^{DB}	1,92 ± 0,11 ^{BA}	14,61 ± 0,51 ^{FB}	26,42 ± 0,82 ^{FC}	25,23 ± 0,51 ^{CC}
Lb173	2,13 ± 0,44 ^{CA}	4,51 ± 0,17 ^{CB}	7,60 ± 0,24 ^{EC}	9,72 ± 0,26 ^{ED}	2,75 ± 0,21 ^{DA}	8,32 ± 0,41 ^{BB}	11,46 ± 0,23 ^{CC}	36,48 ± 0,64 ^{CD}

Duomenys stulpeliuose, pažymėti skirtingomis mažosiomis raidėmis, ir duomenys eilutėse, pažymėti skirtingomis didžiosiomis raidėmis, skiriasi statistiškai reikšmingai ($p < 0,05$). Fermentuoti RP mėginiai: Lf206 – *L. farraginis*; Lb140, Lb173 – *L. brevis*; Lp18 – *L. plantarum*; Pa236, Pa29 – *P. acidilactici*; Pp100 – *P. pentosaceus*.

Pagal Kahlon ir Talwinder (260), stabilizuotos RP – tai unikalūs visavertis maistas, kuriame yra baltymų, vitaminų, mineralų, angliavandenių, fitocheminių medžiagų, fosfolipidų, nepakeičiamųjų riebalų rūgščių ir antioksidantų. Fermentacija atrinktais mikroorganizmais galėtų būti viena iš paprasčiausių bei pigiausių maisto konservavimo priemonių, suteikiančių fermentuotiems maisto produktams papildomą maistinę vertę ir pagerinančių juslines savybes (85).

Nepaisant fermentuotų RP funkcinio potencialo, atlikta palyginti nedaug tyrimų, analizuojant šiuos ryžių malimo šalutinius produktus kaip substratą probiotinių maisto produktų gamybai. Literatūroje pateikiami tyrimai apie daigintų ryžių, baltųjų ryžių ir sėlenų, paprastai papildytų cukrumi arba apdorotų egzogeniniais fermentais, naudojimą, siekiant efektyvinti fermentacijos procesą (261).

Apibendrinant, didžiausi aktyvumai susidarė RP terpėje po 60 h fermentacijos. *P. pentosaceus* (Pp100) padermė pasižymėjo proteolitinio aktyvumu, *L. brevis*

(Lb173) padermė ksilanolitiniu aktyvumu RP terpėje (atitinkamai 13,47 PV/g ir 36,48 KV/g).

3.1.4. Pusiau kietafazės fermentacijos įtaka aminorūgščių profiliui ryžių malimo šalutinių produktų substrate

Ryžių malimo šalutinių produktų sudėtyje yra polisacharidų, baltymų, todėl šie produktai gali būti naudojami PRB ir kaip azoto šaltinis, kuris būtinas metabolitų gamybai. Šiame skyriuje analizuota pusiau kietafazės fermentacijos įtaka nepakeičiamųjų (NAR), iš dalies nepakeičiamųjų (DNAR) ir pakeičiamųjų (PAR) aminorūgščių kiekybinei ir kokybinei sudėčiai nefermentuotų ir 36 h fermentuotų skirtingomis pieno rūgšties bakterijomis RP substrate (žr. I priedo 1 ir 2 lent.).

Bendras AR kiekis neapdorotuose RP nustatytas 82,9 g/100 g baltymų, iš kurių 32,7 % sudarė NAR ir 13,3 % šakotosios grandinės AR (leucino, izoleucino ir valino) (I priedo 1 lent.). Iš jų didžiausią kiekį sudarė LEU (5,34 g/100 g) ir LYS (5,06 g/100 g). Mažiausi kiekiai nustatyti VAL (1,92 g/100 g) bei MET (1,76 g/100 g) (I priedas).

Tarp DNAR didžiausi kiekiai nustatyti ASP ir GLU (atitinkamai 9,52 ir 7,58 g/100 g), o iš PAR daugiausia aptikta CYS (5,86 g/100 g), kitų AR kiekiai nustatyti ribose, atitinkamai nuo 4,46–4,66 g/100 g iki 2,22–3,65 g/100 g (I priedo 2 lent.).

Lyginant AR kiekius PKF mėginiuose su nefermentuotu RP mėginiu pastebėta, kad NAR ir DNAR kiekis fermentuotame substrate skyrėsi reikšmingai ($p < 0,05$) ir priklausė nuo fermentacijai naudotos bakterijų rūšies. PKF sumažino tiek NAR, tiek DNAR koncentracijas (vidutiniškai atitinkamai 45,16 % ir 73,25 %), tačiau padidino DNAR kiekį vidutiniškai 32,37 %. ILE, PHE, THR, HIS ir PRO, TYR ir ARG (I priedo 1 lent.) kiekiai sumažėjo vidutiniškai nuo 67,65 % iki 86,81 % fermentacijos metu, palyginti su AR kiekiais nefermentuotoje žaliavoje (2,91–4,37 g/100 g).

VAL, LEU, TRP, MET kiekiai padidėjo vidutiniškai 8,66–33,56 %, lyginant su AR kiekiais nefermentuotoje žaliavoje (1,76–5,34 g/100 g). Pagal Ferial ir Esmat (262), AR kiekis gali padidėti fermentacijos metu dėl substrate esančių baltymų skaidymo. Be to, kai kurių AR kiekis gali padidėti tam tikrais atvejais dėl pačių PRB gaminamų metabolitų, kurie savo sudėtyje turi atitinkamų AR. Antra vertus, kai kurių AR kiekis gali sumažėti, nes PRB biomasės augimui naudoja terpėje esančias laisvasias AR, taip pat suskaidytus baltymus ir nukleino rūgštis kaip azoto šaltinį.

AR kiekio pokyčiai siejami su PRB proteolitinių fermentų sukelta baltymų hidrolize (263). Pagal anksčiau pateiktus rezultatus, PRB proteolitinis aktyvumas 24–48 h fermentacijos laikotarpiu padidėjo vidutiniškai nuo 4,19 iki 6,15 PV/g (3.4 lent.).

Asparto ir glutamo rūgštys yra fermentų aktyvių centrų pagrindinės rūgštys, taip pat atlieka svarbų vaidmenį, palaikant baltymų tirpumą ir joninį pobūdį. Dar jos yra ne mažiau svarbios pieno rūgšties bakterijoms prisitaikant prie rūgšties aplinkos. Svarstant ir formuojant subalansuotą mitybą, reikėtų atsižvelgti į PAR profilį (264). Žmonėms, kurie suvartoja mažai baltymų, šakotos struktūros AR gali skatinti

raumenų baltymų sintezę ir, laikui bėgant, padidinti raumenų augimą. Nors substrate yra mažesnis NAR kiekis, jis didesniais kiekiais gali būti naudojamas kaip maisto ar pašarų komponentas.

Gauti rezultatai pasižymi naujumo aspektu, nes literatūroje nerasta daug informacijos apie AR pokyčius RP fermentacijos metu. WANG ir kt. (265) analizavo AR kiekius skirtingose ryžių sėlenų baltymų frakcijose, teigdami, kad tokių AR, kaip VAL, MET, LEU, PHE, ir HIS, kiekiai nustatyti reikšmingai didesni, lyginant su sojų baltymų izoliatu.

Conor ir kt. publikacijoje yra paskelbė, kad RP baltymuose gausu glutamo rūgšties, asparto rūgšties, ARG, ALA ir LEU (266). Wang, Xu, Li ir Zhang (267) pateikė RP baltymų frakcijų AR tyrimo duomenis, kurie artimi rudųjų ryžių malimo atliekų AR tyrimo duomenims, išskyrus glutamo rūgšties, VAL ir GLY, kurių kiekiai rudųjų ryžių malimo atliekose nustatyti mažesni.

Gauti rezultatai patvirtino, kad RP turi vertingų maistinių medžiagų PRB augimui ir gali būti tiesiogiai naudojami kaip substratas pusiau kietafazei fermentacijai. Pasirinkus tinkamas PRB su reikiama fermentų sistema, galima modifikuoti fermentuotų RP technologines ir funkcinės savybes. Pieno rūgšties bakterijos greitai auga tik tada, kai terpėje yra pakankamai B grupės vitaminų ir peptidų. Bakterijos gali sintetinti visas 20 proteinogeninių aminorūgščių, įskaitant devynias nepakeičiamąsias aminorūgštis, reikalingas žinduolių augimui. Apskritai fermentai, dalyvaujantys aminorūgščių biosintezėje, yra būtini bakterijų augimui ir išlikimui.

3.1.5. Antigrybinis pieno rūgšties bakterijų aktyvumas ryžių malimo šalutinių produktų fermentacijos terpėje

PRB gebėjimas gaminti organines rūgštis rodo, kad šios bakterijos gali būti panaudotos maisto pramonėje kaip natūralūs konservantai. Viena iš maisto saugos problemų yra mikroskopinių grybų paplitimas, tai yra svarbi maistinių kultūrų, maisto žaliavų ir perdirbtų maisto produktų užteršimo priežastis. Pavyzdžiui, *Fusarium* genties grybai gali užteršti mikotoksinais javų grūdus, įskaitant ruduosius ryžius ir jų malimo šalutinius produktus (93, 94). *Aspergillus* ir *Penicillium* padermės – dažni grūdų produktų patogenai, susidarantys netinkamo laikymo sąlygomis (268).

Šio tyrimo tikslas buvo išanalizuoti ryžių malimo šalutinių produktų, kaip substrato antigrybinių metabolitų gamybai, potencialą. Antigrybinis PRB aktyvumas tirtas analizuojant slopinamą poveikį indikatorinių mikroorganizmų *Aspergillus versicolor*, *A. terreus*, *A. niger*, *A. fumigatus*, *Fusarium graminearum*, *F. Nivale*, *F. Avamaceum*, *Penicillium spinulosum*, *P. viridicatum* ir *P. palitans* augimui. Rezultatai pateikti 3.5–3.6 lentelėse.

Nustatyta, kad analizuotų PRB antigrybinis aktyvumas daugeliu atvejų buvo artimas arba silpnesnis auginant RP terpėje, nei auginant MRS terpėje. Rezultatai parodė, kad Pa236 ir Lf206 filtratai vidutiniškai slopino ir lėtino *P. spinulosum* sporų susidarymą. Pp100 ir Lb173 padermės parodė vidutinį (11–12 mm) antigrybinį aktyvumą prieš *A. versicolor*. Iš kitų tirtų PRB tik Lp18 inicijavo *P. viridicatum* sporuliaciją (8 mm), taip pat Pa29 ir Lb173, Lpc244 ir Lu245 lėtino *P. spinulosum*

sporuliaciją (9 mm). Pa236, Pp22, Lb173 ir Lu245 padermės parodė fungistatinį poveikį (7–9 mm) prieš *P. palitans* augimą, o štai Pa29, Lb140, Lpc244, Lf206 slopinimo prieš *P. palitans* augimą nepastebėta.

Tik Pp100 ir Lb173 filtratai slopino *A. fumigatus*, o Lb173 – *A. versicolor*. Kitos PRB (Lb140, Lp135 ir Lf206) nesudarė slopinimo zonų prieš tirtas *Aspergillus* ir *Penicillium* padermes (3.5 lent.).

Pagal Mandal ir kt. (269), *P. acidilactici* pasižymi fungicidiniu poveikiu kviečiuose prieš *Aspergillus* ir *Penicillium* spp. mikroorganizmus. Čižeikienė ir kt. (270) nustatė, kad *P. pentosaceus* ir *P. acidilactici* padermės stabdo *A. niger* augimą ir sporuliaciją kvietinės duonos paviršiuje, taip pat *P. pentosaceus* ir *P. acidilactici* padermių supernatantai parodė stiprų antigrybinį aktyvumą prieš *A. versicolor* padermę kviečiuose (256).

Kadangi PRB antigrybinis aktyvumas dažnai siejamas su rūgščių susidarymu fermentacijos terpėje (271), papildomai tyrimas atliktas su neutralizuotais iki pH = 6,5 PRB filtratais. Šiuo atveju rezultatai parodė (3.6 lent.), kad PRB neutralizuotų filtratų antigrybinis aktyvumas buvo mažesnis nei neneutralizuotų. Silpną slopinamąjį poveikį (+) *P. spinulosum* augimui pademonstravo keturios PRB padermės, prieš *P. viridicatum* – trys padermės, prieš *P. palitans* – tik Pp22 padermė. Kalbant apie *Aspergillus* spp. slopinimą, penkių PRB padermių neutralizuoti filtratai lėtino (7 mm) *A. versicolor* ir *A. fumigatum* augimą, o pediokokai Pp100 ir Pa29, taip pat Lb173 buvo šiek tiek aktyvūs ir parodė silpną fungistatinį poveikį (7 mm) prieš 2–3 patogenus, kitų PRB neutralizuoti filtratai nesudarė slopinimo zonų.

Aplink įdubą su atitinkamu joje esančiu filtratu prieš *P. palitans* (išskyrus Pp22), *A. terreus* ir *A. niger* inhibavimo zonos nebuvo nustatytos. Remiantis literatūros duomenimis, *P. pentosaceus* ir *P. acidilactici* padermės nerodė slopinamojo poveikio *A. terreus* augimui (270).

3.5 lentelė. PRB filtratų vidutinis antigrybinis aktyvumas prieš kai kuriuos *Penicillium* ir *Aspergillus* spp. mikroorganizmus difuzijos į agarą metodu (inhibicijos zonos mm, įskaitant 6 mm įdubą)

Indikatoriniai mikro- organizmai	Filtra- tas	Pp22	Pp100	Pa29	Pa236	Lb140	Lb173	Lp1135	Lp118	Lpc244	Lu245	Lf206
<i>P. viridicatum</i>	MRS	10 ± 0,0	10 ± 0,5	7 ± 0,5	10 ± 0,0	7 ± 0,0	7 ± 0,0	7 ± 0,5	7 ± 0,0	7 ± 0,5	12 ± 0,0	8 ± 0,0
	RP	–	–	–	–	–	–	–	8 ± 0,0	–	–	–
<i>P. spinulosum</i>	MRS	–	–	7 ± 0,0	11 ± 0,0	–	9 ± 0,0	–	–	7 ± 0,0	9 ± 0,5	12 ± 0,0
	RP	–	–	9 ± 0,0	11 ± 0,0	–	9 ± 0,0	–	–	9 ± 0,0	9 ± 0,0	12 ± 0,0
<i>P. palitans</i>	MRS	7 ± 0,0	7 ± 0,5	–	7 ± 0,0	–	9 ± 0,0	7 ± 0,0	7 ± 0,0	–	9 ± 0,5	–
	RP	7 ± 0,0	–	–	7 ± 0,0	–	9 ± 0,0	–	7 ± 0,0	–	9 ± 0,0	–
<i>A. terreus</i>	MRS	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	RP	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
<i>A. versicolor</i>	MRS	7 ± 0,5	11 ± 0,5	7 ± 0,0	7 ± 0,0	7 ± 0,5	12 ± 0,0	7 ± 0,5	7 ± 0,0	7 ± 0,0	9 ± 0,5	8 ± 0,0
	RP	–	11 ± 0,5	–	–	–	12 ± 0,0	–	7 ± 0,0	–	–	–
<i>A. niger</i>	MRS	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	RP	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
<i>A. fumigatus</i>	MRS	7 ± 0,5	7 ± 0,0	7 ± 0,5	–	–	8 ± 0,0	–	7 ± 0,0	7 ± 0,0	–	9 ± 0,5
	RP	–	7 ± 0,0	–	–	–	8 ± 0,0	–	–	–	–	–

MRS – maistinė terpė, RP – ryžių malimo šalutinių produktų terpė, PRB: Lpc244 – *L. paracasei*; Lu245 – *L. uvarum*; Lf206 – *L. farraginis*; Lb140, Lb173 – *L. brevis*; Lp18, Lp135 – *L. plantarum*; Pa236, Pa29 – *P. acidilactici*; Pp22, Pp100 – *P. pentosaceus*.

3.6 lentelė. Neutralizuotų (pH = 6,5) PRB filtratų vidutinis antigrybinis aktyvumas prieš *Penicillium* ir *Aspergillus* spp. mikroorganizmus difuzijos į agarą metodu (inhibicijos zonos mm, įskaitant 6 mm įdubą)

Indikatori-niai mikro-organizmai	Filtra- tas	Pp22	Pp100	Pa29	Pa236	Lb140	Lb173	Lp1135	Lp118	Lpc244	Lu245	Lf206
<i>P. viridicatum</i>	MRS	7 ± 0,0	–	–	–	–	8 ± 0,0	8 ± 0,0	7 ± 0,5	7 ± 0,0	7 ± 0,0	–
	RP	–	–	–	–	–	8 ± 0,0	8 ± 0,0	7 ± 0,0	–	–	–
<i>P. spinulosum</i>	MRS	–	7 ± 0,0	8 ± 0,0	8 ± 0,0	–	–	–	–	7 ± 0,0	–	–
	RP	–	7 ± 0,0	8 ± 0,5	7 ± 0,0	–	–	–	–	7 ± 0,0	–	–
<i>P. palitans</i>	MRS	7 ± 0,5	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	RP	7 ± 0,0	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
<i>A. terreus</i>	MRS	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	RP	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
<i>A. versicolor</i>	MRS	–	8 ± 0,0	–	–	–	7 ± 0,0	–	–	–	8 ± 0,0	–
	RP	–	7 ± 0,0	7 ± 0,0	7 ± 0,0	7 ± 0,5	7 ± 0,0	–	7 ± 0,0	–	–	–
<i>A. niger</i>	MRS	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	RP	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
<i>A. fumigatus</i>	MRS	7 ± 0,0	7 ± 0,0	7 ± 0,0	–	–	7 ± 0,5	–	7 ± 0,0	7 ± 0,5	–	7 ± 0,5
	RP	–	7 ± 0,0	7 ± 0,0	–	7 ± 0,0	–	7 ± 0,0	–	7 ± 0,5	–	–

MRS – maistinė terpė, RP – ryžių malimo šaltinių produktų terpė; PRB: Lpc244 – *L. paracasei*; Lu245 – *L. uvarum*; Lf206 – *L. farraiginis*; Lb140, Lb173 – *L. brevis*; Lp18, Lp135 – *L. plantarum*; Pa236, Pa29 – *P. acidilactici*; Pp22, Pp100 – *P. pentosaceus*.

Penkių PRB, pasižyminčių didžiausiu antigrybiniu aktyvumu, inhibicinis poveikis prieš *P. spinulosum* ir *A. versicolor* analizuotas, taikant disko difuzijos į agarą metodą. PRB metabolitai, susidarę RP terpėje po 24 h, 48 h ir 72 h fermentacijos, parodė nevienareikšmį antigrybinį aktyvumą (3.7 lent.).

3.7 lentelė. Antigrybinis aktyvumas prieš indikatorinius mikroorganizmus, kuriuos gamina pieno rūgšties bakterijos RP terpėje disko difuzijos į agarą metodu

PRB	Augimo slopinimo zonos skersmuo, mm					
	<i>P. spinulosum</i>			<i>A. versicolor</i>		
	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
Pp100	–	–	–	–	8 ± 0,5 ^a	8 ± 0,0 ^a
Lb173	7 ± 0,0 ^c	8 ± 0,5 ^b	9 ± 0,5 ^a	7 ± 0,0 ^c	9 ± 0,0 ^b	11 ± 0,0 ^a
Lf206	9 ± 0,0 ^c	10 ± 0,0 ^b	11 ± 0,5 ^a	–	–	7 ± 0,0
Pa29	7 ± 0,5 ^a	7 ± 0,0 ^a	7 ± 0,0 ^a	–	–	–
Pa236	8 ± 0,5 ^b	9 ± 0,0 ^a	9 ± 0,0 ^a	–	–	–

Duomenys eilutėse pažymėti skirtingomis mažosiomis raidėmis skiriasi statistškai reikšmingai ($p < 0,05$). PRB: Lpc244 – *L. paracasei*; Lu245 – *L. uvarum*; Lf206 – *L. farraginis*; Lb140, Lb173 – *L. brevis*; Lp18, Lp135 – *L. plantarum*; Pa236, Pa29 – *P. acidilactici*; Pp22, Pp100 – *P. pentosaceus*.

Fermentuotų RP filtratų suformuotos slopinimo zonos skersmuo sudarė nuo 7 mm iki 11 mm. Lb173 filtratai po 48 h ir 72 h fermentacijos parodė didžiausią antigrybinį aktyvumą prieš *A. versicolor* (inhibicijos zonos atitinkamai 9 mm ir 11 mm) ir *P. spinulosum* (atitinkamai 7 mm ir 9 mm). Lf206 fermentuoti 48 h ir 72 h RP filtratai stipriai slopino *P. spinulosum* (10 mm ir 11 mm zona) augimą.

Vertinant neutralizuotų PRB filtratų antigrybinį aktyvumą prieš *Fusarium* spp. Grybus, rezultatai parodė skirtingą *F. Graminearum*, *F. Nivale* ir *F. Avenaceum* slopinimo poveikį, tačiau nė viena iš tirtų PRB nesugebėjo slopinti *F. Culmorum* augimo (3.8 lent.). Daugeliu atvejų RP terpės antigrybinis poveikis buvo artimas MRS terpės poveikiui.

Remiantis gautais rezultatais, neutralizuoti *P. pentosaceus* padermių ir Pa29 filtratai gali sulėtinti *F. Graminearum* ir *F. Avenaceum* sporų susidarymą ir slopinti *F. Nivale* grybienos augimą, o Pa236 padermė neveikė prieš *F. Avenaceum* (3.8 lent.). Iš tirtų *Lactobacilli* spp. Abi *L. plantarum* padermės sugebėjo slopinti *F. Graminearum* augimą, ir tik Lb173 sugebėjo lėtinti *F. Nivale* sporų susidarymą. Tik Lb135, *L. paracasei* ir *L. uvarum*, parodė gebėjimą slopinti tirtų grybų padermių sporų susidarymą ir augimą, išskyrus *F. Culmorum* (3.8 lent.). Apibendrinant, buvo įrodyta, kad Lb140 ir Lf206 padermės turi ribotą antigrybinį aktyvumą.

Pieno rūgšties įtaka antigrybiniam aktyvumui prieš *P. spinulosum* po 24 h fermentacijos nustatyta vidutinė koreliacija ($R^2 = 0,32$), o po 48 h fermentacijos nustatyta maža koreliacija ($R^2 = 0,09$). Vertinant skirtingų pieno rūgšties izomerų įtaką antigrybiniam aktyvumui prieš *P. spinulosum*, po 24 h fermentacijos nustatyta neigiama vidutinė koreliacija su L(+) izomeru ($R^2 = 0,21$), o su D(–) izomeru

reikšmingos koreliacijos nenustatyta. Po 48 h fermentacijos nustatyta neigiama vidutinė koreliacija su L(+) izomeru ($R^2=0,012$), o su D(-) izomeru – didelė koreliacija ($R^2=0,61$). Taigi galime teigti, kad skirtingi pieno rūgšties izomerai suteikia skirtingą antigrybinį aktyvumą fermentuotam produktui.

Remiantis literatūra, skirtingos *Lactobacillus* bakterijos, gaminančios rūgštis, gali slopinti kai kurias grybų rūšis (272), tokias kaip *Fusarium avenaceum* (273). Gerez ir kt. atliko tyrimus su *Lactobacillus* bakterijomis, kurios gebėjo slopinti *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp. Ir *Penicillium* spp. Mikroorganizmus, jų konidijų augimą ir pasižymėjo stipriu (70 %) antigrybiniu aktyvumu prieš *F. Graminearum*, vidutiniu (40–70 %) aktyvumu prieš *Penicillium* spp. Ir mažu (<40 %) aktyvumu prieš *A. niger* (274). Mandal ir kt. (269), nustatė, kad *P. acidilactici* gamina plataus spektro antigrybinius junginius, pasižyminčius fungicidiniu poveikiu.

Pasak Cabo ir kt. (271), PRB filtratuose esančios organinės rūgštys gali būti susijusios su antigrybiniu aktyvumu. PRB gali gaminti įvairias bioaktyvias molekules, tokias kaip organinės rūgštys, riebalų rūgštys ir bakteriocinai (270, 274). Remiantis literatūra, acto rūgštis ir pieno rūgštis yra vienas iš pagrindinių veiksmų, atsakingų už *Lactobacillus* antimikrobines savybes (271).

Mūsų tyrimo rezultatai parodė, kad fermentacijai parinkus efektyvias PRB, galima padidinti bioaktyviųjų medžiagų gamybą RP terpėje. Šios PRB natūraliai dominuoja rauguose ir gamina metabolitus, kurie gali slopinti grybų augimą natūraliomis sąlygomis (275). Įvairių PRB (ar jų derinių), turinčių platų spektrą antigrybinėje veikloje, pasirinkimas yra svarbus veiksnys, gerinant ryžių produktų saugą įvairaus maisto gamyboje.

Gauti tyrimo rezultatai patvirtino, kad RP yra tinkamas substratas siekiant padidinti bakterijų antigrybinį aktyvumą. Bakterijų padermės, tokios kaip Lb173, Lu245 ir Pp100, dėl savo antigrybinės ir fermentinės veiklos yra potencialios technologinėms reikmėms grūdų maisto pramonėje.

3.8 lentelė. Neutralizuotų (pH = 6,5) PRB filtratų antigrybinis aktyvumas prieš *Fusarium* spp. mikroorganizmus difuzijos į agarą metodu (inhibicijos zonos mm, įskaitant 6 mm įdubą)

Indikatoriniai mikro-organizmai	Filtras	Pp22	Pp100	Pa29	Pa236	Lb140	Lb173	Lp1135	Lp118	Lpc244	Lu245	Lf206
<i>F. graminearum</i> I	MRS	7 ± 0,0	7 ± 0,0	7 ± 0,0	11 ± 0,0	7 ± 0,0	7 ± 0,0	12 ± 0,5	7 ± 0,0	11 ± 0,0	7 ± 0,5	7 ± 0,0
	RP	7 ± 0,5	7 ± 0,0	7 ± 0,0	11 ± 0,5	7 ± 0,0	7 ± 0,0	12 ± 0,0	7 ± 0,0	11 ± 0,0	7 ± 0,0	7 ± 0,0
<i>F. graminearum</i> II	MRS	12 ± 0,0	12 ± 0,0	12 ± 0,0	7 ± 0,0	7 ± 0,0	7 ± 0,0	7 ± 0,0	8 ± 0,0	12 ± 0,0	12 ± 0,0	–
	RP	7 ± 0,0	7 ± 0,0	12 ± 0,0	7 ± 0,0	7 ± 0,5	7 ± 0,0	7 ± 0,5	–	7 ± 0,0	7 ± 0,0	–
<i>F. nivale</i>	MRS	11 ± 0,0	11 ± 0,0	12 ± 0,5	8 ± 0,0	–	7 ± 0,0	7 ± 0,0	8 ± 0,0	8 ± 0,0	8 ± 0,0	7 ± 0,0
	RP	12 ± 0,0	11 ± 0,0	9 ± 0,0	8 ± 0,0	–	12 ± 0,0	7 ± 0,0	12 ± 0,5	8 ± 0,0	7 ± 0,0	8 ± 0,0
<i>F. avenaceum</i>	MRS	12 ± 0,0	7 ± 0,0	12 ± 0,0	–	–	7 ± 0,0	–	–	7 ± 0,0	7 ± 0,0	–
	RP	7 ± 0,0	7 ± 0,0	9 ± 0,0	–	–	7 ± 0,0	–	–	–	7 ± 0,5	–

MRS – maistinė terpė, RP – ryžių malimo šalutinių produktų terpė; PRB: Lpc244 – *L. paracasei*; Lu245 – *L. uvarum*; Lf206 – *L. farraiginis*; Lb140, Lb173 – *L. brevis*; Lp18, Lp135 – *L. plantarum*; Pa236, Pa29 – *P. acidilactici*; Pp22, Pp100 – *P. pentosaceus*.

Apibendrinimas. Analizuotos *P. pentosaceus* bakterijų padermės (Pp22 ir Pp100) pasižymėjo stipriu ir vidutiniu inhibitoriniu aktyvumu prieš *P. viridicatum* ir *A. versicolor* grybus. *P. acidilactici* (Pa236) ir *L. brevis* (Lb173) padermės buvo vidutiniškai ir silpnai aktyvios prieš *Aspergillus* spp. grybus. Nė viena iš tirtų PRB nepasižymėjo antigrybiniu aktyvumu prieš *A. terreus* ir *A. niger* grybus.

Atsižvelgiant į tai, kad neutralizuoti filtratai pasižymėjo slopinamuoju aktyvumu, galima daryti išvadą, kad pastebėtas antigrybinis poveikis negali būti siejamas su filtrato rūgštingumu, kol pH vertė buvo pakoreguota iki 6,5.

3.1.6. Pusiaus kietafazės fermentacijos įtaka fenolinių junginių ir antitimitybinų faktorių pokyčiams ryžių malimo šalutinių produktų terpėje

Fermentacijos įtaka fenolinių junginių kiekio pokyčiams ryžių malimo šalutiniuose produktuose. Eksperimentui pasirinktos skirtingos PRB padermės Lb173 ir Pa236, kurios pasižymėjo atitinkamai didesniu ir vidutiniu fermentiniu aktyvumu. Tyrimo rezultatai pateikti 3.9 lentelėje.

Rūgštingumo analizė parodė, kad didesniu terpės rūgštėjimo intensyvumu, t. y. mažiausiomis pH vertėmis (3,48–3,38) 36–48 h fermentacijos laikotarpiu pasižymėjo Lb173, o štai Pa236 fermentuotos RP terpės pH vertės nustatytos 14,79–19,25 % didesnės (3.9 lent.). Tai lėmė PRB gebėjimas gaminti organines rūgštis, kuris priklauso nuo bakterijos padermės.

Vertinant BFJ kiekio pokyčius nustatyta, kad 48 h PKF didino laisvųjų BFJ kiekių RP terpėje nuo 0,87 mg GRE/g s. m. iki vidutiniškai 1,35 mg GRE/g s. m., kuris priklausė nuo PRB padermės ir fermentacijos trukmės. Analizuojant fermentacijos trukmės įtaką, nustatyta, kad po 12–24 h fermentacijos Lb173 ir Pa236 padermėmis BFJ kiekis terpėje padidėjo, atitinkamai vidutiniškai 40,8 % ir 36,8 %, lyginant su nefermentuotu mėginiu.

Vertinant PRB įtaką BFJ kiekio pokyčiams nustatyta, kad PKF procesas turėjo nevienareikšmę įtaką BFJ pokyčiams: Pa236 atveju BFJ kiekis terpėje didėjo visu fermentacijos eksperimento metu, o Lb173 atveju maksimalus BFJ kiekis terpėje pasiektas 36 h laikotarpiu, tai sudarė 8,1 % daugiau BFJ nei Pa236 mėginyje.

Gauti rezultatai atitinka Nisa ir kt. (276) duomenis, kurie rodo, kad BFJ kiekio pokyčiai priklausė nuo PRB padermės. Autoriai fiksuoja BFJ kiekio padidėjimą, atitinkamai 59,6 % ir 9,9 %, po 48 h fermentacijos *L. lactis* ir *L. plantarum* bakterijomis. Fermentacijos metu žaliavoje esantys mikroorganizmai sintetina fermentus (β -gliukozidazės, α -amilazės ir esterazės), kurie gali suardyti esterines jungtis ir atpalaiduoti nelaisvąsias fenolio rūgštis. Kiti mokslininkai raudonųjų ryžių žaliavos vandeniniuose ekstraktuose nustatė BFJ kiekį nuo 0,676 iki 0,900 mg TAE/g (277).

Pagal literatūrą, PRB fermentacija gali pagerinti grūdų maistinę vertę ir padidinti biologinių komponentų kiekį, laisvųjų fenolio rūgščių kiekį ir jų prieinamumą. Ferulo rūgšties padidėjimas fermentuotuose *P. acidilactici* mėginiuose gali būti dėl gaminamo fermento ferulo rūgšties esterazės (276).

3.9 lentelė. pH, bendrasis fenolinių junginių (BFJ), taninų, kondensuotų taninų (KT) ir tripsino inhibitorių (TIV) kiekiai nefermentuotoje (K) ir fermentuotoje RP žaliavoje

Mėginys	0 h	12 h	24 h	36 h	48 h
pH					
Lb173	4,42 ± 0,02 ^a	4,80 ± 0,01 ^b	4,74 ± 0,02 ^f	3,48 ± 0,01 ^g	3,38 ± 0,01 ^{gh}
Pa236	4,38 ± 0,02 ^a	4,38 ± 0,03 ^b	4,27 ± 0,01 ^c	4,15 ± 0,02 ^d	3,88 ± 0,03 ^e
BFJ, GAE mg/g s. m.					
Lb173	0,87 ± 0,14 ^d	1,19 ± 0,18 ^c	1,26 ± 0,08 ^b	1,36 ± 0,09 ^a	1,36 ± 0,14 ^a
Pa236	0,87 ± 0,14 ^d	1,13 ± 0,16 ^c	1,15 ± 0,12 ^c	1,25 ± 0,16 ^b	1,35 ± 0,12 ^a
Taninai, TRE mg/g s. m.					
Lb173	0,33 ± 0,14 ^e	0,46 ± 0,12 ^d	0,57 ± 0,04 ^c	0,60 ± 0,15 ^b	0,56 ± 0,14 ^c
Pa236	0,33 ± 0,14 ^e	0,49 ± 0,18 ^c	0,59 ± 0,15 ^b	0,64 ± 0,11 ^a	0,59 ± 0,12 ^b
KT, KE mg/g s. m.					
Lb173	0,114 ± 0,012 ^b	0,065 ± 0,012 ^e	0,060 ± 0,016 ^f	0,059 ± 0,008 ^f	0,058 ± 0,006 ^f
Pa236	0,114 ± 0,012 ^b	0,078 ± 0,010 ^d	0,105 ± 0,012 ^c	0,128 ± 0,014 ^a	0,136 ± 0,016 ^a
TIV/g s. m.					
Lb173	14,51 ± 0,52 ^a	7,64 ± 0,26 ^d	7,06 ± 0,28 ^e	6,96 ± 0,39 ^e	6,19 ± 0,43 ^f
Pa236	14,51 ± 0,52 ^a	9,93 ± 0,27 ^b	9,18 ± 0,13 ^c	8,91 ± 0,79 ^c	8,71 ± 0,47 ^c

Duomenys eilutėse, pažymėti skirtingomis mažosiomis raidėmis, skiriasi statistiškai reikšmingai ($p < 0,05$). PRB: Lb173 – *L. brevis* 173; Pa236 – *P. acidilactici* 236.

Pusiau kietafazės fermentacijos įtaka taninų ir kondensuotųjų taninų kiekio pokyčiams ryžių malimo šalutiniuose produktuose. Taninai ir kondensuotieji taninai yra vienas iš pagrindinių antimonybinių faktorių, randamų valgomose ankštinių augalų ir javų dalyse, kurie gali turėti įtakos pastebimam virškinimo proceso slopinimui (63).

Rezultatai parodė, kad PKF procesas pasirinktomis PRB reikšmingai ($p < 0,05$) padidino taninų kiekį RP terpėje pagal proceso sąlygas (3.9 lent.). Fermentacija 12–36 h Pa236 bakterijomis taninų kiekį padidino 38,2–81,0 %, o Lb173 atveju 30,9–66,0 %, lyginant su jų kiekiu nefermentuotoje žaliavoje (3,33 TRE mg/g s. m.). Didžiausi taninų kiekiai (vidutiniškai 5,85 ir 6,43 mg TRE g/g s. m.) nustatyti 36–48 h fermentuotuose mėginiuose. Tyrimas rodo, kad Pa236 fermentinė sistema turėjo įtakos didesniai šių junginių atpalaidavimui. Padermės Lb173 atveju fiksuotas neįžymus taninų kiekio sumažėjimas 36–48 h fermentacijos periodu (3.9 lent.).

Kondensuotųjų taninų (KT) kiekis neapdorotuose RP, nustatytas butanolio-HCl-Fe metodu, sudarė 0,114 KE mg/g s. m. (3.9 lent.). Fermentacija turėjo reikšmingos įtakos ($p < 0,05$) KT kiekio sumažinimui abiem atvejais, tačiau priklausė nuo PRB padermės ir fermentacijos trukmės. Efektyviausiai šio antimonybinio faktoriaus kiekį mažino Lb173: KT kiekis 12–36 h laikotarpiu sumažėjo vidutiniškai 45,2 % ir, ilgiau fermentuojant, nekito, o štai Pa236 KT kiekį pirmosiomis 12 h mažino 34 %, tačiau 24–48 h fermentacija turėjo įtakos KT kiekio padidėjimui nuo 25,7 % iki 42,6 %, lyginant su 12 h laikotarpiu.

Taninų ir kondensuotųjų taninų kiekiai koreliuoja su kitų autorių darbais. Priyanthi ir R. Sivakanesan raudonųjų ryžių žaliavos vandeniniuose ekstraktuose nustatė KT kiekį nuo 0,078 iki 0,104 mg KE/g (277). Pagal Punia ir kt. (278), fermentuojant RP *R. oryzae*, KT kiekis padidėjo 10 kartų 72 h fermentacijos laikotarpiu dėl fermentų veiklos, suardant biologiškai aktyvias sudedamąsias dalis ir išsiskiriant medžiagoms, tokioms kaip taninai, alkaloidai, ir kitoms. Adeyemo ir kt. (279) didžiausias taninų ir kitų antimonybinių medžiagų kiekio sumažėjimas sorgų terpėje nustatytas po 120 h fermentacijos *L. brevis* (56 %) ir *L. plantarum* (76 %). Tai gali būti siejama su padidėjusiu fermento α -galaktozidazės kiekiu fermentuotuose produktuose.

Remiantis literatūros šaltiniais ir atliktu tyrimu galima teigti, jog, siekiant sumažinti taninų kiekį RP žaliavoje, tikslinga taikyti ne ilgesnę kaip 36 h fermentaciją (277).

Nors taninai sudaro tanino-baltymų kompleksus, dėl kurių inaktyvuojami virškinimo fermentai ir netirpsta baltymai, manoma, kad jie veiksmingi mažinant gliukozės kiekį kraujyje, sulėtina gliukozės absorbciją žarnyne ir taip stabdo nuo insulino priklausomo diabeto atsiradimą (280).

Fermentacijos įtaka tripsino inhibitorių kiekio pokyčiams RP terpėje. Pirmajame tyrimo etape buvo vertintas sintetinio substrato Na-benzoil-DL-arginino-p-nitroanilido (DL-BAPA) tinkamumas tripsino aktyvumo pokyčiams įvertinti. Tam sudaryta priklausomybė tarp tripsino koncentracijos ir absorbcijos verčių. Gautas tiesinės priklausomybės determinacijos koeficientas $R^2 = 0,9831$ rodo, kad specifinis tripsino aktyvumas gali būti įvertintas tose fermento koncentracijos ribose, kuriose eksperimentiškai nustatyta tiesinė priklausomybė.

Tyrimas parodė, kad tripsino inhibitoriai (TIV), būdami mažos molekulinės masės baltymai, reikšmingai slopinti ($p < 0,05$) fermentacijos proceso metu (3.9 lent.). Naudojant RP fermentacijai atrinktas Lb173 ir Pa236 padermes, po 12 h fermentacijos TIV RP terpėje sumažėjo, atitinkamai 43,3 % ir 31,6 %, lyginant su neapdorota žaliava (14,51 mg/g s. m.), o 24–36 h laikotarpiu nustatytas atitinkamai 51,7 % ir 37,7 % TIV sumažėjimas. 48 h fermentacija sumažino TIV reikšmingai žymiai (atitinkamai 57,4 % ir 39,4 %). Tyrimas parodė, kad šiuo aspektu veiksmingesnė fermentacija Lb173 bakterijomis.

Ganzle ir kt. teigia, kad po fermentacijos sojų miltuose tripsino inhibitorių kiekis sumažėjo 57,1 % (281). Didelis tripsino inhibitorių kiekis slopina virškinimo fermento tripsino veikimą, todėl gali būti pažeistos virškinimo funkcijos. Mokslinėje literatūroje teigiama, kad, fermentacijos PRB metu vykstant baltymų hidrolizei, gali būti suardyti įvairūs antimonybiniai faktoriai, įskaitant ir tripsino inhibitorius (282). Galime teigti, kad fermentacija PRB efektyviai sumažina antimonybinių komponentų, tokių kaip kondensuotieji taninai ir tripsino inhibitoriai, kiekius.

Apibendrinimas. PKF turėjo įtakos fenolinių junginių ir antimonybinių faktorių pasiskirstymui RP žaliavoje. Daugiausia BFJ nustatyta 36–48 h Lb173 fermentuotoje RP terpėje (vidutiniškai 1,36 mg GRE/g s. m.). Siekiant sumažinti kondensuotųjų taninų kiekius RP žaliavoje, rekomenduojama 36–48 h pusiau kietafazė fermentacija,

o tripsino inhibitorių kiekį ryžių žaliavoje galima efektyviai sumažinti taikant 36–48 h pusiau kietafazę fermentaciją Lb173 paderme.

Atlikti tyrimai patvirtino, kad RP gali būti tiesiogiai naudojamas kaip fermentacijos substratas, nepridedant papildomų maistinių medžiagų. Parinkus efektyvias PRB ir PKF sąlygas, galima modifikuoti RP mitybinius komponentus. Fermentacijai naudojant atitinkamas *L. uvarum*, *L. farraginis* ir *P. pentosaceus* bakterijas, galima gauti iki 0,18–0,22 g/100 g (+)-PR. Taip pat pažymėtina, kad didesniu PR gamybos intensyvumu pasižymėjo *L. brevis* 173 ir *P. acidilactici* 29 padermės.

Nustatytos fermentacijos sąlygos antigrybiniu aktyvumu prieš grybinės kilmės patogeninius mikroorganizmus pasižyminčių metabolitų susidarymui RP; parinktos efektyvios PRB, tokios kaip *L. brevis* 173, *L. uvarum* 245 ir *P. pentosaceus* 100, kurios dėl antigrybinio ir fermentinių aktyvumų gali būti pritaikytos technologinėms reikmėms grūdų maisto pramonėje. Rezultatai parodė, kad PKF *L. brevis* 173 gali būti efektyvus biodetoksikacijos būdas, sumažinant antimitybinius faktorius, tokius kaip kondensuotieji taninai ir tripsino inhibitoriai, ryžių malimo šalutiniuose produktuose.

Gauti rezultatai patvirtina, kad ryžių malimo šalutiniai produktai gali būti naudojami maisto pramonėje fermentuotų produktų ir (arba) naujų funkcinių ingredientų kūrimui. Šio tyrimo rezultatai patvirtina tokius teiginius, tačiau aktualu būtų išanalizuoti bioaktyviųjų metabolitų gamybą PRB fermentacijos metu.

3.2. Aukštojo dažnio ultragarso panaudojimas atsparaus virškinimui krakmolo kiekiui padidinti ryžių malimo šalutiniuose produktuose

Dėl didėjančio vartotojų susidomėjimo maisto produktų kokybe pramonėje siekiama kurti naujus funkcinius ingredientus, tokius kaip atsparų virškinimui krakmolą (AVK), ir tobulinti gamybos technologijas, atitinkančias žiedinės ekonomikos principus, naudojant atsinaujinančius išteklius.

Disertacijoje atlikti tyrimai skirti naujai tvariai maisto sistemai iš RP funkcionalių komponentų kurti. Įvertinant galimą ultragarso (UG) technologijos pritaikymą AVK gamybai RP matricoje, siekiant padidinti AVK kiekį ir paaiškinti RP apdorojimo UG, taikant skirtingus temperatūros režimus, poveikį AVK fizikinių-cheminių, struktūros ir technologinių savybių pokyčiams, taip pat ryžių malimo šalutinių produktų išgavimo ir platesnio pritaikymo galimybes.

Technologinės ir mechaninės krakmolo savybės priklauso nuo vandens absorbcijos ir krakmolo komponentų santykio, apdorojimo ir retrogradacijos. Didesnis amilozės/amilopektino santykis paprastai suteikia didesnę stiprumą ir plastiškumą, taip pat turi įtakos krakmolo kleisterizacijos procesui, kuris, veikiant temperatūrai ir mechaninei jėgai arba ultragarsinei kavitacijai, sukuria vienodą amorfinę struktūrą. Šių kintamųjų kiekybinis įvertinimas yra svarbus, naudojant AVK įvairiose maisto sistemose.

Kadangi natūralus AVK kiekis ryžiuose priklauso nuo ryžių veislės ir gali būti palyginti mažas (6), jo kiekį ryžių grūduose galima padidinti technologinių procesų (9, 10) ar hidroterminio krakmolingos žaliavos apdorojimo metu (8). Literatūroje yra duomenų apie žemojo dažnio UG panaudojimą įvairių rūšių

krakmolo fizikinėms bei cheminėms savybėms modifikuoti (123, 283, 284), tačiau didžioji dalis iki šiol atliktų tyrimų UG panaudojimo srityje pagrįsti grynojo krakmolo ar grūdų apdorojimu (15, 16, 123, 186).

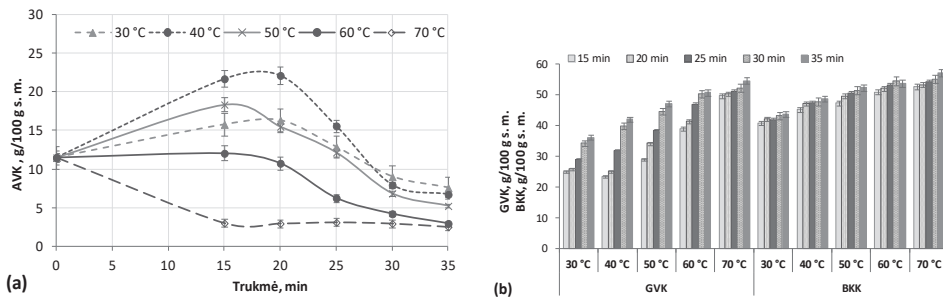
Mūsų tyrimai pasižymi naujumo aspektu, kuris pagrįstas ne tik RP kaip tvaraus ištekliaus panaudojimu AVK gamybai, bet ir tokio funkcinio komponento, kaip AVK, kiekio padidiniu, taikant draugišką aplinkai aukštojo dažnio UG technologiją.

3.2.1. Ultragarso parametrų įtaka atsparaus virškinimui krakmolo susidarymui ryžių malimo šalutiniuose produktuose

Šiame etape buvo vertinta apdorojimo UG trukmės (15; 20; 25 ir 30 min) ir temperatūros (30; 40; 50; 60 ir 70 °C) įtaka AVK kiekio padidiniui RP žaliavoje, taikant 50 % intensyvumo UG (3.4 pav.).

Pradiniai tyrimo rezultatai parodė (3.4(a) pav.), kad, didinant apdorojimo UG temperatūrą nuo 30 °C iki 50 °C, gaunamas reikšmingas AVK kiekio padidėjimas (vidutiniškai 7,0–94,5 %), kuris priklauso nuo apdorojimo trukmės. Didžioji dalis AVK gauta 15–20 min UG apdorojimo laikotarpiu, o štai ilgesnė UG trukmė (25–35 min) sumažino AVK išeigą dėl padidėjusio krakmolo suskaidymo, tai patvirtino greitai virškinamo krakmolo (GVK) kiekio padidėjimas (3.4(b) pav.). Apdorojimas UG 15–20 min 60–70 °C temperatūros aplinkose kiek padidino (iki 5,0 %) AVK kiekį, bet ilgesnio apdorojimo metu (25–35 min) buvo užfiksuotas 72,7–73,5 % AVK kiekio sumažėjimas ir GVK padidėjimas nuo 22,7 % iki 53,4 % (3.4 pav.).

Taigi, AVK gali susidaryti iš virškinamojo krakmolo, apdorojus UG trumpą laiką (15–20 min) nedidelėje temperatūroje (40–50 °C) ir išlaikant šaltai 24 h, kad įvyktų amilozės persikristalizavimas. AVK kiekis gali padidėti, santykinai padididėjus amilozės kiekiui, kai apdorojant UG suskaidomos šakotos amilopektino molekulės. Po retrogradacijos amilozė sudaro glaudesnę kristalinę struktūrą, kurią virškinimo fermentams sunku hidrolizuoti.



3.4 pav. Apdorojimo ultragarsu ($m/w = 1:3$; 50 % UG intensyvumas) temperatūros ir trukmės įtaka AVK (a) ir GVK (b) kiekiui RP. AVK – atsparus virškinimui krakmolas; GVK – greitai virškinamas krakmolas; BKK – bendrasis krakmolo kiekis

Kadangi AVK1 (pradinis žaliavoje) yra įkomponuotas ląstelių viduje, apsaugotas ląstelių sienelių ir fiziškai nepasiekiamas, tai suardyti šias ląstelių sieneles ir išlaisvinti AVK reikia apdoroti žaliavą UG ilgesnį laiką (30–35 min). Tačiau

apdorojant didesnės temperatūros aplinkoje ilgesnį laiką, AVK, kuris yra ląstelių viduje, gali būti išlaisvintas ir hidrolizuotas; jei krakmolo amilozės dalis bus suskaidyta iki dekstrinų, tada gali susidaryti labai maži AVK kiekiai (apdorojant UG 35 min atveju).

Rezultatų statistinė analizė (ANOVA) parodė, kad tiek UG temperatūra, tiek trukmė buvo reikšmingi veiksniai ($p < 0,0001$) AVK kiekio padidimui, esant fiksuotam UG intensyvumui (50 %) (I priedas). AVK kiekis visais atvejais, taikant 30–50 °C temperatūrą, reikšmingai priklausė nuo temperatūros ir laiko sąveikos ($p = 0,0001–0,017$; $F = 189,189–749,007$), o esant didelei temperatūrai (60–70 °C) reikšmingo T ir t sąveikos poveikio nebuvo nustatyta ($p = 0,06–0,999$; $F = 21,629–29,524$) (3.10 lent. ir II priedas).

Gauti rezultatai atitinka literatūros duomenis, kad krakmolo išeiga gali būti padidinta dėl ultragarsinės kavitacijos, kuri suardo baltymų ir skaidulų matricą, leidžiančią geriau išsiskirti krakmolo granulėms (285). Antra vertus, UG inicijuotas AVK kiekio padidėjimas gali būti susijęs su padidėjusiu amilozės kiekiu dėl ilgų grandinių skilimo ir amilopektino šakotosios struktūros suskaidymo, prisidedančio prie molekulių išsivyniojimo arba agregacijos, dėl kurio padidėja retrograduoto krakmolo kiekis (283).

3.10 lentelė. Eksperimentinių duomenų ANOVA rezultatai

Priklausomasis kintamasis	15 min	20 min	25 min	30 min	35 min
30 °C	0,014*	0,001**	0,0001***	0,0001***	0,463
40 °C	0,013*	0,017*	0,009**	0,0001***	0,998
50 °C	0,063	0,413	0,074	0,202	0,145
60 °C	0,908	0,999	0,998	0,997	0,991
70 °C	0,400	0,016*	0,193	0,134	0,060

Čia *reikšmingas, $p < 0,05$; ** reikšmingas, $p < 0,001$; *** reikšmingas, $p < 0,0001$.

Antra vertus, AVK3 tipas dažniausiai formuojasi dėl amilozės gebėjimo reasocijuoti. Kristalinė amilozės zona ir sandariai „supakuotos“ dvigubosios spirалės gali trukdyti amilolitinams fermentams nutraukti glikozidinius ryšius krakmolo kristalinėje srityje, taip padidinant amilozės atsparumą virškinimui (286). Kitu atveju šakotosios struktūros krakmolas gali sudaryti AVK3, nes linijiniai amilozės fragmentai, sudaryti iš 13–30 gliukozės vienetų, išsiskiriančių suirus atšakoms, turi didesnį mobilumą ir polinkį persikristalizuoti (186). Kai UG temperatūra artima ryžių krakmolo kleisterizacijos temperatūrai (60–70 °C), sluoksniuota krakmolo struktūra tampa nestabili, o tai gali būti sumažėjusio santykinio kristališkumo ir sumažėjusio AVK kiekio priežastis.

3.2.2. Eksperimentinio plano ir matematinio modelio sudarymas

Apdorojimo UG temperatūra (T), trukmė (t) ir galia (P) maksimaliam AVK kiekio padidimui buvo nustatyti, taikant centrinį kompozicinį eksperimento planą (CEP) ir paviršiaus atsako metodą (PAM). AVK kiekis, išmatuotas skirtingais UG

apdorojimo laiko momentais, buvo lyginamas su pradiniu kiekiu neapdorotuose RP ($Y_0 = 11,51 \text{ g/100 g s. m.}$).

Eksperimentas parodė, kad AVK kiekis kito plačiose ribose (nuo 1,51 iki 12,72 g/100 g s. m.), jis priklausė nuo T (30–50 °C), t (15–25 min) ir P (1,3–1,8 W/cm²) derinio (3.11 lent.). Sudaryta antrojo laipsnio matematinio modelio lygtis aprašo ryšį tarp AVK kiekio, gauto UG poveikiu ($dY = Y - Y_0$), ir nepriklausomų kintamųjų:

$$dY = Y -$$

$$Y_0 = 11,71 - 2,14t + 0,161T + 0,798P - 0,8838tT + 0,0587tP - 0,2063TP - 1,15t^2 - 6,33T^2 + 0,023P^2 \quad (3.1);$$

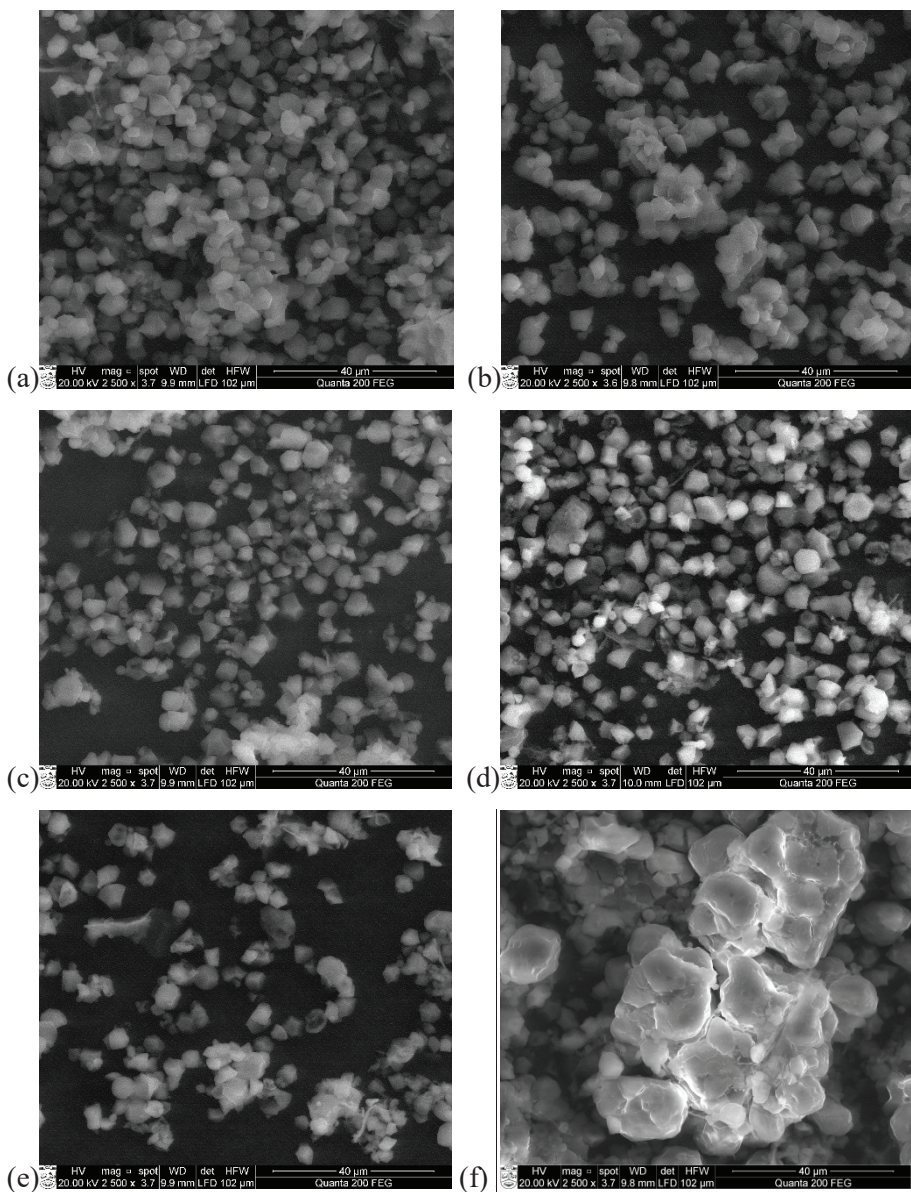
čia dY – AVK kiekio padidėjimas; Y – bendrasis AVK kiekis; Y_0 – pradinis AVK kiekis žaliavoje; t , T ir P yra atitinkamai temperatūros, laiko ir UG galios reikšmės.

Matematinio modelio ANOVA analizė patvirtino, kad apdorojimo UG temperatūra, trukmė, galia ir jų kvadratiniai efektai bei tiesinės sąveikos efektai tarp faktorių t ir T reikšmingai paveikė AVK susidarymą ($p < 0,0001$) (II priedas). Taip pat buvo nustatytas reikšmingas kvadratinis poveikis AVK kiekiui: $T^2 (F = 198,65) > t (F = 127,21) > P (F = 22,09) > Tt (F = 21,67)$.

Remiantis duomenų matematine analize galima teigti, kad sudarytas modelis reikšmingai atkūrė dY vertes ir koreliavo su eksperimentiniais duomenimis: Fišerio reikšmė – 103,24 ($p < 0,0001$), variacijos koeficientas 7,2 %, determinacijos koeficientas $R^2 = 0,9925$. Rezultatai parodė, kad p -reikšmės *lack-of-fit* nebuvo reikšmingas ($p = 0,1728$), taigi modelis tiksliai paaiškina gautus rezultatus su 95 % patikimumo lygmeniu. Prognozuojama eksperimentinių duomenų R^2 vertė (0,9258) yra artima pakoreguotai R^2 (0,9829), o tai parodo, kad apie 97 % duomenų gali būti aprašyti šiuo regresijos modeliu. Lyginant eksperimentinius duomenis su prognozuojamomis AVK vertėmis, santykinė paklaida kito nuo 0 iki 0,51 (3.11 lent.), o tai rodo, kad modelis gali būti taikomas optimizuojamam atsakui įvertinti.

Analizuojant literatūros šaltinius neaptikta publikuotų duomenų apie didelės galios UG parametrų optimizavimą AVK gamybai RP. UG proceso sąlygų optimizavimas, siekiant padidinti AVK kiekį, taikytas grynai žirnių krakmolui (287) ir grikių krakmolui (231) kaip žaliavoms. Tačiau toks procesas gali būti sudėtingas pramoniniu mastu dėl didelės gryno krakmolo kainos.

Šiame darbe UG apdorojimas buvo optimizuotas, naudojant visą RP matricą, bet ne gryną krakmolą, siekiant išvengti RP maistinių medžiagų nuostolių ir pagerinti AVK kiekį, todėl tokie rezultatai gali būti priimtini pramonei.



3.6 pav. Gamtinio ryžių krakmolo (a) ir atsparaus virškinimui krakmolo (AVK), išskirto iš neapdorotų RP (b) ir AVK iš UG apdorotų RP (850 kHz, 1,8 W/cm², 20 min), SEM vaizdai esant skirtingoms temperatūroms: 40 °C (c), 50 °C (d), 60 °C (e), 70 °C (f) (didinimas ×2500)

AVK granulių morfologijos pokyčiai tapo labiau matomi po apdorojimo UG. Apdorojimas UG 20 min 40 °C temperatūros aplinkoje paskatino AVK_{40C} granulių irimą bei smulkių dalelių susidarymą (3.6(c) pav.), o AVK_{50C} atveju (3.6(d) pav.) jau stebimas didesnis smulkių dalelių kiekis, formos skirtumai palyginus su apdorotomis

40 °C temperatūroje. Taigi, daugiausia buvo paveiktas krakmolo granulių paviršius, veikiant šlyties jėgai, kurią sukelia kavitacija ir laisvųjų radikalų judėjimas. Pakėlus temperatūrą iki 60–70 °C, granulių dydis sumažėjo, jos įgavo netaisyklingą formą galimai dėl krakmolo granulių destrukcijos (skaidymo). Matomos smulkios granulės (3.16(e) pav.) parodo, kad buvo suardyta granuliuota krakmolo struktūra ir tai vyko dėl dalinės kleisterizacijos (3.6(f) pav.).

Panašias tendencijas nustatė Noor ir bendraautorai (288), kurie parodė reikšmingus mikrostruktūros skirtumus tarp apdoroto UG ir neapdoroto lotoso stiebo AVK2 tipo mėginių. Pagal Sujka (124), apdorojimas UG (20 kHz, 170 W, 20 °C, 30 min) sumažino vidutinį ryžių, kukurūzų, kviečių ir bulvių krakmolo granulių skersmenį ir turėjo įtakos jų dydžio pasiskirstymui.

Mūsų tyrime apdorojimo UG temperatūros padidėjimas nuo 50 °C iki 70 °C turėjo įtakos intensyvesniam didesnių krakmolo granulių ardymui ir mažų granulių agregacijai dėl bendro apdorojimo UG kavitacijos ir temperatūros poveikio (3.6 pav. (d), (e), (f)).

Literatūros duomenimis, dėl apdorojimo UG sukiamų aukštojo dažnio vibracijų suardoma ryžių krakmolo matrica ir pakeičiama esminė granulių struktūra krakmolo kleisterizacijos temperatūroje (62–79 °C) (289). Remiantis šiais stebėjimais, kleisterizavimosi pokytis paaiškinamas išbrinkusių krakmolo granulių ir krakmolo agregatų tirpimu, kurį sukelia apdorojimas ultragarsu (290).

Mūsų tyrimo atveju, SEM rezultatai parodė akivaizdų AVK krakmolo dalelių, išskirtų iš apdorotų ultragarsu RP matricos, fragmentaciją, lyginant su neapdorotu ultragarsu RP krakmolu. AVK granulės fragmentuojasi tik dėl apdorojimo UG (visų mėginių apdorojimo trukmė vienoda), nepriklausomai nuo UG temperatūros. AVK kiekis mažėja, bet krakmolo granulių fragmentacija nežymi (nuotraukose nepastebėta žymaus skirtumo tarp dalelių dydžio).

Rentgeno spindulių difrakcija (X-ray). Rentgeno spindulių difrakcijos rezultatai (3.7 pav.) parodė, kad neapdorotų ultragarsu RP AVK turi tipišką A tipo kristališkumo modelį, atitinkantį sandarią amilopektino dvigubą spiralę su būdingomis smailėmis ties difrakcijos kampais (2θ) 15°, 16,9° ir 17,9°, taip pat silpna smaile ties 20° 2θ ir papildoma smaile ties 23° 2θ , tai atitinka kitų tyrinėtojų duomenis (168, 291). Remiantis literatūra, smailių plotis priskiriamas kristalitų dydžiui: diskrečiosios smailės rodo didesnę kristališkumą, o plačios difrakcijos smailės rodo amorfinę zoną (235, 291).

Apdorojimas UG švelniomis sąlygomis (40 °C) lėmė nežymų AVK kristališkumo sumažėjimą ties 20° ir 23° 2θ , sumažino smailės aštrumą ties 15° ir žymiai paveikė smailes ties 16,9° ir 17,9° 2θ , palyginus su AVK, išskirtu iš neapdorotų RP (AVK_{NE}) (3.7 pav.). AVK mėginių, išskirtų po apdorojimo UG didesnėje temperatūroje, kristališkumo smailės gautos mažesnės. Esant 70 °C temperatūrai, buvo pastebėtas smailių išnykimas ties 15° ir 23° 2θ , ir dvigubas sumažėjimas ties 16,9° ir 17,9° 2θ , tai parodo ryškų amorfinių zonų susidarymą.

amilozės kiekis padidėjo 46,2 %, kai buvo vykdomas apdorojimas UG 40 °C temperatūros aplinkoje. Apdorojant UG, kada temperatūra buvo 50–60 °C, nustatytas vidutiniškai 2 kartus didesnis amilozės kiekis, lyginant su AVK_{NE} mėginiu (amilozės kiekis 25,62 %). Falsafi ir kt. (293) nustatė, kad apdorojant UG padidėjo amilozės kiekis avižų krakmole dėl UG kavitacijos.

Pagal Chan ir kt. (296), UG kavitacija padidino amilozės kiekį bulvių, pupelių, sorgų ir kukurūzų krakmole, tai rodo molekulinės struktūros irimą ir linijinių amilozės fragmentų susidarymą. Nestabili sluoksniuota krakmolo struktūra gali būti sumažėjusio santykinio kristališkumo, o kartu ir sumažėjusio AVK kiekio priežastis. Amilozė dažniausiai suformuoja 3 tipo AVK dėl savo gebėjimo vėl susijungti.

Kleisterizacijos kreivės. Tyrimo rezultatai parodė, kad UG apdorotų AVK mėginių kleisterizacijos kreivių profiliai panašūs į neapdorotų AVK (3.13 lent.), tai rodo, kad apdorojimas UG neturėjo reikšmingos įtakos kleisterizacijos kreivių profiliui. Gautos tendencijos atitinka Yang ir kt. (123), taip pat Bianas ir Chungas (297) rezultatus.

Kalbant apie krakmolo kleisterizacijos savybes, gamtinio ryžių krakmolo atveju nustatyta mažiausia kleisterizacijos temperatūra (67,90 °C), didžiausia kleisterizacijos klampa (474,02 BU) ir klamos sumažėjimas (260,77 BU). O štai AVK_{NE} mėginiui nustatyta reikšmingai aukštesnė ($p < 0,05$) kleisterizacijos temperatūra (72,95 °C), mažesnė maksimali klampa (370,63 BU) ir mažesnis klamos sumažėjimas (175,96 BU) dėl kristalinių / amorfinių zonų santykio ir dvigubosios spiralės kiekio krakmole sumažėjimo, atsiradusio malant ryžių grūdus (106). Apdorojimas UG 40 °C temperatūros aplinkoje šiek tiek padidino AVK_{40C} kleisterizacijos temperatūrą, sumažino maksimalią klampą bei padidino jos kritimo laipsnį, lyginant su AVK_{NE} kleisteriu (3.12 lent.).

Šiuo atveju gautas kleisterizacijos klamos sumažėjimas rodo, kad UG apdorotų ryžių malimo šalutinių produktų AVK mėginių kleisteris pasižymėjo mechaniniu ir terminiu stabilumu, o didesnė klampa rodo didesnę AVK granulių polinkį retrograduoti. Esant 50–60 °C UG temperatūrai, AVK kleisteris pasižymėjo kiek didesne maksimalia klampa ir žymiai mažesne klampa ($p < 0,05$), palyginti su AVK_{40C}, todėl galime teigti, kad kleisterizacijos temperatūra neturėjo reikšmingos įtakos ($p \geq 0,05$) (3.12 lent.).

Didžiausia galutinė AVK kleisterizacijos klampa (451,62–485,34 BU) nustatyta esant UG temperatūrai 40–50 °C, tačiau reikia pažymėti, kad apdorojimas UG 60–70 °C mažino AVK galutinę klampą, lyginant su AVK_{NE} (428,06 BU), ir visais atvejais mažino šį rodiklį, lyginant su gamtiniu ryžių krakmolu (467,27 BU) dėl įvykusio krakmolo granulių suirimo ir brinkimo.

Nustatyta, kad AVK_{70C}, kuris buvo išgautas iš RP po apdorojimo UG 70 °C temperatūros aplinkoje, pasižymi didžiausia kleisterizacijos temperatūra (75,07 °C), bet stipriai sumažėjusia maksimalia kleisterizacijos klampa (298,51 BU) ir mažiausiu klamos sumažėjimu (131,14 BU); o tai rodo, kad krakmolo granulės šiuo atveju brinko lėtai. Taigi krakmolas yra atsparesnis terminiam apdorojimui, tai galima paaiškinti krakmolo polisacharidų tarpmolekulinės sąveikos pokyčiais. Pagal

apdorojimo UG intensyvumą amilopektino, kuris yra atsakingas už didesnę klampą, suskaidymo laipsnis didėja dėl jo šakotos makromolekulių struktūros.

Amilozė sudaro kompaktiškesnę struktūrą, kuri pasižymi didesne tarpmolekuline sąveika, t. y. dėl papildomų vandenilinių jungčių, didesnio karbonilo ir karboksilato grupių kiekio (3.8 pav.), kurios padidina krakmolo granulių kleisterizacijos temperatūrą.

3.12 lentelė. Gamtinio ryžių krakmolo ir AVK, išskirto iš neapdorotų ir UG apdorotų RP, kleisterio susidarymo savybės

Krakmolo mėginiai	Kleisterizacijos temp., °C	Maksimali kleisterizacijos klampa, BU	Kleisterio klamos sumažėjimas, BU	Kritimo laipsnis, BU	Galutinė kleisterizacijos klampa, BU
Ryžių krakmolai	67,90 ± 0,11 ^d	474,02 ± 0,26 ^a	260,77 ± 0,10 ^a	254,73 ± 0,22 ^a	467,27 ± 0,18 ^a
AVK _{NE}	72,95 ± 0,21 ^b	382,14 ± 0,21 ^{bc}	175,96 ± 0,32 ^c	221,88 ± 0,28 ^c	428,06 ± 0,21 ^c
<i>UG apdorojimas</i>					
AVK _{40 °C}	73,47 ± 0,19 ^b	370,63 ± 0,15 ^c	164,57 ± 0,08 ^d	279,28 ± 0,41 ^a	485,34 ± 0,06 ^a
AVK _{50 °C}	73,93 ± 0,33 ^b	403,74 ± 0,11 ^b	198,61 ± 0,21 ^b	246,49 ± 0,08 ^{ab}	451,62 ± 0,34 ^{ab}
AVK _{60 °C}	71,82 ± 0,36 ^{bc}	398,32 ± 0,27 ^b	193,86 ± 0,36 ^b	221,72 ± 0,39 ^c	426,18 ± 0,27 ^c
AVK _{70 °C}	75,07 ± 0,17 ^a	298,51 ± 0,11 ^d	131,14 ± 0,18 ^e	240,99 ± 0,05 ^b	408,37 ± 0,14 ^d

Čia rezultatai yra vidurkis ± standartinis nuokrypis. Duomenys su skirtingomis raidėmis stulpelyje rodo reikšmingus skirtumus ($p < 0,05$). AVK_{NE} – atsparus krakmolai, išskirtas iš neapdorotų RP; AVK_{40 °C}, AVK_{50 °C}, AVK_{60 °C}, AVK_{70 °C} – atsparus krakmolai, išskirtas iš UG apdorotų RP 40–70 °C temperatūroje; BU – Brabender vienetai.

Esant didelei UG temperatūrai, sumažėja didžiausia potencialiai pažeistų makromolekulių klampa, o tai apibūdina maksimaliai išbrinkusių dalelių sąveiką (kuo mažesnės dalelės, tuo mažesnė klampa). Šiuo atveju galutinė klampa taip pat yra mažesnė dėl krakmolo suardymo, tai patvirtina didesnis amilozės kiekis ir papildomos B ir D smailės, atsirandančios FT-IR spektre (3.8 pav.). Kleisterizacijos metu krakmolai tampa amorfiniai, todėl kleisterizacijos kreivių profilyje reikšmingų skirtumų nenustatyta. Kleisterizacijos profilis labiau priklauso nuo krakmolo granulių formos, dydžio, tarpmolekulinės sąveikos (cheminės sudėties) ir molekulinės masės.

Gauti rezultatai sutampa su tyrimais, kuriuose teigiama, kad apdorojimas UG sumažina didžiausią ryžių ir vaškinių kukurūzų krakmolo klampą (283, 289). Fizinis krakmolo granulių pažeidimas sumažina kleisterio klampą dėl padidėjusios vandens absorbcijos ir kartu hidratacijos (122). Be to, apdorojimas UG, inicijuojantis vandenilio jungčių nutrūkimą ir taip sumažinantis krakmolo granulių sąveiką, taip pat mažina kleisterio klampą (284), tai galima paaiškinti atitinkamų kleisterizacijos kreivių profiliu.

Atsparaus virškinimui krakmolo technologinės savybės. Iš neapdorotos ir UG apdorotos RP žaliavos išskirtų AVK mėginių technologinės savybės pateiktos 3.13 lentelėje. Rezultatai parodė, kad UG žymiai ($p < 0,05$) padidino aliejaus (AĮI) ir

vandens (VII) įgėrimo indeksus, brinkimo galią (BG), tirpumą (TV) ir sumažino minimalią gelio susidarymo koncentraciją (MGK), palyginti su AVK_{NE} mėginiu.

3.13 lentelė. Ryžių krakmolo ir AVK, išskirto iš neapdorotų ir UG apdorotų RP, amilozės kiekis ir technologinės savybės

Mėginys	VII, g/g	AII, g/g	BG, %	TV, %	MGK, %	Amilozė, %
Ryžių krakmolas	4,30 ± 0,08 ^e	2,37 ± 0,20 ^d	5,22 ± 0,13 ^e	3,64 ± 0,15 ^e	8 ^d	25,35 ± 0,35 ^c
AVK _{NE}	4,58 ± 0,12 ^d	2,70 ± 0,21 ^c	5,78 ± 0,26 ^d	4,81 ± 0,27 ^d	14 ^a	25,62 ± 0,28 ^c
<i>UG apdorojimas</i>						
AVK _{40 °C}	5,91 ± 0,18 ^b	3,08 ± 0,13 ^b	6,17 ± 0,03 ^c	6,06 ± 0,07 ^c	12 ^b	37,47 ± 0,05 ^c
AVK _{50 °C}	5,59 ± 0,04 ^c	3,15 ± 0,05 ^{ab}	6,62 ± 0,06 ^b	6,67 ± 0,39 ^b	10 ^c	53,10 ± 0,64 ^a
AVK _{60 °C}	6,17 ± 0,07 ^b	3,27 ± 0,03 ^a	9,32 ± 0,42 ^a	16,45 ± 0,40 ^a	10 ^c	51,56 ± 0,10 ^{ab}
AVK _{70 °C}	7,54 ± 0,20 ^a	3,49 ± 0,11 ^a	9,58 ± 0,02 ^a	17,01 ± 0,02 ^a	8 ^d	49,97 ± 0,03 ^b

Čia rezultatai yra vidurkiai ± standartinis nuokrypis. Duomenys su skirtingomis raidėmis stulpelyje rodo reikšmingus skirtumus ($p < 0,05$). AVK_{NE} – atsparus krakmolas iš neapdoroto RP; AVK_{40 °C}, AVK_{50 °C}, AVK_{60 °C}, AVK_{70 °C} – atsparus krakmolas, išskirtas iš RP, apdorotų UG atitinkamos temperatūros aplinkoje; VII – vandens įgėrimo indeksas; AII – aliejaus įgėrimo indeksas; BG – brinkimo galia; TV – tirpumas vandenyje; MGK – minimali gelio susidarymo koncentracija.

AVK, apdoroti UG, absorbavo didžiausią vandens ir aliejaus kiekį (atitinkamai 5,91–7,54 g/g ir 3,08–3,49 g/g), palyginti su AVK_{NE} (atitinkamai 4,58 g/g ir 2,70 g/g) ir gamtiniu ryžių krakmolu (atitinkamai 4,30 g/g ir 2,37 g/g). UG apdorotų AVK parametrų BG ir TV vertės reikšmingai padidėjo ($p < 0,05$) lyginant su neapdorotu AVK (30 °C temperatūros vandenyje).

MGK gali būti susijusi su dalelių dydžiu. Gamtinio ryžių krakmolo granulės po retrogradacijos sudaro tvirčiausią gelį, esant minimaliai koncentracijai, o minimalią MGK vertę AVK_{70C} atveju galima paaiškinti dėl amilozės makromolekulių įtraukimo į retrogradaciją, galbūt sustiprinant AVK gelius. Gamtinio ryžių krakmolo sudėtyje buvo daugiau ilgagrandinės amilozės, kuri yra mažiau tirpi (3.13 lent.).

AVK tirpumas galimai padidėjo dėl kombinuoto apdorojimo UG ir temperatūros poveikio, sukeliančio amilozės ir amilopektino skilimą (298), dėl tos priežasties susidaro trumpesni šakotųjų grandinių fragmentai, amilozės kiekio padidėjimas ir SEM rezultatuose matyti pažeidimai krakmolo dalelių paviršiuje.

Remiantis literatūra, dėl UG kavitacijos vyksta amilopektino molekulių irimas, sustiprinant linijinius fragmentus, kurie turi įtakos krakmolo granulių brinkimo gebai ir tirpumui (293). Vidinė tvarkinga krakmolo granulių struktūra buvo suardyta, tai priklausė nuo amilopektino vandens absorbcijos, apdorojant UG didesnės temperatūros aplinkoje. Brinkimo laipsnis yra fizinė amilopektino savybė, o dėl apdorojimo UG temperatūros pokyčių vyksta amilopektino molekulių kristališkumo praradimas, taip sumažinamas jo klampumas.

Pasak Wang ir kt. (284), apdorojant UG bulvių krakmolą, jo granulių skilimas turėjo įtakos amilopektino kristališkumo praradimui. Ding ir kt. (182) teigė, kad

retrograduoto kukurūzų krakmolo brinkimas ir tirpumas po apdorojimo ultragarsu pagerėjo, palyginti su gamtiniu krakmolu. Tai patvirtina, kad kristalinė krakmolo struktūra buvo pažeista dėl grandinių sąveikos pokyčių kristalinėse ir amorfinėse krakmolo granulės srityse.

Apibendrinimas. Tyrimo rezultatai parodė, kad ryžių malimo šalutinių produktų apdorojimas UG turėjo įtakos atsparaus virškinimui krakmolo struktūros pokyčiams, kurie pakeitė jo morfologines charakteristikas ir fizikines-chemines savybes, o kartu ir hidratacinį pajėgumą. Technologinių savybių skirtumus gali sąlygoti krakmolo granulių paviršiaus pažeidimai, kurie matomi SEM nuotraukose, dėl ultragarsinės kavitacijos sukeltos šlyties jėgos poveikio (178).

Vertinant UG temperatūros įtaką, gauti rezultatai parodė, kad veikiant UG 60–70 °C temperatūros aplinkoje, buvo paveikta cheminė krakmolo struktūra, ir tai sumažino AVK kristališkumą nuo 23,85 % iki 18,37–4,43 %, taip pat padidino AVK kleisterio mechaninį ir terminį stabilumą, o tai rodo didesnę AVK granulių tendenciją retrograduoti. Retrograduotas krakmolas yra mažiau tirpus vandenyje ir todėl mažiau virškinamas nei gamtinis krakmolas. Amilopektinas yra atsparesnis retrogradacijai, nes sudaro stipresnius ryšius nei amilozė. Taigi retrogradacija, ilgai laikant, yra ryškesnė daug amilozės turinčiame krakmole ir krakmoluose, pakaitintuose iki kleisterizacijos temperatūros. Priešingai, termiškai apdorotuose vaškiniuose grūduose amilozės retrogradacija yra labai maža.

Kleisterizacijos tyrimo rezultatai parodė, kad klampiausias AVK kleisteris susidaro, RP apdorojant UG 40 °C temperatūros aplinkoje, o tai rodo stiprią sąveiką tarp koloidinių dalelių ir tirpiųjų polisacharido molekulių. Ši išvada iš dalies galėtų paaiškinti padidėjusį tokio krakmolo kiekį ir jo atsparumą virškinimo fermentams. Apdorojant UG reikšmingai ($p < 0,05$) pagerėjo AVK aliejaus ir vandens įgėrimo pajėgumas, brinkimo galia, tirpumas, taip pat sumažėjo minimali gelio sudarymo koncentracija (MGK).

Tokiu būdu UG modifikuotas AVK įgauna funkcines savybes, kuriomis nepasižymi neapdorotas krakmolas, o tai gali būti specifinė pritaikymo maisto pramonėje sritis.

Tyrimo naujumu galima laikyti tai, kad iki šiol nebuvo publikuotų duomenų apie apdorojimo UG taikymą AVK kiekio padidinimui RP. Duomenų statistinis vertinimas parodė reikšmingą trijų tirtų veiksnių (apdorojimo UG temperatūros, trukmės ir galios) poveikį ($p < 0,05$). Duomenų regresinė analizė patvirtino, kad sudarytu matematiniu modeliu galima aprašyti 97 % duomenų. Taikant PAM, gautos optimalios sąlygos RP apdorojimui UG: trukmė 18 min, temperatūra 40 °C, UG galia 1,8 W/cm²; optimizuotomis sąlygomis prognozuojamas AVK kiekis sudaro 13,46 g/100 g s. m.

Šiame tyrime pritaikyta technologinė koncepcija skiriasi nuo tos, kur naudojamas gamtinis krakmolas kaip žaliava AVK kiekiui padidinti. Mūsų atveju naudota žaliava yra ryžių malimo šalutiniai produktai, kurie leidžia sumažinti krakmolo kleisterio džiovinimo problemas tolesniuose technologiniuose etapuose. Dėl apdorojimo ultragarsu RP matricoje gautas didesnis AVK kiekis, kartu padidėjo ir jo panaudojimo kaip funkcinio biologinio maisto komponento potencialas.

3.3. Funkcionalizuotų ryžių malimo šalutinių produktų panaudojimas funkcinį produktų gamybai

Bioaktyviosios maisto produktų sistemos, kuriose bioaktyvieji komponentai yra imobilizavimo medžiagoje arba yra imobilizuojami, – tai technologinė koncepcija, taikoma funkcinį maisto produktų gamyboje, norint sukurti saugų ir pasižymintį konkrečiomis savybėmis maisto produktą.

Šio etapo metu buvo sukurtas funkcinio produkto (konditerinio batonėlio) modelis iš apdorotų ultragarsu RP ir BR uogų išspaudų fitocheminėmis medžiagomis, pasižyminčiais nutraceutinėmis savybėmis. Be to, šiame skyriuje analizuojami kai kurie aspektai, susiję su saugiu PRB ląstelių stabilizavimu, funkcionalizuotų RP substrate, taikant PKF, bei RP-BR matricos potencialu pagerinti bakterinių ląstelių gyvybingumą ir antimikrobinį aktyvumą laikymo metu.

Pirmajame etape vertinta BR priedo neapdorotų ir UG apdorotų RP terpėje įtaka atrinktų PRB gyvybingumui ir jų gaminamų metabolitų antimikrobiniam aktyvumui; antrajame etape parinkti gelinę struktūrą sudarantys ir tekstūrą stabilizuojantys priedai ir įvertintas RP-BR matricos bei PRB stabilumas laikant.

3.3.1. Imobilizavimo sistemos apdorotų ultragarsu ryžių malimo šalutinių produktų ir bruknių uogų išspaudų pagrindu sudarymas

Probiotinio maisto produkto mitybinės vertės pagerinimui, be RP, pasirinktos bruknių uogų (*Vaccinium vitis-idaea* L.) išspaudos, turtingos sveikatai naudingų bioaktyviųjų junginių.

Taikant didelio efektyvumo skysčių chromatografiją, BR identifikuoti tokie flavonoidai, kaip kvercetas (44,7 %, kvercitrinas (28,2 %), hiperozidas (15,6 %) ir kumaro rūgštis (11,5 %) nuo bendro žinomų fenolių kiekio ($425,96 \pm 2,71 \mu\text{g/g}$). Pagal Kitrytę, bruknėse nustatytas kvercetas, kvercitrinas, hiperozidas ir kumaro rūgštis (299).

Kuriamo produkto matrica buvo komponuojama iš neapdorotų ir apdorotų UG RP ir BR priedo, keičiant jo kiekį (10–50 %) RP-BR matricoje. Vertinta BR išspaudų priedo įtaka PRB gyvybingumui neapdorotų ir apdorotų UG RP terpėse tikslu atrinkti priimtina RP ir BR santykį (RP/BR). Eksperimentui atrinktos PRB [*P. pentosaceus* 100 (Pp100), *L. brevis* 173 (Lb173), *P. acidilactici* 236 (Pa236) ir *L. paracasei* 244 (Lpc244)], kurios aktyviai dauginosi RP terpėje (84).

Analizuojant PRB antimikrobinį aktyvumą prieš indikatorinius mikroorganizmus *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Bacillus cereus* ir *Staphylococcus aureus* po 24 h ir 48 h inkubacijos mitybinėje terpėje (3.14–3.15 lent.), nustatyta, kad PRB slopinamasis poveikis priklausė nuo mikroorganizmų padermės ir fermentacijos trukmės.

Antimikrobinio aktyvumo tyrimo rezultatai rodo, kad po 24 h inkubacijos (3.14 lent.) vidutinio stiprumo inhibiciniu poveikiu (inhibicijos zonos nuo 7 mm iki 12 mm) prieš tirtus indikatorinius patogenus pasižymėjo Lb173 (slopinti 5 patogenai). Silpnesniu slopinančiu poveikiu (inhibicijos zonos nuo 6 mm iki 10 mm) pasižymėjo Pa236 (slopinti 5 patogenai), Pp100 ir Lpc244 slopino 4 patogenų augimą. Prieš

Bacillus cereus buvo aktyvūs tik Lb173 ir Pa236 filtratai, o neutralizuoti visų PRB filtratai nerodė antimikrobinio poveikio nė prieš vieną tirtą patogeną (3.15 lent.).

3.14 lentelė. PRB filtratų antimikrobinis aktyvumas po 24 h ir 48 h inkubacijos MRS terpėje difuzijos į agarą metodu (inhibicijos zonos mm, įskaitant 6 mm įdubą)

Indikatoriniai mikroorganizmai	Pp100		Lb173		Pa236		Lpc244	
	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10 ± 0,0	12 ± 0,5	10 ± 0,0	13 ± 0,0	8 ± 0,5	8 ± 0,5	10 ± 0,0	12 ± 0,0
<i>Escherichia coli</i>	11 ± 0,0	12 ± 0,0	7 ± 0,5	9 ± 0,0	10 ± 0,0	13 ± 0,0	8 ± 0,0	9 ± 0,5
<i>Salmonella typhimurium</i>	10 ± 0,5	11 ± 0,0	7 ± 0,0	8 ± 0,0	6 ± 0,0	8 ± 0,5	6 ± 0,0	8 ± 0,0
<i>Bacillus cereus</i>	–	6 ± 0,0	12 ± 0,0	13 ± 0,5	9 ± 0,5	10 ± 0,0	–	10 ± 0,5
<i>Staphylococcus aureus</i>	6 ± 0,0	8 ± 0,0	12 ± 0,0	13 ± 0,5	6 ± 0,0	7 ± 0,0	6 ± 0,0	8 ± 0,0

MRS – maistinė terpė; RP – ryžių malimo šalutinių produktų terpė, fermentuota PRB: Pp100 – *P. pentosaceus*; Lb173 – *L. brevis*; Pa236 – *P. acidilactici*; Lpc244 – *L. paracasei*.

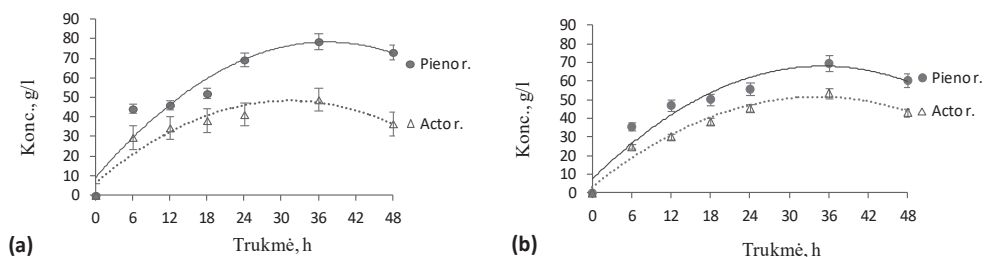
3.15 lentelė. Neutralizuotų (pH = 6,4) PRB filtratų antimikrobinis aktyvumas po 24 h ir 48 h dauginimosi MRS terpėje difuzijos į agarą metodu (inhibicijos zonos mm, įskaitant 6 mm įdubą)

Indikatoriniai mikroorganizmai	Pp100		Lb173		Pa236		Lpc244	
	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	–	–	–	–	–	8 ± 0,05	–	–
<i>Escherichia coli</i>	–	–	–	–	–	–	–	–
<i>Salmonella typhimurium</i>	–	–	–	–	–	–	–	–
<i>Bacillus cereus</i>	–	–	–	8 ± 0,05	–	8 ± 0,05	–	–
<i>Staphylococcus aureus</i>	–	–	–	–	–	–	–	–

MRS – maistinė terpė; RP – ryžių malimo šalutinių produktų terpė, fermentuota: Pp100 – *P. pentosaceus*; Lb173 – *L. brevis*; Pa236 – *P. acidilactici*; Lpc244 – *L. paracasei*.

48 h fermentacija suteikė didesnę kai kurių PRB filtratų antimikrobinį aktyvumą: Lb173, Lpc244, ir Pa236 metabolitai pasižymėjo vidutinio stiprumo (inhibicijos zonos nuo 10 mm iki 13 mm) antimikrobinio poveikio prieš *B. cereus*, o Pa236 neutralizuotas filtratas parodė poveikį (inhibicijos zona 8 mm) prieš *B. cereus* ir *P. aeruginosa*, taip pat Lb173 – prieš *B. cereus* (3.14 lent.).

Antimikrobinio aktyvumo skirtumai tarp PRB filtratų gali būti paaiškinti skirtingų organinių rūgščių, pasižyminčių skirtingu antibakteriniu poveikiu, susidarymu (3.9 pav.).



3.9 pav. Pieno ir acto rūgščių koncentracijos Lb173 (a) ir Pa236 (b) fermentacijos terpėje

Kiekybinė ir kokybinė organinių rūgščių analizė atrinktų Lb173 ir Pa236 padermių, pasižyminčių vidutinio stiprumo antimikrobinio poveikiu prieš tirtus patogenus, taip pat didesniu atsparumu rūgščiai terpei (pH = 2) (166), parodė, kad didžiausios pieno ir acto rūgšties koncentracijos susidaro terpėje po 36 h fermentacijos: fermentuojant Pa236, atitinkamai 69,65 g/l ir 53,66 g/l, o fermentuojant Lb173, atitinkamai 78,73 g/l ir 48,95 g/l.

Naudojant Pa236 susidarė 2,8 % daugiau acto rūgšties, o pieno rūgšties susidarė vidutiniškai 12,35 % daugiau, naudojant Lb173. Ilgesnė fermentacija (48 h) pieno ir acto rūgščių susidarymui reikšmingos įtakos neturėjo ($p \geq 0,05$) (3.9 pav.).

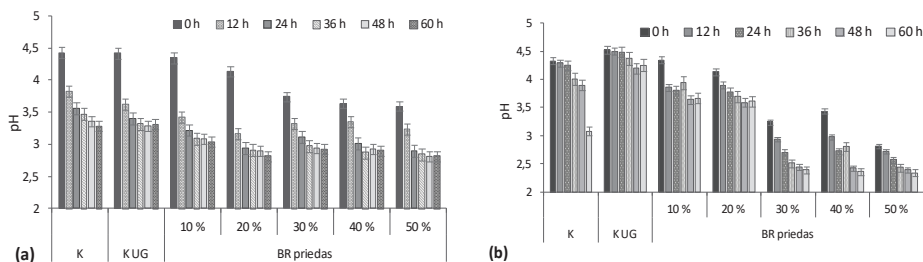
Remiantis literatūroje pateiktais duomenimis, esant mažoms pH vėrtėms, pieno rūgštis gali turėti stipresnį inhibicinį poveikį nei acto rūgštis (300).

Tyrimų metu nustatytas Lb173 antibakterinis poveikis mėginiuose, kuriuose nustatytas didesnis acto rūgšties kiekis, parodė teigiamą poveikį prieš *Streptococcus* spp., *Staphylococcus aureus*, *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa* ir *Proteus* spp. padermes, sukeliančias maisto gedimą (301).

Bruknių priedo įtaka PRB gyvybingumui ir bioaktyvumui UG apdorotoje ir neapdorotoje RP terpėje. Eksperimentui atrinktos *L. brevis* 173 ir *P. acidilactici* 236 padermės, kurių metabolitai pasižymi antimikrobinio aktyvumu ir skirtingu atsparumu rūgštinei terpei. Rezultatai parodė, kad terpės pH reikšmingai ($p < 0,05$) priklausė nuo BR priedo kiekio (10–50 %), PRB padermės ir fermentacijos trukmės (3.10 pav.).

Visu fermentacijos laikotarpiu intensyvesnis rūgštingumo padidėjimas (pH sumažėjo 25,4 %) nuo pradinių verčių nustatytas fermentuojant su Lb173, lyginant su Pa236 (atitinkamai pH sumažėjo 17,7 %) (3.10 pav.). Tai rodo, kad Lb173 mikroorganizmai RP terpėje adaptavosi greičiau; daugiausia rūgščių buvo pagaminta pirmąsias 24 h (pH sumažėjo 22 %), o vėliau rūgštingumas kito nežymiai (pH sumažėjo dar 4 %). Pa236 atveju, pH mažėjo nežymiai visu fermentacijos laikotarpiu (vidutiniškai 12,6 %).

BR priedas dėl savo didesnio rūgštingumo (pH = 2,82) padidino RP terpės pH pradiniu momentu, t. y. pridėjus 10–50 % BR priedo, fermentacijos terpės pH nustatytas 2,81–4,35 (Lb173) ir 2,34–4,35 (Pa236) ribose, o štai RP ir RP UG mėginių pH vėrtės nustatytos didesnės, t. y. 3,28–4,43 (Lb173) ir 3,08–4,52 (Pa236) ribose (3.10 pav.).



3.10 pav. BR priedo (10–50 %) įtaka pH vertėms RP terpėje, fermentuojant Lb173 (a) ir Pa236 (b) bakterijomis. Čia K – RP terpė be BR priedo; KUG – RP terpė, apdorota UG be BR priedo

Visais atvejais, naudojant UG apdorotas RP, terpės pH pokyčiai, tiek fermentuojant Lb173, tiek Pa236 atveju, nustatyti vidutiniškai 11,07 % mažesni, t. y. rūgštingumo susidarymas terpėje vyko lėčiau, lyginant su neapdorotų RP terpe. Tai rodo, kad RP terpė su didesniu AVK kiekiu padidino naudotų eksperimente PRB stabilumą.

BR priedo poveikio Lb173 gyvybingumui analizė parodė, kad visais atvejais 10–50 % BR priedas padidino vidutinį ląstelių skaičių $0,29\text{--}0,52\log_{10}$ KSV/g (Lb173), o štai 10 % BR priedas padidino $0,15\log_{10}$ KSV/g Pa236 ląstelių skaičių 24–36 h laikotarpiu, palyginti su UG apdorota RP terpe (3.16 lent.). Didesnis BR priedo kiekis (20–50 %) sumažino PRB ląstelių skaičių $0,38\text{--}0,94\log_{10}$ KSV/g (kontroliniame mėginyje ląstelių skaičiaus sumažėjimas $0,4\log_{10}$ KSV/g).

Didžiausias gyvybingų ląstelių skaičius, pridėjus BR, pastebėtas Lb173 atveju ($9,74\log_{10}$ KSV/g) ir buvo pasiektas po 24 h naudojant 50 % BR priedą. Didesnis BR priedas (30–50 %) nežymiai mažino gyvų ląstelių skaičių ($0,09\text{--}0,22\log_{10}$ KSV/g) ilgesnės fermentacijos metu (48–72 h) (3.16 lent.).

Pa236 atveju 20–50 % BR kiekis mažino ($p < 0,05$) šios padermės ląstelių išgyvenamumą. Ilgalaikė fermentacija sumažino gyvų ląstelių skaičių $0,17\text{--}0,32\log_{10}$, palyginti su UG apdorotu RP mėginiu be BR priedo, tačiau didesnis sumažėjimas buvo pastebėtas neapdorotame RP mėginyje ($0,54\log_{10}$ KSV/g).

Išbandytos PRB padermės parodė intensyvesnį augimą ir stabilumą UG apdorotose RP, palyginti su neapdorotų RP terpe. Didžiausias Lb173 ląstelių skaičius ($9,48\log_{10}$ KSV/g) buvo nustatytas UG apdorotuose RP 24–36 h fermentacijos laikotarpiu, lyginant su neapdorotais RP ($9,38\log_{10}$ KSV/g). Pa236 padermės atveju didžiausias ląstelių skaičius $9,21\text{--}9,35\log_{10}$ KSV/g ir vidutiniškai $9,54\log_{10}$ KSV/g susidarė 36–48 h fermentacijos laikotarpiu, atitinkamai neapdorotuose ir UG paveiktuose RP (3.16 lent.).

Apdorotų UG RP naudojimas leido sutrumpinti fermentacijos trukmę maždaug 12 h, t. y. PRB greičiau adaptavosi terpėje ir išliko gyvybingos 72h fermentacijos metu. UG apdorota RP terpė parodė didesnę potencialią užtikrinti tiriamų padermių stabilumą, lyginant su RP terpe: 48–72 h fermentacijos laikotarpiu neapdorotų RP terpėje nustatytas PRB gyvybingų ląstelių sumažėjimas sudarė $0,40\text{--}0,54\log_{10}$ KSV/g,

o štai UG apdorotų RP terpėje PRB gyvybingumui ši fermentacijos trukmė reikšmingos įtakos neturėjo ($p \geq 0,05$) (3.16 lent.).

Ankstesni tyrimai parodė, kad Lb173 padermė galėjo užtikrinti efektyvų ir stabilų augimą sterilizuotoje ryžių poliravimo atliekų terpėje, pasiekdamos maksimalią ląstelių koncentraciją $9,35 \log_{10}$ KSV/g per 24 h ir iki $9,48 - 9,55 \log_{10}$ KSV/g per 48 h (84).

3.16 lentelė. BR priedo (10–50 %) įtaka Lb173 ir Pa236 bakterijų ląstelių skaičiui ($\log_{10}$ KVS/g) RP fermentacijos terpėje

Mėginys	0 h	12 h	24 h	36 h	48 h	60 h	72 h
RP	$8,15 \pm 0,02$	$9,12 \pm 0,03$	$9,29 \pm 0,07$	$9,38 \pm 0,07$	$9,25 \pm 0,72$	$8,59 \pm 0,09$	$8,28 \pm 0,91$
RP UG	$8,25 \pm 0,03$	$8,96 \pm 0,07$	$9,41 \pm 0,02$	$9,48 \pm 0,05$	$9,42 \pm 0,03$	$9,12 \pm 0,06$	$8,96 \pm 0,22$
10 % BR	$8,28 \pm 0,01$	$9,31 \pm 0,10$	$9,58 \pm 0,91$	$9,62 \pm 0,41$	$9,64 \pm 0,00$	$9,41 \pm 0,56$	$9,32 \pm 0,06$
Lb173 20 % BR	$8,35 \pm 0,02$	$9,31 \pm 0,21$	$9,66 \pm 0,02$	$9,63 \pm 0,02$	$9,56 \pm 0,01$	$9,24 \pm 0,71$	$9,18 \pm 0,00$
30 % BR	$8,33 \pm 0,25$	$9,41 \pm 0,00$	$9,62 \pm 0,10$	$9,64 \pm 0,05$	$9,53 \pm 0,02$	$9,44 \pm 0,31$	$9,21 \pm 0,01$
40 % BR	$8,29 \pm 0,32$	$9,48 \pm 0,31$	$9,65 \pm 0,03$	$9,64 \pm 0,00$	$9,61 \pm 0,81$	$9,38 \pm 0,00$	$9,08 \pm 0,03$
50 % BR	$8,29 \pm 0,12$	$9,56 \pm 0,02$	$9,74 \pm 0,07$	$9,68 \pm 0,01$	$9,55 \pm 0,03$	$9,45 \pm 0,01$	$9,12 \pm 0,04$
RP	$7,95 \pm 0,22$	$8,96 \pm 0,52$	$9,29 \pm 0,05$	$9,35 \pm 0,08$	$9,21 \pm 0,04$	$8,64 \pm 0,86$	$8,44 \pm 0,47$
RP UG	$8,05 \pm 0,36$	$8,87 \pm 0,46$	$9,41 \pm 0,12$	$9,52 \pm 0,09$	$9,55 \pm 0,02$	$9,22 \pm 0,09$	$9,08 \pm 0,51$
10 % BR	$8,15 \pm 0,00$	$9,31 \pm 0,00$	$9,24 \pm 0,31$	$9,14 \pm 0,03$	$9,07 \pm 0,09$	$8,90 \pm 0,06$	$8,75 \pm 0,65$
Pa236 20 % BR	$7,93 \pm 0,01$	$8,79 \pm 0,02$	$8,96 \pm 0,02$	$8,85 \pm 0,12$	$8,78 \pm 0,25$	$8,60 \pm 0,31$	$8,44 \pm 0,21$
30 % BR	$8,21 \pm 0,01$	$8,48 \pm 0,01$	$8,44 \pm 0,01$	$8,34 \pm 0,02$	$8,18 \pm 0,04$	$8,22 \pm 0,52$	$8,04 \pm 0,02$
40 % BR	$8,07 \pm 0,05$	$8,32 \pm 0,03$	$8,17 \pm 0,01$	$8,25 \pm 0,22$	$8,31 \pm 0,03$	$7,97 \pm 0,09$	$7,88 \pm 0,72$
50 % BR	$7,70 \pm 0,01$	$8,22 \pm 0,05$	$8,17 \pm 0,01$	$8,16 \pm 0,03$	$8,05 \pm 0,08$	$7,99 \pm 0,52$	$7,74 \pm 0,21$

Čia RP – ryžių malimo šalutinių produktų terpė; RP UG – RP, apdorotos UG (20 min, 40 °C); 10; 20; 30; 40; 50 % BR – RP su atitinkamu BR išspaudų kiekiu.

Tyrimas rodo, kad RP funkcionalizavimas UG prieš fermentaciją pagerino analizuojamų PRB padermių augimo intensyvumą. Pagal Cui ir kt. (122), UG apdorojimas inicijuoja jungčių hidrolizę tarp grūdų matricos ir smulkių komponentų, padidinančių jų kiekį terpėje, taip didinant jų prieinamumą mikroorganizmams, ir maisto medžiagos panaudojamos efektyviau. Substrato funkcionalizavimo intensyvinimas UG leidžia sutrumpinti fermentacijos trukmę ir pagerinti proceso efektyvumą (114); tai rodo, kad UG yra perspektyvus fermentacijos proceso intensyvinimo būdas.

BR priedo įtaka PRB antimikrobinėms savybėms RP terpėje. Atrinktų PRB padermių antimikrobinio aktyvumo rezultatai RP terpėje po 24 h ir 48 h fermentacijos pateikti atitinkamai 3.17 ir 3.18 lentelėse. Pp236 padermė buvo aktyvi prieš tris iš indikatorinių mikroorganizmų (*E. coli*, *S. typhimurium* ir *B. cereus*) (3.17 lent.), o štai Lb173 padermė parodė mažą (inhibicijos zonos nuo 6 mm iki 10 mm) ir vidutinį poveikį (inhibicijos zonos nuo 10 mm iki 15 mm) prieš visas penkias tirtas padermes (3.18 lent.). Nustatyta, kad UG apdorotų fermentuotų Pp236 RP 48 h filtratai

padidino antimikrobinį aktyvumą iki vidutinio (inhibicijos zonos 10 mm) prieš *E. coli* ir *S. typhimurium*, o Lb173 filtratai – prieš *P. aeruginosa*, lyginant su neapdorotais RP mėginiais.

3.17 lentelė. BR priedo (10–50 %) įtaka neapdorotų, UG apdorotų ir fermentuotų Pa236 RP filtratų ir neutralizuotų (pH = 6,4) filtratų antimikrobinis aktyvumas difuzijos į agarą metodu (inhibicijos zonos mm, įskaitant 6 mm įdubą)

RP mėginiai		<i>E. coli</i>		<i>S. typhimurium</i>		<i>B. cereus</i>		<i>St. aureus</i>		<i>P. aeruginosa</i>	
		24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h
RP	F	6 ± 0,0	7 ± 0,5	–	6 ± 0,0	–	6 ± 0,5	–	–	–	–
	NF	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
RP	F	–	10 ± 0,0	–	10 ± 0,0	6 ± 0,0	8 ± 0,0	–	–	–	6 ± 0,0
UG	NF	–	7 ± 0,0	–	–	–	–	–	–	–	–
RP UG su BR priedu:											
10 %	F	–	11 ± 0,5	–	7 ± 0,0	8 ± 0,0	11 ± 0,0	–	6 ± 0,5	–	6 ± 0,0
	NF	–	8 ± 0,0	–	–	–	–	–	–	–	–
20 %	F	–	11 ± 0,5	10 ± 0,0	9 ± 0,0	6 ± 0,0	7 ± 0,0	–	7 ± 0,0	–	6 ± 0,0
	NF	–	7 ± 0,0	–	–	–	–	–	–	–	–
30 %	F	6 ± 0,0	10 ± 0,0	8 ± 0,0	10 ± 0,5	–	7 ± 0,0	6 ± 0,5	9 ± 0,0	–	6 ± 0,5
	NF	–	7 ± 0,0	–	–	–	–	–	–	–	–
40 %	F	6 ± 0,0	9 ± 0,0	6 ± 0,0	7 ± 0,0	–	7 ± 0,0	6 ± 0,0	9 ± 0,0	–	6 ± 0,0
	NF	–	7 ± 0,5	–	–	–	–	–	–	–	–
50 %	F	6 ± 0,5	7 ± 0,0	6 ± 0,0	7 ± 0,5	–	–	6 ± 0,0	8 ± 0,0	–	6 ± 0,5
	NF	–	6 ± 0,0	–	–	–	–	–	6 ± 0,0	–	–

RP – ryžių malimo šalutinių produktų terpė; Pa236 – *P. acidilactici* 236; F – filtratas; NF – neutralizuotas filtratas.

PRB padermių metabolitų antimikrobinio aktyvumo padidėjimas prieš *B. cereus* fiksuotas po 24 h fermentuotuose RP UG mėginiuose. Neutralizuotas 48 h fermentacijos Pa236 filtratas parodė mažą (inhibicijos zonos 7 mm) antimikrobinį aktyvumą prieš *E. coli*, palyginus su Lb173 mėginiu, kuriam jis nenustatytas (3.18 lent.).

Vienas iš pagrindinių augimo slopinimo mechanizmų prieš patogenus gali atsirasti dėl organinių rūgščių gamybos, tai rodo sumažėjęs terpės pH (3.10 pav.). Taip pat didesnis pieno ir acto rūgščių kiekis susidarė būtent 24–48 h fermentacijos laikotarpiu (3.9 pav.).

Literatūros duomenimis, esant mažoms pH vertėms, pieno rūgštis gali turėti stipresnį slopinamąjį poveikį, palyginti su acto rūgštimi (300). Wali ir Abed (302) tyrimai rodo, kad acto rūgštis, esant minimaliai slopinančiajai koncentracijai nuo 0,5 % iki 2,5 %, gali sumažinti patogeninių bakterijų, tokių kaip *Streptococcus* spp., *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa* ir *Proteus* spp. Taip pat, pagal literatūros duomenis, BR esanti kumaro rūgštis veiksmingai slopino mikroorganizmų augimą (199).

Mūsų tyrime PRB filtratų neutralizavimas daugeliu atvejų sumažino antagonistinį PRB poveikį.

BR priedai kai kuriais atvejais pagerino Pa236 fermentuotų RP filtratų antimikrobinį aktyvumą, lyginant su RP UG terpe (3.17 lent.). 10–20 % BR priedai pagerino arba nesukėlė antimikrobinio aktyvumo skirtumų prieš analizuojamas patogenines padermes. Be to, šie RP-BR mėginiai parodė patogenų augimą slopinantį aktyvumą (inhibicijos zonos nuo 6 mm iki 12 mm) po 48 h fermentacijos prieš *St. aureus*, kurio neparodė neapdorotas UG ryžių malimo šalutinių produktų mėginys. Didesni BR kiekiai (30–50 %) sumažino RP filtratų, gautų po 48 h fermentacijos Pa236, antimikrobinį aktyvumą prieš *E. coli*, *S. typhimurium* ir *B. cereus*. Pastebėta, kad pridėjus didesnius BR kiekius, 24 h Pa236 fermentuotuose RP mėginiuose antimikrobinis aktyvumas prieš *E. coli* ir *St. aureus* buvo silpnas (inhibicijos zonos nuo 6 mm iki 9 mm), lyginant su RP UG terpe (3.17 lent.). Be to, silpną slopinamąjį poveikį (inhibicijos zona 6 mm) prieš *St. aureus* parodė neutralizuotas RP UG filtratas, gautas po 48 h fermentacijos Pa236 terpėje su 50 % BR priedu (3.17 lent.).

Lb173 atveju (3.18 lent.) į RP UG terpę pridėjus 20–50 % BR, antimikrobinis aktyvumas prieš *E. coli*, *S. typhimurium* ir *B. cereus* padidėjo nuo mažo (inhibicijos zonos nuo 6 mm iki 9 mm) iki vidutinio (inhibicijos zonos nuo 10 mm iki 15 mm) po 24 h ir 48 h fermentacijos, o mažas (inhibicijos zonos nuo 6 mm iki 9 mm) arba vidutinis (inhibicijos zonos nuo 10 mm iki 12 mm) augimą slopinantis aktyvumas prieš *St. aureus* nustatytas po 48 h fermentacijos. Didesnis BR kiekis (30–50 %) padidino RP fermentuotų Lb173 filtratų augimą stabdantį poveikį prieš *S. typhimurium* (inhibicijos zonos nuo 6 mm iki 15 mm) po 24 h ar 48 h fermentacijos (3.18 lent.).

Tyrimas parodė, kad BR priedas neturėjo didelės įtakos fermentuotų Pa236 ir Lb173 RP filtratų antimikrobiniam aktyvumui prieš *P. aeruginosa*. Pastebėta, kad pridėjus 20–30 % BR, neutralizuoti Lb173 filtratai kai kuriais atvejais slopino (inhibicijos zonos nuo 6 mm iki 15 mm) visų analizuotų indikatorinių padermių augimą (3.18 lent.). Apibendrinant galima teigti, kad RP-B0R mėginiai, fermentuoti Lb173, daugeliu atvejų parodė stipresnį antimikrobinį aktyvumą prieš tirtus indikatorinius mikroorganizmus, lyginant su Pa236.

3.18 lentelė. BR priedo (10–50 %) įtaka neapdorotų, UG apdorotų ir fermentuotų Lb173 RP filtratų, taip pat neutralizuotų (pH = 6,4) filtratų antimikrobiniam aktyvumui difuzijos į agarą metodu (inhibicijos zonos mm, įskaitant 6 mm įdubą)

RP mėginiai		<i>E. coli</i>		<i>S. typhimurium</i>		<i>B. cereus</i>		<i>St. aureus</i>		<i>P. aeruginosa</i>	
		24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h
RP	F	6 ± 0,5	7 ± 0,0	6 ± 0,0	7 ± 0,0	–	6 ± 0,0	–	6 ± 0,0	6 ± 0,5	6 ± 0,0
	NF	–	–	–	6 ± 0,0	–	–	–	–	–	–
RP UG	F	6 ± 0,0	8 ± 0,5	7 ± 0,5	8 ± 0,0	10 ± 0,0	9 ± 0,5	6 ± 0,0	–	7 ± 0,5	10 ± 0,0
	NF	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
RP UG su BR priedu:											
10 %	F	7 ± 0,0	12 ± 0,5	7 ± 0,0	10 ± 0,0	10 ± 0,5	9 ± 0,0	6 ± 0,0	–	6 ± 0,0	10 ± 0,5
	NF	–	–	–	–	–	6 ± 0,0	–	–	–	–
20 %	F	10 ± 0,0	12 ± 0,0	7 ± 0,0	7 ± 0,0	11 ± 0,5	12 ± 0,0	6 ± 0,5	7 ± 0,0	10 ± 0,0	11 ± 0,0
	NF	–	6 ± 0,0	–	–	–	7 ± 0,0	–	7 ± 0,0	–	–
30 %	F	11 ± 0,5	13 ± 0,0	15 ± 0,0	14 ± 0,5	10 ± 0,0	13 ± 0,0	6 ± 0,0	8 ± 0,0	7 ± 0,0	12 ± 0,5
	NF	–	6 ± 0,0	–	6 ± 0,0	–	6 ± 0,0	–	6 ± 0,0	–	–
40 %	F	10 ± 0,0	13 ± 0,0	13 ± 0,5	15 ± 0,0	12 ± 0,0	13 ± 0,0	9 ± 0,0	12 ± 0,5	6 ± 0,0	11 ± 0,0
	NF	7 ± 0,0	7 ± 0,5	6 ± 0,0	7 ± 0,0	7 ± 0,0	7 ± 0,0	–	7 ± 0,0	7 ± 0,0	8 ± 0,0
50 %	F	10 ± 0,5	14 ± 0,0	10 ± 0,0	11 ± 0,0	10 ± 0,0	12 ± 0,0	7 ± 0,5	11 ± 0,5	7 ± 0,0	10 ± 0,5
	NF	7 ± 0,0	8 ± 0,0	6 ± 0,0	7 ± 0,0	6 ± 0,0	7 ± 0,0	–	6 ± 0,0	6 ± 0,0	8 ± 0,0

RP – ryžių malimo šalutinių produktų terpė; Lb173 – *L. brevis* 173; F – filtratas; NF – neutralizuotas filtratas.

Apibendrinimas. Remiantis gautais rezultatais galima teigti, kad RP esantis AVK kai kuriais atvejais galėjo padidinti PRB antimikrobinį aktyvumą prieš gramneigiamąsias bakterijas (prieš *E. coli* Pa236 atveju). Atlikti tyrimai parodo, kad apdorojimas aukštojo dažnio UG nedidelės temperatūros aplinkoje gali būti panaudotas ryžių malimo šalutinių produktų kaip PRB fermentacijos substrato funkcionalumui padidinti ir kartu su BR perdirbimui į pageidaujamų savybių galutinį produktą (306, 312). Pagal literatūros duomenis, AVK slopina *Streptococcus* spp. ir *E. coli* bakterijų augimą, nes AVK žarnyno terpėje išskiria bifidobakterijas, kurios slopina patogeninių mikroorganizmų augimą (305).

Rezultatai rodo, kad BR priedas didina PRB antimikrobinį aktyvumą, o RP apdorojimas UG padidina PRB stabilumą fermentacijos metu, taip pat pagerina PRB antimikrobinį aktyvumą prieš gramneigiamąsias bakterijas, tokias kaip *S. typhimurium*, *P. aeruginosa* ir *E. coli*.

Antimikrobinio aktyvumo skirtumus tarp analizuojamų PRB galima paaiškinti mikroorganizmų fermentų sistemos skirtumais (306). PRB fermentacija gali inicijuoti netirpiųjų nelaisvųjų fenolinių rūgščių hidrolizę į tirpiąsias fenolines rūgštis, veikiant įvairiems fermentams, tokiems kaip celiulazė (307).

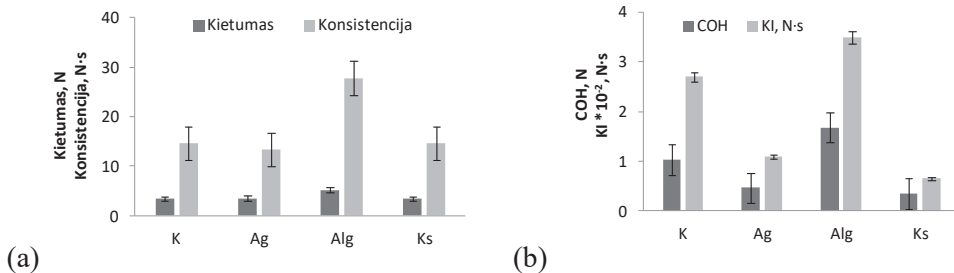
Remiantis literatūra, antimikrobinis PRB metabolitų poveikis gali būti priskirtas ne tik organinėms rūgštims, bet ir bioaktyviems peptidams ar fenoliniams junginiams (302, 303). Be to, BR priedas galėjo turėti įtakos patogeninių bakterijų

slopinimui dėl jų sudėtyje esančių fenolinių junginių. Remiantis literatūra, kvercetas, kofeino rūgštis, kumaro rūgštis, tanino rūgštis ir katecholis veiksmingai slopina žmogaus patogenų augimą (308), tačiau poveikis buvo minimalus dėl mažo jų kiekio BR terpėje.

Paprastai uogų ekstraktai slopina gramneigiamąsias bakterijas (199), šie pokyčiai gali atspindėti ląstelių paviršiaus struktūrų skirtumus tarp gramneigiamųjų ir gramteigiamųjų bakterijų (308). Gramneigiamųjų bakterijų išorinė membrana paprastai veikia kaip difuzijos barjeras nepolinių junginių atžvilgiu, tai lemia asimetriją išoriniame membranos sluoksnyje, kurį daugiausia sudaro lipopolisaharidai ir baltymai, o štai fosfolipidai orientuoti į vidinį membranos sluoksnį (302). Gramteigiamųjų bakterijų sienelė veikia kaip prevencinė kliūtis nuo hidrofobinių junginių (309).

Remiantis gautais rezultatais, RP-BR matricos sudarymui pasirinktas maksimalus 50 % BR išspaudų priedas, o imobilizavimui šioje matricoje atrinkta *L. brevis* 173 padermė, kurios metabolitai pasižymi antimikrobiniu aktyvumu prieš kai kuriuos maisto patogenus ir atsparumu rūgščiai terpei.

Stingdiklių/tirštiklių parinkimas RP-BR matricos stabilumui padidinti. Imobilizavimo sistemos tekstūros stabilumui užtikrinti pasirinkti skirtingi stingdikliai – agaras (Ag), natrio alginatas (Alg) ir tirštiklis ksantano derva (Ks). Jų pasirinkimo RP-BR gelių su imobilizuotomis PRB tekstūrai tyrimo rezultatai pateikti 3.11 paveiksle.



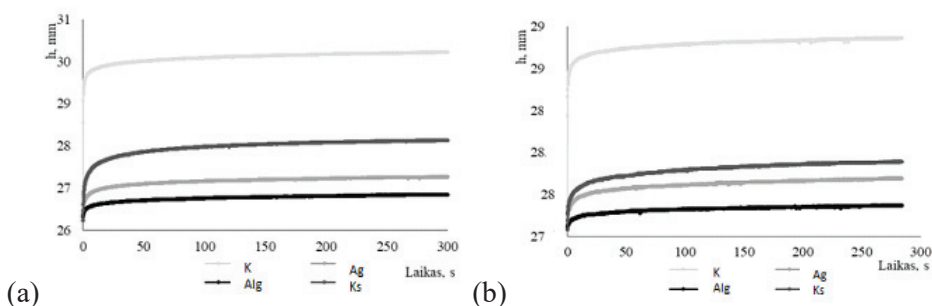
3.11 pav. RP-BR mėginių su skirtingais stingdikliais kietumas ir konsistencija (a); lipnumas (COH) ir klampos indeksas (KI) (B). Čia K – kontrolinis mėginys be stingdiklių, Ag – agaras, Alg – natrio alginatas, Ks – ksantano derva

Rezultatai parodė, kad stingdikliai turėjo skirtingą įtaką modelinių sistemų tekstūros parametrams. Didžiausios sistemos kietumo ir konsistencijos vertės nustatytos mėginio su natrio alginatu (atitinkamai 5,2 N ir 27,8 N·s), o mažiausiomis šių parametrų vertėmis pasižymėjo mėginiai, ruošti su agaru ir ksantano derva (atitinkamai vidutiniškai 3,46 N ir 13,97 N·s) (3.11(a) pav.).

Rezultatai rodo, kad su Alg ruoštas RP-BR mėginys pasižymėjo didžiausiomis klampumo indekso ir kohezijos vertėmis (atitinkamai $1,68 \cdot 10^{-2}$ N·s ir 3,5 N), lyginant su mėginiais, ruoštais su Ag ir Ks (vidutiniškai $0,87 \cdot 10^{-2}$ N ir 0,41 N) (3.11(b) pav.). Pagal gautus rezultatus, tvirčiausia RP-BR matricos tekstūra gaunama su alginatu.

Stingdiklio pasirinkimas turėjo įtakos RP-BR masės homogeniškumui ir PRB suspensijos pasiskirstymui. Ks yra hidrofilinis polimeras, kurio tirpalai pasižymi dideliu klampumu ir dideliu pseudoplastiškumu, o mėginiai su Alg parodė žymiai didesnę klampumą ir koheziškumą nei mėginiai su Ag ir Ks.

Taip pat vertinta RP-BR masės konsistencija, analizuojant skirtingų stingdiklių ir tirštiklio įtaką jos stingimo greičiui. Tyrimai atlikti akustiniu klamos matuokliu iš karto po masės apdorojimo UG ir po 6 h laikymo kambario temperatūros aplinkoje, matuojant parametro h pokyčius. Nustatyta, kad didžiausiomis parametro h vertėmis, t. y. mažiausia klampa, matavimo periodu (300 s) ir mažiausiais pokyčiais po 6 h laikymo išsiskyrė kontrolinis mėginys be stingdiklių (3.12 pav.). Mėginių su Ag ir Ks pradinės h vertės nustatytos 6,7–11,7 % mažesnės, lyginant su Alg mėginiais, bet didesni pokyčiai užfiksuoti po išlaikymo – mėginių tirštėjimo procesas prasidėjo iš karto po įmaišymo į RP/BR masę.



3.12 pav. Parametro h vertės, analizuojant RP/BR mėginius, ruoštus su skirtingais stingdikliais pradinio momentu (a) ir po 6 h (b)

Remiantis tekstūros analize (3.11–3.12 pav.) matyti, kad RB-BR mėginių su Ag ir Ks klampumas mažesnis nei ruošų su Alg, tai mažino vandens sulaikymą analizuojamoje matricoje, o mėginiuose su Alg vandens išsiskyrimas nepastebėtas.

BR savo sudėtyje turi pektino, kuris suteikia produktui klampumo. Pektino buvimas lemia papildomų vandenilio ir kovalentinių jungčių susidarymą tarp sudedamųjų dalių molekulių, padedančių stabilizuoti struktūrą ir pagerinti produkto konsistenciją. Pektino funkcines savybes lemia jo gebėjimas surišti ir pašalinti iš organizmo toksiškus junginius (303, 310). Tikėtina, kad didesnis stabilizuojančių hidrokoloidų, RP skaidulinių medžiagų ir bruknių išspaudų pektino, masės dalies vandens absorbcijos pajėgumas padidino vandens sulaikymą produkto matricoje.

3.3.2. Produkto stabilumas ir imobilizuotų pieno rūgšties bakterijų gyvybingumas laikant

Remiantis antimikrobinio aktyvumo tyrimų rezultatais, imobilizavimui RP-BR matricoje pasirinkta Lb173 biomasė, padauginta RP-BR apdorotų UG ultragarsu terpėje. PRB mikroorganizmų kiekis suspensijoje prieš imobilizavimą nustatytas $8,22 \log_{10}$ KVS/g, po imobilizavimo PRB skaičius RP-BR mėginiuose sudarė vidutiniškai $7,38 \log_{10}$ KVS/g.

Tyrimo rezultatai rodo, kad stabilizuota alginatu ir/ar ksantanu RP-BR matrica gali sėkmingai užtikrinti pakankamą gyvybingų PRB ląstelių skaičių produkte, apsaugoti jas nuo žuvimo laikant, tai sudaro sąlygas funkcinį maisto produktą ir (arba) maistinių medžiagų, turinčių pridėtinę vertę, kūrimui.

Apibendrinimas. RP ir BR cheminės sudėties komponentai turėjo reikšmingos įtakos antimikrobinėms produkto savybėms. RP apdorojimas UG lėtino PRB žūties fazę, o BR priedas (50 %) 9,8 % padidino Lb173 ląstelių skaičių RP-BR matricoje. Tyrimai parodė, kad Lb173 metabolitai, susidarę RP su 50 % BR terpėje, pasižymėjo didžiausiu antimikrobinio aktyvumu prieš tirtus patogeninius mikroorganizmus (slopinti 5 patogenai). Tyrimas parodė, kad RP ir BR gali būti perspektyvūs ingredientai, gaminant funkcinį produktą, turintį specifinių savybių.

Nustatyta, kad RP-BR matricos stabilumui ir imobilizuotų PRB ląstelių gyvybingumui laikant reikšmingą įtaką ($p < 0,05$) turėjo temperatūra ir stingdiklio rūšis. Stabiliausia RP-BR produkto tekstūra gauta naudojant natrį alginatą, lyginant su agaru ir ksantano derva. Didžiausias ląstelių skaičiaus sumažėjimas, laikant 4 °C temperatūros sąlygomis, laikotarpio pabaigoje nustatytas RP-BR mėginyje su ksantanu (2,46log₁₀ KSV/g), o stabiliausios PRB ląstelės išliko produkte su alginatu (pokytis 0,76log KSV/g).

3.4. Funkcionalizuotų ryžių malimo šalutinių produktų panaudojimas daržo augalų ligų prevencijai ir augimo intensyvumui pagerinti

Didėjant visuomenės susidomėjimui maisto tvarumu ir sauga, žemės ūkio ir pramonės šalutinių produktų racionalus utilizavimas, taikant aplinkai nekenksmingas technologijas, pagerintų jų perdirbimo grandinės tvarumą. Vienas iš galimų būdų šalutinius grūdų perdirbimo produktus paversti organiniu substratu sodo augalams, taikant ekologiškas technologijas, pagerintų maisto perdirbimo grandinės tvarumą. Be to, dirvožemio biologinis ir maistinis potencialas yra svarbūs kriterijai, gerinant augalų atsparumą ir užtikrinant maisto saugą.

Šiame etape ultragarsu apdoroti (UG), apdoroti UG ir fermentais hidrolizuoti (UG_{+FH}), taip pat fermentuoti atitinkamomis PRB (Lb173, Lu245, Pa29) (F) RP mėginiai buvo naudoti kaip priedai (10 %) daržo augalų, tokių kaip pupelės ir pomidorai, auginimo substratui (DAS) praturtinti esant šiltnamio sąlygoms. Taikytų priemonių efektyvumas vertintas pagal sėklų daigumą, ūglių aukštį, daigų šaknų ilgį ir chlorofilo koncentraciją augalų lapuose. Taip pat analizuojant RP buvo ištirtas priešgrybelinis aktyvumas prieš septyniolika augalų fitopatogenų, susijusių su stiebo ir šaknų puvinio.

3.4.1. Funkcionalizuotų ryžių malimo šalutinių produktų filtratų antigrybinio aktyvumo įvertinimas prieš grybinės kilmės lauko patogenus

Funkcionalizuoto RP substrato charakterizavimas. Skirtingai apdorotų RP mėginių cheminės sudėties komponentų analizės rezultatai pateikti 3.19 lentelėje. Nustatyta, kad RP mėginių pH kito nuo 6,48 iki 6,70 neapdorotuose RP ir UG ar fermentais apdorotuose RP mėginiuose, o fermentuotų RP mėginių pH nustatytas

3,58 ir 3,89 ribose. Pagal Jarboui R. (312), pH vertė yra vienas iš pagrindinių veiksnių, turinčių įtakos augalų augimui. Optimalios dirvožemio sąlygos pomidorų sėkloms dygti ir augalų augimui yra artimos šarminėms (pH = 6,0–7,5) (312), o pupoms tinkamos šiek tiek rūgštesnės sąlygos (pH = 5,8–6,5).

3.19 lentelė. pH, pieno rūgšties bakterijų (PRB) skaičius ($\log_{10}$ KSV/g), baltymų, sacharidų ir organinių rūgščių kiekiai (g/100 g s. m.), bendrasis fenolinių junginių kiekis (BFJ) (mg GAE/g s. m.) RP mėginiuose

Parametrai	RP mėginiai					
	RP	UG	UG _{+FH}	F _{Pa29}	F _{Lb173}	F _{Lu245}
pH	6,48 ± 0,02 ^a	6,50 ± 0,01 ^a	6,70 ± 0,01 ^a	3,67 ± 0,02 ^b	3,58 ± 0,00 ^{bc}	3,89 ± 0,02 ^b
PRB	–	–	–	8,21 ± 0,23 ^{ab}	8,68 ± 0,19 ^a	8,15 ± 0,11 ^b
Baltymai	16,05 ± 0,09 ^a	16,43 ± 0,29 ^a	15,99 ± 0,02 ^a	14,39 ± 0,27 ^b	14,25 ± 0,2 ^b	13,68 ± 0,03 ^b
Sacharidai	3,89 ± 0,01 ^c	11,25 ± 0,02 ^d	19,98 ± 0,03 ^a	15,42 ± 0,02 ^c	17,66 ± 0,03 ^b	14,98 ± 0,02 ^c
PR	–	–	–	0,21 ± 0,37 ^b	0,23 ± 0,27 ^{aa}	0,20 ± 0,36 ^c
L-PR	–	–	–	0,08 ± 0,27 ^c	0,13 ± 0,25 ^a	0,10 ± 0,21 ^b
D-PR	–	–	–	0,13 ± 0,15 ^a	0,11 ± 0,17 ^b	0,09 ± 0,22 ^c
L/D santykis	–	–	–	0,64 ± 0,03 ^b	1,15 ± 0,06 ^a	1,13 ± 0,02 ^a
Propiono rūgštis	–	–	–	0,82 ± 0,13 ^b	0,40 ± 0,22 ^c	1,72 ± 0,23 ^a
Acto rūgštis	–	–	–	11,49 ± 0,21 ^b	14,24 ± 0,42 ^a	10,54 ± 0,32 ^c
BFJ	0,61 ± 0,14 ^d	1,17 ± 0,06 ^f	1,28 ± 0,05 ^e	0,82 ± 0,12 ^c	1,04 ± 0,46 ^a	0,96 ± 0,41 ^b

Vidurkis ± standartinis nuokrypis ($n = 3$). Vertės su skirtingomis indekso raidėmis toje pačioje eilutėje reikšmingai skiriasi ($p < 0,05$). Čia RP – neapdoroti RP; UG – apdorojimas ultragarsu; UG_{+FH} – apdorojimas ultragarsu ir fermentais; PRB: Pa29 – *P. acidilactici* 29; Lb173 – *L. brevis* 173; Lu245 – *L. uvarum* 245; PR – pieno rūgšties kiekis; BFJ – bendrasis fenolinių junginių kiekis.

Rezultatai rodo, kad UG apdorojimas neturėjo reikšmingos įtakos ($p < 0,05$) baltymų kiekiui RP mėginiuose, jis kito ribose 15,99–16,43 g/100 g s. m., pasak Nazari ir kt. (313), ultragarsas sutrikdo vandenilio ryšius ir hidrofobines sąveikas, todėl antrinėse ir tretinėse baltymo struktūrose atsiranda konformacinių pokyčių. PRB fermentacija (36 h, 30 °C) sumažino baltymų kiekį 10,3–14,8 %, lyginant su nefermentuotais mėginiais. Pagal Taniguchi (251) ir Wang (252), kietafazės fermentacijos (KF) proceso metu RP baltymų frakcija atlieka svarbų vaidmenį kaip azoto šaltinis PRB augimui. Taip pat, remiantis literatūra, baltymų kiekio sumažėjimas fermentuotuose ryžiuose (8–19 %) (314), siejamas su baltymų išplovimu į skystąją frakciją arba dėl proteolitinių fermentų veikimo, kurie suskaido baltymą į mažesnės molekulinės masės fragmentus (315).

Apdorojimas UG 2,9 karto padidino bendrą sacharidų kiekį, palyginus su kontroliniu mėginiu (3,89 g/100 g s. m.), didžiausias sacharidų kiekis nustatytas UG_{+FH} mėginyje (19,98 g/100 g s. m.), o štai fermentuotuose RP mėginiuose sacharidų kiekis kito nuo 14,98 iki 17,66 g/100 g s. m. Angliavandeniai, būdami vienas iš pagrindinių augalų ląstelių energijos šaltinių, atlieka esminį vaidmenį sėklų daiginimo procese (316), taigi, UG ir UG_{+FH} apdorojimai šiuo atžvilgiu būtų vertingesni.

PR kiekis fermentuotuose RP mėginiuose kito ribose nuo 19,66 iki 23,42 g/100 g s. m., o PR izomerų L/D santykis nustatytas ribose 0,64–1,15 ir priklauso nuo PRB padermės. L-PR koncentracija kito nuo 0,08 g/100 g s. m. (Pa29) ir 0,13 g/100 g s. m. (Lb173), o D-PR kiekis nustatytas nuo 0,09 g/100 g s. m. (Lu245) ir 0,13 g/100 g s. m. (Pa29).

Acto ir propiono rūgščių kiekis fermentuotuose RP nustatyti, atitinkamai 10,54–14,24 ir 0,40–1,72 g/100 g s. m. (3.19 lent.). Wang ir kt. (252) gavo 210 g/l L-PR, fermentuojant nuriebintas RP. Be to, Tanaka ir kt. (317) nuriebintas RP naudojo kaip anglies šaltinį D-PR gamybai, gaudami apie 28 g/l D-PR.

BFJ kiekis RP mėginiuose svyravo atitinkamai nuo 0,61 iki 1,28 mg GAE/g s. m. (3.19 lent.). Shao ir kt. (318) baltųjų ryžių žaliavoje nustatė BFJ nuo 14,6 iki 33,4 mg GAE/100 g, o raudonuosiuose ryžiuose nuo 66,8 iki 422,2 mg GAE/100 g). Tyrimo rezultatai parodė, kad UG apdorojimas padidino BFJ kiekį 2 kartus, o PKF procesas padidino BFJ kiekį 33,8–70,1 %, tai priklausė nuo fermentacijai naudojamos PRB. Panašius rezultatus gavo Iftikhar ir kt. (319), ultragarsu padidintas bendras fenolio ir flavonoidų kiekis pagal proceso temperatūros, laiko ir vandens bei tirpiklio santykį. Nisa ir kt. (276) teigė, kad fenolių kiekis buvo žymiai padidėjęs, fermentuojant RP *Lactobacillus plantarum*.

Chromatografinės analizės metu RP ekstraktuose identifikuotos fenolinės rūgštys, tokios kaip *p*-kumaro, ferulo, vanilino, cinamono ir sinapo, kurių kiekis (26,76–41,20 μg/g s. m.) priklausė nuo RP apdorojimo būdo (3.20 lent.). Didžiausi ferulo (12,36–16,27 μg/g s. m.) ir cinamono rūgšties (14,38–15,12 μg/g s. m.) kiekiai nustatyti UG apdorotose RP mėginiuose. Pasak Shao ir kt. (318), fenolinių rūgščių daugiausia egzistavo nelaisvojoje formoje, tarp jų vanilino rūgšties kiekis juoduosiuose ryžiuose kito nuo 24 μg/g iki 54 μg/g, o štai *p*-kumaro rūgšties kiekis sudarė <35 μg/g raudonuosiuose ir juoduosiuose ryžiuose. Kalbant apie ferulo rūgštį, kuri daugiausia aptinkama nelaisvosios formos, juoduosiuose ryžiuose nustatytas didesnis kiekis (40–179 μg/g) (318). Padidėjęs fenolio rūgšties kiekis RP daugiausia atsiranda dėl junginių skilimo kartu su ligninu.

Didžiausias bendras fenolinių rūgščių kiekis nustatytas UG apdorotuose RP mėginiuose (41,14–41,20 μg/g s. m.), o fermentuotuose RP mėginiuose fenolinių rūgščių kiekis buvo žymiai mažesnis (28,45–35,95 μg/g s. m.), palyginti su neapdorotais RP (26,76 μg/g s. m.) (3.20 lent.).

Pasak Abd Razak ir kt., fermentacija su *Rhizopus oligosporus* ir *Monascus purpureus* padidino fenolinių rūgščių kiekį ir antioksidacinį aktyvumą (85). Autoriai siūlo UG ir PKF naujumą, siekiant padidinti fitocheminį medžiagų kiekį ir pagerinti biologines savybes. Borges ir kt. (320) pranešė apie ferulo ir galo rūgštis, rodančias antimikrobinį poveikį maisto patogenams, tokiems kaip *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* ir *Listeria monocytogenes*.

Augaluose esantys fenoliai, įskaitant tirpiuosius ir netirpiuosius nelaisvuosius fenolinius junginius (321), ypač fenolines rūgštis, gali būti iš dalies atlaisvinti lignoceliuliozes skaidant hidrolizininiais fermentais (įskaitant celobiohidrolazes (CBH), endogliukanazes (EG), β-gliukozidazę (BGL) ir įvairias hemiceliulazes) (322, 323, 324). Liu ir kt. (96) pranešė, kad po kompleksinės ryžių malimo šalutinių produktų

hidrolizės fermentais padidėjo bendrasis fenolių ir flavonoidų kiekis (atitinkamai 46,24 % ir 79,13 %). Taigi, trumpai tariant, pagrindinis fenolių vaidmuo yra veikti kaip augalų augimo reguliatoriams (324), rodantiems priešgrybelines ir antibakterines savybes (320, 325).

3.20 lentelė. Identifikuotos fenolinės rūgštys (FR) ir jų kiekiai ($\mu\text{g/g s. m.}$) RP mėginiuose

RP mėginiai	<i>p</i> -kumaro	Ferulo	Vanilino	Cinamono	Sinapo	Iš viso FR kiekis
RP	$2,49 \pm 0,02^c$	$10,75 \pm 0,02^d$	$1,16 \pm 0,03^e$	$9,18 \pm 0,02^c$	$3,18 \pm 0,00^d$	$26,76 \pm 0,01^e$
UG	$5,93 \pm 0,05^b$	$16,27 \pm 0,01^e$	$1,59 \pm 0,02^c$	$14,38 \pm 0,12^b$	$3,03 \pm 0,04^d$	$41,20 \pm 0,05^a$
UG _{+FH}	$8,01 \pm 0,02^a$	$12,36 \pm 0,02^c$	$1,33 \pm 0,01^d$	$15,12 \pm 0,05^a$	$4,32 \pm 0,00^c$	$41,14 \pm 0,03^a$
F _{Pa29}	$0,89 \pm 0,01^d$	$15,12 \pm 0,01^a$	$3,14 \pm 0,01^b$	$3,13 \pm 0,00^d$	$13,67 \pm 0,00^a$	$35,95 \pm 0,02^b$
F _{Lb173}	$0,64 \pm 0,01^e$	$15,49 \pm 0,10^a$	$3,04 \pm 0,01^b$	$1,25 \pm 0,01^e$	$10,23 \pm 0,05^b$	$30,65 \pm 0,01^c$
F _{Lu245}	$0,82 \pm 0,01^d$	$13,81 \pm 0,01^b$	$3,56 \pm 0,01^a$	–	$10,26 \pm 0,00^b$	$28,45 \pm 0,02^d$

Duomenys yra vidurkis $\pm$ standartinis nuokrypis ($n = 3$). Vertės su skirtingomis indeksu raidėmis tame pačiame stulpelyje rodo reikšmingus skirtumus ($p < 0,05$). RP – neapdorotos RP; UG – apdorojimas ultragarsu; UG_{+FH} – apdorojimas ultragarsu ir fermentais; PRB: Pa29 – *P. acidilactici*; Lb173 – *L. brevis*; Lu245 – *L. uvarum*.

Funkcionalizuotų RP aminorūgščių profilis. Nepakeičiamųjų aminorūgščių (NAR) koncentracijos RP mėginiuose svyravo nuo 25,2 g/100 g baltymų iki 28,32 g/100 g (I priedo 1 lent.). Pakeičiamųjų (PAR) ir iš dalies nepakeičiamųjų aminorūgščių (DNAR) koncentracijos gautos atitinkamai nuo 18,5 iki 36,66 g/100 g ir nuo 11,98 iki 21,05 g/100 g (I priedas, 2 lent.).

RP apdorojimas UG sumažino NAR, PAR ir DNAR kiekį, atitinkamai vidutiniškai 17,15 %, 43,43 % ir 39,97 %, palyginti su neapdorotais RP, o fermentacija sumažino NAR kiekį vidutiniškai 20,38 %, tai priklausė nuo PRB padermės. Rezultatai rodo, kad daugiausia ASP ir GLU aptikta *L. brevis* fermentuotuose RP (atitinkamai 9,66 g/100 g ir 8,64 g/100 g), o didžiausi LYS ir MET kiekiai nustatyti *L. uvarum* ir *P. acidilactici* fermentuotuose RP mėginiuose (atitinkamai 7,73 g/100 g ir 3,90 g/100 g) (I priedo 1–2 lent.). Be to, didžiausi PHE ir THR kiekiai aptikti neapdorotuose ir UG apdorotuose RP mėginiuose.

AR veikia kaip svarbios augalų molekulės, reguliuojančios šaknų ir ūglių formavimąsi ir apsaugančios nuo streso (209). GLU vadinamas efektyviu azoto šaltiniu augalų augimui (326), o ASP atlieka esminį vaidmenį kaupiant azotą dėl didžiausio azoto ir anglies kiekio santykio (327), PHE ir THR atsakingi už augalų atsparumą nepalankioms augimo sąlygoms (328).

Adebiyi ir kt. (329) teigė, kad perlinių sorų fermentacijos metu aminorūgščių kiekis padidėjo 78 %. Perlinėse sorose, fermentuotose 24 h, dar padidėjo baltymų kiekis dėl angliavandenių sumažėjimo; taip pat nustatyta, kad sumažėjo arginino, lizino ir glicino kiekiai (330).

Aminorūgščių kiekio pokyčiai gali būti siejami su bendru fermentinės proteolizės ir rūgščių sukeltos hidrolizės poveikiu, nulemtu bakterijų

nepasižymėjo. RP fermentuotas *P. acidilactici* filtratas buvo vidutiniškai aktyvus (8–20 mm) prieš 7 tirtus patogenus, neturėjo slopinamojo poveikio *P. volutum*, *S. sclerotiorum* ir 3 iš 4 tirtų *Fusarium* padermių.

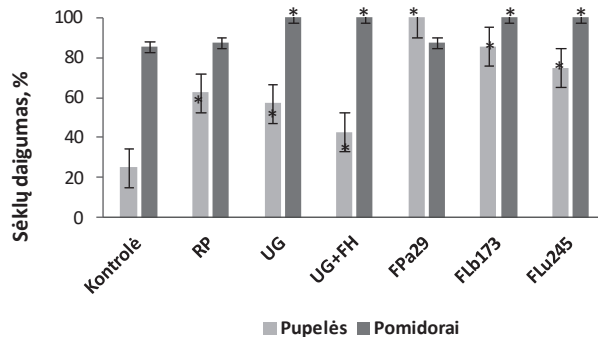
Literatūroje teigiama, kad fermentuotų produktų mikrobinė sauga siejama su PRB gaminamomis organinėmis rūgštimis (272). Fungistatinis poveikis priskiriamas pieno ir ypač acto rūgščiai (333). Corsetti ir kt. patvirtino, kad acto rūgšties koncentracija yra glaudžiai susijusi su priešgrybeliniu aktyvumu ir kad kiti bakterijų metabolitai taip pat turi slopinamąjį poveikį (334). Mūsų ankstesnis tyrimas parodė, kad esant mažoms pH vėrtėms, pieno rūgštis gali turėti stipresnį slopinamąjį poveikį nei acto rūgštis (84).

Atlikti tyrimai parodė, kad RP antigrybinis potencialas gali būti padidintas taikant PKF ir UG apdorojimo technologijas. Fermentuotų PRB *Lactobacillus brevis* RP filtratas labiausiai stabdė dirvožemio augalų patogenų, tokių kaip *Fusarium* spp., *Pythium* spp., *Sclerotinia sclerotiorum*, *Aspergillus versicolor* ir *Verticillium wilt* augimą (inhibicijos zonos iki 19–33 mm).

3.4.2. Funkcionalizuotų ryžių malimo šalutinių produktų įtaka daržo augalų daigumui, augimo intensyvumui ir chlorofilo susidarymui

Funkcionalizuotų RP priedų poveikis pupelių ir pomidorų sėklų daigumui ir ūglių augimui. Toks poveikis sodininkystės augalų –pupų ir pomidorų – augimui buvo įvertintas pagal sėklų daigumą, ūglių formavimosi dažnį ir šaknų ilgį (3.16–3.18 pav.).

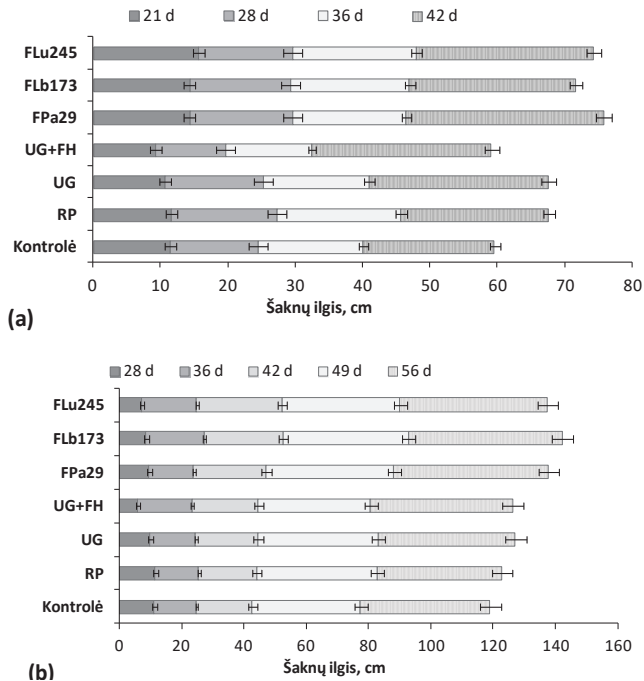
Iš rezultatų aišku, kad DAS papildymas RP rodo reikšmingą ($p < 0,05$) teigiamą poveikį abiejų tirtų augalų sėklų daigumui ir augimo efektyvumui (3.16 pav.). Šiuo atveju pupelių sėklų daigumas nustatytas nuo 43 % iki 100 %, pomidorų – nuo 88 % iki 100 %, o kontrolinis mėginys (DAS) be priedų buvo žymiai mažesnis (atitinkamai 25 % ir 86 %). Visi RP_F mėginiai, kuriuose, be kita ko, buvo didesnis CYS kiekis (I priedo 1–2 lent.), pagerino pupelių ir pomidorų sėklų daigumą, atitinkamai 42–75 % ir 2–14 %.



3.16 pav. RP priedų poveikis pupelių ir pomidorų sėklų daigumui. Čia mėginiai: kontrolė – DAS be RP priedų; RP – ryžių malimo šalutiniai produktai; UG – RP, apdoroti UG; UG_{+FH} – RP, apdoroti UG ir fermentais; F_{Pa29}, F_{Lb173}, F_{Lu245} – RP, fermentuoti atitinkama PRB paderme.

* – reikšmingas, kai $p < 0,05$

RP priedų poveikis šaknų ilgiui nustatytas 21-ąją augimo dieną pupoms (3.17(a) pav.), o pomidorams – 36-ąją (3.17(b) pav.). Visais atvejais RP_F priedas parodė didžiausią poveikį augalų šaknų formavimuisi (pupelių šaknys ilgesnės 28–44 %, pomidorų 21–38 %), o RP_{UG} mažesniu procentu pagerino (8 %) pomidorų šaknų augimą. RP_{UG+FH} priedas rodė stipresnę teigiamą poveikį pomidorų šaknų formavimuisi (37 %), o pupelių šaknims reikšmingas poveikis nenustatytas (3.17(a) pav.). Ilgiausios šaknys išmatuotos abiem atvejais, kai augalai buvo auginti DAS, papildytu RP_{FPa} , kuriame nustatytas didžiausias šaknų augimui naudingo MET kiekis.



3.17 pav. RP priedų įtaka pupelių (a) ir pomidorų (b) šaknų ilgiui. Čia mėginiai: kontrolė – DAS; RP – ryžių malimo šalutiniai produktai; UG – apdorota UG; UG_{+FH} – apdorota UG ir fermentais; F_{Pa29} , F_{Lb173} , F_{Lu245} – fermentuota atitinkama PRB paderme

Labiausiai teigiamas poveikis pupelių ūgliams buvo pastebėtas 21-ąją augimo dieną naudojant DAS, papildytą fermentuotais RP mėginiais (38–47 % didesni ūgliai), po DAS, papildyto RP, apdorotais UG (18 % didesni ūgliai), palyginti su pupelėmis, auginamomis DAS ir DAS su RP priedais, o štai su neapdorotais RP – vidutiniškai 12,16 cm (3.18(a) pav.).

Žymūs pomidorų ūglių aukščio skirtumai nustatyti 28-ąją augimo dieną DAS substrate. Panaudojus RP_{FLb} ir RP_{UG+FH} , stebėtas atitinkamai 25 % ir 17 % didesnių ūglių formavimasis, palyginus su DAS ir DAS su neapdorotu RP priedu (vidutinis aukštis 13,28 cm) (3.18(b) pav.).

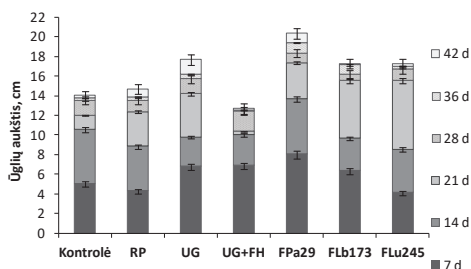
Papildomų organinių medžiagų naudojimas substrate gali pagerinti augalų fiziologinius procesus, pvz., vandens ir maistinių medžiagų įsisavinimą (335).

Mutale ir kt. (335) teigė, kad jei kompostavimui naudojami ryžių malimo šalutiniai produktai, per 6 mėnesius nekontroliuojamomis sąlygomis šiltnamyje suirę RP gali būti naudojami piktžolių kontrolei ir daržovių, tokių kaip pomidorai, produktyvumo didinimui ekologinėje žemdirbystės sistemoje (335).

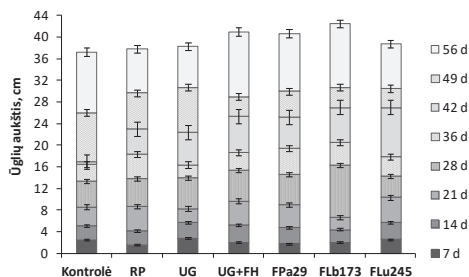
Nors kompostavimas ir fermentacija turi privalumų ir trūkumų, abu šie biologiniai procesai yra svarbūs mažinant atliekų problemą (336).

Šie procesai leidžia panaudoti augalams reikalingas organines medžiagas ir maistines medžiagas, taip remiant tvarią sodininkystės praktiką. Tačiau kompostavimas yra nekontroliuojamas biologiškai skaidžių medžiagų skilimas aerobinėmis sąlygomis, o fermentacija – biologiškai skaidžių medžiagų skaidymas anaerobinėmis sąlygomis, kuri galima kontroliuoti. Biomasės perdirbimo atveju fermentacija, palyginti su kompostavimu, atrodo palankesnis sprendimas dėl technologinių ir ekonominių priežasčių (336).

Šiame tyrime DAS papildymas šalutiniais ryžių perdirbimo produktais, funkcionalizuotais fermentacijos būdu, UG arba kartu UG_{+FH}, žymiai pagerino pomidorų ir pupelių sėklų daigumą. Fermentuoti RB produktai, turintys didesnę kiekį organinių rūgščių, fenolinių rūgščių, taip pat PAR ir DNAR, reikšmingai pagerino augalų augimo efektyvumą, aprūpindami juos reikiamomis maistinėmis medžiagomis.



(a)



(b)

3.18 pav. RP priedų įtaka pupelių (a) ir pomidorų (b) augalų ūglių aukščiui. Čia mėginiai: kontrolė – DAS; RP – ryžių malimo šalutiniai produktai; UG – apdorota ultragarsu; UG_{+FH} – apdorota UG ir fermentais; F_{Pa29}, F_{Lb173}, F_{Lu245} – RP, fermentuotas atitinkama PRB paderme

Funkcionalizuotų RP priedų poveikis chlorofilo susidarymui augaluose. Tyrimo rezultatai parodė teigiamą RP priedų poveikį Chl susidarymui tirtuose augaluose (3.22 lent.). Pupelėse didesnis Chl A kiekis buvo nustatytas RP_{UG} atveju (23,94 mg/100 g) ir *P. acidilactici* bei *L. uvarum* fermentuotų RP atveju (vidutiniškai 24,79 mg/100 g), lyginant su kontroliniu DAS be priedo (17,14 mg/100 g). Kalbant apie pomidorus, didžiausia Chl A koncentracija nustatyta augaluose, augintuose DAS, papildytame RP_{UG+FH} ir RP_{FPa29} (vidutiniškai 26,59 mg/100 g), ir RPF_{Lb173} (23,93 mg/100 g) priedais. Tai 48,8 % didesnis Chl A kiekis (vidutiniškai 37,1 %), palyginti su kontroliniu (18,23 mg/100 g) (3.22 lent.).

3.22 lentelė. Chlorofilo koncentracija (mg/100 g) pupelių ir pomidorų lapuose po 42 dienų auginimo DAS su skirtingais RP priedais

Augimo substratas	Pupelių lapai		Pomidorų lapai	
	Chlorofilas A	Chlorofilas B	Chlorofilas A	Chlorofilas B
DAS	17,14 ± 0,02 ^e	6,46 ± 0,01 ^e	18,23 ± 0,54	7,00 ± 0,51 ^d
DAS + RP priedais				
RP	22,19 ± 0,03 ^c	9,26 ± 0,11 ^b	21,27 ± 0,21 ^d	8,31 ± 0,31 ^c
UG	23,94 ± 0,09 ^b	10,63 ± 0,24 ^a	15,62 ± 0,01 ^f	5,95 ± 0,26 ^e
UG _{+FH}	14,76 ± 0,03 ^f	7,32 ± 0,01 ^d	27,12 ± 0,31 ^a	10,92 ± 0,90 ^a
F _{Pa29}	25,49 ± 0,06 ^a	8,18 ± 0,93 ^c	26,07 ± 0,21 ^b	9,37 ± 0,03 ^b
F _{Lb173}	19,19 ± 0,12 ^d	6,69 ± 0,52 ^e	23,93 ± 0,21 ^c	9,10 ± 0,08 ^b
F _{Lu245}	24,10 ± 0,31 ^b	10,47 ± 0,38 ^a	19,05 ± 0,04 ^e	6,84 ± 0,17 ^d

Čia mėginiai: DAS – augalų auginimo substratas; RP – neapdorotas RP; UG – RP, apdoroti ultragarsu; UG_{+FH} – apdorota UG ir fermentais; F_{Pa29}, F_{Lb173}, F_{Lu245} – RP, fermentuoti atitinkama PRB paderme.

Pasak Mutale-Joan ir kt., aminorūgščių, tokių kaip ALA, SER, PHE ir TYR, buvimas substrate gali teigiamai paveikti chlorofilo koncentraciją daržo augaluose, pavyzdžiui, pomidoruose (335), Popko ir kt. pranešė, kad kviečių grūdams naudojamas GLY skatino chlorofilo sintezę (337). Taip pat teigė, kad produktų, kurių pagrindą sudaro aminorūgštys, naudojimas žeminių kviečių derliaus padidėjimą paveikė 5,4–11,0 %, lyginant su kontroline grupe be biostimuliatoriaus (337). Panašūs rezultatai buvo gauti ir Colla ir kt. (338), kurie ištyrė augalinės kilmės baltymų hidrolizato, turinčio aminorūgščių ir mažos molekulinės masės peptidų, poveikį azoto pasisavinimui ir kukurūzų, pomidorų bei žemųjų žirnių augimo stimuliavimui. Rezultatai parodė, kad šis hidrolizatas padidino azoto pasisavinimą, remiantis dideliu šaknų augimu ir azoto asimiliacijos proceso padidėjimu, taip pagerinant pasėlių produktyvumą (338). Organinės rūgštys ir sacharidai, kurie yra pagrindiniai substrato komponentai, atlieka svarbų vaidmenį augalų mityboje ir daro įtaką augalų kokybei (339), taip pat fenolinės rūgštys, veikiančios kaip augalų biostimuliatoriai, kurių didesni kiekiai nustatyti RP mėginiuose, apdorotuose UG_{+FH} arba PKF, ir tai rodo pageidautinas augalų augimą skatinančias savybes.

Apibendrinimas. Gauti rezultatai parodė, kad funkcionalizuotuose RP yra vertingų biologinių medžiagų, kurios stabdo augalų stiebų ir šaknų puvinį sukeliančių mikroorganizmų augimą, taip pat pasižymi atitinkamomis augalų augimą skatinančiomis savybėmis. Augalų biomasės augimui turėjo įtakos padidėjusi chlorofilo sintezė ir šaknų bei daigų augimas, patvirtinantis padidėjusį gebėjimą įsisavinti maistines medžiagas.

DAS papildymas funkcionalizuotais RP priedais reikšmingai pagerino pomidorų ir pupelių sėklų daigumą. UG apdorojimas ir PKF procesas žymiai padidino organinių ir fenolinių rūgščių kiekį RP žaliavoje. Fermentuotų RP baltymuose nustatytas mažesnis NAR kiekis, bet žymiai ($p < 0,05$) didesnis PAR ir

DNAR kiekis, palyginti su neapdorotais RP, tad tai labai pagerina augalų augimo efektyvumą ir chlorofilo susidarymą.

Taigi, pupelės ir pomidorai, auginti substrate, papildytame RP priedais, reikšmingai ($p < 0,05$) padidino daigumą (2–75 %), šaknų ilgį (26–52 %) ir ūglių aukštį (28–50 %). Tokie organinio substrato komponentai žymiai (iki 32,5 %) padidino chlorofilo kiekį abiejų rūšių šiltnamio sąlygomis augintuose augaluose.

IŠVADOS

1. Ryžių malimo šalutiniai produktai yra tinkama fermentacijos terpė pieno rūgšties bakterijų kultivavimui ir bioaktyviųjų metabolitų gamybai, tai priklauso nuo pieno rūgšties bakterijos rūšies ir pusiau kietafazės fermentacijos trukmės. Pusiau kietafazės fermentacijos *L. brevis*, *L. uvarum*, *L. farraginis* ir *P. pentosaceus* bakterijomis 36–48 h laikotarpiu susidaro iki 0,32–0,48 g/100 g pieno rūgšties, esant L(+)/D(–) santykiui 1,05–4,70. *L. brevis* 173, *L. uvarum* 245, *P. acidilactici* 236 ir *P. pentosaceus* 100 bakterijos gamino antigrybiniu ir antibakteriniu aktyvumu pasižyminčius metabolitus, slopinančius *A. versicolor*, *P. viridicatum*, *P. spinulosum* augimą. Taikant 24–36 h fermentaciją *L. brevis* 173, galima sumažinti kondensuotųjų taninų ir tripsino inhibitorių kiekius ryžių sėlenose, atitinkamai 53,6 % ir 84,3 %.
2. Apdorojant ryžių malimo šalutinius produktus aukštojo dažnio ultragarsu (850 kHz) 40 °C temperatūros aplinkoje 20 min, galima padidinti atsparaus virškinimui krakmolo kiekį iki 22,13 g/100 g s. m. Gautų atsparaus virškinimui krakmolo rezultatų dispersinė analizė patvirtino, kad sudarytu matematiniu modeliu galima aprašyti 97 % duomenų. Taikant paviršiaus atsako metodą, nustatytos optimalios apdorojimo ultragarsu sąlygos: trukmė 18 min, temperatūra 40 °C, UG galia 1,8 W/cm². Vertinant apdorojimo ultragarsu įtaką atsparaus virškinimui krakmolo fizikinėms-cheminėms ir morfologinėms savybėms, nustatyta, kad, kontroliuojant apdorojimo ultragarsu temperatūrą, galima modifikuoti atsparaus virškinimui krakmolo funkcines savybes, pakeičiant jo cheminę struktūrą, mažinant kristališkumą ir padidinant krakmolo kleisterio terminį stabilumą.
3. Sukurtas produkto iš ryžių malimo šalutinių produktų ir bruknių išspaudų prototipas yra tinkamas pieno rūgšties bakterijų stabilizavimui ir gali būti panaudotas maisto produktų, pasižyminčių specifinėmis savybėmis, gamybai. Parinkti stingdikliai ir/ar tirštiklis produkto matricai stabilizuoti gali sėkmingai išlaikyti pakankamai didelį gyvybingų pieno rūgšties bakterijų ląstelių skaičių (4,85–6,7log₁₀ KSV/ml) laikymo metu 4 °C temperatūros aplinkoje.
4. Funkcionalizuoti ryžių malimo šalutiniai produktai gali būti panaudoti kaip substrato priedas daržo augalų augimo intensyvumui pagerinti. Fermentuoti ir apdoroti ultragarsu ryžių malimo šalutiniai produktai padidino pomidorų ir pupelių sėklų daigumą (2–75 %), šaknų ilgį (26–52 %) bei ūglių aukštį (28–50 %), taip pat žymiai padidino (iki 32,5 %) chlorofilo kiekį abiejų rūšių augaluose. Fermentuotų ryžių malimo šalutiniai produktai parodė slopinantį poveikį augalų stiebų ir šaknų puvinį sukeliančių mikroorganizmų augimui. *L. brevis* 173 fermentuotų ryžių malimo šalutinių produktų filtratas pasižymėjo didžiausiu slopinančiu poveikiu prieš dirvožemio augalų patogenus, tokius kaip *Fusarium* spp., *Pythium* spp., *Sclerotinia sclerotiorum*, *Aspergillus versicolor* ir *Verticilium wilt*.

LITERATŪRA

1. BARTKIENE, E., BARTKEVICS, V., KRUNGLEVICIUTE, V. et al. Application of hydrolases and probiotic *Pediococcus acidilactici* BaltBio01 strain for cereal by-products conversion to bioproduct for food/feed. *International Journal of Food Science and Nutrition*. 2018, 69, 165–175.
2. BHULLAR, K.S., RUPASINGHE, H.P.V. Partridgeberry polyphenols protect primary cortical and hippocampal neurons against bamyloid toxicity. *Food Research International*. 2015, 74, 237–249.
3. KAHN, T. S. “Chapter 14. Rice bran: Production, composition, functionality and food applications, physiological benefits,” in *Fiber Ingredients: Food Applications and Health Benefits*, eds S. S. Cho and P. Samuel. 2009, 305–321.
4. BHOSALE, S., VIJAYALAKSHMI, D. Processing and Nutritional Composition of Rice Bran. *Current Research in Nutrition and Food Science Journal*. 2015, 3, 74–80.
5. MOHAMED, I.O. Effects of processing and additives on starch physicochemical and digestibility properties. *Carbohydr. Polym. Technol. Appl*. 2021, 2, 100039.
6. THACHIL, M. T., CHOUKSEY, M. K., GUDIPATI, V. Amylose-lipid complex formation during extrusion cooking: effect of added lipid type and amylose level on corn-based puffed snacks. *International Journal of Food Science and Technology*. 2014, 49(2), 309–316.
7. HOMAYOUNI, A., AMINI, A., KHODAVIRDIV, A. K., MORTAZAVIAN, A. M., ESAZADEH, K., POURMORADIAN, S. Resistant starch in food industry: a changing outlook for consumer and producer. *Starch/Stärke*. 2013, 65, 1–13.
8. ASHWAR, B.A., GANI, A., WANI, I.A., SHAH, A., MASOODI, F.A., SAXENA, D.C. Production of resistant starch from rice by dual autoclaving-retrogradation treatment: in vitro digestibility, thermal and structural characterization. *Food Hydrocolloids*. 2016, 56, 108–117.
9. ZHENG Y., WEI, Z., ZHANG, R., DENG, Y., TANG, X., ZHANG, Y., LIU, G., et al. Optimization of the autoclave preparation process for improving resistant starch content in rice grains. *Food Science and Nutrition*. 2020, 8, 2383–2394.
10. CABRERA-RAMÍREZ, A.H., CERVANTES-RAMÍREZ, E., MORALES-SÁNCHEZ, E., RODRIGUEZ-GARCÍA, M.E., DE LA LUZ REYES-VEGA, M., GAYTÁN-MARTÍNEZ, M. Effect of extrusion on the crystalline structure of starch during RS5 formation. *Polysaccharides*. 2021, 2, 187–201.
11. HUNG, P.V., NGO, L.V., NGUYEN, T.L.P. Resistant starch improvement of rice starches under a combination of acid and heat-moisture treatments. *Food Chemistry*. 2016, 191, 67–73.
12. MANIGLIA, B.C., CASTANHA, N., ROJAS, M.L., AUGUSTO P.E.D. Emerging technologies to enhance starch performance. *Current Opinion in Food Science*. 2021, 37, 26–36.
13. Patti, A.; Acierio, D.; Latteri, A.; Tosto, C.; Pergolizzi, E.; Recca, G.; Cristaudo, M.; Cicala, G. Influence of the processing conditions on the mechanical performance of sustainable bio-based PLA compounds. *Polymers* 2020, 12, 2197.
14. DESHPANDE, G., RAO, S., PATOLE, S. Progress in the field of probiotics: year 2011. *Current Opinion in Gastroenterology*. 2011, 27.1, 13-18.
15. BONTO, A. P., TIOZON, R. N. Jr., SREENIVASULU, N., Camacho, D. H. Impact of ultrasonic treatment on rice starch and grain functional properties: A review. *Ultrason Sonochem.*, 2021, [žiūrėta 2022-10-24]. Prieiga per doi: 10.1016/j.ultsonch.2020.105383

16. OKONKWO, V.C., KWOFIE, E.M., MBA, O.I., NGADI, M.O. Impact of thermo-sonication on quality indices of starch-based sauces. *Ultrasonics Sonochemistry*. 2021, 73, 105473.
17. YONEKURA, L., SUN, H., SOUKOULIS, C., and FISK, I. Microencapsulation of *Lactobacillus acidophilus* NCIMB 701748 by spray drying: impact of soluble fibres on storage stability and survival after in vitro digestion. *Journal of Functional Foods*. 2014, 6(100), 205–214.
18. PELIKANNOVA, J., LIPTAKOVA, D., VALÍK, L., and STANČEKOVÁ, K. Evaluation of the growth of selected lactobacilli in pseudocereal substrate. *Potravinárstvo*. 2011, 4, 53–57.
19. NKHATA, S., AYUA, E., KAMAU, E., A., et al. Fermentation and germination improve nutritional value of cereals and legumes through activation of endogenous enzymes. *Food Sci Nutr*. 2018, 6(8), 2446–2458.
20. SAMTIYA, M., ALUKO, R., E., DHEWA, T., MORENO-ROJAS, J., M. Potential Health Benefits of Plant Food-Derived Bioactive Components: An Overview. *Foods*. 2021, 10(4), 839.
21. KUMAR, M., et al. Cholesterol-lowering probiotics as potential biotherapeutics for metabolic diseases. *Experimental diabetes research*, 2012, [žiūrėta 2022-10-24]. Prieiga per doi: 10.1155/2012/902917.
22. GU, Q., LI, P. Biosynthesis of vitamins by probiotic bacteria. *Probiotics and prebiotics in human nutrition and health*. 2016, [žiūrėta 2022-10-24]. Prieiga per doi: 10.5772/63117
23. DESHPANDE, G., RAO, S., PATOLE, S. Progress in the field of probiotics: year 2011. *Current Opinion in Gastroenterology*. 2011, 27.1, 13-18.
24. FAOSTAT. Food and Agriculture Organization of the United Nations: Statistical Databases. Production/Crops. *Environmental Science Technology*. 2019, 53, 11302–11312.
25. ALAUDDINA, M., et al. Rice Bran as a Functional Food: An Overview of the Conversion of Rice Bran into a Superfood/Functional Food. *Superfood and Functional Food - An Overview of Their Processing and Utilization*. 2017, [žiūrėta 2022-10-24]. Prieiga per doi: 10.5772/66298
26. SPAGGIARI, M., DALL’ASTA, C., GALAVERNA, G., del CASTILLO BILBAO, M. D. Rice Bran By-Product: From Valorization Strategies to Nutritional Perspectives. *Foods* 2021, 10(1), 85.
27. DHANKHAR, P. Rice milling. *IOSR J. Eng.* 2014, 4, 34–42.
28. NORHAIZAN, M.E., TAN, B.L., LOH, S.P. By-products of Rice Processing: An Overview of Health Benefits and Applications. *Rice Res*. 2013, 1 (1), 1000107.
29. ROHMAN, A., HELMIYATI, S., HAPSARI, M., AND SETYANINGRUM, D. L. Rice in health and nutrition. *Int. Food Res. J.* 2014, 21, 13–24.
30. SHARIF, M.K., ir kt. Rice Bran: A Novel Functional Ingredient. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2014, 54(6), 807–816.
31. FERREIRA, S.C., FERNANDEZ, A.M., DE CASTILLO-BILBAO, M.D. New functional ingredients from agroindustrial by-products for the development of healthy foods. *Encyclopedia of Food Security and Sustainability*. 2018, ISBN 9780128126882.
32. FRITSCH, C., STÄBLER, A., HAPPEL, A., MÁRQUEZ, M.A.C., AGUILÓ-AGUAYO, I., ABADIAS, M., GALLUR, M., CIGOGNINI, I.M., MONTANARI, A., LÓPEZ, M., et al. Processing, Valorization and Application of Bio-Waste Derived

- Compounds from Potato, Tomato, Olive and Cereals: A Review. *Sustainability*. 2017, 9, 1492.
33. SCHIEBER, A. Side Streams of Plant Food Processing as a Source of Valuable Compounds: Selected Examples. *Annual Review of Food Science and Technology*. 2017, 8, 97–112.
 34. TAN, B.L., NORHAIZAN, M.E. Production of Rice By-products. *Phytochemicals and Food Products Application*. 2020, 13–39.
 35. KALPANADEV, C., SINGH, V., SUBRAMANIAN, R. Influence of milling on the nutritional composition of bran from different rice varieties. *Journal of Food Science and Technology*. 2018, 55, 2259–2269.
 36. POURALI, O., ASGHARI, F.S., YOSHIDA, H. Production of phenolic compounds from rice bran biomass under subcritical water conditions. *Chemical Engineering Journal*. 2010, 160, 259–266.
 37. PARRADO, J., MIRAMONTES, E., JOVER, M., GUTIERREZ, J.F., DE TERAN, L.C., BAUTISTA, J. Preparation of a rice bran enzymatic extract with potential use as functional food. *Food Chemistry*. 2006, 98, 742–748.
 38. IQBAL, S., BHANGER, M.I., ANWAR, F. Antioxidant properties and components of some commercially available varieties of rice bran in Pakistan. *Food Chemistry*. 2005, 93, 265–272.
 39. AHMADIFARD, N., MURUETA, J.H., ABEDIAN-KENARI, A., MOTAMEDZADEGAN, A., JAMALI, H. Comparison the effect of three commercial enzymes for enzymatic hydrolysis of two substrates (rice bran protein concentrate and soy-been protein) with SDS-PAGE. *Journal of Food Science and Technology*. 2016, 53, 1279–1284.
 40. ZAREI, I., BROWN, D.G., NEALON, N.J., RYAN, E.P. Rice Bran Metabolome Contains Amino Acids, Vitamins & Cofactors, and Phytochemicals with Medicinal and Nutritional Properties. *Rice volume*. 2017, 10, 24.
 41. SAPWAROBOL, S., SAPHYAKHAJORN, W., ASTINA, J. Biological Functions and Activities of Rice Bran as a Functional Ingredient: A Review. *Nutrition and Metabolic Insights*. 2021, 14, 11786388211058559. [žiūrėta 2022-10-24]. Prieiga per doi: 10.1177/11786388211058559.
 42. HENDERSON, A.J., et al. Chemopreventive Properties of Dietary Rice Bran: Current Status and Future Prospects. *Advances in Nutrition*. 2012, 3(5), 643–653.
 43. WU, T., WANG, L., LI, Y., QIAN, H., LIU, L., TONG, L., ZHOU, X., WANG, L., ZHOU, S. Effect of milling methods on the properties of rice flour and gluten-free rice bread. *LWT - Food Science and Technology*. 2019, 108, 137–144.
 44. FABIAN, C., JU, Y.H. A review on rice bran protein: its properties and extraction methods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2011, 51, 816–827.
 45. WEST, D.W. Structure and function of the phosphorylated residues of casein. *Journal of Dairy Research*. 2000, 53, 333–352.
 46. OLIVEIRA, M. DOS S., FEDDERN, V., KUPSK, L., CIPOLATTI, E.P., BADIALE-FURLONG, E., DE SOUZA-SOARES, L.A. Changes in lipid, fatty acids and phospholipids composition of whole rice bran after solid-state fungal fermentation. *Bioresour Technology*. 2011, 102(17), 8335–8338.
 47. DAOU, C., ZHANG, H. Functional and physiological properties of total, soluble, and insoluble dietary fibres derived from defatted rice bran. *Journal of Food Science & Technology*. 2014, 51, 3878–3885.

48. DAI, F.J., CHAU, C.F. Classification and regulatory perspectives of dietary fiber. *Journal of Food and Drug Analysis*. 2017, 25, 37–42.
49. Sohail, M., Rakha, A., Butt, M.S., Iqbal, M.J., Rashid S. Rice bran nutraceuticals: A comprehensive review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2017, 57, 17, 3771-3780.
50. TEOH, S.L., DAS, S. Phytochemicals and their effective role in the treatment of diabetes mellitus: a short review. *Phytochemistry Reviews*. 2018, 17, 1111-1128.
51. CICERO, A., GADDI, A. Rice bran oil and γ -oryzanol in the treatment of hyperlipoproteinaemias and other conditions. *Phytotherapy Research*. 2001, 15, 277-289.
52. BOONLA, O., KUKONGVIRIYAPAN, U., PAKDEECHOTE, P., et al. Peptides-derived from Thai rice bran improves endothelial function in 2K-1C renovascular hypertensive rats. *Nutrients*. 2015, 7, 5783-5799.
53. RUNGRATANAWANICH, W., ABATE, G., SERAFINI, M.M., et al. Characterization of the antioxidant effects of γ -oryzanol: involvement of the Nrf2 pathway. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2018, 2987249.
54. MASUZAKI, H., KOZUKA, C., OKAMOTO, S., YONAMINE, M., TANAKA, H, SHIMABUKURO M. Brown rice-specific γ -oryzanol as a promising prophylactic avenue to protect against diabetes mellitus and obesity in humans. *Journal of Diabetes Investigation*. 2019, 10, 18-25.
55. KOBAYASHI, E., ITO, J., SHIMIZU, N., et al. Evaluation of γ -oryzanol accumulation and lipid metabolism in the body of mice following long-term administration of γ -oryzanol. *Nutrients*. 2019, 11, 104.
56. Nayik, G.A., Majid, I., Gull, A., Muzaffar, K. Rice bran oil, the future edible oil of India: a mini review. *Journal Rice Research*. 2015, 3, 1–3.
57. LUITHUI, Y., NISHA, R.B., MEERA, M.S. Cereal by-products as an important functional ingredient: effect of processing. *Journal of Food Science and Technology*. 2019, 56(1), 1–11.
58. WANG, J., et al. Dietary fibre enrichment from defatted rice bran by dry fractionation. *Journal of Food Engineering*. 2016, 186, 50–57.
59. RAFF, A., SADEGHIAN, A. Stabilization of Tarom and Domesiah cultivars rice bran: Physicochemical, functional and nutritional properties. *Journal of Cereal Science*. 2017, 74, 64-71.
60. PATIL, S.S., KAR, A., MOHAPATRA, D. Stabilization of rice bran using microwave: Process optimization and storage studies. *Food and bioproducts processing*. 2016, 99, 204–211.
61. IRAKLI, M., KLEISIARIS, F., MYGDALIA, A., KATSANTONIS, D. Stabilization of rice bran and its effect on bioactive compounds content, antioxidant activity and storage stability during infrared radiation heating. *Journal Cereal Science*. 2018, 80, 135–142.
62. PRADEEP, P.M., JAYADEEP, A., GUHA, M., SINGH, V. Hydrothermal and biotechnological treatments on nutraceutical content and antioxidant activity of rice bran. *Journal Cereal Science*. 2014, 60, 187–192.
63. SAMTIYA, M., ALUKO, R.E. & DHEWA, T. Plant food anti-nutritional factors and their reduction strategies: an overview. *Food Prod Process and Nutrition*. 2020, 2, 6.
64. AL HASAN, S. M., HASSAN, M., SAHA, S., ISLAM, M., BILLAH, M., & ISLAM, S. Dietary phytate intake inhibits the bioavailability of iron and calcium in the diets of pregnant women in rural Bangladesh: A cross-sectional study. *BMC Nutrition*. 2016, 2(1), 24.

65. RAES, K., KNOCKAERT, D., STRUIJS, K., VAN CAMP, J. Role of processing on bioaccessibility of minerals: Influence of localization of minerals and antinutritional factors in the plant. *Trends in Food Science & Technology*, 2014, 37(1), 32–41.
66. OTLEWSKI, J., JELEN, F., ZAKRZEWSKA, M., OLEKSY, A. The many faces of protease–protein inhibitor interaction. *The EMBO Journal*. 2005, 24(7), 1303–1310.
67. BLACK, R. E., VICTORA, C. G., WALKER, S. P., BHUTTA, Z. A., CHRISTIAN, P., DE ONIS, M., et al. Maternal and child undernutrition and overweight in low-income and middle-income countries. *The Lancet*. 2013, 382(9890), 427–451.
68. Bouis, H. E., Saltzman, A., Birol, E. Improving nutrition through biofortification. *In Agriculture for improved nutrition: seizing the momentum*. 2019, p. 47.
69. GUL, K., YOUSUF, B., SINGH, A.K., SINGH, P., WANI, A.A. Rice bran: nutritional values and its emerging potential for development of functional food: a review. *Bioactive Carbohydrates Dietary Fibre*. 2015, 6(1), 24–30.
70. RANJAN, A., SAHU, N.P., DEO, A.D., KUMAR, S. Solid state fermentation of de-oiled rice bran: Effect on in vitro protein digestibility, fatty acid profile and anti-nutritional factors. *Food Research International*. 2019, 119, 1-5.
71. HANDA, V., KUMAR, V., PANGHAL, A., SURI, S., KAUR, J. Effect of soaking and germination on physicochemical and functional attributes of horsegram flour. *Journal of Food Science and Technology*. 2017, 54(13), 4229–4239.
72. FACCIN, G.L., MIOTTO, L.A., DO NASCIMENTO VIELRA, L., BARRETO, P. L. M., AMANTE, E. R. Chemical, sensorial and rheological properties of a new organic rice bran beverage. *Rice Science*. 2009, 16, 226-234.
73. IRAKLI, M., KATSANTONIS, D., KLEISIARIS, F. Evaluation of quality attributes, nutraceutical components and antioxidant potential of wheat bread substituted with rice bran. *Journal of Cereal Science*. 2015, 65, 74–80.
74. AL-OKBI, S.Y., HUSSEIN, A.M., HAMED, I.M., MOHAMED, D.A., HELAL, A.M. Chemical, Rheological, Sensorial and Functional Properties of Gelatinized Corn- Rice Bran Flour Composite Corn Flakes and Tortilla Chips. *Journal of Food Process*. 2012, 38, 83–89.
75. GARCIA-AMEZQUITA, L.E., et al. Dietary Fiber Concentrates from Fruit and Vegetable By-products: Processing, Modification, and Application as Functional Ingredients. *Food and Bioprocess Technology*. 2018, 11(8), 1439–1463.
76. HAMADA, J. Characterization and functional properties of rice bran proteins modified by commercial exoproteases and endoproteases. *Journal of Food Science*. 2000, 65, 305-310.
77. KIM, H. Y., HWANG, I. G., KIM, T. M., WOO, K. W., PARK, D. S., KIM, J. S., et al. Chemical and functional components in different parts of rough rice (*Oryza sativa* L.) before and after germination. *Food Chem*. 2012, 134, 288–293.
78. DONG, H., LIN, S., ZHANG, Q. et al. Effect of extraction methods on the properties and antioxidant activities of Chuanminshen violaceum polysaccharides. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2016, 93, 179–185.
79. WANG, Y., WANG, C., GUO, M. Effects of ultrasound treatment on extraction and rheological properties of polysaccharides from *Auricularia Cornea* var. *Li*. *Molecules*. 2019, 24, 939.
80. PRABHU, A.A., APPUKUTTAN, J.P. Enzymatic processing of pigmented and non-pigmented rice bran on changes in oryzanol, polyphenols and antioxidant activity. *Journal of Food Science and Technology*. 2015, 52, 6538–6546.

81. ZHANG, D.Y., WAN, Y., XU, J.Y., WU, G.H., LI, L., YAO, X.H. Ultrasound extraction of polysaccharides from mulberry leaves and their effect on enhancing antioxidant activity. *Carbohydrate Polymers*. 2016, 137, 473–479.
82. LEMES, A. C., SALA, L., ORES, J. D. C., BRAGA, A. R. C., EGEA, M. B., FERNANDES, K. F. A review of the latest advances in encrypted bioactive peptides from proteinrich waste. *International Journal of Molecular Sciences*. 2016, 17 (6), E950.
83. PALOU M, SÁNCHEZ J, GARCÍA-CARRIZO F, PALOU A, PICÓ C. Pectin supplementation in rats mitigates age-related impairment in insulin and leptin sensitivity independently of reducing food intake. *Molecular Nutrition and Food Research*. 2015, 59(10), 2022–2033.
84. JUKONYTE, R., et al. A potential of brown rice polish as a substrate for the lactic acid and bioactive compounds production by the lactic acid bacteria newly isolated from cereal-based fermented products. *LWT*, 2018, 97: 323-331.
85. JUODEIKIENE, G., BASINSKIENE, L., BARTKIENE, E., & MATUSEVICIUS, P. Mycotoxin decontamination aspects in food, feed and renewables using fermentation processes. In A. A. Eissa (Ed.). *Structure and function of food engineering*. 2012, chapter 8, 171–204.
86. RAZAK, D.L.A., RASHID, N.Y.A., JAMALUDDIN, A., SHARIFUDIN, S.A., LONG, K. Enhancement of phenolic acid content and antioxidant activity of rice bran fermented with *Rhizopus oligosporus* and *Monascus purpureus*. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 2015, 4, 33–38.
87. SCHMIDT, C.G., GONÇALVES, L.M., PRIETTO, L., HACKBART, H.S., FURLONG, E.B. Antioxidant activity and enzyme inhibition of phenolic acids from fermented rice bran with fungus *Rizhopus oryzae*. *Food Chemistry*. 2014, 146, 371–377.
88. LIM, S.T., KIM, S.M., LEE, J.H., LIM, S.T. Solid-state fermentation of black rice bran with *Aspergillus awamori* and *Aspergillus oryzae*: Effects on phenolic acid composition and antioxidant activity of bran extracts. *Food Chemistry*. 2019, 272, 235–241.
89. JIA, M., CHEN, J., LIU, X., XIE, M., NIE, S., CHEN, Y., XIE, J., YU, Q. Structural characteristics and functional properties of soluble dietary fiber from defatted rice bran obtained through *Trichoderma viride* fermentation. *Food Hydrocolloides*. 2019, 94, 468–474.
90. KIM, K.M., YU, K.W., KANG, D.H., SUH, H.J. Anti-stress and anti-fatigue effect of fermented rice bran. *Phytother. Res*. 2002, 16(7), 700–702.
91. KIM, H.Y., KIM, J.H., YANG, S.B., HONG, S.G., LEE, S.A., et al. A polysaccharide extracted from rice bran fermented with *Lentinus edodes* enhances natural killer cell activity and exhibits anticancer effects. *J. Med. Food*. 2007, 10(1), 25–31.
92. KUPSKI, L., CIPOLATTI, E., DA ROCHA, M., DOS SANTOS OLIVEIRA M., DE ALMEIDA SOUZA-SOARES, L., BADIALE-FURLONG, E. Solid-state fermentation for the enrichment and extraction of proteins and antioxidant compounds in rice bran by *Rhizopus oryzae*. *Braz. Arch. Biol. Technol*. 2012, 55(6), 937–942.
93. DESJARDINS, A. E., MANANDHAR, H. K., PLATTNER, R. D., MANANDHAR, G. G., POLING, S. M., MARAGOS, C. M. *Fusarium* species from Nepalese rice and production of mycotoxins and gibberellic acid by selected species. *Applied and Environmental Microbiology*. 2000, 66(3), 1020–1025.
94. LEE, T., LEE, S. H., LEE, S. H., SHIN, J. Y., YUN, J. C., LEE, Y. W., et al. Occurrence of *Fusarium* mycotoxins in rice and its milling by-products in Korea. *Journal of Food Protection*. 2011, 74(7), 1169–1174.

95. RATHER, I., SEO, B. J., REJISH KUMAR, V. J., CHOI, U. H., CHOI, K.H., LIM, J. H., et al. Isolation and characterization of a proteinaceous antifungal compound from *Lactobacillus plantarum* YML007 and its application as a food preservative. *Letters in Applied Microbiology*. 2013, 57, 69–76.
96. LIU, L., WEN, W., ZHANG, W., WEI, Z., DENG, Y., XIAO, J., et al. Complex enzyme hydrolysis releases antioxidative phenolics from rice bran. *Food Chemistry*. 2017, 214, 1–8.
97. BEG, Q. K., KAPOOR, M., MAHAJAN, L., HOONDAL, G. S. Microbial xylanases and their industrial applications: A review. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2001, 56, 326–338.
98. KATINA, K., JUVONEN, R., LAITILA, A., FLANDER, L., NORDLUND, E., KARILUOTO, S., et al. Fermented wheat bran as a functional ingredient in baking. *Cereal Chemistry*. 2012, 89, 126–134.
99. VALLABHA, V.S., INDIRA, T.N., LAKSHMI, A.J., RADHA, C., TIKU, P.K. Enzymatic process of rice bran: A stabilized functional food with nutraceuticals and nutrients. *Journal of Food Science and Technology*. 2015, 52, 8252–8259.
100. ZHANG, J., LI, M., CHENG, J., ZHANG, X., LI, K., LI, B., et al. Viscoszyme L hydrolysis and *Lactobacillus* fermentation increase the phenolic compound content and antioxidant properties of aqueous solutions of quinoa pretreated by steaming with α -amylase. *Journal of Food Science*. 2021, 86 (5), 1726–1736.
101. REN, F., FENG, Y., ZHANG, H., WANG, J. Effects of modification methods on microstructural and physicochemical characteristics of defatted rice bran dietary fiber. *LWT*. 2021, 151, 112161.
102. KADAN, R.S., ROBINSON, M.G., THIBODEAUX, D.P., PIPPERMAN, A.B. Texture and other physicochemical properties of whole rice bread. *Journal of Food Science*. 2001, 66, 940–944.
103. MANTE, E.S., SAKYI-DAWSON, E., AMOA-AWUA, W.K. Antimicrobial interactions of microbial species involved in the fermentation of cassava dough into abgelima eith particular reference to the inhibitory effect of lactic acid bacteria on enteric pathogens. *International Journal of Food Microbiology*. 2003, 89, 34–46.
104. ZHANG, B., et al. Effects of octenylsuccinylation on the structure and properties of high-amylose maize starch. *Carbohydrate Polymers*, 2011, 84(4), 1276–1281.
105. FADEL, A., PLUNKETT, A., ASHWORTH, J., MAHMOUD, A.M., RANNEH, Y., EL MOHTADI, M., LI, W. The effect of extrusion screw-speed on the water extractability and molecular weight distribution of arabinoxylans from defatted rice bran. *Journal of Food Science*. 2018, 55, 1201–1206.
106. LIU, C., ZHANG, Y., LIU, W., WAN, J., WANG, W., WU, L., ZUO, N., ZHOU, Y., YIN, Z. Preparation, physicochemical and texture properties of texturized rice produce by Improved Extrusion Cooking Technology. *Journal of Cereal Science*. 2011, 54, 473–480.
107. DANG, T.T., THAVA, V. Modification of rice bran dietary fiber concentrates using enzyme and extrusion cooking. *Food Hydrocolloids*. 2019, 89, 773–782.
108. AWAD, T.S., MOHARRAM, H.A., SHALTOUT, O.E., ASKER, D., YOUSSEF, M. Applications of ultrasound in analysis, processing and quality control of food: A review *Food Research International*. 2012, 48, 2, 410–427.
109. SANGO, D.M., ABELA, D., MCELHATTON, A., VALDRAMIDIS, V.P. Assisted ultrasound applications for the production of safe foods. *Journal of Applied Microbiology*. 2014, 116, 1067–1083.

110. ROMBAUT, C.N., SICAIRE, A.G., MEULLEMIESTRE, A., FABIANO-TIXIER, A.S., ABERT-VIAN, M. Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. *A review, Ultrason. - Sonochemistry*. 2017, 34, 540-560.
111. HASAN, M.M., BASHIR, T., BAE, H. Use of Ultrasonication Technology for the Increased Production of Plant Secondary Metabolites. *Molecules*. 2017, 22, 1046.
112. OJHA, K.S., MASON, T.J., O'DONNELL, T.P., KERRY, J.P., TIWARI, B.K. Ultrasound technology for food fermentation applications. *Ultrason. Sonochem.* 2017, 34, 410-417.
113. PINGRET, D., FABIANO-TIXIER, A.S., CHEMAT, F. Degradation during application of ultrasound in food processing: A review. *Food Control*. 2013, 31, 593-606.
114. HUANG, G., et al. Effects of Ultrasound on Microbial Growth and Enzyme Activity. *Ultrasonics Sonochemistry*, 2017, 37, 144-149.
115. CAROVAC, A., SMAJLOVIC, F., JUNUZOVIC, D. Application of Ultrasound in Medicine. *Acta Inform. Medica*. 2011, 19, 168.
116. TÉLLEZ-MORALES, J.A., HERNÁNDEZ-SANTO, B., RODRÍGUEZ-MIRANDA, J. Effect of ultrasound on the techno-functional properties of food components/ingredients: A review. *Ultrasonics-Sonochemistry*. 2020, 61, 1–26.
117. PANIWNKY, L. Application of Ultrasound. *Technol. Food Process*, Elsevier, London, U.K., 2014, 271–291.
118. ALARCON-ROJO, A.D., CARRILLO-LOPEZ, L.M., REYES-VILLAGRANA, R., HUERTA-JIMÉNEZ, M., GARCIA-GALICIA, I.A. Ultrasound and meat quality: A review. *Ultrasonics-Sonochemistry*. 2019, 55, 369-382.
119. NICOLAU-LAPEÑA, I., LAFARGA, T., VIÑAS, I., ABADIAS, M., BOBO, G., AGUILÓ-AGUAYO, I. Ultrasound Processing Alone or in Combination with Other Chemical or Physical Treatments as a Safety and Quality Preservation Strategy of Fresh and Processed Fruits and Vegetables: A Review. *Food Bioprocess Technol.* 2019, 12, 1452-1471.
120. SOLTANI FIROUZ, M., FARAHMANDI, A., HOSSEINPOUR, S. Recent advances in ultrasound application as a novel technique in analysis, processing and quality control of fruits, juices and dairy products industries: A review. *Ultrasonics-Sonochemistry*. 2019, 57, 73-88.
121. MOHAMMED, M.E.A, ALHAJHOJ, M.R. Importance and Applications of Ultrasonic Technology to Improve Food Quality. *Food Processing*. 2019, 201.
122. CUI, I., PAN, Z., YUE, T., ATUNGULU, G.G., BERRIOS, J. Effect of Ultrasonic Treatment of Brown Rice at Different Temperatures on Cooking Properties and Quality. *Cereal Chemistry*. 2010, 87(5).
123. YANG, W., KONG, X., ZHENG, Y., SUN, W., CHEN, S., LIU, D., ZHANG, H., et al. Controlled ultrasound treatments modify the morphology and physical properties of rice starch rather than the fine structure. *Ultrasonics-Sonochemistry*. 2019, 59, 104709.
124. SUJKA, M. Ultrasonic modification of starch – Impact on granules porosity. *Ultrasonics-Sonochemistry*. 2017, 37, 424-429.
125. KAI FAN, K., WU, J., CHEN, L. Ultrasound and its combined application in the improvement of microbial and physicochemical quality of fruits and vegetables: A review. *Ultrason Sonochem.* 2021, 80, 105838.
126. MITCHELL, C. Rice Starches: Production and Properties, in: J. Bemiller, R. Whistler (Eds.), *Starch Chem. Technol.*, 3rd Edition, Elsevier Inc., 2009, 569–578.

127. BAO, J. Rice starch, in: J. Bao (Ed.), *Rice Chem. Technol.*, 4th ed., Elsevier Inc. in cooperation with AACC International. 2019, 55–108.
128. HARALAMPU S.G. Resistant starch—a review of the physical properties and biological impact of RS3. *Carbohydrate Polymers*. 2000, 41, 285-292.
129. KONG, X., SUN, X., XU, F., et al. Morphological and physicochemical properties of two starch mutants induced from a high amylose indica rice by gamma irradiation. *Starch/Stärke*. 2014, 66, 157-165.
130. ROMANO A., MACKIE A., FARINA F., APONTE M., SARGHINI F., MASI P. Characterisation, in vitro digestibility and expected glycemic index of commercial starches as uncooked ingredients. *Journal of Food Science and Technology*. 2016, 53, 4126–4134.
131. XIEA, F., HALLEYA, P.J., AVÉROUS, L. Starch-based nano-biocomposites. *Progress in Polymer Science*. 2012, 37, 595– 623.
132. ENGLYST, H. N., KINGMAN, S. M., CUMMINGS, J. H. Classification and measurement of nutritionally important starch fractions. *European Journal of Clinical Nutrition*. 1992, 46 (2), S30–S50.
133. SHRESTHA, S., SADIQ, M. B., ANAL, A. K. Culled banana resistant starch-soy protein isolate conjugate based emulsion enriched with astaxanthin to enhance its stability. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2018, 120, 449–459.
134. RAIGOND, P., EZEKIEL, R., RAIGOND, B. Resistant starch in food: a review. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2015, 95(10), 1968–1978.
135. ZHOU, Y., MENG, S., CHEN, D., ZHU, X., YUAN, H. Structure characterization and hypoglycaemic effects of dual modified resistant starch from indica rice starch. *Carbohydrate Polymers*. 2014, 103, 81–86.
136. ENGLYST, H. N., TROWELL, H., SOUTHGATE, D. A. T., CUMMINGS, J. H. Dietary fiber and resistant starch. *American Journal of Clinical Nutrition*. 1987, 46, 873–874.
137. ASP, N.G., FURDA, I., SCHWEIZER, T. F., PROSKY, L. Dietary fiber definition and analysis. *American Journal of Clinical Nutrition*. 1988, 48, 688–690.
138. FUENTES-ZARAGOZA, E., SÁNCHEZ-ZAPATA, E., SENDRA, E., SAYAS, E., NAVARRO, C., et al. Resistant starch as prebiotic: A review. *Clinical Nutrition-Applications of Alpha-glucans*. 2011, 63(7), 406-415.
139. ESWARAN, S., MUIR, J., CHEY, W.D. Fiber and functional gastrointestinal disorders. *American Journal of Gastroenterology*. 2013, 108, 718-727.
140. LESZCZYŃSK, W. Resistant starch – classification, structure, production. *Polish journal of food and nutrition sciences*. 2004, 13/54, 1, 37–50.
141. WEPNER, B., BERGHOFER, E., MIESENBERGER, E., TIEFENBACHER, K. Citrate starch: Application as resistant starch in different food systems. *Starch/Stärke*. 1999, 51, 354–361.
142. RAMONAITYTĖ, D.T. Cukraus ir krakmolo produktų mokslo ir technologijų pagrindai. Mokomoji knyga – Kaunas, Technologija, p. 243, 2003.
143. NUGENT, A. P. Health properties of resistant starch. British Nutrition Foundation. *Nutrition Bulletin*. 2005, 30, 27–54.
144. JIANG, H., JANE, J.L., ACEVEDO, D., GREEN, A., et al. Variations in starch physicochemical properties from a generation-means analysis study using amylomaize V and VII parents. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2010, 58, 5633–5639.
145. CUMMINGS, J.H., STEPHEN, A.M. Carbohydrate terminology and classification. *European Journal of Clinical Nutrition*. 2007, 61, 5–18.

146. SISWOYO, T.R., MORITA, N. Thermal properties of partially hydrolyzed starch glycerophosphatidylcholine complexes with various acyl chains. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2003, 51, 3162–3167.
147. ROCHFORD, S., PANOZZO, J. Phytochemicals for health, the role of pulses. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2007, 55, 7981–7994.
148. ZAMAN, S.A., SARBINI, S.R. The potential of resistant starch as a prebiotic. *Critical Reviews in Biotechnology*. 2016, 36 (3), 578–584.
149. WALTER, M., DA SILVA, L.P., DENARDIN, C.C. Rice and resistant starch: different content depending on chosen methodology. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2005, 18.4, 279–285.
150. SCOURBOUTAKOS, M. Synbiotics: Combining the Power of Pre-and Probiotics. *Journal of Food Science Education*, 2010, 9.1, 36–37.
151. RODRÍGUEZ-CABEZAS, M.E., CAMUESCO, D., ARRIBAS, B., GARRIDO-MESA, N., et al. The combination of fructooligosaccharides and resistant starch shows prebiotic additive effects in rats. *Clinical Nutrition*. 2010, 29, 832– 839.
152. YOUNES, H., COUDRAY, C., BELLANGER, J., DEMIGNÉ, C., et al. Effects of two fermentable carbohydrates (inulin and resistant starch) and their combination on calcium and magnesium balance in rats. *British Journal of Nutrition*. 2001, 86, 479– 485.
153. SHIMONI, E., in: N. Garti (Ed.), Starch as an encapsulation material to control digestion rate in the delivery of active food components. Delivery and controlled release of bioactives in foods and nutraceuticals. CRC Press, Boca Raton, FL, USA 2008. [žiūrėta 2022-10-24]. Prieiga per doi: 10.1201/9781439824207.ch11
154. HOMAYOUNI, A., AZIZI, A., EHSANI, M. R., YARMAND, M. S., RAZAVI, S. H., Effect of microencapsulation and resistant starch on the probiotic survival and sensory properties of synbiotic ice cream. *Food Chemistry*. 2008, 111, 50– 55.
155. SULTANA, K., GODWARD, G., REYNOLDS, N., et al. Encapsulation of probiotic bacteria with alginate–starch and evaluation of survival in simulated gastrointestinal conditions and in yoghurt. *Int. J. Food Microbiol.* 2000, 62, 47– 55.
156. IYER, C., KAILASAPATHY, K., Effect of co-encapsulation of probiotics with prebiotics on increasing the viability of encapsulated bacteria under in vitro acidic and bile salt conditions and in yogurt. *Journal of Food Science*. 2005, 70, 18– 23.
157. PROSKY, L., ASP, N.G., FURDA, I., DEVRIES, J.W., SCHWEIZER, T.F., HARLAND, B.F. Determination of total dietary fiber in foods and food products: Collaborative study. *Journal of AOAC International*. 1985, 68(4), 677–679.
158. LEE, S.C., PROSKY, L. International survey on dietary fiber definition, analysis, and reference materials. *Journal of AOAC International*. 1995, (78)1, 22–36.
159. ENGLYST, H., WIGGINS, H. L. & CUMMINS, J. H. Determination of the non-starch polysaccharides in plant foods by gas-liquid chromatography of constituent sugars as alditol acetates *Analyst*. 1982, 107, 307–318.
160. CHAMP, M. Determination of resistant starch in foods and food products: interlaboratory study. *European Journal of Clinical Nutrition*. 1992, 46(2), 51.
161. BERRY, C. S. Resistant starch: Formation and measurement of starch that survives exhaustive digestion with amylolytic enzymes during the determination of dietary fibre. *Journal Cereal Science*. 1986, 4, 301–314.
162. SHI, J., ZHENHUA, S., SHI, Y.C. Improved *in vitro* assay of resistant starch in cross-linked phosphorylated starch. *Carbohydrate Polymers*. 2019, 210, 210–214.

163. MASATCIOGLU, T.M., SUMER, Z., KOKSEL, H. An innovative approach for significantly increasing enzyme resistant starch type 3 content in high amylose starches by using extrusion cooking. *Journal of Cereal Science*. 2017, 74, 95–102.
164. FARIDAH, N.D., SILITONGA, R.F., INDRASTI, D., AFANDI, F.A., JAYANEGARA, A., ANUGERAH, M.P. Verification of autoclaving-cooling treatment to increase the resistant starch contents in food starches based on meta-analysis result. *Front Nutrition*. 2022; 9: 904700.
165. PRATIWI, M., FARIDAH, D.N., LIOE, H.N. Structural changes to starch after acid hydrolysis, debranching, autoclaving-cooling cycles, and heat moisture treatment (HMT): A review. *Starch/Staerke*. 2018, 70, 1700028.
166. SAJILATA, M.G., SINGHAL, R.S., KULKARNI, P.R. Resistant starch – a review. *Compr Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2006, 5, 1–17.
167. HOOVER, R., ZHOU, Y. In vitro and in vivo hydrolysis of legume starches by α -amylase and resistant starch formation in legumes—a review. *Carbohydrate Polymers*. 2003, 54, 401–417.
168. ONYANGO, C., BLEY, T., JACOB, A., HENLE, T., ROHM, H. Influence of incubation temperature and time on resistant starch type III formation from autoclaved and acid-hydrolysed cassava starch. *Carbohydrate Polymers*. 2006, 66, 494–499.
169. YANG, X.H., PAN, Y.F., LIU, Y.J., TANG, S.Z. Effect of autoclaving and steaming processing on the formation of cassava resistant starch. *Food and Fermentation Industries*. 2010, 11, 58–62.
170. CHANG-SEON, L., HYUN-JUNG, C. Enhancing Resistant Starch Content of High Amylose Rice Starch through Heat–Moisture Treatment for Industrial Application. *Molecules*. 2022, 27(19), 6375;
171. SINDHU, R., DEVI, A., KHATKAR, B.S. Physicochemical, thermal and structural properties of heat moisture treated common buckwheat starches. *Journal of Food Science Technology*. 2019, 56, 2480–2489.
172. HUANG, M., NO, J., SHIN, M. Effects of heat-moisture treatment on functional properties of high amylose rice starches with different crystalline types. Korean. *Journal of Food Science Technology*. 2020, 52, 31–39.
173. CINDY, S., PIETER, L.B. Starch in Food: Structures, Function and Applications, 2nd ed.; Woodhead Publishing: Cambridge, MA, USA, 2017, 357–375.
174. CHUNG, H.J., LIU, Q., HOOVER, R. Impact of annealing and heat-moisture treatment on rapidly digestible, slowly digestible and resistant starch levels in native and gelatinized corn, pea and lentil starches. *Carbohydr. Polym.* 2009, 75, 436–447.
175. ZAVAREZE, D.Z., DIAS, A.R.G. Impact of heat-moisture treatment and annealing in starches: A review. *Carbohydr. Polym.* 2011, 83, 317–328.
176. KAUR, H., GILL, B.S. Effect of high-intensity ultrasound treatment on nutritional, rheological and structural properties of starches obtained from different cereals. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2019, 126, 367–375.
177. AMINI, A.M., RAZAVI, S.M.A., MORTAZAVI, S.A. Morphological, physicochemical, and viscoelastic properties of sonicated corn starch. *Carbohydrate Polymers*. 2015, 122, 282–292.
178. MAJZOBI, M., SEIFZADEH, N., FARAHNAKY, A., MESBAHI, G. Effects of sonication on physical properties of native and cross-linked wheat starches. *Journal of Texture Studies*. 2015, 46 (2), 105–112.
179. ZHU, F. Impact of ultrasound on structure, physicochemical properties, modifications, and applications of starch. *Trends in Food Science & Technology*. 2015, 43 (1), 1–17.

180. ZHU, J., LI, L., CHEN, L., LI, X. Study on supramolecular structural changes of ultrasonic treated potato starch granules. *Food Hydrocolloids*. 2012, 29, 116-122. Zhu, J., Li, L., Chen, L., Li, X. Study on supramolecular structural changes of ultrasonic treated potato starch granules. *Food Hydrocolloids*. 2012, 29 (1), 116-122.
181. SUJKA, M., JAMROZ, J. Ultrasound-treated starch: SEM and TEM imaging, and functional behavior. *Food Hydrocolloids*. 2013, 31, 413-419.
182. DING, Y., XIAO, Y., OUYANG, Q., LUO, F., LIN, Q. Modulating the in vitro digestibility of chemically modified starch ingredient by a non-thermal processing technology of ultrasonic treatment. *Ultrason. Sonochem*. 2021, 70, 105350.
183. SUHAIMI, S.H.; HASHAM, R.; HAFIZ IDRIS, M.K.; ISMAIL, H.F.; MOHD ARIFFIN, N.H.; ABDUL MAJID, F.A. Optimization of Ultrasound-Assisted Extraction Conditions Followed by Solid Phase Extraction Fractionation from *Orthosiphon stamineus* Benth (Lamiace) Leaves for Antiproliferative Effect on Prostate Cancer Cells. *Molecules*. 2019, 24, 4183.
184. ZHANG, H.; LI, M.; LI, J.; ZHU, C. Effect of ultrasound pretreatment on enzymolysis and physicochemical properties of corn starch. *Adv. Eng. Res*. 2018, 164, 572–576.
185. FLORES-SILVA, P.C., ROLDAN-CRUZ, C.A., CHAVEZ-ESQUIVEL, G., VERNON CARTER, E.J., ALVAREZ-RAMIREZ, J. *In vitro* digestibility of ultrasound-treated corn starch. *Starch - Stärke*. 2017, 69, 9–10.
186. DING, Y., LUO, F., LIN, Q. Insights into the relations between the molecular structures and digestion properties of retrograded starch after ultrasonic treatment. *Food Chemistry*. 2019, 294, 248-259.
187. SETYANINGSIH, W., et al. Optimisation and validation of the microwave-assisted extraction of phenolic compounds from rice grains. *Food chemistry*, 2015, 169: 141-149.
188. GRACE, M.H., ESPOSITO, D., DUNLAP, K.L., LILA, M.A. Comparative analysis of phenolic content and profile, antioxidant capacity and anti-inflammatory bioactivity in wild Alaskan and commercial *Vaccinium* berries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2014, 62, 4007–4017
189. AFSHARI, K., HADDADI, N.S., HAJ-MIRZAIAN, A. et al. Natural flavonoids for the prevention of colon cancer: a comprehensive review of preclinical and clinical studies. *Journal of Cellular Physiology*. 2019, 234, 21519–21546.
190. POTI, F., SANTI, D., SPAGGIARI, G., ZIMETTI, F., ZANOTTI, I. Polyphenol health effects on cardiovascular and neurodegenerative disorders: a review and meta-analysis. *International Journal of Molecular Sciences*. 2019, 20, 351.
191. ALAUDDIN, M., RAHMAN, S., ISLAM, J., SHIRAKAWA, H., KOMAI, M., HOWLADER, M.Z.H. Development of rice bran functional food and evaluation of its healthful properties. In: *Rice Bran and Rice Bran Oil: Chemistry, Processing and Utilization* (edited by L.Z. Cheong & X. Xu). 2019, 183–206.
192. SOFI, S.A., AYOUB, A., JAN, A. Resistant starch as functional ingredient: a review. *International Journal of Food Science and Nutrition*. 2017, 2, 195–199.
193. BUJOR, O.C., GINIES, C., POPA, V.I., DUFOUR, C. Phenolic compounds and antioxidant activity of lingonberry (*Vaccinium vitis idaea* L.) leaf, stem and fruit at different harvest periods. *Food Chemistry*. 2018, 252, 356–365.
194. ISAAK, C.K., PETKAU, J.C., KARMIN, O.K., DEBNATH, S.C., SIOW, Y.L. Manitoba lingonberry (*Vaccinium vitis-idaea*) bioactivities in ischemia-reperfusion injury. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2015, 63, 5660–5669.

195. CHATTERJEE, E., MANUEL, S.G.A., HASSAN, S.S. Effect of Fruit Pectin on Growth of Lactic Acid Bacteria. *Journal of Probiotics & Health*. 2016, 4, 147.
196. AMARETTI, A., DI NUNZIO, M., POMPEI, A., RAIMONDI, S., ROSSI, M., BORDONI, A. Antioxidant properties of potentially probiotic bacteria: in vitro and in vivo activities. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2013, 97, 809–817.
197. TERPOU, A., PAPADAKI, A., LAPPA, I.K., KACHRIMANIDOU, V., BOSNEA, L.A., KOPSAHELIS, N. Probiotics in food systems: significance and emerging strategies towards improved viability and delivery of enhanced beneficial value. *Nutrients*, 2019, 11, 1591.
198. ETCHEPARE, DE A., RADDATZ, G.C., DE MORAES FLORES, E.M. et al. Effect of resistant starch and chitosan on survival of *Lactobacillus acidophilus* microencapsulated with sodium alginate. *LWT-Food Science and Technology*. 2016, 65, 511–517.
199. BARTKIENE, E., LELE, V., SAKIENE, V. et al. Improvement of the antimicrobial activity of lactic acid bacteria in combination with berries/fruits and dairy industry by-products. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2019, 99, 3992–4002.
200. BAUTISTA-GALLEGO, J., FERROCINO, I., BOTTA, C., ERCOLINI, D., COCOLIN, L., RANTSIOU, K. Probiotic potential of a *Lactobacillus rhamnosus* cheese isolate and its effect on the fecal microbiota of healthy volunteers. *Food Research International*. 2019, 119, 305–314.
201. SUN, W., SHAHRAJABIAN, M.H., LIN, M. Research Progress of Fermented Functional Foods and Protein Factory-Microbial Fermentation Technology. *Fermentation*. 2022, 8 (12), 688.
202. TILMAN, D., BALZER, C., HILL, J., BEFORT, B.L. Global food demand and the sustainable intensification of agriculture. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2011, 108, 20260–20264.
203. GUO, H., et al. Application of machine learning methods for the prediction of organic solid waste treatment and recycling processes: A review. *Bioresource Technology*. 2021, 319, 124114. ISSN 0960-8524.
204. LIN, Y., DU, D., SI, C., ZHAO, Q., LI, Z., LI, P. Potential biocontrol *Bacillus* sp. strains isolated by an improved method from vinegar waste compost exhibit antibiosis against fungal pathogens and promote growth of cucumbers. *Biol. Control*. 2014, 71, 7–15.
205. CANELLASA, L.P., OLIVARESA, P.L., AGUIARA, N.O., JONESB, D.L., NEBBIOSOC, A., MAZZEIC, P., PICCOLOC, A. Humic and fulvic acids as biostimulants in horticulture. *Scientia Horticulturae*. 2015, 196, 15–27.
206. COLLA, G., ROUPHAEL, Y. Biostimulants in horticulture. *Scientia Horticulturae*. 2015, 196, 1-2.
207. ADOM, K.K., LIU, R.H. Antioxidant activity of grains. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2002, 50, 6182-6187.
208. MOYIN-JESU, E.I. Use of different organic fertilizers on soil fertility improvement, growth and head yield parameters of cabbage (*Brassica oleraceae* L.). *Int. J. Recl. Org. Waste Agric*. 2015, 4, 291-298.
209. ÖPIK, H., ROLFE, S. Plant Growth hormones In The Physiology of Flowering Plants, Öpik, H., Rolfe, S., Willis, A. (Eds.). Cambridge University Press: Cambridge, London, 2005, 177–194.
210. SINGH, V.K., SINGH, A.K., KUMAR, A. Disease management of tomato through PGPB: current trends and future perspective. *Biotech*. 2017, 7, 255.

211. SINGH, V.K., SINGH, H.B., Upadhyay, R.S. Role of fusaric acid in the development of 'Fusarium wilt' symptoms in tomato: physiological, biochemical and proteomic perspectives. *Plant Physiol Biochem.* 2017, 118, 320–332.
212. TAHERI, A.E., CHATTERTON, S., FOROUD, N.A., GOSSEN, B.D., MCLAREN, D.L. Identification and community dynamics of fungi associated with root, crown, and foot rot of field pea in western. *Canada Eur J Plant Pathol.* 2017, 147, 489–500.
213. LAMONT, J.R., WILKINS, O., BYWATER-EKEGÅRD, M., SMITH, D.L. From yogurt to yield: potential applications of lactic acid bacteria in plant production. *Soil Bio Biochem.* 2017, 111, 1–9.
214. VAITKEVIČIENĖ, R., ŽADEIKĖ, D., et al. The use of rice polish medium for the evaluation of antifungal activity of lactic acid bacteria. *Zemdirbyste-Agriculture.* 2019, 106(1), 59-64.
215. MARCO, M.L., HEENEY, D., BINDA, S., CIFELLI, C.J., COTTER, P.D., FOLIGNÉ, B., GÄNZLE, M., KORT, R., PASIN, G., PIHLANTO, A., SMID, E.J., HUTKINS, R. Health benefits of fermented foods: microbiota and beyond. *Curr Opin Biotechnol.* 2017, 44, 94–102.
216. GARSA, A.K., KUMARIYA, R., SOOD, S.K., KUMAR, A., KAPILA, S. Bacteriocin production and different strategies for their recovery and purification. *Probiotics Antimicrob Proteins.* 2014, 6, 47–58.
217. LUTZ, M.P., MICHEL, V., MARTINEZ, C., CAMPS, C. Lactic acid bacteria as biocontrol agents of soil-borne pathogens. *Bulletin IOBC wprs.* 2012, 78, 285-288.
218. GALANAKIS, C.M. Food Waste Recovery: Processing Technologies and Industrial Techniques, first ed. *Academic Press, Elsevier.* 2015.
219. SPIKER, M., HIZA, H., SIDDIQI, S.M., NEFF, R.A. Wasted food, wasted nutrients: nutrient loss from wasted food in the United States and comparison to gaps in dietary intake. *J. Acad. Nutr. Dietetics.* 2017, 117 (7), 1031–1040.
220. BARTKIENE, E., BARTKEVICS, V., PUGAJEVA, I., KRUNGLEVICIUTE, V., MAYRHOFER, S., DOMIG, K. The contribution of *P. acidilactici*, *L. plantarum*, and *L. curvatus* starters and L-(+)-lactic acid to the acrylamide content and quality parameters of mixed rye-wheat bread. *LWT – Food Science and Technology.* 2017, 80, 43–50.
221. PAUDEL, R., TYAGI, S. Effect of different pH on the growth and sporulation of *Fusarium oxysporum*: the causal organism of wilt disease of tomato. *International Journal of Basic and Applied Biology.* 2014, 2, 103–106.
222. MILLER, G.L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Anal Chem.* 1959, 31, 426–428.
223. TANG, P. Y., et al. Optimization of pectin extraction from peel of dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*). *Asian Journal of Biological Sciences*, 2011, 4.2, 189-195.
224. CUPP-ENYARD, C. Sigma's Non-specific Protease Activity Assay - Casein as a Substrate. *Journal of Visualized Experiments.* 2008, 19, 899.).
225. MAGALDI, S., MATA-ESSAYAG, S., HARTUNG DE CAPRILES, C., PEREZ, C., COLELLA, M.T., OLAIZOLA, C., ONTIVEROS, Y. Well diffusion for antifungal susceptibility testing. *International Journal of Infectious Diseases.* 2004, 8, 39–45.
226. BALOUIRI, M., SADIKI, M., KORAICHI IBNSOUDA, S. Methods for *in vitro* evaluating antimicrobial activity: a review. *Journal of Pharmaceutical Analysis.* 2016, 6, 71–79.
227. SINGLETON, V.L., ORTHOFER, R., LAMUELA-RAVENTOS, R.M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagents. *Methods Enzymol.* 1999, 299, 152–178.

228. MAKKAR, H.P.S. Measurement of Total Phenolics and Tannins Using Folin-Ciocalteu Method. In *Quantification of Tannins in Tree and Shrub Foliage*. 2003, 49–51.
229. MAKKAR, H.P.S. et al. Limitation of the butanol–hydrochloric acid–iron assay for bound condensed tannins. In *Food Chemistry*. 1999, 66(1), 129–133.
230. LIU, K. Soybean Trypsin Inhibitor Assay: Further Improvement of the Standard Method Approved and Reapproved by American Oil Chemists' Society and American Association of Cereal Chemists International. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 2019., 96(6), 635–645.
231. ASHWAR, B. A., SHAH, A., GANI, A., SHAH, U., GANI, A., WANI, I. A., et al. Rice starch active packaging films loaded with antioxidants - Development and characterization. *Starch/Stärke*. 2014, 66, 1–9.
232. WANG, L., BAI, X. The producing technology of resistant starch from buckwheat using ultrasonic treatment. *Sustainability in Environment*. 2017, 2(3), 301–308.
233. AHMAD, M.; GANI, A.; MASOODI, F.A.; RIZVI, S.H. Influence of ball milling on the production of starch nanoparticles and its effect on structural, thermal, and functional properties. *Int. J. Biol. Macromol.* 2020, 151, 85–91.
234. LI, A., GAO, Q., WARD, R. Physicochemical properties and in vitro digestibility of resistant starch from mung bean (*Phaseolus radiatus*). *Starch-Stärke*. 2011, 63, 171–178.
235. FROST, K., KAMINSKI, D., KIRWAN, G., LASCARIS, E., SHANKS, R. Crystallinity and structure of starch using wide angle X-ray scattering. *Carbohydrate Polymers*. 2009, 78, 543–548.
236. RANAL, M.A., DE SANTANA, D.G. How and why to measure the germination process? *Braz J Bot.* 2006, 29, 1–11.
237. COSTACHE, M.A., CAMPEANU, G., NEATA, G. Studies concerning the extraction of chlorophyll and total carotenoids from vegetables. *Rom Biotechnol Lett.* 2012, 17, 7702–7708.
238. Azat, R., Liu, Y., Li, W., Kayir, A., Lin, D.B., Zhou, W.W., Zheng, X.D. Probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from traditionally fermented Xinjiang cheese. *Journal of Zhejiang University-SCIENCE B*. 2016, 17(8), 597–609.
239. LIONG, M.T., SHAH, N.P. Acid and bile tolerance and cholesterol removal ability of lactobacilli strain. *Journal of Dairy Science*. 2005, 88, 55–66.
240. MANINI, F., CASIRAGNI, M. C., POUTANEN, K., BRASCA, M., ERBA, D., PLUMED-FERRER, C. Characterization of lactic acid bacteria from wheat bran sourdough. *LWT Food Science and Technology*. 2016, 66, 275–283.
241. CHARALAMPOPOULUS, D., PANDIELLA, S.S., WEBB, C. Growth Studies of Potentially Probiotic Lactic Acid Bacteria in Cereal-Based Substrates. *Journal of Applied Microbiology*. 2002, 851–85.
242. RATHORE, S., SALMERÓN, I., PANDIELLA, S.S. Production of potentially probiotic beverages using single and mixed cereal substrates fermented with lactic acid bacteria cultures. *Food Microbiology*. 2012, 30, 239–244.
243. BERTSCH, A., ROY, D., LAPOINTE, G. Fermentation of Wheat Bran and Whey Permeate by Mono-Cultures of *Lactocaseibacillus rhamnosus* Strains and Co-culture With Yeast Enhances Bioactive Properties. *Front. Bioeng. Biotechnol.* [žiūrėta 2022-10-24]. Prieiga per doi 10.3389/fbioe.2020.00956
244. WICK, M., STOLZ, P., BÖCKER, G., LEBEAULT, J.M. Influence of several process parameters on sourdough fermentation, *Acta Biotechnol.* 2003, 23, 51–61.

245. FOLASHADE, B.I., MAT GANI, H.S., KHARIDAH, M. Optimisation of important processing conditions for rice bran sourdough fermentation using *Lactobacillus plantarum*. *Foods and Raw Materials*. 2019, 7(1), 131-142.
246. SALMENKALLIO-MARTTILA, M., KATINA, K., AUTIO, K. Effect of bran fermentation on quality and microstructure of high-fibre wheat bread. *Cereal Chemistry*. 2001, 78, 429-435.
247. KYLÄ-NIKKILÄ, K., HUJANEN, M., LEISOLA, M., PALVA, A. Metabolic engineering of *Lactobacillus helveticus* CNRZ32 for production of pure L(+)-lactic acid. *Appl. Environ. Microbiol.* 2000, 66, 3835-3841.
248. SHARMA, H. R., CHAUHAN, G. S., AGRAWAL, K. Physico-chemical characteristics of rice bran processed by dry heating and extrusion cooking. *International Journal of Food Properties*. 2004, 7, 603-614.
249. WEE, Y. J., YUN, J. S., PARK, D. H., RYU, H. W. Biotechnological production of L(+)-lactic acid from wood hydrolyzate by batch fermentation of *Enterococcus faecalis*. *Biotechnology Letters*. 2004, 26, 71-74.
250. HOFVENDAHL, K., HAHN-HÄGERDAL, B. Factors affecting the fermentative lactic acid production from renewable resources. *Enzyme Microbiology and Technology*. 2000, 26, 87-107.
251. TANIGUCHI, M., HOSHINA, M., TANABE, S., HIGUCHI, Y., SAKAI, K., OHTSUBO, S., et al. Production of L-lactic acid by simultaneous saccharification and fermentation using unsterilized defatted rice bran as a carbon source and nutrient components. *Food Science and Technology Research*. 2005, 44(4), 400-406.
252. WANG, Y., YANG, Z., QIN, P., TAN, T. Fermentative L(+)-lactic acid production from defatted rice bran. *RSC Adv.* 2014, 4, 8907-8913
253. ABDEL-RAHMAN, M.A., TASHIRO, Y., SONOMOTO, K. Recent advances in lactic acid production by microbial fermentation processes. *Biotechnol. Adv.* 2013, 31, 877-902.
254. ABDEL-RAHMAN, M.A., TASHIRO, Y., SONOMOTO, K. Lactic acid production from lignocellulose-derived sugars using lactic acid bacteria: overview and limits. *J. Biotechnol.* 2011, 156, 286-301.
255. OKANO, K., HAMA, S., KIHARA, M., NODA, H., TANAKA, T., KONDO, A. Production of optically pure D-lactic acid from brown rice using metabolically engineered *Lactobacillus plantarum*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2017, 101, 1869-1875.
256. JUODEIKIENE, G., KLUPSAITE, D., ZADEIKE, D., CIZEIKIENE, D., VIDZIUNAITE, I., BARTKIENE, E., CERNAUSKAS, D. Bioconversion of agro-industrial by-products to lactic acid using *Lactobacillus sakei* and two *Pediococcus* spp. strains. *Int. J. Food Sci. Technol.* 2016, 51, 2682-2691.
257. NARAYANAN, N., ROYCHOUDHURY, P. K., SRIVASTAVA, A. L(+) lactic acid fermentation and its product polymerization. *Electronic Journal of Biotechnology*. 2004, 7(2), 167-178.
258. GÄNZLE, M. G., VERMEULEN, N., VOGEL, R. F. Carbohydrate, peptide and lipid metabolism of lactic acid bacteria in sourdough. *Food Microbiology*. 2007, 24(2), 128-138.
259. ZOTTA, T. et al. Proteolysis in model sourdough fermentations. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2006, 54(7), 2567-2574.
260. KAHN, T. S. Rice Bran: Production, Composition, Functionality and Food Applications, Physiological Benefits. In *Fiber Ingredients: Food Applications and Health*

- Benefits; Cho, S. S., Samuel, P., Eds.; Taylor and Francis Group, LLC: Boca Raton, 2009, 305-321.
261. HELLAND, M.H., WICKLUND, T., NARVHUS, J.A. Growth and metabolism of selected strains of probiotic bacteria in milk- and water-based cereal puddings. *Int. Dairy J.* 2004, 14, 957– 965.
 262. FERIAL, M.A.S., ESMAT, A.A.A. Physico-chemical properties of tempeh produced from chickpea seeds. *Journal of American Science.* 2011, 7(7), 107–118.
 263. KIELISZEK, M., POBIEGA, K., PIWOWAREK, K., KOT, M.A. Characteristics of the Proteolytic Enzymes Produced by Lactic Acid Bacteria. *Molecules.* 2021, 26 (7), 1858.
 264. WU, G., WU, Z., DAI, Z., YANG, Y., WANG, W., LIU, C., et al. Dietary requirements of nutritionally non-essential amino acids by animals and humans. *Amino Acids.* 2013, 44, 1107–1113.
 265. WANG, C., XU, F., LI, D., ZHANG, M. Physico-chemical and Structural Properties of Four Rice Bran Protein Fractions Based on the Multiple Solvent Extraction Method. *Czech J. Food Sci.* 2015, 33(3), 283–291.
 266. CONNOR, M. A., SAUNDERS, R. M., KOHLER, G. O. Rice bran protein concentrates obtained by alkaline extraction. *Cereal Chemistry.* 1976, 53(4), 488–496.
 267. WANG, C., XU, F., LI, D., ZHANG, M. Physico-chemical and structural properties of four rice bran protein fractions based on the multiple solvent extraction method. *Czech Journal of Food Sciences.* 2015, 33(3), 283–291.
 268. MANNAA, M., KIM, D.J. Influence of Temperature and Water Activity on Deleterious Fungi and Mycotoxin Production during Grain Storage. *Mycobiology.* 2017, 45(4), 240–254.
 269. MANDAL, V., SEN, S.K., MANDAL, N.C. Production and partial characterisation of an inducer-dependent novel antifungal compound(s) by *Pediococcus acidilactici* LAB 5. *Journal of the Science of Food and Agriculture.* 2013, 93(10), 2445–2453.
 270. CIZEKIENE, D., JUODEKIENE, G., PASKEVICIUS, A., BARTKIENE, E. Antimicrobial activity of lactic acid bacteria against pathogenic and spoilage microorganism isolated from food and their control in wheat bread. *Food Control.* 2013, 31 (2), 539–545.
 271. CABO, M.L., BRABER, A.F., KOENRAAD, P.M. Apparent antifungal activity of several lactic acid bacteria against *Penicillium discolor* due to acetic acid in the medium. *Journal of Food Protection.* 2002, 65, 1309–1316.
 272. LAVERMICOCCA, P., VALERIO, F., EVIDENTE, A., LAZZARONI, S., CORSETTI, A., GOBBETI, M. Purification and characterization of novel antifungal compounds from the sourdough *Lactobacillus plantarum* Strain 21B. *Applied and Environmental Microbiology.* 2000, 66, 4084–4090.
 273. NIKU-PAAVOLA, M.L., LAITILA, A., MATTILA-SANDHOLM, T., HAIKARA, A. New types of antimicrobial compounds produced by *Lactobacillus plantarum*. *J. Appl. Microbiol.* 1999, 86, 29–35.
 274. GEREZ, C.L., TORINO, M.I., ROLLÁN, G., VALDEZ, G.F. Prevention of bread mould spoilage by using lactic acid bacteria with antifungal properties. *Food Control.* 2009, 20 (2), 144–148.
 275. HASSAN, Y.I., ZHOU, T., BULLERMAN, L.B. Sourdough lactic acid bacteria as antifungal and mycotoxincontrolling agents. *Food Science and Technology International.* 2015, 22 (1), 79–90.

276. NISA, K. et al. Total phenolic contents and antioxidant activity of rice bran fermented with lactic acid bacteria. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 2019, 251, 012020.
277. PRIYANTHI, C., SIVAKANESAN, R. The Total Antioxidant Capacity and the Total Phenolic Content of Rice Using Water as a Solvent Hindawi. *International Journal of Food Science*. 2021, 5268584.
278. PUNIA, S. et al. *Aspergillus oryzae* Fermented Rice Bran: A Byproduct with Enhanced Bioactive Compounds and Antioxidant Potential. 2020. [žiūrėta 2022-10-24]. Prieiga per doi: 10.3390/foods10010070.
279. ADEYEMO, S.M., ONILUDE, A.A. Enzymatic Reduction of Anti-nutritional Factors in Fermenting Soybeans by *Lactobacillus plantarum* Isolates from Fermenting Cereals. *Nigerian Food Journal*. 2013, 31(2), 84–90.
280. SERRANO, J., PUUPPONEN-PIMIÄ, R., DAUER, A., AURA, A.M., SAURA-CALIXTO, F. Tannins: Current knowledge of food sources, intake, bioavailability and biological effects. *Mol. Nutr. Food Res*. 2009, 53, S310–S329.
281. GÄNZLE, M.G. et al. Proteolysis in sourdough fermentations: mechanisms and potential for improved bread quality. In *Trends in Food Science & Technology*. 2008, 19(10), 513–521.
282. MUKHERJEE, R. et al. Role of Fermentation in Improving Nutritional Quality of Soybean Meal — A Review. In *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*. 2016, 29(11), 1523.
283. YANG, Q.Y., LU, X.X., CHEN, Y.Z., LUO, Z.G., XIAO, Z.G. Fine structure, crystalline and physicochemical properties of waxy corn starch treated by ultrasound irradiation. *Ultrasonics Sonochemistry*. 2019, 51, 350–358.
284. WANG, H., XU, K., MA, Y., LIANG, Y., ZHANG, H., & CHEN, L. Impact of ultrasonication on the aggregation structure and physicochemical characteristics of sweet potato starch. *Ultrasonics Sonochemistry*. 2020, 63, 104868.
285. BENMOUSSA, M., HAMAKER, B. R. Rapid small scale starch isolation using a combination of ultrasonic sonication and sucrose density separation. *Starch-Stärke*. 2011, 63, 333–339.
286. VILLAS-BOAS, F., FACCHINATTO, W.M., COLNAGO, L.A., VOLANTI, D.P., FRANCO, C.M.L. Effect of amylolysis on the formation, the molecular, crystalline and thermal characteristics and the digestibility of retrograded starches. *Int. J. Biol. Macromol*. 2020, 163, 1333–1343.
287. YOU, Q., ZHANG, X., FANG, X., YIN, X., LUO, C., WAN, M. Ultrasonic-assisted preparation and characterization of RS3 from pea starch. *Food Bioprocess Technology*. 2019, 12, 1244–1249.
288. NOOR, N., GANI, A., JHAN, F., JENNO, J. L. H., DA, M. A. Resistant starch type 2 from lotus stem: ultrasonic effect on physical and nutraceutical properties. *Ultrasonics Sonochemistry*. 2021, 76, 105655.
289. PARK, D. J., HAN, J. A. Quality controlling of brown rice by ultrasound treatment and its effect on isolated starch. *Carbohydrate Polymers*. 2016, 10, 30–38.
290. ZUO, J.Y., KNOERZER, K., MAWSON, R., KENTISH, S., ASHOKKUMAR M. The pasting properties of sonicated waxy rice starch suspensions. *Ultrason. Sonochem*. 2009, 16, 462–468.
291. MAN, J., YANG, Y., ZHANG, C., ZHANG, F., WANG, Y., GU, M., LIU, Q., WEI, C. Morphology and structural characterization of high-amylose rice starch residues hydrolyzed by porcine pancreatic α -amylase. *Food Hydrocolloids*. 2013, 31, 195–203.

292. MA, Z., HU, X., LI, X., LIU, L., JOYCE, I., BOYE, J.I. Structural characterization of resistant starch isolated from Laird lentils (*Lens culinaris*) seeds subjected to different processing treatments. *Food Chemistry*. 2018, 263, 163–170.
293. FALSAFI, S.R., MAGHSOUDLOU, Y., ROSTAMABADI, H., ROSTAMABADI, M.M., HAMED, H., HOSSEINI, S.M.H. Preparation of physically modified oat starch with different sonication treatments. *Food Hydrocolloids*. 2019, 89, 311–320.
294. BEMILLER, J. N., HUBER K. C. Nonchemical modification of food starch functionalities. *Annual Review of Food Science and Technology*. 2015, 6, 19–69.
295. NAWAZ, H., WAHEED, R., NAWAZ, M., SHAHWAR, D. Physical and chemical modifications in starch structure and reactivity. In M. Emeje (Ed.), *Chemical Properties of Starch*. 2020, 1–21.
296. CHAN, H.T., BHAT, R., KARIM, A.A. Effects of sodium dodecyl sulphate and sonication treatment on physicochemical properties of starch. *Food Chemistry*. 2010, 120, 703–709.
297. BIAN, L., CHUNG, H.J. Molecular structure and physicochemical properties of starch isolated from hydrothermally treated brown rice flour. *Food Hydrocoll.* 2016, 60, 345–652.
298. WEI, B., PU, Q., WU, C., ZOU, J., SHI, K., XU, B., MA, Y. The temperature induced disruption process of amylopectin under ultrasonic treatments. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2022, 205, 297–303.
299. KITRYTĖ, V., KAVALIAUSKAITĖ, A., TAMKUTĖ, L., PUKALSKIENĖ, M., SYRPAS, M., VENSKUTONIS, P.R. Zero waste biorefining of lingonberry (*Vaccinium vitis-idaea* L.) pomace into functional ingredients by consecutive high pressure and enzyme assisted extractions with green solvents. *Food Chemistry*. 2020, 322, 126767.
300. TACHEDJIAN, G., ALDUNATE, M., BRADSHAW, C.S. & CONE, R.A. The role of lactic acid production by probiotic *Lactobacillus* species in vaginal health. *Research in Microbiology*. 2017, 168, 782–792.
301. THERON, M.M., LUES, J.F. Rykers. *Organic acids and food preservation*. CRC press, 2010.
302. WALI, M.K., ABED, M.M. Antibacterial activity of acetic acid against different types of bacteria causes food spoilage. *J Food Technol Pres.* 2018, 3(1), 1–4.
303. FIGUEROA, L.E., GENOVESE, D.B. Pectin gels enriched with dietary fibre for the development of healthy confectionery jams. *Food technology and biotechnology*. 2018, 56.3: 441–453.
304. ZANJANI, M.A.K., et al. Microencapsulation of *Lactobacillus casei* with calcium alginate-resistant starch and evaluation of survival and sensory properties in cream-filled cake. *African Journal of Microbiology Research*. 2012, 6.26: 5511–5517.
305. KARAMATI, JABEHDAR, S. et al. In Vitro Antimicrobial Effect of Phenolic Extracts and Resistant Starch on *Escherichia coli*, *Streptococcus* spp., *Bifidobacterium* and *Lactobacillus* spp. *Kafkas Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi*. 2019, 25 (2), 137–146.
306. GEREZ, C.L., CARBAJO, M.S., ROLLAN, G., TORRES, G.L., FONT DE VALDEZ, G. Inhibition of citrus fungal pathogens by using lactic acid bacteria. *Journal of Food Science*. 2010, 75, 354–359.
307. WATERS, D.M., MAUCH, A., COFFEY, A., ARENDT, E.K., ZANNINI, E. Lactic acid bacteria as a cell factory for the delivery of functional biomolecules and ingredients in cereal-based beverages: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2015, 55, 503–520.

308. PUUPPONEN-PIMIA, R., NOHYNEK, L., ALAKOMI, H.L., OKSMAN-CALDENTY, K. M. Bioactive berry compounds novel tools against human pathogens. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2005, 67, 8–18.
309. PUUPPONEN-PIMIÄ, R., et al. Antimicrobial properties of phenolic compounds from berries. *Journal of applied microbiology*. 2001, 90 (4), 494-507.
310. TYAGI, B., et al. Antibacterial activity of phenolics compounds against pathogenic bacteria. *Int J Pharm Sci Rev Res*. 2015, 35: 16-18.
311. LINARES, D.M., GÓMEZ, C., et al. Lactic Acid Bacteria and Bifidobacteria with Potential to Design Natural Biofunctional Health-Promoting Dairy Foods. *Front. Microbiol*. 2017, 8.
312. JARBOUI, R., DHOUB, B., AMMAR, E., Effect of food waste compost (FWC) and its non-aerated fermented extract (NFCE) on seeds germination and plant growth. *Open J Soil Sci*. 2021, 11, 122–138.
313. NAZARI, B., MOHAMMADIFAR, M.A., SHOJAEE-ALIABADI, S., FEIZOLLAHI, E., MIRMOGHATAIE, L. Effect of ultrasound treatments on functional properties and structure of millet protein concentrate. *Ultrason. Sonochem*. 2018, 41, 382–388.
314. NNAM, N.M., OBIKOR, P.N. Effect of fermentation on the nutrient and antinutrient composition of baobab (*Adansonia digitata*) seeds and rice (*Oryza sativa*) grains. *Ecol. Food Nutr*. 2003, 42, 265–277.
315. OLADEJI, B.S., IRINKOYENIKAN, O.A., AKANBI, C.T., GBADAMOSI, S.O. Effect of fermentation on the physicochemical properties, pasting profile and sensory scores of normal endosperm maize and quality protein maize flours. *Int. Food Res. J*. 2018, 25, 1100–1108.
316. XU, G., FAN, X., MILLER, A.J. Plant nitrogen assimilation and use efficiency. *Annu Rev Plant Biol*. 2012, 63, 153–182.
317. TANAKA, T., HOSHINA, M., TANABE, S., SAKAI, K., OHTSUBO, S., TANIGUCHI, M. Production of D-lactic acid from defatted rice bran by simultaneous saccharification and fermentation. *Bioresour Technol*. 2006, 97, 211–217.
318. SHAO, Y., XU, F., SUN, X., BAO, J., BETA, T. Phenolic acids, anthocyanins, and antioxidant capacity in rice (*Oryza sativa* L.) grains at four stages of development after flowering. *Food Chem*. 2014, 143, 90–96.
319. IFTIKHAR, M., ZHANG, H., IFTIKHAR, A., RAZA, A., et al. Study on optimization of ultrasonic assisted extraction of phenolic compounds from rye bran. *LWT Food Sci. Technol*. 2020, 134, 110243.
320. BORGES, A., FERREIRA, C., SAAVEDRA, M.J., SIMÕES, M. Antibacterial activity and mode of action of ferulic and gallic acids against pathogenic bacteria. *Microb. Drug Resist*. 2013, 19, 256–265.
321. PADAYACHEE, A., NETZEL, G., NETZEL, M., DAY, L., ZABARAS, D., MIKKELSEN, D., GIDLEY, M.J. Binding of polyphenols to plant cell wall analogues-part 2: Phenolic acids. *Food Chem*. 2012, 135, 2287–2292.
322. CONIGLIO, R.O.G., DÍAZ, V., BARUA, R.C., ALBERTÓ, E., ZAPATA, P.D. Enzyme-assisted extraction of phenolic compounds and proteins from sugarcane bagasse using a low-cost cocktail from *Auricularia fucosuccinea*. *Int J Food Sci Technol*. 2022, 57, 1114–1121.
323. DE LA ROSA, L.A., MORENO-ESCAMILLA, J.O., RODRIGO-GARCÍA, J., ALVAREZ-PARRILLA, E. Phenolic Compounds (Chapter 12), in *Postharvest Physiology and Biochemistry of Fruits and Vegetables*, ed. by Yahia EM. Woodhead Publishing, London. 2019, 253–271.

324. LATTANZIO, V., VERONICA, M., LATTANZIO, T., CARDINALI, A. Role of Phenolics in the Resistance Mechanisms of Plants Against Fungal Pathogens and Insects. *In Phytochemistry: Advances in Research; Imperato*. 2006, 23–67.
325. LI, Z.J., LIU, M., DAWUTI, G., DOU, Q., MA, Y., LIU, H.G., AIBAI, S. Antifungal activity of gallic acid in vitro and in vivo. *Phytother. Res.* 2017, 19, 1039–1045.
326. KAN, C.C., CHUNG, T.Y., JUO, Y.A., HSIEH, M.H. Glutamine rapidly induces the expression of key transcription factor genes involved in nitrogen and stress responses in rice roots. *BMC Genomics*. 2015, 16:731.
327. GAUFCHON, L., REISDORF-CREN, M., ROTHSTEIN, S.J., CHARDON, F., SUZUKI, A. Biological functions of asparagine synthetase in plants. *Plant Sci.* 2010, 179, 141–153.
328. KILLINY, N., HIJAZ, F. Amino acids implicated in plant defense are higher in *Candidatus Liberibacter asiaticus*-tolerant citrus varieties. *Plant Signal Behav.* 2016, 11, 1171449.
329. ADEBIYI, J.A., OBADINA, A.O., ADEBO, O.A., KAYITESI, E. Comparison of nutritional quality and sensory acceptability of biscuits obtained from native, fermented, and malted pearl millet (*Pennisetum glaucum*) flour. *Food Chem.* 2017, 233, 210–217.
330. OSMAN, M.A. Effect of traditional fermentation process on the nutrient and antinutrient contents of pearl millet during preparation of Lohoh. *J. Saudi Soc. Agric. Sci.* 2011, 10, 1–6.
331. MEINLSCHMIDT, P., UEBERHAM, E., LEHMANN, J., SCHWEIGGERT-WEISZ, U., EISNER, P. Immunoreactivity, sensory and physicochemical properties of fermented soy protein isolate. *Food Chem.* 2016, 205, 229–238.
332. AGUIRRE, L., GARRO, M.S., DE GIORI, G.S. Enzymatic hydrolysis of soybean protein using lactic acid bacteria. *Food Chem.* 2008, 111, 976–982.
333. ROCKEN, W. Applied aspects of sourdough fermentation. *Adv Food Sci.* 1996, 18, 212–216.
334. CORSETTI, A., GOBBETTI, M., ROSSI, J., DAMIANI, P. Antimould activity of sourdough lactic acid bacteria: identification of a mixture of organic acids produced by *Lactobacillus sanfrancisco* CB1. *Appl Microbiol Biotechnol.* 1998, 50, 253–256.
335. MUTALE-JOAN, C., REDOUANE, B., NAJIB, E., YASSINE, K., LYAMLOULI, K., LAILA, S., et al., Screening of microalgae liquid extracts for their bio stimulant properties on plant growth, nutrient uptake and metabolite profile of *Solanum lycopersicum* L. *Sci Rep.* 2020, 10, 2820.
336. JEDRCZAK, A. Composting and fermentation of biowaste—Advantages and disadvantages of processes. *Civ. Environ. Eng. Reports.* 2018, 28, 71–87.
337. POPKO, M., MICHALAK, I., WILK, R., GRAMZA, M., CHOJNACKA, K., GÓRECKI, H. Effect of the new plant growth biostimulants based on amino acids on yield and grain quality of winter wheat. *Molecules.* 2018, 23, 470.
338. COLLA, G., ROUPHAEL, Y., CANAGUIER, R., SVECOVA, E., CARDARELLI, M. Biostimulant action of a plant-derived protein hydrolysate produced through enzymatic hydrolysis. *Front. Plant Sci.* 2014, 5, 448.
339. ZHAO, J., XU, Y., DING, Q., HUANG, X., ZHANG, Y., ZOU, Z., et al., Association mapping of main tomato fruit sugars and organic acids. *Front Plant Sci.* 2016, 7, 1286.

MOKSLINIŲ PUBLIKACIJŲ DISERTACIJOS TEMA SĄRAŠAS

Straipsniai, susiję su disertacijos tema, Mokslinės informacijos instituto (Thomson Reuters Web of Knowledge) duomenų bazėse referuojamuose leidiniuose

1. **Jukonyte, Ruta;** Zadeike, Daiva; Bartkiene, Elena; Lele, Vita; Cernauskas, Darius; Suproniene, Skaidre; Juodeikiene, Grazina. A potential of brown rice polish as a substrate for the lactic acid and bioactive compounds production by the lactic acid bacteria newly isolated from cereal-based fermented products // *LWT–Food Science and Technology*. Amsterdam : Elsevier. ISSN 0023-6438. eISSN 1096-1127. 2018, vol. 97, p. 323-331. DOI: 10.1016/j.lwt.2018.07.012. [IF: 3,714; AIF: 2,851; IF/AIF: 1,302; Q1 (2018, InCites JCR SCIE)].
2. **Vaitkevičienė, Rūta;** Žadeikė, Daiva; Bartkienė, Elena; Krunglevičiūtė, Vita; Baliukonienė, Violeta; Supronienė, Skaidrė; Juodeikienė, Gražina. The use of rice polish medium for the evaluation of antifungal activity of lactic acid bacteria = Ryžių poliravimo atliekų panaudojimas įvertinti pieno rūgšties bakterijų priešgrybiniam aktyvumui // *Žemdirbystė = Agriculture. Akademija : Lietuvos agrarinių ir miškų mokslų centras*. ISSN 1392-3196. eISSN 2335-8947. 2019, vol. 106, iss. 1, p. 59-64. DOI: 10.13080/za.2019.106.008. [IF: 0,833; AIF: 2,184; IF/AIF: 0,381; Q3 (2019, InCites JCR SCIE)].
3. **Vaitkevičienė, Ruta;** Zadeike, Daiva; Gaizauskaite, Zydrune; Valentaviciute, Kristina; Marksa, Mindaugas; Mazdzieriene, Ramute; Bartkiene, Elena; Lele, Vita; Juodeikiene, Grazina; Jakstas, Valdas. Functionalisation of rice bran assisted by ultrasonication and fermentation for the production of rice bran–lingonberry pulp-based probiotic nutraceutical // *International journal of food science and technology*. London : John Wiley & Sons. ISSN 0950-5423. eISSN 1365-2621. 2022, vol. 57, iss. 3, p. 1462-1472. DOI: 10.1111/ijfs.15053. [IF: 3,612; AIF: 5,238; IF/AIF: 0,689; Q2 (2021, InCites JCR SCIE)].
4. **Vaitkevičienė, Ruta;** Bendoraitienė, Joana; Degutyte, Rimgaile; Svazas, Mantas; Zadeike, Daiva. Optimization of the sustainable production of resistant starch in rice bran and evaluation of Its physicochemical and technological properties // *Polymers*. Basel : MDPI. ISSN 2073-4360. 2022, vol. 14, iss. 17, art. no. 3662, p. 1-16. DOI: 10.3390/polym14173662. [IF: 4,967; AIF: 5,162; IF/AIF: 0,962; Q1 (2021, InCites JCR SCIE)].
5. **Vaitkevičienė, Ruta;** Burbulis, Natalija; Masiene, Ramune; Zvirdauskiene, Renata; Jakstas, Valdas; Damasius, Jonas; Zadeike, Daiva. Fermentation as a promising tool to valorize rice-milling waste into bio-products active against root-rot-associated pathogens for improved horticultural plant growth // *Fermentation*. Basel : MDPI. ISSN 2311-5637. 2022, vol. 8, iss. 12, art. no. 716, p. 1-15. DOI: 10.3390/fermentation8120716. [Science Citation Index Expanded (Web of Science); Scopus; DOAJ] [IF: 5,123; AIF: 5,683; IF/AIF: 0,901; Q2 (2021, InCites JCR SCIE)].

Konferencijų pranešimai ir tezės

1. **Vaitkevičienė, Ruta;** Burbulis, Natalija; Masiene, Ramune; Jakstas, Valdas; Zvirdauskiene, Renata; Mazdzieriene, Ramute; Zadeike, Daiva. Evaluation of functionalized rice bran for the resistance of garden plants against foot and root rot-associated bacteria for the enhanced seed germination and plant growth // *FoodBalt – 2022: 15th Baltic conference on food science and technology “Food R&D in the Baltics*

- and beyond“, September 26-27, 2022 Kaunas, Lithuania: abstract book. Kaunas : Kauno technologijos universitetas, 2022. eISBN 9786090218051. p. 17.
2. **Vaitkevičienė, Rūta**; Iljenkaitė, Kristina; Žadeikė, Daiva. Probiotic gel-type bars enriched with phytochemicals // Technorama 2022: Code: innovation: catalogue. Kaunas : KTU. 2022, p. 9-10.
 3. **Vaitkevičienė, Rūta**; Bendoraitienė, Joana; Degutytė, Rimgailė; Juodeikienė, Grazina; Zadeike, Daiva. Ultrasound-assisted production of resistant starch in rice milling by-products matrix: evaluation of physicochemical, structural, and technological properties // 16th international scientific conference "The vital nature sign", May 12-13, 2022, Kaunas, Lithuania: abstract book / editors: A. Maruška, N. Tiso, V. Kaškonienė, M. Stankevičius. Kaunas : [Vytauto Didžiojo universitetas]. ISSN 2335-8653. eISSN 2335-8718. 2022, p. 30.
 4. **Vaitkevičienė, Rūta**; Zadeike, Daiva; Bartkiene, Elena; Lele, Vita; Juodeikienė, Grazina; Jakstas, Valdas. Antimicrobial activity of lactic acid bacteria immobilised in the rice bran-lingonberry-based gel-type food matrix // 15th international scientific conference "The vital nature sign", May 20-21, 2021, Kaunas, Lithuania: abstract book / editors: A. Maruška, N. Tiso, V. Kaškonienė, M. Stankevičius. Kaunas : [Vytauto Didžiojo universitetas]. ISSN 2335-8653. eISSN 2335-8718. 2021, p. 87.
 5. **Vaitkevičienė, Rūta**; Zadeike, Daiva; Bartkiene, Elena; Lele, Vita; Juodeikienė, Grazina. Production and characterization of resistant starch from rice bran by high power ultrasound // Studentų mokslinės konferencijos „Chemija ir cheminė technologija 2021“ pranešimų medžiaga: respublikinė studentų mokslinė konferencija, 2021 05 14 / rinkinio sudarytojai: T. Dambrauskas, G. Kručaitė, D. Sinkevičiūtė; Kauno technologijos universitetas. Cheminės technologijos fakultetas. Kaunas : Kauno technologijos universitetas. eISSN 2538-7332. 2021, p. 83.
 6. **Vaitkevičienė, Rūta**; Zadeike, Daiva; Gaizauskaite, Zydruone; Bartkiene, Elena; Lele, Vita; Juodeikienė, Grazina; Mazdzieriene, Ramute; Jakstas, Valdas. Production of rice bran-based nutraceuticals enriched with lingonberry pulp flavanols and probiotic lactic acid bacteria // FoodBalt 2021: 14th Baltic conference on food science and technology “Sustainable food for conscious consumer”: abstract book / editor: Mari-Liis Kutti. Tallinn : Center of food and fermentation technologies. 2021, p. 50.
 7. **Vaitkevičienė, Rūta**; Žadeikė, Daiva; Bartkienė, Elena; Krunglevičiūtė, Vita; Baliukonienė, Violeta; Supronienė, Skaidrė; Juodeikienė, Gražina. Rice polish medium for the evaluation of lactic acid bacteria antifungal activity against some of *Aspergillus* and *Penicillium* sp. species // FoodBalt – 2018 : 12th Baltic conference on food science and technology “Food R&D in the Baltics and beyond“, May 17-18, 2018 Kaunas, Lithuania : abstract book. Kaunas : Kauno technologijos universitetas, 2018, III OP22. eISBN 9786090214626. p. 40. DOI: 10.5755/e01.9786090214626.
 8. **Jukonytė, Rūta**; Žadeikė, Daiva; Bartkienė, Elena; Krunglevičiūtė, Vita; Juodeikienė, Gražina; Supronienė, Skaidrė; Žvirdauskienė, Renata. Antifungal metabolite production by newly lactic acid bacteria using rice polish as substrate // 4th North and East European congress on food, 10-13 September, 2017, Kaunas, Lithuania: abstract book / Kaunas University of Technology, [...] and Elsevier. Kaunas : [Kaunas University of Technology], 2017. ISBN 9786090213735. p. 70.
 9. **Jukonytė, Rūta**; Žadeikė, Daiva; Bartkienė, Elena; Krunglevičiūtė, Vita; Juodeikienė, Gražina. Acidification rate, carbohydrate metabolism and enzyme active peptide production in rice bran medium by newly lactic acid bacteria // Foodbalt 2017 : 11th Baltic Conference on Food Science and Technology "Food science and technology in a

KITOS PUBLIKACIJOS

1. Zadeike, Daiva; **Vaitkevičienė, Rūta**; Degutyte, Rimgaile; Bendoraitienė, Joana; Rukuiziene, Zaneta; Cernauskas, Darius; Svazas, Mantas; Juodeikiene, Grazina. A comparative study on the structural and functional properties of watersoluble and alkalisoluble dietary fibres from rice bran after hotwater, ultrasound, hydrolysis by cellulase, and combined pretreatments // International journal of food science and technology. London : John Wiley & Sons. ISSN 0950-5423. eISSN 1365-2621. 2022, vol. 57, iss. 2, p. 1137-1149.
2. Zadeike, Daiva; **Vaitkevičienė, Rūta**; Bartkevics, Vadims; Bogdanova, Estefanija; Bartkiene, Elena; Lele, Vita; Juodeikiene, Grazina; Cernauskas, Darius; Valatkevičienė, Židronė. The expedient application of microbial fermentation after whole-wheat milling and fractionation to mitigate mycotoxins in wheat-based products // LWT - Food science and technology. Amsterdam : Elsevier. ISSN 0023-6438. eISSN 1096-1127. 2021, vol. 137, art. no. 110440, p. 1-9.
3. Zadeike, Daiva; **Vaitkevičienė, Rūta**; Marksa, Mindaugas; Juodeikiene, Grazina; Bendoraitienė, Joana; Bartkiene, Elena; Lele, Vita; Viskelis, Pranas; Bernatoniene, Jurga; Jakstas, Valdas. Structural and functional characterisation of compositionally optimised rice bran and lingonberry dietary fibrebased geltype product enriched with phytochemicals // International journal of food science and technology. Edinburg : John Wiley & Sons. ISSN 0950-5423. eISSN 1365-2621. 2020, vol. 55, iss. 11, p. 3372-3380.
4. Žadeikė, Daiva; **Jukonytė, Rūta**; Juodeikienė, Gražina; Bartkienė, Elena; Valatkevičienė, Židronė. Comparative study of ciabatta crust crispness through acoustic and mechanical methods: effects of wheat malt and protease on dough rheology and crust crispness retention during storage // LWT-Food science and technology. Amsterdam : Elsevier. ISSN 0023-6438. eISSN 1096-1127. 2018, vol. 89, March 2018, p. 110-116.

INFORMACIJA APIE DISERTACIJOS AUTORE

Rūta Jukonytė, g. 1991-04-19, Jonava, Lietuva

2006–2010 m. – Jonavos Senamiesčio gimnazija, vidurinis išsilavinimas

2010–2014 m. – Kauno technologijos universitetas, maisto technologijos bakalauro laipsnis

2014–2016 m. – Kauno technologijos universitetas, maisto technologijų magistro laipsnis

2016–2022 m. – Kauno technologijos universitetas, chemijos inžinerijos (T 005) doktorantūros studijos

2021 m. gegužė – stažuotė VDU Augalų biologijos ir maisto mokslų katedroje (Lietuva)

PADĖKA

Nuoširdžiai dėkoju mokslinio darbo vadovei vyr. m. d. dr. Daivai Žadeikei už disertacijos temos idėją ir vadovavimą moksliniams tyrimams, nuoširdžias ir vertingas mokslines konsultacijas rengiant publikacijas ir disertaciją, už paskatinimą, motyvaciją, nuolatinį rūpinimąsi ir visapusišką pagalbą doktorantūros studijų metu.

Taip pat norėčiau padėkoti Maisto mokslo ir technologijos katedros kolegoms už moralinį palaikymą ir supratimą; VDU Augalų biologijos ir maisto mokslų katedrai, prof. dr. Natalijai Burbulis, dr. Ramūnei Masienei už suteiktą galimybę stažuotis jų mokslinėje grupėje; doc. Joanai Bendoraitienei už vertingas konsultacijas, pasiūlymus ir pagalbą atliekant tyrimus.

Esu dėkinga Lietuvos mokslo tarybai už finansinę paramą.

Šilčiausius padėkos žodžius skiriu savo artimiausiems žmonėms: tėčiui, mamai, sesei, Ramūnui, vaikams ir draugams už jų neišsenkančią kantrybę, rūpestį, tvirtą moralinį palaikymą, supratingumą ir paskatinimą.

PRIEDAI

I priedas

1 lentelė. Nepakeičiamųjų aminorūgščių (NAR) kiekis (g/100 g baltymų) nefermentuotuose, fermentuotuose skirtingomis PRB ir apdorotuose ultragarsu bei fermentais ryžių malimo šalutiniuose produktuose

Mėginys	NAR (g/100 g baltymų)									Iš viso
	VAL	ILE	LEU	TRP	LYS	MET	PHE	THR	HIS	
Kontrolė	1,92 ± 0,12 ^d	3,6 ± 0,02 ^b	5,34 ± 0,12 ^a	3,41 ± 0,08 ^a	5,06 ± 0,32 ^d	1,76 ± 0,15 ^b	4,33 ± 0,21 ^b	4,37 ± 0,08 ^k	2,91 ± 0,34 ^g	32,70 ^g
Lpc244	2,06 ± 0,16 ^e	1,12 ± 0,04 ^e	5,64 ± 0,28 ^f	4,55 ± 0,06 ^f	5,63 ± 0,44 ^f	–	0,50 ± 0,02 ^d	1,56 ± 0,02 ^e	0,35 ± 0,02 ^c	21,41 ^d
Lu245	2,52 ± 0,06 ^f	1,02 ± 0,12 ^b	6,25 ± 0,42 ^c	5,07 ± 0,05 ^{de}	7,73 ± 0,51 ^b	–	0,73 ± 0,02 ^f	1,77 ± 0,05 ^g	0,11 ± 0,01 ^a	25,20 ^{cd}
Lf206	1,74 ± 0,12 ^c	1,27 ± 0,06 ^d	5,54 ± 0,32 ^{ab}	4,89 ± 0,05 ^d	3,34 ± 0,13 ^c	2,27 ± 0,14 ^c	0,39 ± 0,01 ^b	1,75 ± 0,05 ^g	0,13 ± 0,01 ^b	21,32 ^b
Lp135	2,13 ± 0,09 ^e	1,36 ± 0,06 ^e	5,85 ± 0,56 ^c	4,37 ± 0,12 ^c	3,39 ± 0,12 ^c	1,20 ± 0,07 ^a	0,41 ± 0,01 ^b	0,98 ± 0,08 ^b	–	19,69 ^a
Lp18	1,58 ± 0,12 ^b	0,94 ± 0,11 ^a	5,23 ± 0,78 ^e	4,54 ± 0,14 ^c	2,63 ± 0,06 ^e	1,10 ± 0,02 ^a	0,64 ± 0,03 ^c	1,14 ± 0,12 ^d	–	17,80 ^b
Lb140	1,41 ± 0,14 ^a	0,99 ± 0,08 ^{ab}	5,23 ± 0,34 ^a	5,04 ± 0,21 ^{de}	6,36 ± 0,09 ^f	2,20 ± 0,11 ^c	0,70 ± 0,05 ^f	1,59 ± 0,11 ^e	0,68 ± 0,05 ^e	24,20 ^c
Lb173	1,69 ± 0,05 ^c	1,48 ± 0,13 ^f	6,67 ± 0,51 ^d	4,46 ± 0,23 ^c	7,34 ± 0,11 ^g	2,10 ± 0,12 ^c	0,82 ± 0,06 ^g	1,93 ± 0,22 ^b	0,39 ± 0,02 ^d	26,88 ^{de}
Pa236	2,08 ± 0,17 ^e	0,95 ± 0,04 ^a	6,05 ± 0,48 ^e	3,96 ± 0,07 ^b	5,72 ± 0,02 ^e	3,60 ± 0,18 ^d	0,67 ± 0,02 ^e	0,91 ± 0,02 ^a	0,11 ± 0,01 ^a	24,05 ^c

1 lentelės tęsinys. Nepakeičiamųjų aminorūgščių (NAR) kiekis (g/100 g baltymų) nefermentuotuose, fermentuotuose skirtingomis PRB ir apdorotuose ultragarsu bei fermentais ryžių malimo šalutiniuose produktuose

Mėginys	NAR (g/100 g baltymų)									Iš viso
	VAL	ILE	LEU	TRP	LYS	MET	PHE	THR	HIS	
Pa29	2,54 ± 0,24 ^b	1,57 ± 0,07 ^g	6,17 ± 0,62 ^c	3,98 ± 0,09 ^b	5,73 ± 0,08 ^e	3,90 ± 0,21 ^e	0,44 ± 0,02 ^c	1,68 ± 0,24 ^f	–	26,01 ^f
Pp100	2,72 ± 0,11 ^g	0,96 ± 0,01 ^a	8,9 ± 0,24 ^f	4,48 ± 0,08 ^c	2,98 ± 0,02 ^b	–	0,66 ± 0,08 ^e	1,19 ± 0,09 ^d	1,82 ± 0,10 ^f	23,71 ^e
Pp22	2,48 ± 0,12 ^f	1,13 ± 0,02 ^c	6,64 ± 0,54 ^d	4,76 ± 0,12 ^d	2,99 ± 0,02 ^b	–	0,32 ± 0,02 ^a	1,05 ± 0,01 ^e	1,76 ± 0,16 ^f	21,13 ^b
UG	1,12 ± 0,03	3,07 ± 0,78	4,85 ± 0,31	2,29 ± 0,20	4,59 ± 0,25	1,23 ± 0,03	4,14 ± 0,05	3,98 ± 0,51	1,82 ± 0,02	27,09 ± 0,24 ^b
UG _{+FH}	0,75 ± 0,05	3,58 ± 0,86	4,49 ± 0,15	1,99 ± 0,23	4,75 ± 0,39	2,15 ± 0,01	4,12 ± 0,51	4,16 ± 0,61	2,33 ± 0,20	28,32 ± 0,31 ^b

Duomenys stulpeliuose, pažymėti skirtingomis mažosiomis raidėmis, skiriasi statistškai reikšmingai ($p < 0,05$). Kontrolė – nefermentuotos RP, PRB: Lpc244 – *L. paracasei*; Lu245 – *L. uvarum*; Lf206 – *L. farraginis*; Lb140, Lb173 – *L. brevis*; Lp18, Lp135 – *L. plantarum*; Pa236, Pa29 – *P. acidilactici*; Pp22, Pp100 – *P. pentosaceus*, UG – apdorojimas ultragarsu; UG_{+FH} – apdorojimas ultragarsu ir fermentais.

2 lentelė. Pakeičiamųjų aminorūgščių (PAR) ir iš dalies nepakeičiamųjų aminorūgščių (DNAR) kiekiai (g/100 g baltymų) nefermentuotuose, fermentuotuose skirtingomis PRB ir apdorotuose ultragarsu bei fermentais ryžių malimo šalutiniuose produktuose

Mėginys	PAR (g/100 g baltymų)				Iš viso PAR	DNAR (g/100 g baltymų)					Iš viso DNAR
	ALA	ASP	SER	GLU		CYS	PRO	GLY	TYR	ARG	
Kontrolė	4,46 ± 0,02 ^b	9,52 ± 0,05 ^e	4,66 ± 0,04 ^d	7,58 ± 0,21 ^c	26,22 ^a	5,86 ± 0,14 ^a	3,65 ± 0,11 ^b	2,22 ± 0,10 ^b	2,51 ± 0,11 ^b	9,75 ± 0,04 ^e	23,99 ^{ab}
Lpc244	7,72 ± 0,02 ^d	6,72 ± 0,08 ^c	10,77 ± 0,12 ^e	8,63 ± 1,03 ^b	33,84 ^c	5,57 ± 1,13 ^f	2,08 ± 0,13 ^d	3,59 ± 0,06 ^e	1,44 ± 0,02 ^f	1,12 ± 0,02 ^a	13,80 ^d
Lu245	9,88 ± 0,241 ^f	5,99 ± 0,15 ^b	9,44 ± 0,13 ^d	3,64 ± 0,04 ^a	28,95 ^b	5,20 ± 1,02 ^f	1,98 ± 0,11 ^d	5,26 ± 0,12 ^b	1,54 ± 0,04 ^g	2,06 ± 0,03 ^d	16,04 ^f
Lf206	15,13 ± 0,08 ^k	9,67 ± 0,51 ^e	5,34 ± 0,10 ^f	8,74 ± 0,62 ^b	38,88 ^k	6,62 ± 1,12 ^d	2,34 ± 0,14 ^f	2,39 ± 0,13 ^c	1,08 ± 0,03 ^c	1,12 ± 0,02 ^a	13,55 ^e
Lp135	6,39 ± 0,05 ^c	11,49 ± 0,21 ^f	11,50 ± 0,08 ^f	12,89 ± 0,51 ^f	42,27 ^f	5,67 ± 1,14 ^g	2,22 ± 0,05 ^{df}	1,79 ± 0,03 ^a	1,09 ± 0,04 ^c	1,17 ± 0,04 ^b	11,94 ^d
Lp18	8,64 ± 0,08 ^e	14,82 ± 0,04 ^b	8,42 ± 0,05 ^c	13,71 ± 0,21 ^g	45,59 ^b	5,22 ± 1,02 ^f	1,84 ± 0,06 ^c	5,53 ± 0,05 ^b	1,25 ± 0,02 ^d	1,17 ± 0,05 ^b	15,01 ^{de}
Lb140	11,73 ± 0,06 ^g	9,23 ± 0,02 ^c	9,58 ± 0,03 ^d	12,69 ± 0,04 ^f	43,23 ^g	6,38 ± 1,03 ^d	1,47 ± 0,03 ^b	6,96 ± 0,04 ^k	1,32 ± 0,03 ^e	1,09 ± 0,05 ^a	17,22 ^c
Lb173	6,58 ± 0,03 ^c	9,66 ± 0,04 ^e	11,78 ± 0,06 ^f	8,64 ± 0,07 ^b	36,66 ^b	4,02 ± 0,84 ^b	2,10 ± 0,04 ^{de}	4,59 ± 0,02 ^g	1,10 ± 0,01 ^c	1,26 ± 0,02 ^c	13,07 ^a
Pa236	4,35 ± 0,03 ^b	4,57 ± 0,04 ^a	17,39 ± 0,12 ^g	10,11 ± 0,11 ^d	36,42 ^d	5,26 ± 0,34 ^c	2,61 ± 0,04 ^g	2,51 ± 0,04 ^c	1,22 ± 0,02 ^d	1,10 ± 0,02 ^a	12,70 ^f

2 lentelės tęsinys. Pakeičiamųjų aminorūgščių (PAR) ir iš dalies nepakeičiamųjų aminorūgščių (DNAR) kiekiai (g/100 g baltymų) nefermentuotuose, fermentuotuose skirtingomis PRB ir apdorotuose ultragarsu bei fermentais ryžių malimo šalutiniuose produktuose

Mėginys	PAR (g/100 g baltymų)				Iš viso PAR	DNAR (g/100 g baltymų)				Iš viso DNAR	
	ALA	ASP	SER	GLU		CYS	PRO	GLY	TYR		ARG
Pa29	4,79 ± 0,06 ^b	8,33 ± 0,12 ^d	7,20 ± 0,03 ^b	5,03 ± 0,02 ^b	25,35 ^c	5,87 ± 1,16 ^f	0,93 ± 0,01 ^a	3,09 ± 0,01 ^d	0,79 ± 0,01 ^a	1,30 ± 0,03 ^e	11,98 ^d
Pp100	4,71 ± 0,05 ^b	15,37 ± 0,11 ^b	10,49 ± 0,05 ^e	11,86 ± 0,21 ^e	42,43 ^g	5,97 ± 1,04 ^f	2,18 ± 0,02 ^e	4,10 ± 0,02 ^f	0,97 ± 0,01 ^b	1,19 ± 0,02 ^b	14,41 ^d
Pp22	2,56 ± 0,04 ^a	31,2 ± 1,13 ^k	8,52 ± 0,03 ^c	5,16 ± 0,02 ^b	47,44 ^h	6,15 ± 0,87 ^e	2,64 ± 0,03 ^g	3,57 ± 0,05 ^e	0,93 ± 0,01 ^b	1,15 ± 0,02 ^b	14,44 ^e
UG	3,92 ± 0,1	3,34 ± 0,02	4,94 ± 0,31	6,31 ± 0,42	18,50 ± 0,22 ^f	5,20 ± 0,03	3,38 ± 0,21	1,60 ± 0,04	0,66 ± 0,04	8,80 ± 0,09	19,63 ± 0,08 ^f
UG _{+FH}	4,17 ± 0,15	3,28 ± 0,1	4,44 ± 0,29	7,50 ± 0,31	19,39 ± 0,21 ^e	5,51 ± 0,08	3,31 ± 0,22	1,81 ± 0,03	0,93 ± 0,03	9,49 ± 0,87	21,05 ± 0,25 ^e

Duomenys stulpeliuose, pažymėti skirtingomis mažosiomis raidėmis, skiriasi statistškai reikšmingai ($p < 0,05$). Kontrolė – nefermentuoti RP; PRB: Lpc244 – *L. paracasei*; Lu245 – *L. uvarum*; Lf206 – *L. farraiginis*; Lb140, Lb173 – *L. brevis*; Lp18, Lp135 – *L. plantarum*; Pa236, Pa29 – *P. acidilactici*; Pp22, Pp100 – *P. pentosaceus*, UG – apdorojimas ultragarsu; UG_{+FH} – apdorojimas ultragarsu ir fermentais.

II priedas

1 lentelė. Matematinio modelio lygties reikšmingi koeficientai pagal koduotus faktorius

Factor	Coefficient Estimate	df	Standard Error	95% CI Low	95% CI High	VIF
Intercept	11,71	1	0,2401	11,14	12,28	
A-Time	-2,14	1	0,1898	-2,59	-1,69	1,0000
B-Temp	0,1610	1	0,1698	-0,2405	0,5625	1,0000
C-Power	0,7980	1	0,1698	0,3965	1,20	1,0000
AB	-0,8838	1	0,1898	-1,33	-0,4348	1,0000
AC	0,0587	1	0,1898	-0,3902	0,5077	1,0000
BC	-0,2063	1	0,1898	-0,6552	0,2427	1,0000
A ²	-1,15	1	0,6181	-2,61	0,3098	5,61
B ²	-6,33	1	0,4493	-7,39	-5,27	2,88
C ²	0,0230	1	0,4493	-1,04	1,09	2,88

2 lentelė. Matematinio modelio regresijos parametrų dispersinė analizė

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F-value	p-value
Model	267,89	9	29,77	103,24	< 0,0001 significant
A-Time	36,68	1	36,68	127,21	< 0,0001
B-Temp	0,2592	1	0,2592	0,8990	0,3746
C-Power	6,37	1	6,37	22,09	0,0022
AB	6,25	1	6,25	21,67	0,0023
AC	0,0276	1	0,0276	0,0958	0,7660
BC	0,3403	1	0,3403	1,18	0,3133
A ²	1,00	1	1,00	3,47	0,1047
B ²	57,28	1	57,28	198,65	< 0,0001
C ²	0,0008	1	0,0008	0,0026	0,9606
Residual	2,02	7	0,2883		
Lack of Fit	1,37	3	0,4557	2,80	0,1728 not significant
Pure Error	0,6513	4	0,1628		
Corr Total	269,91	16			
Std. Dev.	0,5370	R²	0,9925		
Mean	7,46	Adjusted R²	0,9829		
C.V. %	7,20	Predicted R²	0,9258		
		Adeq Precision	28,6433		

SL 344. 2023-08-01, 18,25 leidyb. apsk. 1. Tiražas 14 egz. Užsakymas 139.
Išleido Kauno technologijos universitetas, K. Donelaičio g. 73, LT-44249 Kaunas
Spausdino leidyklos „Technologija“ spaustuvė, Studentų g. 54, LT-51424 Kaunas