



**KAUNO TECHNOLOGIJOS UNIVERSITETAS**  
**CHEMINĖS TECHNOLOGIJOS FAKULTETAS**

**Andželikos Marčiulionytės**

**Kukurūzų atliekų baltymų funkcinių ir technologinių savybių gerinimo būdai  
ir jų panaudojimo galimybės duonos kepinių kokybės ir saugos pagerinimui**

Baigiamasis magistro projektas

Darbo vadovė: dr. Daiva Žadeikė

Kaunas, 2017

**KAUNO TECHNOLOGIJOS UNIVERSITETAS  
CHEMINĖS TECHNOLOGIJOS FAKULTETAS**

**KKURŪZŲ ATLIEKŲ BALTYMŲ FUNKCINIŲ IR TECHNOLOGINIŲ  
SAVYBIŲ GERINIMO BŪDAI IR JŲ PANAUDOJIMO GALIMYBĖS  
DUONOS KEPINIŲ KOKYBĖS IR SAUGOS PAGERINIMUI**

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

**Vadovas**

dr. Daiva Žadeikė

**Recenzentas**

dr. Darius Černauskas

**Projektą atliko**

Andželika Marčiulionytė

**KAUNAS, 2017**



KAUNO TECHNOLOGIJOS UNIVERSITETAS  
Cheminės technologijos fakultetas

(Fakultetas)

Andželika Marčiulionytė

(Studento vardas, pavardė)

Maisto mokslas ir sauga, 621E40001

(Studijų programos pavadinimas, kodas)

Baigiamojo darbo „Kukurūzų atliekų baltymų funkcinių ir technologinių savybių gerinimo būdai ir jų panaudojimo galimybės duonos kepinių kokybės ir saugos pagerinimui“

### AKADEMINIO SAŽINGUMO DEKLARACIJA

20 17 m. birželio 05 d.  
Kaunas

Patvirtinu, kad mano **Andželikos Marčiulionytės** baigiamasis projektas tema „Kukurūzų atliekų baltymų funkcinių ir technologinių savybių gerinimo būdai ir jų panaudojimo galimybės duonos kepinių kokybės ir saugos pagerinimui.“ yra parašytas visiškai savarankiškai, o visi pateikti duomenys ar tyrimų rezultatai yra teisingi ir gauti sąžiningai. Šiame darbe nei viena dalis nėra plagijuota nuo jokių spausdintinių ar internetinių šaltinių, visos kitų šaltinių tiesioginės ir netiesioginės citatos nurodytos literatūros nuorodose. Įstatymų nenumatytų piniginių sumų už šį darbą niekam nesu mokėjęs.

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

\_\_\_\_\_  
(vardą ir pavardę įrašyti ranka)

\_\_\_\_\_  
(parašas)

## Turinys

<b>Santrumpos</b> .....	8
<b>Įvadas</b> .....	9
<b>1. Literatūros apžvalga</b> .....	10
1.1 Kukurūzų grūdų pagrindiniai sudėties komponentai .....	10
1.2 Kukurūzų baltymų savybės ir klasifikacija .....	12
1.3. Kukurūzų prolaminų reikšmė pramonėje ir išskyrimo galimybės .....	15
1.4. Grūdinės žaliavos baltymų funkcinės savybės.....	16
1.5. Bioaktyvių metabolitų gamyba grūdų produktų terpėje fermentacijos metu.....	18
1.6. Alternatyvūs terminio apdorojimo būdai ir jų panaudojimas.....	19
<b>2. TYRIMO OBJEKTAI IR METODAI</b> .....	20
2.1. PAGRINDINĖS TYRIMŲ KRYPTYS .....	20
2.2. TYRIMO OBJEKTAI.....	23
2.3. TYRIMO METODAI.....	24
2.3.1. BALTYMŲ KIEKYBINĖ IR KOKYBINĖ ANALIZĖ .....	25
2.3.2. BALTYMŲ TECHNOLOGINIŲ SAVYBIŲ NUSTATYMAS .....	29
2.3.3. Baltymų funkcinių savybių nustatymas.....	30
2.3.4. KUKURŪZŲ ŽALIAVOS FERMENTACIJA.....	30
2.3.5. Antioksidacinio ir antigrybinio aktyvumo tyrimo METODAI.....	31
2.3.6. FERMENTINĖS HIDROLIZĖS EFEKTYVUMO VERTINIMO METODAI.....	32
2.3.7. Kepinių kokybės ir juslinių savybių vertinimo METODAI.....	34
2.3.8. DUOMENŲ MATEMATINĖ STATISTINĖ ANALIZĖ .....	35
<b>3. REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS</b> .....	35
3.1. TERMINIO APDOROJIMO BŪDŲ ĮTAKA KUKURŪZŲ BALTYMŲ TECHNOLOGINĖMS IR FUNKCINĖMS SAVYBĖMS .....	35
3.1.1. Terminio apdorojimo įtaką baltymų frakcijų pokyčiams kukurūzų perdirbimo atliekose .....	35
3.1.2. Terminio apdorojimo įtaka kukurūzų baltymų funkcinėms savybėms .....	37
3.2. FERMENTACIJOS PRB ĮTAKA KUKURŪZŲ BALTYMŲ FUNKCINĖMS SAVYBĖMS .....	43
3.2.1. Fermentacijos įtaka kukurūzų baltymų išėigai .....	43
3.2.2. Fermentacijos įtaka kukurūzų baltymų funkcinėms savybėms .....	45
3.3. BIOLOGIŠKAI AKTYVIŲ PEPTIDŲ GAMYBOS KUKURŪZŲ ATLIEKŲ TERPĖJE TYRIMAI.....	57
3.3.1 Antioksidacinėmis savybėmis pasižyminčių metabolitų gamybos kukurūzų terpėje skirtingomis PRB galimybės .....	57

3.3.2. Antigrybiniu aktyvumu prieš <i>Fusarium graminearum</i> ir <i>F. culmorum</i> pelėsius pasižyminčių metabolitų gamyba skirtingomis PRB kukurūzų atliekų baltymų ekstraktuose .....	60
3.4. Universalios fermentų kompozicijos sudarymas baltymų ekstraktyvumui iš kukurūzų žaliavos padidinti.....	62
3.4.1. Proteolitinių ir ksilanolitinių fermentų aktyvumų pasiskirstymas kukurūzų perdirbimo atliekų frakcijose.....	62
3.4.2. Amilolitinių ir hemiceliulolitinių fermentų kompozicijos sudarymas kukurūzų žaliavos hidrolizės ir baltymų išskyrimo efektyvumui padidinti.....	65
3.5 Kukurūzų perdirbimo šalutinių produktų įtaka RUGinių kepinų kokybei .....	67
3.5.1. Kukurūzų atliekų fermentuotų produktų įtaka ruginės tešlos tekstūrai .....	67
3.5.2. Kukurūzų perdirbimo šalutinių produktų priedo įtaka kepinų kokybei .....	68
3.5.3. Kukurūzų perdirbimo šalutinių produktų priedo įtaka kepinų juslinėms savybėms ir priimtinumui .....	70
<b>IŠVADOS</b> .....	72
<b>Bibliografinių nuorodų sąrašas</b> .....	74
<b>PRIEDAI</b> .....	82

Marčiulionytė, Andželika. Kukurūzų atliekų baltymų funkcinių ir technologinių savybių gerinimo būdai ir jų panaudojimo galimybės duonos kepinių kokybės ir saugos pagerinimui. Magistro baigiamasis projektas/vadovė dr. Daiva Žadeikė; Kauno technologijos universitetas, Cheminės technologijos fakultetas.

Mokslo kryptis ir sritis: Technologijos mokslai, Maisto technologijos

Reikšminiai žodžiai: *kukurūzų atliekos, terminis apdorojimas, fermentacija, baltymų frakcijos, funkcinės savybės.*

Kaunas, 2017. 81 psl.

## SANTRAUKA

Šio tyrimo tikslas plėtoti kukurūzų atliekų perdirbimo į biologiškai vertingus ingredientus technologijas ir įvertinti jų galimą panaudojimą funkcinės duonos gamyboje. Racionalus šalutinių produktų ir atliekų, susidariusių grūdų perdirbimo metu, panaudojimas yra labai svarbi ir perspektyvi sritis. Alternatyvūs terminio apdoravimo metodai mikrobiniam kukurūzų stabilizavimui, ir novatoriški biotechnologiniai metodai – fermentinė hidrolizė ir mikrobinė fermentacija – natūralių, vertingų komponentų gamyba, gali būti sėkmingai taikomi saugaus funkcinių maisto produktų gamyboje.

Tiriamąjį darbo metu vertinta iš neapdorotos, ekstrudotos ir infraraudonaisiais spinduliais (IR) apdorotos kukurūzų žaliavos išskirtų albuminų, globulinų ir prolaminų išeiga, albuminų ir globulinų vandens įgėrimas ir tirpumas, putų susidarymo pajėgumas ir stabilumas ir emulsijos susidarymo aktyvumas ir stabilumas. Fermentacija, naudojant *P. acidilactici* ir *L. sakei* padermes, pagerino kukurūzų albuminų ir globulinų frakcijų tirpumą vidutiniškai 35 %, taip pat padidino 18 % prolaminų virškinamumą, ir turėjo įtakos prolaminų hidrolizės proteazėmis laipsniui ( $F = 2.262$ ,  $P < 0.0001$ ). Fermentacija *P. acidilactici* pasižymėjo didesne įtaka baltymų funkcinėms ir technologinėms savybėms nei *L. sakei*. Didžiausias fermentacijos poveikis nustatytas baltymų ekstraktuose iš IR apdorotos žaliavos. Optimizuotos amilazės ir hemicelulazių kompozicijos panaudojimas parodė, kad tai gali būti veiksminga bio-priemonė visų kukurūzų baltymų frakcijų išėigos padidinimui. Rezultatai parodė, kad kukurūzų grūdų perdirbimo produktai yra tinkamas substratas antimikrobinių PRB kultivavimui. Metabolitai pagaminti kukurūzų žaliavos terpėje po 48 h fermentacijos, naudojant *P. pentosaceus* padermes, pasižymėjo inhibiciniu poveikiu *Fusarium graminearum* ir *Fusarium culmorum* augimui. Tai parodo, kad kukurūzų perdirbimo atliekos arba jų ekstraktai gali būti naudojami naujų funkcinių maisto produktų kūrimui.

Terminiškai apdorotos kukurūzų žaliavos 10 % priedas, fermentuotas *P. pentosaceus* bakterijomis, kukurūzų terpėje produkuojančiomis bioaktyviu metabolitu, pagerino ruginių kepinių kokybės rodiklius ir priimtinumą vartotojui, lyginant su nefermentuota žaliava, todėl šiuos fermentuotus kukurūzų produktus galima rekomenduoti duonos gamybai kepinių maistinei vertei padidinti ir saugai užtikrinti.

Marčiulionytė, Andželika. Strategies for the improvement of functional and technological properties of corn waste proteins with a potential application to improve the quality and safety of bread. MSc degree project /supervisor dr. Daiva Žadeikė; Kaunas University of Technology, Faculty of Chemical Technology.

Research area and field: Technological Sciences, Food Technology

Key words: *corn by-products, thermal treatment, fermentation, protein fractions, functional properties*.  
Kaunas, 2017. 81 p.

## SUMMARY

The aim of this study was to develop the technologies for corn processing waste utilization into biologically valuable ingredients, and to evaluate their possible use for functional bread production. The rational use of natural by-products and wastes generated during the production of grain is very important and promising area. The alternative heat treatment methods for microbial stabilization of such corn material, and the innovative biotechnological instruments – enzymatic hydrolysis and microbial fermentation – for the natural valuable components production, could be successfully applied for safe functional food production.

The yields of albumin, globulin and prolamin fractions, water absorption capacity, water solubility index, foaming capacity and foam stability, and emulsifying properties of albumins and globulins obtained from natural, extruded and treated by infrared irradiation corn by-products were evaluated. Lacto-fermentation using *P. acidilactici* and *L. sakei* strains increased by 35 % the solubility and improved functional properties of corn albumins and globulins, also increased the prolamins digestibility by 18 %, and influenced the degree of prolamin hydrolysis by protease ( $F = 2.262$ ,  $P < 0.0001$ ). Fermentation with *P. acidilactici* affected the changes of protein functional and technological properties a higher degree than with *L. sakei*. The highest impact of lacto-fermentation was reported on the proteins isolated from IR treated corn by-products. The use of optimized amylase and hemicelulases composition was shown to be an effective bio-tool to increase the yield of all corn protein fractions. Therefore, the results indicated that corn grain processing by-products are suitable substrate for the culture of the antimicrobial LAB strains. Metabolites produced after 48 h fermentation of corn by-products by *P. acidilactici* and three *P. pentosaceus* strains showed the antifungal activity inhibiting the growth of *Fusarium graminearum* and *Fusarium culmorum*. This indicates that corn processing waste or its extracts could be used in new functional food developments. The addition of 10 % of thermally treated corn by-products, fermented by *P. pentosaceus*, producing the bioactive metabolites in corn by-products medium, improved rye bread quality and acceptability, comparing to non-fermented raw material, therefore these corn products can be recommended for the production of bread to increase its nutritional value and safety.

## Santrumpos

- K – neapdorota kukurūzų žaliava;
- EKS – ekstruduota kukurūzų žaliava;
- IR – infraraudonoji spinduliuotė;
- KF – kietafazė fermentacija;
- KAV – ksilanazinio aktyvumo vienetai;
- PAV – proteazinio aktyvumo vienetai
- Ls – *Lactobacillus sakei* KTU05-6;
- Pa – *Pediococcus acidilactici* KTU05-7;
- Pp8 – *Pediococcus pentosaceus* KTU05-8;
- Pp9 – *Pediococcus pentosaceus* KTU05-9;
- Pp10 – *Pediococcus pentosaceus* KTU05-10;
- PRB – pieno rūgšties bakterijos.



## Ivadas

Maisto produktų ir pašarų gamybos pramonėje ieškoma alternatyvių būdų kaip būtų galima panaudoti susidariusias gamybos metu agro-maistines atliekas. Lietuvoje per metus susidaro daugiau kaip 700 tūkst. tonų per metus biologiškai skaidžių atliekų, iš kurių apie 40 tūkst. tonų sudaro kruopų gamybos šalutiniai produktai. Kruopų bei miltų gamyboje šalutinių atliekų susidaro 0,2 % nuo perdirbtų grūdų kiekio. Vieni iš plačiausiai perdirbamų grūdų – kukurūzai, kurie pasižymi tuo, kad neturi gliutimo, dažnai sukeliančio alergijas, kurioms būdingas kviečių baltymo gliuteno arba į jį panašių miežių ir rugių baltymų poveikis genetinį polinkį turintiems žmonėms. Kukurūzų grūdų didžiąją dalį sudaro krakmolai ir baltymai, taip pat yra mineralinių medžiagų (kalio, kalcio, magnio, geležies, fosforo), ląstelių bei antioksidantų liuteino ir zeaksantino [1]. Gamybos metu susidarantį kukurūzų šalutinius produktus pagrindė sudaro selenos, grūdų endospermo dalelės, kuriose gausu baltymų, skaidulinių ir mineralinių medžiagų. Tinkamai apdorojus perdirbimo atliekas, jas būtų galima panaudoti kepinių bei funkcinių maisto produktų gamyboje [2].

Pastaruoju metu, didėjant vartotojų poreikiui sveikiems ir saugiems maisto produktams, pramonės įmonės siekia kurti ir į rinką pateikti naujus produktus, praturtintus vertingais netradicinių žaliavų komponentais (skaidulomis, baltymais, amino rūgštimis, vitaminais), pasižyminčiais funkcinėmis savybėmis. Vienas iš būdų pagerinti augalinės kilmės baltymų funkcines savybes yra fermentacija pieno rūgšties bakterijomis (PRB), ypač aktualus mikroorganizmų, gaminančių antimikrobinius metabolitus, panaudojimas. Moksliniai tyrimai rodo, kad fermentacija padidina krakmolo skaidymą ir įsisavinamumą, baltymų virškinamumą ir tirpumą, bei slopina baltymų fermentų (proteazių) inhibitorines medžiagas [3]. Iš kitos pusės, sparčiai augantis susidomėjimas probiotiniu maistu skatina ieškoti naujų alternatyvių substratų probiotinio maisto gamybai. Tarp šių substratų, grūdinė žaliava tampa vienu iš perspektyviausių alternatyvų pienui dėl tinkamumo probiotinių bakterijų augimui. Todėl aktualu ištirti kukurūzų perdirbimo grūdinių atliekų kaip terpės įtaką probiotinių bakterijų gebėjimui gaminti bioaktyviomis savybėmis pasižyminčius metabolitus be hidrolizinių fermentų ar augimą skatinančių priedų.

Siekiant sumažinti grūdų perdirbimo šalutinių produktų mikrobinį užterštumą, taip užtikrinant šios žaliavos saugą laikymo metu, dažnai taikomi alternatyvūs terminio apdorojamo būdai, tokie kaip termomechaninis apdorojimas (ekstruzija), mikrobangos, saulės arba infraraudonoji spinduliuotė [4]. Be to, kukurūzų šalutinių produktų stabilizavimas, taikant terminio apdoravimo technologijas, gali prailginti maisto produktų galiojimo laiką, bet ir

užtikrinti mikrobinę saugą [5]. Dėl šių priežasčių atinkamų technologijų pritikymas grūdų perdirbimo šalutinių produktų apdorojimui suteikia galimybes pagaminti saugius produktus.

**Darbo tikslas:** įvertinti kukurūzų perdirbimo atliekų terminio apdorojimo ir fermentacijos PRB įtaką baltymų frakcijų funkcinėms savybėms, parenkant naujus fermentus ir mikroorganizmus, bei įvertinti kukurūzų atliekų frakcijų, turtingų vertingais komponentais, panaudojimo galimybės duonos kepinų kokybės ir saugos pagerinimui.

1. Įvertinti terminio apdorojimo procesų (ekstruzijos ir infraraudosios spinduliuotės) įtaką kukurūzų atliekų baltymų frakcijų funkcinėms ir technologinėms savybėms.
2. Kukurūzų atliekų terpės fermentabilumo įvertinimas ir fermentacijos PRB įtakos kukurūzų baltymų funkcinėms savybėms tyrimai.
3. Biologiškai aktyvių peptidų gamybos kukurūzų atliekų fermentacijos terpėje galimybių tyrimas:
  - a) antioksidacinėmis savybėmis pasižyminčių metabolitų gamybos kukurūzų terpėje skirtingomis PRB tyrimai;
  - b) antigrybiniu aktyvumu prieš *Fusarium graminearum* ir *F. culmorum* pelėsius pasižyminčių metabolitų gamybos skirtingomis PRB kukurūzų atliekų fermentacijos terpėje tyrimai.
3. Universalios fermentų kompozicijos sudarymas efektyviam baltymų frakcijų išskyrimui iš kukurūzų žaliavos:
  - a) fermentinių aktyvumų įvertinimas kukurūzų žaliavoje;
  - b) amilazių ir hemiceliulazių kompozicijos sudarymas ir pritaikymas kukurūzų polisacharidų hidrolizės efektyvumui ir baltymų išėigai padidinti.
4. Kukurūzų frakcijų, turtingų vertingais komponentais, panaudojimas ruginių kepinų gamybai.

## 1. Literatūros apžvalga

### 1.1 Kukurūzų grūdų pagrindiniai sudėties komponentai

Kukurūzai (lot. *Zea*) priklauso miglinių (*Poaceae*) šeimos augalų genčiai ir yra antra labiausiai paplitusi grūdų rūšis po kviečių. Kukurūzuose gausu angliavandenių, baltymų, riebalų, vitaminų A ir C taip pat kalio, fosforo, kalcio, geležies. Termiškai apdorjami jie daug geriau išsaugo vitaminus nei, pavyzdžiui pupelės ar žirniai. Kukurūzai yra puikus seleno šaltinis, todėl

stabdo senėjimo procesus. Sudėtyje yra medžiagos, kuri mažina cholesterolio kiekį kraujyje bei tinka kaip prevencinė priemonė esant padidėjusiam cukraus kiekiui kraujyje [6].

Kukurūzų grūdus sudaro endospermo sluoksnis (82-83 %), gemalas (10-11 %), perikarpis (5-6 %), ir viršūnėlė (0,8-1,0 %). Perikarpio sluoksnį sudaro skaidulos daugiausia hemiceliuliozė, celiuliozė ir ligninas. Endospermo sluoksnyje daugiausia randama baltymų, o ląstelių sienelėse gausu nekrakmolo polisacharidų ( $\beta$ -gliukanas ir arabinoksilanas), fenolinių rūgščių ir baltymų (1.1 lentelė). Kukurūzų grūdai savo sudėtyje turi 77-83 % krakmolo, 10-11 % baltymų, 1,6-2,8 % ląstelių sienelės, 6 % riebalų, nikotino ir pantotėninės rūgščių, vitaminų A, B1, B2, B6, D, C, E. Juose gausu žmogaus organizmui svarbių mineralinių medžiagų (100 g): 324,8 mg kalio, 48,3 mg kalcio, 107,9 mg magnio, 4,8 mg geležies, 299,6 mg fosforo) ir druskų. Pagrindinis kukurūzų branduolio cheminis komponentas yra krakmolas, kuris sudaro nuo 77-83 % branduolio masės. Kukurūzų krakmolas yra sudarytas iš dviejų gliukozės polimerų: amilozės (25-30 %) ir amilopektino (70-75 %).

Baltymai kukurūzų grūde randami tarp endospermo sluoksnio ir gemalo. Endospermo sluoksnyje baltymų yra apie 8 %, gemale yra 18-22 % baltymų, o tai sudaro 29 % visų kukurūzų baltymų. Taip pat baltymai randami ir perikarpio sluoksnyje bei viršūnėlėje 3,7 % ir atitinkamai 9,1 %. Kukurūzuose randama ir tokių komponentų kaip riebalai, kurių yra gemale 33,2 %, viršūnėlėje – 3,8 %, (1.1 lentelė).

**1.1 lentelė.** Pagrindinių kukurūzų komponentų pasiskirstymas kukurūzo sudedamosiose dalyse ir šalutiniuose produktuose [7].

Komponentai	Visas branduolys (%)	Komponentų masė (%)				
		Endospermo sluoksnis	Gemalas	Perikarpis	Viršūnėlė	Kukurūzų glitimo miltai
Kramolas	62.0	87	8.3	7.3	5.3	20
Baltymai	7.8	8	18.4	3.7	9.1	65
Riebalai	3.8	0.8	33.2	1	3.8	4
Pelenai	1.2	0.3	10.5	0.8	1.6	1
Kiti komponentai	10.2	3.9	29.6	87.2	80.2	10

## 1.2 Kukurūzų baltymų savybės ir klasifikacija

Pagal tyrinėtoją Osborną [8] kukurūzų grūdus sudaro šios baltymų frakcijos: albuminai (8 %), globulinai (9 %), gliutelinai (40 %) ir prolaminai (39 %). Albuminai ir globulinai daugiausia sutelkti grūdų gemale (30 %), o prolaminai ir gliutelinai – endosperme (atitinkamai 47 % ir 39 %), jie yra patvarūs atsarginiai augalo baltymai (1.2 lentelė). Tai biologiškai aktyvūs baltymai, reguliuojantys ir kontroliuojantys sėklų metabolizmą. Kukurūzai pasižymi dideliu prolaminų kiekiu. Tai yra baltymai, kurie turi sudėtyje nemažai azoto reikalingo sėklų dygimui. Jie sudaro 80 % viso azoto kukurūzo branduolyje.

1.2 lentelė. Kukurūzų baltymų frakcijų pasiskirstymas kukurūzų sudedamosiose dalyse (%).

Baltymų frakcijos	Tirpumas	Visame branduolyje	Endospermo sluoksnyje	Gemale
Albuminai	Vanduo	8	4	30
Globulinai	Druskos tirpalas	9	4	30
Gliutelinai	Šarminiai tirpalai	40	39	25
Prolaminai (Zeinas)	Alkoholis	39	47	5

Prolaminai ir gliutelinai nėra vienalyčiai baltymai, juos galima išskaidyti į keletą skirtingos molekulinės masės subfrakcijų. Gliutelinai G1, G2, ir G3, o prolaminai dar vadinami zeinu, kuris dar skirstomas į atskiras frakcijas:  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -,  $\delta$ - zeinas.

Kukurūzų baltymuose yra labai maži kiekiai taip reikalingų žmonių mitybai lizino ir triptofano aminorūgščių todėl kukurūzų baltymai laikomi nevisaverčiais [9]. Albuminai ir globulinai pasižymi nemažais glutamo rūgšties, asparto rūgšties, argininokiekiiais (1.3 lentelė). Tiek albuminų tiek globulinų lizino kiekiai yra panašūs, atitinkamai 5,6 ir 5,3 g/100g baltymų.

1.3 lentelė. Albuminų ir globulinų aminorūgščių kompozicija endospermo sluoksnyje (g/100g baltymų) pagal Landry-Moureaux [10].

Aminorūgštys	Albuminai	Globulinai
Lizinas	5.6	5.3
Histidinas	2.2	3.4
Argininas	6.7	11.2
Asparto r.	8.4	6.7
Treoninas	4.5	2.8
Serinas	4.2	4.6
Glutamo r.	11.1	14.7
Prolinas	4.3	3.2
Glicinas	5.3	4.2

1.3 lentelės tęsinys. Albuminų ir globulinų aminorūgščių kompozicija endospermo sluoksnyje (g/100g baltymų) pagal Landry-Moureaux [10].

Alaninas	6.0	4.3
Valinas	5.0	4.9
Metioninas	1.3	0.9
Izoleucinas	3.2	2.6
Leucinas	5.6	5.1
Tirozinas	3.1	2.8
Fenilalaninas	3.1	4.1

Zeinas apibūdinamas kaip netirpus vandenyje, išskyrus alkoholinius tirpalus, labai šarminiuose tirpaluose (pH 11) arba anijoniniuose detergentuose. Zeinas paskirstytas tolygiai 1 mm storiu visoje kukurūzų endospermo ląstelių citoplazmoje tarp krakmolo granulių 5-35 mm, turi globulinę struktūrą. Nors zeino frakcija sudaro daugiau nei 50 % branduolio baltymų, jame yra labai mažas kiekis nepakeičiamų lizino ir triptofano amino rūgščių. Albuminų, globulinų ir glutelinų frakcijos, santykinai turi didesnius lizino ir triptofano kiekius. Tačiau zeino frakcijoje yra pastebimas labai didelis amino rūgštis leucino (21.1 g/100 g), kuri susijusi su izoleucino trūkumu, kiekis [11]. Zeine yra ypač daug glutamo rūgštis (21-26 %), leucino (20 %), prolino (10 %) ir alanino (10 %), tačiau nepakankami kiekiai, bazinių ir rūgštinių aminorūgščių (1.4 lentelė). Svarbiausių aminorūgščių triptofano ir lizino trūkumas sudaro neigiamą mitybinį azotinių medžiagų balansą. Nepolinės aminorūgščių liekanos įtakoja ribotą zeino tirpumą. Kukurūzo grūduose zeinas randamas kaip heterogeninis mišinys disulfidiniais ryšiais sujungtų agregatų, kurių vidutinė molekulinė masė yra nuo 44 kDa.

**1.4 lentelė.** Aminorūgščių kompozicija prolaminuose (g 100 g zeino).

Amino rūgštys	Grynasis kiekis	Komerciškai išskiriamos
Glicinas	0	0.7
Alaninas	10.52	8.3
Valinas	3.98	3.1
Leucinas	21.1	19.3
Izoleucinas	5	6.2
Fenilalaninas	7.3	6.8
Triptofanas	0.16	-
Prolinas	10.53	9.0
Serinas	7.05	5.7
Treoninas	3.45	2.7
Tirozinas	5.25	5.1
Metioninas	2.41	2.0
Cisteinas	0.83	0.8
Lizinas	0	-
Argininas	4.71	1.8

**1.4 lentelės tęsinys.** Aminorūgščių kompozicija prolaminuose (g 100 g zeino).

Histidinas	1.32	1.1
Asparto r.	4.61	-
Asparaginas	-	4.5
Glutamo r.	26.9	1.5
Glutaminas	-	21.4

Zeinas yra skirtingų peptidų mišinys. Pagal McKinney [12] skiriamos dvi zeino frakcijos –  $\alpha$ -zeinas ir  $\beta$ -zeinas.  $\alpha$ -Zeinas – tai kukurūzų frakcijos prolaminas tirpus 95 % etanolio tirpale ir sudarantis 80-85 % prolaminų, esančių grūde [13].  $\alpha$ -Zeine yra mažiau histidino, arginino, prolino ir metionino aminorūgščių, palyginus su  $\beta$ -forma. Pagal autorius Paulis ir kt.[10], 35 % zeino sudaro  $\alpha$ -zeinas, jame išskiriamos dvi 24 ir 28 kDa molekulinės masės baltymų grupės, aminorūgščių sudėtimi panašiomis į zeino, t.y šiame tipe vyrauja alanino bei leucino aminorūgštys.  $\beta$ -Zeinas (17-18 kDa) – tirpus 60 % etanolyje ir netirpus 95 % etanolio tirpale. Ši zeino forma yra nestabili, nes koaguliuoja ir nusėda, todėl sunku išskirti ir panaudoti komerciškai, jį daugiausia sudaro metionino aminorūgtis.  $\alpha$ -zeinas ir  $\beta$ -zeinas sudaro 75-85 % viso zeino. Taip pat mažesniais kiekiais pasiskirsčiusios  $\gamma$ - (28-48 kDa),kurio sudėtyje yra prolino ir cisteino amino rūgštys ir  $\delta$ - (10-18 kDa), sudaryta iš metionino aminorūgšties, zeino formos, sudarančios 5-10 % viso zeino (1.5 lentelė). Zeino frakcijų pasiskirstymas priklauso nuo kukurūzų genotipo [11].

**1.5 lentelė.** Zeino klasifikavimas [11].

Parametrai	Zeino klasės				
	$\alpha$ -zeinas 19 kDa      22 kDa		$\beta$ -zeinas 15 kDa	$\gamma$ -zein 16 kDa 27 kDa 50kDa	$\delta$ -zein 10 kDa 18kDa
Kiekis, % nuo viso zeino (Esen, 1987)	75-85		10-15	5-10	<5
Molekulinė masė (kDa)	B1 23 359 B2 27 128 B3 24 087 D1 24 818	Z1 26 359 Z3 26 751 Z4 26 923 Z5 26 701	17 458	17 663 21 882 32 822	14 431 21 220
Tirpumas, %	50-95% EtOH*/IPA**/ 4-5 M karbamidas 0-1 <sup>0</sup> C, 6-8M karbamidas		30-85 EtOH/IPA + redukuojantis agentas/ 1-8M karbamidas	0-80 EtOH/IPA + redukuojantis agentas ir NaAc***	30-85 EtOH/IPA + redukuojantis agentas
Aminorūgščių kompozicija (Shewry & Tatham, 1990)	Alaninas, leucinas		Metioninas	Prolinas ir cisteinas	Metioninas

\*EtOH = Etanolis

\*\* IPA = 2-Propanolis

\*\*\* NaAc = Natrio acetatas

### 1.3. Kukurūzų prolaminų reikšmė pramonėje ir išskyrimo galimybės

*Prolaminų reikšmė.* Svarbiausi prolaminų frakcijos baltymai – zeinas turi nepakankamai žmogaus organizmui svarbių aminorūgščių, tokių kaip lizinas ir triptofanas, dėl ko jis buvo vertinamas kaip prastos maistinės vertės baltymas. Todėl išvystyti nauji genotipai, turintys didesnius tiek pačių baltymų, tiek lizino kiekius.

Kukurūzų perdirbimo korporacija (CPC) zeiną pradėjo išskirti jau nuo 1939 metų. Iki 1970 jo produkcija siekė 7000 tonų per metus, vėliau zeino gamyba sumažėjo iki 500 tonų per metus. Komerciškai zeinas gaminamas iš kukurūzų glitimo miltų, kurie gaminami drėgnojo malimo proceso metu, kuriame pirmas etapas yra kukurūzų mirkymas, naudojant sieros dioksido tirpalą, kuris skaldo disulfidinius ryšius tarp zeino polipeptido grandinių, tokiu būdu sumažėja cistino kiekis. Zeinas buvo naudojamas daugiausiai polimerų gamybai, bet pradėtas naudoti ir maisto pramonėje [14].

Nors ir zeinas turi labai mažus kiekius taip reikiamų amino rūgščių jis gali būti naudingas kitais aspektais, nes turi antioksidacinių savybių. Tai labai aukštos vertės produktas. Jis gali būti naudojamas:

- Mažinti cholesterolio kiekį ir gaubtinės žarnos vėžio riziką;
- Mažinti cukraus kiekį kraujyje sergantiesiems cukriniu diabetu;
- Etanolio gamybai;
- Rūpintis oda, stiprinti nervų sistemą ir gerinti virškinimą;

Taip pat zeinas plačiai naudojamas plastikinių pakuočių gamybai, elektroninių prietaisų padengimui. Zeinas sumaišytas su feromonais naudojamas sutraukti pesticidus skirtus naikinti kenkėjams, sumažinti pesticidų kvapą ir užtikrinti saugią darbo aplinką žmogui. Zeino mikrodalelės taip pat gali būti naudojamos kaip riebalų pakaitalas, įkapsuliuojant reikiamus riebalus [15].

Kukurūzų baltymai atlieka fermentų vaidmenį, gali būti struktūriniais komponentais. Taip pat gali būti naudingi mažinant cukraus kiekį kraujyje. Kukurūzų ląsteliena ir baltymai yra pagrindiniai makroelementai stabilizuojantys maisto praėjimą per virškinamąjį traktą. Zeinas yra amfifilinis baltymas ir turi savybę formuoti sferines koloidines nanodaleles ir gali būti

naudojams maisto produktų gamyboje, vaistų ar biotechnologijos pramonėje kaip bioaktyvus junginys [7, 16].

*Zeino išskyrimo būdai.* Specifinių baltymų išskyrimas yra gana sudėtingas ir brangus būdas, priklausantis nuo išskyrimui reikiamo tirpiklio ir jo kiekio. Dėl ekonominių priežasčių, didelės išėigos, kurios paprastai yra gaunamos tik ekstrahuojant baltymus šarmais, yra svarbesnis faktorius, nei baltymų grynumas ar jų specifiškumas. Konkrečiam pramoniniam naudojimui dažnai keičiamos baltymų savybės, suteikiant tam tikras specifines savybes, pavyzdžiui, dispergavimo, spalvos intensyvumo, putų susidarymo pajėgumo, vandens įgėrimo, klampumo, gelio stiprumo, koloidų apsauginės savybės ir ypač molekulių dydžio ar formos [14].

Pagal CPC, zeino išskyrimui naudojamas karštas 86–88% izopropanoliu arba 93–95% etanolis, esant aukštomis pH reikšmėms ir 50-60°C temperatūrai, kukurūzų žaliavą kaitinant iki 2 h. Po centrifugavimo gautame filtrate zeino kiekis sudaro iki 6% (w/v). Nuosėdos gali būti liofilizuojamos ir užšaldomos. Riebalų ir spalvos pigmentų atskyrimui naudojamas heksanas arba benzenas. Zeinas galiausiai nusodinamas pertekliniais kiekiais šalto vandens arba esant žemai temperatūrai (–15–25°C). Tuomet po liofilizavimo gaunama šviesiai geltonos spalvos milteliai. Izopropanolis yra tinkamiausias tirpiklis zeinui išskirti, nes gaunama didesnė zeino koncentracija, beto naudojant etanolį, gaunamos didesnės distiliavimo išlaidos [16, 17]. Remiantis tuo, kad zeine dominuoja nepolinės amino rūgštys, galima teigti, kad zeino tirpikliai turėtų turėti mišrias charakteristikas, kurių sudėtyje yra ir joninių ir nejoninių polinių grupių, taip pat nepolinės grupės, arba jų struktūros arba jų kompozicija (taikant mišrius tirpiklius). Zeinas taip pat gali būti tirpus ir ketonuose, amiduose ar didelės koncentracijos NaCl, KBr tirpaluose, esteriuose ir glikoliuose [18].

#### **1.4. Grūdinės žaliavos baltymų funkcinės savybės**

Funkcinės grūdų baltymų savybės skiriasi, priklausomai nuo šaltinio ir grūdų kilmės. Augalinių baltymų funkcinės savybės priklauso nuo aminorūgščių sudėties, jų sekos, santykio tarp hidrofobiškų ir hidrofilinių dalių. Labai didelės įtakos funkcinėms savybėms turi baltymo antrinės, tretinės ir ketvirtinės struktūros ir savybė sąveikauti su kitais maisto sudėtiniais komponentais. Taip pat didelę reikšmę funkcinėms savybėms turi ir aplinkos veiksniai, pvz: temperatūra, pH, drėgmė, mechaninis poveikis, fermentai, cheminiai priedai.

Funkcinės savybės, tokios kaip putų sudarymo pajėgumas (stabilumas), emulsijos sudarymo pajėgumas ir stabilumas, gelio sudarymo pajėgumas, tirpumas, riebalų ar vandens įgėrimas, yra



labai svarbūs veiksniai, nes turi įtakos tiek technologinėms, fizinėms, tiek ir juslinėms maisto produktų savybėms gamybos proceso metu ir galutinio produkto kokybei. Labai svarbi funkcinė savybė yra baltymų tirpumas, kuris parodo gebėjimą sąveikauti su kitais sudėtiniais komponentais. Tirpumas apibūdinamas pusiausvyra tarp hidrofilinės ir hidrofobinės sąveikos, kuri priklauso nuo pH, temperatūros, mechaninių veiksnių, joninės jėgos. pH priartėjus prie izoelektrinio taško, baltymo tirpumas ir stabilumas yra mažiausi. Nuo baltymų tirpumo priklauso tokios funkcinės savybės kaip emulgavimas, putojimas, želatinavimas.

Dar viena svarbi funkcinė baltymų savybė yra emulsijų sudarymo pajėgumas ir stabilumas. Emulsija – tai dviejų ar daugiau medžiagų, kurios tarpusavyje nesimaišo, junginys, susidarantis emulsiklio pagalba, kuris emulijai suteikia stabilumą. Augaliniai baltymai labiau linkę tirpti vandenyje nei riebaluose, nes baltymai palengvina aliejaus lašelių dispergavimą vandens fazėje, taip skatindami susidaryti riebalų dalelių emulsiją vandenyje. Ilgalaikis emulsijų stabilumas iš esmės priklauso nuo absorbuotų baltymų tirštumo ir stiprumo aliejaus-vandens fazėje. Emulsijos sudarymo pajėgumas ir stabilumas priklauso nuo stabilizatorių savybių ir gali priklausyti nuo baltymų tipo, koncentracijos, pH, joninės jėgos, ir klampumo sistemoje. Kukurūzų baltymai pasižymi geru tirpumu neutraliame ir rūgštiniame pH ir geba stabilizuoti aliejaus-vandens emulsiją [19].

Gelių sudarymas yra ne ką mažiau svarbi funkcinė savybė. Ši savybė leidžia pakeisti fizinę maisto struktūrą. Kuomet baltyminė medžiaga kaitinama, rutulinės formos baltymai sudaro gelius. Gelio susidarymas gana sudėtingas procesas, priklausantis nuo pH, temperatūros, kaitinimo laiko, baltymų ir vandens santykio, joninės jėgos dydžio, maistinių komponentų. Baltymams denatūravus, disulfidinių ryšių vietose yra pažeidžiamos hidrofobinės aminorūgščių liekanos. Toliau šildant augalinius baltymus, jie jungiasi tarpusavyje ir sudaro gelius, priklausomai nuo jų molekulinės masės, šildymo ir baltymų koncentracijos [20].

Skirtingos augalinės kilmės baltymų frakcijos gali turėti skirtingas funkcines savybes. Tai priklauso nuo baltymų struktūros t.y. nuo juos sudarančių amino rūgščių kompozicijos, bei skirtingo baltymų tirpumo. Albuminai – tirpūs vandenyje, pasižymi geriausiomis funkcinėmis savybėmis [21]. Skirtumai tarp albuminų ir globulinų funkcinė savybių gali būti ir dėl to, kad skiriasi konformacija, paviršiaus hidrofobiškumas, lipofilinės grupės. Globulini veikiami NaCl tirpalu gali padidinti baltymų tirpumą kas priklauso nuo elektrostatinių sąveikų. Iš esmės globulinai gali pasižymėti geresnėmis funkcinėmis savybėmis priklausomai nuo NaCl tirpalo koncentracijos [22].

## 1.5. Bioaktyvių metabolitų gamyba grūdų produktų terpėje fermentacijos metu

Šiomis dienomis yra padidėjęs susidomėjimas sveikatos gerinimu funkciniais maisto produktais, maisto papildais, farmaciniais preparatais, kurių sudėtyje yra peptidų, kylančių iš maistinių baltymų. Biologiškai aktyvūs peptidai yra apibrėžiami kaip specifiniai baltymo fragmentai, kurie turi teigiamą poveikį kūno funkcijoms bei gali turėti reikšmingos įtakos žmonių sveikatai. Paprastai, biologiškai aktyvūs peptidai atitinka užkoduotas baltymų sekas, kurie išlaisvinami virškinimo metu vykstant augalų proteolizinių fermentų hidrolizei, bei jų koncentracija dažniausiai padidėja maisto fermentacijos metu. In vitro ir in vivo tyrimai rodo didelį spektrą bioaktyvių peptidų biologinių funkcijų, pavyzdžiui, imunomoduliacinė, antimikrobinė, antioksidacinė, antitrombotinė, hipocholesteroleminė ir antihipertenzė veikla. Susidomėjimas antioksidantų peptidais, gautais iš maisto baltymų labai išaugo, nes yra įrodyta, kad biologiškai aktyvūs peptidai užkerta kelią oksidaciniam stresui, kuris susijęs su daugybe degeneracinių senėjimo ligų (pvz, vėžiu, ateroskleroze). Antioksidantų panaudojimas maisto pramonėje yra labai platus. Antioksidantų naudojimas maisto produktuose yra reglamentuojamas norminių teisės aktų ir turi atitikti atskirų šalių ar vidaus standartus. Nors daugelis sintetinių junginių turi antioksidacinių savybių, tik keletas iš jų buvo priimtos kaip GRAS (paprastai pripažįstamos saugiomis) naudoti maisto produktų tarptautinių institucijų, tokių kaip FAO / WHO maisto priedų komiteto ekspertų. Toksikologiniai tyrimai yra labai svarbūs nustatant antioksidanto saugumo lygį, bei leistiną paros dozę (LPD) [23].

Natūralūs antioksidantai neseniai patraukė daugelio maisto gamintojų dėmesį dėl noro gaminti sveikesnį maistą. Biologiškai aktyvūs peptidai turintys antioksidacinę aktyvumą, gaunami iš daugelio gyvūnų ir augalų baltymų, tokių kaip: žemės riešutų, ryžių sėlenų, saulėgrąžų baltymų, kukurūzų glitimo miltų, varlės odos, kiaušinio trynio baltymų, pieno kefyro, sojos kefyro, vaistinių grybų, skumbinės, kario lapų, medvilnės lapų, kviečių glitimo, ir grikių baltymų. Buvo teigiama, kad antioksidantų peptidai veikia kaip lipidų peroksidacijos inhibitoriai, nukenksminant laisvuosius radikalus ir / arba kaip chelato pereinamųjų metalų jonų agentai, kurie katalizuoja kai kurias radikalų rūšis. Antioksidantų peptidai dažniausiai sudaryti iš 2 - 20 aminorūgščių liekanų ir yra mažesni nei 6.0 kDa molekulinės masės. Antioksidacinis aktyvumas labai priklauso nuo amino rūgščių kompozicijos, konformacijos, hidrofobiškumo. Pagal mokslininkus Ryan ir kiti (2011) atliktas metabolominis tyrimas su trimis ryžių veislėmis, stabilizuojant ryžių sėlenas fermentacijos metu su *Saccharomyces boulardii* bakterijomis. Rezultatai parodė, kad fermentuoti ryžių sėlenų ekstraktai lyginant su nefermentuota kontrole

sumažina žmogaus B limfomų augimą, kas įrodo kad fermentacija padidina bioaktyvių junginių veiklą [24].

Grūdų produktai yra pagrindinis maisto produktas žmogaus mityboje. Jie savo sudėtyje turi angliavandenių, baltymų, vitamin, mineral ir skaidulų. Didelė dalis grūdų produktų yra perdirbti į maisto produktus ir gėrimus taikant fermentaciją prieš vartojimą.

### **1.6. Alternatyvūs terminio apdorojimo būdai ir jų panaudojimas augalinės žaliavos stabilizavimui**

Plečiantis pramonei ir ieškant įvairių naujovių, kurios galėtų būti naudingos ne tik pramoniniu atžvigiū bet ir atsižvengiant į žmogaus sveikatą pradėta taikyti tokie maisto apdorojimo būdai kaip infraraudonoji spinduliuotė, didelis hidrostatinis laukas, elektrinis laukas, ultragarsas bei kiti. Terminis apdorojimas yra vienas iš būdų padidinti maisto virškinamumą, bet prarandant tam tikrų šilumai neatsparių maistinių medžiagų, taip sumažinant maistinę vertę. Apdorojant maisto produktus karščiu netenkama įvairių maistinių medžiagų: vitaminų, mineralų, baltymų, antioksidantų [25]. Todėl pramonėje naudojami tokie apdorojimo būdai, kurie sunaikintų bakterijas ar jų sporas bet nepaveiktų maistinės sudėties. Taip pat terminiai apdorojimo būdai išoriniams grūdų sluoksniams taikoma norint pagerinti ar stabilizuoti galiojimo laiką [26].

Vienas iš tokių alternatyvių grūdinės žaliavos terminio stabilizavimo būdų yra infraraudonoji spinduliuotė. Paprastai naudojama 0,78-1,000  $\mu\text{m}$  bangos spinduliuotė. Šis terminis apdorojimas konvertuoja spindulius į temperatūrą, nekontaktuojant su produktu. Taip sumažinami įvairių maistinių medžiagų nuostoliai, nei naudojant įprastinius terminius metodus [27].

Ekstruzija yra vienas naujausių maisto produktų gamybos procesų, kurio metu formuojami plastiški gaminiai atitaikant tokius parametrus kaip temperatūra, drėgnis, mechaninė jėga. Ši gamybos technologija yra universali nes, gaunami aukštos kokybės produktai bei taikomi trumpalaikiai terminio apdorojimo režimai, dėl kurių sumžėja terminio apdorojimo proceso sąnaudos, proceso laikas. Veikiant ekstruzijai riebalinės medžiagos nepakinta bet susidaro krakmolo ir lipidų kompleksai. Ekstruzijos technologija tam tikra prasme gali pagerinti biologinį įsisavinimą biologiškai aktyvių junginių tokių kaip fenoliai, antioksidantai, formuojant kompleksą su baltymais, kurie gali būti suskaidyti žmogaus organizme. Kadangi veikiama aukšta 100–150° C temperatūra, kartu grūdinė žaliava yra ir sterilizuojama, kas yra labai svarbu maisto pramonėje [28].

Kukurūzų ekstruzijos technologinis procesas turi įtakos fermentui amilazei, kuri yra svarbi virškimui ir virškinamojo trakto absorbcijai. Ekstruzijos metu spaudžiant kukurūzus, padidėja kukurūzų želatinizacija ir krakmolo granulių paviršiau plotas, kuris didina krakmolo virškinamumą. Ekstruzijos procesas atveria įvairias galimybes pritaikyti naujoves, ypač gerinant produkto maistinę vertę pvz naudojant žaliavas su didesniu skaidulinių medžiagų kiekiu, kas iš esmės būtų puiki alternatyva mažinant cholesterolio kiekį ar gerinant įvairių maistinių medžiagų pasisavinimą [29].

## **2. TYRIMO OBJEKTAI IR METODAI**

### **2.1. PAGRINDINĖS TYRIMŲ KRYPTYS**

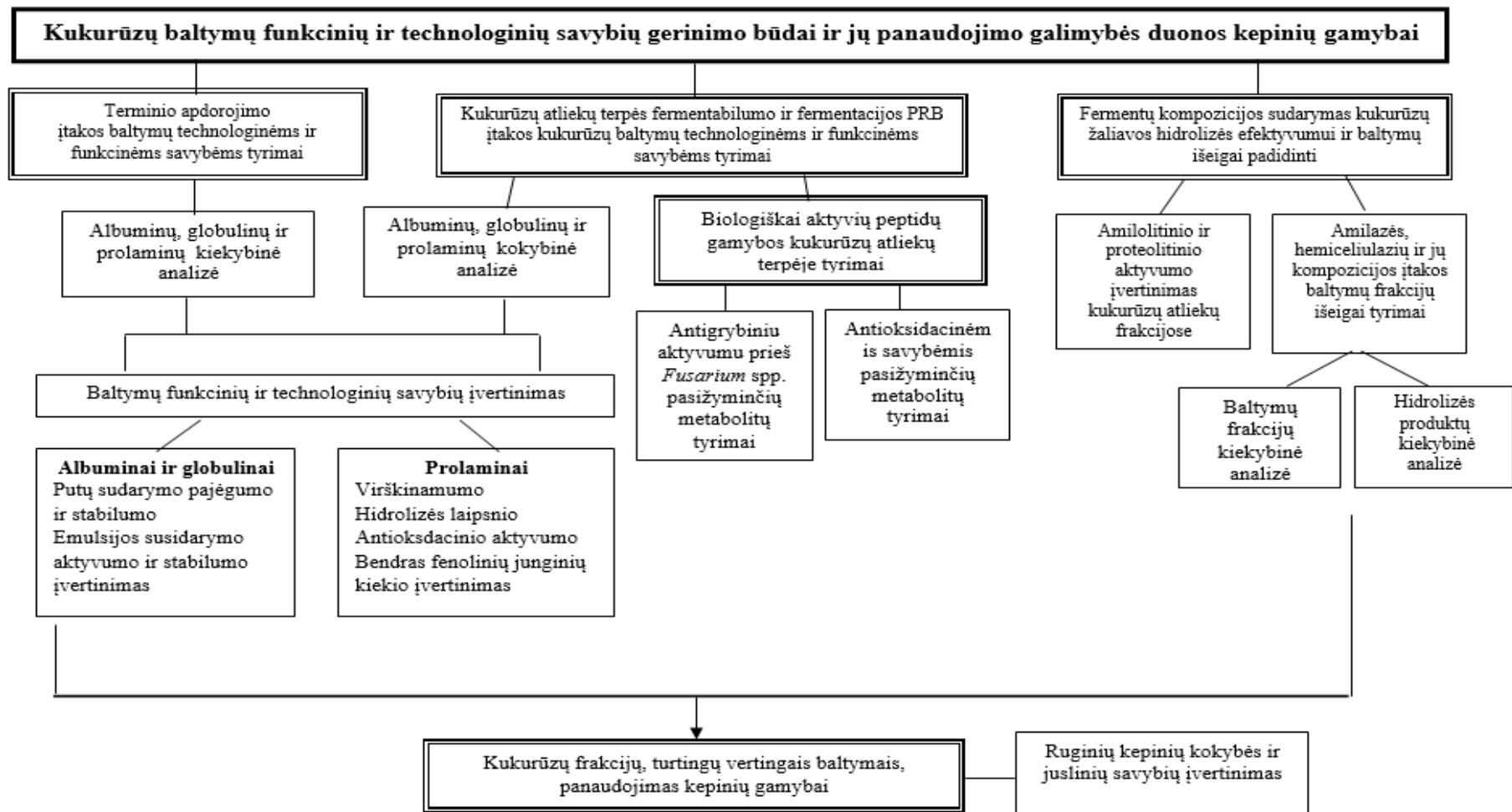
Siekiant gaminti sveikesnius ir saugesnius maisto produktus, aktualu juos praturtinti vertingais netradicinių žaliavų komponentais (pvz. baltymais, skaidulomis), pasižyminčiais funkcinėmis savybėmis.

Norint sumažinti kukurūzų perdirbimo šalutinių produktų mikrobinį užterštumą, ir taip užtikrinti šios žaliavos saugą laikymo metu, aktualu taikyti terminį žaliavos apdorojimą, ir įvertinti tokių terminio apdorojimo būdų, kaip termomechaninis apdorojimas (ekstruzija) ir infraraudonosios spinduliuotės įtaką kukurūzų atliekų baltymų funkcinėms ir technologinėms savybėms.

Vienas iš būdų padidinti kukurūzų perdirbimo šalutinių produktų maistinę vertę ir pagerinti jų komponentų funkcines savybes yra fermentacija pieno rūgšties bakterijomis (PRB), todėl ypač aktualu parinkti mikroorganizmus efektyviai veikiančius pasirinktoje terpėje. Iš kitos pusės, sparčiai augantis susidomėjimas probiotiniu maistu skatina ieškoti naujų alternatyvių substratų probiotinio maisto gamybai. Tarp šių substratų, grūdinė žaliava tampa vienu iš perspektyviausių alternatyvų pienui, dėl tinkamumo probiotinių bakterijų augimui. Todėl viena iš darbo krypčių yra skirta ištirti kukurūzų perdirbimo grūdinių atliekų kaip terpės įtaką probiotinių bakterijų gebėjimui gaminti bioaktyviomis savybėmis pasižyminčius metabolitus be hidrolizinių fermentų ar augimą skatinančių priedų, ir ištirti jų antioksidacines savybes ir antigrybinį aktyvumą prieš *Fusarium graminearum* ir *F. culmorum* pelėsius, dažniausiai aptinkamus grūdinėje žaliavoje.

Vertingų baltymų iš grūdinės žaliavos su didesniu ne krakmolo polisacharidų kiekiu išėigos padidinimui, tikslinga sudaryti amilolitinių ir hemiceliulolitinių fermentų kompoziciją grūdinės žaliavos hidrolizės optimizavimui ir įvertinti jos įtaką baltymų ekstrakcijos efektyvumui.

Kukurūzų grūdų perdirbimo metu susidarančius dideliais kiekiais kukurūzų šalutinius produktus, kuriose gausu baltymų, skaidulinių ir mineralinių medžiagų, tinkamai apdorojus, būtų galima panaudoti kepinių bei funkcinių maisto produktų gamyboje. Vienas iš darbo etapų skirtas naujų duonos pramonėje fermentuotų kukurūzų perdirbimo šalutinių produktų išbandymui ruginių kepinių gamyboje ir jų įtakos kepinių kokybei įvertinimui.



2.1 paveikslas. Pagrindinės tyrimų kryptys ir uždaviniai.

## 2.2. TYRIMO OBJEKTAI

**Kukurūzų žaliava.** Eksperimentui atlikti naudoti kukurūzų perdirbimo atliekų produktai, gauti iš UAB „Ustukių malūnas“ (Pasvalys, Lietuva). Kukurūzų žaliava buvo išskirstyta oriniu separatoriumi į frakcijas, kurios skyrėsi dalelių dydžiu ir chemine sudėtimi, gautos frakcijos: 1K, 2K, 3K, 4K, 5K, 6K. Dalis kukurūzų žaliavos buvo apdorota vieno sraigto ekstruderiu ir išfrakcionuota, tirtos frakcijos: 1E, 4E, 5E, 6E. Kita dalis kukurūzų žaliavos buvo apdorota infraraudonąja spinduliuote (90-110°C temperatūra); termiškai apdorota žaliava oriniu separatoriumi buvo išskirstyta į keturias frakcijas: 1IR, 4IR, 5IR, 6IR. Kukurūzų žaliava eksperimento metu laikyta šaldiklyje (-18 °C). Prieš naudojimą, kukurūzų žaliavos mėginiai buvo sumalti laboratoriniu malūnu (dalelių dydis 212 μm).

**Fermentiniai preparatai.** Kukurūzų žaliavos fermentinei hidrolizei naudoti Dyadic fermentiniai preparatai (DYADIC INTERNATIONAL INC., JAV), gauti iš AB „Baltijos enzimai“ (Vilnius): Vilzim AMY (bakterinė α-amilazė krakmolo hidrolizei) ir Vilzim NSP preparatas, kurį sudaro trys pagrindiniai fermentai – celiulazė, ksilanazė, gliukanazė, bei papildomi aktyvumai: pektinazė, manazė ir galaktozidazė, naudotas nekrakmolo polisacharidų hidrolizei. Fermentinių preparatų charakteristikos pateiktos 2.1 lentelėje.

2.1 lentelė. Fermentų preparatų charakteristikos ir pagrindiniai aktyvumai.

Preparatas	Aktyvumas, U/ml	Aktyvūs fermentai	Mikroorganizmas	Optimalus pH	Optimali temp., °C
Vilzim AMY	>1400	α-amilazė	<i>Bacillus licheniformis</i>	5,5-7,5	70-85
Vilzim NSP	>45000	celiulazė	<i>Trichoderma reesei</i>	4,2-6,5	40-60
	>34000	ksilanazė			
	>12000	β-gliukanazė			

\* aktyvumo vienetai, nustatyti pagal gamintojų standartinius metodus

**Mikroorganizmai.** Kukurūzų žaliavos fermentacijai naudotos pieno rūgšties bakterijos *Pediococcus acidilactici* KTU05-7 ir *Lactobacillus sakei* KTU05-6, o antigrybiniu aktyvumu pasižyminčių metabolitų gamybai kukurūzų terpėje papildomai naudotos *Pediococcus pentosaceus* bakterijos KTU05-8, KTU05-9 ir KTU05-10, kurios buvo išskirtos iš spontaninių ruginių raugų [30]. Bakterijos gautos iš KTU Maisto mokslo ir technologijos katedros kolekcijos. Mikroorganizmai laikyti -70°C temperatūroje (Microbank, PRO-LAB

DIAGNOSTICS), prieš naudojimą atgaivinti, kultivuojant MRS terpėje (CM0359, Oxoid Ltd) 35 °C temperatūroje 24 val.

Kukurūzų baltymų antigrybiniam aktyvumui įvertinti, naudoti išskirti iš užkrėstų kviečių grūdų *Fusarium graminearum* ir *F. culmorum* mikroskopiniai gybai, kurie buvo gauti iš Lietuvos žemdirbystės instituto kolekcijos (Akademija, Kėdainių raj.). Grybai kultivuoti YEPD terpėje: (1 litrui: 10 g mielių ekstrakto, 20 g peptono, 20 g glukozės, 18 g agarų). 25 °C temperatūroje 7 paras.

**Ruginiai kepiniai.** Daugiausiai baltymų turinčios kukurūzų žaliavos frakcijos (6K, E6 ir 6IR) buvo panaudotos ruginės duonos gamybai, pakeičiant ruginių miltų dalį (5, 10 ir 15 %) fermentuotu kukurūzų produkto priedu. Duona buvo ruošta pagal receptūrą ir technologinius parametrus pateiktus 2.2 lentelėje.

**2.2 lentelė.** Ruginių kepinų receptūra (1 kg miltų).

Žaliavos	Kiekis, g
Ruginiai pasijoti miltai	900
Kvietiniai miltai	100
Mielės	20
Druska	15

**Raugo ruošimas.** Raugas (68 % drėgnis) ruoštas iš 300 g ruginių miltų ir 500 ml vandens, užraugiant pieno rūgšties bakterijų *P. pentosaceus* KTU05-9 suspensija (2 % nuo miltų masės). Raugas fermentuotas 37 °C temperatūroje iki 11 °N rūgštingumo.

**Tešlos ruošimas, pusgaminų kildinimas ir kepimas.** Tešla (47 % drėgnis) ruošta, sumaišant raugą, likusius ruginius miltus, kvietinius miltus, mieles, druską ir įpylus apskaičiuotą kiekį vandens. Dalis ruginių miltų (50, 100 ir 150 g) tešloje buvo pakeista IR apdorota kukurūzų žaliava. Tešla maišyta 10 minučių lėtai. Rauginta 30 °C temperatūroje 60 min. Tešlos ruošiniai (600 g) kildinti 35°C temperatūroje 40 min., kepti 250°C temperatūroje 45 min.

## 2.3. TYRIMO METODAI

### Žaliavos drėgnio ir masės tankio nustatymas

Drėgnis nustatytas pagal LST EN ISO 712:2010 [32], džiovinant mėginį 105 °C temperatūroje iki pastovios masės. Drėgmės kiekis apskaičiuotas iš mėginio masės prieš džiovinimą ir po džiovinimo santykį ir išreikštas g/100 g mėginio.



Masės tankis nustatytas pagal mėginio tūrio ir masės santykį. Kiekvienos frakcijos mėginys (tūris 100 ml) pasvertas 0,001 g tikslumu. Frakcijos masės tankis ( $\rho$ ) apskaičiuotas pagal formulę:

$$\rho = m/V, \text{ g/cm}^3 \quad (2.1)$$

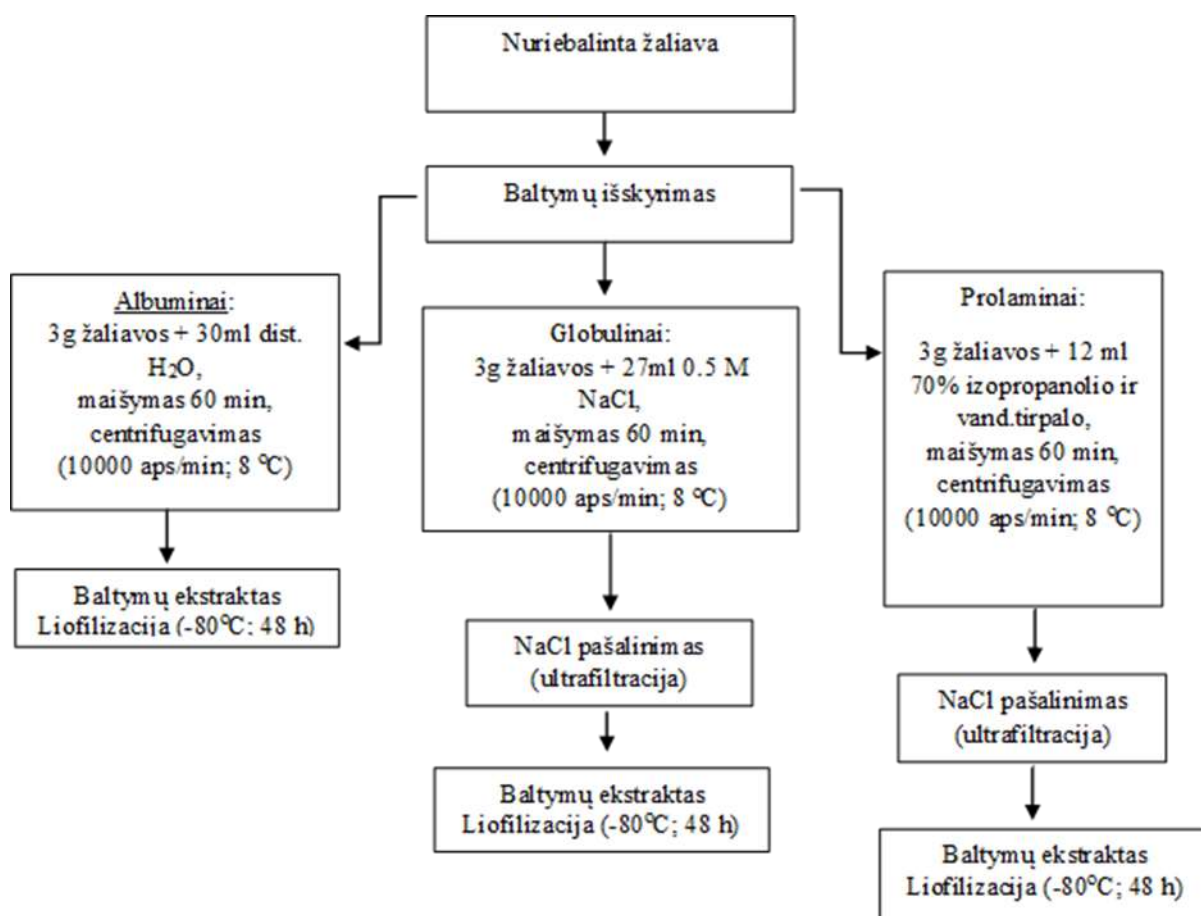
Tyrimas atliktas, analizuojant kiekvieną mėginą lygiagrečiai tris kartus.

### 2.3.1. Baltymų kiekybinė ir kokybinė analizė

#### Baltyminių medžiagų išskyrimas iš kukurūzų žaliavos

*Mėginio paruošimas.* Kukurūzų mėginiai prieš analizę buvo sumalti ir išdžiovinti krosnyje  $100 \pm 1^\circ\text{C}$  temperatūroje iki pastovios masės. Išdžiovinti mėginiai ekstrahuoti heksanu 3 val. Soxleto aparate [32] riebalų pašalinimui.

*Baltymų išskyrimas.* Baltymų frakcijos išskirtos pagal pateiktą žemiau schemą (2.1 pav.) [33].



2.2 paveikslas. Baltymų išskyrimo schema.

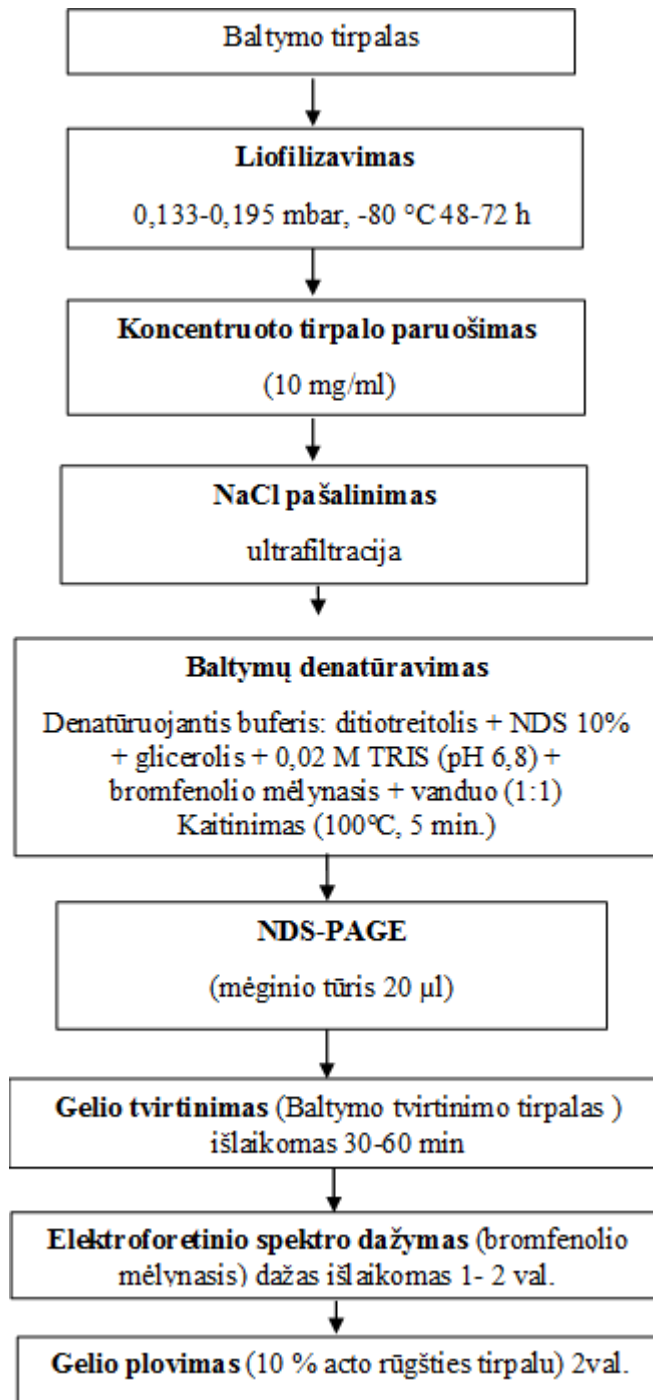
Albuminų frakcija išskirta, nuriebtų kukurūzų žaliavą ( $3\pm 0,01$  g) ekstrahuojant dist. vandeniū santykiu 1:1, maišant magnetinėje maišyklėje 60 min. Gautas mišinys centrifuguotas (10 000 aps/min, 30 min, 8 °C). Globulinų išskyrimui imta nuriebtų kukurūzų žaliavą ( $3\pm 0,01$  g) ir užpilta 27 ml 0.5 M NaCl tirpalo, maišyta magnetinėje maišyklėje 60 min. Mėginys pakartotinai centrifuguotas (10 000 aps/min; 8 °C, 30 min). Prolaminų frakcijai išskirti, imta nuriebtų kukurūzų žaliavą ( $3\pm 0,01$  g) ekstrahuota 70 % propanolio ir vandens tirpalu santykiu 1:4, maišant magnetinėje maišyklėje 60 °C temperatūroje 60 min. Gautose albuminų, globulinų ir prolaminų ekstraktuose nustatytas baltyminio ir nebaltyminio azoto kiekis. Druskai iš globulinų frakcijos pašalinti naudoti Millipore membraniniai filtrai (15 kDa, UltraTurax). Gauti baltymų izoliatai liofilizuoti –80 °C temperatūroje, 0,133-0,195 mbar, 48-72 h [34]. Mėginiai iki analizės laikyti šaldiklyje –18°C temperatūroje.

### **Baltymų kiekio nustatymas**

Baltymų kiekis kukurūzuose nustatytas Kjeldalio metodu [35]. Proceso metu atliktas mėginio mineralizavimas koncentruotoje sieros rūgštyje. Pagal išsiskyrusio azoto junginio kiekį tiriamoje medžiagoje apskaičiuotas baltymų kiekis. Baltymų kiekiui albuminų, globulinų ir prolaminų izoliatuose nustatyti naudota 10 ml (albuminams ir globulinams) ir 1 ml (prolaminams) baltymų tirpalo. Kiekvienas mėginys tirtas po du kartus. Azotas perskaičiuotas į baltymus, naudojant perskaičiavimo koeficientą 6,25 [36].

### **Baltymų elektroforezė**

Baltymų izoelektrinio taško ir molekulinės masės nustatymui taikyta elektroforezė 12 % poliakrilamido gelyje, naudojant natrio dodecilsulfatą [37]. Baltymų elektroforezės atlikimo schema pateikta 2.2 paveiksle.



**2.2 pav.** Baltymų frakcijų elektroforezės schema.

**2.1 lentelė.** Skiriamąjo gelio ruošimas.

Tirpalai (ml) / gelis	
Distiliuotas vanduo, ml	1.7
30 % akrilamidas, ml	2
4×TRIS·HCl/NDS buferinis tirpalas (pH 8,8), ml	1.3
10% amonio persulfatas, µl	50
TEMED tirpalas, µl	4

**2.2 lentelė.** Koncentruojamojo gelio ruošimas.

Tirpalai (ml) / gelis	
30 % akrilamidas, ml	0.33
4×TRIS·HCl/NDS buferinio tirpalo (pH 6,8), ml	0.50
Distiliuotas vanduo, ml	1.1
10% amonio persulfatas, µl	20.
TEMED tirpalas, µl	4

Tiriamasis baltymo tirpalas sumaišytas su baltymo denatūravimo buferiniu tirpalu santykiu 1:1 ir kaitintas 5 min verdančio vandens vonioje. Atvėsinti iki kambario temperatūros mėginiai (tūris 20 µl) naudoti analizei.

Elektroforezei atlikti naudotas Cleaver scientific CVS10 (Didžioji Britanija) aparatas, papildytas TRIS-glicino buferinio tirpalo, elektroforezės sąlygos: 40 mA srovė ir 220 V įtampa, trukmė 30 min. Po elektroforezės poliakrilamido gelis užpiltas baltymų tvirtinimo tirpalu (trukmė 30 min.) ir dažytas Coomassie mėlio dažo tirpalu (trukmė 3 val.). Po dažymo dažai iš gelio išplauti 10 % acto rūgšties tirpalu. Pagal gautas baltymų juostas apskaičiuotos baltymų molekulinės masės.

*Molekulinės masės nustatymas NDS-PAGE.* Molekulinei masei įvertinti naudotas SIGMA baltymų molekulių masių markeris (tūris 5 µl): sudarytas iš 250 kDa, 150 kDa, 100 kDa, 75 kDa, 50 kDa, 37 kDa, 25 kDa, 15 kDa, 10 kDa iš išgrynintų baltymų.

Baltymų santykinės molekulinės masės apskaičiavimui sudarytos kalibracinės kreivės, ordinačių ašyje (y) atidedant standartinių baltymų santykinių molekulių masių dešimtainius logaritmus, o abscisių (x) – jų elektroforetinius judrius [38]. Gautos funkcinės priklausomybės, kurių matematinė išraiška skirtingų baltymų frakcijų geliams, atitinkamai:  $y = -1,7551x + 5,5705$  ( $R^2 = 0.985$ ) ir  $y = -1,796x + 5,598$  ( $R^2 = 0.980$ ).

### 2.3.2. Baltymų technologinių savybių nustatymas

**Emulsijos sudarymo pajėgumo** tyrimui ruošta 1% baltymų ir vandens suspensija. Suspensijos pH sureguliuotas iki 4,5, 7,0 ir 9,0 naudojant 0,1 M NaOH arba 0,1 M HCl tirpalą. Mėginiai homogenizuoti homogenizatoriumi (IKA T25, Vokietija) 1 min. Po to įpilus rapsų aliejaus 10ml homogenizuota dar 5 min. Gauta emulsija centrifuguota (Heraeus labofuge 200, JAV) 5 min (3000 aps/min). Kiekvienas mėginys analizuotas, atliekant tris lygiagrečius matavimus. Emulsijos sudarymo pajėgumas (ESP) apskaičiuotas pagal formulę:

$$ESP = (\text{emulsijos sluoksnio tūris (ml)}/\text{bendras suspensijos tūris (ml)}) \times 100 (\%) \quad (2.2)$$

**Emulsijos stabilumo** tyrimui ruošta 1% baltymų ir vandens suspensija. Suspensijos pH sureguliuotas iki 4,5, 7,0 ir 9,0 naudojant 0,1 M NaOH arba 0,1 M HCl tirpalą. Mėginiai homogenizuoti homogenizatoriumi (IKA T25, Vokietija) 1 min. Po to įpilus rapsų aliejaus 10ml homogenizuota dar 5 min. pakaitinama 80 °C temperatūroje 30 min. Atvėsinti mėginiai centrifuguojami "Heraeus labofuge 200" (JAV) centrifuga 5 min 3000 aps/min greičiu. Emulsijos stabilumas (ES) apskaičiuojamas pagal formulę [39].

$$ES = (\text{emulsijos sluoksnio tūris (ml)}/\text{bendras suspensijos tūris (ml)}) \times 100, \% \quad (2.3)$$

**Putų sudarymo pajėgumo** tyrimui ruoštos trys 1% baltymų vandens suspensijos 0,5 g baltymų sumaišoma su 12,5 ml vandens ir, lašinant 0,1 M NaOH arba 0,1 M HCl tirpalą, suspensijos pH sureguliuojamas iki 4,5, 7,0 ir 9,0. Plakama "IKA T25 digital" (Vokietija) plakikliu 1 min. Putų sudarymo pajėgumas (PP) apskaičiuojamas pagal formulę [40]:

$$P_{SP} = (\text{putų tūris (ml)}/\text{bendras suspensijos tūris (ml)}) \times 100, \% \quad (2.4)$$

**Putų stabilumas** buvo atliekamas stebint susidariusių putų pokytį po 30 min. ir apskaičiuojamas pagal formulę [40]:

$$P_{ST} = (\text{putų tūris po 30 min (ml)}/\text{suspensijos tūris iš karto po maišymo (ml)}) \times 100, \% \quad (2.5)$$

### 2.3.3. Baltymų funkcinių savybių nustatymas

**Baltymų virškinamumo nustatymas.** Baltymų *in vitro* virškinamumas vertintas kukurūzų prolaminų frakcijoje pagal Lqari ir kt. [41] pateiktą metodiką. Liofilizuoto zeino baltymų izoliato mėginys ( $0,5 \pm 0,01$  g) užpiltas 12,5 ml dist.vandens, suregulius pH iki 8, naudojant 0.1M NaOH, mėginys laikytas 15 min  $55^{\circ}\text{C}$  vandens vonioje. Po išlaikymo, fermentų mišinys, sudarytas iš 1,6 mg tripsino (18 AV/mg), 3,1 mg  $\alpha$ -chymotripsino (40 AV/mg) ir 1,3 mg peptidazės (15 AV/mg) įpiltas į baltymų suspensiją santykiu 10:1 (w/v). Mėginio pH matuotas tiksliai po 15 min. Reakcijos pabaigoje mišinys buvo pakaitintas 10 min  $100^{\circ}\text{C}$  inaktyvuoti fermentams. Baltymų virškinamumas (BV) *in vitro* įvertintas pagal hidrolizuotų baltymų kiekį [41]:

$$\text{BV} = 210,464 - 18,103 \times \text{pH}, (\%) \quad (2.6)$$

**Hidrolizės laipsnio (DH) nustatymas.** Zeino baltymų izoliatai buvo ruošti pagal aukščiau aprašytą metodiką (2.3.1 skyrius) [42]. Baltymų hidrolizei naudotas fermentas tripsinas (aktyvumas  $\geq 9,000$  BAEE vnt/mg baltymo, opt. pH 7,5-9; Sigma-Aldrich). Baltymų ir tripsino mišinys [santykiu 100:2 (v/m)] inkubuotas 60 min.  $37^{\circ}\text{C}$  temperatūroje, palaikant pH 8.5 su 1 M NaOH. Hidrolizės laipsnis yra santykis procentais tarp suskaldomų peptidų jungčių skaičiaus ir bendro jungčių skaičiaus prieinamo proteolitinei hidrolizei (htot). Šiame tyrime DH buvo išreikštas pagal pH-stat metodą pagal Adler-Nissenn (1986) [42]. DH laipsnis apskaičiuotas pagal formulę [43]:

$$\text{DH} = (\text{B} \times \text{N}_b / \alpha \times \text{M}_p \times \text{h}_{\text{tot}}) \times 100\%; \quad (2.7)$$

kur: B – NaOH kiekis sunaudotas reakcijos metu (mL);  $\alpha$  – apskaičiuojama iš formulės:  $\alpha = 10^{\text{pH}-\text{pK}} / 1 + 10^{\text{pH}-\text{pK}}$ ;  $\text{M}_p$  – zeino baltymų kiekis (g);  $\text{N}_b$  – NaOH koncentracija (1 M);  $\text{h}_{\text{tot}}$  – zeino baltymams  $\text{h}_{\text{tot}} = 9.2$

### 2.3.4. Kukurūzų žaliavos fermentacija

Analizuojant fermentacijos įtaką kukurūzų baltymų funkcinėms savybėms, taikyta kietafazė fermentacija (masės drėgnis  $< 50\%$ ) *Pediococcus* ir *Lactobacillus* pieno rūgšties bakterijomis. Analizei atrinkti didžiausią baltymų kiekį turintys kukurūzų mėginiai ( $10 \pm 0,01$  g) sumaišyti su dist. vandeniui santykiu 1:1 ir įpilta 5% (w/v) grynos *Pediococcus acidilactici* KTU05-7 ar *Lactobacillus sakei* KTU05-6 pieno rūgšties bakterijų suspensijos. Fermentacija vykdyta 48 val.

termostate  $35 \pm 1^\circ\text{C}$  temperatūroje. Mėginiai paimti po 24 ir 48 val. pH, rūgštingumo, baltymų kiekybinei ir kokybinei analizei.

### 2.3.5. Antioksidacinio ir antigrybinio aktyvumo tyrimo METODAI

**Antioksidacinio aktyvumo (DPPH) įvertinimas.** Antioksidacinis aktyvumas priklauso nuo funkcinių grupių išsidėstymo struktūroje ir nuo bendro fenolinių junginių kiekio. Tyrimas buvo atliktas, 1 ml mėginio sumaišant su 1 ml 0.1mM DPPH radikalo tirpalo 95% etanolyje. Mišinys purtytas vortex purtyklėje tamsoje 30 min kambario temperatūroje. Nustatomas bangos ilgis 517 nm spektrofotometre. Tuščiam mėginiui vietoj baltymų ekstrakto naudotas distiliuotas vanduo. DPPH radikalų aktyvumas apskaičiuotas pagal formulę [42]:

$$\text{DPPH (\%)} = [(\text{tuščio mėginio absorbcija} - \text{tiriamąjo mėginio absorbcija}) / \text{tuščio mėginio absorbcija}] \times 100 \quad (2.8)$$

**Bendro fenolinių junginių kiekio nustatymas.** Fenolinių junginių koncentracija augalų ekstratuose nustatyta spektrofotometriu metodu [44]. Reakcijos tirpalas ruoštas, 0.5 ml metanolinio ekstrakto tirpalo (1 mg/ml) ir 2.5 ml 10 % Folin-Ciocalteu's reagento ištirpinus dist. vandenyje ir pridėjus 2.5 ml 7.5 %  $\text{NaHCO}_3$ . Tuščias mėginys ruoštas iš 0.5 ml metanolio, 2.5 ml 10% Folin-Ciocalteu's reagento ištirpinus vandenyje ir pridėjus 2.5 ml 7.5 %  $\text{NaHCO}_3$ . Mėginiai inkubuoti termostate 45 min.  $45^\circ\text{C}$  temperatūroje. Gautų tirpalų absorbcija matuota spektrofotometru, esant 765 nm bangos ilgiui. Galo rūgšties tirpalai (0.01-1.0 mg/ml) naudota kalibracijos tiesei sudaryti. Fenolinių junginių kiekis ekstrakto išreiškštas galo rūgšties ekvivalentu (mg GR)/g ekstrakto.

**Antigrybinis aktyvumas.** Prolaminų frakcijos ir antigrybinis aktyvumas prieš *F. graminearum* ir *F. culmorum* pelėsius buvo vertintas mėginiuose išskirtuose iš nefermentuotos ir fermentuotos pieno rūgšties bakterijomis (LAB) kukurūzų žaliavos, naudojant šulinėlių difuzijos metodą agaro terpėje. Kieta terpė buvo atrinkta kiekvienam indikatoriniam mikroorganizmui. Grybai buvo auginami ant YEPD agaro  $25^\circ\text{C}$  temperatūroje 7 paras. Po augimo sporos buvo surinktos nuo lėkštelės paviršiaus ir paruošti  $\sim 10^5$  sporos/ląstelių  $\text{ml}^{-1}$  koncentracijos koncentratai. Kieta terpė buvo ruošta, pridėdant 1,5 % (w/v) agaro į sultinio terpę. Ant agaro terpės paviršiaus Petri lėkštelėse buvo paskleista 100  $\mu\text{l}$  indikatorinės grybo padermės suspensijos. Į suformuotus šulinėlius (6 mm skersmens) pilta kultūros supernatanto (80  $\mu\text{l}$ ) ir inkubuota 48 h  $30^\circ\text{C}$  temperatūroje. Antimikrobinė veikla prieš grybus buvo vertinta pagal skalę [45]:

- (-) neslopina grybų veiklos;
- (+) sporų formavimasis nežymus;
- (++) slopina sporų susidarymą, aplink šulinėlį formuojant nedidelę skaidrią vietą;
- (+++) labai gerai slopina grybienos augimo ir sporuliaciją, formuojant dideles skaidrias zonas aplink šulinėlius.

### 2.3.6. Fermentinės hidrolizės efektyvumo vertinimo metodai

Žaliavos fermentų aktyvumas ir pramoninių fermentinių preparatų hidrolitinis efektyvumas vertinti termiškai neapdorotoje (kontrolė), ekstruduotoje ir infraraudoną spinduliuote apdorotoje kukurūzų žaliavoje.

**Proteolitinių fermentų aktyvumo nustatymas.** Proteolitinis aktyvumas kukurūzų žaliavoje nustatytas pagal Sigma-Aldrich proteazės aktyvumo tyrimo metodiką [46], naudojant tiroziną (1,1 mM) kaip standartą. Kukurūzų žaliava sumalta laboratoriniu malūnu iki miltų (dalelių dydis ne mažesnis 212 μm). Mėginys (5±0,01 g) ir sumaišyta su 20 ml 10 mM natrio acetato trihidrato ir 5 mM kalcio acetato buferio (pH 7,5), mišinys homogenizuotas (11500 aps/min, 2 min.) ir centrifuguotas (10000 aps/min; 15 min, 8 °C). Gautas centrifugatas naudotas fermentiniams aktyvumams įvertinti. Vienas proteazės aktyvumo vienetas išreikštas hidrolizuoto kazeino kiekiu gauti 1.0 μmole (181 μg) tirozino ekvivalento per minutę 37 °C temperatūroje ir pH 7.5.

Fermentinio aktyvumo nustatymui sudaryta absorbcijos verčių priklausomybė nuo tirozino koncentracijos tirpale. Kalibracinės tiesės lygtis naudota tirozino kiekiui apskaičiuoti (2 priedas, 2.3 pav.). Proteolitinis aktyvumas apskaičiuotas pagal lygtį:

$$PA = \frac{(TE) \times PF}{1 \cdot 30 \cdot 2 \cdot m}, PU / g \quad (2.9)$$

čia: TE – tirozino ekvivalentas iš standartinės tiesės (μmol/ml); PF – praskiedimo faktorius; 1 – tiriamojo tirpalo tūris (ml); 30 – reakcijos trukmė (min); 2 – paimtas analizei filtrato kiekis (ml); m – medžiagos masė (g).

**Ksilanolitinio aktyvumo nustatymas.** Fermentų aktyvumui nustatyti taikytas kolorimetrinis metodas, naudojant 3,5-dinitrosalicilo rūgšties reagentą. Kukurūzų žaliavos mėginys po malimo (5±0,1 g) sumaišytas su 20 ml 0,1 M natrio acetato buferio (pH 4,7) ir homogenizuotas (11500 aps/min, 2 min), po to centrifuguotas (10000 aps/min; trukmė 15 min, 8 °C). Gautas centrifugatas naudotas fermentiniams aktyvumams įvertinti. Beržo ksilano (0,5±0,01 g) tirpalas 0,1 M natrio acetato buferyje (pH 4,7) naudotas kaip substratas.

**Fermentų aktyvumo nustatymas.** Reakcijos mišinys (0,5 ml) buvo sudarytas iš 200 μl kukurūzų albuminų ekstrakto, 50 μl substrato ir 250 μl acetatinio buferio (0,1 M; pH 4,7).



Kontroliniai mėginiai sudaryti iš 450 µl acetatinio buferio (0,1 M; pH 4,7) ir 50 µl substrato, ir iš 200 µl grūdų ekstrakto ir 800 µl acetatinio buferio. Paruošti mėginiai laikyti 60 min. 37°C temperatūroje, po reakcijos mišinyje nustatytas redukuojančių sacharidų kiekis, naudojant DNS reagentą. Atlikti kiekvieno mėginio du lygiagretūs matavimai. Fermento aktyvumo vienetas išreikštas fermento kiekiu, reikalingu išskirti 1 µmol ekvivalento gliukozės per 1 min reakcijos sąlygomis. Kukurūzų žaliavos ksilanazių aktyvumas ekstrakto (KV/ml) apskaičiuotas pagal lygtį:

$$K = \frac{a \cdot PF \cdot \Delta A \cdot V}{b \cdot s \cdot \Delta t \cdot m} \quad (2.10)$$

čia:  $a$  – reakcijos mišinio tūris (ml);  $b$  – kukurūzų ekstrakto kiekis reakcijos mišinyje (ml);  $s$  – gliukozės standartinės tiesės polinkis (ml/µmol);  $PF$  – praskiedimo faktorius;  $\Delta t$  – reakcijos trukmė (min);  $m$  – grūdų masė, naudota ekstraktui paruošti (g);  $V$  – kukurūzų ekstrakto tūris (ml);  $\Delta A$  – absorbcijos pokytis ( $\Delta A_{\text{mėginio}} - \Delta A_{\text{substr}} - \Delta A_{\text{ekstr}}$ ).

**Redukuojančių sacharidų kiekio nustatymas.** Redukuojantys sacharidai nustatyti spektrofotometriniu metodu, naudojant DNS reagentą. Tam mėginys (500 µl) sumaišytas su 500 µl DNS reagento ir 1 ml dist. vandens, gautas mišinys kaitinamas 5 min 100 °C temperatūros vandens vonioje, po to atvėsinaamas iki kambario temperatūros ir skiedžiamas distiliuotu vandeniu santykiu 1:10. Redukuojančių sacharidų kiekis (mg/100 g) apskaičiuotas iš gliukozės kalibracinės tiesės lygties pagal gautas tirpalų absorbcijos vertes, įvertinus praskiedimo faktorių, ir išreikštas mg/100 g žaliavos.

**Kalibracinės gliukozės tiesės sudarymas.** Redukuojančių sacharidų nustatymui sudaryta kalibracinė gliukozės standartinė tiesė (2 priedas, 2.4 pav.), naudojant darbinį gliukozės 2,5 mM tirpalą. Kalibracinės tiesės sudarymui ruošti nuo 0 iki 0,5 mg/ml koncentracijos gliukozės darbinio tirpalo mišiniai, kuriuose nustatytas redukuojančių sacharidų kiekis, naudojant DNS reagentą.

Kukurūzų žaliavos fermentinė hidrolizė. Eksperimentui atlikti paruošti Vilzim AMY ir Vilzim NSP fermentų preparatų darbiniai tirpalai, skystus fermentų preparatus (1 ml) praskiežiant dist. vandeniu santykiu 1:100. Kukurūzų žaliava (50±0,01 g) sumaišyta su 250 ml 0,1 M acetatinio buferinio tirpalo (pH 5,5). Pirmajame etape vykdyta krakmolo hidrolizė 120 min. 70 oC temperatūroje (pH 5,5), naudojant skirtingus amilazės kiekius (14; 28; 42; 56 ir 70 AV/100 g žaliavos). Antrajame etape vykdyta žaliavos nekrakmolo polisacharidų fermentinė hidrolizė, naudojant Vilzim NSP fermentus (170, 340, 680, 1020 ir 1360 KV/100 g), vykdyta 55 oC temperatūroje 2 val. Mėginiai (5±0,01 g) redukuojančių sacharidų analizei imti kas 30 min, sumaišyti su 10 ml dist. vandens, ir filtruoti per popierinį filtrą.

Antrajame etape, atrinkus optimalius fermentų kiekius, sudaryta kompozicija, kurioje amilazės ir celiulazės santykis 1:2. Fermentų kompozicija praskiesta santykiu 1:1000 ir skirtingi jos kiekiai (50, 100, 150, 200, 250 µl) naudoti kukurūzų žaliavos hidrolizei (60 min; 55oC; pH 5,5). Kompozicijos efektyvumas vertintas pagal reakcijos terpėje susidariusių redukuojančių sacharidų kiekį.

### 2.3.7. Kepinių kokybės ir juslinių savybių vertinimo METODAI

**Tešlos titruojamasis rūgštingumas** nustatytas prieš ir po rauginimo, titruojant mėginį 0,1 N NaOH, naudojant fenolftaleino indikatorius, pagal LST 1553:1998 [47].

**Tešlos tekstūros tyrimas.** Tešlos ir kepinų tekstūros savybės vertintos tekstūros analizatoriumi TA-XT. Matuota tešlos pasipriešinimo penetracijai jėga (N). Naudotas 20 mm skersmens cilindrinis plunžeris (spaudimo jėga 10 g, penetracijos gylis 8 mm, smigimo greitis 1 mm/s). Matuotos tešlos tekstūros savybės – kietumas, klampa ir konsistencija. Tyrimui pasverta po 20 g tešlos. Lygiagrečiai tirta po tris mėginius.

**Gatavų kepinų kokybės įvertinimas.** Kepinių kokybė vertinta 24 h po kepimo, nustatant kepinio masę, tūrį, minkštimo spalvą, rūgštingumą, kietumą, taip pat juslines savybes bei priimtinumą. Pagrindiniai kepinų kokybės rodiklių nustatymo instrumentiniai metodai pateikti 3.2 lentelėje.

**3.2 lentelė.** Gatavų kepinų kokybės rodiklių tyrimo metodai

Rodikliai	Metodo esmė	Literatūros šaltinis
Kepinio savitasis tūris	Kepinys pasveriamas elektroninėmis svarstyklėmis 0,1 g tikslumu. Savitasis tūris apskaičiuojamas pagal tūrio ir masės santykį (cm <sup>3</sup> /g).	ICC 131:1995 [48]
Minkštimo akytumas	Žuravlio prietaiso cilindru išpjaunami trys minkštimo mėginiai (27 cm <sup>3</sup> ), pasveriami ir apskaičiuojamas jų akytumas (%).	LST 1442:1996 [49]
Minkštimo titruojamasis rūgštingumas	Titruojama 0,1 N NaOH tirpalu, indikatorius fenolftaleinas.	LST 1553:1998 [47]

**Kepinių tekstūros tyrimas.** Kepinių tekstūra tirta iš kiekvieno kepinio išpjaunant tris mėginius (40 x 40 x 20 mm). Mėginiai buvo spaudžiami 5 g dydžio jėga. Matavimams naudotas 40 mm skersmens cilindrinis aliuminis plunžeris, penetracijos greitis 2 mm/s, penetracijos gylis 6 mm. Matuota kepinio minkštimo kietumas ir elastingumas. Lygiagrečiai tirta po tris mėginius.

***Kepinių juslinė analizė.*** Kepinių juslinė analizė atlikta praėjus 24 val. po kepimo. Kepinių kokybė vertinta pagal jų juslines savybes, kurios nustatytos aprašomosios kiekybinės analizės (profilio) metodu pagal LST ISO 11036:2003 [50] ir LST ISO 6564:2003 [51]. Tiriamieji kepiniai supjaustyti 1 cm storio riekėmis, nuo jų nupjauta pluta. Paruošti 2 × 2 cm dydžio mėginiai tekstūrai vertinti pirštais ir taip pat pateikti vertintojų grupei spalvai, kvapui, skoniui ir tekstūrai vertinti ragaujant. Juslinių savybių intensyvumui vertinti taikyta 7 balų skalė. Visas kepinio priimtinumas vertinamas 7 balų mėgstamumo skalėje (labai nepatinka → labai patinka).

### **2.3.8. DUOMENŲ MATEMATINĖ STATISTINĖ ANALIZĖ**

Tirtųjų rodiklių vidutinės vertės ir standartinio nuokrypio vertės apskaičiuotos, naudojant MS Excel programinį paketą. Ryšio tarp matuojamų rodiklių stiprumui nustatyti naudota dvinarė koreliacinė analizė ir grafinė duomenų išraiška, naudojant statistinės programos Analyse.it paketą. Matuojamų parametrų vidurkių tarp duomenų grupių įvertinimui taikyta vieno faktoriaus dispersinė analizė (ANOVA). Faktoriaus reikšmingumo lygmuo nustatytas pagal Fišerio (F) kriterijų, esant patikimumui 95 %.

## **3. REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS**

### **3.1. TERMINIO APDOROJIMO BŪDŲ ĮTAKA KUKURŪZŲ BALTVMŲ TECHNOLOGINĖMS IR FUNKCINĖMS SAVYBĖMS**

#### **3.1.1. Terminio apdorojimo įtaką baltymų frakcijų pokyčiams kukurūzų perdirbimo atliekose**

Skirtingų baltymų frakcijų kiekių tyrimo kukurūzų perdirbimo šalutiniuose produktuose rezultatai pateikti 3.1 lentelėje. Eksperimento metu nustatyta, kad tiek kukurūzų žaliavos frakcionavimas, tiek terminis apdorojimas turėjo reikšmingos įtakos ( $p < 0.05$ ) baltymų frakcijų kiekybiniam santykiui ir jų pasiskirstymui.

Neapdorotos žaliavos albuminų didžiausi kiekiai (1,90-2,51 g/100 g) nustatyti stambesnių dalelių frakcijose K1-K3, o K4-K6 frakcijose šių baltymų kiekiai nustatyti 18,9-28,6 % mažesni. Globulinų kiekis po separavimo kukurūzų žaliavos frakcijose svyravo nuo 0,46 g/100 g (K1) iki 0,6 g/100 g (K6), tuo tarpu prolaminų kiekiai smulkiausiose (K4-K6) frakcijose nustatyti didesni vidutiniškai 23 % nei jų kiekis frakcijose K1-K3 (34,80-35,82 g/100 g) (3.1 lentelė). Gauti

rezultatai atitinka literatūroje pateiktus duomenimis, kad endospermo sluoksnyje albuminai sudaro nuo 4,7 iki 12,4%, globulinai 2,3 iki 3,5%, zeinas nuo 33,9 iki 50 % [7, 14].

Tyrimai parodė, kad po apdorojimo infraraudonąja spinduliuote (IR) albuminų, globulinų ir prolaminų kiekis kukurūzų žaliavos frakcijose 1-6 sumažėjo vidutiniškai, atitinkamai 7,6, 12,2 ir 6,1 %, o kukurūzų žaliavos apdorojimas ekstruzija (EKS) sumažino šių baltymų kiekius, atitinkamai 49,9, 12,8 ir 5,8 %, lyginant su atitinkamomis termiškai neapdorotos žaliavos frakcijomis (3.1 lentelė).

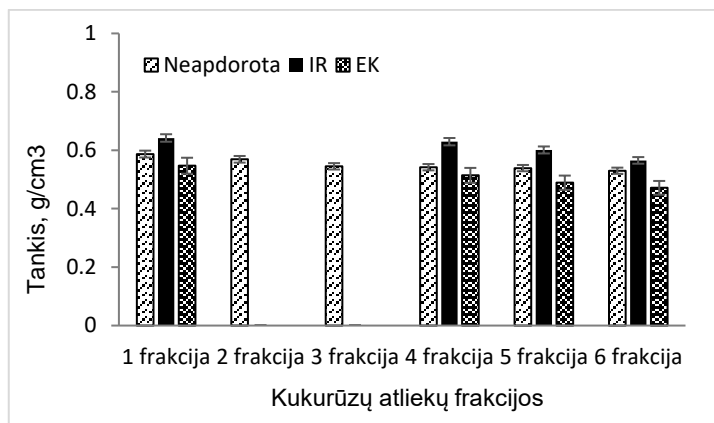
Statistinė analizė parodė, kad žaliavos apdorojimas termomechaniniu būdu (EKS) turėjo reikšmingos įtakos ( $F = 2.306$ ,  $P < 0.0001$ ) albuminų kiekio išeigos sumažėjimui (2 priedas).

**3.1 lentelė.** Kukurūzų žaliavos frakcijų baltymų kokybinė ir kiekybinė sudėtis

Žaliava	Frakcijos	Drėgmė, g/100 g	Albuminai*, g/100 g	Globulinai**, g/100 g	Prolaminai***, g/100 g	Baltymai iš viso, g/100 g
Kontrolė	K1	11,43	2,10±0,02	0,56±0,04	29,29±0,03	31,95
	K2	12,18	2,51±0,04	0,58±0,05	25,96±0,05	29,05
	K3	12,46	1,90±0,03	0,58±0,03	27,14±0,04	29,62
	K4	12,11	1,64±0,03	0,60±0,04	35,15±0,03	37,16
	K5	11,78	1,76±0,04	0,59±0,03	34,80±0,02	37,08
	K6	11,27	1,79±0,02	0,60±0,06	35,82±0,04	38,21
Ekstruduota	E1	10,38	0,86±0,02	0,45±0,02	29,1±0,02	30,41
	E4	9,75	0,97±0,05	0,50±0,03	30,27±0,02	31,81
	E5	9,73	1,01±0,03	0,57±0,03	33,71±0,03	35,39
	E6	9,17	1,13±0,04	0,53±0,04	33,75±0,05	35,41
Apdorota IR	IR1	7,56	1,27±0,05	0,54±0,05	29,24±0,03	31,05
	IR4	7,45	1,62±0,03	0,45±0,03	34,16±0,02	36,23
	IR5	7,53	1,59±0,02	0,51±0,02	31,14±0,04	33,24
	IR6	7,38	1,61±0,02	0,56±0,04	31,91±0,03	34,08
IR – infraraudonoji spinduliuotė *Baltymai tirpūs vandenyje **Baltymai tirpūs 0,5N NaCl ***Baltymai tirpūs 70% izopropilo alkoholyje						

Bendras baltymų kiekis frakcijose galėjo didėti, priklausomai nuo jose esančių grūdo dalelių specifinio svorio – mažėjant frakcijos masės tankiui, bendras baltymų kiekis didėjo ( $R^2 = 0,6893$ ;  $R^2 = 0,8682$  ir  $R^2 = 0,8621$ ), atitinkamai neapdorotai, ekstruduotai bei IR apdorotai žaliavai) (3.1 pav.). Rūšiuojant grūdus ar jų dalis oro sraute, svarbiausios ypatybės lemiančios rūšiavimo kokybę yra ne tik dalelių specifinis svoris, bet ir jų aerodinaminės savybės, t.y.

skirtingų savybių dalelės oro sraute juda skirtingais greičiais. Tokiu būdu, lengvesnės ir smulkesnės dalelės, kurias sudaro daugiausia pamiltės, numetamos didesnį atstumą, o sunkesnės (grūdo ir endospermo dalelės) – mažesnę atstumą, taip patekdamos, atitinkamai į tolimesnes ar artimesnes frakcijas.



**3.1 pav.** Kukurūzų masės tankis skirtingose neapdorotų ir termiškai apdorotų kukurūzų žaliavos frakcijose. IR – infraraudąja spinduliuote apdorota žaliava, EKS – ekstruduota žaliava.

Remiantis gautais rezultatais, galima teigti, kad terminis apdorojimas padidino grūdinės žaliavos komponentų denatūracijos procesus, tuo pačiu padidindamas tirpių baltymų (albuminų ir globulinų) kiekį žaliavos frakcijose, priklausomai nuo dalelių pasiskirstymo. Literatūroje pagal Malumba ir kiti [52] pabrėžiami kai kurie terminio apdorojimo trūkumai t.y taikant aukštą temperatūrą bei ilgą džiovinimą yra denatūruojami kukurūzų baltymai. Po terminio apdorojimo atsirandantys pasikeitimai kukurūzų baltymuose, įtakoja funkcinių savybių pasikeitimus, todėl labai svarbu parinkti tinkamas terminio apdorojimo sąlygas.

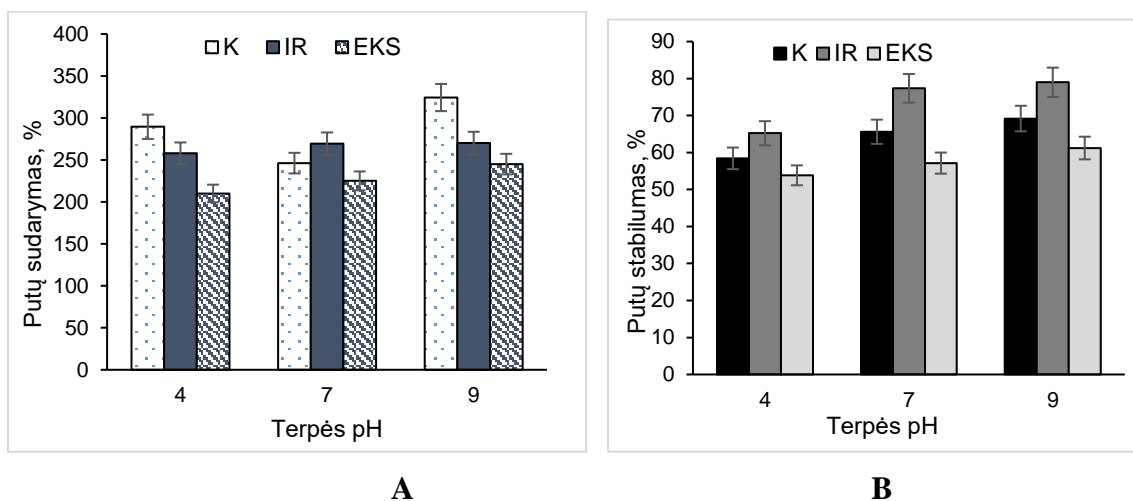
### 3.1.2. Terminio apdorojimo įtaka kukurūzų baltymų funkcinėms savybėms

Šiame etape vertintos terminio apdorojimo įtaka albuminų ir globulinų funkcinėms savybėms – putų sudarymo pajėgumui ir stabilumui, taip pat riebalų emulsijų sudarymo aktyvumui ir stabilumui bei vandens įgėrimas, esant skirtingoms terpės pH vertėms (pH 4-9).

*Putų sudarymo pajėgumas ir stabilumas.* Albuminų ir globulinų frakcijų putų susidarymo pajėgumui ir stabilumui reikšmingos įtakos ( $p < 0.05$ ) turėjo terpės pH ir žaliavos terminio apdorojimo būdas.

Termiškai neapdorotos, IR apdorotos ir ekstruduotos žaliavos albuminai mažesniu putų sudarymo pajėgumu pasižymėjo, esant rūgštinei ir neutraliai terpei (pH 4 ir 7). Prie pH 4 atitinkamai 289, 257, 210 %, o esant pH 7, atitinkamai 246, 269, 225 %. Šarminėje terpėje (pH

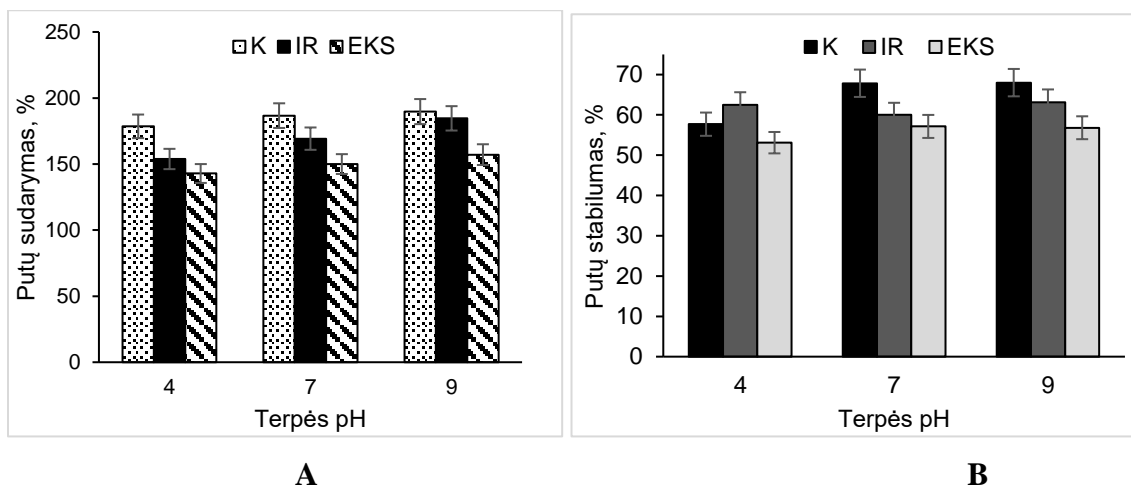
9) neapdorotų kukurūzų albuminų putų sudarymo pajėgumas nustatytas didesnis 12,02 %, IR apdorotų – 4,7 %, o EKS apdorotų – 16,6 % (3.2 pav. A). Termiškai neapdorotos, ekstruduotos ir IR apdorotos žaliavos albuminų mažiausias putų stabilumas stebimas prie pH 4 reikšmės ekstruduotoje žaliavoje (53,8 %). Didinant tirpalo pH iki 9, neapdorotų kukurūzų albuminų putų stabilumas padidėjo 18,4 %, IR apdorotos žaliavos – 21,1 %, o ekstruduotos – 13,7 % (3.2 pav. B).



**3.2 pav.** Skirtingai apdorotų kukurūzų atliekų albuminų putų sudarymo pajėgumas (A) ir stabilumas (B) po 30 min išlaikymo. K – neapdorota žaliava, IR – infraraudonąją spinduliuote apdorota žaliava, EKS – ekstruduota žaliava.

Analogiškos putų sudarymo ir stabilumo tendencijos nustatytos ir globulinų frakcijoje. Termiškai neapdorotos, ekstruduotos ir IR apdorotos žaliavos globulinų mažiausias putų sudarymo pajėgumas nustatytas, atitinkamai 178,5; 142,8 ir 153,8 %, esant tirpalo pH 4. Didinant tirpalo pH iki 9, neapdorotų kukurūzų globulinų putų sudarymo pajėgumas padidėjo 6,2 %, IR apdorotos žaliavos – 20,0 %, o EKS žaliavos – 10,0 % (3.3 pav. A)

Termiškai neapdorotos, ekstruduotos ir IR apdorotos žaliavos globulinų mažiausias putų stabilumas stebimas taip pat esant rūgštinei aplinkai (pH 4), atitinkamai 57,7; 53,1 ir 62,5 %. Esant šarminiai terpei (pH 9), neapdorotų kukurūzų globulinų putų stabilumas padidėjo 17,9 %, IR apdorotos žaliavos – 9,0 %, o ekstruduotos – 7,0 % (3.3 pav. B).



**3.3 pav.** Skirtingai apdorotų kukurūzų atliekų globulinų putų sudarymo pajėgumas (A) ir stabilumas (B) po 30 min išlaikymo. K – neapdorota žaliava, IR – infraraudonąją spinduliuote apdorota žaliava, EKS – ekstruduota žaliava.

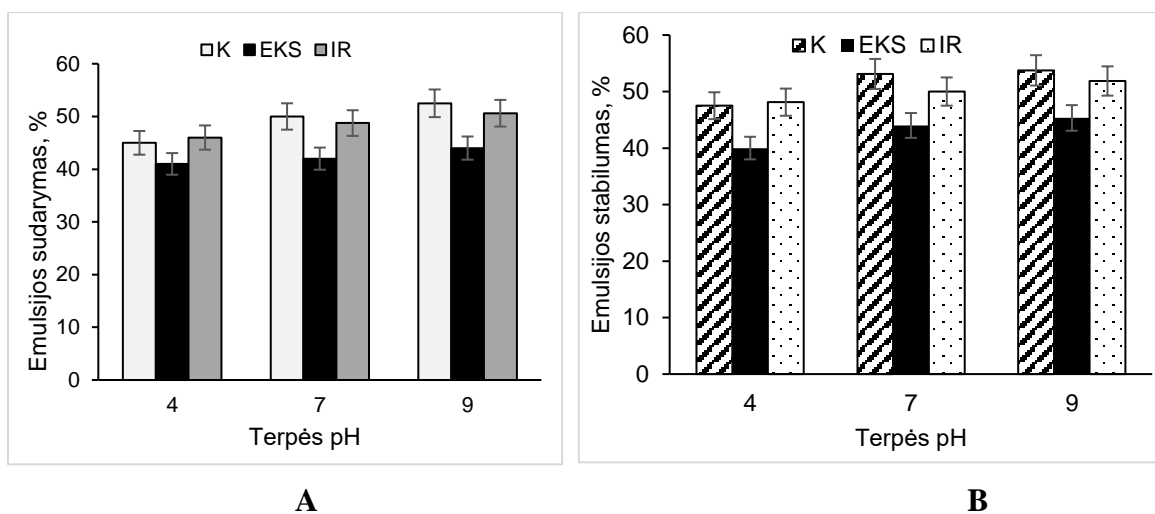
Statistinė analizė parodė, kad albuminų putų susidarymo pajėgumui ir putų stabilumui reikšmingos įtakos turėjo terpės pH bei žaliavos apdorojimas ekstruzija (atitinkamai  $F = 50.263$ ,  $P < 0.0001$  ir  $F = 3.254$ ,  $P = 0.025$ ). Apdorojimo IR spinduliais albuminų putų susidarymo pajėgumui ir stabilumui reikšminga įtaka nenustatyta ( $p \geq 0,05$ ). Globulinų putų susidarymo pajėgumui reikšmingos įtakos turėjo terpės pH ir žaliavos terminis apdorojimas ekstruzija ( $F = 10.112$ ,  $P < 0.0001$ ) ir IR spinduliais ( $F = 2.571$ ,  $P = 0.010$ ), o putų stabilumui reikšmingos įtakos turėjo apdorojimas ekstruzija ( $F = 6.446$ ,  $P = 0.017$ ), (2 priedas).

Putų sudarymo pajėgumui įtakos turi baltymų tirpumas bei baltymo struktūros pokyčiai. Pagal Wierenga ir Gruppen (2011) [53], didinant sojų baltymų pH vertes, didėja baltymų krūviai, kas susilpnina hidrofobines sąveikas, bet padidina baltymo lankstumą. Tai leidžia baltymams greičiau difunduoti į oro-vandens fazės paviršių, įkapsuliuojant oro daleles ir tokiu būdu padidinti putų susidarymą [53]. Baltymų izoelektriniame taške, esant rūgštiniam pH, keičiasi elektrostatinės jėgos, baltymai yra mažai tirpūs, padidėja paviršiaus įtempimas, ir baltymai silpnai absorbuojasi putų burbuliukų paviršiuje, kas sąlygoja mažesnę putų susidarymą. Šarminant reakcijos terpę, paviršiaus įtempimas mažėja ir didėja putų susidarymas. Rezultatai rodo, kad prastesnis putų susidarymas stebimas ekstruduotoje bei IR spinduliuote apdorotoje žaliavoje, nes veikiant karščiui bei mechanine jėga, baltymo struktūra keičiasi, suprastėja t.y. vyksta baltymų denatūracija dėl ko jie praranda gebėjimą sudaryti putas [54]. Maruatona ir kt. [55] atlikti tyrimai parodė, kad po apdorojimo karščiui - džiovavimo ( $150\text{ }^{\circ}\text{C}/20\text{ min}$ ) sojų miltų putų susidarymo pajėgumas (pH 7) sumažėjo nuo 54,9 % iki 9,5 %, o pupų miltų – nuo 31,1 % iki 30,7 %. Pedroche ir kt. [56] atlikti tyrimai patvirtino, kad funkcinės savybės labai priklauso

nuo pH reikšmių. Išskirtuose augalinių baltymų izoliatuose putų susidarymo pajėgumas esant pH10 siekė 280 %, o putų stabilumas augalinių baltymų izoliatuose po 20 min. buvo 87 %. Pagal Mila ir kiti (2011) duomenis išdžiovintų kukurūzų gemalų albuminų ir globulinų frakcijų putų sudarymo pajėgumas ir stabilumas prie pH 7 ir pH 10 nustatytas, atitinkamai 124% ir 130% bei 84 % ir 92% [54].

*Emulsijos susidarymo aktyvumas ir stabilumas.* Termiškai neapdorotos, EKS ir IR apdorotos žaliavos albuminų mažiausias emulsijos sudarymo aktyvumas nustatytas, atitinkamai 45,0; 41,0 ir 46,0 %, esant tirpalo pH 4. Padidinus terpės pH iki 9, albuminų emulsijos sudarymo aktyvumas neapdorotų kukurūzų frakcijoje padidėjo 16,66 %, IR apdorotos žaliavos – 10,04 %, o ekstruduotoje 7,31 % (3.4 pav. A).

Termiškai neapdorotos, EKS ir IR apdorotos žaliavos albuminų mažiausias emulsijos stabilumas stebimas taip pat esant rūgštinei terpei (pH 4), atitinkamai 47,5; 40,0 ir 48,1 %. Esant šarminei aplinkai (pH 9), neapdorotų kukurūzų albuminų emulsijos stabilumas padidėjo 13,1 %, IR apdorotos žaliavos – 7,8 %, o ekstruduotos – 13,3 % (3.4 pav. B).

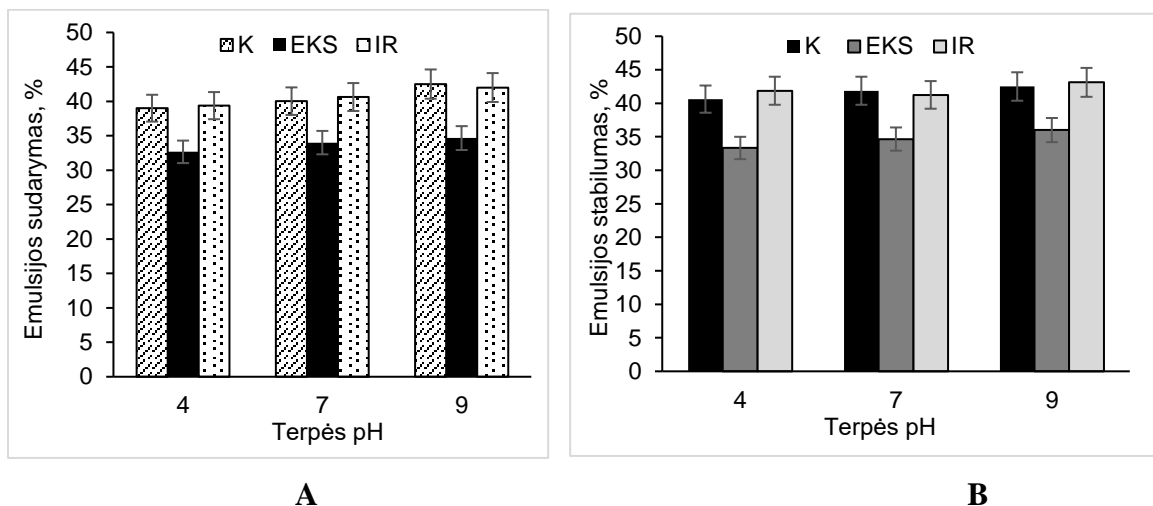


**3.4 pav.** Skirtingai apdorotų kukurūzų šalutinių produktų albuminų emulsijos sudarymo aktyvumas (A) ir stabilumas (B). K – neapdorota žaliava, IR – infraraudonąją spinduliuote apdorota žaliava, EKS – ekstruduota žaliava.

Globulinų emulsijos sudarymo aktyvumas ir stabilumas taip pat buvo įtakotas terpės pH. Neapdorotos, EKS ir IR apdorotos žaliavos globulinų mažiausias emulsijos sudarymo aktyvumas nustatytas, atitinkamai 39,0; 32,6 ir 39,4 %, esant tirpalo pH 4. Didinant pH iki 9, globulinų emulsijos sudarymo aktyvumas neapdorotų kukurūzų frakcijoje padidėjo 9,0 %, IR apdorotų – 6,7 %, ir ekstruduotų – 6,1 % (3.5 pav. A).



Termiškai neapdorotos, EKS ir IR apdorotos žaliavos globulinų mažiausias emulsijos stabilumas stebimas taip pat esant rūgštinei terpei (pH 4), atitinkamai 40,6; 33,3 ir 41,9 %. Esant šarminiai terpei (pH 9), neapdorotų kukurūzų globulinų emulsijos stabilumas padidėjo 4,6 %, IR apdorotos žaliavos – 3,0 %, o ekstruduotos – 8,0 % (3.5 pav. **B**).



**3.5 pav.** Skirtingai apdorotų kukurūzų šalutinių produktų globulinų emulsijos sudarymo aktyvumas (A) ir stabilumas (B). K – neapdorota žaliava, IR – infraraudonąją spinduliuote apdorota žaliava, EKS – ekstruduota žaliava.

Statistinė analizė parodė, kad albuminų ir globulinų emulsijos susidarymo aktyvumui reikšmingos įtakos turėjo žaliavos apdorojimas ekstruzija (atitinkamai  $F = 2.345$ ,  $P = 0.001$ ) ir  $F = 1.074$ ,  $P < 0.0001$ ), (2 priedas). Apdorojimo IR spinduliais albuminų ir globulinų emulsijos susidarymo aktyvumui ir stabilumui reikšminga įtaka nenustatyta ( $p \geq 0,05$ ).

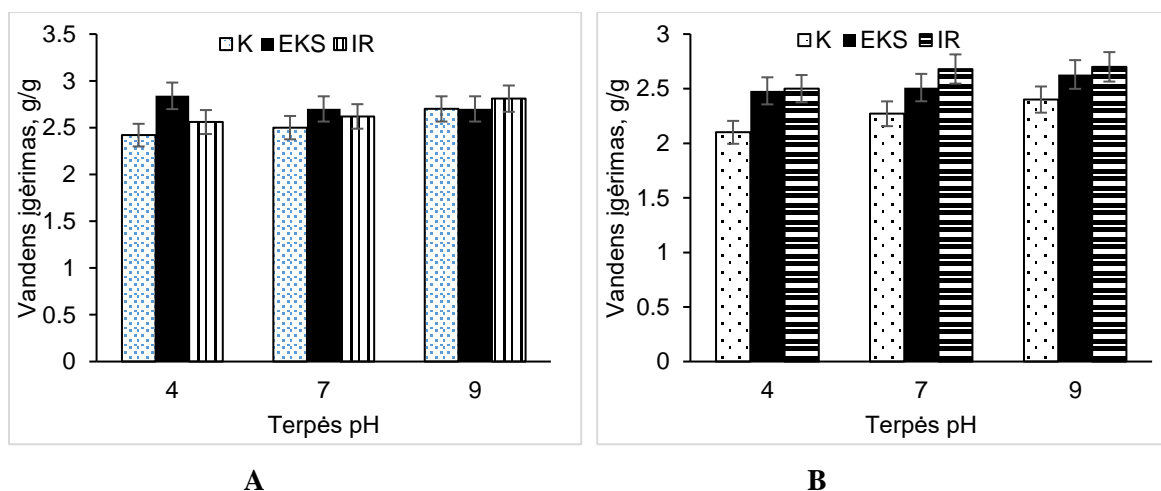
Lyginant albuminų ir globulinų emulsijos susidarymo aktyvumą ir stabilumą, pastebėta, kad didesnėmis šių rodiklių vertėmis pasižymi nefermentuotų ir IR apdorotų kukurūzų albuminų frakcija. Pagal literatūros duomenis, kuo didesnis terpės pH, tuo geriau susidaro emulsijos. Emulsijos susidarymo pajėgumas ir stabilumas taip pat priklauso nuo stabilizatoriaus savybių, baltymų tipo, jų koncentracijos, joninės jėgos ir klampumo. Pagal Singh ir kiti (2007) liofilizuotų kukurūzų glitimo miltų emulsijų sudarymo pajėgumas, esant pH 7, nustatytas 44,6-47,50 %, o stabilumas svyravo nuo 62,4 iki 66,5 %; albuminų emulsijų sudarymo pajėgumas ir stabilumas svyravo nuo 42 iki 50 % ir nuo 44 iki 53 %, o globulinų – nuo 34 iki 40 % ir nuo 34 iki 41 %. [57]. Pagal Jayasena ir kt. (2010), didinant lubinų baltymų ekstraktų pH vertes nuo 4 iki 8, emulsijos sudarymo pajėgumas padidėjo nuo 51 % iki 53,4 % [58].

Ilgalaikis emulsijos stabilumas dažniausiai priklauso nuo adsorbuotų baltymų plėvelės storio ir stiprumo aliejaus-vandens fazėje. Tai yra, kai reikiami kiekiai tirpių baltymų pajėgia

adsorbuoti aliejaus-vandens fazėje ir gali suformuoti stiprias membranas, kuriuos trukdo aliejaus lašelių koalescencijai [54]. Obatolu ir kiti (2000) tyrimų duomenimis, emulsijų susidarymą labai blogina termomechaninis apdorojimas (ekstruzija) [59].

*Baltymų vandens įgėrimas.* Baltymų vandens įgėrimui įtakos turėjo terpės pH bei terminio kukurūzų apdorojimo būdas. Neapdorotos, EKS ir IR žaliavos albuminų frakcijos (3.6 pav. A) vandens įgėrimas, atitinkamai 2,4; 2,8 ir 2,5 g/g, stebimas esant pH 4, o didinant terpės pH vertes iki 9 albuminų vandens įgėrimas padidėjo, atitinkamai 2,7; 2,7 ir 2,8 %.

Atitinkami rezultatai stebimi ir globulinų frakcijoje. Neapdorotos, EK ir IR žaliavos globulinų frakcijos (3.6 pav.B) vandens įgėrimas, atitinkamai 2,1; 2,4 ir 2,5 g/g, stebimas esant pH 4, o didinant terpės pH vertes iki 9 globulinų vandens įgėrimas padidėjo, atitinkamai 2,4; 2,6 ir 2,7 %.



**3.6 pav.** Skirtingai apdorotų kukurūzų atliekų albuminų (A) ir globulinų (B) vandens įgėrimas. K – neapdorota žaliava, IR – infraraudonąją spinduliuote apdorota žaliava, EKS – ekstruduota žaliava.

Rezultatus įvertinus statistiškai, nustatyta, kad žaliavos apdorojimas ekstruzija turėjo reikšmingos įtakos ( $F = 2.262$ ,  $P < 0.0001$ ) globulinų ir albuminų ( $F = 2.262$ ,  $P < 0.0001$ ) vandens įgėrimui, (2 priedas).

Pagal Pedroche ir kt. [41] atliktus tyrimus, augalinės kilmės baltymų izoliatų vandens įgėrimas prie pH 10 siekė 102,7 g/100 g. Autoriai teigia, kad baltymų vandens įgėrimui gali turėti reikšmės fito rūgšties formavimasis nuo pH 3 iki 7, kas sąlygoja globulinų frakcijos sumažėjimą. Funkcinės savybės labai priklauso nuo pačių baltymų sudėties, baltymų izoliatuose. Vandens įgėrimui teigiamą reikšmę turėjo ir baltymų tirpalo šarminimas. Kuo didesnis pH tuo vandens įgėrimas buvo didesnis [56]. Mokslinikų Singh ir kt. (2005) tyrimų duomenimis

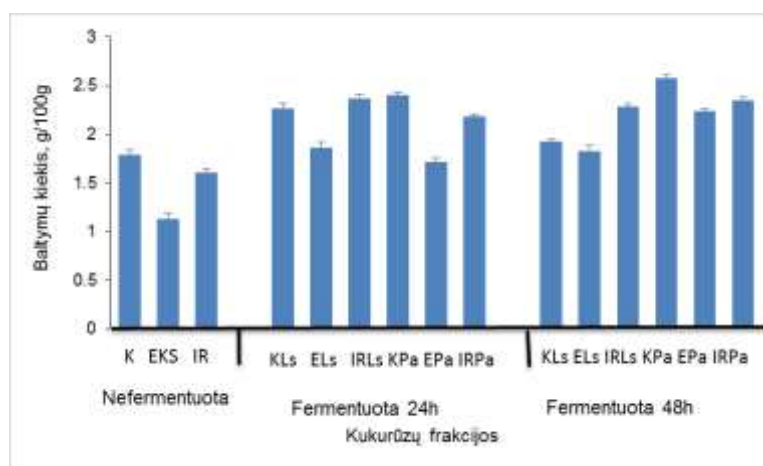
liofilizuotų kukurūzų baltymų vandens įgėrimas prie pH 6,5 svyravo nuo 2,8 iki 3,13 g/g, o krosnyje džiovintų kukurūzų miltų nuo 2.37 iki 2.38 g/g [57]

## 3.2. FERMENTACIJOS PRB ĮTAKA KUKURŪZŲ BALTYMŲ FUNKCINĖMS SAVYBĖMS

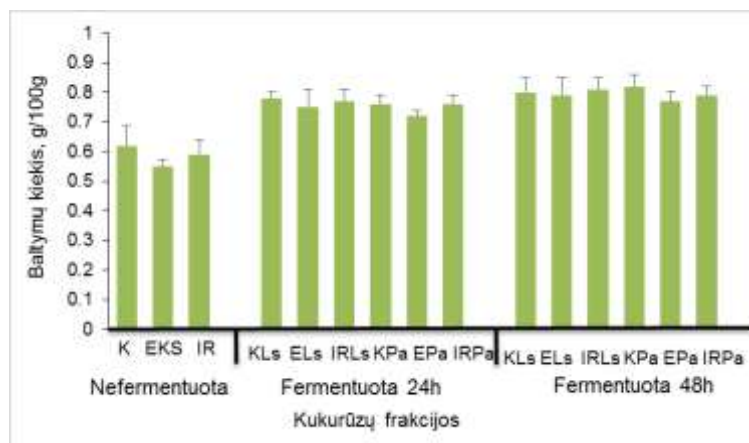
### 3.2.1. Fermentacijos įtaka kukurūzų baltymų išėigai

Tyrimui atlikti šiame etape pasirinktos daugiausia baltymų turinčios neapdorotų (K6), ekstruduotų (EKS6) ir IR apdorotų (IR6) kukurūzų žaliavos frakcijos ir antimicrobinėmis savybėmis pasižyminčios PRB – *P. acidilactici* ir *L. sakei* [60]. Tyrimų rezultatai pateikti 3.7 – 3.9 paveiksluose.

Albuminų ekstrakcijos efektyvumas priklausė nuo žaliavos, naudotų PRB ir fermentacijos trukmės (3.7 pav.). Po 24 h fermentacijos *L. sakei* (Ls) albuminų kiekis iš neapdorotos, ekstruduotos ir IR apdorotos ir žaliavos padidėjo, atitinkamai 26,8%, 64,6 %, ir 40,2%, tuo tarpu fermentacija *P. acidilactici* (Pa) albuminų išėigą padidino, atitinkamai 34,1 %, 52,2 %, ir 6,8 % (3.7 pav.), lyginant su kiekiais nefermentuotoje žaliavoje (atitinkamai 1,8; 1,1 ir 1,6 g/100 g). Ilgesnė fermentacija (48 h) albuminų išėigą įtakojo nevienareikšmiškai: fermentavimas Pa turėjo didesnę įtaką albuminų išėigos padidėjimui (vidutiniškai K – 44,1; IR 45,9 ir EKS – 98,0 %), lyginant su fermentacija naudojant Ls (vidutiniškai K – 7,8; IR 41,6 ir EKS – 64,6 %), (3.7 pav.)



3.7 pav. Kukurūzų albuminų kiekio pokyčiai po 24 ir 48 val. fermentacijos *P. acidilactici* (Pa) ir *L. sakei* (Ls) bakterijomis. K – neapdorota žaliava, IR – infraraudonąją spinduliuote apdorota žaliava, EKS – ekstruduota žaliava.

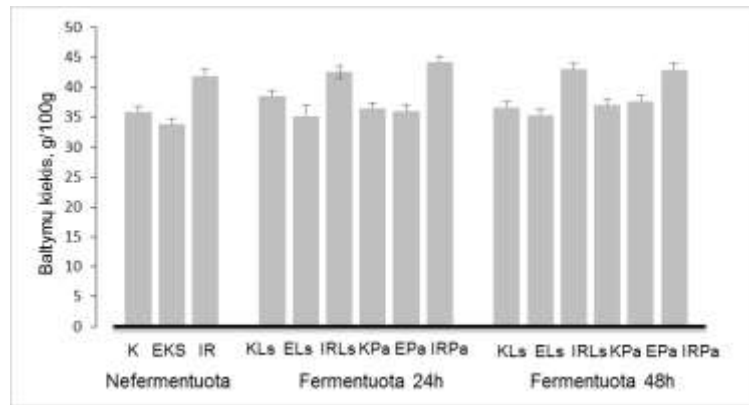


**3.8 pav.** Kukurūzų globulinų kiekio pokyčiai po 24 ir 48 val. fermentacijos *P. acidilactici* (Pa) ir *L. sakei* (Ls) bakterijomis. K – neapdorota žaliava, IR – infraraudonąją spinduliuote apdorota žaliava, EKS – ekstruduota žaliava.

Globulinų kiekis kito priklausomai nuo naudotos žaliavos, ir naudotos PRB ir fermentacijos trukmės. Po 24 h fermentacijos Pa ir Ls bakterijomis globulinų kiekis kukurūzų žaliavoje padidėjo vidutiniškai 24,2 % (K), 33,8 % (EKS), ir 29,6 % (IR), lyginant su kiekiais nefermentuotoje žaliavoje (atitinkamai, 0,6; 0,5 ir 0,6 g/100 g). Po 48 h fermentacijos Ls stebimas nežymus globulinų kiekio padidėjimas: 33,3 % (K), 35,0 % (IR) ir 43,6 % (EKS), o fermentuojant Pa bakterijomis, globulinų kiekis padidėjo mažiau – 32,2 % (K), 33,9 % (IR), 40,0 % (EKS), lyginant su mėginiais po 24 h fermentacijos (3.8 pav.).

Rezultatus įvertinus statistine analize nustatyta, kad globulinų kiekio pokyčiams reikšmingos įtakos turėjo tiek PRB padermė ( $F = 3.182$ ,  $P < 0.0001$ ), tiek PRB ir terminio apdoravimo sąveika ( $F = 2.447$ ,  $P < 0.0001$ ), (2 priedas).

Analizuojant prolaminų pokyčius reikšminga fermentacijos įtaka nenustatyta (3.9 pav.). Prolaminų kiekis, priklausomai nuo fermentuojamos žaliavos, po 24 h fermentacijos Pa ir Ls bakterijomis neapdorotoje, EKS ir IR mėginiuose nustatytas didesnis vidutiniškai, atitinkamai 7,2 %; 4,8 %, ir 1,6 %, lyginant su nefermentuota žaliava (3.9 pav.). Ilgesnė fermentacija (48 h) reikšmingos įtakos prolaminų kiekio padidėjimui neturėjo, šių baltymų kiekis nustatytas 2,17-4,32 % didesnis, lyginant su nefermentuotais mėginiais (3.9 pav.).



**3.9 pav.** Kukurūzų žaliavos prolaminų kiekio pokyčiai po 24 ir 48 val. fermentacijos *P. acidilactici* (Pa) ir *L. sakei* (Ls) bakterijomis. K – neapdorota žaliava, IR – infraraudonąją spinduliuote apdorota žaliava, EKS – ekstruduota žaliava.

Rezultatai parodė, kad kukurūzų žaliavos kietafazė fermentacija PRB padidino baltymų frakcijų išekstrahavimo efektyvumą. Mažiausias išėigos padidėjimas po fermentacijos stebimas prolaminų frakcijoje (4 %), o didžiausias – albuminų frakcijoje (41,5 %). Vertinant terminio apdorojimo įtaką, mažiausia įtaka nustatyta baltymų išėigai iš neapdorotos žaliavos (26,0 %), o didžiausia – iš IR apdorotos (35,0 %). Didesnės baltymų frakcijų išėigos gautos, kukurūzų žaliavos fermentacijai naudojant Pa bakterijas.

Pagal Nabila ir kt. (2000) tyrimų duomenis, kukurūzų fermentacijos metu albuminų ir globulinų kiekis reikšmingai padidėja po 16 h fermentacijos, ilgiau fermentuojant, šių baltymų kiekis mažėja ir vėl išauga po 36 h fermentacijos. Priešingai, zeino kiekis fermentacijos pradžioje mažėja ir nuo 16 h iki 36 h fermentacijos didėja [61]. Autoriai tai aiškina fermentacijos pradžioje vykstančia zeino proteolitinė hidrolize, o vėliau hidrolizuojami mažesnės molekulinės masės baltymai. Kitų autorių duomenimis [62], atlikus fermentaciją *L. plantarum* ir *P. acidilactici* bakterijų padermėmis, po 24 h fermentacijos stebimi didžiausi teigiami baltymų pokyčiai, priklausomai nuo naudojamų mikroorganizmų. Tokiu būdu, fermentacija PRB pagerina kukurūzų baltymų kokybę, padidėja tokių svarbių amino rūgščių, kaip lizino ir triptofano, daugiausia esančio albuminų frakcijoje, kiekiai [62]. Taikant kietafazę fermentaciją (KF), galima ne tik padidinti baltymų frakcijų išėigą, bet ir pagerinti jų funkcines savybes [61].

### 3.2.2. Fermentacijos įtaka kukurūzų baltymų funkcinėms savybėms

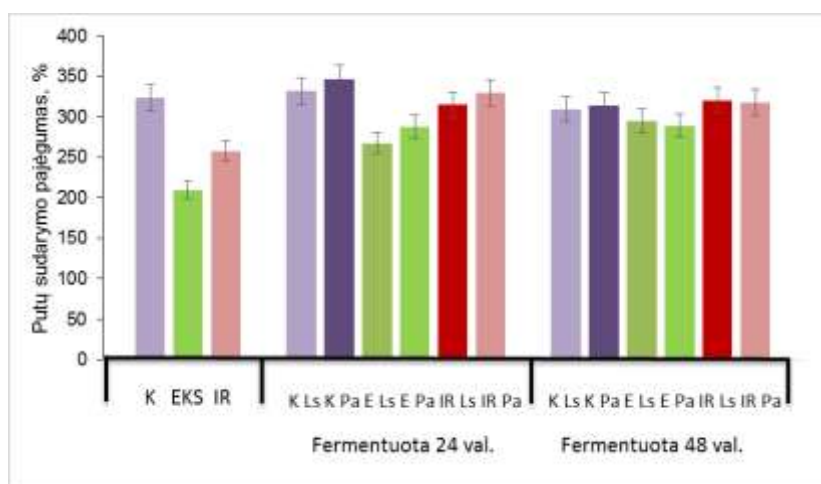
Šiame etape analizuota kietafazės fermentacijos įtaka išskirtų iš kukurūzų perdirbimo atliekų baltyminių medžiagų putų sudarymo pajėgumui ir putų stabilumui bei riebalų emulgavimo aktyvumui. Tiriant funkcines savybes buvo pastebėtas didžiausias pokytis esant pH 9 reikšmei,

todė ir tolesni tyrimai su fermentuota žaliavo buvo tiriami po 30 min išlaikymo prie pH 9 reikšmės.

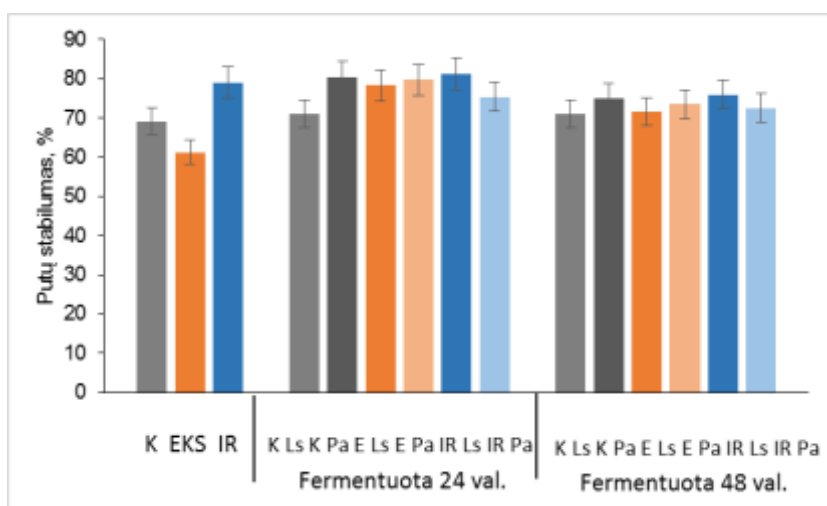
*Putų sudarymo pajėgumas ir putų stabilumas.* Albuminų ir globulinų frakcijų putų susidarymo pajėgumas ir stabilumas priklausė nuo terpės pH ir žaliavos terminio apdorojimo būdo.

Analizuojant albuminų putų sudarymo ir stabilumo pokyčius fermentacijos metu, reikšminga įtaka nenustatyta (3.10 pav. A). Albuminų putų sudarymo pajėgumas priklausomai nuo fermentuojamos žaliavos, po 24 h fermentacijos Pa ir Ls bakterijomis neapdorotoje, EKS ir IR mėginiuose nustatytas didesnis vidutiniškai, atitinkamai 7,0 %; 17,5 % ir 11,0 % lyginant su nefermentuota žaliava (atitinkamai, 347,0 %; 288,0 % ir 299,6 %). Po 48h fermentacijos stebimas nežymus padidėjimas su Ls 10,4 % (K), 22,0 % (IR) ir 23,0 % (EKS), o fermentuojant Pa bakterijomis, albuminų kiekis padidėjo mažiau – 5,4 % (K), 16,6 % (IR), 13,8 % (EKS), lyginant su mėginiais po 24 h fermentacijos (3.10 pav.).

Terminiškai neapdorotos, ekstruduotos ir IR apdorotos žaliavos po 24 h fermentacijos Pa ir Ls stebimas didesnis albuminų putų stabilumas esant (pH 9), neapdorotoje, EKS ir IR mėginiuose, pasižymėjo Pa padermės atitinkamai 16,1, 30,1 ir 4,6 %. lyginant su nefermentuota žaliava (atitinkamai, 69,1 %; 61,2 % ir 79,0 %). (3.10 pav. B). Po 48h fermentacijos stebimas nežymus padidėjimas su Pa neapdorotoje ir ekstruduotoje frakcijoje, o IR spinduliais apdorotoje frakcijoje putų stabilumas padidėja nežymiai su Ls PRB, atitinkamai 8,4; 20,0 ir 3,8 % (3.10 pav.).



A

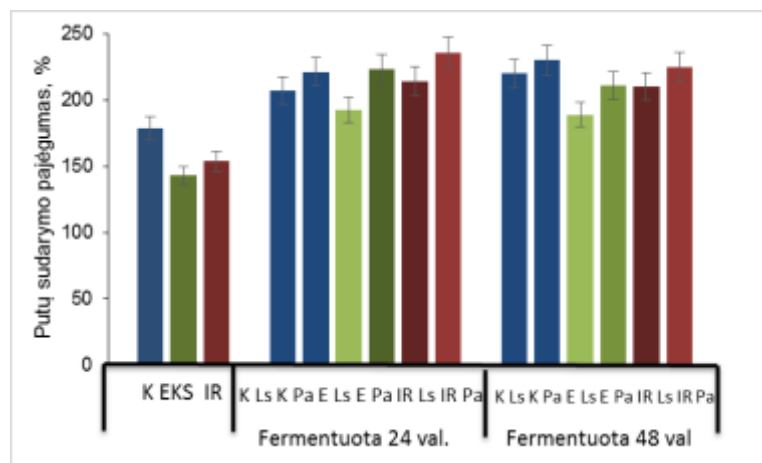


B

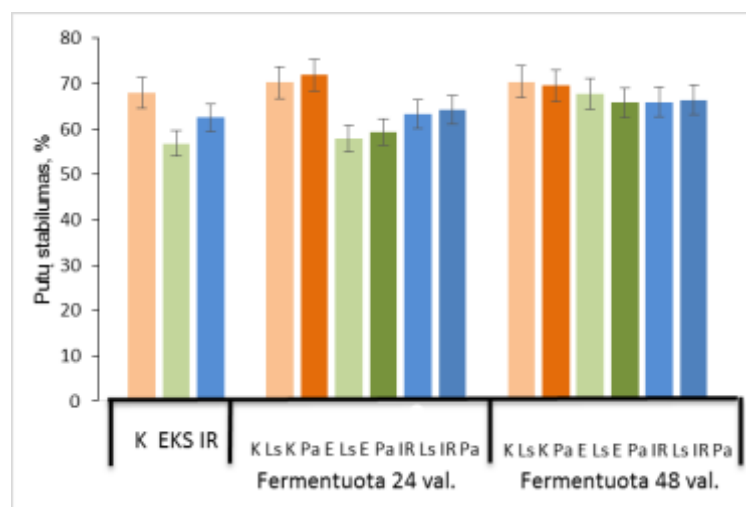
**3.10 pav.** Kukurūzų žaliavos albuminų putų sudarymo pajėgumas (A) ir putų stabilumas (B) (po 30 min išlaikymo prie pH 9) po 24 ir 48 val. fermentacijos *P. acidilactici* (Pa) ir *L. sakei* (Ls) bakterijomis. K – neapdorota žaliava, IR – infraraudonąją spinduliuote apdorota žaliava, EKS – ekstruduota žaliava.

Globulinų putų sudarymo pajėgumas priklausomai nuo fermentuojamos žaliavos, po 24 h fermentacijos Pa ir Ls bakterijomis neapdorotoje, EKS ir IR mėginiuose nustatytas didesnis, atitinkamai 28,0 %; 46,8 % ir 35,4 %, lyginant su nefermentuota žaliava (atitinkamai, 189,7 %; 157,1% ir 184,6 %) (3.11 pav. A). Po 48 h fermentacijos Pa bakterijomis globulinų putų sudarymo pajėgumas padidėjo 23,8 % (K), 46,2 % (IR) ir 34,3 % (EKS), o fermentuojant Ls bakterijomis padidėjo 18,4 % (K), 36,5 % (IR), ir 20,1 % (EKS), lyginant su nefermentuotais mėginiais (3.11 pav.).

Terminiškai neapdorotos, EKS ir IR apdorotos žaliavos po 24 h fermentacijos Pa ir Ls bakterijomis didesnis globulinų putų stabilumas stebimas, esant (pH 9); didesniu poveikiu pasižymėjo Pa padermė, putų stabilumo padidėjimas 5,7 % (K); 4,4 % (EKS) ir 1,7 % (IR), lyginant su nefermentuota žaliava (atitinkamai, 68,0 %; 56,8 % ir 63,1 %)(3.11 pav. B). Ilgesnė fermentacija (48 h) Ls padidino neapdorotų ir EKS globulinų putų stabilumą 22,1 % ir 19,2 %, o IR apdorotos žaliavos globulinų putų stabilumas po fermentacijos Pa padidėjo 10,7 %, lyginant su nefermentuotais mėginiais (3.11 pav.).



A



B

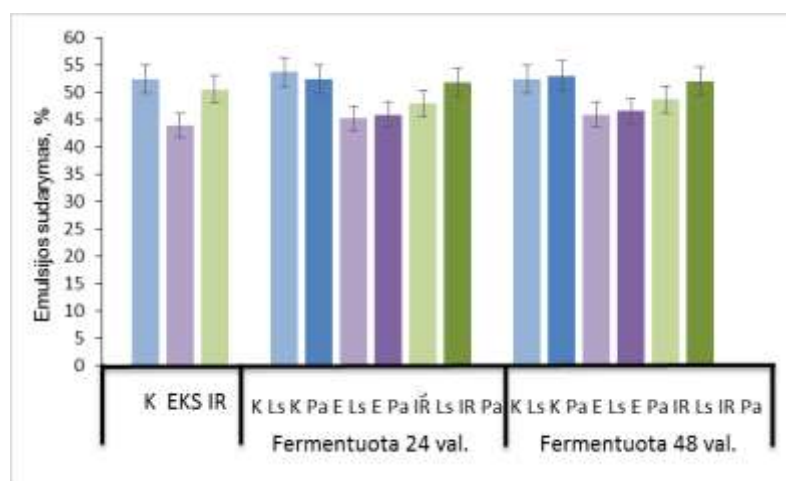
**3.11 pav.** Kukurūzų žaliavos globulinų putų sudarymo pajėgumas (A) ir putų stabilumas (B) (po 30 min išlaikymo prie pH 9) po 24 ir 48 val. fermentacijos *P. acidilactici* (Pa) ir *L. sakei* (Ls) bakterijomis. K – neapdorota žaliava, IR – infraraudonąją spinduliuote apdorota žaliava, EKS – ekstruduota žaliava.

Atlikus statistinę analizę, nustatyta reikšminga fermentacijos (48 h) įtaka globulinų putų susidarymo pajėgumui ( $F = 2.306$ ,  $P < 0.0001$ ), o albuminų putų susidarymo pajėgumui reikšmingos įtakos turėjo terminis apdorojimas ekstruzija ( $F = 2.447$ ,  $P < 0.0001$ ), (2 priedas). Reikšmingų skirtumų tarp naudotų skirtingų PRB bakterijų nenustatyta ( $P > 0,05$ ).

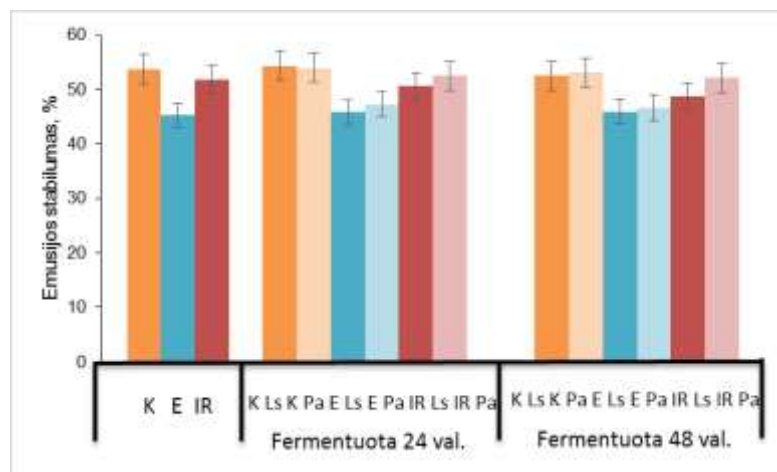
Lyginant su literatūroje pateiktais duomenimis, lubinų baltymų putų susidarymas po 24 val. fermentacijos *P. acidilactici* bakterijomis (pH 8) padidėja 35,0 % lyginant su nefermentuota žaliava (37%), o po 48 val. padidėja apytiksliai 48,6 %. Manoma, kad didinant pH vertę, didėja ir fermentuotų mėginių funkcinės savybės. Taip pat didelės įtakos turi ir naudojamos pieno rūgšties bakterijos bei fermentacijos trukmė [63].



*Emulsijos susidarymo aktyvumas ir stabilumas.* Fermentacija tiek Pa, tiek Ls albuminų emulsijos sudarymo aktyvumui reikšmingos įtakos neturėjo (padidėjimas 1,8 % (K), 2,8 % (IR) ir 5,5 % (EKS)), lyginant su nefermentuota žaliava (atitinkamai, 52,5 %; 44,0 % ir 50,6 %), (3.12 pav. **A**). Analogiški rezultatai nustatyti ir albuminų emulsijos stabilumui; 24 h val. fermentacija, nepriklausomai nuo naudotos PRB padermės, albuminų emulsijos stabilumą padidino nežymiai (atitinkamai 1,1 %, 4,4 % ir 1,2 %), lyginant su nefermentuota žaliava (atitinkamai, 53,7 %; 45,3 % ir 51,8 %) (3.12 pav. **B**). Po 48 h fermentacijos Pa neapdorotų ir EKS ir IR apdorotų albuminų emulsijos stabilumas padidėjo, atitinkamai 22,1 %, 19,2 % ir 10,7 %, lyginant su nefermentuotais mėginiais (3.12 pav. **B**).



A

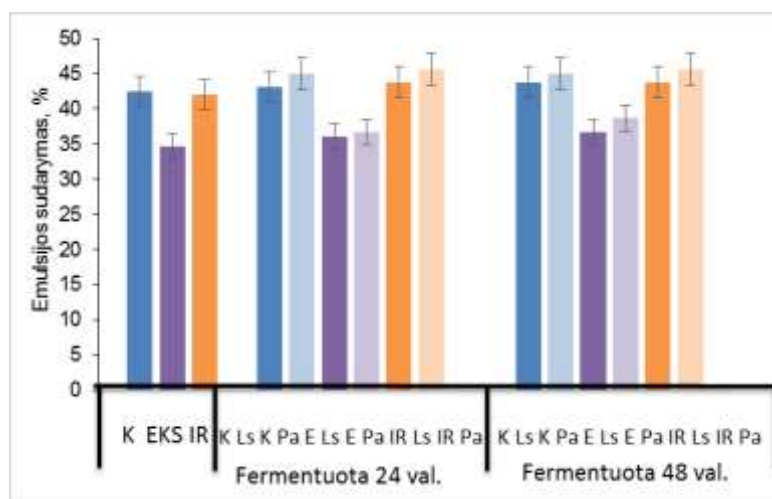


B

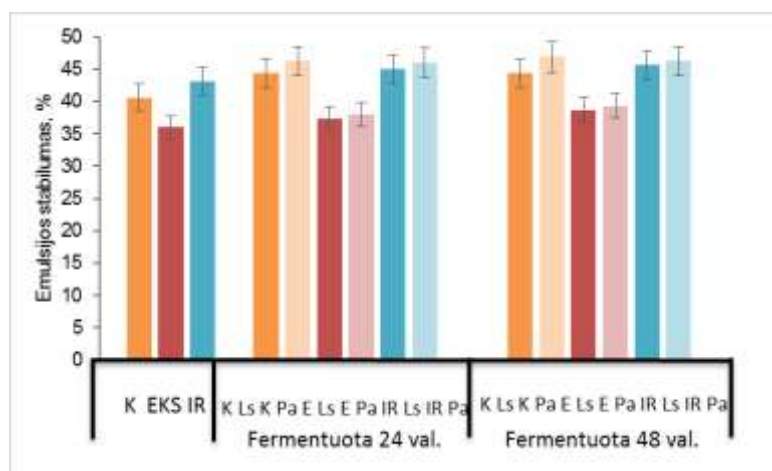
**3.12 pav.** Kukurūzų žaliavos albuminų emulsijos sudarymo aktyvumas (A) ir stabilumas (B) (pH 9) po 24 ir 48 val. fermentacijos *P. acidilactici* (Pa) ir *L. sakei* (Ls) bakterijomis. K – neapdorota žaliava, IR – infraraudonąją spinduliuote apdorota žaliava, EKS – ekstruduota žaliava.

Analogiškos tendencijos stebimos ir globulinų frakcijoje. Termiškai neapdorotos,

ekstruduotos ir IR apdorotos žaliavos globulinų emulsijos sudarymo aktyvumas priklausomai nuo fermentuojamos žaliavos, po 24 h fermentacijos Pa ir Ls bakterijomis, nustatytas didesnis vidutiniškai, atitinkamai 5,8 %; 5,7 % ir 8,6 %, lyginant su nefermentuota žaliava (atitinkamai, 42,5 %; 34,6 % ir 42,0 %), (3.13 pav. A). Po 48 h fermentacijos Pa globulinų emulsijos sudarymo aktyvumas padidėjo 5,8 % (K), 8,6 % (IR) ir 11,5 % (EKS), o fermentuojant Ls bakterijomis, šių baltymų emulsijos sudarymo aktyvumas padidėjo vidutiniškai 3,6 %, lyginant su nefermentuotais mėginiais (3.13 pav.).



A



B

**3.13 pav.** Kukurūzų žaliavos globulinų emulsijos sudarymo aktyvumas (A) ir stabilumas (B) (pH 9) po 24 ir 48 val. fermentacijos *P. acidilactici* (Pa) ir *L. sakei* (Ls) bakterijomis. K – neapdorota žaliava, IR – infraraudonąją spinduliuote apdorota žaliava, EKS – ekstruduota žaliava.

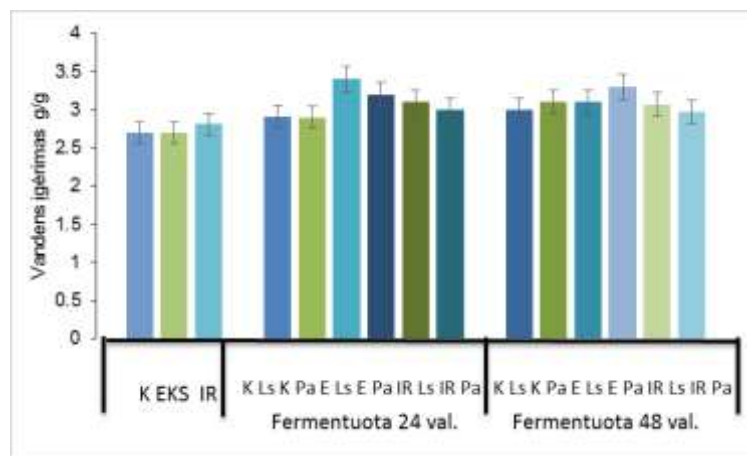
Fermentacija Pa ir Ls padidino kukurūzų globulinų emulsijos stabilumą vidutiniškai 6,9 %, lyginant su nefermentuota žaliava (vidutiniškai 40,53 %), (3.13 pav. B). Naudojant Ls po 48 h fermentacijos globulinų emulsijos stabilumas padidėjo 5,86 %, o fermentuojant Pa stebima

didesnė įtaka šiam rodikliui (vidutiniškai 7,5 %), lyginant su nefermentuotais mėginiais (3.13 pav.). Atlikus statistinę analizę, nustatyta reikšminga fermentacijos (48 h) įtaka globulinų emulsijos stabilumui ( $F = 2.266$ ,  $P < 0.0001$ ) ir ekstruzijos įtaka ( $F = 2.447$ ,  $P < 0.0001$ ), (2 priedas). Reikšmingų skirtumų tarp naudotų skirtingų PRB bakterijų nenustatyta ( $P > 0,05$ ).

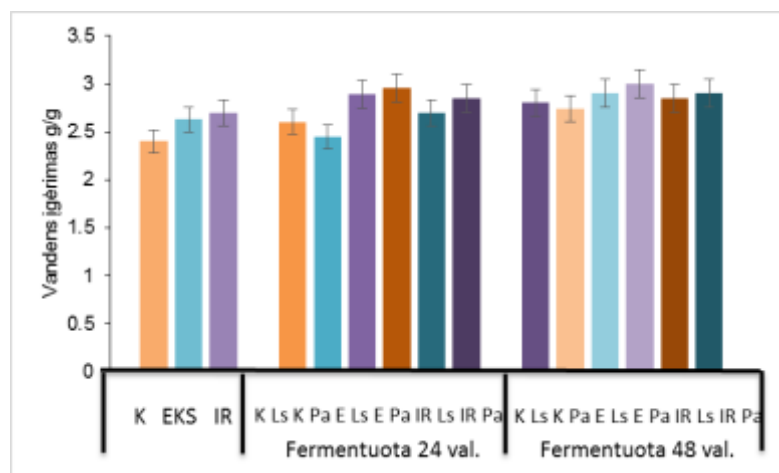
Kaip anksčiau minėta, emulsijos susidarymo aktyvumas ir stabilumas priklauso nuo stabilizatoriaus savybių, baltymų tipo, koncentracijos, pH. Fermentacija pieno rūgšties bakterijomis turėjo teigiamos įtakos emulsijų susidarymui, priklausomai nuo žaliavos terminio apdorojimo būdo. Pagal literatūroje pateiktus duomenis, baltymų emulsijų susidarymui terminis apdorojimas ekstruzija turėjo neigiamos įtakos, bet taikant fermentaciją PRB emulsijų susidarymą galima pagerinti. Obatolu ir kt. [59] nustatė, kad lubinų baltymų emulsijos susidarymo aktyvumas buvo  $12.16 \text{ m}^2/\text{g}$ , o ekstruduotų lubinų –  $5.33 \text{ m}^2/\text{g}$ , po fermentacijos baltymų emulsijų sudarymo aktyvumas padidėjo 23 %. Analogiški rezultatai buvo gauti ir Lampart-Szczapa (2006) atliktų tyrimų metu buvo stebimos didesnės lubinų baltymų emulsijos stabilumo reikšmės (vidutiniškai 17.6 %), naudojant kietafazę fermentaciją su pieno rūgšties bakterijomis [64].

*Vandens įgėrimas.* Albuminų ir globulinų vandens įgėrimui įtakos turėjo terpės pH bei kukurūzų atliekų terminio apdorojimo būdas. Termiškai neapdorotos, ekstruduotos ir IR apdorotos žaliavos albuminų vandens įgėrimas, priklausomai nuo fermentuojamos žaliavos, po 24 h fermentacijos Pa ir Ls bakterijomis, nustatytas didesnis, atitinkamai 7,7 %; 26,0 % ir 10,3 %, lyginant su nefermentuota žaliava (atitinkamai: 2,7 %; 2,7 % ir 2,8 %), (3.14 pav. **A**). Po 48 h fermentacijos Ls stebimas vandens įgėrimo padidėjimas 11,1 % (K), 9,2 % (IR) ir 14,8 % (EKS), o fermentuojant Pa bakterijomis, albuminų vandens įgėrimas padidėjo 14,8 % (K), 5,7 % (IR), 22,2 % (EKS), lyginant su nefermentuotais mėginiais (3.14 pav.).

Globulinų vandens įgėrimas, priklausomai nuo fermentuojamos žaliavos, po 24 h fermentacijos Pa ir Ls bakterijomis, nustatytas didesnis, atitinkamai 8,3 % (K); 12,5 % (EKS) ir 5,5 % (IR), lyginant su nefermentuota žaliava (atitinkamai: 2,4 %; 2,6 % ir 2,7 %), (3.14 pav. **B**). Po 48 h fermentacijos globulinų vandens įgėrimo padidėjimas nustatytas nuo 5,5 % (IR) iki 16,6 % (K), lyginant su nefermentuotais mėginiais (3.14 pav.).



**A**



**B**

**3.14 pav.** Skirtingai apdorotų kukurūzų albuminų (A) ir globulinų (B) vandens iġerimas po 24 ir 48 val. fermentacijos *P. acidilactici* (Pa) ir *L. sakei* (Ls) bakterijomis. K – neapdorota žaliava, IR – infraraudonąjį spinduliuote apdorota žaliava, EKS – ekstruduota žaliava.

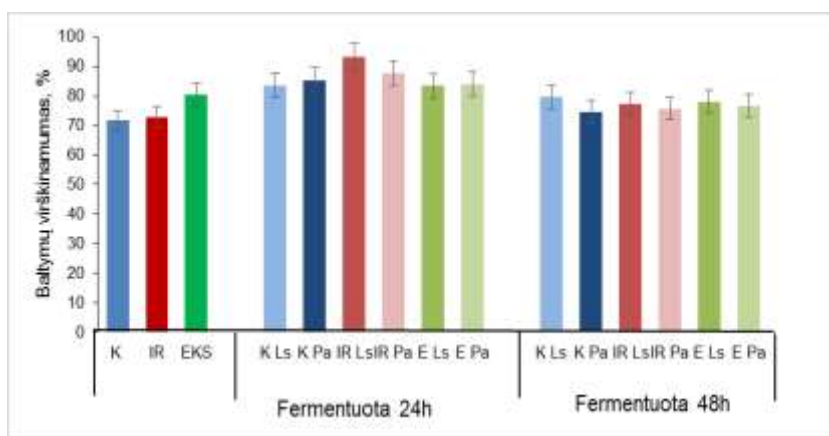
Statistinė analizė parodė, kad albuminų ir globulinų vandens iġerimo padidėjimui reikšmingos įtakos turėjo terminis apdorojimas ekstruzija, atitinkamai ( $F = 2.447$ ,  $P < 0.0001$ ), ir ( $F = 2.262$ ,  $P < 0.0001$ ), (2 priedas).

Pagal Umoh ir Fields (1981), po fermentacijos albuminų ir globulinų frakcijose padidėja tokių amino rūščių, kaip lizinas ir triptofanas, kiekiai [65]. Kaip teigia Hamad ir Fields (1979), po fermentuotacijos padidėjęs lizino kiekis sąlygoja geresnes baltymų funkcines savybes [66]. Rezultatai rodo, kad fermentacija *P. acidilactici* ir *L. sakei* bakterijomis pagerino albuminų ir globulinų frakcijų funkcines savybes, tačiau skirtingu intensyvumu, priklausančiu nuo žaliavos terminio apdorojimo būdo. Įvertinus rezultatus su statistine analize albuminų vandens iġerimas labai priklausė nuo terminio apdorojimo būdo – ekstruzijos bei 48 val fermentacijos. Nustatyta

reikšminga įtaka albuminų ir globulinų ekstruzijai, atitinkamai ( $F = 2.447, P < 0.0001$ ), ( $F = 2.262, P < 0.0001$ ), ir fermentacijos trukmei ( $F = 2.391, P < 0.0001$ ).

*Prolaminų virškinamumas.* Eksperimentas parodė, kad taikant kietafazę fermentaciją galima padidinti kukurūzų prolaminų (zeino) virškinamumą, reikšmingos įtakos ( $p < 0,005$ ) turėjo naudotos pieno rūgšties bakterijos (3.15 pav.).

Iš gautų rezultatų matyti, kad didžiausią įtaką prolaminų (zeino) virškinamumui turėjo fermentacija Pa bakterijomis: po 24 ir 48 h fermentacijos šių baltymų virškinamumas padidėjo, atitinkamai 20,3 % ir 3,7 % (IR frakcija), 4,5 % ir sumažėjo 4,5 % (EKS frakcija) ir 19,2 % ir 4,3 % (K frakcija), o fermentuojant Ls bakterijomis prolaminų virškinamumas padidėjo, atitinkamai 27,8 % ir 6,0% (IR frakcija), 3,8 % ir sumažėja 2,7 % (EK frakcija) ir 16,6 % ir 11,3 % (K frakcija), lyginant su nefermentuotais mėginiais (3.15 pav.)



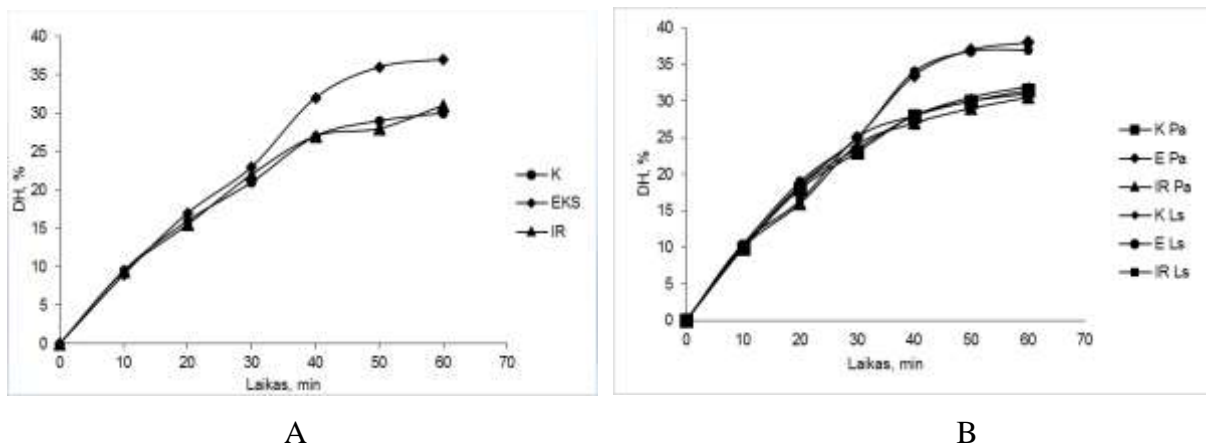
**3.15 pav.** Prolaminų virškinamumas po 24 ir 48 val. fermentacijos *P. acidilactici* (Pa) ir *L. sakei* (Ls) bakterijomis. K – neapdorota žaliava, IR – infraraudonąją spinduliuote apdorota žaliava, EKS – ekstruduota žaliava.

Rezultatai parodė, kad 24 h fermentacija Pa ir Ls bakterijomis turėjo reikšmingos įtakos ( $F = 2.262, P < 0.0001$ ) prolaminų virškinamumo padidėjimui. Taip pat nustatyta reikšminga žaliavos IR apdoravimo įtaka prolaminų virškinamumui ( $F = 3.182, P < 0.0001$ ).

Yousif ir kt. (1999) kukurūzų baltymų virškinamumą padidino nuo 74.9 % iki 93.5 % po 24 val. fermentacijos, o ilgesnė fermentacija (36 val.) ši rodiklį sumažino iki 64,8 % dėl mikroorganizmų veiklos [61]. Pagal Bartkienė ir kt. (2016) fermentuojant *P. acidilactici* ir *L. sakei* bakterijomis lubinų baltymų virškinamumą galima padidinti nuo 73 % iki 85 %. [67]. Pagal kitus autorius, sorų baltymų virškinamumas padidėjo nuo 60.5 iki 86% po 24 val. fermentacijos. Manoma, kad fermentacijos metu mikroorganizmai, priklausomai nuo terpės ir proceso sąlygų, gamina skirtingus proteolitinius fermentus [68], kas gali sąlygoti baltymų virškinamumo padidėjimą.

**Prolaminų hidrolizės laipsnis(HD).** Kadangi kukurūzai plačiai naudojami kruopų ir užkandžių gamybai, gamybos procese neišvengiamai susidaro dideli šalutinių produktų, turtingų vertingais baltymais, kiekiai, todėl aktualu vystyti technologijas tokių augalinių atliekų panaudojimui baltyminių produktų gamybai. Tuo tikslu baltymų funkcinių savybių pagerinimui tikslinga pritaikyti proteolitinius fermentus kompozicijoje su mikroorganizmais. Hidrolizuoti baltymai pasižymi tokiomis funkcinėmis savybėmis, kaip mažas klampumas, didelis putų sudarymo pajėgumas ir tirpumas, kurie suteiktų pranašumo, naudojant įvairių maisto produktų gamyboje. Baltymų hidrolizės laipsnis priklauso nuo naudojamo fermento ir terpės pH. Eksperimentui atlikti pasirinktas fermentas tripsinas, kurio optimali veikimo temperatūra 37-40°C ir pH 7,5-9.

Eksperimento metu nustatyta, kad kukurūzų prolaminų hidrolizės tripsinu laipsnis (terpės pH 8.5) priklausė nuo žaliavos terminio apdorojimo būdo ir proceso trukmės. Procesui reikšmingos įtakos ( $p < 0,005$ ) turėjo ekstruzija. Atliekant prolaminų hidrolizę nuo 20 iki 40 min. Šių baltymų HD padidėjo vidutiniškai nuo 15 % iki 27 % (K), 27 % (IR), ir 32 % (EKS). Didžiausiu HD pasižymėjo EKS kukurūzų žaliavos prolaminai, jų HD po 60 min nustatytas 37%, kai tuo tarpu IR ir K žaliavoje – 30 %. Analizuojant fermentuotos žaliavos prolaminų hidrolizės proteaze procesą, pastebėtos panašios tendencijos (3.16 pav.).



**3.16 pav.** Nefermentuotų (A) ir fermentuotų 48 val. (B) prolaminų hidrolizės tripsinu laipsnis (DH). K – neapdorota žaliava, IR – infraraudonąją spinduliuote apdorota žaliava, EKS – ekstruduota žaliava.

Prolaminų, išskirtų iš kukurūzų žaliavos po 48 h fermentacijos Ls ir Pa bakterijomis, HD vertės padidėjo 29 % (K), 28,5 % (IR) ir 33,5 % (EKS), lyginant su atitinkamomis nefermentuotos kukurūzų žaliavos baltymų frakcijomis. Rezultatus įvertinus statistine analize reikšminga įtaka nustatyta ekstruduotai frakcijai ( $F = 3.182$ ,  $P = 0.001$ ). Reikšmingų skirtumų tarp naudotų PRB nenustatyta.

Pagal mokslinikus Ning Tang ir Hong Zhuang (2014), naudojant šarmines proteazes kukurūzų zeino frakcijos DH buvo 24,5 %, o naudojant tripsiną – 15 %. Pagal autorius, ilgėjant hidrolizės laikui, hidrolizės laipsnis šiek tiek mažėjo, o po 100 min. išliko pastovus. Ekstruotų kukurūzų baltymų hidrolizės laipsnio padidėjimas aiškinamas tuo, kad ekstruzijos metu struktūriniai baltymų pokyčiai įvyksta dėl aukštos temperatūros 160–180°C, slėgio bei ekstruderio sraigto. Dėl to, kad kukurūzų glitimo miltai prieš hidrolizę buvo veikiami ekstruzijos, kukurūzų struktūra, susidedanti iš dalinai denatūruotų baltymų, stabilizuojama silpno vandenilio ryšio, elektrostatinės ir hidrofobinės sąveikos, disulfidinių ryšių ir kitų kovalentinių jungčių [69]. Zheng ir kt. (2006) atlikti tyrimai parodė, kad naudojant proteazę Alkalazę (pH 8,5) po 60 min. ekstruotų kukurūzų hidrolizės laipsnis siekė 37 %, o neapdorotų 29 %. Kadangi tripsinas skaldo peptidus lizino ir arginino aminorūgščių grandinės C- pusėje, dalinė baltymų hidrolizė gali pagerinti savo biologinį prieinamumą [70].

Kaip jau buvo minėta, baltymų frakcijų funkcinių savybių pokyčiai gali būti paaiškinti proteolitinių fermentų poveikiu ir mažos molekulinės masės baltymų ir peptidų susidarymu [71].

Kukurūzų baltymų elektroforezė poliakrilamido gelyje parodė, kad nefermentuotoje kukurūzų žaliavoje vyrauja mažos molekulinės masės albuminai (14; 18 kDa) ir globulinai (15; 25; 29 kDa), bei didesnės molekulinės masės prolaminai (14; 28; 49; 72 kDa). Kukurūzų baltymų frakcijų NSD-PAGE spektrai pateikti 3 priede (3.3.1-3.3.3 pav.), o albuminų, globulinų ir zeino apskaičiuotos molekulinės masės pateiktos 3.2 lentelėje.

Tyrimai parodė, kad žaliavos terminis apdorojimas turi poveikį kai kurių baltymų frakcijų kokybinei sudėčiai. Ekstruzija ir IR apdorojimas didžiausią poveikį turėjo tirpių vadenyje albuminų frakcijai, šios frakcijos elektroforetiniuose spektruose pastebėtas 30 kDa baltymų komponento atsiradimas (3.2 lentelė).

**3.2 lentelė.** Kukurūzų baltymų frakcijų molekulinės masės ( $M_r$ , kDa) prieš ir po fermentacijos.

Mėginiai	Albuminai		Globulinai		Prolaminai	
<b>Prieš fermentaciją</b>						
K	14; 18		14,9; 29		14; 49; 72	
EKS	15; 28		15,4; 30		16; 49; 72	
IR	15; 28		16,2; 30		15,4; 49; 72	
<b>Po fermentacijos</b>						
	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h
K Ls	14,5; 19,2; 24,4	13,8; 21,8; 33,5	15,4; 27,7; 31,3	15; 28,4;35,5	15,4; 28,3; 39; 45	15; 33,5; 41,2; 48

**3.2 lentelės tęsinys.** Kukurūzų baltymų frakcijų molekulinės masės ( $M_r$ , kDa) prieš ir po fermentacijos.

K Pa	16,4; 20,8; 27,7	15,4; 21,8; 27,7	14,9; 28,9; 31,5	14,7; 26,2; 36,5	15; 25; 36,5; 40; 46,9	16,9; 20,2; 35,4; 42; 48,7
EKS Ls	15,4; 27,7; 30,6	15,4; 27,7; 33,5	15,2; 27,7; 34,3	14,2; 21,9; 28,3; 35	17; 23,7; 27,6; 40,9; 45	16,7; 28,9; 37; 41,2; 47,4
EKS Pa	14,1; 22,2; 30,7; 32,5	16,2; 24,9; 34,1	17; 29,9; 34,5	15; 25; 29,5; 35,9	17,2; 27,7; 35,5; 40; 46,1	16,2; 24; 33,5; 42,3; 48
IR Ls	16,2; 22,2; 27,5	15,4; 19,7; 24; 33,5	15,4; 25,4; 31,4	15,4 20,2; 30,6; 35,2	15; 21,2; 30,5; 39,3; 43,8	18,2; 23,5; 34,1; 41; 45,9
IR Pa	15; 20,2; 28,9	15,7; 27,7; 29,3	16,7; 27,7; 31,1	15,2; 28,4; 34,7	15; 22,2; 29; 37; 46	16,9; 20,2; 35,5; 40,7; 47,1

Analizuojant baltymų mėginius po 24 ir 48 h fermentacijos, nustatyti baltymų molekulinės masės pokyčiai, kurie priklausė nuo pieno rūgšties bakterijų ir fermentacijos trukmės. Fermentuojant Ls ir Pa bakterijomis neapdorotą, ekstrudotą ir IR apdorotą žaliavą, po 24 h fermentacijos albuminų baltymų spektruose nustatyta, atitinkamai 24 kDa ir 28 kDa; 30 ir 32 kDa; 29 kDa molekulinės masės komponentų, o po 48 h pastebėtas 34-36 kDa baltymų komponentų atsiradimas.

Globulinų fermentacijos metu taip pat pastebėta didesnės (31 ir 34 kDa) molekulinės masės komponentų susidarymas, fermentuojant 24 h Ls ir Pa bakterijomis neapdorotą, ekstrudotą ir IR spinduliais apdorotą žaliavą. Po 48 h fermentacijos pastebėtas 36 kDa molekulinės masės komponentų susidarymas.

Prolaminų baltymų frakcijoje taip pat stebima molekulinės masės komponentų susidarymas po 24 h fermentuojant, su Ls ir Pa bakterijomis neapdorotą, ekstrudotą ir IR spinduliais apdorotą žaliavą, atitinkamai 45 ir 47 kDa; 45 ir 46 kDa; 44 ir 46 kDa. Po 48 h pastebėtas 46 ir 48 kDa baltymų komponentų susidarymas. Po fermentacijos didesnės molekulinės masės prolaminai galėjo būti hidrolizuoti PRB įtakoje, susidarant mažesnė molekulinės masės prolaminams ( $\alpha$ - ir  $\gamma$  zeinas). Iš visų baltymų pirmiausia fermentuojami didesnės molekulinės masės prolaminai, todėl albuminų frakcijoje gali atsirasti mažesnės molekulinės masės baltymai, po to yra hidrolizuojami albuminai ir globulinai.



Remiantis gautais rezultatais, galima daryti išvadą, kad žaliavos terminis apdorojimas turėjo reikšmingos įtakos naudotų PRB hidrolitiniam aktyvumui. Didesniu nefermentuotos žaliavos albuminų ir globulinų hidrolitiniu aktyvumu pasižymėjo Pa bakterijos.

Remiantis literatūroje pateiktais duomenimis, kukurūzų albuminų nefermentuotoje frakcijoje molekulinė masė svyruoja nuo 14 iki 25 kDa, globulinų nuo 12 iki 50 kDa, zeino nuo 14 iki 97 kDa [33]. Wall ir kiti [10] teigia, kad kukurūzų albuminų molekulinė masė svyruoja nuo 12 iki 25 kDa, o globulinų nuo 12 iki 66 kDa. Pagal Anderson (2011) zeino molekulinė masė svyruoja nuo 12 iki 75 kDa. Gauti rezultatai rodo, kad kukurūzų atliekų baltymų zeino frakcijoje vyrauja  $\alpha$ - ir  $\gamma$  zeinas, kurių molekulinė masė, atitinkamai 19-28 kDa ir 19-48 kDa [14]. Didesnės molekulinės masės komponentai zeino spektruose gali atsirasti dėl disulfidinių ryšių formavimosi [72]. Ekstruzijos metu dėl šlyties jėgos ir temperatūros poveikio pasikeičia baltymų antrinė ir tretinė struktūros, kas ir lemia disulfidinių ryšių formavimąsi, todėl ekstrudotų baltymų molekulinė masė šiek tiek didesnė nei neekstrudotų. Mokslininkų Wall ir kiti (1975) tyrimai su albuminų-globulinų frakcija parodė, kad apdorojant karščiu, baltymai agreguoja ir negali migruoti gelyje. Kai konkrečios baltymų juostos neaptinkamos elektroforetiniame spektre, tai rodo, kad šie baltymai gali būti labiau jautrūs denatūravimui [73].

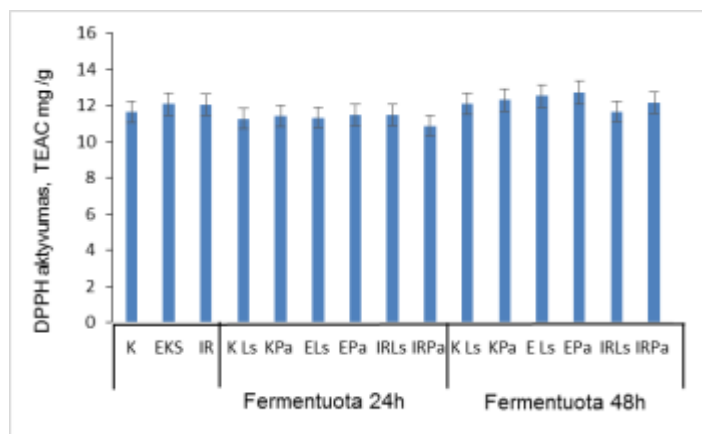
### **3.3. BIOLOGIŠKAI AKTYVIŲ PEPTIDŲ GAMYBOS KUKURŪZŲ ATLIEKŲ TERPĖJE TYRIMAI**

#### **3.3.1 Antioksidacinėmis savybėmis pasižyminčių metabolitų gamybos kukurūzų terpėje skirtingomis PRB galimybės**

*Antioksidacinis aktyvumas.* Šiame skyriuje pateikti fermentacijos skirtingomis PRB įtaka prolaminų (zeino) antioksidaciniam aktyvumui (DPPH) tyrimo rezultatai (3.17 paveikslas). Prolaminų antioksidacinio aktyvumo reikšmingai neįtakoję PRB padermė ( $p > 0.05$ ) bet aktyvumo nežymus padidėjimas priklausė nuo fermentacijos trukmės.

Didžiausias antioksidacinis aktyvumas nustatytas EKS zeino frakcijoje po 48 h fermentacijos Ls ir Pa pieno rūgšties bakterijomis (atitinkamai 12,54 ir 12,72 mg/g), o po 24 h fermentacijos IR zeino frakcijos antioksidacinis aktyvumas nustatytas mažesnis, atitinkamai 14,48 ir 10,89 mg/g), lyginant su nefermentuotais mėginiais (12,04 mg/g) (3.17 pav.).

Didžiausias antioksidacinis aktyvumas nustatytas EKS zeino frakcijoje po 48 h fermentacijos Ls ir Pa pieno rūgšties bakterijomis (atitinkamai 12,54 ir 12,72 mg/g), o po 24 h fermentacijos IR spinduliais apdorotoje frakcijoje antioksidacinis aktyvumas sumažėja (atitinkamai 4,6 ir 9,5 mg/g) lyginant su nefermentuota žaliava.



**3.17 pav.** Skirtingai apdorotų kukurūzų prolaminų frakcijų DPPH radikalo aktyvumas po 24 h ir 48 h fermentacijos *P. acidilactici* (Pa) ir *L. sakei* (Ls) bakterijomis. K – neapdorota žaliava, IR – infraraudonąją spinduliuote apdorota žaliava, EKS – ekstruduota žaliava.

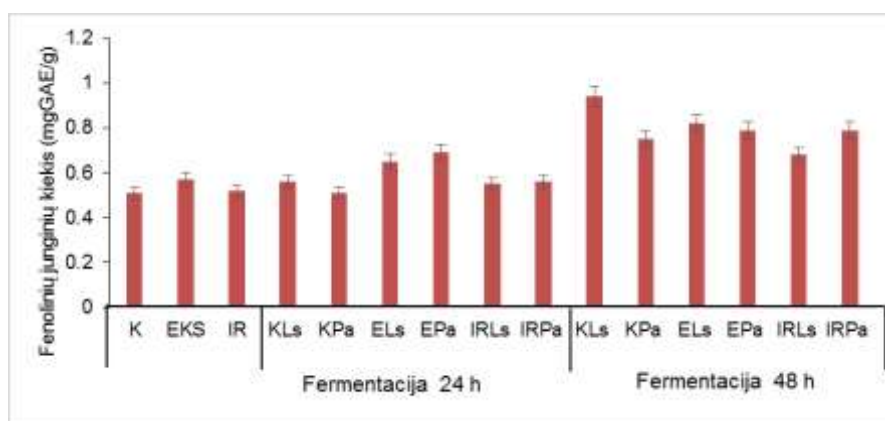
Eksperimento metu nustatyta, kad kukurūzų žaliavos terminis apdorojimas padidino antioksidacinį aktyvumą. Po apdorojimo infraraudonąja spinduliuote, lyginant su nefermentuota frakcija, pastebimas DPPH aktyvumo sumažėjimas 5,0 %. Fermentacija 24 h sumažino prolaminų ypač IR apdorotos frakcijos antioksidacinį aktyvumą 9,5 %, o ilgesnė fermentacija (48 h) turėjo teigiamos įtakos IR ir EK prolaminų DPPH aktyvumo padidėjimui (iki 5,3 %), lyginant su nefermentuotais mėginiais

Mokslininkų Salar ir kiti (2011) tyrimų duomenimis laisvų ir surištų fenolinių junginių kiekiai didžiausi tokiuose grūdinės kilmės produktuose kaip kukurūzai (85%), avižos ir kviečiai (75%), ryžiai (62 %). Svarbus antioksidacinio veikimo mechanizmas yra vandenilio / elektronų perdavimas. Atlikti tyrimai su fermentuotais kukurūzais parodė, jog nefermentuotų mėginių radikalo aktyvumas yra (10,9  $\mu\text{mol TEAC/g}$  kukurūzų), o po 48 val. fermentacijos padidėja iki 12  $\mu\text{mol TEAC/g}$  kukurūzų). Kietafazės fermentacijos (SSF) procesas suteikia didelį pranašumą cheminiuose ir fermentiniuose procesuose išlaisvinant kukurūzų fitocheminių medžiagų surištas formas, tokiu būdu padidinant gaminio antioksidacines galimybes [74]. Dauguma tyrimų parodė, kad baltymų amino rūgščių seka turi tiesiogės įtakos antioksidaciniam aktyvumui. Taip pat kuo didesnis gaunamas hidrolizės laipsnis tuo stipresniu antioksidaciniu veikimu pasižymi tiriamas mėginys. Stiprus augalų ekstraktų antioksidacinis aktyvumas taip pat labai priklauso nuo fenolinių junginių įskaitant ir flavonoidus [69].

**Fenolinių junginių kiekio** (FK) skirtingai apdorotose kukurūzų prolaminų frakcijose tyrimo rezultatai pateikti 3.18 pav. Fenolinių junginių kiekio padidėjimui įtakos ( $P < 0.05$ ) turėjo terminis apdorojimo būdas ir fermentacijos trukmė.

Didžiausi fenolinių junginių kiekiai nustatyti nefermentuotos žaliavos EKS zeino frakcijoje (0,14 GAEmg/g), o mažiausias – K frakcijoje (0,11 GAEmg/g) (3.17 pav.). Didžiausias FK vertės po 24 val. fermentacijos Ls ir Pa nustatytos EKS mėginiuose, atitinkamai 14,28 ir 21,42 %. Ilgesnis fermentavimas įtakojo FK padidėjimą visuose mėginiuose. Didžiausias pokytis nustatytas termiškai neapdorotoje (K) kukurūzų atliekų frakcijoje, fermentuotoje Ls ir Pa (atitinkamai 84,0 ir 47,0 %), IR frakcijoje (atitinkamai 30,7 ir 52,0 %), EKS frakcijoje (atitinkamai 43,8 ir 38,5 %), (3.18 pav.).

Nustatyta reikšminga 48 val. fermentacijos trukmės įtaka fenolinių junginių kiekiui ( $F = 2.262$ ,  $P < 0.0001$ ) žaliavoje. Taip pat reikšmingos įtakos turėjo kukurūzų atliekų apdorojimas ekstruzija ( $F = 3.182$ ,  $P = 0.006$ ).



**3.18 pav.** Skirtingai apdorotų kukurūzų frakcijų fenolinių junginių kiekis (mg GAE/g) po 24 h ir 48 h fermentacijos *P. acidilactici* (Pa) ir *L. sakei* (Ls) bakterijomis. K – neapdorota žaliava, IR – infraraudonąją spinduliuote apdorota žaliava, E – ekstruduota žaliava.

Pagal Urias-Lugo ir kt. (2014), fenolinių junginių kiekis svyruoja nuo 1,04 iki 1,33 mgGAE/g kukurūzų. Grūdinės aliavos antioksidacinės savybės nulemia laisvi ir surišti fenoliniai junginiai. Kukurūzuose fenolinių junginių kiekis sudaro apie 85 %, kai tuo tarpu daržovių tik 25 %, nes jų fitocheminės medžiagos yra laisvoje arba konjuguotoje formoje. Dauguma *in vitro* antioksidacinių tyrimų parodė, kad surišti fenoliniai junginiai turi žymiai didesnę antioksidacinę aktyvumą, palyginti su laisvais ir tirpiaisi konjuguotais fenoliniais junginiais [75]. Mora-Rochin ir kiti (2010) atlikti tyrimai su ekstruduotais kukurūzų miltais parodė, kad vidutiniškai fenolinių junginių kiekis svyruoja nuo 2,0 iki 26,6 mgGAE/g. Ekstruzijos poveikis nesumažina fenolinių junginių kiekio dėl galimai atitinkamai parinktų ekstrudavimo parametrų [76]. Pagal Obradovič ir kiti (2014) ekstruzija (20 % drėgnis, 120-200 °C) padidina fenolinių junginių kiekį. Fenolinių junginių sumažėjimas gali būti priskiriamas arba prie fenolio junginių skilimo dėl didelės ekstruzijos temperatūros arba pakeistos fenolinių junginių molekulinės struktūros, kas gali sukelti chemiškai reaktyvių fenolinių junginių redukciją arba sumažinti jų išskiriamumą dėl tam

tikro polimerizacijos laipsnio. Tyrimų duomenimis fenoliniai junginiai gali sąveikauti su baltymais ir taip gali sumažėti jų aktyvumas, tačiau fenolinių junginių padidėjimas ekstruzijos metu rodo, kad ekstruzijos sąlygos gali išlaisvinti fenolines rūgštis ir jų darinius iš ląstelių sienelių, ir taip padidinant fenolinių junginių kiekį [77].

### 3.3.2. Antigrybinis aktyvumas prieš *Fusarium graminearum* ir *F. culmorum* pelėsius pasižymintį metabolitų gamybą skirtingomis PRB kukurūzų atliekų baltymų ekstraktuose

Šiame skyriuje pateikti skirtingų PRB metabolitų antigrybinio aktyvumo prieš *Fusarium graminearum* ir *F. culmorum* pelėsius tyrimo rezultatai (3.3 ir 3.4 lentelės ir 4 priedas).

Tyrimas parodė, kad didesniu inhibiciniu poveikiu *Fusarium graminearum* C ir *F. graminearum* D augimui pasižymėjo fermentuotų ekstruduotų kukurūzų terpių išskirtų baltymų izoliatai. Iš 3.3 lentelėje pateiktų rezultatų matyti, kad geriausiu inhibiciniu poveikiu pasižymėjo Pp9 ir Pp10 fermentuotos 48 h EKS terpės komponentai (3.2 lentelė). Mikromicetų auginimo terpėje esant šiems komponentams jau po 2 parų buvo stebimas sporų susidarymo slopinimas, aplink šulinėlius formuojant skaidrias zonas.

**3.3 lentelė.** Fermentacijos *P. pentosaceus* KTU05-9 ir KTU05-10 įtaka antigrybinėmis savybėmis pasižymintį metabolitų gamybai fermentuotų kukurūzų atliekų baltymų ekstraktuose.

Kukurūzų atliekų mėginiai	Fusarium padermės							
	<i>F. graminearum</i> C				<i>F. culmorum</i>			
	1d	2d	3d	4d	1d	2d	3d	4d
<i>Neapdorota žaliava</i>								
Pp 9 24h	+	+	++	++	+	++	++	++
Pp 9 48h	+	++	++	++	+	++	++	++
Pp10 24h	+	+	++	+	+	++	++	++
Pp10 48h	+	+	++	++	+	++	++	+
<i>Ekstruduota žaliava</i>								
Pp 9 24h	+	++	++	++	++	++	++	++
Pp 9 48h	+	+	+	+	+	++	++	+
Pp10 24h	+	++	++	++	+	++	++	++
Pp10 48h	+	+	+	+	+	++	++	++
<i>IR apdorota žaliava</i>								
Pp 9 24h	+	+	++	++	-	+	+	++
Pp 9 48h	+	+	+	+	-	+	+	+



fermentacijos laikas ir PRB padermė. Tyrimo metu nustatyta, kad ilgiau fermentuotų terpių komponentai labiau slopino *Fusarium* pelėsių sporų susidarymą, lyginant su 24 h fermentacija. Apiendrinant galima teigti, kad antigtybinių metabolitų didesnius kiekius galima išgauti EKS kukurūzų atliekų terpėje, fermentuojant 48 h *P. pentosaceus* KTU05-8 ir KTU05-9 bakterijomis.

Literatūroje pateiktais duomenimis trumpos grandinės peptidai turintys daug lizino, arginino ar triptofano aminorūgščių pasižymi antigrybeline veikla. Tokie peptidai veiksmingai veikia prieš *Fusarium solani* and *Fusarium oxysporum* pelėsius. Atlikti tyrimai su kationiniais peptidais, turinčiais didelį kiekį lizino, arginino ar triptofano aminorūgščių buvo veiksmingi kovojant prieš *F.solani* and *F. Oxysporum* pelėsius. Šie duomenys rodo, kad grandinės ilgis yra pagrindinis reikalavimas kovojant su pelėšiais. Melitinas turi stiprų priešgrybelinį aktyvumą ir šiame eksperimente parodė stipriausia antigrybelinį aktyvumą dėl savo ilgos aminorūgščių grandinės [45].

### **3.4. UNIVERSALIOS FERMENTŲ KOMPOZICIJOS SUDARYMAS BALTYMŲ EKSTRAKTYVUMUI IŠ KUKURŪZŲ ŽALIAVOS PADIDINTI**

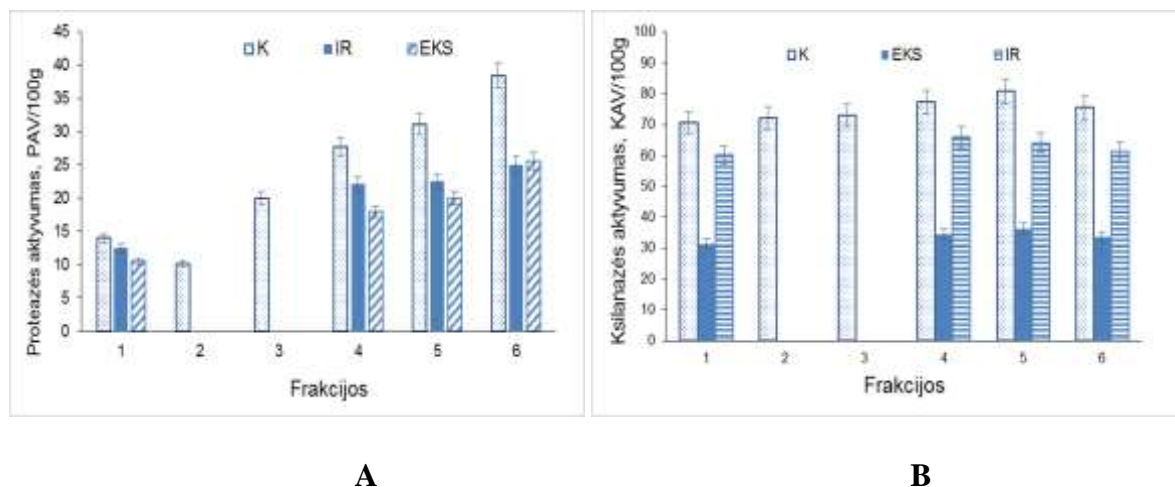
Siekiant padidinti baltyminių medžiagų funkcionalumą, o tuo pačiu racionalaus pramoninių fermentų preparatų panaudojimo grūdinės žaliavos hidrolizei, aktualu įvertinti žaliavoje esančių proteolitinių ir hemiceliulolitinių fermentų aktyvumą. Pačiame grūde veikiančių endofermentų kiekis turi reikšmės grūdinės žaliavos kokybei ir jų technologinėms savybėms [78; 79]. Šiame skyriuje pateikti proteolitinių ir ksilanolitinių fermentų aktyvumo grūdinėje žaliavoje bei pramoninių fermentų įtakos kukurūzų baltymų ekstrakcijos efektyvumui tyrimo rezultatai.

#### **3.4.1. Proteolitinių ir ksilanolitinių fermentų aktyvumų pasiskirstymas kukurūzų perdirbimo atliekų frakcijose**

Proteolitinių ir ksilanolitinių fermentų aktyvumo tyrimo kukurūzų perdirbimo šalutiniuose produktuose rezultatai pateikti 3.19-3.20 pav. Rezultatai parodė, kad analizuotų fermentinių aktyvumų pasiskirstymas frakcijose, gautose po separavimo, priklausė nuo žaliavos terminio apdorojimo būdo ir tirpių baltymų kiekio frakcijose.

Terminiškai neapdorotuose kukurūzų perdirbimo atliekose proteolitinio aktyvumo vertės svyravo ribose nuo 20 PAV/100 g (K3) ir 27,7-32,0 PAV/100 g (K4 ir K5 frakcijos) iki 38,4 PAV/100 g (K6 frakcija), o mažiausias fermentinis aktyvumas nustatytas K1 ir K2 frakcijose (atitinkamai 14,9 ir 10,2 PAV/100 g). Didžiausias ksilanazių aktyvumas neapdorotoje žaliavoje

nustatytas K5 frakcijoje (80,8 KAV /100 g), mažesniu ksilanaziniu aktyvumu pasižymėjo K4-K6 frakcijos (77,2-75,5 KAV/100 g), o mažiausias fermentinis aktyvumas nustatytas K1 frakcijoje (70,5 KAV /100 g) (3.18 pav. B).



**3.19 pav.** Proteolitinis (A) ir ksilanolitinis (B) aktyvumai skirtingose kukurūzų žaliavos frakcijose. K – termiškai neapdorota žaliava; EKS – ekstruduota žaliava, IR – infraraudoną spinduliuote apdorota žaliava.

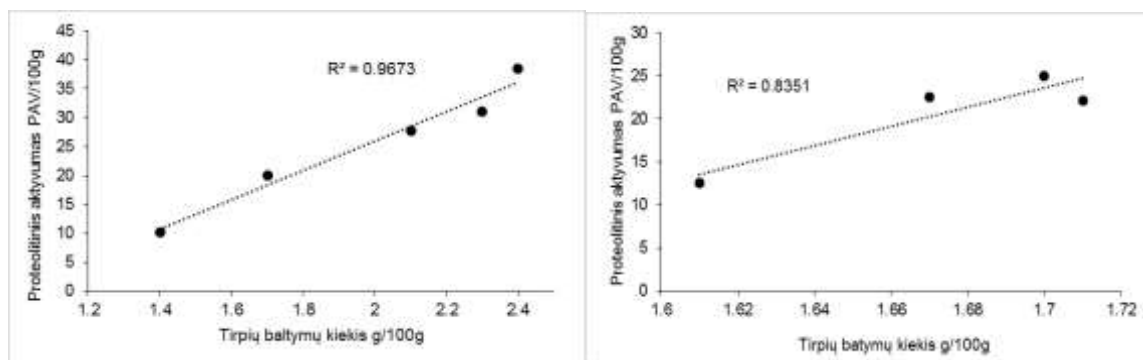
Pagal Gys ir kt. [2004], ksilanazinį ir proteolitinį aktyvumą kviečių grūduose nulemia grūdo paviršiuje susikaupusių mikrobinių fermentų ir pačiame grūde esančių endofermentų aktyvumas. Tokiu būdu, grūdinės žaliavos frakcijose, kuriose mažiau sėlenų, žymiai sumažėja fermentinis aktyvumas [80; 81].

Eksperimentas parodė, kad tiek IR apdorojimas, tiek ekstruzija sumažino analizuotų fermentų aktyvumą kukurūzų šalutiniuose produktuose. Po apdorojimo IR proteolitinis aktyvumas žaliavoje sumažėjo nuo 10,7 iki 29,7 %, lyginant su atitinkamomis termiškai neapdorotos žaliavos frakcijomis. Sumažėjimas stebimas ir EKS kukurūzų žaliavos frakcijose nuo 25 iki 36 % (3.18 pav. A). Ksilanazių aktyvumas IR ir EKS frakcijose sumažėjo, atitinkamai 14,6 iki 20,8 % ir 14,9 iki 20,8 % (3.18 pav. B).

Fermentų aktyvumas galėjo sumažėti dėl temperatūros poveikio baltymų frakcijai ekstrudavimo metu bei apdorojant IR spinduliais. Literatūros duomenimis, Ekstruzijos metu grūdinė žaliava yra veikiamą ne tik temperatūros, bet ir slėgio bei mechaninės jėgos, kas suardo biopolimerų kovalentines jungtis, dėl ko kukurūzų baltymai gali denatūruoti ir tapti netirpiais. Błaszczak ir kt. [82], endospermo baltymų denatūravimo požymius ekstruduotose kviečių granulėse, kas įtakojo amilolitinio aktyvumo ir baltymų kiekio sumažėjimą. Autoriai Li ir Lee [1996] nustatė, kad kviečių miltų ekstrudavimas aukštesnėje nei 160 °C temperatūroje žymiai sumažino kviečių baltymų frakcijų tirpumą [83]. Autoriai Harwey ir kiti [84] tyrė rūgštinių proteazės aktyvumą kukurūzų sėklų endospermo sluoksnio ekstraktuose. Išskirti fermentai

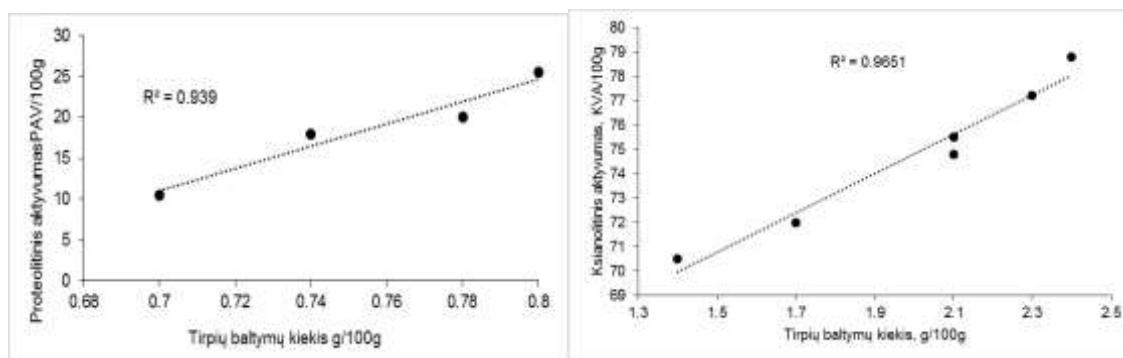
skaldo gliadinus ir albuminus, taip pat fermentas pasižymi endopeptidaziniu veikimu ir veiksmingai skaido zeiną ir gliutelinus. Endopeptidazių veikimas padidina grūdinės žaliavos baltymų frakcijų bioprieinamumą.

Remiantis gautais rezultatais, nustatytos stiprios tiesinės koreliacinės priklausomybės tarp tirpių baltymų kiekio ir proteazinio bei ksilanazinio aktyvumų neapdorotoje ( $R^2= 0,967-0,965$ ), IR apdorotoje ( $R^2= 0,835-0,982$ ) ir ekstruduotoje žaliavoje ( $R^2= 0,939-0,839$ ) (3.20 pav.) atitinka literatūroje pateiktas tendencijas.



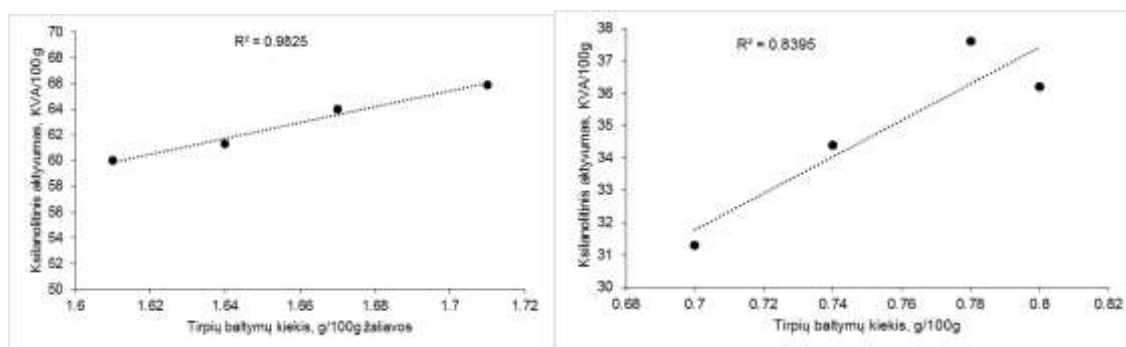
a (K)

b (IR)



c (EKS)

d (K)



e (IR)

f (EKS)

**3.20 pav.** Priklausomybių tarp tirpių vandenyje baltymų ir proteolitinio aktyvumo (a, b, c) ir ksilanolitinio aktyvumo (d, e, f) skirtingose kukurūzų žaliavos frakcijose – neapdorotoje (K), IR spinduliais apdorotoje ir ekstruduotoje.

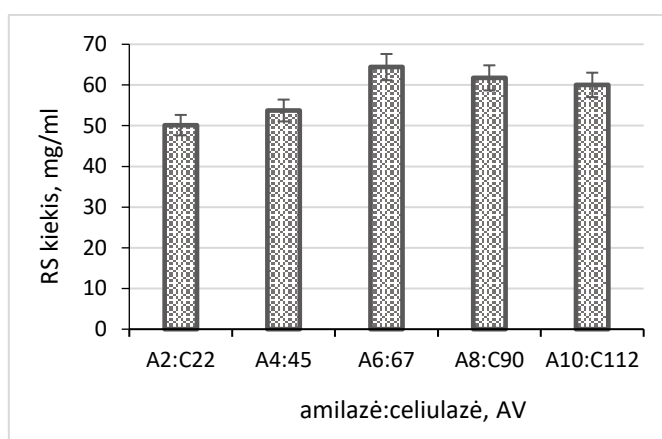


### 3.4.2. Amilolitinių ir hemiceliulolitinių fermentų kompozicijos sudarymas kukurūzų žaliavos hidrolizės ir baltymų išskyrimo efektyvumui padidinti

Ne krakmolo polisacharidus (NSP) skaidančių fermentų celiulazės ir ksilanazės aktyvumai, bei papildomi lydinčių fermentų aktyvumai garantuoja pilną celiuliozės, arabinoksilanų,  $\beta$ -gliukanų ir kt. junginių suskaldymą, kurie randami kviečių, kukurūzų ir kt. grūdų sienelėse. NSP fermentinė hidrolizė palengvina krakmolo ir baltymų atskyrimo procesą, pagerina atskiriamų produktų kokybę bei išėigas. Siekiant padidinti kukurūzų žaliavos hidrolizės ir baltymų išskyrimo efektyvumą, eksperimentui atlikti pasirinktos daugiausiai baltymų turinčios (K6, EK6 ir IR6) kukurūzų žaliavos frakcijos ir nauji amilolitinių ir hemiceliulolitinių fermentų preparatai (Vilzim AMY ir Vilzim NSP).

Pradiniame etape atlikus atskirų krakmolo ir NSP skaidančių fermentinių preparatų įtakos kukurūzų perdirbimo atliekų hidrolizei, sudaryta fermentinė kompozicija, kurioje amilazių ir celiulazių aktyvumų santykis 1:11. Šiame skyriuje pateikti fermentinės kompozicijos įtakos baltymų ekstrakcijos efektyvumui tyrimo rezultatai. Apie proceso efektyvumą buvo sprendžiama pagal redukuojančių sacharidų (RS) susidarymą terpėje ir baltymų frakcijų išėigos pokyčius.

Pirmajame etape optimizuotas fermentų kompozicijos kiekis, naudojant skirtingus jos kiekius (50-200  $\mu$ l) termiškai neapdorotos kukurūzų žaliavos hidrolizei (3.20 pav.). Didžiausias RS kiekis (64.40 mg/100g) susidarė, paveikus žaliavą fermentų aktyvumų santykiu A4:C45 (amilazė/celiulazė). Naudojant mažesnius fermentų kompozicijos kiekius (A2:K22), RS nustatyta 16,6 % mažiau, o didesni fermentų kiekiai mažino RS susidarymą 4.2-6.8 %, lyginant su optimaliu kiekiu (3.21 pav.).



3.21 pav. Fermentų kompozicijos įtaka redukuojančių sacharidų susidarymui (55 °C; 60 min)

Rezultatai parodė, kad apdorojant kukurūzų atliekas pramoniniais fermentų preparatais, galima padidinti baltymų frakcijų ekstrakcijos efektyvumą, priklausomai nuo žaliavos apdorojimo būdo (3.3 lentelė). Naudojant optimalų fermentinės kompozicijos kiekį žaliavos hidrolizei, galima albuminų ir globulinų išėigą iš termiškai neapdorotos žaliavo padidinti, atitinkamai 47,4 ir 38,7 %. Naudojant terminį apdorojimą kukurūzų žaliavos stabilizavimui, šių baltymų frakcijų kiekį galima padidinti, atitinkamai 45,4 ir 48,6 % (EKS); 36,6 ir 28,8 (IR), lyginant su nehidrolizuota žaliava (3.5 lentelė).

**3.5 lentelė.** Skirtingų baltymų frakcijų išėiga (g/100 g) prieš ir po fermentinės hidrolizės, naudojant optimalų fermentinės kompozicijos kiekį.

Kukurūzų žaliavos frakcijos	Albuminai		Globulinai		Prolaminai	
	nehidrolizuota	hidrolizuota	nehidrolizuota	hidrolizuota	nehidrolizuota	hidrolizuota
K	1,79±0,05	2,64	0,62±0,04	0,86	35,82±0,62	49,12
EKS	1,13±0,03	1,68	0,55±0,03	0,80	33,75±0,64	46,56
IR	1,64±0,02	2,24	0,59±0,05	0,76	38,99±0,78	41,81

K – termiškai neapdoroti kukurūzų produktai  
EKS – ekstruduoti kukurūzų produktai  
IR – infraraudonąja spinduliuote apdoroti kukurūzų produktai.

Tyrimo metu nustatyta reikšminga fermentinės hidrolizės įtaka ir prolaminų ekstrakcijos padidėjimui. Po fermentinės hidrolizės, šių baltymų kiekis išskirtas iš neapdorotos (K) žaliavos padidėjo 22,2 % (3.3 lentelė). Tuo tarpu iš EKS ir IR žaliavos prolaminų išėiga po fermentinės hidrolizės padidėjo, atitinkamai 24,5 ir 16,8 %.

Apibendrinus gautus rezultatus, galima teigti, kad didžiausias fermentinės hidrolizės poveikis nustatytas, ekstrahuojant baltymus iš ekstrudotos žaliavos.

Ekstruzijos proceso metu stebimas albuminų, globulinų, prolaminų ir gliutelinų baltymų kiekio mažėjimas. Mokslininkų Vivas ir kiti [85] bei Rojas-Molina ir kiti [86] manymu baltymų kiekio sumažėjimas po ekstruzijos proceso iš esmės aiškinamas baltymų tirpumo pokyčiais. Kai kurie tyrimai rodo, kad, ekstruzijos proceso metu, kukurūzų baltymai, ypač prolaminų frakcija, gali būti išlaisvinami iš baltymo struktūros, kas pakeičia baltymo tirpumą ir gaminami klampūs polimerai. Moreno-Rivas [87] tyrimų duomenimis ekstruzija padidina mažos molekulinės masės zeino baltymų tirpumą. Mokslininkai Sarker ir kiti [88] bei Boeriu [89] padarė išvada, kad arabinoksilanas gali formuoti kompleksus su baltymais. Ksilanzė hidrolizuoja arabinoksilaną į mažesnius vienetus kas gali įtakoti didesnę šių fragmentų sąveiką per savo laisvas ferulines grupes sąveikaujant su aromatinėmis baltymų grupėmis ir tokiu būdu padidinti neekstrahuojamų

baltymų frakciją. Cowieson ir kiti [90] teigia, kad fermentų veikimas kukurūzų produktuose pagerino krakmolo virškinamumą susijusį su endogeninės alfa-amilazės padidėjimu, pagerino prieinamumą prie ląstelių sumažinant ląstelės sienelės vientisumą, žarnyno mikrobu modifikacijos, pagerino baltymų tirpumą ir virškinamumą ir sumažino maistinę vertę mažinančių veiksnių įtaką.

Naudojami kompleksiška amilolitiniai fermentai ir hemiceliulazės leidžia padidinti grūdinės žaliavos perdirbimo atliekų fermentinės hidrolizės efektyvumą, o tuo pačiu sudaro galimybes didesniems baltymų frakcijų kiekiams išgauti.

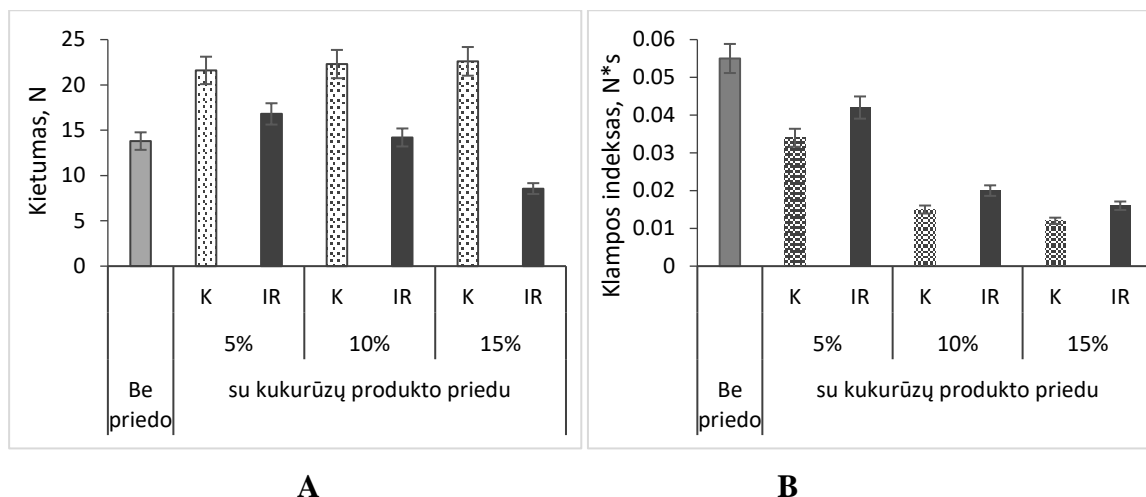
### **3.5. KUKURŪZŲ PERDIRBIMO ŠALUTINIŲ PRODUKTŲ ĮTAKA RUGINIŲ KEPINIŲ KOKYBEI**

Šio darbo etapo tikslas buvo įvertinti kukurūzų perdirbimo šalutinių produktų priedų turtingų baltymais panaudojimo galimybes ruginių kepinų gamybai.

#### **3.5.1. Kukurūzų atliekų fermentuotų produktų įtaka ruginės tešlos tekstūrai**

Kukurūzų žaliavos priedo ir terminio apdoravimo įtakos tešlos tekstūros savybėms tyrimo rezultatai pateikti 3.21-3.23 pav.

Tyrimo metu nustatyta, kad kukurūzų termiškai neapdorotų šalutinių produktų (K) 5, 10 ir 15 % priedai didina ruginės tešlos kietumą. Analizuojant termiškai apdorotų kukurūzų produktų įtaką ruginės tešlos tekstūrai, pastebėta, kad ruošta su šiuo priedu tešla pasižymi mažesniu kietumu. Pridėjus 5, 10 ir 15 % IR kukurūzų priedo, tešlos kietumo vertės sumažėjo, atitinkamai 22,2, 36,3 ir 62,1 %, lyginant su termiškai neapdorota žaliava (3.22 pav. A). Mažiausias kietumas (13,82 N) nustatytas tešlos, ruoštos be kukurūzų šalutinių produktų priedo (kontrolinis mėginys).



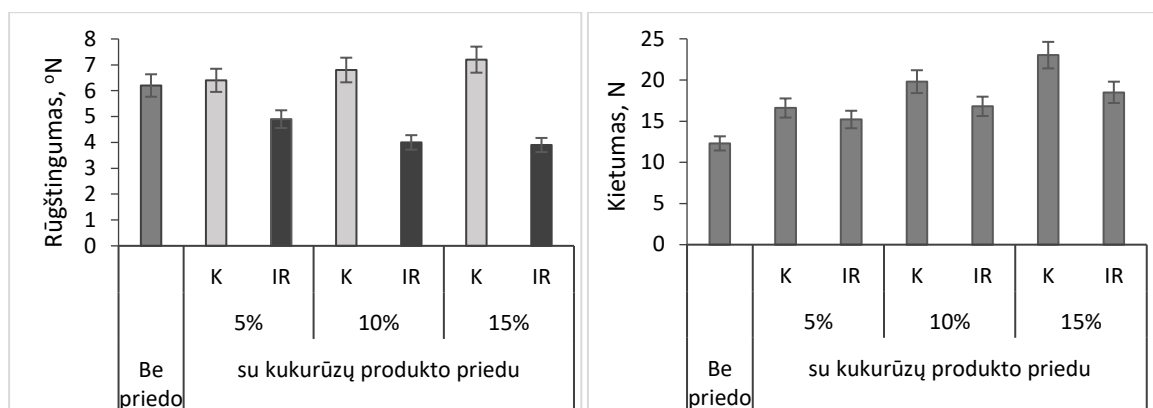
**3.22 pav.** Kukurūzų produktų priedo (5, 10, 15 %) įtaka tešlos kietumui (A) ir klampai (B). K – termiškai neapdorota kukurūzų žaliava; IR – infraraudonąja spinduliuote apdorota žaliava.

Tešlos klampumo analizė parodė, kad kukurūzų žaliavos priedas mažino šį rodiklį (3.21 pav. B). Didesnėmis nei kontrolinio mėginio klampos indekso vertėmis pasižymėjo tešla su 5 g/100 g neapdorotų kukurūzų priedu (0,034 N·s), o mažiausiomis – tešla su 15 g/100 g kukurūzų priedu (0,012 N·s). Pridėjus į tešlą 10 ir 15 g/100 g termiškai apdorotų kukurūzų produktų priedą, tešlos klampos indekso vertės padidėjo, atitinkamai 19 ir 25 %, lyginant su neapdorota žaliava (3.22 pav.).

### 3.5.2. Kukurūzų perdirbimo šalutinių produktų priedo įtaka kepinų kokybei

Terminio apdorojimo ir kukurūzų priedo įtakos rezultatai duonos minkštimo rūgštingumui ir kokybės parametrams pateikti 3.23 ir 3.24 paveiksluose. Tyrimo metu nustatyta, kad kukurūzų produktų priedas kvietinės duonos kokybę įtakojo nevienareikšmiškai. Pridėjus į tešlą 10 ir 15 g/100 g termiškai neapdorotos kukurūzų žaliavos priedo, ruginių kepinų minkštimo rūgštingumas padidėjo, atitinkamai 8,9 ir 13,8 %, o termiškai apdorotos žaliavos priedas 5 g/100 g ir 10-15 g/100 g tešlos rūgštingumą sumažino 21 % ir vidutiniškai 36 %, lyginant su kontroliniu kepinu (6,2 °N) (3.22 pav. A).

Iš gautų rezultatų matyti, kad kukurūzų žaliavos priedas padidino kepinų minkštimo kietumą. Didžiausias kietumas nustatytas kepinio, ruošto su 15 % termiškai neapdorotų kukurūzų produktų priedu (23,02 N). Naudojant 5 ir 10 g/100 g šio priedo, kepinų minkštimo kietumas nustatytas didesnis, atitinkamai 35,0, 60,0 ir 87,2 %, lyginant su kontroliniu kepinu, ruoštu be kukurūzų priedo (12,3 N). Naudojant duonos gamybai IR kukurūzų priedą (5, 10 ir 15 %), kepinų minkštimo kietumas nustatytas mažesnis, atitinkamai 6,7, 17,6 ir 19,5 %, lyginant su neapdorotos žaliavos priedu (3.22 pav. B).

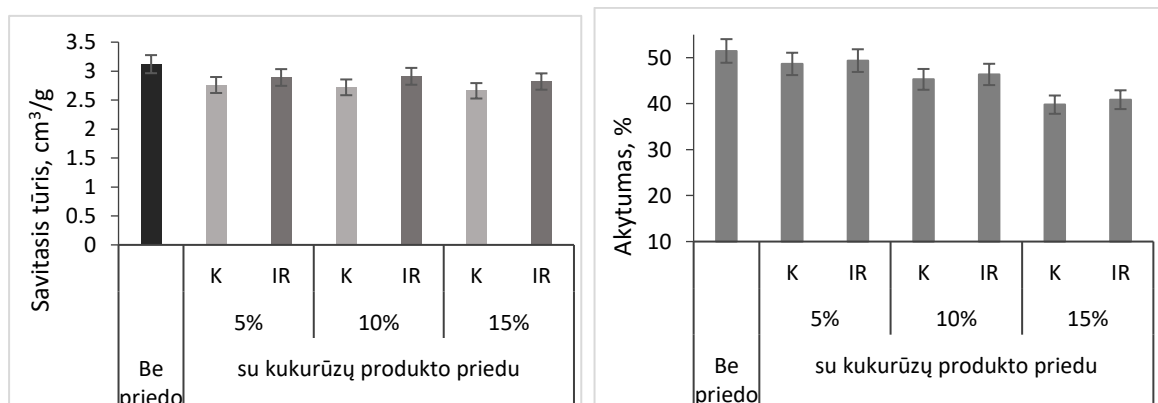


**A**

**B**

**3.23 pav.** Neapdorotų ir IR apdorotų kukurūzų produktų priedo (5, 10, 15 %) įtaka duonos minkštimo titruojamajam rūgštingumui (A) ir kietumui (B). K – termiškai neapdorota kukurūzų žaliava; IR – infraraudonąja spinduliuote apdorota žaliava.

Didžiausiomis savitojo tūrio ir akytumo vertėmis pasižymėjo kontrolinis kepinys, ruoštas be kukurūzų priedo (atitinkamai 3,12 cm<sup>3</sup>/g ir 51,46 %) (3.23 pav.). Kukurūzų šalutinių produktų 5-15 g/100 g priedai sumažino kepinų savitąjį tūrį ir akytumą vidutiniškai 12,9 % ir 14,9 %, lyginant su kontroliniu kepiniumi; o termiškai apdorotos žaliavos priedai nežymiai didino kepinų savitąjį tūrį ir minkštimo akytumą, atitinkamai 6,2 % ir 2,2 %, lyginant su neapdorota žaliava (3.23 pav.).



**A**

**B**

**3.24 pav.** Neapdorotų ir IR apdorotų kukurūzų produktų priedo (5, 10, 15 %) įtaka duonos minkštimo savitajam tūriui (A) ir akytumui (B). K – termiškai neapdorota kukurūzų žaliava; IR – infraraudonąja spinduliuote apdorota žaliava.

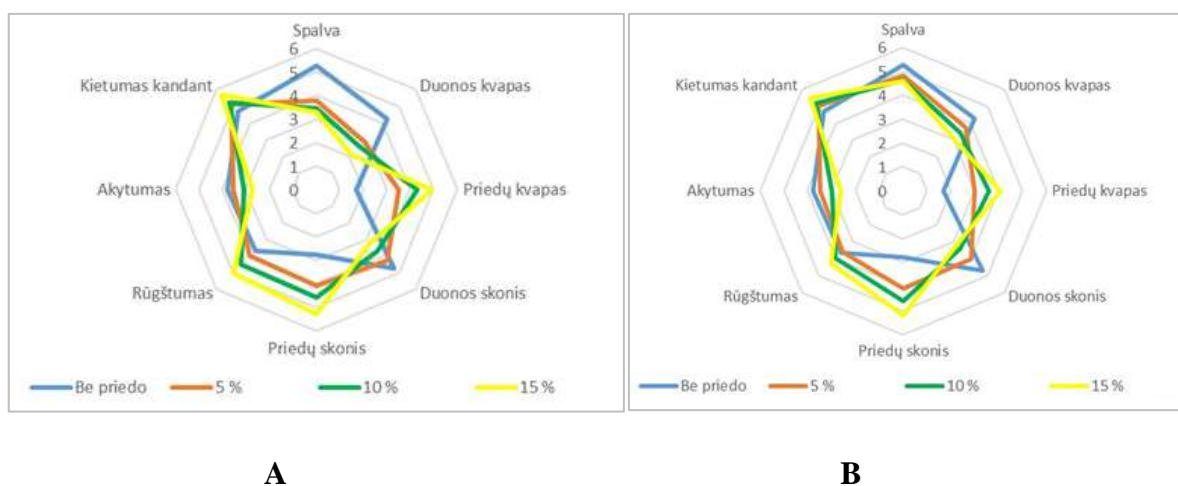
Nors gauti kepinų tekstūros tyrimo rezultatai rodo, kad kukurūzų šalutinių produktų priedas mažina ruginių kepinų tūrį ir akytumą, tačiau naudojant atitinkamą kiekį termiškai

apdorotų fermentuotų kukurūzų priedą, galima sumažinti duonos minkštimo rūgštingumą ir pagerinti kepinių kokybės rodiklius.

### 3.5.3. Kukurūzų perdirbimo šalutinių produktų priedo įtaka kepinių juslinėms savybėms ir priimtinumui

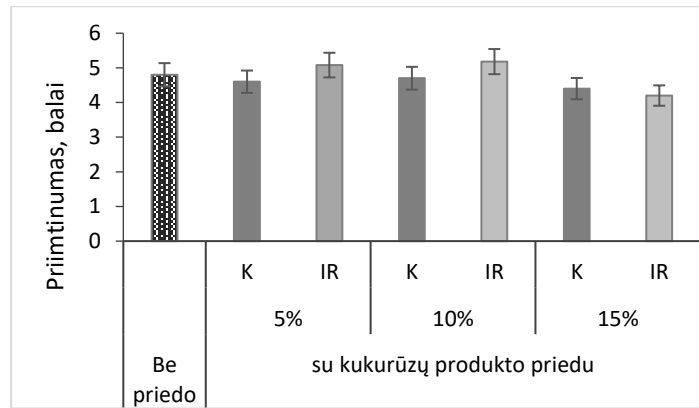
Ruginės duonos su neapdorotų ir termiškai apdorotų kukurūzų produktų priedu juslinių savybių ir priimtimumo tyrimo rezultatai pateikti 3.25 ir 3.26 paveiksluose.

Juslinė analizė parodė, kad kukurūzų žaliavos priedai suteikė ruginiams kepiniams šviesesnę spalvą, įtakojo duonos kvapą ir skonį, padidindami priedo kvapo ir skonio intensyvumą. Kukurūzų žaliavos priedai didino minkštimo rūgštingumą, ir padidino kietumą kandant (3.25 pav. A). Kepiniai, ruošti su termiškai apdorotos kukurūzų žaliavos priedu, pasižymėjo tamsesne spalva, silpniau jaučiamu priedų kvapu ir skoniu, didesniu duonos skoniu ir kvapo intensyvumu, mažesniu kietumu kandant (3.25 pav. B).



**3.25 pav.** Neapdorotų (A) ir termiškai apdorotų (B) kukurūzų produktų priedo (5, 10, 15 %) įtaka duonos juslinėms savybėms.

Tyrimo metu nenustatyta reikšminga kukurūzų žaliavos priedo įtaka kepinių priimtinumui. Kepiniai su termiškai neapdorotu šių produktų priedu buvo kiek mažiau priimtini vartotojui, nei kontrolinis kepinys (3.26 pav.). Mažiausiai priimtinais įvertinti kepiniai su 15 % kukurūzų žaliavos priedu (4.2 balai). Priimtinausiais įvertinti kepiniai su 5 ir 10 % IR kukurūzų produktų priedu, šie kepiniai vartotojui buvo priimtinesni 5,5 ir 7,3 % nei kontrolinis kepinys (4.8 balai).



**3.26 pav.** Neapdorotų (K) ir IR apdorotų (IR) kukurūzų produktų priedo (5, 10, 15 %) įtaka kepinių priimtinumui.

Pagal Juodeikienė ir kt. [91] tyrimų duomenis, *Pediococcus pentosaceus* fermentuotų ekstruduotų kviečių produktų priedai mažina kepinių minkštimo tekstūros rodiklius. Literatūros duomenimis, dekstrinai mažina amilopektino rekristalizaciją ir stabdo minkštimo kietumą didinančio krakmolo ir glitimo kompleksų susidarymą [Kim et al., 2009]. Tyrimo rezultatai parodė, kad termiškai apdorotų kukurūzų perdirbimo šalutinių produktų 10 % priedas, fermentuotas priobiotinėmis PRB – *P. pentosaceus*, kurios kukurūzų terpėje produkuoja bioaktyvius metabolitus, pagerina ruginių kepinių kokybės rodiklius ir yra priimtini vartotojui, lyginant su nefermentuota žaliava, todėl šiuos fermentuotus kukurūzų produktus galima rekomenduoti duonos gamybai kepinių maistinei vertei padidinti ir saugai užtikrinti.

## IŠVADOS

1. Terminis apdorojimas (ekstruzija ir IR) padidino kukurūzų baltymų frakcijų (albuminų, globulinų ir prolaminų) tirpumą ir vandens įgėrimą ir turėjo statistiškai reikšmingos ( $p < 0.05$ ) įtakos jų funkcinėms savybėms, kurios priklausė nuo terpės pH ir žaliavos terminio apdorojimo būdo:
  - a) albuminų ir globulinų iš ekstrudotos ir IR žaliavos putų sudarymo pajėgumas ir stabilumas nustatyti mažesni vidutiniškai 16 % ir 7 %, o emulsijos susidarymo aktyvumas ir stabilumas – 15 % ir 3 %, lyginant su neapdorotos žaliavos baltymų frakcijomis;
  - b) didžiausios analizuotų rodiklių vertės nustatytos, esant terpės pH 9, mažiausios – pH 4, nepriklausomai nuo terminio apdorojimo būdo.
2. Fermentacija PRB teigiamai įtakojo kukurūzų baltymų funkcinės savybes, priklausomai nuo naudotos PRB ir fermentacijos trukmės:
  - a) Vidutiniškai padidino 35 % albuminų ekstraktyvumą, albuminų putų ir emulsijos sudarymo pajėgumą ir stabilumą, reikšmingai įtakojo globulinų emulsijos stabilumą ( $F = 2.266$ ,  $P < 0.0001$ ), ir putų susidarymo pajėgumą ( $F = 2.306$ ,  $P < 0.0001$ ) prolaminų frakcijos ekstraktyvumui reikšminga fermentacijos įtaka nenustatyta;
  - b) padidino 18 % prolaminų virškinamumą, kuriam nustatyta reikšminga PRB įtaka ( $F = 2.262$ ,  $P < 0.0001$ ) ir įtakojo hidrolizės proteazėmis laipsnį;
  - c) fermentacija *P. acidilactici* bakterijomis turėjo didesnę įtaką baltymų frakcijų iš IR apdorotos žaliavos funkcinų savybių pokyčiams nei fermentacija *L. sakei*.
3. Nustatyta, kad kukurūzų atliekos yra tinkama terpė antioksidacinėmis ir antigrybinėmis savybėmis pasižyminčių metabolitų gamybai *Pediococcus* spp. bakterijomis, priklausomai ( $p < 0.05$ ) nuo fermentacijos trukmės:
  - a) didžiausi fenolinių junginių kiekiai nustatyti EKS zeino frakcijoje (0,14 GAEmg/g), o mažiausias – K frakcijoje (0,11 GAEmg/g);
  - b) naudojant 48 h fermentaciją *P. acidilactici* galima prolaminų antioksidacinį aktyvumą padidinti vidutiniškai 10 %, priklausomai nuo žaliavos terminio apdorojimo būdo.
  - c) antigrybiniu aktyvumu prieš *Fusarium graminearum* pelėsius pasižymėjo *P. acidilactici*, Pp8, Pp9 ir Pp10 metabolitai, gauti po 48 h fermentacijos IR ir EKS terpėse, o aktyvių prieš *F. culmorum* metabolitų gamyba pasižymėjo Pp9 ir Pp8 bakterijos (48 h IR) ir Pa (48 h K).



4. Proteolitinių ir ksilanolitinių fermentų aktyvumą pasiskirstymas kukurūzų žaliavoje priklausė nuo žaliavos terminio apdorojimo būdo ir tirpių baltymų kiekio. Terminis apdorojimas tiek EKS, tiek IR sumažino analizuotų fermentų aktyvumą kukurūzų šalutiniuose produktuose;
  - a) nauji amilolitiniai ir ksilanolitiniai fermentų preparatai efektyviai ir reikšmingai (50 % ir 30 %) padidino baltymų frakcijų ekstrakcijos efektyvumą, priklausomai nuo žaliavos apdorojimo būdo. Naudojant terminį apdorojimą kukurūzų žaliavos stabilizavimui, šių baltymų frakcijų kiekį galima padidinti, atitinkamai 17,8 % ir 12,2 % (EKS), ir vidutiniškai 10,3 % (IR), lyginant su nehidrolizuota žaliava.
5. Terminiškai apdorotų kukurūzų perdirbimo šalutinių produktų 10 % priedas, fermentuotas *P. pentosaceus*, kukurūzų terpėje produkuojanti bioaktyvius metabolitus, pagerina ruginių kepinų kokybės rodiklius ir priimtinumą vartotojui, lyginant su nefermentuota žaliava, todėl šiuos fermentuotus kukurūzų produktus galima rekomenduoti duonos gamybai kepinų maistinei vertei padidinti ir saugai užtikrinti.

## Bibliografinių nuorodų sąrašas

1. Atli Arnarson. *Corn: Nutrition Facts and Health Benefits*. Authority Nutrition, 2015.
2. Food and agriculture organization of the united nations (FAO). *Maize in human nutrition*. No. 25 [žiūrėta 2016 m spalio 19 d.] Prieigą per internetą:  
[http://www.fao.org/docrep/t0395e/T0395E01.htm#Types of maize](http://www.fao.org/docrep/t0395e/T0395E01.htm#Types%20of%20maize).
3. Rome, 1992 Osman M. A. *Effect of traditional fermentation process on the nutrient and antinutrient contents of pearl millet during preparation of Lohoh*. Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences, 2011, vol.10, p. 1–6.
4. Yılmaz, N., Tuncel, N. B., Kocabıyık, H. *Infrared stabilization of rice bran and its effects on  $\gamma$ -oryzanol content, tocopherols and fatty acid composition*. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2013, vol. 94(8), p.1568–1576.
5. Abedel-Hady, A.S., Hassan, A.B., Ali, I.M., Babiker, E. *Antinutritional factors content and availability of protein, starch and mineral of maize (*Zea mays linnanus*) and lentil (*Lens culinaris*) as influenced by domestic processing*. J. Food Technol. 2005, vol.3, p.523–528.
6. Shultz S. *Corn*. Journal of Agricultural & Food Information, 2008 p.101-114. [žiūrėta 2016 m sausio 17 d.]  
Prieigą per internetą: <http://dxdoi.org/10.1080/10496500802173905>
7. Shukla R, Cheryan M. *Zein: the industrial protein from corn*. Industrial Crops and Products, 2001, vol.13, Issue 3, p.171–192.
8. Osborn T.B. *The vegetable proteins*. New York, 1924 p. 9 – 25.
9. Eckhoff SR. *Wet Milling*. Encyclopedia of grain science, 2004, vol. 2, p. 225–241.
10. Paulis J.W and Wall J.S. *Albumins and Globulins in Extracts of Corn Grain Parts* Advances in Cereal Science and Technology, 1969, vol. II.
11. O’Kennedy K. *Characterisation of zein from South African maize of varying endosperm texture*. Department of Food Science, 2011, p.10 – 39.
12. McKinney, L.L. *Zein*. The Encyclopedia of Chemistry, New York, 1958 p. 319-332.
13. Esen A. *A proposed nomenclature for the alcohol-soluble proteins (zeins) of maize (*Zea mays L.*)*. Journal of Cereal Science, 1987, vol. 5, p.117-128.
14. Anderson T.J and Lamsal B.P. *Zein extraction from corn, corn products, and coproducts and modifications for various applications*. A Review. 2011, vol. 88, No. 2.
15. Nuss E. T, Tanumihardjo S.A. *Maize: A paramount staple crop in the context of global nutrition*. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 2010, vol. 9, p.417–436.
16. Lawton J.W. *Zein: A History of Processing and Use*. Cereal Chemistry Journal, 2002, vol. 79, No 1.

17. Wallace J. C, Lopes M.A, Paiva E, and Larkins B. A. *New Methods for Extraction and Quantitation of Zeins Reveal a High Content of 'y-Zein in Modified opaque-2 Maize*1. *Plant Physiol*, 1990, vol. 92, p. 191-196.
18. Gwirtz J.A and Garcia-Casa M. N. *Processing maize flour and corn meal food products*. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 2014, p.66–75. ISSN 0077-8923.
19. Zayas J. F. and Lin C. S. *Emulsifying Properties of Corn Germ Proteins*. *Cereal Chem.* 1989, vol. 66, No. 4, p.263-267.
20. Hall G. M. *Methods of Testing Protein Functionality*. Department of chemical engineering loughborough University of Technology, London, 1996, p.2 – 27.
21. Phillips R. D and Sternberg M. *Corn protein concentrate: Functional and nutritional properties*. *Journal of Food Science*, 2006, vol.44 (4), p1152–1155.
22. Qianchun Deng, Lan Wang, Fang Wei, Bijun Xie, FengHong Huang, Wen Huang, John Shi, Qingde Huang, Binqiang Tian, Sophia Xue. *Functional properties of protein isolates, globulin and albumin extracted from Ginkgo biloba seeds*. *Food chemistry* 2011 vol.124, No.4 p. 1458-1465
23. Rossana C, Rizzello C. G, Pinto D, and Gobbetti M. *Selected Lactic Acid Bacteria Synthesize Antioxidant Peptides during Sourdough Fermentation of Cereal Flours*. *Applied and Environmental Microbiology*, 2012, vol.78(4), p.1087-1096.
24. Ryan Elizabeth P., Adam L. Heuberger, Tiffany L. Weir, Barnett B, Broeckling C. D., and Jessica E. Prenni. *Rice Bran Fermented with Saccharomyces boulardii Generates Novel Metabolite Profiles with Bioactivity*. *J. Agric. Food Chem.* 2011, vol. 59, p.1862–1870.
25. Randhir R, Kwon Y, Shetty K. *Effect of thermal processing on phenolics, antioxidant activity and health-relevant functionality of select grain sprouts and seedlings*. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 2008, vol. 9 (3), p.355–364.
26. Demir M. K. & Elgün A. *Comparison of autoclave, microwave, IR and UV-C stabilization of whole wheat flour branny fractions upon the nutritional properties of whole wheat bread*. *J Food Sci Technol*, 2014, vol. 51(1) p.59–66.
27. Vadivambal R. & Digvir S. J. *Applications of Thermal Imaging in Agriculture and Food Industry*. Review 2010.
28. Brennan C, Brennan M, Derbyshire E and Tiwari B K. *Effects of extrusion on the polyphenols, vitamins and antioxidant activity of foods*. *Trends in Food Science & Technology*, 2011, vol. 22 (10), p. 570–575.
29. Helen T. Zewdie and Mammo. *The Significance of Whole Grain Teff for Improving Nutrition: From Injera to Ready to Eat Porridge by Using Extrusion Cooking Technology*. *International Journal of African Development*, 2015, vol. 2 (1) , Article 5.

30. Digaitiene A., Hansen A. S., Juodeikiene G., Eidukonyte D., Josephsen J. *Journal of Applied Microbiology*, 2012.
31. LST ISO 712:2010 *Grūdai ir grūdų produktai. Drėgmės kiekio nustatymas. Įprastinis pamatinis metodas*.
32. Redfern J, Kinninmonth M, Burdass D and Verran J. *Using Soxhlet Ethanol Extraction to Produce and Test Plant Material (Essential Oils) for Their Antimicrobial Properties*. 2014 (p. 45–46.) [žiūrėta 2015 m kovo 22 d.] Prieiga per internetą: <http://dxdoi:10.1128/jmbe.v15i1.656>
33. Malumbaa P, Vanderghema C, Deroannea C, Béraa F. *Influence of drying temperature on the solubility, the purity of isolates and the electrophoretic patterns of corn proteins*. *Food chemistry*, 2008 vol. 111 (3), p. 564–572.
34. Berk Z. *Food Process Engineering and Technology*. 2013 ISBN: 9780124159860
35. Kjeldalio metodas ISO 20483:2006. *Varpinių ir ankštinių javų grūdai. Azoto kiekio nustatymas ir žalių baltymų kiekio apskaičiavimas*. Vilnius. Lietuvos standartizacijos departamentas, 2006.
36. Paulauskienė A. *Maisto chemija*. ASU laboratorinių darbų aprašai (psl. 23-26), 2012 Kaunas.
37. Vidmantienė D, Juodeikienė G. *Kai kurie biologiniai grūdinės žaliavos fermentacijos procesų inhibitoriai ir jų vertinimo aspektai*. Mokomoji knyga, 2012 Kaunas.
38. Sorensen H, Sorensen S, Bjerregaard C, Michaelsen S. *Chromatography and Capillary Electrophoresis in Food Analysis*. 1999, ISBN: 978-1-84755-052-1.
39. Singha B, Sekhona K.S, Singh N. *Effects of moisture, temperature and level of pea grits on extrusion behaviour and product characteristics of rice*. *Food chemistry*, 2007, vol. 100 (1), p.198–202.
40. Sanchez C.S, Gonzalez C, Rodriguez P, Rosa B. *Functional and Rheological Properties of Amaranth Albumins Extracted From Two Mexican Varieties*. *Plant Foods for Human Nutrition*, 2004, vol. 59 (4), p. 169–174.
41. H. Lqari, J. Vioque, J. Pedroche, F. Milla. *Lupinus angustifolius protein isolates: chemical composition, functional properties and protein characterization*. *Food chemistry*, 2002, vol. 76 (3), p349–356.
42. Adler-Nissen J. *Determination of the degree of hydrolysis of food protein hydrolysate by trinitrobenzensulfonic acid*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1979, vol 27. No 6 p. 1256, [žiūrėta 2016 m balandžio 10 d.] Prieiga per internetą: <http://dxdoi:10.1021/jf60226a042>.

43. Ning Tang and Hong Zhuang. *Evaluation of Antioxidant Activities of Zein Protein Fractions*. Dept. of Food Science and Engineering, 2014, vol. 79 (11) p. C2174–C2184.
44. Juodeikienė G, Čižeikienė D, Českevičiūtė V, Vidmantienė D, Bašinskienė L, Akuneca I, Stankevičius M, Maruška A, Bartkienė E, Ragažinskienė O ir Petrauskas A. *Solid-State Fermentation of Silybum marianum L. Seeds Used as Additive to Increase the Nutritional Value of Wheat Bread*. 2013, p. 530, ISSN 1330-9862.
45. Ramamourthy Gopal, Hyungjong Na, Chang Ho Seo and Yoonkyung Park. *Antifungal Activity of (KW)<sub>n</sub> or (RW)<sub>n</sub> Peptide against Fusarium solani and Fusarium oxysporum*“International Journal of Molecular Sciences, 2012 vol. 13, p. 15042-15053, ISSN 1422-0067.
46. Cupp-Enyard C. *Sigma's Non-specific Protease Activity Assay - Casein as a Substrate*. 2008 [žiūrėta 2016 m gegužės 1 d.] Prieiga per internetą: [http://dx doi: 10.3791/899](http://dx.doi.org/10.3791/899)
47. LST 1553:1998 *Miltiniai kepiniai ir konditerijos gaminiai. Rūgštingumo ir šarmingumo nustatymo metodai*.
48. ICC 131:1995 *Kepinio savitojo tūrio nustatymas*.
49. LST 1442:1996 *Duona ir pyrago gaminiai. Akytumo nustatymas*.
50. LST ISO 11036:2003 *Juslinė analizė. Metodika. Tekstūros profilis*.
51. LST ISO 6564:2003 *Juslinė analizė. Metodika. Skonio ir kvapo profilio metodai*.
52. Malumba P., Odjo, S., Boudry, C., Danthine, S., Bindelle, J., Beckers, Y., et al. Physicochemical characterization and in vitro assessment of the nutritive value of starch yield from corn dried at different temperatures. *Starch/Stärke*, 2014, vol. 66, p. 1–11.
53. Schwenzfeier A, Wierenga A.P, Gruppen H. *Isolation and characterization of soluble protein from the green microalgae Tetraselmis sp.* Bioresource technology, 2011, vol. 102 (19), p.9121–9127.
54. Mila P. Hojilla-Evangelista. *Extraction and Functional Properties of Non-Zein Proteins in Corn Germ from Wet-Milling*. Journal of the American Oil Chemists' Society, 2012, vol. 89 (1), p. 167–174.
55. Maruatona N.G, Duodua G.K, Minnaar A. *Physicochemical, nutritional and functional properties of marama bean flour*. Food chemistry, 2010, vol. 121 (2) , p. 400–405.
56. J. Pedroche, M.M. Yust, H. Lqari, J. Giron-Calle, M. Alaiz, J. Vioque, F. Millan. *Brassica carinata protein isolates: chemical composition, protein characterization and improvement of functional properties by protein hydrolysis*. Food chemistry, 2004, Volume 88 (3), p.337–346.

57. Singh N, Kaur M & Singh K.S. *Physicochemical and Functional Properties of Freeze-Dried and Oven Dried Corn Gluten Meals*. *Drying Technology An International Journal*, 2005, vol. 23 (4), p. 975-988.
58. Jayasena V, Chih H.J and Nasar-Abbas S.M. *Functional properties of Australian sweet lupin protein isolated and tested at various pH levels*. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*, 2010, vol. 6 (2), p. 130-137.
59. Obatolua V.A, Coleb A.H. *Functional property of complementary blends of soybean and cowpea with malted or unmalted maize*. *Food Chemistry*, 2000, vol. 70 (2), 1 p. 147–153.
60. Čizeikienė D., Juodeikienė G., Paškevičius A. and Bartkienė E. *Antimicrobial activity of lactic acid bacteria against pathogenic and spoilage microorganism isolated from food and their control in wheat bread*. *Food Control*, 2013, vol. 31, p. 539-545.
61. Yousif N.E, Tinay A.H. *Effect of fermentation on protein fractions and in vitro protein digestibility of maize*. *Food Chemistry*, 2000, vol. 70 (2), p. 181–184. [žiūrėta 2016 m kovo 19 d.]. Prieiga per internetą: [http://dx.doi.org/10.1016/S0308-8146\(00\)00069-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0308-8146(00)00069-8)
62. Oyeyiola G.P. *Microbiological and biochemical changes during the fermentation of maize (Zea mays) grains for masa production*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 1990, vol. 6 p. 171-177.
63. Klupšaitė D, Juodeikienė G, Žadeikė D, Bartkienė E, Maknickienė Z, Liutkutė G. *The influence of lactic acid fermentation on functional properties of narrow-leaved lupine protein as functional additive for higher value wheat bread*. *Food Science and Technology*, 2017, vol.75, p. 180–186.
64. Lampart-Szczapaa E, Koniecznyb P, Nogala-Kałużkaa M, Walczaka S, Kossowskac I, Malinowskac M. *Some functional properties of lupin proteins modified by lactic fermentation and extrusion*. *Food Chemistry*, 2006, vol. 96 (2), p. 290–296.
65. Umoh V, Fields M. *Fermentation of Corn for Nigerian Agidi*. *Food Science*, 1981, vol. 46 (3), p. 903–905. [žiūrėta 2016 m balandžio 9 d.]. Prieiga per internetą: <http://dxdoi:10.1111/j.1365-2621.1981.tb15376.x>.
66. Hamad M.A, Fields M.L. *Evaluation of the protein quality and available lysine of germinated and fermented cereals*. *Food Science*, 1979, vol. 44 (2), p. 456–459.
67. Krunglevičiūtė V, Starkutė V, Bartkienė E, Bartkevics V, Juodeikienė G, Vidmantienė D, Maknickienė Z. *Design of lupin seeds lactic acid fermentation – changes of digestibility, amino acid profile and antioxidant activity*. *Veterinarija ir Zootechnika*, 2016, p. 47 – 52, ISSN 1392-2130.

68. Elyas S.H.A, Tinay A.H, Yousif E.N, Elsheikh E.E. *Effect of natural fermentation on nutritive value and in vitro protein digestibility of pearl millet*. Food Chemistry, 2002, vol. 78 (1), p. 75–79.
69. Tang N, Zhuang H. *Evaluation of Antioxidant Activities of Zein Protein Fractions*. Food Science, 2014, vol. 79 (11), p. C2174–C2184.
70. Xi-qun ZhengLi-te LiEmail authorXiao-lan LiuXiao-jie WangJie LinDi Li. *Production of hydrolysate with antioxidative activity by enzymatic hydrolysis of extruded corn gluten*. Applied Microbiology and Biotechnology, 2006, vol. 73 (4), p. 763–770.
71. Soria-Hernández C, Serna-Saldívar S and Chuck-Hernández C. *Physicochemical and Functional Properties of Vegetable and Cereal Proteins as Potential Sources of Novel Food Ingredients*. Food Technology and Biotechnology, 2015, vol. 53(3) p. 269–277, ISSN 1330-9862.
72. Selling G.W, Utt K.D. Effect of multiple extrusion passes on zein. Polymer Degradation and Stability, 2013, vol. 98 (1), p. 184–189.
73. Wall J. S, James C, and Donaldson G.L. *Corn proteins: Chemical and physical changes during drying of grain*. Northern Regional Research Laboratory, 1974, vol. 52.
74. Kumar R.S, CertikM, Brezova V. *Modulation of phenolic content and antioxidant activity of maize by solid state fermentation with *Thamnidium elegans* CCF 1456*. Biotechnology and Bioprocess Engineering, 2012, vol. 17 (1), p. 109–116.
75. Urias-Lugo D.A, Heredia J.B, Serna-Saldivar S.O, Muy-Rangel M.D. and Valdez-Torres J.B. *Total phenolics, total anthocyanins and antioxidant capacity of native and elite blue maize hybrids (*Zea mays* L.)*. CyTA - Journal of Food, 2014, vol. 13, No. 3, p. 336–339.
76. Mora-Rochina S, Gutiérrez-Uribeb J.A, Serna-Saldivarb S.O, Sánchez-Peña P, Reyes-Moreno C, Milán-Carrillo J. *Phenolic content and antioxidant activity of tortillas produced from pigmented maize processed by conventional nixtamalization or extrusion cooking*. Journal of Cereal Science, 2010, vol. 52 (3), p.502–508.
77. Obradovic V, Babic J, Subaric D. Improvement of nutritional and functional properties of extruded food products. Journal of Food and Nutrition Research, 2014, vol. 53, No. 3, p. 189–206, ISSN 1336-8672.
78. Sørensen J.F, Sibbesen O, Poulsen C.H. *Degree of inhibition by the endogenous wheat xylanase inhibitor controls the functionality of microbial xylanases in dough*. AACC Annual Meeting, 2001.

79. Frederix S.A., Courtin C.M. and Delcour J.A. *Substrate selectivity and inhibitor sensitivity affect xylanase functionality in wheat flour gluten-starch separation*. Journal of Cereal Science, 2004, vol. 40, p. 41-49.
80. Gys W, Gebruers K, Sørensen J.F, Courtin C.M. and Delcour J.A. *Debraning of wheat prior to milling reduces xylanase but not inhibitor activities in wholemeal and flour*. Journal of Cereal Science, 2004, vol. 39, p. 363-369.
81. Dornez E., Joye I.J., Gebruers K., Delcour J.A. and Courtin C.M. *Wheat-Kernel-associated endoxylanases consist of a majority of microbial and minority of wheat endogenous endoxylanases*. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 2006, vol. 54, p. 4028-4034.
82. Błaszczak, W., Gralik, J, Klockiewicz-Kamińska, E., Fornal, J. & Warchalewski, J.R. *Effect of radiation and microwave heating on endosperm microstructure in relation to technological properties of wheat grain*. Nahrung/Food, 2002, vol. 46, No. 2, p. 122-129.
83. Li M and Tung-Ching Lee. *Effect of Extrusion Temperature on Solubility and Molecular Weight Distribution of Wheat Flour Proteins*. J. Agric. Food Chem., 1996, vol. 44 (3), p. 763–768.
84. B. M. R. Harvey A. Oaks. *Characteristics of an Acid Protease from Maize Endosperm*. Plant Physiol., 1974, vol. 53, p. 449-452.
85. Vivas NE, Waniska RD, Rooney LW. *Effect of tortilla production on protein in sorghum and maize*. Cereal Chemistry, 1987 vol. 64 p. 384–389.
86. Rojas-Molina I, Gutiérrez E, Cortés-Acevedo ME et al. *Analysis of quality protein changes in nixtamalized QPM flours as a function of the steeping time*. Cereal Chemistry, 2008, vol. 85 p. 409–416.
87. Silvia Carolina Moreno-Rivas, Concepción Lorenia Medina-Rodríguez, Patricia Isabel Torres-Chávez, Benjamín Ramírez-Wong, Luis Carlos Platt-Lucero. *Changes in the Solubility of Corn Proteins through Interaction with the Arabinoxylans in Extruded Nixtamalized Corn Flour Treated with Xylanase*. Plant Foods Hum Nutr. 2014, vol. 69, 148–154.
88. Sarker DK, Wilde PJ, Clark DC. *Enhancement of protein foam stability by formation of wheat arabinoxylan-protein crosslinks*. Cereal Chemistry, 1998, vol. 75, p. 493–499.
89. Hilhorst R, Dunnewind B, Orsel R et al. *Baking performance, rheology, and chemical composition of wheat dough and gluten affected by xylanase and oxidative enzymes*. J Food Science, 1999, vol. 64, p. 808– 813.
90. Cowieson AJ, Ravindran V. *Effect of exogenous enzymes in maize-based diets varying in nutrient density for young broilers: growth performance and digestibility of energy, minerals and amino acids*. Broiler Poult Sci. 2008, vol. 49 (1) p. 37-44.



91. Juodeikienė G, Šalomskienė J, Bašinskienė L, Vidmantienė D, Narbutaitė V, Kasnauskytė N. *Naujų fermentuotų produktų įtaka kvietinių kepinių mikrobiologiniams rodikliams ir žiedėjimui*. Maisto chemija ir technologija, 2009, vol. 43(2).

92. Kim J. H., Maeda T., Morita N. *Effect of fungal  $\alpha$ -amylase on the dough properties and bread quality of wheat flour substituted with polished flours*. Food Research International. 2006, vol. 39, p. 117–126.

# PRIEDAI

## 1 Priedas

1 lentelė. Kukurūzų žaliavos drėgmės kiekis

Mėginys	Svoris, g	Pradinė mėginio masė, g	Galutinė išdžiovinto mėginio masė su lapeliu	Galutinė išdžiovinto mėginio masė	Drėgmė, %	Vidutinė drėgmė, %
1K	1,068	5,211	5,658	4,59	11,91	11,43
	1,142	5,109	5,672	4,53	11,33	
	1,036	5,239	5,703	4,66	11,05	
2K	0,438	5,117	4,948	4,51	11,86	12,18
	1,023	5,174	5,613	4,59	11,28	
	0,990	5,098	5,450	4,46	12,51	
3K	1,043	5,235	5,613	4,57	12,70	12,46
	1,231	5,194	5,761	4,53	12,78	
	1,102	5,007	5,512	4,41	11,92	
4K	1,140	5,306	5,770	4,63	12,74	12,11
	1,091	5,146	5,601	4,51	12,35	
	1,279	5,152	5,839	4,56	11,49	
5K	1,293	5,122	5,803	4,51	11,55	11,78
	1,162	5,240	5,792	4,63	11,64	
	1,242	5,339	5,832	4,59	12,15	
6K	1,060	5,146	5,481	4,55	11,58	11,27
	1,157	5,014	5,727	4,57	10,25	
	1,012	5,158	5,337	4,52	11,98	
E1	1,637	5,374	6,271	4,79	10,86	10,38
	1,294	5,136	5,894	4,60	10,43	
	1,586	5,040	6,126	4,54	9,86	
E4	1,408	5,250	6,108	4,70	10,47	9,75
	1,394	5,003	5,914	4,52	9,65	
	1,540	5,420	6,302	4,92	9,15	
E5	1,240	4,630	5,401	4,16	10,12	9,73
	1,375	5,107	5,975	4,60	9,92	
	1,526	5,098	6,157	4,63	9,16	

1 lentelės tęsinys

E6	1,570	5,076	6,319	4,60	9,19	9,17
	1,296	5,135	5,956	4,66	9,25	
	1,350	5,390	6,484	4,90	9,07	
IR1	1,457	5,055	6,139	4,68	7,41	7,56
	1,298	5,153	6,038	4,74	8,01	
	1,257	5,079	5,969	4,71	7,26	
IR4	1,305	5,180	6,113	4,80	7,33	7,45
	1,194	5,075	5,884	4,69	7,58	
	1,286	5,100	6,010	4,72	7,45	
IR5	1,212	5,194	6,063	4,79	7,70	7,53
	1,264	5,078	5,964	4,70	7,44	
	1,310	5,004	5,949	4,63	7,47	
IR6	1,460	5,074	6,150	4,69	7,50	7,38
	1,354	5,002	5,984	4,63	7,27	

## 2 PRIEDAS

### Statistinė analizė

Žaliavos terminio apdorojimo būdo įtaka baltymų išeigai ir funkcinėms savybėms

1 lentelė. Albuminų baltymų kiekio priklausomybė nuo terminio apdorojimo būdo

Contrast	Difference	Standardized difference	Critical value	Pr > Diff	Significant
K1 vs E1	1.240	120.298	2.306	< <b>0.0001</b>	Yes
K6 vs E6	0.640	62.089	2.306	< <b>0.0001</b>	Yes
K5 vs E5	0.735	71.305	2.306	< <b>0.0001</b>	Yes
K4 vs E4	0.670	65.000	2.306	< <b>0.0001</b>	Yes
Fisher LSD-value:			0.024		

2 lentelė. Albuminų putų susidarymo priklausomybė nuo terminio apdorojimo būdo

Contrast	Difference	Standardized difference	Critical value	Pr > Diff	Significant
K vs EKS	59.967	3.067	2.571	<b>0.028</b>	Yes
K vs IR	20.927	1.070	2.571	0.333	No
Fisher LSD-value:			50.263		

3 lentelė. Albuminų putų stabilumo priklausomybė nuo terminio apdoravimo būdo

Contrast	Difference	Standardized difference	Critical value	Pr > Diff	Significant
IR vs K	9.450	5.318	2.571	<b>0.003</b>	Yes
K vs EKS	7.010	3.945	2.571	<b>0.011</b>	Yes
Fisher LSD-value:			4.568		

4 lentelė. Globulinų putų susidarymo priklausomybė nuo terminio apdoravimo būdo

Contrast	Difference	Standardized difference	Critical value	Pr > Diff	Significant
K vs EKS	34.983	8.894	2.571	<b>0.000</b>	Yes
K vs IR	15.753	4.005	2.571	<b>0.010</b>	Yes
Fisher LSD-value:			10.112		

5 lentelė. Globulinų putų stabilumo priklausomybė nuo terminio apdoravimo būdo

Contrast	Difference	Standardized difference	Critical value	Pr > Diff	Significant
K vs EKS	8.830	3.521	2.571	<b>0.017</b>	Yes
K vs IR	2.627	1.047	2.571	0.343	No
Fisher LSD-value:			6.446		

6 lentelė. Albuminų emulsijos susidarymo aktyvumo priklausomybė nuo terminio apdoravimo būdo

Contrast	Difference	Standardized difference	Critical value	Pr > Diff	Significant
K vs EKS	6.833	7.491	2.571	<b>0.001</b>	Yes
K vs IR	0.710	0.778	2.571	0.472	No
Fisher LSD-value:			2.345		

7 lentelė. Globulinų emulsijos susidarymo aktyvumo priklausomybė nuo terminio apdoravimo būdo

Contrast	Difference	Standardized difference	Critical value	Pr > Diff	Significant
IR vs K	0.157	0.375	2.571	0.723	No
K vs EKS	6.733	16.117	2.571	<b>&lt; 0.0001</b>	Yes
Fisher LSD-value:			1.074		

8 lentelė. Globulinų vandens įgėrimo priklausomybė nuo terminio apdoravimo būdo

Contrast	Difference	Standardized difference	Critical value	Pr > Diff	Significant
IR 9 vs K 9	0.300	21.213	2.262	<b>&lt; 0.0001</b>	Yes
IR 7 vs K 7	0.410	28.991	2.262	<b>&lt; 0.0001</b>	Yes
EKS 9 vs K 9	0.230	16.263	2.262	<b>&lt; 0.0001</b>	Yes
EKS 7 vs K 7	0.240	16.971	2.262	<b>&lt; 0.0001</b>	Yes
IR 4 vs K 4	0.385	27.224	2.262	<b>&lt; 0.0001</b>	Yes
EKS 4 vs K 4	0.360	25.456	2.262	<b>&lt; 0.0001</b>	Yes
Fisher LSD-value:			0.032		

9 lentelė. Albuminų vandens įgėrimo priklausomybė nuo terpė pH.

Contrast	Difference	Standardized difference	Critical value	Pr > Diff	Significant
EKS 4 vs K 4	0.420	33.089	2.262	< <b>0.0001</b>	Yes
EKS 4 vs IR 4	0.275	21.666	2.262	< <b>0.0001</b>	Yes
IR 9 vs K 9	0.110	8.666	2.262	< <b>0.0001</b>	Yes
IR 9 vs EKS 9	0.105	8.272	2.262	< <b>0.0001</b>	Yes
EKS 9 vs K 9	0.005	0.394	2.262	0.703	No
EKS 7 vs K 7	0.200	15.757	2.262	< <b>0.0001</b>	Yes
EKS 7 vs IR 7	0.075	5.909	2.262	<b>0.000</b>	Yes
IR 7 vs K 7	0.125	9.848	2.262	< <b>0.0001</b>	Yes
IR 4 vs K 4	0.145	11.424	2.262	< <b>0.0001</b>	Yes
Fisher LSD-value:			0.029		

### Fermentacijos įtaka baltymų išėigai ir funkcinėms savybėms

10 lentelė. Globulinų baltymų kiekio priklausomybė

Contrast	Difference	Standardized difference	Critical value	Pr > Diff	Significant
KPa vs K	0.685	14.948	3.182	<b>0.001</b>	Yes
KLs vs K	0.510	11.129	3.182	<b>0.002</b>	Yes
ELs vs EKS	0.200	28.284	3.182	< <b>0.0001</b>	Yes
EPa vs EKS	0.170	24.042	3.182	<b>0.000</b>	Yes
IRLs vs IR	0.170	24.042	3.182	<b>0.000</b>	Yes
IRPa vs IR	0.160	22.627	3.182	<b>0.000</b>	Yes
Fisher LSD-value:			0.146		

11 lentelė. Globulinų putų sudarymo priklausomybė

Contrast	Difference	Standardized difference	Critical value	Pr > Diff	Significant
IR Pa vs IR	65.385	6989.951	2.306	< <b>0.0001</b>	Yes
K Pa vs K	53.135	5680.370	2.306	< <b>0.0001</b>	Yes
E Pa vs EKS	73.620	7870.309	2.306	< <b>0.0001</b>	Yes
IR Ls vs IR	43.940	4697.384	2.306	< <b>0.0001</b>	Yes
K Ls vs K	31.705	2767.439	2.306	< <b>0.0001</b>	Yes
E Ls vs EKS	50.550	5404.022	2.306	< <b>0.0001</b>	Yes
K vs EKS	32.570	3481.879	2.306	< <b>0.0001</b>	Yes
K vs IR	5.100	545.213	2.306	< <b>0.0001</b>	Yes
Fisher LSD-value:			0.022		

12 lentelė. Albuminų vandens įgėrimo priklausomybė

Contrast	Difference	Standardized difference	Critical value	Pr > Diff	Significant
E su Pa 24 vs E	0.487	7.966	2.447	<b>0.000</b>	Yes
E su Ls 24 vs E	0.423	8.897	2.447	<b>0.000</b>	Yes
IR su Pa 24 vs IR	0.383	8.057	2.447	<b>0.000</b>	Yes
IR su Ls 24 vs IR	0.249	5.801	2.447	<b>0.001</b>	Yes
K su Ls 24 vs K	0.155	4.040	2.447	<b>0.007</b>	Yes
Fisher LSD-value:			0.017		

13 lentelė. Globulinų vandens įgėrimo priklausomybė

Contrast	Difference	Standardized difference	Critical value	Pr > Diff	Significant
EPa vs KPa	0.505	12.053	2.262	<b>&lt; 0.0001</b>	Yes
EPa vs EKS	0.290	6.921	2.262	<b>&lt; 0.0001</b>	Yes
ELs vs K	0.465	11.098	2.262	<b>&lt; 0.0001</b>	Yes
ELs vs KPa	0.440	10.501	2.262	<b>&lt; 0.0001</b>	Yes
ELs vs KLS	0.290	6.921	2.262	<b>&lt; 0.0001</b>	Yes
ELs vs EKS	0.225	5.370	2.262	<b>0.000</b>	Yes
ELs vs IRLs	0.215	5.131	2.262	<b>0.001</b>	Yes
IRPa vs IR	0.095	2.267	2.262	<b>0.050</b>	Yes
IR vs K	0.350	8.353	2.262	<b>&lt; 0.0001</b>	Yes
IR vs IRLs	0.100	2.387	2.262	<b>0.041</b>	Yes
IRLs vs K	0.250	5.967	2.262	<b>0.000</b>	Yes
EKS vs K	0.240	5.728	2.262	<b>0.000</b>	Yes
KLS vs K	0.175	4.177	2.262	<b>0.002</b>	Yes
Fisher LSD-value:			0.095		

14 lentelė. Prolaminų frakcijos virškinamumo priklausomybė

Contrast	Difference	Standardized difference	Critical value	Pr > Diff	Significant
IR Ls vs IR	20.285	1656.263	3.182	<b>&lt; 0.0001</b>	Yes
IR Pa vs IR	14.855	1212.906	3.182	<b>&lt; 0.0001</b>	Yes
Fisher LSD-value:			0.039		

15 lentelė. Hidrolizės laipsnio priklausomybė

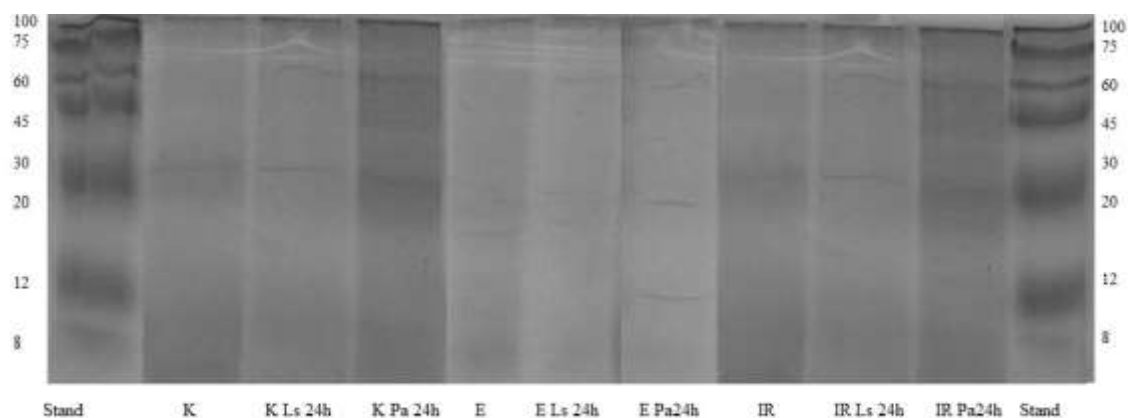
Contrast	Difference	Standardized difference	Critical value	Pr > Diff	Significant
EKS vs K	7.000	11.431	3.182	<b>0.001</b>	Yes
IR vs K	0.750	1.225	3.182	0.308	No
Fisher LSD-value:			1.949		

16 lentelė. Fenolinių junginių priklausomybė

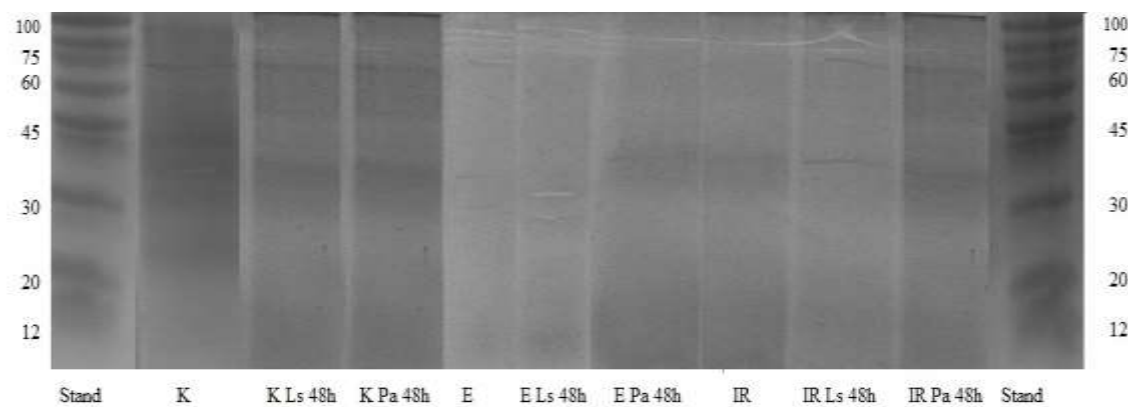
Contrast	Difference	Standardized difference	Critical value	Pr > Diff	Significant
EKS vs K	0.050	7.071	3.182	<b>0.006</b>	Yes
K vs IR	0.000	0.000	3.182	1.000	No
Fisher LSD-value:			0.023		

### 3 Priedas

#### Kukurūzų baltymų elektroforetiniai spektrai

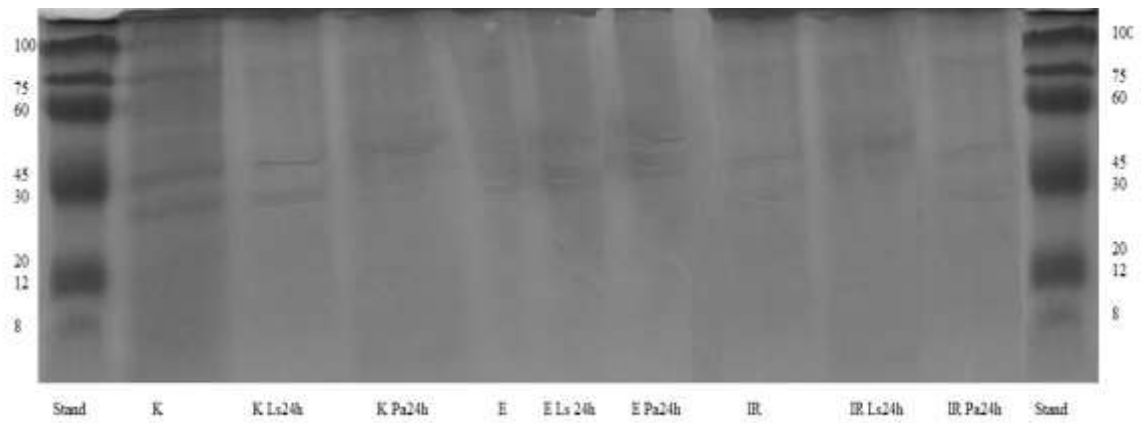


A

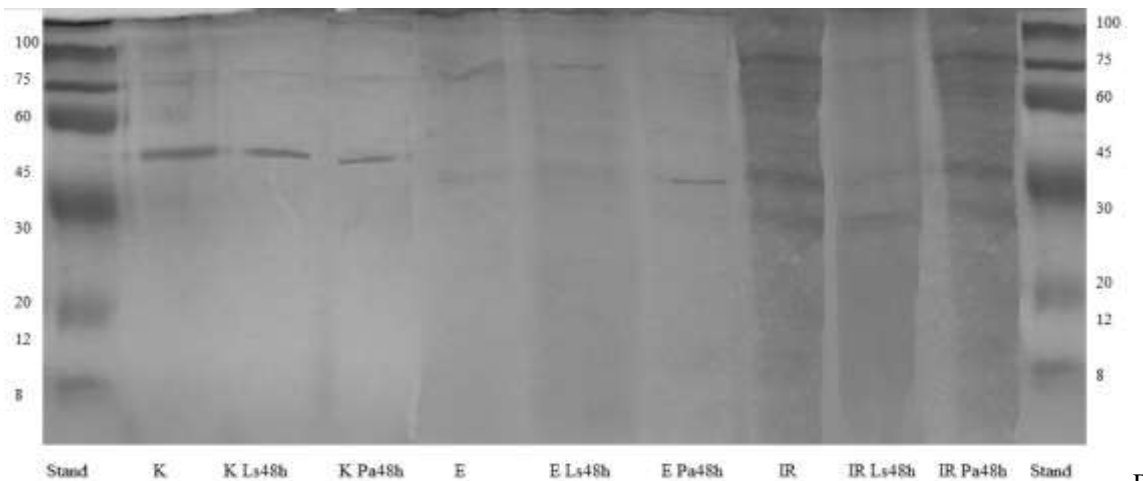


B

3.3.1 pav. Skirtingai apdorotos kukurūzų žaliavos albuminų NDS-PAGE elektroforetiniai spektrai 12% poliakrilamido gelyje. Mėginiai: Std – standartinių baltymų spektrai; K KLs KPa E ELs EPa IR IRLs IRPa – albuminų frakcijos; gelis (A): po 24 h fermentacijos; gelis (B): po 48 h fermentacijos. PRB: Pa – P. acidilactici; ir Ls – L. sakei. K – neapdorota žaliava, IR – infraraudonąją spinduliuote apdorota žaliava, E – ekstruduota žaliava.

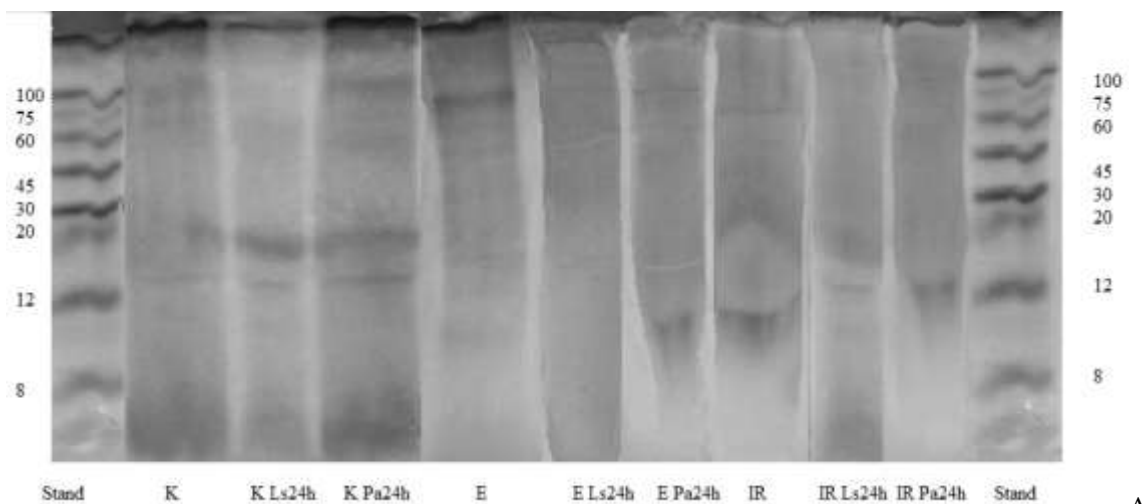


A



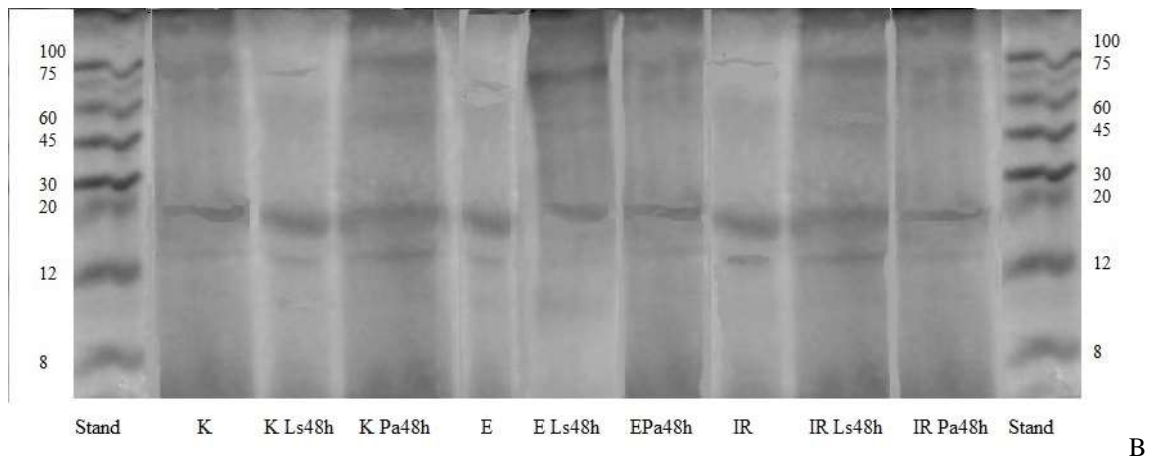
B

3.3.2 pav. Skirtingai apdorotos kukurūzų žaliavos globulinų NDS-PAGE elektroforetiniai spektrai 12% poliakrilamido gelyje. Mėginiai: Std – standartinių baltymų spektrai; K KLs KPa E ELs EPa IRLs IRPa – globulinų frakcijos; gelis (A): po 24 h fermentacijos; gelis (B): po 48 h fermentacijos. PRB: Pa – P. acidilactici; ir Ls – L. sakei. K – neapdorota žaliava, IR – infraraudonąją spinduliuote apdorota žaliava, E – ekstruduota žaliava.



A





3.3.3 pav. Skirtingai apdorotos kukurūzų žaliavos zeino NDS-PAGE elektroforetiniai spektrai 12% poliakrilamido gelyje. Mėginiai: Std – standartinių baltymų spektrai; K KLs KPa E ELs EPa IRLs IRPa – zeino frakcijos; gelis (A): po 24 h fermentacijos; gelis (B): po 48 h fermentacijos. PRB: Pa – P. acidilactici; ir Ls – L. sakei. K – neapdorota žaliava, IR – infraraudonąją spinduliuote apdorota žaliava, E – ekstruduota žaliava.

## 4 Priedas

### Antigrybiniu aktyvumu prieš *Fusarium graminearum* ir *F. culmorum* pelėsius pasižyminčių metabolitų gamyba skirtingomis PRB kukurūzų baltymų ekstraktuose

4.1 paveikslas. Po 4 parų stebėjimo, neapdorotos fermentuotos 24 h frakcijos baltymų ekstraktų veikimas prieš pelėsius: 1 ( *F. gram C PP9*) 2 ( *F. cull PP9*) 3 ( *F. cull PP10*).



1

2

3

4.2 paveikslas. Po 4 parų stebėjimo, neapdorotos fermentuotos 24 h frakcijos baltymų ekstraktų veikimas prieš pelėsius: 1 ( *F. gram D PP8*), 2 ( *F. cull PP8*), po 48 val., 3 ( *F. cull PP9*)



**1**

**2**

**3**

4.3 paveikslas. Po 4 parų stebėjimo, neapdorotos fermentuotos 48 h frakcijos baltymų ekstraktų veikimas prieš pelėsius: **1**(F. cull PP10), **2** (F. gram C PP8), po 48 val., **3** (F. cull PP9)

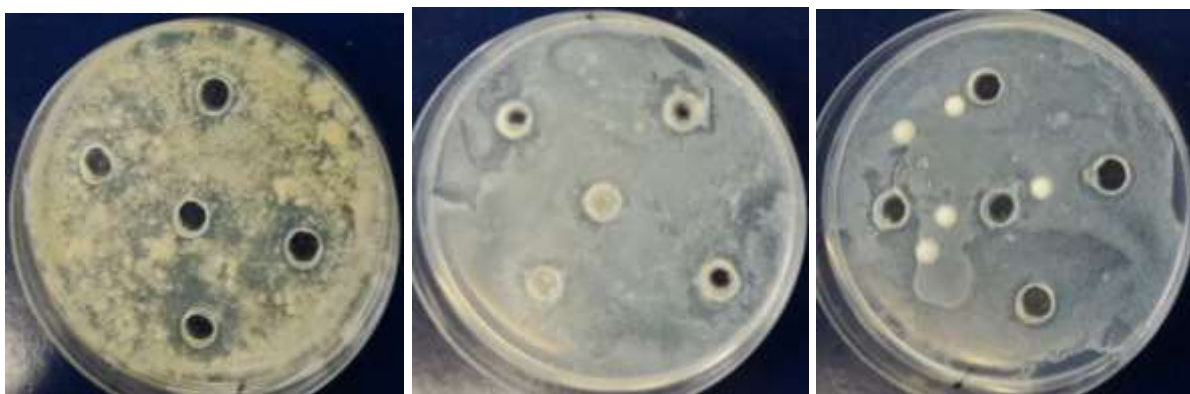


**1**

**2**

**3**

4.4 paveikslas. Po 4 parų stebėjimo, ekstruduotos fermentuotos 24 h frakcijos baltymų ekstraktų veikimas prieš pelėsius: **1** (F. cull PP10) **2** ( F. Gram C PP10) **3** (F. cull PP9)

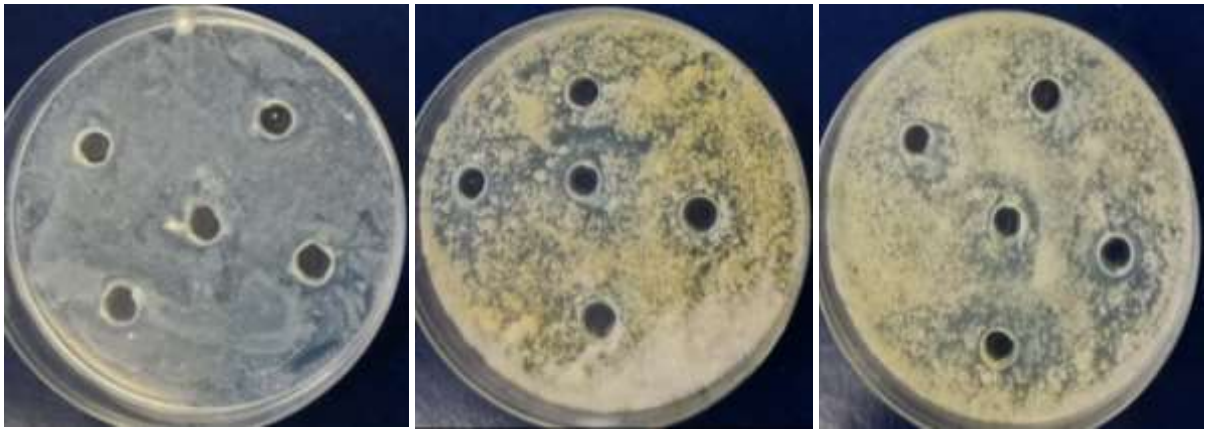


**1**

**2**

**3**

4.5 paveikslas. Po 4 parų stebėjimo, ekstruduotos fermentuotos 48 h frakcijos baltymų ekstraktų veikimas prieš pelėsius: **1**(F. Gram C PP9) **2** (F. cull PP9) **3** (F. cull PP10).



1

2

3

4.6 paveikslas. Po 4 parų stebėjimo, IR spinduliais apdorotos fermentuotos 24 h frakcijos baltymų ekstraktų veikimas prieš pelėsius: 1(F. Gram C PP10) 2 (F. cull PP10) 3 (F. cull PP9).



1

2

3

4.7 paveikslas. Po 4 parų stebėjimo, ekstruduotos fermentuotos 24 h frakcijos baltymų ekstraktų veikimas prieš pelėsius: 1(F. cull PP8) 2 (F. Gram D PP8) 3 (F. cull PP9)



1

2

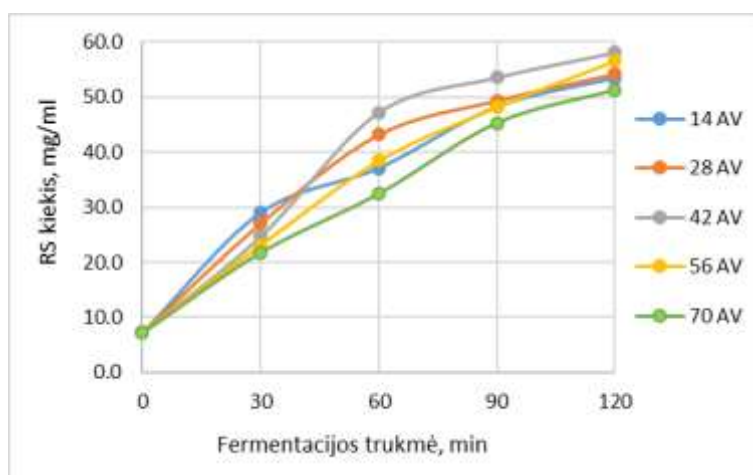
3

## 5 priedas

### Skirtingų fermentų preparatų įtaka kukurūzų žaliavos hidrolizės efektyvumui

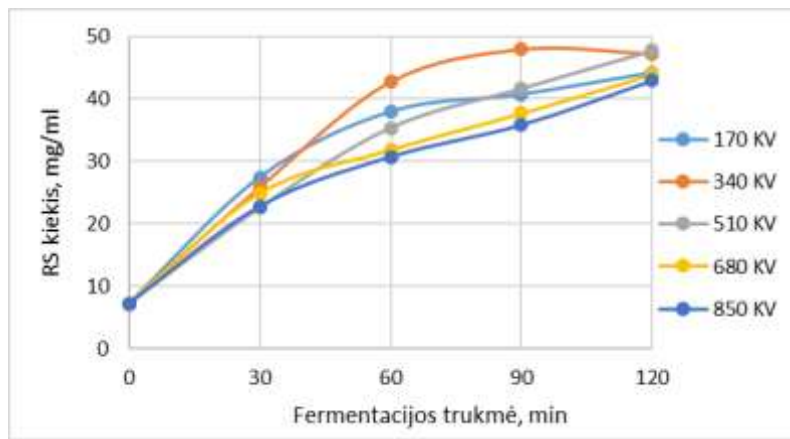
Amilolitinių ir hemiceliulolitinių preparatų įtaka kukurūzų žaliavos hidrolizės efektyvumui vertinta pagal hidrolizės metu susidariusių redukuojančių sacharidų kiekį, hidrolizuojant neapdorotas kukurūzų perdirbimo atliekas. Tyrimo rezultatai pateikti 5.1 ir 5.2 paveiksluose.

Nustatyta, kad didinant amilazės kiekį nuo 14 iki 70 aktyvumo vienetų (AV), redukuojančių sacharidų kiekis tirpale didėjo laike 120 min. hidrolizės. Po 30 ir 60 min inkubacijos didžiausias redukuojančių sacharidų (RS) kiekis (atitinkamai 28,98 ir 37,09 mg/ml) susidarė naudojant 14 AV/100 g amilazės, o didžiausi RS kiekiai (47,15 mg/100 g) susidarė po 60 ir didėjo visos hidrolizės metu iki 58,01 mg/100 g), hidrolizei naudojant 42 AV amilazės /100 g žaliavos. Tuo tarpu didesnis fermento kiekis (56 AV/100 g) hidrolizės gamino mažesnius RS kiekius, atitinkamai 48,18 mg/100 g ir 56,56 mg/100 g tiek po 90, tiek po 120 min. hidrolizės. Fermento kiekis 70 AV/100 g jau mažino RS susidarymą (51.20 mg/100 g po 120 min). Remiantis tyrimo rezultatais parinkti optimalūs parametrai kukurūzų atliekų hidrolizei: amilazės kiekis 42 AV/100 g, hidrolizės laikas 60 min.



**5.1 pav.** Amilazės priedo įtaka redukuojančių sacharidų susidarymui kukurūzų žaliavos hidrolizės metu. AV – amilazės aktyvumo vienetai.

Atliekant kukurūzų atliekų hidrolizę Vilzim NSP preparatu, pastebėta, kad didžiausias RS kiekis (47,94 mg/ml) susidarė po 90 min. hidrolizės, naudojant 340 KV ksilanazės 100 g žaliavos. Ilgesnė hidrolizė trukmė (120 min) RS susidarymui įtakos neturėjo (RS kiekis nustatytas 47,25 mg/ml). Fermento kiekiai 680–850 KV/100 g neturėjo reikšmingos įtakos RS kiekio padidėjimui, mažiausi RS kiekis susidarė, naudojant 850 KV/kg žaliavos (22,79–42,91 mg/ml). Įvertinus gautus rezultatus, parinktas optimalus fermento kiekis 340 KV/100 g ir fermentacijos trukmė 90 min.



**5.2 pav.** Ksilanazės priedo įtaka redukuojančių sacharidų susidarymui kukurūzų žaliavos hidrolizės metu. KV – ksilanazės aktyvumo vienetai.