



**KAUNO TECHNOLOGIJOS UNIVERSITETAS
CHEMINĖS TECHNOLOGIJOS FAKULTETAS**

Lina Šlėgutė

**Rūgščių pieno išrūgų perdirbimas į išrūgų baltymų
miltelius ir jų panaudojimas maisto produktuose**

Baigiamasis magistro projektas

Vadovas

Doc. dr. Jonas Damašius

KAUNAS, 2018

KAUNO TECHNOLOGIJOS UNIVERSITETAS
CHEMINĖS TECHNOLOGIJOS FAKULTETAS

**Rūgščių pieno išrūgų perdirbimas į išrūgų baltymų
miltelius ir jų panaudojimas maisto produktuose**

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

Vadovas

Doc. dr. Jonas Damašius

Recenzentas

Doc. dr. Milda Keršienė

Projekto autorė

Lina Šlėgutė

KAUNAS, 2018



**KAUNO TECHNOLOGIJOS UNIVERSITETAS
CHEMINĖS TECHNOLOGIJOS FAKULTETAS**

Lina Šlėgutė

Maisto mokslas ir sauga, 621E40001

„Rūgščių pieno išrūgų perdirbimas į išrūgų baltymų miltelius ir jų panaudojimas maisto produktuose“

AKADEMINIO SAŽININGUMO DEKLARACIJA

2018 m. birželio 1 d.

Kaunas

Patvirtinu, kad mano, **Linos Šlėgutės**, baigiamasis projektas tema „Rūgščių pieno išrūgų perdirbimas į išrūgų baltymų miltelius ir jų panaudojimas maisto produktuose“ yra parašytas visiškai savarankiškai ir 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

IŽANGA	11
1. LITERATŪROS APŽVALGA.....	13
1.1 Bendra pieno išrūgų charakteristika	13
1.1.1 Pieno išrūgų klasifikacija ir susidarymas	13
1.1.2 Išrūgų cheminė sudėtis	16
1.1.3 Išrūgų baltymų klasifikacija ir savybės	17
1.2 Išrūgų perdirbimo procesai ir išgaunami komponentai	19
1.2.1 Išrūgų perdirbimas taikant membraninės filtracijos technologijas	22
1.2.2 Išrūgų džiovinimas	28
1.3 Išrūgų miltelių ir išrūgų baltymų koncentratų (IBK) miltelių bendra charakteristika.....	28
1.3.1 IBK gavimas taikant membraninės filtracijos technologijas.....	29
1.3.2 Išrūgų miltelių ir IBK miltelių fizikinės – cheminės savybės	31
1.3.3 Išrūgų miltelių ir IBK miltelių funkcinės savybės	32
1.4 Išrūgų miltelių ir IBK miltelių panaudojimas maisto produktuose	34
1.4.1 Išrūgų baltymų mitybinė vertė ir bioaktyvumas.....	35
1.4.2 Rūgščių išrūgų panaudojimas maisto produktuose	36
1.4.3 Terminio apdorojimo įtaka išrūgų baltymams	39
1.4.4 Rūgščių išrūgų miltelių ir IBK miltelių pritaikymas kepinių gamyboje	40
2. MEDŽIAGOS IR TYRIMŲ METODAI.....	44
2.1 Tyrimams naudotos medžiagos	44
2.2 Tiriamojo darbo metu tirtų išrūgų miltelių gamyba	44
2.3 Tyrimų metodai	46
2.3.1 Išrūgų miltelių fizikinės - cheminės analizės metodai	46
2.3.2 Išrūgų baltymų charakteristikos tyrimų metodai.....	48
2.3.3 Išrūgų baltymų funkcinių savybių tyrimų metodai	52

2.3.4	Išrūgų miltelių ir IBK miltelių taikymas kepinių gamyboje	53
2.3.5	Statistinė analizė.....	55
3.	REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS	56
3.1	Išrūgų miltelių ir IBK miltelių cheminė sudėtis	56
3.2	Išrūgų baltymų charakteristika	63
3.2.1	Išrūgų baltymų frakcijų įvertinimas taikant efektyviają skysčių chromatografiją	63
3.2.3	Išrūgų baltymų dalelių dydžio įvertinimas	65
3.3	Išrūgų baltymų funkcinės savybės.....	66
3.3.1	Baltymų tirpumo įvertinimas.....	66
3.3.2	Mažiausios želatinizacijos koncentracijos įvertinimas.....	67
3.3.3	Putojimo gebos ir putų stabilumo įvertinimas.....	68
3.3.4	Vandens sulaikymo gebos ir aliejaus sulaikymo gebos įvertinimas	69
3.3.5	Emulsavimo gebos ir emulsijų stabilumo įvertinimas	69
3.4	Išrūgų miltelių (koncentratų miltelių) pritaikymo galimybės kepinuose	70
3.4.1	Drėgmės kiekio įvertinimas.....	71
3.4.2	Titruojamojo rūgštingumo įvertinimas.....	72
3.4.3	Akytumo įvertinimas	73
3.4.4	Pradinės duonos formos išlaikymo rodiklio įvertinimas	75
3.4.5	Juslinis vertinimas	76
4.	IŠVADOS	80
5.	BIBLIOGRAFINIŲ NUORODŲ SĄRAŠAS	81
6.	PRIEDAI	93

Šlėgutė, Lina. Rūgščių pieno išrūgų perdirbimas į išrūgų baltymų miltelius ir jų panaudojimas maisto produktuose. Magistro baigiamasis projektas / vadovas doc. dr. Jonas Damašius; Kauno technologijos universitetas, Cheminės technologijos fakultetas.

Studijų kryptis ir sritis (studijų krypties grupė): Technologijų mokslai, Maisto technologijos

Reikšminiai žodžiai: *rūgščios pieno išrūgos, milteliai, ultrafiltracija, panaudojimas.*

Kaunas, 2018. 94 p.

Santrauka

Šio baigiamojo magistro projekto darbo tikslas – taikant membraninės filtracijos technologijas perdirbti rūgščias išrūgas į išrūgų baltymų miltelius ir pritaikyti juos kepinių gamyboje. Tiriamojo darbo metu buvo pagaminti skirtingi išrūgų milteliai, naudojant skirtingus džiovinimo būdus. Buvo atlikta pagamintų miltelių fizikinių – cheminių savybių analizė, įvertinant baltymų, drėgmės, mineralinių medžiagų, pieno rūgšties, laktozės, riebalų rūgščių kiekį bei nustatant pH. Taip pat išrūgų milteliuose buvo nustatytos baltymų frakcijos atvirkščiųjų fazių efektyviosios skysčių chromatografijos metodu, atlikta elektroforezė bei išmatuotas dalelių dydis. Ultrafiltracija buvo pasirinkta kaip alternatyvus būdas pieno rūgšties kiekio sumažinimui, todėl buvo įvertintas jo tinkamumas. Siekiant išsiaiškinti miltelių pritaikymo galimybes buvo atlikti tokie išrūgų baltymų funkcinių savybių tyrimai, kaip baltymų tirpumas, mažiausia želatinizacijos koncentracija, putojimo geba ir putų stabilumas, vandens ir aliejaus sulaikymo geba, emulsavimo geba ir emulsijų stabilumas. Atlikta kepinių analizė, siekiant įvertinti rūgščių ir saldžių išrūgų miltelių priedo įtaką biskvitams, bei galimybę pakeisti kiaušinio baltymą išrūgų baltymų koncentratu.

Džiovinimo būdas išrūgų miltelių fizikinėms – cheminėms savybėms didelės įtakos neturėjo, išskyrus dalelių dydį – purkštuviniu būdu džiovinuose milteliuose nustatytas didesnis dalelių dydis nei liofilizacijos būdu gautuose milteliuose. Džiovinimo būdas turėjo įtakos išrūgų baltymų miltelių funkcinėms savybėms – miltelių, gautų naudojant purkštuvinę džiovyklą, baltymų tirpumas buvo mažesnis nei miltelių, gautų liofilizacijos būdu. Efektyviosios skysčių chromatografijos tyrimo metu buvo identifikuotos išrūgų baltymų frakcijos bei apskaičiuotos jų koncentracijos. Atlikus elektroforezė buvo identifikuotos išrūgų baltymų frakcijos, neįvertinant jų koncentracijų.

Nustatčius pieno rūgšties kiekį išrūgų miltelių mėginiuose, buvo prieita išvados, kad ultrafiltracija yra tinkamas būdas siekiant sumažinti pieno rūgšties kiekį rūgščiose išrūgose. Priimtinausios kokybės kepiniai buvo gauti su didžiausiu tirtu saldžių išrūgų miltelių ir rūgščių išrūgų miltelių priedu. Išrūgų baltymų koncentrato ir vandens mišiniu galima keisti tik dalį kiaušinio baltymų. Bandant pakeisti daugiau 40 % kiaušinio baltymų buvo gauti nepriimtinos kokybės biskvitai.

Šlėgutė, Lina. PROCESSING OF ACID WHEY INTO WHEY PROTEIN POWDER AND ITS APPLICATION IN FOOD PRODUCTS: *Master's thesis in Food Science and Safety / supervisor assoc. dr. Jonas Damašius. The Faculty of Chemical Technology, Kaunas University of Technology.*

Study field and area (study field group): Technological Sciences, Food Technology

Key words: *acid whey, whey powder, ultrafiltration, application.*

Kaunas, 2018. 94 p.

Summary

The aim of this project is to process acid whey into whey protein powder using membrane filtration technology and to apply it in the production of bakery products.

Different whey powder was produced using different drying methods during the scientific research. Analysis of the physical-chemical properties of produced powder was carried out evaluating the amount of protein, moisture, minerals, lactic acid, lactose, fatty acids and pH value. Protein fractions were determined by reverse phase liquid chromatography, electrophoresis and particle size was measured in whey powder samples. Ultrafiltration was chosen as an alternative way to reduce lactic acid amount in acid whey, and its suitability for this purpose was assessed. In order to find out the feasibility of powder application, the following functional properties of whey protein have been investigated: protein solubility, least gelation concentration, foaming capacity, water and oil holding capacity, emulsion formation and emulsion stability. The analysis of bakery products was carried out to evaluate the effect of the acid and sweet whey powder additive on cakes, as well as attempting to replace egg protein with whey protein concentrate.

It was found that the drying method did not have a significant effect on the physical-chemical properties of whey powder, except for the particle size. The particle size of the spray-dried powder was bigger than that of the lyophilized powder. The drying method affected the functional properties of whey protein powder - the solubility of the powder obtained from the spray dryer was lower than that obtained by lyophilization. The whey protein fractions and their concentrations were determined during the high performance liquid chromatography study. The whey protein fractions were also determined by electrophoresis without considering their concentrations.

It was found that ultrafiltration is the appropriate process to reduce the amount of lactic acid in the acid whey. Best quality cakes were obtained with addition of largest amount of tested sweet whey and acid whey powder. Only a part of the egg protein can be changed with a mixture of whey protein concentrate and water. Unacceptable quality cakes were obtained when more than 40 % of egg protein was replaced.

PAVEIKSLŲ SĄRAŠAS

1 pav. Pieno pH pokytis veikiant pieną skirtingomis medžiagomis.....	14
2 pav. Rūgštinė kazeino koaguliacija.....	15
3 pav. Kazeino micelių agregacija.....	15
4 pav. κ – kazeino aminorūgščių seka ir skilimo vieta.....	16
5 pav. Išrūgų perdirbimo būdai į įvairius pieno komponentus.....	20
6 pav. Išrūgų miltelių su hidrolizuotais baltymais gamybos principinė schema.....	20
7 pav. Išrūgų miltelių su hidrolizuota laktoze gamybos principinė schema.....	21
8.1 pav. Ultrafiltracijos proceso veikimo principas.....	25
8.2 pav. Principinė ultrafiltracijos proceso su diafiltracija schema.....	25
9 pav. Baltymų kiekio priklausomybė nuo ultrafiltracijos stadijos.....	26
10 pav. Laktozės kiekio priklausomybė nuo ultrafiltracijos stadijos.....	26
11 pav. Mineralinių medžiagų likučio kiekio priklausomybė nuo pH išrūgose po nanofiltracijos....	27
12 pav. Nanofiltracijos proceso principinė schema.....	27
13 pav. IBK gamybos proceso diagrama.....	30
14 pav. Veiksniai, turintys įtakos išrūgų baltymų koncentratų funkcinėms savybėms.....	34
15 pav. Pieno rūgšties koncentracijos ir permeato srauto priklausomybė nuo ultrafiltracijos laiko..	37
16 pav. Išrūgų (išrūgų miltelių) pritaikymas maisto produktuose.....	38
17 pav. Pyragų, keptų be kiaušinio, pjūviai.....	42
18 pav. Principinė išrūgų miltelių gamybos technologijos proceso schema.....	45
19 pav. Išrūgų miltelių mėginių chromatogramos pieno rūgšties identifikavimui.....	57
20 pav. Išrūgų miltelių mėginių chromatogramos D-laktozės identifikavimui.....	58
21 pav. Pagrindinių mineralų išsidėstymas išrūgų miltelių bandiniuose.....	60
22 pav. Riebalų rūgščių išsidėstymas išrūgų miltelių bandiniuose.....	61
23 pav. Išrūgų miltelių mėginių bendra chromatograma baltymų frakcijų identifikavimui.....	63
24 pav. Išrūgų miltelių mėginių elektroforezės rezultatai.....	64
25 pav. Išrūgų baltymų tirpumo priklausomybė nuo pH.....	67
26 pav. Išrūgų miltelių tirpalų mėginių tūrio pokytis.....	68
27 pav. Saldžių išrūgų miltelių priedo įtaka biskvitų drėgniui.....	71
28 pav. Rūgščių išrūgų miltelių priedo įtaka biskvitų drėgniui.....	71
29 pav. Drėgmės kiekio priklausomybė nuo pakeistos kiaušinio baltymo dalies.....	72
30 pav. Saldžių išrūgų miltelių priedo įtaka biskvitų bendram titruojamajam rūgštingumui.....	72
31 pav. Rūgščių išrūgų miltelių priedo įtaka biskvitų bendram titruojamajam rūgštingumui.....	72

32 pav. Bendro titruojamojo rūgštingumo priklausomybė nuo pakeistos kiaušinio baltymo dalies.....	73
33 pav. Saldžių išrūgų miltelių priedo įtaka biskvitų akytumui.....	73
34 pav. Rūgščių išrūgų miltelių priedo įtaka biskvitų akytumui.....	73
35 pav. Biskvitų akytumo priklausomybė nuo pakeistos kiaušinio baltymo dalies.....	74
36 pav. Biskvitų pjūvis.....	74
37 pav. Saldžių išrūgų miltelių priedo įtaka biskvitų išlaikymo rodikliui.....	75
38 pav. Rūgščių išrūgų miltelių priedo įtaka biskvitų išlaikymo rodikliui.....	75
39 pav. Biskvitų išlaikymo rodiklio priklausomybė nuo pakeistos kiaušinio baltymo dalies.....	76
40 pav. Saldžių išrūgų miltelių priedo įtaka biskvitų tekstūros juslinėms savybėms.....	76
41 pav. Rūgščių išrūgų miltelių priedo įtaka biskvitų tekstūros juslinėms savybėms.....	76
42 pav. Biskvitų tekstūros juslinis vertinimas pakeitus dalį kiaušinio baltymų.....	77
43 pav. Saldžių išrūgų miltelių priedo įtaka biskvitų išvaizdos, skonio ir kvapo juslinėms savybėms.....	77
44 pav. Rūgščių išrūgų miltelių priedo įtaka biskvitų išvaizdos, skonio ir kvapo juslinėms savybėms.....	78
45 pav. Biskvitų išvaizdos, skonio ir kvapo juslinių savybių vertinimas pakeitus dalį kiaušinio baltymų.....	78
46. pav. Bendro visų gaminių priimtimumo vertinimas.....	79

LENTELIŲ SĄRAŠAS

1 lentelė. Žalio karvių pieno ir šalutinių produktų cheminė sudėtis 100 g žaliavos	13
2 lentelė. Skystų saldžių ir rūgščių išrūgų cheminė sudėtis	17
3 lentelė. Išrūgų baltymų klasifikacija	18
4 lentelė. Demineralizuotų išrūgų miltelių cheminė sudėtis	22
5 lentelė. Membraninės filtracijos procesai ir jų veikimo principai	23
6 lentelė. Azoto kiekis retante, naudojant skirtingas membraninės filtracijos rūšis.....	23
7 lentelė. Membraninės filtracijos tipų charakteristika	24
8 lentelė. Išrūgų baltymų koncentrato ir išrūgų miltelių jusliniai rodikliai	29
9 lentelė. Išrūgų miltelių cheminė sudėtis	31
10 lentelė. Išrūgų baltymų koncentratų cheminė sudėtis procentais	31
11 lentelė. Išrūgų baltymų frakcijos randamos IBK ir jų funkcijos	32
12 lentelė. IBK funkcinės savybės	33
13 lentelė. Nepakeičiamųjų aminorūgščių kiekis (g/100 g) įvairiuose baltymų šaltiniuose	35
14 lentelė. Išrūgų miltelių įtaka maisto produktų kokybiniams parametrams	38
15 lentelė. IBK 34 ir nugriebto pieno miltelių įtaka jogurto klampai ir sinerezės procesui	40
16 lentelė. IBK ir IBI kiekis, reikalingas pakeisti atitinkamą dalį kiaušinio	42
17 lentelė. Rekomenduojama išrūgų produktų dalis (nuo miltų kiekio) kepinių praturtinimui.....	43
18 lentelė. Tiriamojo darbo metu tirtos medžiagos	44
19 lentelė. Išrūgų baltymų frakcijų etaloninių tirpalų koncentracijos	49
20 lentelė. Skiriamąjo poliakrilamido gelio paruošimas	51
21 lentelė. Biskvitų receptūra (priedas – saldžių išrūgų milteliai)	54
22 lentelė. Biskvitų receptūra (priedas – rūgščių išrūgų milteliai)	54
23 lentelė. Biskvitų receptūra (kiaušinio baltymai keičiami IBK/vandens mišiniu)	55
24 lentelė. Cheminė išrūgų miltelių sudėtis	56
25 lentelė. Pagrindinių riebalų rūgščių sudėtis išrūgų miltelių mėginiuose (%)	61
26 lentelė. Išrūgų baltymų frakcijų sudėtis tirtuose milteliuose	64
27 lentelė. Išrūgų miltelių mėginiuose nustatytos baltymų frakcijos	65
28 lentelė. Išrūgų miltelių dalelių dydis	66
29 lentelė. Išrūgų baltymų vandens sulaikymo geba (WHC) ir aliejaus sulaikymo geba (OHC)	69
30 lentelė. Emulsijų riebalų lašelių dydis bei jo kitimas.....	70

IŽANGA

Sūrio gamybos pramonėje, pasauliniu mastu, kasmet pagaminama apie 115 milijonų tonų išrūgų. Deja, ne visos išrūgos yra perdirbamos ir panaudojamos – net 47 % gaunamų išrūgų sukelia utilizavimo bei taršos problemas [1]. Tiek saldžios, tiek rūgščios išrūgos pasižymi itin vertinga mitybine sudėtimi, tačiau tik saldžios išrūgos yra perdirbamos į produktus, skirtus žmonėms. Rūgščios išrūgos, gaunamos po varškės ir varškės sūrių gamybos, dažnai yra nukreipiamos gyvulių pašarams ar trąšoms. Saldžios išrūgos, gaunamos po fermentinių sūrių gamybos, gali būti tiesiogiai naudojamos kaip kito maisto produkto komponentas arba gali būti tiesiogiai nukreiptos koncentravimui ir džiovinimui. Taip gaunami išrūgų baltymų koncentratai, išrūgų milteliai, pasižymintys ilgesne galiojimo trukme ir patogesniu vartoti pavidalu. Tokiu pačiu būdu perdirbti rūgščias išrūgas yra sudėtinga dėl jų didelio rūgštingumo, mineralinių medžiagų kiekio ir rūgštaus skonio. Didelis pieno rūgštis ir mineralinių medžiagų kiekis sukelia problemas šias išrūgas koncentruojant ir džiovinant. Gauti milteliai linkę sulipti, dažnai jie prikimba prie purkštuvinės džiovyklos paviršių, o tokius miltelius laikant dažnai pastebimas gumulėlių susidarymas.

Rūgščių išrūgų utilizavimo problema skatina pieno perdirbėjus ir mokslininkus ieškoti alternatyvių būdų rūgščių išrūgų perdirbimui. Vienas iš būdų, kaip rūgščių išrūgų perdirbimą padaryti paprastesnį, yra pieno rūgštis kiekio sumažinimas. Pieno rūgštis kiekis rūgščiose išrūgose gali būti sumažintas taikant membraninės filtracijos procesus, tokius kaip nanofiltracija ar ultrafiltracija [2, 3]. Šie procesai pagrįsti molekulinės masės skirtumais, dėl kurių pieno rūgštis praeina pro membranas, o baltymai yra sukonzentruojami. Toks koncentratas, pasižymintis priimtiniu pieno rūgštis kiekiu, gali būti nukreiptas į purkštuvinę džiovyklą. Gauti išrūgų milteliai ir išrūgų baltymų koncentrato milteliai gali būti naudojami maisto pramonėje kitiems produktams gaminti, padidinat jų mitybinę vertę ir pagerinant jų funkcines savybes. Yra žinoma, kad išrūgų baltymai gali būti naudojami kaip kiaušinio baltymo pakaitalas įvairiuose konditerijos gaminiuose [4]. Jie taip pat galėtų būti naudojami duonos pramonėje siekiant praturtinti duoną mineralinėmis medžiagomis, baltymais bei pagerinti duonos juslines savybes [5].

Pastaruoju metu rūgščių išrūgų perdirbimo ir pritaikymo galimybių tema tampa vis aktualesnė, todėl buvo iškeltas **baigiamojo magistro projekto tikslas** – perdirbti rūgščias pieno išrūgas į išrūgų baltymų miltelius taikant membraninės filtracijos technologijas ir panaudoti juos maisto produktuose.

Tiksliui pasiekti buvo išsikelti šie **uždaviniai**:

1. Pagaminti rūgščių išrūgų miltelius, taikant skirtingus džiovavimo būdus;
2. Palyginti skirtingais metodais pagamintus rūgščių ir saldžių išrūgų miltelius ir nustatyti jų fizikines – chemines bei funkcines charakteristikas;
3. Įvertinti ultrafiltracijos tinkamumą pieno rūgšties kiekio sumažinimui rūgščiose išrūgose;
4. Įvertinti rūgščių išrūgų miltelių ir išrūgų koncentratų miltelių pritaikymo galimybes konditeriniuose gaminiuose.

1. LITERATŪROS APŽVALGA

1.1 Bendra pieno išrūgų charakteristika

Išrūgos yra šalutinis pieno produktas, kuris susidaro po fermentinio sūrio gamybos (saldžios išrūgos) ar varškės gamybos (rūgščios išrūgos). Tai žalsvai geltonos spalvos skystis, susidarantis koaguliuojant pieno kazeinui. Žaliame karvių piene yra visi gyvybiškai svarbūs komponentai, tokie kaip baltymai, vitaminai, mineralai ir kt. Pieno sutraukimo metu šie komponentai pasiskirsto į dvi dalis – kazeiną ir išrūgas. Pagrindinių mitybinių komponentų pasiskirstymas žaliame karvių piene, skystose išrūgose ir išrūgų milteliuose yra pateiktas 1 lentelėje.

1 lentelė. Žalio karvių pieno ir šalutinių produktų cheminė sudėtis 100 g žaliavos [6]

Cheminė sudėtis	Žaliava		
	Žalias karvių pienas	Skystos išrūgos	Išrūgų milteliai
Vanduo	87,0 g	93,3 g	5,0
Angliavandeniai	4,7 g	4,7 g	75,0
Riebalai	3,8 g	0,3 g	1,0
Baltymai	3,3 g	0,9 g	12,0

Skystų išrūgų cheminė sudėtis skiriasi nuo išrūgų miltelių cheminės sudėties. Atskiri komponentai išrūgų milteliuose randami didesniais kiekiais, nes vanduo yra pašalinamas. Skystos išrūgos pasižymi mažu riebalų ir baltymų kiekiu todėl, kad šie komponentai lieka sūryje ar varškėje. Svarbu paminėti tai, jog nors išrūgose baltymų kiekis yra nedidelis, tačiau šie baltymai pasižymi itin aukšta savo biologine verte.

Išrūgose randama ne tik aukštos biologinės vertės baltymų, bet taip pat jos pasižymi gausiu laktozės bei vitaminų ir mineralų, reikalingų kiekvienam gyvam organizmui, kiekiu. Dėl šios priežasties poreikis išrūgas perdirbti ir pritaikyti vis auga. Skirtingų produktų gamybos metu susidarantios išrūgos yra klasifikuojamos į saldžias ir rūgščias išrūgas. Išrūgų klasifikacija ir susidarymo mechanizmai aptariami tolimesniuose skyriuose.

1.1.1 Pieno išrūgų klasifikacija ir susidarymas

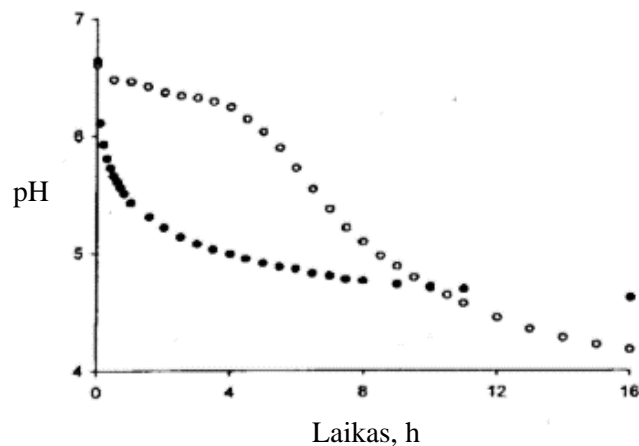
Daugelio pieno produktų gamyboje kaip šalutinis produktas susidaro išrūgos. Jų susidarymas yra pagrįstas kazeino pokyčiais (kazeino koaguliacija). Kazeinas koaguliuoja veikiant rūgštimis ar pieną traukinančiais fermentais, todėl pieno išrūgos yra klasifikuojamos į saldžias išrūgas ir rūgščias išrūgas. Saldžios išrūgos yra gaunamos fermentinio traukinimo metu (pH kinta nuo 5,9 iki 6,6), o

rūgščios išrūgos - rūgštinio rauginimo metu (pH kinta nuo 4,3 iki 4,6). Jų detalizuoti susidarymo mechanizmai yra pateikti kituose skyriuose.

1.1.1.1 Rūgščių pieno išrūgų susidarymas

Rūgščios pieno išrūgos susidaro, kai į pieną pridedama bakterijų kultūrų, kurios fermentuoja laktozę į pieno rūgštį arba panaudojant gliukono- δ -laktoną (GDL), kuris hidrolizuojamas į gliukono rūgštį [7].

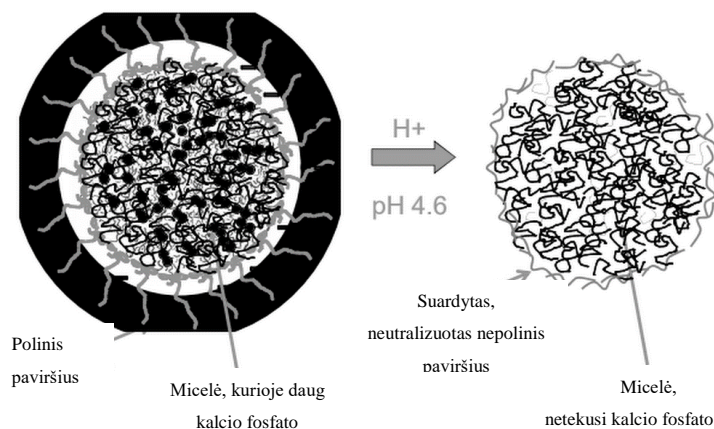
Norint, kad įvyktų rūgštinė kazeino koaguliacija, reikia pasiekti izoelektrinį kazeino tašką – pH 4,6 – 4,7. Naudojant skirtingas medžiagas, pastebima skirtinga pieno rūgštėjimo proceso eiga. Pieno pH pokyčio skirtumas, į pieną pridėjus 1,3 % gliukono- δ -laktono (GDL) ir pridėjus 2 % startinių bakterijų kultūrų, pateiktas 1 paveiksle.



1 pav. Pieno pH pokytis veikiant pieną skirtingomis medžiagomis: (●) 1,3 % gliukono- δ -laktonu (GDL) ir (○) pridėjus 2 % startinių bakterijų kultūrų, esant 30 °C [7]

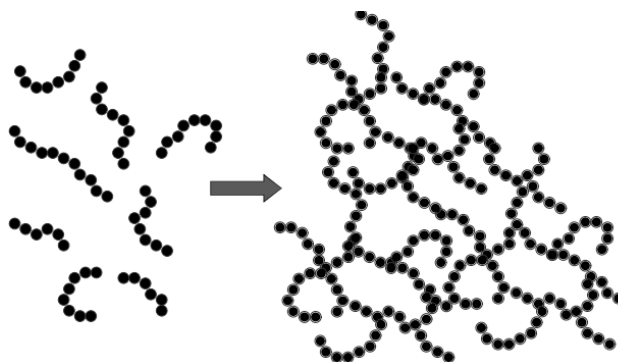
Naudojant GDL pastebimas staigus pH mažėjimas. Taip yra dėl to, nes GDL greitai skyla į gliukono rūgštį, kuri iškart sukelia pH kritimą. Naudojant startines bakterijų kultūras, iš pradžių pH mažėja po truputį, bet vėliau ima greitai ir nuosekliai mažėti.

Kaupiantis pieno rūgščiai, neigiamas kazeino micelių krūvis mažėja, nes disocijuota -COO^- grupė pereina į nedisocijuotą -COOH , o PO_3^{2-} – į PO_3H_2 . Susilyginus teigiamų ir neigiamų krūvių skaičiui yra pasiekiamas kazeino izoelektrinė būsena, pradeda keistis jo konformacija ir tirpumas. Nuo kazeino kalcio fosfato komplekso atsiskyla kalcio fosfatas ir kalcis, struktūra netenka įprasto pastovumo, kompleksas suyra ir kazeinas koaguliuoja (žr. 2 pav.).



2 pav. Rūgštinė kazeino koaguliacija [8]

Kazeinui koaguliavus pradeda formuotis vandenyje netirpūs agregatai, susidaro vientisas denatūravusio kazeino molekulių tinklas, kurio kilpelėse uždaromas vanduo su jame ištirpusiomis medžiagomis (žr. 3 pav.).



3 pav. Kazeino micelių agregacija [8]

Taip koloidinis kazeino tirpalas virsta geliu, kuriam yra būdingos dvi savybės – tiksotropija ir sinerezė. Tiksotropija pasireiškia gaminant rūgpienį, jogurtą ar kefyra. Paveikus jį mechaniškai gelis atstato savo struktūrą. Sinerezė (savaiminis dalelių tankėjimas, joms persigrupuojant ir vis daugiau susiliečiant) pastebima gaminant varškę. Šildant pieno gelį, baltymų tinklas palaipsniui traukiasi ir tankėja, iš tinklo kilpelių yra išspaudžiamas vanduo ir taip gaunama tanki sutrauka, į kurią yra įjungti riebalų rutulėliai [9]. Sutrauką atskyrus gaunamos rūgščios išrūgos.

1.1.1.2 Saldžių pieno išrūgų susidarymas

Saldžios pieno išrūgos susidaro, kai naudojami fermentai bei įvyksta fermentinė kazeino koaguliacija. Gaminant fermentinius sūrius naudojami specialūs fermentai – reninas (chimozinas), kuris gaunamas iš veršelių skrandžio, taip pat mikrobinės kilmės proteazės (*Mucormiehi*, *Mucorpusillus*, *Endothiaparasitica*), sintetinis chimozinas [10]. Esant pH 5,5 fermentas katalizuoja dalinę κ – kazeino hidrolizę, skaldydamas ryšį, esantį tarp 105 ir 106 aminorūgščių. κ - kazeinas skyla į krūvio neturintį hidrofobinį para- κ – kazeiną (1 – 105 aminorūgščių liekana) ir neigiamai įkrautą hidrofiliinį glikomakropeptidą (106 – 169 aminorūgščių liekana) (žr. 4 pav.) [11].



4 pav. κ – kazeino aminorūgščių seka ir skilimo vieta [11]

Kitas etapas yra kazeino micelių agregavimo procesas, susidarant geliui. Atskilus neigiamą krūvį turinčiam glikomakropeptidui, likusi kazeino micelės paviršiuje κ – kazeino dalis netenka krūvio ir dalis hidratinio micelės apvalkalo suyra. Kazeino micelės pradeda irti, nes sumažėja elektrostatinio atostūmio jėgos ir nuo kalcio jonų įtakos apsaugantis κ – kazeino poveikis. Kazeino molekulės per kalcio tiltelius fosfato grupėmis jungiasi į tinklą ir koaguliuoja. Gaunama fermentinė pieno sutrauka, kurią atskyrus gaunamos saldžios pieno išrūgos.

1.1.2 Išrūgų cheminė sudėtis

Skirtingos gamybos metu gautų išrūgų cheminė sudėtis skiriasi. Skystų saldžių ir rūgščių išrūgų cheminė sudėtis pateikta 2 lentelėje.

2 lentelė. Skystų saldžių ir rūgščių išrūgų cheminė sudėtis [12]

Komponentas	Saldžios išrūgos	Rūgščios išrūgos
Sausosios medžiagos, %	6 – 6,5	5 – 6
Vanduo, %	93 – 94	93,5
Lipidai, %	0,05	0,04
Baltymai, %	0,8 – 1	0,8 – 1
Laktozė, %	4,5 – 5	3,8 – 4,3
Pieno rūgštis, %	<0,1	iki 0,8
Pelenai, iš jų: %	0,5 – 0,7	0,8
Kalcis, %	0,043	0,12
Fosforas, %	0,040	0,065
Natris, %	0,050	0,050
Kalis, %	0,16	0,16
Chloras, %	0,11	0,11

Pieno išrūgų sudėtis priklauso nuo kelių veiksnių, tokių kaip gaminamo sūrio rūšis, kazeino koaguliacijos tipas, pieno terminis apdorojimas, pieno laikymo trukmė po melžimo. Rūgščios išrūgos pasižymi didesniu mineralinių medžiagų kiekiu bei didesniu pieno rūgšties kiekiu. Kalcio koncentracija rūgščiose išrūgose yra žymiai didesnė nei saldžiose. Tai aiškinama tuo, jog kalcio fosfatas yra tirpesnis esant žemesnei pH reikšmei. Išrūgose, gautose po sūrio gamybos, kai pH vertė buvo sumažinta naudojant mikrobinės kultūras, randama tokių šalutinių produktų kaip galaktozė ir pieno rūgštis [13].

Svarbiausias išrūgų komponentas, lemiantis daugelį funkcinių savybių, yra baltymai. Baltymų kiekis saldžiose ir rūgščiose išrūgose yra gana panašus. Išrūgų baltymai pasižymi skirtingomis savybėmis. Jų savybės ir klasifikacija yra pateikiamos tolimesniame skyriuje.

1.1.3 Išrūgų baltymų klasifikacija ir savybės

Išrūgų baltymai apima 20 % visų pieno baltymų ir yra sudaryti iš β – laktoglobulino, α – laktoalbumino, kraujo serumo albumino, imunoglobulino, laktoferino, laktoperoksidazės ir kitų nedidelių baltymų [14]. Išrūgų baltymų klasifikacija pateikta 3 lentelėje.

3 lentelė. Išrūgų baltymų klasifikacija [15]

Išrūgų baltymų frakcijos	Koncentracija (g/l)	Nustatyta molekulinė masė (Da)	Izoelektrinis taškas (pH)
β – laktoglobulinas	3,4 – 4,0	18300	5,2 – 5,4
α – laktoalbuminas	1,2 – 1,5	1400	4,0 – 5,1
Kraujo serumo albuminas	0,3 – 0,6	66000	4,9 – 5,1
Imunoglobulinas	0,6 – 0,9	150000 – 900000	5,8 – 7,3
Laktoperoksidazė	~ 0,06	78000	9,6
Laktoferinas	~ 0,05	78000	8,0
Glikomakropeptidas	~ 1,2	6700	–
Lizocimas	< 0,05	14000	–

Vienas iš pagrindinių ir didžiausią dalį sudarantis išrūgų baltymas yra β – laktoglobulinas. Šis baltymas sudaro apie 50 % visų išrūgų baltymų. β – laktoglobuliną sudaro 162 aminorūgščių liekanos, kurių seka ir trimatė baltymo struktūra rodo, kad jis gali veikti kaip specialus baltymas – nešiklis. β – laktoglobulinas yra susijęs su hidrofobinių ligandų įsisavinimu ir transportavimu bei fermentų reguliavimu [16].

Antras pagal kiekį išrūgų baltymas yra α – laktoalbuminas. Jis sudaro nuo 20 iki 25 % visų išrūgų baltymų piene. Prie α – laktoalbumino prisijungiantis kalcis padaro jį termostabilų. Šis baltymas yra sudarytas iš 123 aminorūgščių liekanų, struktūra stabilizuota keturiais disulfidiniais tilteliais. α – laktoalbuminą sudarančių aminorūgščių didžiąją dalį užima triptofanas, lizinas ir cisteinas. α – laktoalbuminas gerai tirpsta vandenyje ir chloro druskų tirpaluose. Šis baltymas dalyvauja laktozės sintezėje kaip kofermentas [17].

Kraujo serumo albuminas yra sudarytas iš 583 amino rūgščių liekanų, turi 17 disulfidinių tiltelių ir 1 sulfhidrilinę grupę. Šis baltymas sudaro labai mažą išrūgų baltymų dalį, į pieną patenka iš gyvulio kraujo serumo. Kraujo serumo albuminas pasižymi baltymo – nešiklio funkcija [18].

Imunoglobulinai yra svarbi imuninės sistemos dalis, dar kitaip vadinami antikūnais. Imunoglobulinai yra baltymai cirkuliuojantys kraujo plazmoje, jie organizme gaminasi siekiant apsaugoti nuo svetimkūnių – antigenų [19]. Globulinai skirstomi į tris pagrindines klases: IgG, IgA ir IgM. Jų visų sandara yra labai panaši – visi sudaryti iš dviejų identiškų lengvųjų grandinių (23 kDa) ir dviejų identiškų sunkiųjų grandinių (53 kDa). Šios 4 grandinės tarpusavyje sujungtos disulfidiniais ryšiais [20].

Laktoferinas yra multifunkcinis glikoproteinas, turintis antibakterinių, antioksidacinių ir antikancerogeninių savybių. Tai geležį surišantis baltymas, išrūgose jo randama 30 – 100 mg/l ir jis nedenaatūroja taikant klasikinę pasterizaciją (72 °C, 15 sek.) [21].

Laktoperoksidazė yra fermentas, turintis antimikrobinių savybių. Išrūgose jo randama maždaug 1 – 30 mg/l ir jis laikomas gana atspariu karščiui [13].

Glikomakropeptidas(GMP) yra κ -kazeino C - galinė dalis (106 – 169 aminorūgštys), kuri atskyla veikiant chimozinui. Saldžiose išrūgose glikomakropeptidas gali sudaryti iki 20 % išrūgų baltymų. Tai biologiškai aktyvus komponentas, turintis keletą įdomių technologinių – funkcinių savybių, tokių kaip tirpumas plačiose pH ribose, emulsuojančių savybių [22].

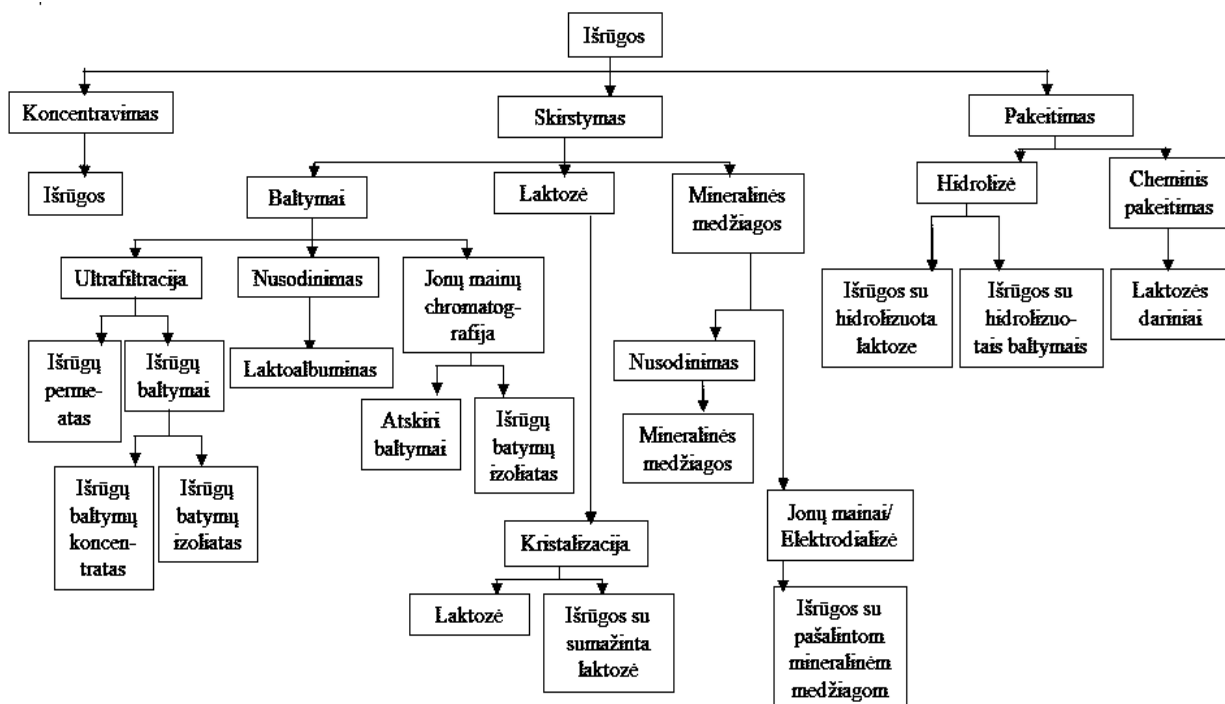
Lizocimas yra kompaktiškas kūginis baltymas, maža sferoidinė hidrolazė, pasižyminti antibakterinėmis savybėmis. Lizocimas geba hidrolizuoti bakterinių ląstelių sienelėse esančius ryšius, taip sunaikindamas maisto gedimą sukeliančius mikroorganizmus [23].

Kiti nedideli išrūgų baltymai, tokie kaip transtiretinai, β 2 – mikroglobulinas, angiogeninas, iš išrūgų yra išgaunami sudėtingais metodais [24] ir nėra svarbūs šiame darbe. Yra siekiama, kad išrūgas būtų galima perdirbti kuo paprastesniais ir efektyvesniais metodais tam, kad būtų sumažinami kaštai ir išrūgos turėtų kuo didesnę pritaikymą. Išrūgų perdirbimo procesai yra aptariami tolimesniame skyriuje.

1.2 Išrūgų perdirbimo procesai ir išgaunami komponentai

Tai, jog išrūgose gausu vertingų baltymų, laktozės ir mineralų, leidžia jas perdirbtas panaudoti įvairiose pramonės šakose. Dėl gamybos metu pridėtų startinių pienarūgščių bakterijų kultūrų išrūgos turėtų būti perdirbamos kuo greičiau. Greitai neperdirbus išrūgų ir palaikant bakterijoms augti palankią temperatūrą, išrūgose esančios pienarūgštės bakterijos dauginasi, taip kaupiantis pieno rūgščiai, dėl kurios kinta baltymų struktūra, gali vykti hidrolizės procesai. Rekomenduojama iškart po sūrio ar varškės gamybos gautas išrūgas atskirti, pasterizuoti ir atvėsinti, kad vėliau jos galėtų būti toliau apdorojamos [25].

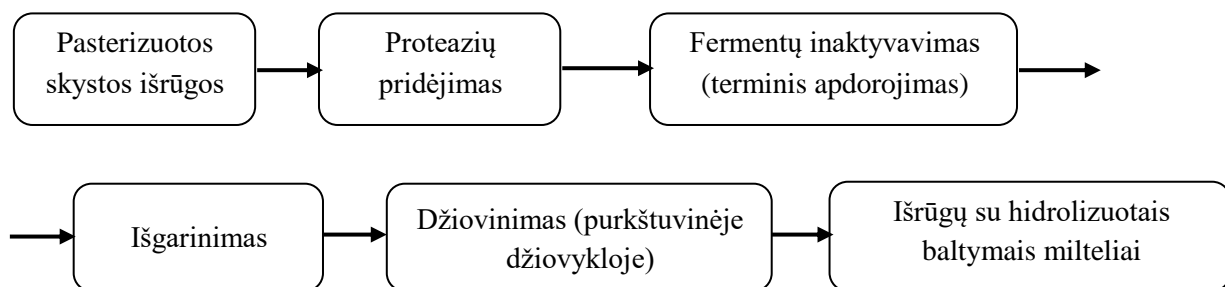
Pagrindiniai išrūgų perdirbimo būdai į įvairius komponentus pateikti 5 – amame paveiksle. Perdirbus išrūgas galima gauti ne vieną naudingą produktą.



5 pav. Išrūgų perdirbimo būdai į įvairius pieno komponentus [13]

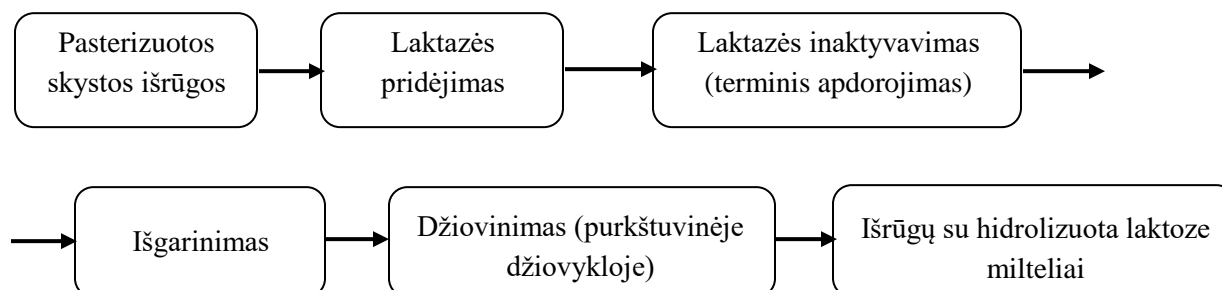
Pagrindiniai išrūgų perdirbimo procesai skirstomi į žaliavų mechaninį – terminį apdorojimą, biotechnologinius, fermentinius, cheminius modifikavimo procesus, membraninės filtracijos procesus, komponentų iš išrūgų išgryninimą ir džiovinimą [26]. Po sūrio ar varškės gamybos išrūgos yra atskiriamos nuo sutraukos. Atskirtos išrūgos yra filtruojamos, pasterizuojamos ir atvėsinaimos ir tik vėliau nukreipiamos tolimesniems perdirbimo procesams.

Vienas iš išrūgų perdirbime naudojamų procesų yra hidrolizės taikymas siekiant gauti išrūgas su hidrolizuotais baltymais ar hidrolizuota laktoze. Siekiant gauti pirmąjį variantą, procesui atlikti yra naudojami fermentai, tokie kaip tripsinas, chimotripsinas. Šie fermentai išrūgose esančius baltymus skaldo į smulkesnius fragmentus. Išrūgų miltelių su hidrolizuotais baltymais gamybos principinė schema pavaizduota 6 paveiksle.



6 pav. Išrūgų miltelių su hidrolizuotais baltymais gamybos principinė schema [13]

Siekiant gauti išrūgas su hidrolizuota laktoze yra naudojamas fermentas laktazė, kuris skaldo laktozę į galaktozę ir gliukozę. Gautas produktas pasižymi saldesniu skoniu ir mažesne tendencija susidaryti laktozės kristalams [17]. Išrūgas su hidrolizuota laktoze gali būti sunku išdžiovinti, o išdžiovinti milteliai yra linkę sukibti laikymo metu. Išrūgų miltelių su hidrolizuota laktoze gamybos principinė schema pavaizduota 7 paveiksle.



7 pav. Išrūgų miltelių su hidrolizuota laktoze gamybos principinė schema [13]

Siekiant gauti demineralizuotas išrūgas, jų perdirbime yra taikomi elektrodializės ar jonų mainų procesai. Iš išrūgų būtina pašalinti mineralines medžiagas tam, kad vėliau iš išrūgų būtų išgaunami atskiri baltymai ar baltymų koncentratai bei izoliatai, taip pat jos galėtų būti naudojamos kituose maisto produktuose [27]. Elektrodializė taip pat gali būti taikoma siekiant iš rūgščių išrūgų pašalinti pieno rūgštį tam, kad jos vėliau būtų be problemų tiekiamos į purkštuvinę džiovyklą.

Elektrodializė yra elektrocheminis atskyrimo procesas, kurio metu yra naudojamos jonams pralaidžios membranos, siekiant juos pašalinti iš tirpalo [28]. Membranose yra suformuojamos kameros, iš kurių kiekviena iš vienos pusės yra apribota katijonine pralaidžia membrana, o iš kitos – anijonine pralaidžia membrana. Kameros su išrūgomis ir koncentratu yra išdėstytos pakaitomis. Tekant elektros srovei, išrūgų katijonai migruoja per katijonines mainų membranas į koncentrato tirpalą. Lygiai taip pat išrūgų anijonai migruoja per anijonines mainų membranas į koncentrato tirpalą. Katijonų ir anijonų koncentracija išrūgose sumažėja, o jų koncentracija koncentrato tirpale padidėja. Norint pašalinti apie 90 % mineralų iš išrūgų, būtina dializę kartoti keletą kartų [28].

Jonų mainai yra fiksuoto paviršiaus atskyrimo technologija, kurioje yra naudojamos jonitinės dervos. Šių dervų paviršius gali sugerti tam tikro tipo jonus. Katijonų mainų derva sulaiko teigiamai įkrautus jonus, o anijonų mainų derva – neigiamai įkrautus. Leidžiant išrūgas per šį paviršių išrūgose esančių mineralų jonai yra sulaikomi ir gaunamos demineralizuotos išrūgos, kurios vėliau gali būti džiovinamos. Demineralizuotų išrūgų miltelių cheminė sudėtis pateikta 4 lentelėje.

4 lentelė. Demineralizuotų išrūgų miltelių cheminė sudėtis [9]

Komponentas	25 % demineralizuotos išrūgos	50 % demineralizuotos išrūgos	90 % demineralizuotos išrūgos
	%		
Baltymai	12	13	13
Laktozė	77	78	80
Mineralinės medžiagos	5	3	1
Riebalai	1	1	1
Drėgmė	5	5	5

Įvairių išrūgų komponentų išgryninimui vis plačiau taikomi membraninės filtracijos procesai. Šie procesai, lyginant su tokiais perdirbimo būdais kaip ekstrahavimas ar nusodinimas, turi šiuos privalumus [29]:

- Membraninė filtracija yra neterminis, aplinkai draugiškas procesas, kurio metu yra palaikomi minimalūs temperatūrų pokyčiai, taip siekiant išvengti įvairių su temperatūra susijusių problemų (pvz. baltymų denatūracija).
- Siekiant padidinti filtravimo efektyvumą galima papildomai taikyti įvairius selektyvius procesus, tokius kaip jonų mainai ar difuzija. Membranų konstrukcijos medžiaga taip pat gali būti parenkama taip, kad būtų padidinama atskyrimo geba tam tikrų baltymų (gaminamos naujos sintetinės membranos).
- Membraninės filtracijos technologijos, dėl savo kompaktiško dizaino ir mažo poreikio techniniam aptarnavimui, yra lengvai pritaikomos pramonėje. Membraninės filtracijos procesų vykdymas nėra labai sudėtingas procesas.

Membraninės filtracijos procesams didelis dėmesys skiriamas ir šiame baigiamajame magistro projekte, todėl išsamesnė jų apžvalga pateikiama tolimesniame skyriuje.

1.2.1 Išrūgų perdirbimas taikant membraninės filtracijos technologijas

Membraninės filtracijos technologijos yra vienas iš dažniausiai naudojamų ir efektyviausių metodų siekiant išgauti sukonzentruotus išrūgų baltymus. Membraninė filtracija – tai prisiskverbusių pro membranas molekulių atskyrimas susidarius slėgiui, siekiant skystį sukonzentruoti, frakcionuoti,

išgryninti ar net sterilizuoti [30]. Membraninės filtracijos procesai ir jų veikimo principai pateikti 5 lentelėje.

5 lentelė. Membraninės filtracijos procesai ir jų veikimo principai [31]

Atskyrimo procesas	Membraninės filtracijos tipas	Veikimo būdas
Koncentravimas	Atvirkštinis osmosas (AO)	Tik vanduo gali praeiti pro membranas – sukcentruojamos visos sausosios medžiagos.
Frakcionavimas	Nanofiltracija (NF) Ultrafiltracija (UF) Mikrofiltracinis frakcionavimas (MFF)	Keičiama cheminė sudėtis, koncentruojant kai kuriuos junginius tirpale, o kiti paliekami nepakitę.
Išgryninimas	Ultrafiltracija (UF) Mikrofiltracija (MF)	Pašalinamos visos daleles – neskaidrus skystis pakeičiamas į gryną tirpalą.
Sterilizavimas	Mikrofiltracija (MF)	Iš skysčio pašalinami mikroorganizmai.

Membraninės filtracijos proceso metu yra pakeičiamas skysčio tūris ir sudėtis, nes paduodamas skystis yra išskirstomas į du naujus skysčius – retantą (nepraeina pro membranas ir yra sukcentruojamas, pvz. baltymai) ir permeatą (praeina pro membranas, pvz. mineralai, vanduo) [31]. Membranos naudojamos membraninės filtracijos procesuose gali būti organinės kilmės (pagamintos iš polimerų) arba neorganinės kilmės (pagamintos iš keramikos). Polimerinės membranos dažniausiai gaminami kaip spiraliniai elementai, o keramikinės – kaip vamzdeliniai elementai [32]. Skirtingomis membraninėmis technologijomis apdorotų išrūgų sudėtis skiriasi. Azoto kiekio skirtumai retante po ultrafiltracijos ir dializės tiek saldžiose, tiek rūgščiose išrūgose pateikti 6 lentelėje.

6 lentelė. Azoto kiekis retante, naudojant skirtingas membraninės filtracijos rūšis [33]

Membraninės filtracijos tipas	Bendras azoto kiekis		Vidurkis	Nebaltyminio azoto kiekis		Vidurkis
	Rūgščios išrūgos	Saldžios išrūgos		Rūgščios išrūgos	Saldžios išrūgos	
Ultrafiltracija	47,91±1,45	51,94±0,94	49,92±2,84	2,39±0,07	2,59±0,05	2,49±0,14
Dializė	44,44±1,30	47,41±0,66	45,92±2,10	2,21±0,06	2,37±0,03	2,29±0,11

Naudojant skirtingų porų dydžių membranas ir taikant skirtingas sąlygas, iš išrūgų yra išskiriami skirtingi komponentai. Filtracijų tipai ir sąlygos pateikti 7 lentelėje.

7 lentelė. Membraninės filtracijos tipų charakteristika [31]

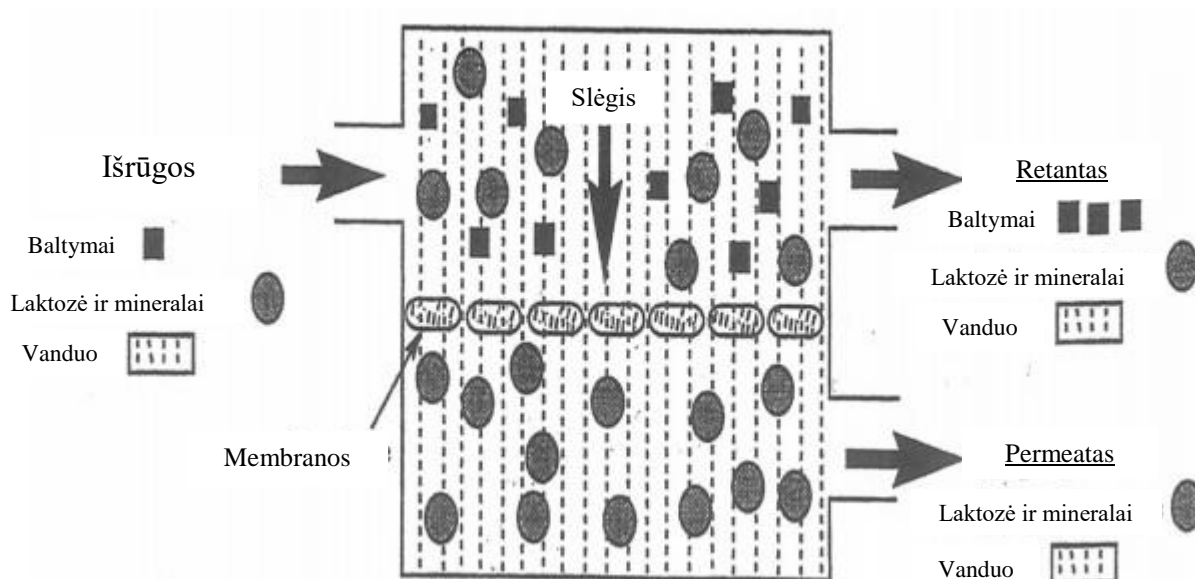
Membraninės filtracijos tipas	Membranos porų dydis, nm	Praėjusių dalelių molekulinė masė, Da	Slėgis, bar	Temperatūra, °C	Taikymas
Atvirkštinis osmosas (AO)	0,1 – 1	< 100	30 – 40	10 – 30	Koncentravimas
Nanofiltracija (NF)	0,5 – 2	100 – 500	20 – 30	10 – 30	Demineralizacija/ koncentravimas
Ultrafiltracija (UF)	5 – 100	5000 – 20000	3 – 8	10 – 50	Baltymų koncentravimas (IBK)
Mikrofiltracinis frakcionavimas (MFF)	50 – 200	-	0,1 – 0,8	50	Baltymų frakcionavimas, riebalų iš išrūgų pašalinimas (IBI)
Mikrofiltracija (MF)	800 – 1400	-	0,1 – 0,8	50	Bakterijų pašalinimas

Membraninės filtracijos procese atskyrimo gebai įtakos turi keli veiksniai. Vienas iš jų yra membranų atsparumas, kuris apibūdinamas kiekvienai membranai atskirai ir yra įvertinamas pagal membranų paviršiaus plotą, storį, esančių porų dydį. Dar vienas veiksnys yra membranų atsparumas tekančiam skysčiui [25].

Dažniausiai taikomas membraninės filtracijos procesas yra mikrofiltracija. Taikant mikrofiltracijos procesą, galima sumažinti mikroorganizmų skaičių ar net sterilizuoti išrūgas. Mikrofiltracijos procesas gali būti skirstomas į du procesus – bakterijų šalinimą („šaltoji“ sterilizacija) ir frakcionavimą (MFF). Mikrofiltracinio frakcionavimo procese yra naudojamos keraminės ar organinės membranų. Proceso metu yra atskiriami didelės molekulinės masės baltymai nuo mažos molekulinės masės tirpių baltymų. Taip pat šio proceso metu iš išrūgų gali būti pašalinamos visos riebalų molekulės, agregavę išrūgų baltymai taip išgaunant išrūgų baltymų izoliatus su riebalų kiekiu mažesniu nei 1 %. Riebalų pašalinimo proceso metu galimi baltymų nuostoliai retante [31].

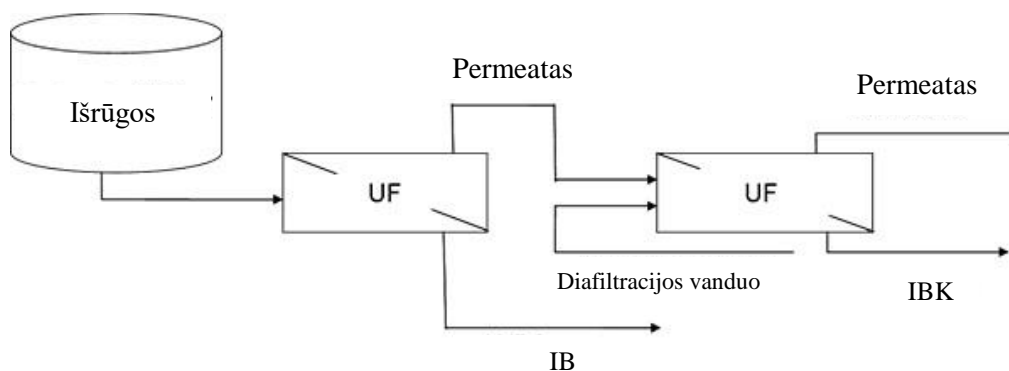
Dažnai mikrofiltracija yra taikoma kaip pirminis išrūgų apdorojimo procesas prieš ultrafiltraciją, siekiant iš išrūgų pašalinti tokius komponentus, kaip riebalai ir kazeino micelės, kurie gali turėti nepageidaujamą poveikį funkcinėms IBK savybėms [34].

Ultrafiltracija turi daugybę pritaikymų, bet pieno pramonėje pagrindė yra taikoma baltymų koncentravimui. Be baltymų koncentravimo dar yra taikoma baltymų standartizavimui, kalcio pašalinimui ar laktozės sumažinimui. Baltymai yra sukcentruojami iki 23 – 27 % ir daugeliu atvejų retantas gali būti džiovinamas purkštuvinėje džiovykloje be papildomo garinimo etapo [31]. Ultrafiltracijos proceso veikimo principas pavaizduotas 8.1 paveiksle.



8.1 pav. Ultrafiltracijos proceso veikimo principas [35]

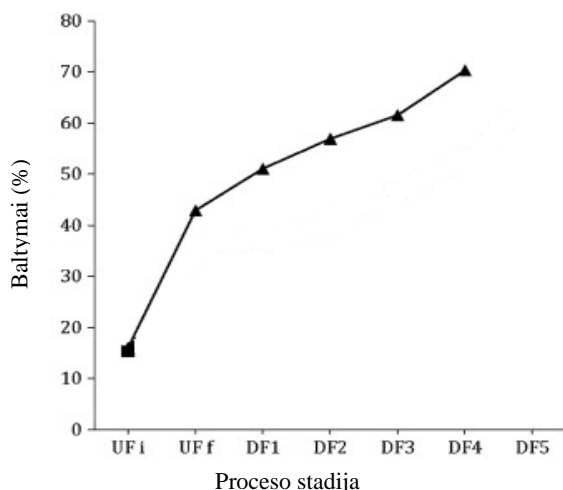
Norint gauti didesnio grynumo produktus, tokius kaip išrūgų baltymų koncentratas (IBK 80), dažnai yra taikomas diafiltracijos procesas. Diafiltracijos proceso metu į retantą yra tiekiamas vanduo, kuris išplauna ištirpusias medžiagas, tokias kaip laktozė ir mineralus, į permeatą. Tokiu būdu ultrafiltracijos proceso metu išrūgų baltymai gali būti sukcentruojami iki 80 %. Principinė ultrafiltracijos proceso su diafiltracija schema pavaizduota 8.2 paveiksle.



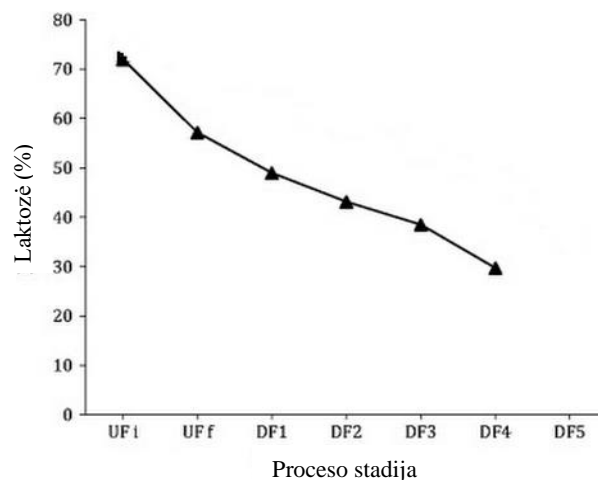
8.2 pav. Principinė ultrafiltracijos proceso su diafiltracija schema [36]

Pradinio išrūgų apdorojimo metu yra pašalinamos netirpios kalcio ir fosfatų druskos. Šių junginių nusodinimas, ypač rūgščiose išrūgose, leidžia padidinti permeato srautą ir taip pat sumažinti apnašų formavimąsi ant membranų [37].

Baltymų ir laktozės kiekio pokyčio priklausomybė nuo ultrafiltracijos proceso stadijos pavaizduota atitinkamai 9 ir 10 paveiksluose [38].

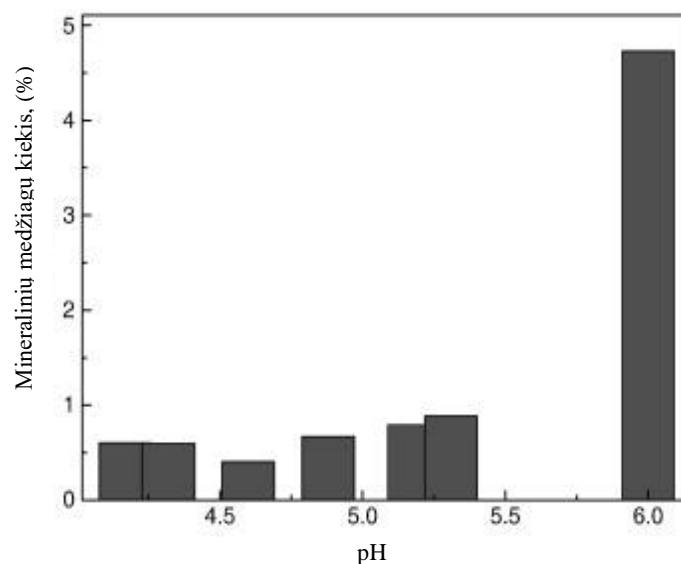


9 pav. Baltymų kiekio priklausomybė nuo ultrafiltracijos stadijos



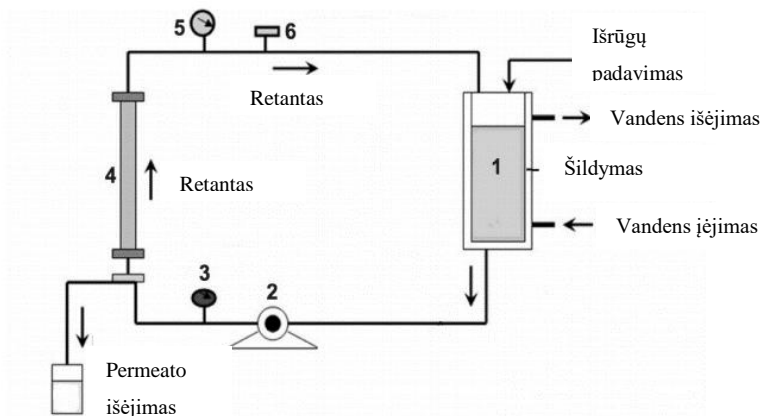
10 pav. Laktozės kiekio priklausomybė nuo ultrafiltracijos stadijos

Dar vienas frakcionavimui ir sukonzentravimui skirtas membraninės filtracijos procesas yra nanofiltracija. Nanofiltracija yra membraninės filtracijos procesas, kuriame naudojamos membranos pasižymi dideliu monovalenčių druskų (pvz. NaCl, KCl) ir mažos molekulinės masės organinių junginių pralaidumu, tačiau mažu pralaidumu organinių junginių, kurių molekulinė masė didesnė nei 300 Da [39]. Dėl šios priežasties nanofiltracija yra dažnai naudojama išrūgų koncentracijai ir demineralizacijai. Demineralizacijai gana nemažą įtaką turi išrūgų pH. Po nanofiltracijos likęs mineralinių medžiagų kiekis rūgščiose išrūgose yra daug mažesnis nei mineralinių medžiagų kiekis likęs po nanofiltracijos saldžiose išrūgose. Tai aiškinama tuo, jog izoelektriniame išrūgų baltymų taške (pH 4,6) ryšys tarp jonų (mineralų) yra silpnas, todėl druskos lengvai pašalinamos nanofiltracijos proceso metu [39]. Likusių mineralinių medžiagų kiekio priklausomybė nuo apdorojamų išrūgų pH pavaizduota 11 paveiksle.



11 pav. Mineralinių medžiagų likučio kiekio priklausomybė nuo pH išrūgose po nanofiltracijos [32]

Išstudijavus temperatūros ir slėgio įtaką, buvo pastebėta, kad nanofiltracijos procesą palankiausia vykdyti 50 °C temperatūroje, 7 barų slėgyje, taip pat procesas yra efektyvesnis, jei filtruojamos liesos išrūgos [40]. Nanofiltracijos proceso principinė schema pavaizduota 12 paveiksle.



12 pav. Nanofiltracijos proceso principinė schema: 1 – padavimo blokas, 2 – siurblys, 3 – termometras, 4 – membranos, 5 – manometras, 6 – sklendė [40]

Sukoncentravus ir išgryninus norimus komponentus, išrūgos toliau yra nukreipiamos džiovinimui. Išrūgos džiovinamos siekiant sumažinti jų transportavimo bei laikymo išlaidas, taip pat supaprastinti jų pritaikymo būdus. Išrūgų džiovinimo procesas plačiau aptariamas tolimesniame skyriuje.

1.2.2 Išrūgų džiovinimas

Išrūgų džiovinimas yra puikus būdas supaprastinti išrūgų pritaikymą įvairiose srityse. Išrūgas džiovinant yra sumažinama jų masė bei tūris, pailgėja jų galiojimo terminas. Milteliuose vandens kiekis kinta nuo 2,5 iki 5 %, todėl mikroorganizmai esant tokiam mažam vandens kiekiui nesivysto [41]. Džiovinimo proceso metu iš skysčio (išrūgų) yra pašalinamas vanduo, o produktas gaunamas kieta forma (išrūgų milteliai).

Prieš džiovinimą išrūgos yra koncentruojamos iš jų pašalinant dalį drėgmės, nes tik taip gaunami aukštos kokybės išrūgų milteliai. Nesukoncentravus išrūgų miltelių dalelės gali būti labai mažos ir turėti didelį oro kiekį, taip sutrumpėjant jų galiojimo laikui. Dažniausiai koncentravimo procesui atlikti yra naudojami krintančios plėvelės garintuvai [42]. Koncentruojama iki 45 – 60 % sausų medžiagų. Naudojant koncentravimą krintančios plėvelės garintuvais didėja tikimybė gauti prastos kokybės miltelius, nes baltymai veikiami karščiu denatūroja. Koncentravimui naudojant membraninės filtracijos procesus, baltymai nedenatūroja, todėl gaunami aukštos kokybės išrūgų milteliai.

Džiovinimo būdai skirstomi į džiovinimą karščiu ir džiovinimą šalčiu. Džiovinimas karščiu skirstomas į du pagrindinius metodus – būgninį džiovinimą ir purškiamąjį džiovinimą [25]. Pramonėje dažniausiai naudojamos purkštuvinės džiovyklos, o procesas atliekamas trimis stadijomis: 1) koncentrato dispergavimas į smulkius lašelius; 2) greitas vandens išgarinimas disperguotus lašelius veikiant karšto oro srautu; 3) sausų išrūgų dalelių atskyrimas nuo oro srauto [43]. Džiovinant karščiu gauti milteliai yra prastesnės kokybės, nes baltymai denatūroja, mažėja jų tirpumas ir prastėja kitos savybės. Siekiant to išvengti yra naudojamas džiovinimas šalčiu.

Džiovinimas šalčiu, dar vadinamas liofilizacija arba sublimavimas, yra taikomas siekiant gauti aukštos kokybės miltelius. Liofilizacijos proceso metu džiovinamas produktas yra užšaldomas ir nesant oro, vakuume yra džiovinamas šalčiu [44]. Procesas yra brangus, tačiau gautas produktas pasižymi aukšta kokybe – baltymų frakcija lieka nepakitusi.

Šiame baigiamajame magistro projekte didelis dėmesys skiriamas išrūgų milteliams bei išrūgų baltymų koncentratų milteliams, todėl jų savybės aptariamos tolimesniame skyriuje.

1.3 Išrūgų miltelių ir išrūgų baltymų koncentratų (IBK) miltelių bendra charakteristika

Išrūgų baltymų milteliai – tai baltos arba šviesiai kreminės spalvos produktas, gaunami džiovinant išrūgas prieš tai jas sukoncentravus. Išrūgų baltymų koncentratas (IBK) – tai baltos arba šviesiai kreminės spalvos produktas, gaunamas džiovinant išrūgas, prieš tai iš jų pašalinus laktozę,

mineralines medžiagas ir nebaltyminius azoto darinius. Sausuose IBK milteliuose baltymai sudaro 25 % ar daugiau [46]. Nebaltyminiai komponentai yra pašalinami taikant nusodinimą, dializę ar membraninės filtracijos technologijas. Išrūgų baltymų koncentrato ir išrūgų miltelių jusliniai rodikliai pateikti 8 lentelėje.

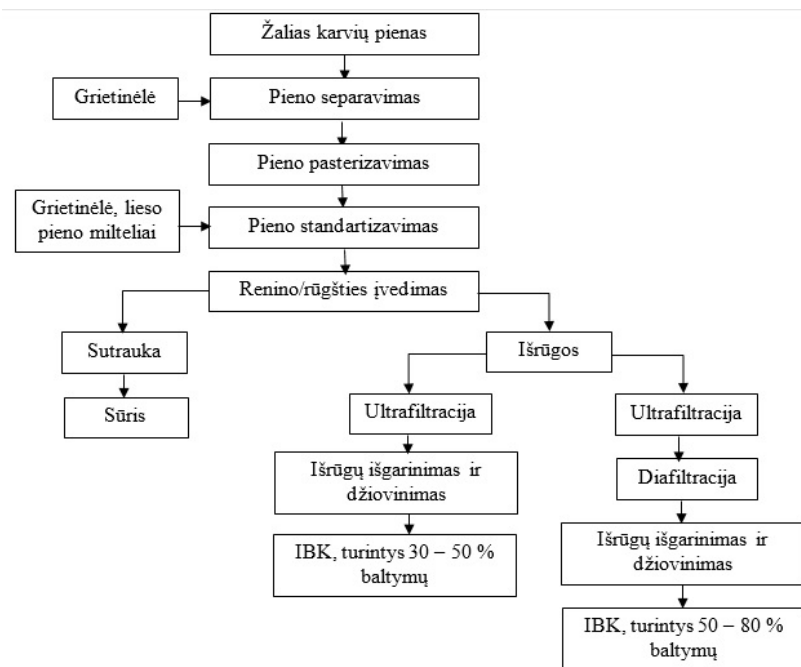
8 lentelė. Išrūgų baltymų koncentrato ir išrūgų miltelių jusliniai rodikliai [47]

Rodiklio pavadinimas	Charakteristika pagal standartą	
	Išrūgų baltymų koncentratas	Išrūgų milteliai
Išorinis vaizdas	Skysto koncentrato: vienalytis skystis; sauso koncentrato: vienalyčiai smulkūs milteliai; gali būti šiek tiek gumulėlių, lengvai subyrančių mechaniškai veikiant ir pavienių apdegusių miltelių dalelių	Vienalyčiai smulkūs milteliai; gali būti šiek tiek gumulėlių, lengvai subyrančių mechaniškai veikiant ir pavienių apdegusių miltelių dalelių
Spalva	Skysto koncentrato – žalsvai ruda; sauso – nuo šviesiai kreminės iki kreminės, visos koncentrato masės vienoda	Nuo šviesiai kreminės iki kreminės, visos koncentrato masės vienoda
Skonis ir kvapas	Specifinis, išrūginis, be šalutinių prieskonių ir kvapų	Specifinis, išrūginis, be šalutinių prieskonių ir kvapų

Išrūgose esantys baltymai pasižymi geromis bioaktyviomis savybėmis, tokiomis kaip antioksidacinės, antihipertenzinės, priešvėžinės, hipolipideminės, priešuždegiminės, antimikrobinės savybės, imuniteto moduliavimo, chelatinių agentų, raumenų stiprumo pagerinimo savybės [48]. Dėl šių savybių išrūgų baltymų milteliai ir koncentratai, išrūgų frakcijos ir jų biologiškai aktyvūs peptidai gali būti naudojami kaip maisto papildai, farmaciniai preparatai ar funkciniai ingredientai.

1.3.1 IBK gavimas taikant membraninės filtracijos technologijas

IBK gaminami taikant vieną iš membraninės filtracijos technologijų rūšių – ultrafiltraciją. IBK gamybos proceso diagrama pavaizduota 13 paveiksle.



13 pav. IBK gamybos proceso diagrama [49]

Išrūgų baltymų koncentratai yra milteliai gaunami džiovinant po išrūgų ultrafiltracijos proceso gautą retantą. IBK yra apibūdinami skaičiumi, svyruojančiu nuo 35 iki 80 %, reiškiančiu baltymų kiekį (procentinis baltymų kiekis sausoje dalyje) milteliuose [25]. Ultrafiltracija apdorojant 100 kg išrūgų, gaunama maždaug 17 kg retanto ir 83 kg permeato. Retante esantys baltymai, sukonzentruojami apytiksliai 6 kartus, tačiau retanto kiekis ir baltymų koncentracija jame priklauso nuo membranos tipo, išrūgų srauto greičio, išrūgų apdorojimo būdo prieš ultrafiltraciją (praskiestos išrūgos, sukonzentruotos išrūgos) [25].

IBK 35 ir IBK 80 gamyba skiriasi. Gaminant IBK 35, po baltymų koncentravimo ir dalinio išgryninimo ultrafiltracijos sistemoje, retantas yra tirštinamas vakuuminio išgarinimo aparate, laktozė yra kristalizuojama, o vėliau mišinys džiovinamas purkštuvinėje džiovykloje ar kitu būdu, norint gauti drėgmės kiekį ne didesnę nei 5 %. Gaminant IBK 80, išrūgų apdorojimui yra taikoma diafiltracijos sistema sujungta kartu su ultrafiltracijos sistema, leidžianti labiau išgryninti baltymus. Diafiltracijos dėka gaunamas retantas su didesniu baltymų kiekiu ir mažesniu laktozės kiekiu, procesui vykdyti nereikia naudoti vakuuminio išgarinimo ir laktozės kristalizacijos. Po diafiltracijos retantas paduodamas į purkštuvinę (ar kitą džiovyklą), kurioje gaunami milteliai su ne didesniu nei 5 % drėgmės kiekiu [50].

Išrūgų miltelių gamyboje nenaudojami membraninės filtracijos procesai. Dėl šio gamybos skirtumo išrūgų miltelių ir IBK miltelių savybės skiriasi.

1.3.2 Išrūgų miltelių ir IBK miltelių fizikinės – cheminės savybės

Skystų išrūgų cheminė sudėtis skiriasi nuo išrūgų miltelių cheminės sudėties. Rūgščių ir saldžių išrūgų miltelių cheminė sudėtis pateikta 9 lentelėje.

9 lentelė. Išrūgų miltelių cheminė sudėtis [45]

Komponentas	Saldžių išrūgų milteliai	Rūgščių išrūgų milteliai
Laktozė, %	69,4	63,2
Baltymai, %	13,0	11,7
Nebaltyminis azotas, %	0,5	0,6
Mineralinės medžiagos, %	8,3	10,6
Riebalai, %	1,0	0,5
pH	5,9	4,6

Priklausomai nuo taikomo IBK gamybos proceso, skiriasi ir IBK cheminė sudėtis – gaunami IBK su skirtingu baltymų, riebalų, laktozės ir mineralinių medžiagų kiekiu. Išrūgų baltymų koncentratų miltelių cheminė (%) sudėtis pateikta 10 lentelėje.

10 lentelė. Išrūgų baltymų koncentratų cheminė sudėtis procentais [25]

IBK	1	2	3	4
	%			
Baltymai sausojoje dalyje	35	50	65	80
Drėgmė	3,8	3,8	3,8	3,8
Bendras baltymų kiekis (N×6,38)	36,2	52,1	63,0	81,0
Tikrieji baltymai	29,7	40,9	59,4	75,0
Laktozė	46,5	30,9	21,1	3,5
Riebalai	2,1	3,7	5,6	7,2
Mineralinės medžiagos	7,8	6,4	3,9	3,1
Pieno rūgštis	2,8	2,6	2,2	1,2

IBK milteliai pasižymi didesniu baltymų kiekiu, lyginant su išrūgų baltymų milteliais, tačiau kitų komponentų kiekis juose mažesnis. Baltymai, pagrindinis IBK komponentas, yra skirstomi į skirtingas frakcijas, kurios pasižymi skirtingomis funkcijomis. Išrūgų baltymų frakcijos randamos išrūgų baltymų koncentratuose ir jų funkcijos pateiktos 11 lentelėje.

11 lentelė. Išrūgų baltymų frakcijos randamos IBK ir jų funkcijos [49]

Išrūgų baltymų frakcija	IBK %	Biologinės funkcijos ir nauda
β – laktoglobulinas	50 – 60	Veikia kaip baltymas – nešiklis tokiems junginiams, kaip tokoferolis ir vitaminas A
α – laktoalbuminas	12 – 16	Moduliuoja laktozės sintezę pieno liaukose, dedamas į kūdikių produktus ar produktus asmenų su ribotu baltymų įsisavinamumu
Glikomakropeptidas	15 – 21	Mažina skrandžio sekreciją, slopina trombocitų agregaciją, veikia kaip prebiotikas, turi imunomodulatorinių savybių.
Serumo albuminas	3 – 5	Susietas su lipidų surišimo savybėmis, netiesiogiai veikia lipidų oksidacijos procesuose
Imonoglobulinai	5 – 8	Apsaugo naujagiminius nuo ligų; pasyvus imunitetas
Laktoferinas	<1	Antimikrobinės savybės, geležies surišimas, laisvųjų radikalų slopinimas
Laktoperoksidazė	<1	Antimikrobinis agentas

Tokios fizikinės – cheminės savybės, kaip baltymų struktūra, įskaitant formą bei molekulių persigrupavimą, aminorūgščių kompozicija, molekulinė masė, polipeptidų grandinės lankstumas ir paviršiaus hidrofobiškumas turi įtakos IBK funkcinėms savybėms. Taip pat IBK funkcinėms savybėms įtakos turi išoriniai veiksniai, tokie kaip pH, temperatūra, jonų tipas ir ryšys [49]. Ultrafiltracijos proceso metu baltymai nėra denatūruojami, todėl gauti IBK milteliai pasižymi geru tirpumu. Be baltymų tirpumo, svarbu aptarti ir kitas IBK funkcinės savybes.

1.3.3 Išrūgų miltelių ir IBK miltelių funkcinės savybės

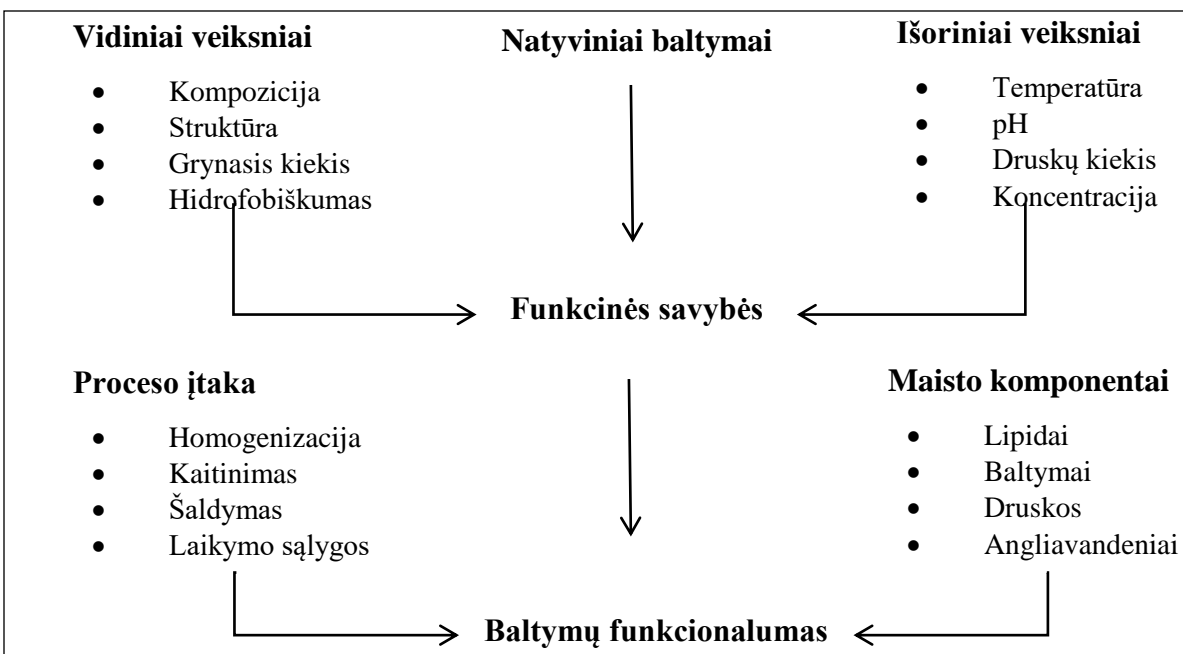
Išrūgų miltelių funkcinės savybės daugiausia priklauso nuo baltymų kiekio. Baltymų kiekis išrūgų milteliuose nėra didelis, todėl siekiant gauti miltelius su didesniu baltymų kiekiu, yra gaminami išrūgų baltymų koncentrato milteliai. IBK milteliai yra plačiai naudojami daugelyje maisto sistemų dėl tokių pagrindinių funkcinių savybių kaip emulsavimas, želatinizacija ir putojimas, didelis tirpumas ir klampos gerinimas. Didelis kiekis išrūgų baltymų koncentratuose esančių nepakeičiamų aminorūgščių, ypač šakotų aminorūgščių, daro juos pageidaujamu komponentu įvairiuose maisto produktuose. IBK, turintys didesnę baltymų kiekį, pasižymi geresnėmis funkcinėmis savybėmis nei IBK su mažesniu baltymų kiekiu. Pagrindinės funkcinės IBK savybės pateiktos 12 lentelėje.

12 lentelė. IBK funkcinės savybės [51]

Funkcinė savybė	Veikimo būdas	Maisto sistema
Vandens surišimas/ hidratacija	IBK baltymai suriša papildomą vandenį.	Mėsa, gėrimai, duona, konditerija
Gelio sudarymas/ klampa	Baltymai – baltymai sąveika formuoja matricą	Padažai, sriubos, kepiniai
Emulsijos sudarymas	Baltymai stabilizuoja riebalų emulsijas	Dešrelės, sriubos, konditerija, padažai, kūdikių maistas
Putojimas/ plakimas	Baltymai formuoja stabilią plėvelę. Geriausios putojimo savybės išgaunamos, kai baltymai yra nedenaūravę.	Desertai, plakti gaminiai
Rudavimo/ skonio ir kvapo susidarymas	Baltymai turi įtakos rudavimui (Majaro reakcija); IBK kaip maisto ingredientas neturi pašalinio kvapo ir skonio	Konditerija, mėsos gaminiai, duona, sriubos, pieno produktai

Išrūgų baltymų funkcinės savybės pasireiškia per baltymų molekulių ir tirpiklio (vandens), druskų (jonų) ar kito maisto komponento sąveiką [52]. Viena iš išskirtinių IBK funkcinų savybių yra geras tirpumas vandenyje plačiose pH ribose (pH 2 – 9). Taip pat itin svarbi funkcinė IBK savybė yra emulsijos sudarymas, dėl kurios IBK dažnai naudojami kaip emulsikliai įvairiose maisto sistemose. IBK emulsinimo savybėms įtaką daro tokie svarbūs veiksniai, kaip baltymų koncentracija, pH, joniniai ryšiai, kalcio ir laktozės koncentracija, maisto produkto gamybos proceso būdas ir laikymo sąlygos. Dar viena svarbi IBK funkcinė savybė yra jų gebėjimas, esant tinkamoms sąlygoms, sudaryti viskoelastinius gelius, galinčius imobilizuoti didelį vandens kiekį ar kitus maisto komponentus. Skirtingi IBK pasižymi skirtingu gelių sudarymo pajėgumu. Paprastai IBK produktai geba sudaryti gelius esant 80 – 120 mg/l baltymų koncentracijai 60 – 90 °C temperatūroje. Gelio susidarymo procesui įtakos turi terminio poveikio trukmė, pH, joniniai ryšiai, druskų koncentracija, baltymų, cukrų ir lipidų kiekis [53].

Baltymų funkcinės savybės yra glaudžiai susiję su jų fizikinėmis – cheminėmis, struktūrinėmis savybėmis. Veiksniai, darantys įtaką IBK funkcionalumui pateikti 14 paveiksle.



14 pav. Veiksniai, turintys įtakos išrūgų baltymų koncentratų funkcinėms savybėms [53]

Žinant funkcinės savybės ir joms įtaką darančius veiksniai, galima lengviau rasti IBK pritaikymo galimybes. Viena iš plačių IBK miltelių ir išrūgų baltymų miltelių pritaikymo sričių yra kiti maisto produktai.

1.4 Išrūgų miltelių ir IBK miltelių panaudojimas maisto produktuose

Išrūgų baltymų koncentratai naudojami gaminant įvairius maisto produktus ne tik dėl jų maistinių savybių, bet ir dėl išgaunamo pageidaujamo produktų funkcionalumo. Išrūgų baltymų milteliai pasižymi mažesniu funkcionalumu, nes juose baltymų kiekis, palyginti su IBK, yra nedidelis.

IBK su 35 % baltymų dažnai naudojamas kaip nugriebto pieno pakaitalas, taip pat kaip stabilizatorius jogurtuose, kepinų mišiniuose, dietiniuose maisto produktuose, kūdikiams skirtuose maisto produktuose ar saldumynuose. Šie IBK pasižymi geromis vandens surišimo savybėmis, riebalų skonio pojūčio sudarymu burnoje bei gelio formavimo savybėmis, kurios yra reikalingos gaminant minėtus maisto produktus. IBK su 50, 65 arba 80 % baltymų yra ypač tinkami maistiniams gėrimams, sriuboms, kepiniams, mėšai, dietiniams maisto produktams, mažai riebalų turintiems produktams ir gėrimams, kurių sudėtyje yra baltymų. Išrūgų baltymų koncentratai su 80 % baltymų, pasižymi visiškai minimaliu riebalų kiekiu ir yra puiki alternatyva pakeičiant kiaušinio baltymą, tokiuose plaktuose produktuose kaip morengai, ledai ar įvairūs kremai [51].

1.4.1 Išrūgų baltymų mitybinė vertė ir bioaktyvumas

Išrūgų baltymai pasižymi išskirtine mitybine verte, kuri yra tam tikros organizmo naudojamos maistinės medžiagos (pvz. baltymų) procentinė dalis. Vertinant išrūgų baltymų biologinę vertę, yra įvertinamas azoto kiekis, kurį absorbuoja organizmas iš baltymų [54]. Išrūgų baltymai pasižymi didele maistine verte ne tik dėl didelės koncentracijos nepakeičiamųjų amino rūgščių, bet ir dėl gero virškinamumo, dėl kurio išauga gryno baltymų įsisavinamumo vertė. Išrūgų baltymuose randamos tokios nepakeičiamos aminorūgštys, kaip izoleucinas, leucinas, treoninas, triptofanas ir valinas, kurių trūksta daugelyje grūdų ir daržovių baltymų sudėtyje [54]. Tyrimų metu buvo nustatyta, kad baltymai, lyginant su angliavandeniais ar riebalais, suteikia didesnę sotumo jausmą. Dėl šios priežasties jie gali būti potencialiu produktu, naudojamu siekiant gydyti nutukimą ir reguliuoti kūno svorį. Išrūgų baltymai yra turtingi sieros turinčiomis aminorūgštimis (metioninu ir cisteinu), kurios atlieka svarbų antioksidantų vaidmenį bei yra svarbaus ląstelių antioksidanto glutationo prekursoriai [54]. Nepakeičiamųjų aminorūgščių kiekio įvairiuose baltymų šaltiniuose palyginimas pavaizduotas 13 lentelėje.

13 lentelė. Nepakeičiamųjų aminorūgščių kiekis (g/100 g) įvairiuose baltymų šaltiniuose [55]*

Nepakeičiamoji amino rūgštis	Pieno baltymų izoliatas	Išrūgų baltymų izoliatas	Išrūgų baltymų hidrolizatas	Kazeinas	Sojos baltymų izoliatas	Kiaušinio baltymas
Izoleucinas	4,4	6,1	5,5	4,7	4,9	5,7
Leucinas	10,3	12,2	14,2	8,9	8,2	8,4
Lizinas	8,1	10,2	10,2	7,6	6,3	6,8
Metioninas	3,3	3,3	2,4	3,0	1,3	3,
Fenilalaninas	5,0	3,0	3,8	5,1	5,2	5,8
Treoninas	4,5	6,8	5,5	4,4	3,8	4,6
Triptofanas	1,4	1,8	2,3	1,2	1,3	1,2
Valinas	5,7	5,9	5,9	5,9	5,0	6,4
Viso (ŠGAR):	20,4	24,2	25,6	19,5	18,1	20,4
Viso (NAR):	42,7	49,2	49,8	40,7	36,0	42,3

*Apytikslė nepakeičiamųjų ir šakotos grandinės aminorūgščių koncentracija (atitinkamai NAR ir ŠGAR) pavaizduotos įvairiuose baltymų šaltiniuose g/100g. Kazeinas yra vidurkis kalcio kazeinato, natrio kazeinato ir kalio kazeinato; Išrūgų baltymų izoliatas – jonų mainų ir kryžminio srauto mikrofiltracijos išrūgų baltymų izoliatų vidurkis.

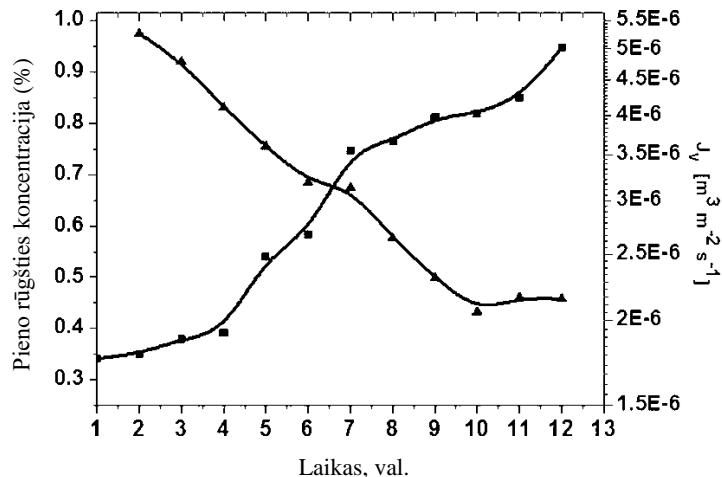
Iš lentelėje pateiktų duomenų matyti, kad išrūgų baltymai pasižymi didžiausiu kiekiu nepakeičiamųjų aminorūgščių, o tai skatina ieškoti naujų išrūgų baltymų pritaikymo galimybių maisto pramonėje.

Išrūgų sudėtyje yra daug biologiškai aktyvių baltymų ir peptidų, kurie išskiriami fermentinio virškinimo metu. Bioaktyvūs peptidai gali būti gaminami išrūgų perdirbimo metu, taikant kontroliuojamą hidrolizę ir vėliau naudojant juos kaip ingredientą kituose maisto produktuose. Išrūgų baltymuose esantys bioaktyvūs peptidai pasižymi priešvėžinėmis bei antimikrobinėmis savybėmis, augimo faktoriumi, imuniniu poveikiu bei atlieka svarbų vaidmenį audinių vystymosi procese [54].

Šiame baigiamajame magistro projekte didesnis dėmesys skiriamas rūgščioms išrūgoms, todėl tolimesniame skyriuje bus aptariamas jų pritaikymas maisto produktuose.

1.4.2 Rūgščių išrūgų panaudojimas maisto produktuose

Ilgą laiką rūgščios išrūgos buvo laikomos atlieka maisto pramonėje dėl savo didelio rūgštingumo ir dėl to kylančių problemų jas perdirbant. Saldžios išrūgos yra lengvai toliau perdirbamos į išrūgų miltelius, laktozę, išrūgų baltymų koncentrato miltelius ir kitus produktus naudojant purkštuvines džiovyklas. Didesnė pieno rūgšties koncentracija rūgščiose išrūgose neleidžia taikyti šio proceso rūgščių išrūgų perdirbimui, nes milteliai gauti iš rūgščių išrūgų pasižymi didele drėgmės absorbcija, linkę aglomeruotis ir nusėsti džiovyklėje, o tai sukelia prietaiso naudojimo problemas [56]. Dėl šios priežasties pieno rūgšties koncentracija rūgščiose išrūgose turi būti sumažinta tam, kad jas būtų galima veiksmingai išdžiovinti naudojant purkštuvinę džiovyklą ar kitas džiovinimo rūšis. Vienas iš būdų, sprendžiant šią problemą, yra pieno rūgšties neutralizavimas, tačiau šis metodas sukelia nepageidaujamą skonį [56]. Kitas būdas yra elektrodializės, kaip demineralizacijos technologijos, taikymas siekiant pašalinti laktato jonus iš rūgščių išrūgų. Pieno rūgštis yra silpna rūgštis, kuri gali disocijuoti į neigiamus laktato jonus ($\text{CH}_3\text{CH}(\text{OH})\text{COO}^-$) ir teigiamus vandenilio jonus (H^+), kurie gali būti efektyviai pašalinami iš rūgščių išrūgų [56]. Dar vienas būdas, siekiant pašalinti pieno rūgštį iš rūgščių išrūgų, yra membraninės technologijos taikymas išrūgų apdorojime. Nanofiltracijos ar ultrafiltracijos dėka, pieno rūgštis gali būti sėkmingai pašalinta ar sumažintas jos kiekis iki tinkamo ir neturinčio neigiamo poveikio išpurškiant išrūgas purkštuvinėje džiovykloje [57]. Membranų našumas ir selektyvumas priklauso nuo pH ir temperatūros bei membranos tipo [58]. Esant pH reikšmei ~3 ir 40 °C temperatūrai, iš rūgščių išrūgų gali būti pašalinta apie 50 % pieno rūgšties [59]. Pieno rūgšties koncentracijos ir permeato srauto priklausomybė nuo laiko ultrafiltracijos metu pavaizduota 15 pav.



15 pav. Pieno rūgšties koncentracijos ir permeato srauto priklausomybė nuo ultrafiltracijos laiko [60]

Iš paveikslo duomenų matyti, kad ultrafiltracijos metu pieno rūgšties koncentracija permeate didėja, o permeato srautas po truputį mažėja. Permeato srauto mažėjimas yra paaiškinamas galimu apnašų susidarymu ant membranų, dėl kurio membranų poros gali užsikimšti ir membranos pralaidumas sumažėja.

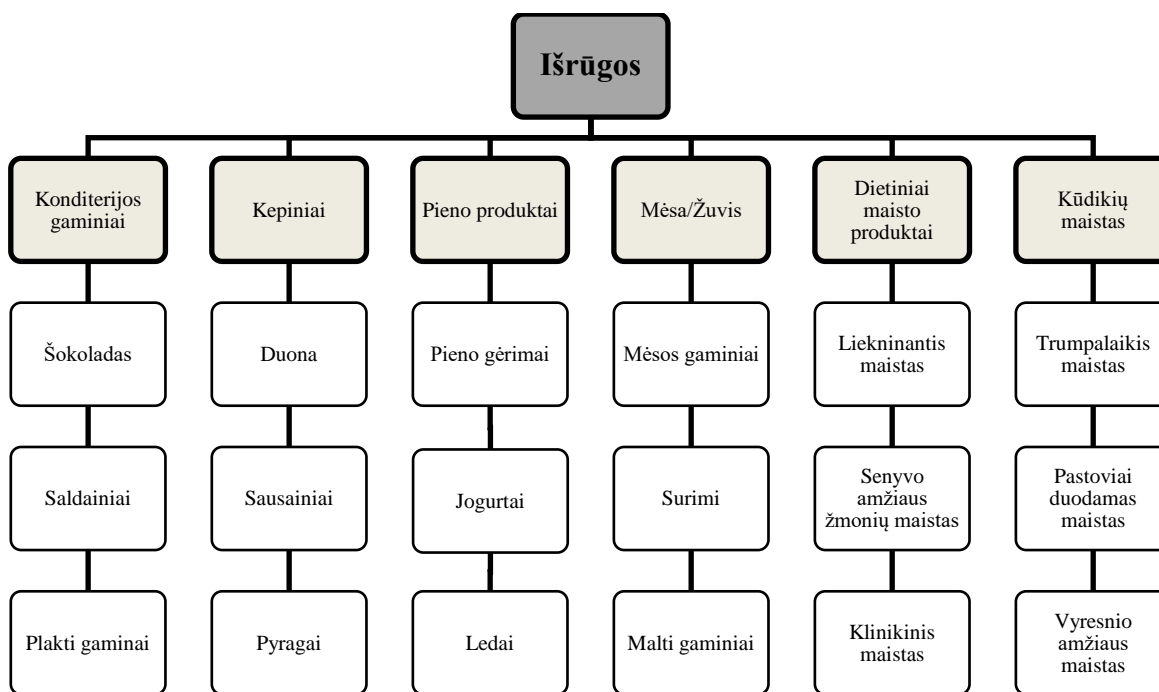
Ultrafiltracijos ir nanofiltracijos procesų metu baltymai, dalis laktozės ir mineralų yra sukonzentruojami retante, o praėjusio pro membranas – permeato sudėtyje lieka dalis mineralų, laktozės ir pieno rūgštis. Tokiu būdu yra gaunamas dideliu kiekiu baltymų bei mažu kiekiu pieno rūgšties pasižymintis retantas, kuris gali būti be problemų išpurškiamas purkštuvinėje džiovykloje, gaunant išrūgų baltymų koncentrato miltelius.

Ultrafiltracijos būdu apdorotos rūgščios išrūgos gali būti pritaikomos kitų rūgščių fermentuotų produktų gamyboje. Taip pat nemažai maisto produktų gali būti praturtinti išrūgų baltymais, taip pagerinant jų maistinę vertę [61]. Išrūgų miltelių įtaka kitų produktų kokybiniais parametrams pavaizduota 14 lentelėje.

14 lentelė. Išrūgų miltelių įtaka maisto produktų kokybiniams parametrams [59]

Maisto produktas	Išrūgų dalis nuo bendro sausų medžiagų kiekio (%)	Pagerinta produkto charakteristika
Konditerijos gaminiai	3 (nuo miltų svorio)	Aromatas, tekstūra, trumpesnis kildinimo laikas, padidėjęs patvarumas
Ledai	2,7	Aromatas, rūgštis ir vaisių stabilumas
Saldainiai	10	Aromatas, tekstūra, vandens surišimo geba
Glazūros, cukriniai papuošimai	6	Oro inkorporavimas
Džemai	4	Aromatas
Lydytas sūris	10	Tekstūra, aromatas

Išrūgų milteliai gali būti naudojami kituose maisto produktuose dėl teigiamo poveikio mitybinei vertei, technologiniams parametrams. Išrūgų miltelių pritaikymo galimybės pavaizduotos 16 paveiksle.



16 pav. Išrūgų (išrūgų miltelių) pritaikymas maisto produktuose [62]

Naudojant išrūgų miltelius ar IBK miltelius kituose maisto produktuose, baltymų savybės kinta dėl įvairių maisto produktų gamyboje naudojamų technologinių procesų. Vienas iš tokių procesų, plačiai taikomas maisto pramonėje, yra terminis apdorojimas.

1.4.3 Terminio apdorojimo įtaka išrūgų baltymams

Terminio apdorojimo procesas yra gana dažnas gaminant įvairius maisto produktus, siekiant sunaikinti mikrobus ir prailginti produkto galiojimo trukmę. Atsparumas aukštai temperatūrai išrūgų baltymų frakcijose kinta šia tvarka: α – laktoalbuminas > β – laktoglobulinas > serumo albumas > imunoglobulinai [53]. Terminio apdorojimo metu išrūgų baltymų struktūra pakinta, jie agreguoja, o dėl to keičiasi ir jų fizikinės bei cheminės savybės. Terminis apdorojimas daro didelę įtaka baltymų funkcinėms savybėms tokioms kaip tirpumas, vandens surišimo geba, emulsinimo, putojimo ir gelio sudarymo savybės. Skirtingai nei kazeinas, išrūgų baltymai visiškai denatūruoja po 5 minučių 90 °C temperatūroje. Išrūgų baltymų denatūracijos procesas prasideda 65 °C temperatūroje, tačiau intensyviausiai vyksta didesnėje nei 80 °C temperatūroje [53].

Išrūgų baltymų denatūravimo laipsnis dažnai apibūdinamas β – laktoglobulino denatūravimo laipsniu, kadangi šis baltymas sudaro apie 50 % visų išrūgų baltymų. Terminė β – laktoglobulino denatūracija vyksta dviem stadijom. Pirmosios metu dimerai disocijuoja susidarant 4 monomerams, kurie sąveikaudami per sulfhidrilo grupes sudaro nedidelius agregatus esant didesnei nei 70 °C temperatūrai. Antrosios stadijos metu nedideli agregatai jungiasi tarpusavyje sudarydami didelės molekulinės masės agregatus. Šis procesas vyksta dar aukštesnėje temperatūroje nei pirmoji stadija. Denatūracijos procesui taip pat įtakos turi tokie veiksniai, kaip pH, druskų kiekis, angliavandenių bei baltymų kiekis. Buvo nustatyta, jog β – laktoglobulinas yra jautriausias esant pH reikšmei 9,0. Esant tokiai pH reikšmei, β – laktoglobulino denatūracija prasideda 43 °C temperatūroje, antrinė struktūra pakinta jau 51 °C temperatūroje. Esant pH reikšmei 6,0, denatūracija prasideda 76 °C temperatūroje [53]. Didžiausiu termostabilumu β – laktoglobulinas pasižymi esant pH vertei 3,0.

Be proteazinių peptonų frakcijos, stabiliausias išrūgų baltymas yra α – laktoalbuminas, kurio stabilumas pasireiškia 4 disulfidinėmis jungtimis, įsiterpusiomis į polipeptidinę grandinę, ir laisvų – SH grupių nebuvimu. Buvo nustatyta, jog veikiant 100 °C temperatūra 10-30 minučių, buvo nutraukta tik 12 – 20 % disulfidinių jungčių [53].

Išrūgų baltymų pridėjimas į pieną, skirtą rūgšties fermentuotiems gėrimams gaminti, pakeitė kazeino : išrūgų baltymų santykį, dėl kurio kinta pieno termostabilumas. Pienas su žemu kazeino : išrūgų baltymų santykiu (pvz.: 20:80 ar 40:60) koaguliuoja greitai ir negali būti naudojamas šiems produktams gaminti. Rekomenduojama išrūgų baltymų koncentracija jogurto gamyboje turėtų siekti 1 – 2 %, nes didesnis IBK kiekis sukelia nepageidaujamą kvapą [53]. Jogurto klampos ir sinerezės pokytis, praturtinus jį išrūgų baltymų koncentratu milteliais ir nugriebto pieno milteliais, pavaizduotas 15 lentelėje.

15 lentelė. IBK 34 ir nugriebto pieno miltelių įtaka jogurto klampai ir sinerezės procesui [53]

Mėginys	Konsistencija (Pa·s)	Sinerezė (ml)
Kontrolinis	$57,5 \cdot 10^{-3}$	22
Praturtintas 2 % nugriebto pieno milteliais	$94,5 \cdot 10^{-3}$	17
Praturtintas 2 % IBK 34	$117,0 \cdot 10^{-3}$	7

Iš lentelėje pateiktų duomenų matyti, kad IBK 34 turi didesnę įtaką produkto klampos padidėjimui bei sinerezės proceso sumažinimui, o tai yra teigiamas rodiklis, vertinant išrūgų pritaikymo galimybes maisto produktuose.

Kaip matyti iš 16 paveikslo duomenų, išrūgos gali būti pritaikomos įvairių maisto produktų gamyboje. Šiame baigiamajame magistro projekte buvo nuspręsta išrūgas taikyti kepinių gamyboje, todėl literatūros apžvalgoje didesnis dėmesys yra skiriamas išrūgų panaudojimui kepinuose.

1.4.4 Rūgščių išrūgų miltelių ir IBK miltelių pritaikymas kepinių gamyboje

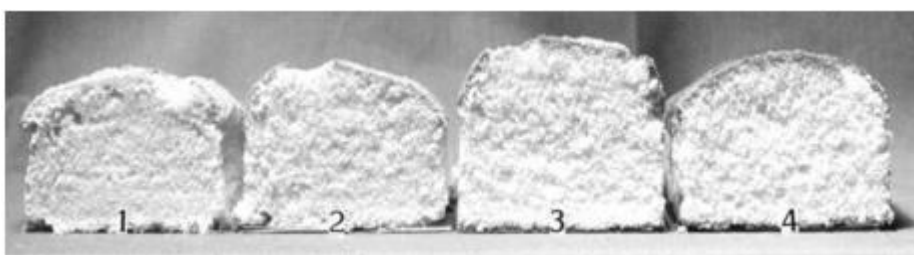
Pieno produktai yra plačiai naudojami kepinių pramonėje dėl savo teigiamo poveikio kepinio mitybinei vertei, juslinėms ir kai kurioms funkcinėms savybėms. Dažniausiai duonos gamyboje naudojami miltai, vanduo, mielės ir druska, bet pastaruoju metu vartotojai ieško kepinių su įvairesne sudėtimi, todėl išrūgų baltymų koncentratai yra puiki alternatyva siekiant praturtinti kepinių sudėtį naudingais komponentais. Buvo atliktas tyrimas siekiant įvertinti rūgščių IBK miltelių įtaką kvietinės ir kvietinės – ruginės duonos savybėms [63]. Nustatyta, jog duonos tešla ir pati duona, praturtinta rūgščių IBK milteliais, pasižymi didesniu rūgštingumu lyginant su kontroliniais kepiniais be rūgščių IBK. Taip pat buvo nustatyta, kad rūgščių išrūgų baltymų koncentratas padėjo sumažinti kepimo nuostolius bei susidariusios plutos svorį, tačiau kontroliniai kepiniai be išrūgų baltymų koncentrato pasižymėjo didesniu tūriu. Tai aiškinama tuo, jog išrūgų baltymai reaguoja su glitimo kompleksu, taip pat jie yra tirpūs vandenyje bei pasižymi emulsuojančiomis savybėmis, dėl kurių kepalų tūris mažėja [63].

Rūgščių IBK miltelių sudėtis pasižymi dideliu kiekiu baltymų, mineralinių medžiagų bei laktozės, todėl įdėjus šių koncentratų į kepinus, jų sudėtyje taip pat buvo nustatyti didesni kiekiai mineralinių medžiagų, laktozės ir pieno rūgšties lyginant su kontroliniais kepiniais. Pastaruoju metu vis dažniau maisto produktus siekiama praturtinti mineralinėmis medžiagomis, todėl rūgščių IBK milteliai yra puiki alternatyva šiam tikslui. Duonos, praturtintos rūgščių išrūgų baltymų koncentratais, kasdienis naudojimas galėtų padidinti mineralinių medžiagų įsisavinimą 40-75 % [63].

Rūgščių IBK miltelių įdėjimas į kepinius turi įtakos jų juslinėms savybėms. Duona, praturtinta šiais IBK pasižymi kietesne pluta, mažesniu elastingumu ir rišlumu lyginant su kontroliniais kepiniais be IBK. Atliktas tyrimas parodė, kad rūgščių išrūgų baltymų koncentratas turio teigiamą poveikį duonos plutos spalvai, raugo aromatai ir duonos skoniui bei kramtomumui [63]. Svarbu pažymėti tai, jog didesnis kiekis rūgščių IBK (>20%) turi neigiamą poveikį juslinėms kepinų savybėms, todėl reikėtų rūgščių išrūgų baltymų koncentratą maišyti su saldžių išrūgų baltymų koncentratais siekiant išgauti geresnį kepinio skonį.

Išrūgų baltymai gali iš dalies arba visiškai pakeisti kiaušinius kepinuose ar padažuose. Išrūgų baltymų koncentratams (70 % baltymų) pasižymi reikiamomis emulsinimo, gelių sudarymo ir klampos savybėmis, o išrūgų baltymų izoliatai (90 % baltymų) – išsiplakimo ir putojimo savybėmis. Išrūgų baltymai, kaip ir kiaušiniai, yra pilnaverčiai baltymai, turtingi visomis reikiamomis aminorūgštimis [64]. Buvo atliktas tyrimas [65] siekiant įvertinti pyrago savybių pokyčius kiaušinius juose iš dalies ar visiškai pakeičiant išrūgų baltymų koncentratais. Pakeitus 50 % kiaušinio išrūgų baltymų koncentratu nebuvo pastebėta jokių reikšmingų fizikinių savybių skirtumų. Siekiant rasti optimalų IBK kiekį kiaušinių pakeitimui, buvo atlikti kepiniai su 4, 6, 8 ir 10 g IBK/100 g miltų. Didėjant IBK kiekiui nuo 4 iki 10 g stipriai padidėjo pyragų tūris ir svoris lyginant su kontroliniais kepiniais, tačiau kiti fizikinių savybių pokyčiai nebuvo reikšmingi. Priimtinausiomis savybėmis pasižymėjo pyragas su 6 g IBK/100 g miltų, todėl šis kiekis laikomas optimaliu siekiant visiškai pakeisti kiaušinius pyrage [65].

Kito atlikto tyrimo metu pyragai buvo kepami visiškai nenaudojant kiaušinio, bet pakeičiant dalį kvietinių miltų (10, 20 ir 30 %) išrūgų baltymų koncentratu (IBK 65) [66]. Kepinys su 20 % IBK pakeistais miltais pasižymėjo didžiausiu kepalų tūrio pokyčiu, kuris buvo palygintas su pyrago, iškepto naudojant kiaušinius, tūriu. IBK pasižymi gera emulsinimo geba bei oro inkorporavimo savybe, todėl toks pyragas, iškeptas su IBK, pasižymi didesniu tūriu bei vienalyte struktūra [66]. Iš 17 paveiksle pavaizduotų kepinų tūrio priklausomybės nuo IBK kiekio matyti, jog pakeitus 20 % miltų išrūgų baltymų koncentratu, pasiekiamas didžiausias gaminio tūris. Taip pat šis kepinys pasižymi geriausia struktūra.



17 pav. Pyragų, keptų be kiaušinio, pjūviai: 1 – kontrolinis (0 % IBK); 2 – 10 % IBK; 3 – 20 % IBK; 4 – 30 % IBK [66]

Tyrimo metu buvo nustatyta, jog kepinys su 20 % IBK pakeistų miltų pasižymėjo geriausiomis reologinėmis ir priimtinausiomis tekstūros savybėmis lyginant su kepiniais, kuriuose išrūgų baltymų koncentratu buvo pakeista 10 ir 30 % miltų. Išrūgų baltymų koncentrato įdėjimas leido sumažinti pyrago tešlos klampą, tai vėliau pasireiškė puresne kepinio minkštimo struktūra. Buvo prieita išvados, kad 20 % miltų pakeitimas išrūgų baltymų koncentratu yra optimaliausias siekiant gauti pyragą, pasižymintį panašiausiomis savybėmis su kepiniais, iškeptu naudojant kiaušinius [66].

Išrūgų baltymai suteikia specifinių funkcinių savybių, todėl svarbu žinoti kiekvieno ingrediento sudėtį bei kurią dalį kiaušinių norima pakeisti. IBK ir IBI kiekiai, reikalingi pakeisti atitinkamą dalį kiaušinių nurodyti 16 lentelėje.

16 lentelė. IBK ir IBI kiekis, reikalingas pakeisti atitinkamą dalį kiaušinio [67]

Cheminė sudėtis	Kiaušinio baltymo milteliai	IBK 80	IBI
Baltymai, %	81,1	81,0	91,5
Riebalai, %	0,0	7,2	0,5
Mineralinės medžiagos, %	7,8	3,5	0,8
Drėgmė, %	5,8	4,0	3,7
	Visas kiaušinis (žalias)	15/10/75: IBK80/aliejus/vanduo mišinys	
Baltymai, %	12,0	12,2	
Riebalai, %	10,2	11,1	
Mineralinės medžiagos, %	1,1	0,5	
Drėgmė, %	75,85	75,6	
	Kiaušinio baltymas (žalias)	14/86: IBK80/ vanduo mišinys	
Baltymai, %	10,9	11,3	
Riebalai, %	0,2	1,0	
Mineralinės medžiagos, %	0,7	0,5	
Drėgmė, %	87,6	86,6	

Vištos kiaušinis vidutiniškai sveria 52 – 55 gramus, iš kurių 76 % sudaro vanduo, todėl keičiant kiaušinius išrūgų baltymų koncentratu reikia papildomai dėti vandens: 100 g šviežio kiaušinio = 15 g IBK 80 + 85 g vandens; arba 100 g šviežio kiaušinio = 5 g IBK 35 + 65 g vandens [68]. Kepiniuose išrūgų baltymų koncentratu galima pakeisti ne tik kiaušinius, bet ir druską. Rekomenduojamas mineralinių medžiagų, gautų iš išrūgų, kiekis duonos gamyboje neturėtų viršyti 3% [68]. Rekomenduojama išrūgų produktų dalis kepinių praturtinimui pateikta 17 lentelėje.

17 lentelė. Rekomenduojama išrūgų produktų dalis (nuo miltų kiekio) kepinių praturtinimui [68]

Produktas	Išrūgų milteliai (%)	IBK 34 – 50 (%)	IBK 80 (%)	Demineralizuotų išrūgų milteliai (%)
Balta duona	1 – 5	1 – 4	1 – 3	2 – 6
Saldūs ritinėliai	2 – 5	1 – 4	1 – 3	2 – 6
Pyragai ir biskvitai	1 – 5	1 – 5	1 – 4	2 – 5
Krekeriai	1 – 5	1 – 5	1 – 3	2 – 6
Picos tešla	1 – 5	1 – 5	1 – 3	2 – 6

Taigi, atlikus literatūros analizę matyti, kad rūgščių pieno išrūgų perdirbimui gali būti naudojami įvairūs procesai. Kiekvienas būdas turi savo privalumų ir trūkumų, bet šiame baigiamajame projekte buvo pasirinkta taikyti membraninės filtracijos bei džiovavimo procesus, siekiant gauti išrūgų miltelius ir IBK miltelius. Išrūgų baltymų miltelius tiriamojo darbo metu buvo pasirinkta taikyti konditerijoje (kepiniuose).

2. MEDŽIAGOS IR TYRIMŲ METODAI

2.1 Tyrimams naudotos medžiagos

Visos tyrimams naudotos cheminės medžiagos buvo analitinio grynumo, gautos iš Sigma – Aldrich (Steinheim, Vokietija) ir Bio-Rad laboratorijų. Chromatografinių tyrimų metu buvo naudotas visiškai grynas (MilliQ) vanduo.

Tiriamąjį darbą metu buvo tirti skirtingi išrūgų milteliai, kurių charakteristika pateikta 18 lentelėje.

18 lentelė. Tiriamojo darbo metu tirtos medžiagos

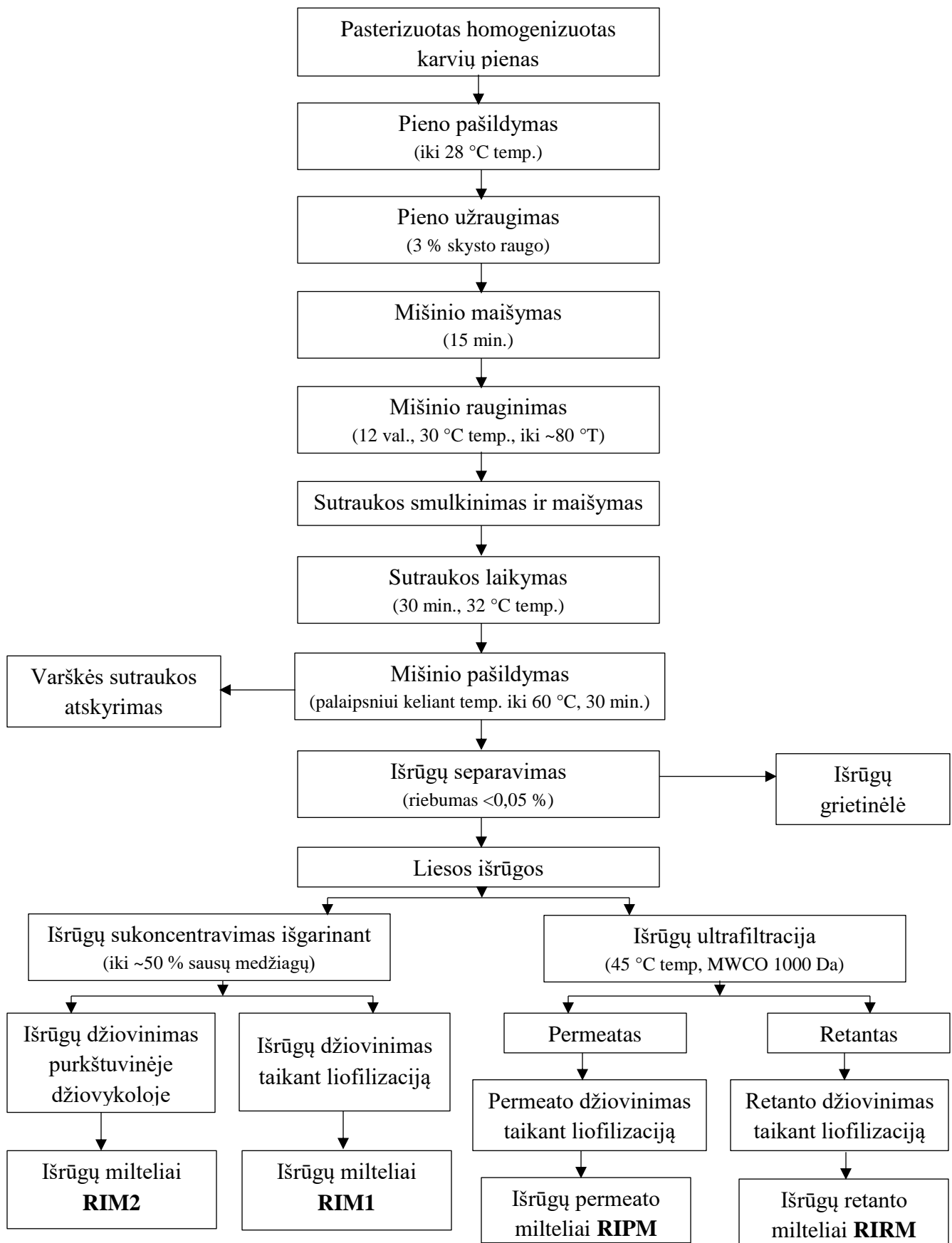
Eil. Nr.	Miltelių tipas	Mėginio numeris ir kodas	Džiovinimo būdas	Gamintojas
1	Rūgščių išrūgų milteliai	RIM1	Liofilizacija	Pagaminta pieno technologijos laboratorijoje
2	Rūgščių išrūgų milteliai	RIM2	Purkštuvinė džiovykla	Pagaminta pieno technologijos laboratorijoje
3	Rūgščių išrūgų permeato milteliai	RIPM	Liofilizacija	Pagaminta pieno technologijos laboratorijoje
4	Rūgščių išrūgų retanto milteliai	RIRM	Liofilizacija	Pagaminta pieno technologijos laboratorijoje
5	Saldžių išrūgų milteliai	SIM	Purkštuvinė džiovykla	AB „Žemaitijos pienas“
6	Rūgščių išrūgų baltymų koncentrato milteliai	IBK80	Purkštuvinė džiovykla	The Hut Group, Cheshire, UK (MyProtein.com)

Išrūgų (varškės) gamybai buvo naudotas 2,5 % riebumo pasterizuotas „Rokiškio NAMINIS“ pienas ir chr. Hansen eXact mezofilinis raugas, kuriame vyrauja *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* ir *L. lactis* subsp. *cremoris* kamienai.

2.2 Tiriamojo darbo metu tirtų išrūgų miltelių gamyba

Tiriamąjį darbą metu rūgščios išrūgos buvo gaminamos pieno technologijos laboratorijoje. Iš rūgščių išrūgų buvo gaminami RIM1, RIM2, RIPM ir RIRM milteliai. Principinė išrūgų miltelių gamybos technologijos proceso schema pateikta 18 paveiksle.

Rūgščios išrūgos buvo gamintos 3 kartus, kiekvieną kartą atkartojant tas pačias gamybos sąlygas, o vėliau gautus miltelius sumaišant. Viena dalis rūgščių išrūgų buvo džiovinamos purkštuvine džiovykla, kita dalis išrūgų buvo apdorojamos ultrafiltracija bei džiovinamos taikant liofilizaciją.



18 pav. Principinė išrūgų miltelių gamybos technologijos proceso schema

Ultrafiltracijos metu naudotų membranų tipas: AlfaLaval-ETNA01PP, medžiaga: fluoropolimeras, molekulinės masės ribinė vertė: 1000 Da. Ultrafiltracija buvo vykdoma esant 50 °C temperatūrai, 3 barų slėgiui naudojant pilotinę membraninės filtracijos įrangą Alfa Laval LabUnit M10 (Alfa Laval, Nakskov, Danija).

2.3 Tyrimų metodai

2.3.1 Išrūgų miltelių fizikinės - cheminės analizės metodai

Baltymų kiekio nustatymas

Bendras baltymų kiekis nustatytas remiantis ISO 8968 – 1:2014 standartu „Pienas ir pieno gaminiai. Azoto kiekio nustatymas. Kjeldalio metodas ir žaliavinių baltymų kiekio skaičiavimas“ [69].

Kazeino kiekis nustatytas remiantis ISO 17997-2:2004 standartu „Pienas. Kazeino ir azoto kiekio nustatymas. 2 dalis. Tiesioginis metodas“ [70].

Drėgmės ir sausųjų medžiagų kiekio nustatymas

Drėgmės kiekis (kartu ir sausųjų medžiagų kiekis) nustatytas remiantis ISO 5537:2004 standartu „Džiovintas pienas. Drėgmės kiekio nustatymas (pamatinis metodas)“ [71].

Mineralinių medžiagų kiekio ir sudėties nustatymas

Mineralinių medžiagų kiekis nustatytas remiantis ISO 5545:2008 standartu „Renino kazeinai ir kazeinatai. Pelenų kiekio nustatymas (pamatinis metodas) [72]“.

Mineralinių medžiagų sudėtis buvo nustatyta naudojant atominės absorbcijos spektrometrą „Contraa 600“ (HR-CS AAS, Vokietija). Fosforo kiekis nustatytas remiantis ISO 9874:2006 standartu „Pienas. Bendrojo fosforo kiekio nustatymas. Molekulinės absorbcinės spektrometrijos metodas“ [73]. Kalcio, natrio, kalio ir magnio kiekis nustatytas remiantis ISO 8070:2007 standartu „Pienas ir pieno produktai. Kalcio, natrio, kalio ir magnio kiekio nustatymas. Atominės absorbcijos spektrometrijos metodas“ [74].

Aktyviojo rūgštingumo (pH) nustatymas

Išrūgų miltelių pH buvo išmatuotas naudojant (HI-2215 pH/ORP) pH metrą (Hanna Instruments, Jungtinė Karalystė). Išrūgų milteliai buvo ištirpinti visiškai gryname (MilliQ) vandenyje santykiu 1:9.

Pieno rūgšties kiekio nustatymas

Pieno rūgšties kiekis išrūgų milteliuose buvo nustatytas naudojant efektyviają skysčių chromatografiją.

Standartinių tirpalų paruošimas ir gradavimo grafiko sudarymas. L(+)-pieno rūgštis (Sigma Aldrich, Danija) buvo naudojama pieno rūgšties gradavimo grafikui sudaryti, pagal kurį vėliau buvo nustatomas pieno rūgšties kiekis tiriamuose mėginiuose. L(+)-pieno rūgšties standartiniai tirpalai buvo paruošti koncentracijos ribose nuo 0,1 iki 8 mg/ml.

Mėginių paruošimas. Išrūgų milteliai buvo ištirpinti visiškai gryname vandenyje (MilliQ) santykiu 1:9, vėliau šį tirpalą dar praskiedžiant dukart. Visos nuosėdos buvo pašalintos naudojant centrifugavimą (centrifuga ThermoScientific SL 16R, Vokietija) 7000g 10 minučių, 12 °C temp. sąlygomis. Vėliau mėginiai perfiltruoti per 0,45 µm porų dydžio nailono membraninį filtrą (Agilent Captiva Econo Filter, JAV) ir analizuoti efektyviosios skysčių chromatografijos metodu.

Efektyvioji skysčių chromatografija. Buvo naudota Shimadzu Prominence chromatografinė įranga (Shimadzu Corp., Canby, OR, JAV) su diodų matricos detektoriumi SPD-M20A, automatiniu mėginių įvedimo įrenginiu SIL-30AC. Duomenims apdoroti ir analizei atlikti buvo naudota programinė įranga LC solutions. Naudota jonų mainų kolonėlė Aminex HPX-87H (300 × 7.8 mm, Bio-Rad Laboratorijos, JAV). Eksperimento vykdymo sąlygos buvo šios: 0,005 M H₂SO₄ buvo naudotas kaip eluentas, kurio tekėjimo greitis 0,6 ml/min. Nustatytas bangos ilgis 210 nm, kolonėlės temperatūra 60 °C, injekcijos tūris 10 µl, mėginio tyrimo laikas 23 min.

Laktozės kiekio nustatymas

Laktozės kiekis išrūgų milteliuose buvo nustatytas naudojant anksčiau aprašytos efektyviosios skysčių chromatografijos įrangą su lūžio rodiklio detektoriumi RID10-A (Shimadzu Corp., Canby, JAV). Eksperimento vykdymo sąlygos buvo tokios pat, kaip ir pieno rūgšties kiekio nustatymo metu.

Išrūgų miltelių mėginiai buvo paruošti anksčiau aprašytu būdu. Gradavimo grafikui sudaryti buvo naudojami D-laktozės standartiniai tirpalai koncentracijų ribose nuo 5 iki 40 mg/ml.

Riebalų rūgščių kiekio nustatymas

Riebalų kiekis tiriamuose išrūgų miltelių bandiniuose nustatytas analizuojant riebalų rūgščių sudėtį dujų chromatografijos būdu.

Mėginio paruošimas. Lipidai iš kiekvieno mėginio buvo išekstrahuoti taikant modifikuotą Folch metodą [65], naudojant dichlormetaną ir metanolį (santykiu 2:1). 1 g mėginio buvo supiltas į 5 ml dichlormetano ir metanolio mišinį (2:1), stipriai supurtant ir paliekant stovėti 60 minučių. Tada buvo

įpilta 1,75 ml 0,9 % NaCl tirpalo ir supurtoma. Toks mėginys buvo centrifuguojamas 2500 g 6 minutes, ant dugno susiformavęs dichlormetano ir riebalų sluoksnis buvo atskirtas, tirpiklį išgarinant 74 °C temperatūroje, taip gaunant apie 10 mg riebalų. Riebalų rūgštys buvo transesterifikuotos natrio metoksidu, paruoštu pagal modifikuotą Christie [66] metodą. Į 10 mg riebalų buvo įpilta 1 ml heksano ir 30 µl metilacetato, gautas mišinys supurtytas ir į jį dar įdėta 45 µl metilinimo reagento (1 M natrio metoksido metanolyje). Tirpalas buvo supurtytas ir paliekamas stovėti 30 min., po kurių buvo įdėta 67 µl nutraukimo reagento (1 g oksalo rūgšties/ 30 ml dietilo eterio). Mėginys buvo centrifuguojamas 6 minutes, esant 2400 g 5 °C temperatūros sąlygomis, gaunant skaidrų heksano sluoksnį. Heksano alikvotas buvo tiesiogiai analizuojamas dujų chromatografijos metodu.

Riebalų rūgščių metilo esteriai kiekybiškai buvo nustatyti naudojant Agilent 6890A dujų chromatografą (Agilent Technologies Inc, JAV) su automatinio mėginių įvedimo įrenginiu, esant šioms sąlygoms: 100 m × 0,25 mm kapiliarinė kolonėlė CP-Sil 88, plėvelės storis 0,20 µm, dujos nešėjos – vandenilis, pastovus slėgis 138 kPa, injektorius padalintas 1:30 esant 250 °C temperatūrai, mėginio tūris 1 µl, liepsnos jonizacijos detektorius 270 °C temp. Pradinė kolonėlės temperatūra buvo 100 °C, kuri buvo palaikoma 1 min. tada ji buvo padidinta iki 180 °C (13 °C/min greičiu) ir laikoma 40 minučių. Tada temperatūra buvo pakelta iki 225 °C (5 °C/min greičiu) ir laikoma 15 min.

Riebalų rūgštys buvo nustatytos lyginant smailių išėjimo laiką su riebalų rūgščių metilo esterių standartiniais mėginiais (Supelco 37 Component FAME Mix, Nu-CheckPrep GLC 603, 408, BAME Mix, linoleino rūgšties metilesterio izomerų mišinys) ir daugelio atskirų riebalų rūgščių standartais. Ag+-SPE kasetės (750mg/6ml) buvo naudojamos stebint *trans* ir *cis* izomerų sutapimą [67]. Riebalų rūgščių sudėtis apskaičiuota lyginant jų pikų plotus su standartiniais pikų plotais. Riebalų rūgščių kiekiai buvo išreikšti g/100 g mėginio, rezultatuose pateikiant jų bendrą kiekį. Naudota programinė įranga Agilent Technologies ChemStation.

2.3.2 Išrūgų baltymų charakteristikos tyrimų metodai

Išrūgų baltymų frakcijų nustatymas atvirkščiųjų fazijų efektyviosios skysčių chromatografijos metodu

Išrūgų baltymų frakcijų kokybinė ir kiekybinė analizė buvo atlikta naudojant efektyviosios skysčių chromatografijos metodą.

Standartinių tirpalų paruošimas. Išrūgų baltymų standartai (α – laktoalbuminas (grynumas 85 %), β – laktoglobulinas (grynumas 90 %), galvijų serumo albuminas (grynumas 98 %)) buvo ištirpinti 0,05 M fosfatiniame buferyje (pH 6,8) gaunant šias koncentracijas: 15 mg/ml α – laktoalbuminas, 25

mg/ml β – laktoglobulinas ir 10 mg/ml galvijų serumo albuminas. Vėliau šiuos tirpalus praskiedus eliuentu A (0,1 % trifluoracto rūgštis vandenyje) ir sumaišius, buvo paruošti etaloniniai standartų tirpalai, kurių koncentracijos pateiktos 19 lentelėje. Buvo gauti septyni įvairių koncentracijų tirpalai α -LA, β -LG ir GSA frakcijų gradavimo grafikų sudarymui.

19 lentelė. Išrūgų baltymų frakcijų etaloninių tirpalų koncentracijos

Standartas	Išrūgų baltymų frakcijų koncentracija mg/ml		
	α – laktoalbuminas	β – laktoglobulinas	galvijų serumo albuminas
1	0,01	0,05	0,001
2	0,1	0,5	0,05
3	0,25	0,75	0,125
4	1	1,5	0,25
5	0,5	2	0,5
6	1,5	2,5	-
7	2	3	-

Mėginių paruošimas. Išrūgų milteliai buvo ištirpinti 0,05 M fosfatiname buferyje (pH 6,8) santykiu 1:9, vėliau 1 dalis šio tirpalo buvo sumaišyta su 1 dalimi eliuento A. Visos nuosėdos buvo pašalintos naudojant centrifugavimą (centrifuga ThermoScientific SL 16R, Vokietija) 7000 g 10 minučių, 12 °C temp. sąlygomis. Vėliau mėginiai perfiltruoti per 0,45 μ m porų dydžio nailono membranınį filtrą (Agilent Captiva Econo Filter, JAV) ir analizuoti efektyviosios skysčių chromatografijos metodu.

Efektyvioji skysčių chromatografija: naudota Shimadzu Prominence chromatografinė įranga (Shimadzu Corp., Canby, OR, JAV) su diodų matricos detektoriumi SPD-M20A, automatiniu mėginių įvedimo įrenginiu SIL-30AC. Duomenims apdoroti ir analizei atlikti buvo naudota programinė įranga LC solutions. Naudota atvirkščių fazių kolonėlė Zorbax 300SB – C18 (porų dydis 5 μ m 300A, 4,6x250 mm, Agilent Technologies, JAV). Nustatytas bangos ilgis 220 nm, kolonėlės temperatūra 25 °C, tekėjimo greitis 1 ml/min. Judriosios fazės binarinis gradientas sudarytas iš eliuento A 0,1 % trifluoracto rūgšties vandenyje ir eliuento B 0,1 % trifluoracto rūgšties acetonitrile. Gradiento programa: 0 – 0,01 min izokratinė eliucija 5 % B, 0,01 – 10,00 min linijinis gradientas B nuo 5 iki 40 %, 10,00 – 24,00 min linijinis gradientas B nuo 40 iki 55 %, 24,01 – 35,00 min linijinis gradientas į pradines sąlygas 5 % B. Injekcijos tūris 20 μ l. Kiekybiškai išrūgų baltymų frakcijos apskaičiuotos remiantis gradavimo grafikais.

Elektroforezė

Elektroforezė buvo taikyta identifikuoti baltymus bandiniuose: RIM1, RIM2, RIRM, SIM ir IBK80. Baltymai buvo nustatyti naudojant gelio elektroforezės metodą SDS – PAGE.

Tirpalai ir jų ruošimas:

1. 30 % akrilamido/0,8 % N,N' – metilenbisakrilamido tirpalas. Buvo ištirpinta 30 g akrilamido ir 0,8 g N,N' – metilenbisakrilamido ir pripilta vandens iki 100 ml.
2. 4×TRIS·HCl/NDS buferis pH 6,8. Buvo ištirpinta 6,05 g TRIS 40 ml vandens ir į gautą tirpalą įpilta 1 N HCl, kol tirpalo pH tapo 6,8.
3. 4×TRIS·HCl/NDS buferis pH 8,8. Buvo ištirpinta 91 g TRIS 300 ml vandens ir į gautą tirpalą įpilta 1 N HCl, kol tirpalo pH buvo 8,8 tuomet buvo pripilama vandens iki 500 ml.
4. 1×TRIS·HCl/NDS buferis pH 8,8. (Praskiestas 4×TRIS·HCl/NDS buferis pH 8,8).
5. 2×baltymų denatūravimo buferis. Buvo sumaišyta 25 ml 4×TRIS·HCl/NDS buferio pH 6,8, 20 ml glicerolio, 4 g NDS, 2 ml 2-merkaptoetanolio, 1 mg bromfenolio mėlynojo ir pripilta vandens iki 100 ml.
6. 10 % amonio peroksisulfato tirpalas.
7. Tetrametiledilendiaminas (TEMED).
8. Elektroforezės buferis. Buvo pasverta 3,02 g TRIS, 14,4 g glicino, 1 g NDS ir pripilama vandens iki 1000 ml.
9. Baltymams dažyti Coomasie mėliu:
 - Baltymų tvirtinimo tirpalas: 25 % (tūrio) izopropilo alkoholis, 10 % (tūrio) acto rūgšties ir 65 % vandens tirpalas.
 - Dažo Coomasie mėlio tirpalas: 10 % (tūrio) acto rūgšties, 0,006 % (svoris/tūris) Coomasie mėlio G-250, 90 % vandens tirpalas.
10. Standartinis baltymų mišinys, kurių molekulinės masės žinomos. Buvo naudotas Sigma – Aldrich markeris S8445 (molekulinė masė 6500 – 200 000 Da).

Atsižvelgus į atskiriamų baltymų molekulinį masių dydį, buvo pasirinkta gaminti 12 % akrilamido koncentracijos skiriamąjį gelį. Skiriamąjo poliakrilamido gelio paruošimas pateiktas 20 lentelėje.

20 lentelė. Skiriamąjį poliakrilamido gelio paruošimas

Pradiniai tirpalai	Galutinė akrilamido koncentracija skiriamajame gelyje 12 %
30 % akrilamidas/ 0,8 % metilenbisakrilamidas	6,00
4×TRIS·HCl/ NDS buferis pH 8,8	3,75
H ₂ O	5,25
10 % amonioperoksosulfatas	0,05
TEMED	0,01

Koncentruojamasis gelis buvo paruoštas iš 0,65 ml 30 % akrilamido/0,8 % N,N'-metilenbisakrilamido tirpalo, 1,25 ml 4× TRIS·HCl/ NDS buferio pH 6,8, 3,05 ml H₂O, 25 µl 10 % amonioperoksosulfato ir 5 µl TEMED tirpalo.

Baltymų paruošimas elektroforezei: mėginys buvo ruošiamas taip, kad 0,8 cm pločio šulinėlyje būtų 25 – 50 µg baltymo (20 µl tūryje). 1,5 ml plastikiniame mėgintuvėlyje dalis tiriamo baltymų tirpalo buvo praskiesta su 2 × baltymus denatūruojančiu buferiu (santykiu 1:1) ir 5 minutes mišinys buvo kaitinamas verdančio vandens vonioje.

Elektroforezė buvo vykdoma 240 V įtampos ir 60 mA srovės stiprio sąlygomis 1 valandą. Pasibaigus elektroforezei poliakrilamido gelis buvo įdėtas į plastikinę vonelę ir užpildas baltymų tvirtinimo tirpalu, kuriame laikytas 20 minučių. Vėliau baltymų tvirtinimo tirpalas buvo išpiltas ir gelis buvo užpilamas Coomasie mėlio dažo tirpalu. Šiame tirpale poliakrilamido gelis buvo laikytas 2 val. kambario temperatūros sąlygomis, kol baltymų juostelės nusidažė pakankamo ryškumo mėlyna spalva. Nupylus dažų tirpalą gelis buvo užpildas 10 % acto rūgštimi ir lėtai siūbuojant plautas apie 2 val. vis pakeičiant acto rūgšties tirpalą. Vėliau gelis buvo laikomas vandenyje.

Dalelių dydžio nustatymas

Dalelių dydis buvo nustatytas suspensijose, kuriose baltymų koncentracija yra 1 %. Šios suspensijos buvo paruoštos ištirpinus analizuojamus miltelius vandenyje. Dalelių dydžiui nustatyti buvo naudojamas MasterSizer 2000 lazerio šviesos difrakcijos dalelių dydžio analizatorius (Malvern Instruments Ltd, Jungtinė Karalystė). Mėginiai matavimo metu maišymo celėje buvo disperguojami distiliuotame vandenyje.

2.3.3 Išrūgų baltymų funkcinų savybių tyrimų metodai

Funkcinių savybių tyrimai buvo atlikti naudojant 4 mėginius – RIM1, RIM2, RIRM ir SIM.

Baltymų tirpumo nustatymas

Baltymų tirpumui nustatyti buvo ruošiami 1 mg/ml baltymų koncentracijos tirpalai (10 ml), kuriems paruošti buvo naudojami skirtingų pH buferiniai tirpalai. Buferiniai tirpalai buvo pagaminti pH ribose nuo 2 iki 9, naudojant 1 M NaOH ir 1 M HCl, pH matuotas pH-metru inoLab pH 720 SET su elektrodu SenTix 61 (WTW GmbH, Vokietija). Tirpalai buvo purtomi 2 val. kambario temperatūroje purtykle Barnstead Thermolyne LABQUAKE (Termofisher Scientific, Vokietija), vėliau centrifuguojama 20 min 5300 rpm kambario temperatūroje centrifuga Thermo Fisher Scientific Labofuge 200. Baltymų kiekis supernatante (BKS) buvo nustatytas taikant Lowry metodą. Buvo pagaminti A, B ir C tirpalai: A – 2 % Na₂CO₃, 0,1 N NaOH santykiu 1:1; B – 1,56 % CuSO₄, 2,37 % KNaC₄H₄O₆·4H₂O santykiu 1:1; C – A ir B santykiu 50:1. Folin ir Ciocalteu reagentas buvo praskiestas vandeniui santykiu 1:1. 2 ml supernatanto buvo pašarminama 1 M NaOH iki pH 9,5-10,5. 0,2 ml pašarmino supernatanto sumaišyta su 2 ml C tirpalo ir išlaikoma 10 min, po to įpilama 0,2 ml praskiesto Folin ir Ciocalteu reagento ir išlaikoma 30 min tamsoje. Optinis tankis buvo išmatuotas spektrofotometru Thermo Scientific Evolution 300 LC, esant 660 nm bangos ilgiui. Baltymų kiekis supernatante (BKS) buvo apskaičiuotas naudojant kalibracinės kreivės, kuri sudaryta pagal kiaušinio albuminą, lygtį – $y = 0,3039x + 0,0787$, kur y – optinis tankis, x – baltymų koncentracija, mg/ml. Baltymų tirpumas (%) išreikštas kaip BKS santykis su bendru baltymų kiekiu pradiniam tirpale.

Mažiausios želatinizacijos koncentracijos nustatymas

Siekiant nustatyti mažiausią želatinizacijos koncentraciją buvo gaminami išrūgų miltelių vandeniniai tirpalai, kurių koncentracija buvo 1, 5, 10, 15 ir 20 %. Milteliai buvo tirpinami kambario temperatūros vandenyje naudojant purtyklę 2 val., po kurių mėgintuvėliai su tirpalais buvo laikomi verdančio vandens vonioje 1 val., po to 2 val. vėsunami 4 °C temperatūroje. Mėgintuvėlius apverčiant ir stebint, ar turinys nenukrenta žemyn, buvo nustatyta mažiausia želatinizacijos koncentracija.

Putojimo gebos ir putų stabilumo nustatymas

Buvo paruošti 0,5 % baltymų koncentracijos tirpalai, tirpinant miltelius vandenyje 2 val. kambario temperatūroje ir naudojant purtyklę. Vėliau 10 ml paruošto mėginio buvo supilama į graduotą mėgintuvėlį ir purtoma 5 minutes naujant vorteksą VWR VV 3 S40 (Avantor, Jungtinė karalystė) 4 padėtyje. Mėgintuvėlio tūris buvo fiksuojamas iškart po purtymo ir praėjus 5, 10 ir 30

minučių po purtymo. Putojimo geba buvo apskaičiuota taikant formulę: $(V_0 - V_{pr}) \cdot 100 / V_{pr}$, kur V_0 – mėginio tūris iškart po purtymo, ml; V_{pr} – pradinis mėginio tūris, ml. Putų stabilumas apskaičiuotas pagal formulę: $(V_{30} - V_{pr}) \cdot 100 / V_{pr}$, kur V_{30} – mėginio tūris po 30 min po purtymo, ml; V_{pr} – pradinis mėginio tūris, ml.

Vandens sulaikymo gebos ir aliejaus sulaikymo gebos nustatymas

Pasvėrus tuščius sausus mėgintuvėlius, į juos buvo dedama 1 g mėginio ir įpilama 10 g vandens ar aliejaus. Mėgintuvėliai buvo purtomi vorteksu 1 minutę 4 padėtyje ir paliekama stovėti. Po 30 min. centrifuguojama esant 7000 g kambario temperatūroje 25 minutes. Baigus centrifuguoti supernatantas buvo nupiltas, o likęs mėginys pasveriamas. Vandens sulaikymo geba ir aliejaus sulaikymo geba buvo apskaičiuota pagal formulę: $(m_{dr} - m_s) / m_s$, kur m_{dr} – drėgno mėginio masė, g; m_s – sauso mėginio masė, g.

Emulsavimo gebos ir emulsijų stabilumo nustatymas

Buvo paruošiami vandeniniai tiriamų miltelių tirpalai, kuriuose baltymų koncentracija yra 1 %. Tuomet buvo gaminamos emulsijos, kuriose vandens ir aliejaus santykis 9:1. Emulsijos buvo ruošiamos homogenizatoriumi T18 basic ULTRA-TURRAX 15500 rpm (IKA, JAV) homogenizuojant 2 min. Emulsijų dalelių dydis buvo nustatytas naudojant MasterSizer 2000 lazerio šviesos difrakcijos dalelių dydžio analizatorių iškart po homogenizavimo ir praėjus 30 minučių po homogenizavimo. Emulsavimo geba įvertinta pagal D [3, 2] dydį. Emulsijų stabilumas apskaičiuotas pagal formulę: $D[3,2]_{pr} \cdot 100 / D[3,2]_{30}$, kur $D[3,2]_{pr}$ – riebalų rutulėlių dydis iškart po homogenizavimo, $D[3,2]_{30}$ – riebalų rutulėlių dydis praėjus 30 min. po homogenizavimo.

2.3.4 Išrūgų miltelių ir IBK miltelių taikymas kepinių gamyboje

Siekiant įvertinti saldžių ir rūgščių išrūgų miltelių įtaką kepiniams, buvo atlikti kepiniai kaip priedą naudojant saldžių išrūgų miltelius (SIM) ir rūgščių išrūgų miltelius (RIM2). Buvo išsikeltas dar vienas uždavinys – kepinuose dalį kiaušinių pakeisti rūgščių išrūgų baltymų koncentratu. Šiam tikslui buvo naudotas IBK 80, kurio cheminė sudėtis: riebalai – 6 %, drėgmė – 4 %, baltymai – 82 %, laktozė – 2,5 %, druskų kiekis – 1,8 %.

Kepinių gamybos procesas

Tiriamąjį darbo metu buvo kepami biskvitai, kurių drėgnis buvo 45 %. Vandens kiekis (G_v), reikalingas tešlai paruošti, buvo apskaičiuotas pagal formulę: $G_v = G_z \frac{(D_t - D_z)}{(100 - D_t)}$, kur: G_z – suminė

žaliavų masė (be druskos) tešlos maišymui, g; D_t – tešlos drėgnis, %; D_z – žaliavų drėgnio vidurkis, %. Žaliavų drėgnio vidurkis buvo apskaičiuotas pagal formulę: $D_z = (G_m \cdot D_m + G_d \cdot D_k + G_k \cdot D_m + G_c \cdot D_c + G_{i\check{s}} \cdot D_{i\check{s}}) / G_z$, kur G_m , G_d , G_k , G_c , $G_{i\check{s}}$ – miltų, druskos, kiaušinių, cukraus, išrūgų miltelių kiekis, g; D_m , D_d , D_k , D_c , $D_{i\check{s}}$ – drėgnis, %. Biskvitai buvo kepami pagal receptūras, pateiktas 21 – 23 lentelėse.

Biskvitų gaminimo eiga: kiaušinio baltymai atskiriami nuo trynio, į baltymus supilama 50 g cukraus ir plakama apie 8 minutes, kol masė tampa puri. Tryniai sumaišomi su likusiu cukrumi. Miltai ir išrūgų milteliai persijojami su druska. Į trynių ir cukraus masę sudedama dalis išplaktų baltymų, miltų ir viskas maišoma iki vientisos masės. Tada sudedama kita dalis baltymų ir miltų ir tai kartojama tol, kol sunaudojami visi miltai ir baltymai. Gauta vienalytė masė supilama į kepimo formas ir kepama 180 °C kepimo krosnyje 35 min.

21 lentelė. Biskvitų receptūra (priedas – saldžių išrūgų milteliai)

Komponentas	Receptūros variantas				
	Kontrolė	I	II	III	IV
Miltai, g	100	100	100	100	100
Cukrus, g	90	90	90	90	90
Druska, g	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5
Kiaušinio baltymai, g	144	144	144	144	144
Kiaušinio tryniai, g	60	60	60	60	60
Saldžių išrūgų milteliai, g	0	5	10	25	75

22 lentelė. Biskvitų receptūra (priedas – rūgščių išrūgų milteliai)

Komponentas	Receptūros variantas				
	Kontrolė	I	II	III	IV
Miltai, g	100	100	100	100	100
Cukrus, g	90	90	90	90	90
Druska, g	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5
Kiaušinio baltymai, g	144	144	144	144	144
Kiaušinio tryniai, g	60	60	60	60	60
Rūgščių išrūgų milteliai, g	0	1,5	3	5	10

23 lentelė. Biskvitų receptūra (kiaušinio baltymai keičiami IBK/vandens mišiniu)

Komponentas	Receptūros variantas				
	Kontrolė	I	II	III	IV
Miltai, g	100	100	100	100	100
Cukrus, g	90	90	90	90	90
Druska, g	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5
Kiaušinio baltymai, g	144	129,6	86,4	43,2	0
Kiaušinio tryniai, g	60	60	60	60	60
IBK 80/ vandens mišinys (14/86), g	0	14,4	57,6	100,8	144
Pakeista kiaušinio baltymo dalis	0 %	10 %	40 %	70 %	100 %

Technologinių kepinio charakteristikų nustatymas

Drėgmės kiekis nustatytas remiantis LST 1492:2013 standartu „Duona ir pyrago kepiniai. Drėgmės kiekio nustatymo metodas“ [75].

Titruojamasis rūgštingumas nustatytas remiantis LST 1553:1998 standartu „Miltiniai kepiniai ir konditerijos gaminiai. Rūgštingumo ir šarmingumo nustatymo metodai“ [76].

Akytumas nustatytas remiantis LST 1442:1996 standartu „Duona ir pyrago kepiniai. Akytumo nustatymas“ [77].

Pradinės duonos formos išlaikymo rodiklis nustatytas kepinį padalinant į dvi lygias dalis ir išmatuojant kepinio aukštį bei diametrą. Pagal kepinio aukščio (H) ir diametro santykį (D) buvo sprendžiama apie kepinio gebėjimą išlaikyti formą.

Juslinių savybių tyrimai

Juslinė analizė buvo atlikta praėjus parai nuo kepimo. Kepiniai su skirtinga 3 skaičių kombinacija buvo pateikti vertintojams, kurių buvo prašoma įvertinti tekstūros savybes, tokias kaip lipnumas, drėgnumas, akytumas, trapumas; skonio ir kvapo savybes, tokias kaip saldumas, pašalinis skonis, plutos spalva, minkštimo spalva. Taip pat buvo vertinimas bendras kepinų priimtinumas.

2.3.5 Statistinė analizė

Kiekvienas eksperimentas buvo kartojamas tris kartus, rodiklių matavimai atlikti tris kartus. Rezultatai pateikiami kaip vidutinės vertės su standartiniais nuokrypiais, kurie apskaičiuoti MS Excel 2016 programa.

3. REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS

3.1 Išrūgų miltelių ir IBK miltelių cheminė sudėtis

Cheminės sudėties analizė buvo atlikta su 5 skirtingais mėginiais: RIM1, RIM2, RIPM, RIRM ir SIM. Tik žinant tikslią cheminę miltelių sudėtį galima atlikti tolesnius tyrimus, tokius kaip funkcinų savybių tyrimus ar miltelių pritaikymo kituose maisto produktuose tyrimus. Buvo tirti skirtingais būdais – liofilizacija ir purkštuviniu būdu – išdžiovinti rūgščių išrūgų milteliai, siekiant įvertinti šiais dviem būdais džiovintų miltelių skirtumus. Rūgščių išrūgų retanto ir permeato miltelių tyrimai buvo atlikti siekiant įvertinti pieno rūgšties pašalinimo galimybes taikant ultrafiltraciją. Taip pat rūgščių išrūgų milteliai buvo lyginami su saldžių išrūgų milteliais, įvertinant jų cheminės sudėties skirtumus. Gauti rezultatai pateikti 24 lentelėje.

24 lentelė. Cheminė išrūgų miltelių sudėtis

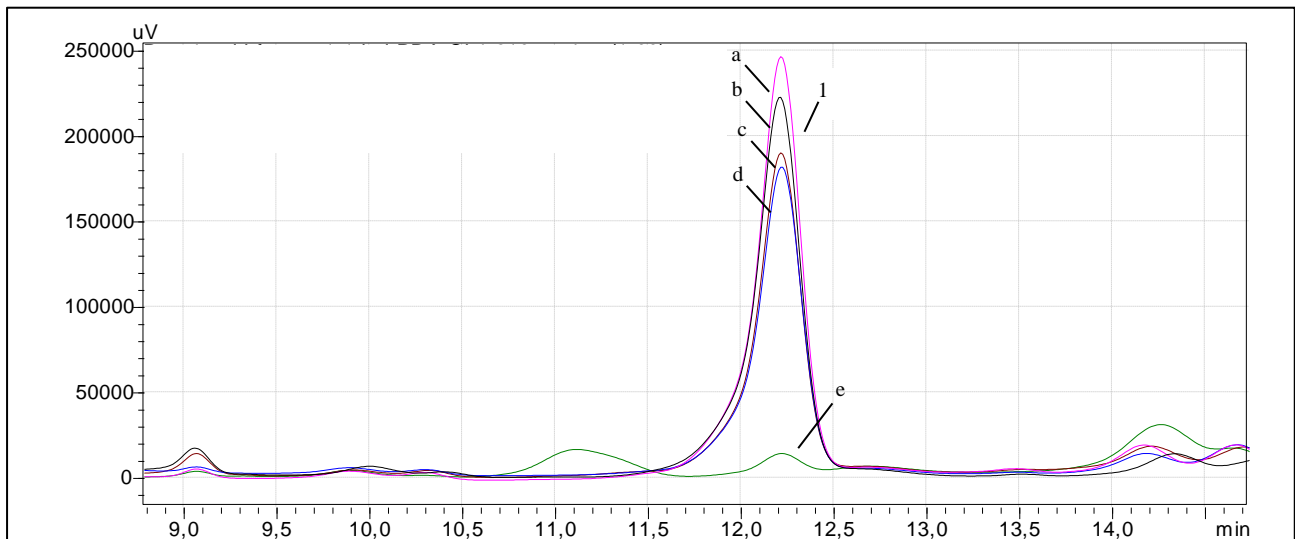
Komponentas	Mėginys				
	RIM1	RIM2	RIPM	RIRM	SIM
Sausosios medžiagos (%)	95,31±0,11	95,42±0,21	94,94±0,15	95,28±0,14	95,81±0,18
Drėgmė (%)	4,69±0,09	4,58±0,10	5,06±0,06	4,72±0,08	4,19±0,09
Baltymų kiekis (%)	10,16±0,05	10,32±0,04	3,79±0,08	14,25±0,07	12,13±0,04
Iš jų kazeinas (%)	1,85±0,001	2,16±0,002	0,07±0,001	0,73±0,001	0,98±0,002
Riebalų rūgščių kiekis (%)	0,69±0,002	0,50±0,001	0,01±0,001	0,06±0,001	0,42±0,001
Mineralinės medžiagos (%)	11,15±0,02	11,20±0,01	13,32±0,01	10,04±0,01	8,14±0,01
Laktozė (%)	63,57±0,15	64,90±0,36	65,30±0,36	62,75±0,23	72,89±0,59
Pieno rūgštis (%)	11,32±0,08	9,67±0,08	12,53±0,07	9,15±0,01	0,68±0,01
pH	4,77±0,03	4,60±0,02	4,84±0,03	4,93±0,01	6,36±0,01

Vertinant pramoniniu būdu gautus saldžių išrūgų miltelius su laboratorijoje gamintais (purkštuviniu būdu džiovintais) išrūgų milteliais matyti, kad saldžių išrūgų milteliai pasižymi šiek tiek didesniu (1,81 %) baltymų kiekiu. Nežymus baltymų kiekio skirtumas (0,5 %) lyginant saldžių ir rūgščių išrūgų miltelius taip pat pateiktas ir literatūros šaltinyje [13]. Beveik toks pat skirtumas (0,6 %) pateiktas ir kitų mokslininkų gautuose duomenyse [78], kur baltymų kiekis rūgščių išrūgų milteliuose yra 12,5 %, o saldžių išrūgų milteliuose – 13,1 %. Didesnį baltymų skirtumą tarp tiriamojo darbo metu analizuotų rūgščių ir saldžių išrūgų mėginių galėjo lemti tai, kad saldžios ir rūgščios išrūgos buvo gamintos skirtingomis sąlygomis – naudotas skirtingas karvių pienas bei skirtinga gamybos technologija. Lyginant baltymų kiekį skirtingais džiovavimo būdais gautuose milteliuose

(RIM1 ir RIM2), šis kiekis praktiškai nesiskiria. Taigi džiovavimo būdas baltymų kiekiui įtakos neturi. Ultrafiltracija buvo taikoma siekiant sumažinti pieno rūgšties kiekį rūgščiose išrūgose, tačiau tuo pačiu jos dėka buvo sukonzentruota ir dalis baltymų, todėl rūgščių išrūgų retanto milteliai (RIRM) pasižymėjo didesniu baltymų kiekiu, o permeato milteliuose (RIPM) baltymų kiekis yra mažiausias iš tirtų mėginių.

Rūgščių išrūgų miltelių pH verčių skirtumas lyginant liofilizuotus išrūgų miltelius (RIM1) su milteliais, gautais naudojant purkšuvinę džiovyklą (RIM2), yra nežymus (0,17). Akivaizdžiai matyti pH skirtumas tarp rūgščių (RIM2) ir saldžių išrūgų (SIM) miltelių. Tokias pH reikšmes puikiai atspindi pieno rūgšties kiekis, kuris rūgščių išrūgų milteliuose yra net 15 kartų didesnis nei saldžių išrūgų milteliuose.

Skirtingos pienarūgštės bakterijos gamina skirtingus pieno rūgšties izomerus: D(-) – pieno rūgštį ir L(+) – pieno rūgštį [79]. Pieno išrūgų gamybai buvo naudotas raugas, kuriame vyravo *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* ir *L. lactis* subsp. *cremoris* bakterijos. Šios bakterijų kultūros gamina L(+) – pieno rūgštį, todėl tiriamojo darbo metu buvo nustatytas L(+) – pieno rūgšties kiekis. Pieno rūgšties kiekis buvo nustatytas naudojant efektyviają skysčių chromatografiją. Siekiant apskaičiuoti pieno rūgšties kiekį buvo sudarytas gradavimo grafikas (žr. Priedai 1 pav.). L(+)-pieno rūgšties pikai išrūgų miltelių mėginiuose buvo identifikuoti pagal sulaikymo laiką lyginant jį su L(+)-pieno rūgšties standartu. Išrūgų miltelių mėginių chromatograma (L(+)-pieno rūgšties pikai) pateikta 19 paveiksle.

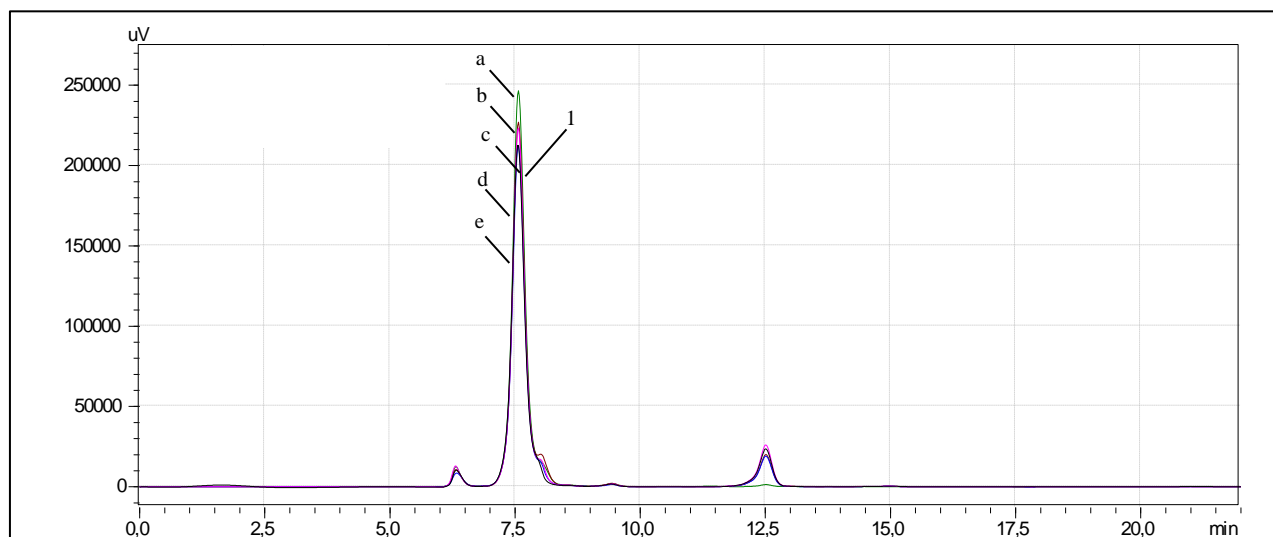


19 pav. Išrūgų miltelių mėginių chromatogramos pieno rūgšties identifikavimui: 1 – L(+)- pieno rūgšties pikas (a – RIPM, b – RIM1, c – RIM2, d – RIRM, e – SIM)

Didžiausiu pieno rūgšties piko plotu (taip pat ir didžiausia koncentracija) pasižymėjo rūgščių išrūgų permeato miltelių mėginys (RIPM), antroje vietoje pagal pieno rūgšties piko plotą buvo

liofilizacijos būdu gautų rūgščių išrūgų miltelių bandinys (RIM1), nedaug skiriasi ir purkštuvine džiovykla džiovintų rūgščių išrūgų miltelių (RIM2) bei išrūgų retanto bandinys (RIRM), o mažiausiu pieno rūgšties piko plotu (bei mažiausia koncentracija) pasižymėjo saldžių išrūgų miltelių (SIM) mėginys (žr. 19 pav.). Pagrindinis pieno rūgšties nustatymo tikslas buvo įvertinti ultrafiltracijos tinkamumą pieno rūgšties kiekio sumažinimui. Kaip matyti iš lentelėje pateiktų duomenų ir chromatogramų, didžiausiu pieno rūgšties kiekiu pasižymi išrūgų permeato milteliai. Tai rodo, kad ultrafiltracijos metu pieno rūgštis buvo šalinama iš retanto. Išrūgų retanto milteliuose pieno rūgšties kiekį pavyko sumažinti 2,17 % (lyginant su RIM1 mėginiu). Ultrafiltracijos taikymas turėjo įtakos pieno rūgšties sumažėjimui, tačiau dėl nepakankamai ilgai vykdytos ultrafiltracijos ši vertė yra gana nedidelė. Taip pat ultrafiltracija buvo vykdyta be jokio išankstinio išrūgų apdorojimo bei diafiltracijos. Panašūs duomenys buvo gauti ir literatūroje nagrinėto eksperimento sąlygomis [3], kur bandymą taip pat reikėtų kartoti prailginant ultrafiltracijos trukmę.

Laktozės kiekis, nustatytas taikant efektyviają skysčių chromatografiją, buvo apskaičiuotas iš gradavimo grafiko (žr. Priedai 2 pav.). Regresijos koeficientas 0,9999 rodo didelį gradavimo grafiko tikslumą. D-laktozės pikai išrūgų miltelių mėginiuose buvo identifikuoti pagal sulaukymo laiką lyginant jį su D-laktozės standartu. Išrūgų miltelių mėginių chromatogramos pateiktos 20 paveiksle.



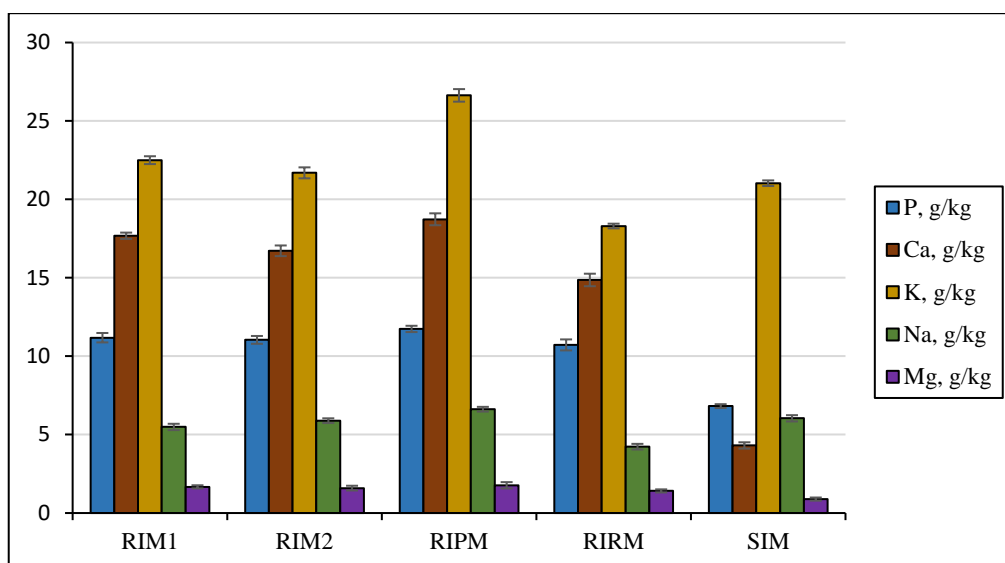
20 pav. Išrūgų miltelių mėginių chromatogramos D-laktozės identifikavimui (1 – D-laktozės pikas) (a – SIM, b – RIPM, c – RIM2, d – RIM1, e – RIRM)

Lyginant tiriamojo darbo metu gautus rezultatus su literatūroje pateiktais duomenimis [80], nustatytas laktozės kiekis yra labai panašus. Mažiausias laktozės kiekis nustatytas rūgščių išrūgų

retanto milteliuose, nes dalis laktozės perėjo į permeatą, todėl permeato milteliuose laktozės kiekis yra didžiausias (nelyginant rezultatų su saldžių išrūgų milteliuose nustatytu laktozės kiekiu). Reikšmingo skirtumo tarp skirtingais džiovavimo būdais gautų miltelių (RIM1 ir RIM2) nematyti, taigi džiovavimo būdas laktozės kiekiui įtakos neturi. Saldžių išrūgų milteliai pasižymi didesniu laktozės kiekiu nei rūgščių išrūgų milteliai [78], tačiau mineralinių medžiagų kiekis rūgščių išrūgų milteliuose yra didesnis nei saldžių išrūgų milteliuose. Dažnai išrūgų milteliai yra naudojami konditerijos bei duonos pramonėje, kur laktozė ir mineralinės medžiagos turi didelę įtaką produktų spalvos ir kvapo susiformavimui [81]. Taigi, tiksliai nustatčius šių komponentų kiekius, galima pagaminti išrūgų miltelių pagrindu pagamintus produktus su pagerintu skoniu, aromatu, spalva bei tekstūra.

Įvertinus drėgmės kiekio milteliuose rezultatus, matyti, kad drėgmės kiekis išrūgų milteliuose kinta nuo 4,19 % (SIM) iki 5,06 % (RIPM). Šiek tiek didesnis drėgmės kiekis rūgščių išrūgų mėginiuose gali būti aiškinamas tuo, jog rūgščių išrūgų milteliai linkę labiau absorbuoti drėgmę bei sukibti laikymo metu nei saldžių išrūgų milteliai [82]. Didžiausiu drėgmės kiekiu pasižymi RIPM mėginys, kuriame rūgšties kiekis taip pat buvo didžiausias. Reikšmingos džiovavimo būdo įtakos drėgmės kiekiui nebuvo pastebėta.

Įvertinus mineralinių medžiagų kiekio rezultatus, matyti, kad didžiausiu mineralinių medžiagų kiekiu pasižymi rūgščių išrūgų permeato milteliai (RIPM), nes dalis mineralinių medžiagų ultrafiltracijos metu buvo pašalinta iš retanto, todėl išrūgų retanto milteliai (RIRM) pasižymi mažiausiu mineralinių medžiagų kiekiu (tarpusavyje lyginant tik rūgščių išrūgų miltelius). Saldžių išrūgų milteliuose (SIM) nustatytas mineralinių medžiagų kiekis yra 3,06 % mažesnis nei rūgščių išrūgų milteliuose (RIM2) ir šis skirtumas yra gana panašus į literatūroje aprašyto eksperimento [78] rezultatų skirtumą (4,5 %). Be bendro mineralų kiekio išrūgų miltelių mėginiuose, buvo nustatytas ir pagrindinių išrūgų mineralų – kalcio, kalio, fosforo, natrio ir magnio kiekiai. Šie mineralai turi didelę įtaką funkcinėms išrūgų miltelių savybėms tokioms, kaip rudavimo, putojimo gebos, vandens surišimo gebos savybėms [83]. Pagrindinių išrūgose aptinkamų mineralų išsidėstymas išrūgų milteliuose pateiktas 21 paveiksle.

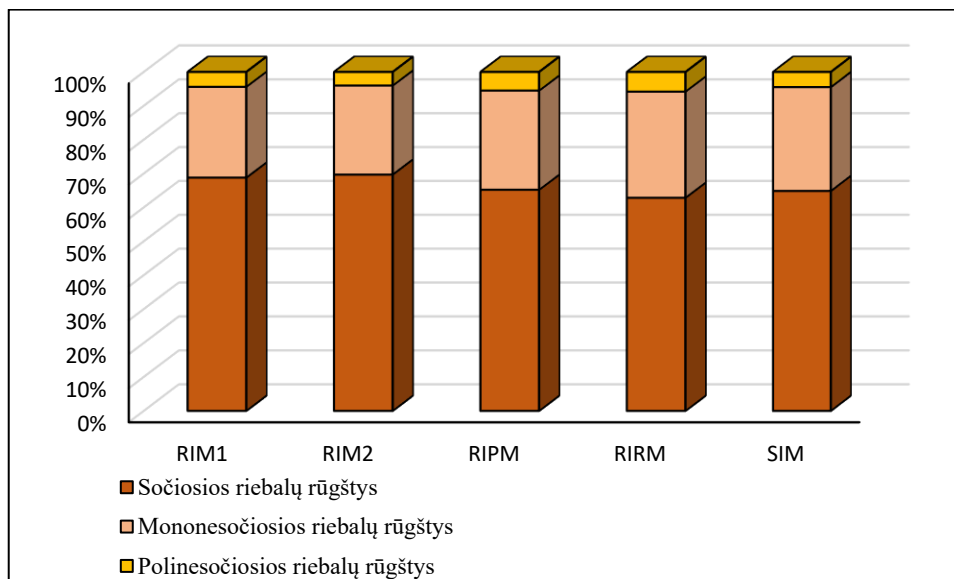


21 pav. Pagrindinių mineralų išsidėstymas išrūgų miltelių bandiniuose

Žinant tikslų mineralų kiekį išrūgų milteliuose, juos nesunkiai galima pritaikyti kitų produktų gamyboje, suteikiant šiems pridėtinę vertę bei pagerinant juslines savybes. Tiek saldžių, tiek ir rūgščių išrūgų milteliuose didžiausią mineralinių medžiagų dalį sudaro kalis, kurio koncentracija viršija 20 mg/g. Kalcio koncentracija rūgščių išrūgų milteliuose svyruoja nuo 15 mg/g (RIRM) iki 18 mg/g (RIM1 ir RIPM)) ir ji yra beveik 4 kartus didesnė nei saldžių išrūgų milteliuose (SIM). Fosforo ir magnio koncentracija purkštuviniu būdu išdžiovintuose rūgščių išrūgų milteliuose yra didesnė atitinkamai 4,22 mg/g ir 0,7 mg/g nei purkštuviniu būdu išdžiovintuose saldžių išrūgų milteliuose, tačiau saldžių išrūgų milteliai pasižymi labai panašia natrio koncentracija. Taigi, vertinant rezultatus, galima teigti, jog rūgščių išrūgų milteliai yra tinkamesni kitų produktų gaminimui, siekiant juos praturtinti mineralais. Tiriamojo darbo metu gauti mineralinių medžiagų kiekiai išrūgų milteliuose praktiškai nesiskiria nuo rezultatų pateiktų literatūroje [80]. Džiovinimo būdas mineralinių medžiagų kiekiui reikšmingos įtakos neturi. Ultrafiltracijos metu dalis mineralinių medžiagų perėjo į permeatą, todėl išrūgų retanto milteliuose nustatytas mažesnis šių mineralų kiekis.

Vertinant riebalų rūgščių kiekį, galima teigti, jog jis yra labai mažas (<0,7 %). Taip yra dėl to, nes riebalai po išrūgų gavimo buvo separuojami. Panašūs riebalų kiekio rezultatai pateikti ir literatūroje [78, 80]. Buvo nustatyta, kad didžiąją dalį išrūgų milteliuose aptiktų riebalų rūgščių sudaro sočiosios riebalų rūgštys (62,85 % (RIRM) – 69,71 % (RIM2)), iš kurių didžiausiomis koncentracijomis aptinkamos miristino (C14:0) ir palmitino rūgštys (C16:0) atitinkamai 10 ir 30 %. Mononesočiosios riebalų rūgštys sudaro nuo 26,29 % (RIM2) iki 31,35 % (RIRM), iš kurių didžiausią dalį (~20 %) užima oleino (C18:1-*cis*-9) rūgštis. Polinesočiosios riebalų rūgštys sudaro mažiausią dalį (~5 %) visų

riebalų rūgščių, iš kurių daugiausiai buvo aptikta linolo (C18:2 ω -6) rūgšties (2-3 %). Riebalų rūgščių išsidėstymas tirtuose išrūgų milteliuose pavaizduotas 22 paveiksle.



22 pav. Riebalų rūgščių išsidėstymas išrūgų miltelių bandiniuose

Lyginant miltelių riebalų rūgščių sudėtį tarpusavyje, didelių skirtumų nematyti, tačiau svarbu paminėti tai, kad išrūgų retanto milteliai išsiskiria mažiausiu sočiųjų riebalų kiekiu bei didžiausiu nesočiųjų riebalų kiekiu. Pagrindinių riebalų rūgščių sudėtis pateikta 25 lentelėje.

25 lentelė. Pagrindinių riebalų rūgščių sudėtis išrūgų miltelių mėginiuose (%)

Eil. Nr.	Junginio sutrumpinimas	Junginio pavadinimas (bendras)	RIM1	RIM2	RIPM	RIRM	SIM
			%				
1	C4:0	Sviesto rūgštis	3,73	3,01	0,00	0,00	1,96
2	C6:0	Kaprono rūgštis	2,22	1,95	1,24	1,25	1,51
3	C8:0	Kaprilo rūgštis	1,33	1,21	1,82	1,16	1,08
4	C10:0	Kaprino rūgštis	2,82	2,63	2,76	2,13	2,28
5	C12:0	Lauro rūgštis	3,29	3,13	2,89	2,44	2,77
6	C14:0	Miristino rūgštis	10,74	10,75	7,54	9,11	10,04
7	C15:0	Pentadecilo rūgštis	1,26	1,29	0,00	1,09	1,28
8	C16:0	Palmitino rūgštis	31,45	33,90	34,12	30,86	31,94
9	C16:1- <i>trans</i>	Lauroleinės rūgšties <i>cis</i> – izomeras	0,08	0,04	0,00	0,00	0,05

25 lentelė ęšinys. Pagrindinių riebalų rūgščių sudėtis išrūgų miltelių mėginiuose (%)

Eil. Nr.	Junginio sutrumpinimas	Junginio pavadinimas (bendras)	RIM1	RIM2	RIPM	RIRM	SIM
			%				
10	C16:1- <i>cis</i>	Palmitoleino rūgštis <i>cis</i> - izomeras	1,94	2,06	2,00	1.56	1.82
11	C17:1- <i>cis</i>	Heptadekanoinės rūgštis <i>cis</i> - izomeras	0,56	0,68	0,00	0.13	0.33
12	C18:0	Stearino rūgštis	8,98	8,85	14,51	12.24	9.48
13	C18:1- <i>trans</i>	Oleino rūgštis <i>trans</i> - izomeras	3,01	2,52	0,00	3.91	2.90
14	C18:1- <i>cis</i>	Oleino rūgštis <i>cis</i> - izomeras	19,28	19,18	28,65	24.74	22.59
15	C18:2 ω 6	Linolo rūgštis	1,70	1,80	3,15	3.24	2.90
16	C20:0	Arachidinė rūgštis	0,15	0,16	0,00	0.00	0.18
17	C20:1- <i>cis</i>	Gondoinės rūgštis <i>cis</i> - izomeras	0,18	0,16	0,00	0.00	0.17
18	C18:3 ω 3	α – linoleno rūgštis	0,76	0,62	0,00	0.60	0.70
19	CLA18:2c9t11	Konjuguota linolo rūgštis	0,53	0,36	0,002	0.46	0.00
20	C22:0	Beheno rūgštis	0,07	0,10	0,001	0.14	0.00
21	C20:3 ω 6	<i>h</i> - γ – linoleno rūgštis	0,09	0,11	0,001	0.15	0.00
22	C20:4 ω 6	Arachidoinė rūgštis	0,14	0,17	0,001	0.25	0.00
23	C20:5 ω 3	Eikozapentaeno rūgštis (EPA)	0,08	0,08	0,00	0.11	0.00
24	C22:5 ω 3	Dokozapentaeno rūgštis (DPA)	0,13	0,15	0,001	0.22	0.00
Iš viso <i>trans</i> riebalų rūgščių			3,89	3,18	1,32	4,48	3,55

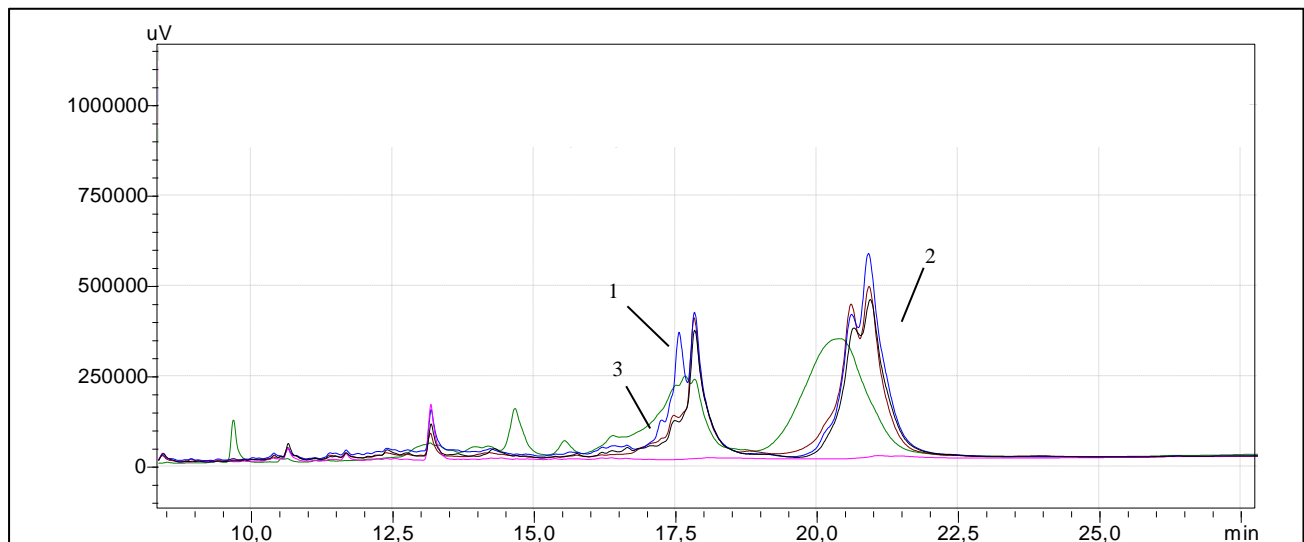
Įvertinus bendrą riebalų rūgščių kiekį, sąlyginai galima daryti išvadą, kad riebalų kiekis tirtuose išrūgų milteliuose yra mažas, todėl riebalai nėra nagrinėjami kaip funkcinės savybės lemiantys komponentai.

Sausų pieno produktų (šiuo atveju išrūgų miltelių) pagrindiniai komponentai, nuo kurių priklauso funkcinės technologinės savybės, yra baltymai. Baltymų funkcinėms savybėms didelę įtaką turi aminorūgščių seka ir sudėtis, molekulinė forma ir dydis, erdvinė struktūra, bendras krūvis, hidrofobiškumas, o kintant šioms fizikocheminėms savybėms keičiasi ir baltymų funkcinės savybės [84]. Siekiant nustatyti tirtų išrūgų miltelių pritaikymo galimybes buvo atlikta daugiau analizuojant išrūgų baltymus.

3.2 Išrūgų baltymų charakteristika

3.2.1 Išrūgų baltymų frakcijų įvertinimas taikant efektyviają skysčių chromatografiją

Išrūgų baltymai buvo frakcionuojami naudojant atvirkščiųjų fazių efektyviają skysčių chromatografiją. Buvo identifikuotos α – laktoalbumino, β – laktoglobulino ir galvijų serumo albumino (GSA) frakcijos. GSA buvo aptikta tik pėdsakai, kurių koncentracija yra žemiau kiekybinio įvertinimo ribos, todėl GSA koncentracija apskaičiuota nebuvo. α – laktoalbumino, β – laktoglobulino koncentracijos buvo apskaičiuotos iš gradavimo grafikų (žr. Priedai 3 ir 4 pav.) Gauta bendra mėginių chromatograma pateikta 23 paveiksle.



23 pav. Išrūgų miltelių mėginių bendra chromatograma baltymų frakcijų identifikavimui (1 – α – laktoalbumino pikas, 2 – β – laktoglobulino pikas, 3 – galvijų serumo albumino pikas; juoda – RIM1, ruda – RIM2, mėlyna – RIRM, rožinė – RIPM, žalia – SIM)

Iš pateiktos chromatogramos matyti, kad saldžių išrūgų miltelių mėginio baltymų frakcijų pikai skiriasi nuo rūgščių išrūgų miltelių mėginių baltymų frakcijų pikų. Atlikus cheminę analizę ryškaus skirtumo tarp baltymų kiekio saldžių ir rūgščių išrūgų milteliuose negalima pastebėti, tačiau chromatografinis tyrimas rodo, kad rūgščiose išrūgose baltymai yra pakitę. Gaminant rūgščias išrūgas buvo naudojamas raugas, kuriame esančios bakterijų kultūros pasižymi proteolitinio aktyvumu. Daroma prielaida, kad išrūgų laikymo metu esant rūgštinėms sąlygoms ir veikiant proteazėms galėjo vykti dalinė baltymų hidrolizė, dėl kurios baltymų struktūra pakito.

Išrūgų baltymų didžiąją dalį sudaro β – laktoglobulinas ir α – laktoalbuminas santykiu 3:1 [85]. Tai patvirtina ir kitas literatūros šaltinis [86], kur nustatyta α – laktoalbumino koncentracija išrūgų

milteliuose yra 2,08 mg/100 g (tirtų bandinių vidurkis), o β – laktoglobulino koncentracija yra 6,12 mg/100 g (tirtų bandinių vidurkis). Tiriamojo darbo metu buvo analizuojamos išrūgų baltymų frakcijos 5 mėginiuose, gauti rezultatai pateikti 26 lentelėje.

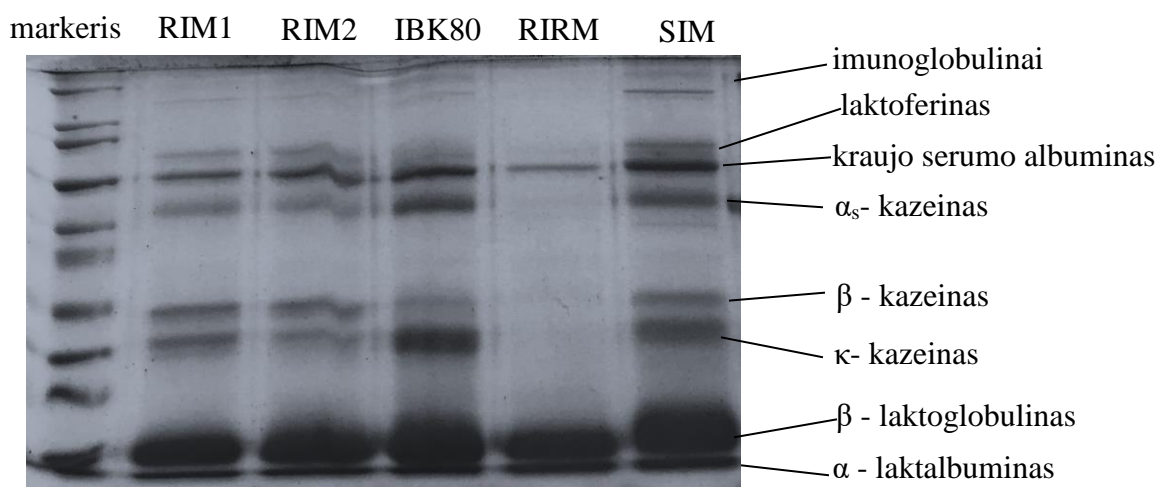
26 lentelė. Išrūgų baltymų frakcijų sudėtis tirtuose milteliuose

Baltymų frakcija	RIM1	RIM2	RIPM	RIRM	SIM
α – laktoalbuminas, %	1,598±0,005	1,432±0,007	0,011±0,001	1,821±0,005	–
β – laktoglobulinas, %	5,897±0,001	5,956±0,014	0,105±0,022	6,324±0,001	–

Iš lentelėje pateiktų duomenų matyti, kad β – laktoglobulino ir α – laktoalbumino santykis svyruoja nuo 3,5:1 (RIRM mėginys) iki 4,2:1 (RIM2 mėginys). Gautų baltymų frakcijų koncentracijos nuo literatūroje [86, 87] pateiktų rezultatų skiriasi nežymiai. Šių dviejų baltymų frakcijos sudaro 70 – 80 % visų baltymų [88], tai patvirtina ir tiriamojo darbo metu gauti rezultatai, kur α – laktoalbuminas ir β – laktoglobulinas sudaro ~72 % (nuo bendro baltymų kiekio) RIM1 ir RIM2 mėginiuose ir šiek tiek mažiau (~60 % nuo bendro baltymų kiekio) RIRM mėginyje. α – laktoalbumino ir β – laktoglobulino kiekybinė analizė SIM mėginyje nebuvo atlikta, nes tinkamai integruoti baltymų frakcijų pikus šiame mėginyje galimybės nebuvo. Tiriant rūgščių išrūgų permeato miltelius gautas rezultatas nevertinamas, nes šiame mėginyje baltymų aptikta labai minimaliai (jie buvo pašalinti ultrafiltracijos metu), todėl apskaičiuoto baltymų frakcijų kiekio nėra tiklinga lyginti su kitais rezultatais.

3.2.2 Išrūgų baltymų frakcijų įvertinimas taikant elektroforezę

Išrūgų miltelių mėginiuose esantys baltymai buvo identifikuoti taikant poliakrilamido gelio elektroforezės metodą. Tiriamojo darbo metu gauti rezultatai pateikti 24 paveiksle.



24 pav. Išrūgų miltelių mėginių elektroforezės rezultatai

Naudotame SigmaMarker markerio sudėtyje nėra visų išrūgų baltymų frakcijų, todėl gauti poliakrilamido gelio elektroforezės rezultatai buvo lyginami su kitų autorių duomenimis [89, 90] analizuojant išrūgų baltymus. Išrūgų miltelių mėginiuose identifikuoti baltymai ir jų molekulinės masės pateiktos 27 lentelėje.

27 lentelė. Išrūgų miltelių mėginiuose nustatytos baltymų frakcijos

Nr.	Molekulinė masė, kDa	Baltymų frakcija
1	14,2 [91]	α - laktoalbuminas
2	18,3 [91]	β - laktoglobulinas
3	19 [92]	κ - kazeinas
4	24 [92]	β - kazeinas
5	22 – 32 [92]	α_s - kazeinas
6	66,3 [91]	kraujo serumo albuminas
7	80 [91]	laktoferinas
8	150 [93]	imunoglobulinai

Iš 23 paveikslo duomenų matyti, kad visuose tirtuose išrūgų miltelių mėginiuose nustatytos α – laktoalbumino, β – laktoglobulino bei serumo albumino frakcijos. Tai yra pagrindiniai išrūgų baltymai, kurių koncentracija išrūgose yra didžiausia. RIM1, RIM2, IBK80 ir SIM mėginiuose taip pat galima matyti kazeino, laktoferino ir imunoglobulinų frakcijas, tačiau RIRM mėginyje šios frakcijos išreikštos nežymiai. Tai gali būti aiškinama tuo, jog esant rūgštinėms sąlygoms vyksta baltymų hidrolizė – dalis baltymų skyla į mažos molekulinės masės junginius. Šie junginiai galėjo būti pašalinti ultrafiltracijos metu.

3.2.3 Išrūgų baltymų dalelių dydžio įvertinimas

Miltelių dalelių dydis daugiausiai priklauso nuo koncentrato klampumo ir purškimo sąlygų bei turi įtakos miltelių išvaizdai, tirpumui bei reologijai [83]. Didinat įleidimo oro temperatūrą purkštuvinėje džiovykloje, dalelių dydis didėja dėl to, kad pakėlus temperatūrą dalelės paviršius greitai apdžiūsta ir šis kietas sluoksnis neleidžia drėgmei išeiti iš dalelės, dėl ko ji ima pūstis, taip didėjant dalelės dydžiui. Vidutinis išrūgų miltelių dalelių skersmuo pateiktas literatūroje yra 11,26 – 18,23 μm [94]. Kito literatūros šaltinio [95] duomenimis išrūgų miltelių dalelių skersmuo svyruoja nuo 22,4 iki 27,8 μm (pateikta D[4,3] vertė, parodanti koks būtų sferinės dalelės skersmuo, jei jos tūris būtų toks pats kaip tiriamojo mėginio dalelių).

Tiriamąo darbo metu gauti rezultatai pateikti 28 lentelėje. Iš lentelėje pateiktų rezultatų matyti, kad išrūgų milteliai, gauti naudojant purkštuvinę džiovyklą, pasižymi didesnėmis dalelėmis nei išrūgų milteliai, gauti liofilizacijos būdu. Taip yra dėl anksčiau aprašytos priežasties. Dalelių dydžio vertės yra labai panašios į literatūroje pateiktus rezultatus. Nuo dalelių dydžio priklauso produkto galiojimo terminas – kuo dalelė didesnė, tuo galiojimo terminas ilgesnis. Iš gautų rezultatų galima daryti išvadą, kad purkštuviniu būdu gauti milteliai pasižymi ilgesne galiojimo termino trukme nei liofilizacijos būdu gauti milteliai.

28 lentelė. Išrūgų miltelių dalelių dydis

Mėginys	D [4, 3], μm
Rūgščių išrūgų milteliai (liofilizuoti)	15,42±0,56
Rūgščių išrūgų milteliai (purkštuvinė džiovykla)	23,41±0,41
Rūgščių išrūgų retanto milteliai (liofilizuoti)	19,67±0,95
Saldžių išrūgų milteliai (purkštuvinė džiovykla)	25,12±1,13

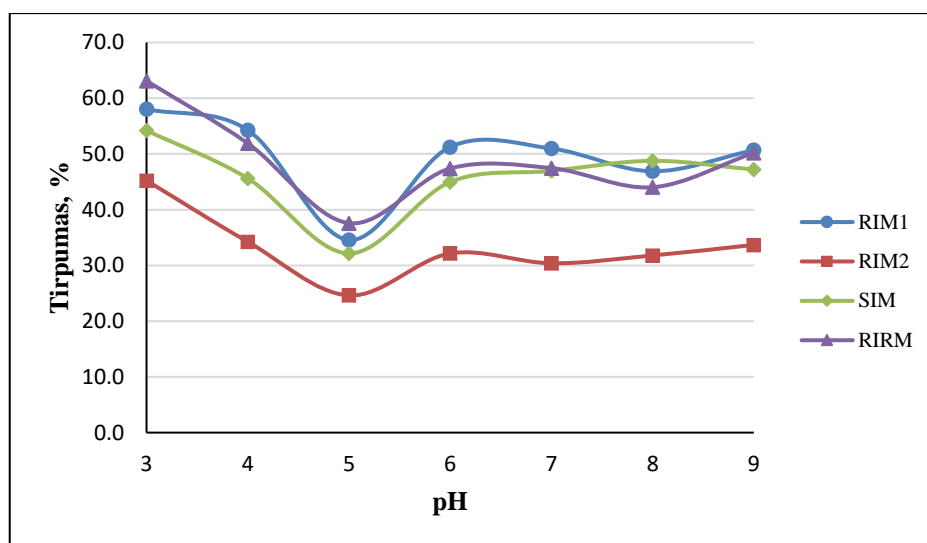
3.3 Išrūgų baltymų funkcinės savybės

Šio baigiamojo magistro projekto vienas iš tikslų yra pritaikyti rūgščių išrūgų miltelius konditeriniuose gaminiuose, todėl tiriamojo darbo metu buvo nustatinėjamos išrūgų miltelių funkcinės savybės, aktualios konditerijoje. Pirmas procesas, vykstantis naudojant miltelius konditerijos pramonėje, yra jų rehidratavimas, tirpinimas tešloje ar kitose terpėse, todėl tiriamojo darbo metu buvo nustatomas baltymų tirpumas, esant skirtingoms pH vertėms. Taip pat konditerijos pramonėje dažnai vykstantys procesai yra baltymų želatinizacija, putojimas, emulsijų sudarymas, todėl tiriamojo darbo metu buvo nustatoma mažiausia želatinizacijos koncentracija, putojimo geba bei putų stabilumas, vandens ir aliejaus sulaikymo geba, emulsavimo geba bei emulsijų stabilumas. Funkcinių savybių tyrimai buvo atlikti su RIM1, RIM2, RIRM ir SIM mėginiais.

3.3.1 Baltymų tirpumo įvertinimas

Baltymų tirpumo priklausomybė nuo pH pavaizduota 25 paveiksle. Iš paveiksle pateiktų grafikų matyti, kad mažiausias tirpumas visuose išrūgų mėginiuose nustatytas esant pH vertei 5. Taip yra todėl, kad išrūgų baltymų izoelektrinis taškas yra pH 4,5 [96], todėl esant pH reikšmėms artimoms izoelektriniam taškui, baltymų tirpumas yra mažiausias – baltymų tarpusavio sąveika sustiprėja, nes elektrosstatinės stūmos jėgos, dėl vienodo teigiamų ir neigiamų krūvių skaičiaus, yra mažiausios. Tolstant nuo izoelektrinio taško vertės baltymų tirpumas didėja, nes baltymai įgauna teigiamą ar

neigiamą krūvį ir vandens molekulės gali labiau sąveikauti su baltymų molekulėmis. Tai patvirtina ir kitų mokslininkų gauti duomenys [96], kur mažiausias išrūgų baltymų tirpumas nustatytas esant pH vertei 4,5. Šis eksperimentas atliktas tirpinant išrūgų baltymų izoliatus 40 – 60 °C temperatūroje, o tirpumo rezultatai svyruoja nuo 62 % (pH 4,5) iki 92 % (pH 7,8). Išrūgų baltymų tirpumo rezultatai, gauti mokslininkų, dirbusių su išrūgų baltymų koncentratais, kuriuose baltymų kiekis siekia 60 %, rodo, jog tirpumas kinta nuo 52 iki 91 % [97]. Kitų mokslininkų, dirbusių su išrūgų baltymų koncentratais (IBK 30), gauti rezultatai rodo, jog tirpumas svyruoja 58 – 88 % ribose [98]. Šiuose IBK baltymų koncentracija 30 %, taigi ji yra artimiausia tiriamojo darbo metu tirtų miltelių baltymų koncentracijai. Lyginant šiuos rezultatus su gautais rezultatais matyti, kad literatūroje aprašytų išrūgų baltymų koncentratų tirpumas yra 1,5 – 2 kartus didesnis.



25 pav. Išrūgų baltymų tirpumo priklausomybė nuo pH

Lyginant tirtų miltelių baltymų tirpumą tarpusavyje, matyti, kad mažiausiu tirpumu pasižymi rūgščių išrūgų milteliai, gauti džiovinant purkštuvine džiovykla. Tai galėjo lemti laboratorinėmis sąlygomis džiovinimui parinkta aukšta temperatūra, dėl kurios dalis baltymų galėjo denatūruoti ir tapti netirpiaisi. Iš pateiktų kreivių matyti jog kiti milteliai pasižymėjo gana panašiomis tirpumo vertėmis.

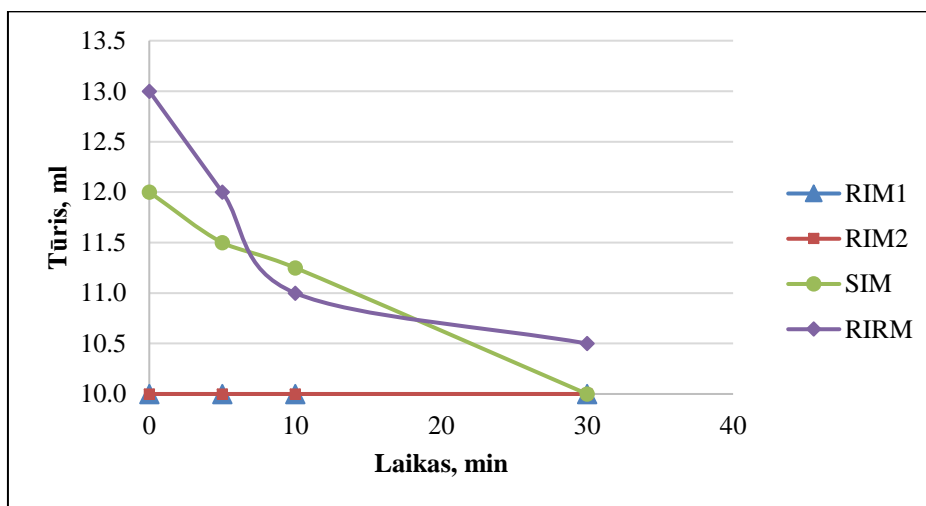
3.3.2 Mažiausios želatinizacijos koncentracijos įvertinimas

Mažiausios želatinizacijos koncentracijos tyrimo metu nė viename mėgintuvėlyje gelis nesusidarė, nors nuosėdos buvo matyti, o baltymai koaguliavo. Baltymų koncentracija (0,01 – 0,25 %) buvo nepakankama trimačiui baltymų tinklui susidaryti, todėl mažiausia želatinizacijos koncentracija tiriamojo darbo metu nustatyta nebuvo. Analizuojant literatūroje pateiktus duomenis,

nustatyta, jog gelis susidaro esant baltymų koncentracijai 8 – 12 % [91, 99]. Siekiant nustatyti mažiausios želatinizacijos koncentracijos vertę reikėtų didinti baltymų koncentraciją (miltelių kiekį).

3.3.3 Putojimo gebos ir putų stabilumo įvertinimas

Dviejuose mėginiuose – RIM1 ir RIM2 – po purtymo putos nesusidarė. RIRM ir SIM mėginiuose putų susidarė atitinkamai 3 ir 2 ml. Mėginių tūrio pokytis 30 minučių laikotarpyje po purtymo pavaizduotas 26 paveiksle.



26 pav. Išrūgų miltelių tirpalų mėginių tūrio pokytis

Rūgščių išrūgų retanto miltelių suspensija pasižymėjo geresne putojimo geba (30 %) nei saldžių išrūgų miltelių suspensija (20 %). Šį skirtumą galėjo nulemti didesnė baltymų koncentracija RIRM mėginyje. Tokia tendencija pastebima ir kitų mokslininkų atliktame eksperimente, kur ultrafiltracijos būdu sukonzentruoti baltymai lėmė nežymų putų tūrio padidėjimą [100]. RIM1 ir RIM2 mėginiuose baltymų koncentracija mažiausia, todėl galima daryti prielaidą, kad dėl per mažos baltymų koncentracijos putos nesusidarė. Saldžių išrūgų miltelių suspensijos tūris praėjus pusvalandžiui po purtymo buvo lygus pradiniam tūriui, taigi putų stabilumo vertė lygi 0 %, o nustatyta rūgščių išrūgų retanto miltelių suspensijos putų stabilumo vertė yra 5 %. Norint pasiekti aukštesnes putų stabilumo vertes reikėtų vykdyti panašų eksperimentą kaip ir literatūroje nurodytas – pridėti paviršinio aktyvumo medžiagų, nes didesnė hidrofiliųjų molekulių koncentracija sumažina paviršiaus įtempimą tirpale, taip susidarant sąlygoms susiformuoti oro burbulams [101]. Riebalai trukdo putų susidarymui, todėl įvertinant tai, jog išrūgų milteliuose yra šiek tiek riebalų, gautos putų gebos ir stabilumo vertės yra mažos. Panašūs duomenys gauti ir dar vienų mokslininkų eksperimento metu [102]. Kitų autorių

duomenimis [91] norint padidinti putojimo gebą reikėtų išrūgų baltymų koncentratų pašildyti iki 55 – 90 °C. Tokios temperatūros poveikyje β – laktoglobulino konformacija didina putojimo gebą.

3.3.4 Vandens sulaikymo gebos ir aliejaus sulaikymo gebos įvertinimas

Pagal tyrimų metuose pateiktą formulę apskaičiuotos vandens sulaikymo gebos (g vandens/ g mėginio) ir aliejaus sulaikymo gebos (g aliejaus/ g mėginio) vertės buvo gautos labai mažos arba neigiamos (klaidingos). Tiriamus mėginius sudaro tik 10 – 14 % baltymų, todėl yra daroma prielaida, kad kiti mėginiuose esantys komponentai ištirpo vandenyje (laktozė, kurios koncentracija sudaro net 62 – 72 % mėginio) ar aliejuje (riebalai). Siekiant gauti tikslesnes vandens ir aliejaus sulaikymo gebų vertes, jos buvo perskaičiuotos į vandens/aliejaus kiekį (g), kurį suriša 1 g baltymų. Gauti rezultatai pateikti 29 lentelėje.

29 lentelė. Išrūgų baltymų vandens sulaikymo geba (WHC) ir aliejaus sulaikymo geba (OHC)

Mėginys	WHC, g vandens/g baltymų	OHC, g aliejaus/g baltymų
Rūgščių išrūgų milteliai (liofilizuoti)	2,52±0,05	23,78±0,55
Rūgščių išrūgų milteliai (purkštuvinė džiovykla)	2,13±0,03	26,09±0,56
Rūgščių išrūgų retanto milteliai (liofilizuoti)	2,01±0,05	27,55±0,42
Saldžių išrūgų milteliai (purkštuvinė džiovykla)	1,96±0,04	22,69±0,39

Literatūroje pateiktos mokslininkų nustatytos vandens sulaikymo gebos vertės svyruoja nuo 1,7 g vandens/g baltymų [103] iki 1,9 g vandens/g baltymų [104]. Taigi, tiriamojo darbo metu gauti rezultatai atitinka literatūroje aprašytų bandymų rezultatus. Didžiausia WHC vertė pasižymėjo RIM1 mėginys, o mažiausia SIM mėginys. Aliejaus sulaikymo gebos vertės yra žymiai didesnės nei vandens sulaikymo gebos vertės. Didžiausia OHC vertė pasižymėjo RIRM mėginys, mažiausia – SIM mėginys. Neperskaičiuotos aliejaus sulaikymo gebos vertės (g aliejaus/ g mėginio) svyruoja 1,44 – 1,87 g aliejaus /g mėginio ribose ir yra 26 – 43 % mažesnės už mokslininkų literatūroje aprašytą gautą OHC vertę, kuri buvo 2,54 g aliejaus/ g mėginio [105].

3.3.5 Emulsavimo gebos ir emulsijų stabilumo įvertinimas

Emulsavimo geba buvo įvertinta matuojant D [3, 2] vertę, kuri parodo, koks būtų sferinės dalelės skersmuo, jei jos paviršiaus plotas būtų toks pat kaip tiriamojo mėginio dalelių. Kuo geresnėmis emulsavimo savybėmis pasižymi baltymai, tuo didesnę riebalų lašelių paviršiaus plotą jie gali padengti

esant tai pačiai baltymų koncentracijai. Kuo didesnis paviršiaus plotas padengiamas (sudaromas tarpfazis), tuo riebalų lašeliai gaunami mažesni, esant tam pačiam aliejaus kiekiui. Tiriamojo darbo metu gauti rezultatai pateikti 30 lentelėje.

30 lentelė. Emulsijų riebalų lašelių dydis bei jo kitimas

Mėginys	D [3, 2], μm (0 min po homogenizavimo)	D [3, 2], μm (30 min po homogenizavimo)	Emulsavimo geba, %
RIM1 baltymais stabilizuota emulsija	10,72±0,02	12,61±0,50	85,0
RIM2 baltymais stabilizuota emulsija	11,14±0,03	11,95±0,17	93,2
RIRM baltymais stabilizuota emulsija	11,00±0,04	11,12±0,02	98,9
SIM baltymais stabilizuota emulsija	8,27±0,03	8,61±0,02	96,1

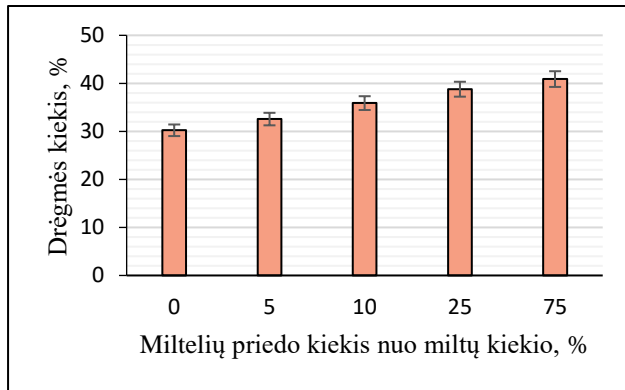
Iš lentelėje pateiktų duomenų matyti, kad ką tik pagaminta emulsija stabilizuota saldžių išrūgų baltymais pasižymi mažiausiais riebalų lašeliais (D [3, 2] 8,27 μm), o emulsija stabilizuota rūgščių išrūgų baltymais (RIM2 mėginys) – didžiausiais riebalų lašeliais (D [3, 2] 11,14 μm). Praėjus pusvalandžiui po emulsijų gamybos D [3, 2] vertės buvo gautos šiek tiek didesnės, matyti, kad vyko koalescencija (riebalų rutulėliai aglomeravosi). Didžiausia emulsavimo geba pasižymėjo rūgščių išrūgų retanto baltymais stabilizuota emulsija, o mažiausia – rūgščių išrūgų miltelių (gautų liofilizacijos būdu) baltymais stabilizuota emulsija. Literatūroje aprašyto tyrimo [106] duomenimis emulsijos, kuriose baltymų koncentracija buvo mažesnė nei 2 %, pasižymėjo labai mažu stabilumu (<20 %). Stabilios emulsijos buvo gautos, naudojant suspensijas, kuriose baltymų koncentracija buvo didesnė nei 5 %.

3.4 Išrūgų miltelių (koncentratų miltelių) pritaikymo galimybės kepinuose

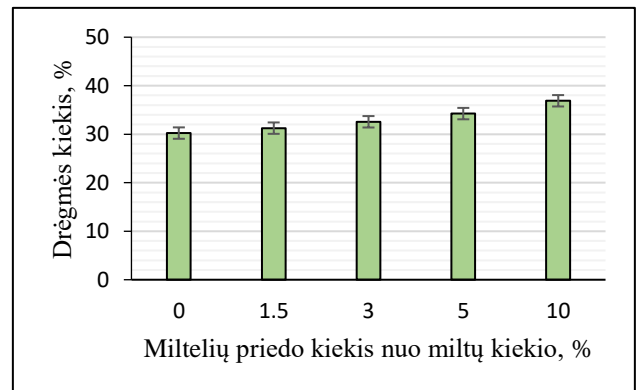
Siekiant įvertinti rūgščių išrūgų miltelių pritaikymo galimybes kepinuose buvo išsikelti keli tikslai – nustatyti saldžių ir rūgščių išrūgų miltelių priedų įtaką biskvitų kokybei ir palyginti juos tarpusavyje, taip pat biskvituose pakeitus dalį kiaušinio baltymo išrūgų baltymų koncentrato milteliais, įvertinti biskvitų kokybę.

3.4.1 Drėgmės kiekio įvertinimas

Nustačius drėgmės kiekį kepiniuose matyti, kad didėjant miltelių priedo kiekiui, drėgmės kiekis taip pat didėja. Išrūgų miltelių priedo įtaka biskvitų minkštimo drėgniui pateikta 27 – 28 paveiksluose.



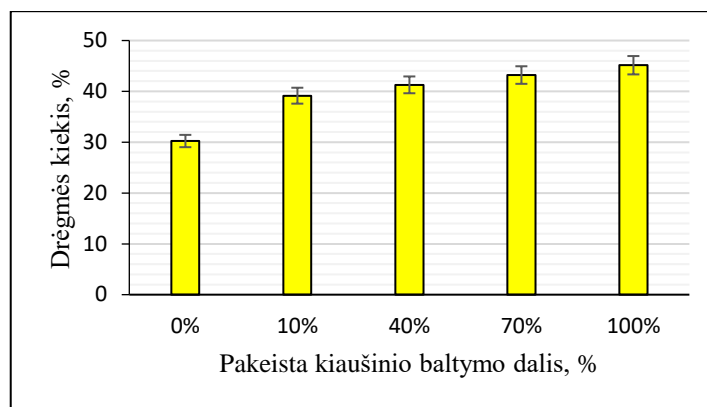
27 pav. Saldžių išrūgų miltelių priedo įtaka biskvitų drėgniui



28 pav. Rūgščių išrūgų miltelių priedo įtaka biskvitų drėgniui

Lyginant saldžių ir rūgščių išrūgų miltelių priedų įtaką tarpusavyje, matyti, kad didžiausiu drėgniui pasižymėjo biskvitai, ruošti su 75 % saldžių išrūgų miltelių priedu (40,89 %), o mažiausias drėgnis (30,23 %) nustatytas kepiniuose, ruoštuose be išrūgų miltelių. Tiek saldžių, tiek rūgščių išrūgų miltelių 10 % priedas padidino biskvitų minkštimo drėgnį ~ 20 %. Literatūroje aprašyto tyrimo duomenimis [107] biskvitai, ruošti su išrūgų milteliais, taip pat pasižymėjo 20 % didesne drėgme nei biskvitai ruošti be išrūgų miltelių.

Nustačius drėgmės kiekį biskvituose, ruoštuose keičiant kiaušinio baltymą išrūgų baltymų koncentratu ir vandens mišiniu, matyti, kad kuo didesnė baltymo dalis keičiama, tuo didesniu drėgmės kiekiu biskvitas pasižymi (žr. 28 pav.). Biskvituose, kuriuose buvo pakeista 100 % baltymų, nustatytas didžiausias drėgmės kiekis (45,14 %), o tai yra net 49,32 % didesnis drėgmės kiekis nei kontrolinio mėginio. Drėgmės kiekio priklausomybė nuo pakeistos kiaušinio baltymo dalies pavaizduota 29 paveiksle.

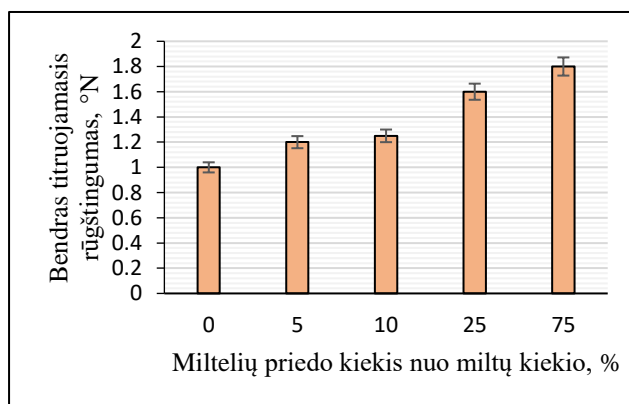


29 pav. Drėgmės kiekio priklausomybė nuo pakeistos kiaušinio baltymo dalies (kiaušinio baltymai keičiami IBK/vandens mišiniu)

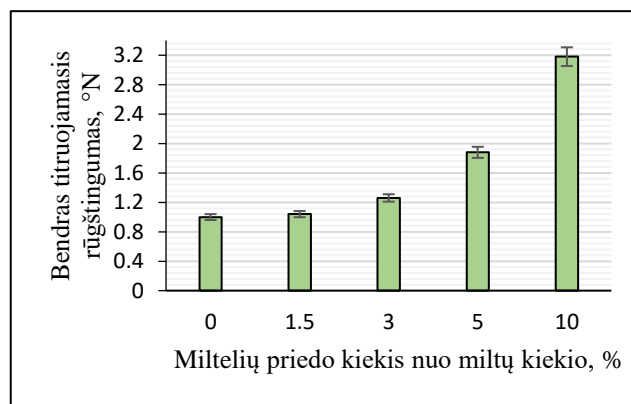
Panašūs rezultatai gauti ir literatūroje aprašyto eksperimento [107] metu, kur pakeitus 50 % kiaušinio baltymo, biskvito drėgmės kiekis padidėjo 12 %. Iš 28 paveikslo duomenų matyti, kad mūsų atlikto eksperimento metu pakeitus ~50 % kiaušinio baltymo, biskvito drėgmė padidėjo ~13 %.

3.4.2 Titruojamojo rūgštingumo įvertinimas

Vertinant saldžių ir rūgščių išrūgų priedų įtaką biskvitų bendram titruojamajam rūgštingumui nustatyta, kad didinat išrūgų miltelių priedo kiekį biskvitų titruojamasis rūgštingumas didėja (30 – 31 pav.).



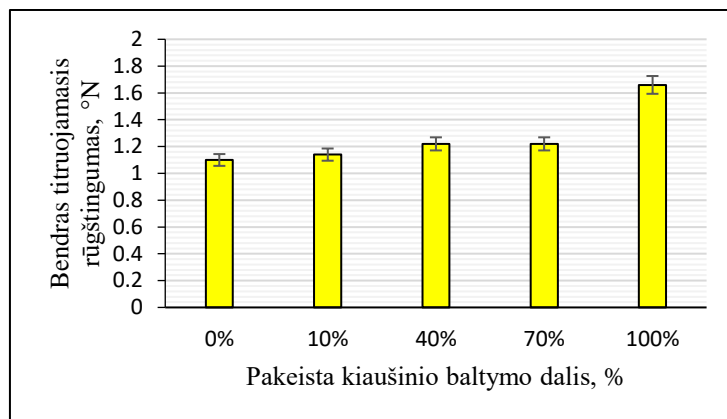
30 pav. Saldžių išrūgų miltelių priedo įtaka biskvitų bendram titruojamajam rūgštingumui



31 pav. Rūgščių išrūgų miltelių priedo įtaka biskvitų bendram titruojamajam rūgštingumui

Mažiausiu bendru titruojamuoju rūgštingumu (1,0 °N) pasižymėjo kontroliniai biskvitai be išrūgų miltelių priedo. Didžiausias bendras titruojamasis rūgštingumas nustatytas biskvituose su 10 % rūgščių išrūgų miltelių priedu (3,18 °N), kai biskvitų, gamintų su 10 % saldžių išrūgų miltelių priedu, rūgštingumas buvo 60,7 % mažesnis (1,25 °N).

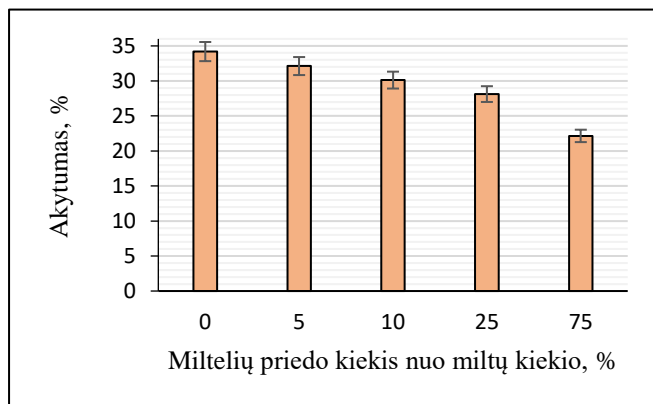
Biskvitų, kuriuose dalis kiaušinio baltymų buvo keičiama IBK80/vandens mišiniu, bendras titruojamasis rūgštingumas kito nuo 1,0 °N (kontrolinis kepinys) iki 1,66 °N (pakeista 100 % kiaušinio baltymų). Nustatytos bendro titruojamojo rūgštingumo vertės (žr. 32 pav.) gana panašios į bendro titruojamojo rūgštingumo vertes, gautas matuojant biskvitų su saldžių išrūgų miltelių priedu vertes.



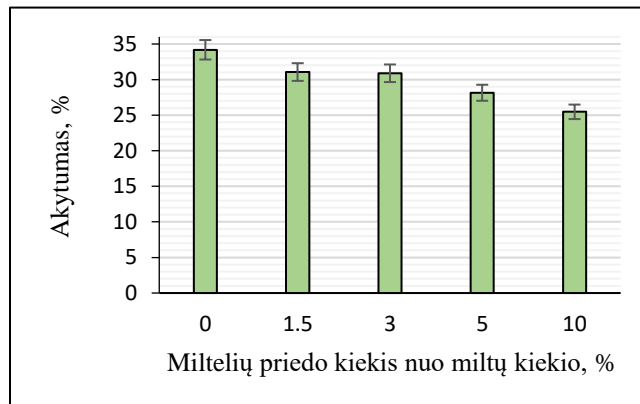
32 pav. Bendro titruojamojo rūgštingumo priklausomybė nuo pakeistos kiaušinio baltymo dalies

3.4.3 Akytumo įvertinimas

Vertinant saldžių ir rūgščių išrūgų miltelių priedų įtaką biskvitų akytumui, buvo nustatyta, kad didėjant išrūgų miltelių priedo kiekiui, biskvitų akytumas mažėja (33 – 34 pav.). Lyginant kepinų akytumą su 10 % saldžių išrūgų miltelių priedu ir kepinų akytumą su 10 % rūgščių išrūgų miltelių priedu matyti, kad kepiniai su saldžių išrūgų milteliais pasižymi 4,65 % didesniu akytumu.

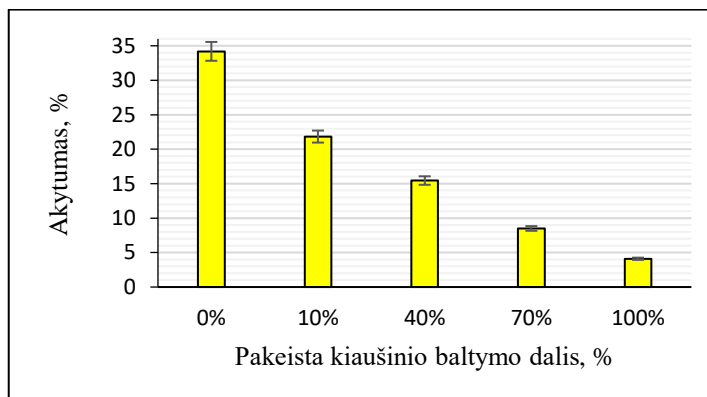


33 pav. Saldžių išrūgų miltelių priedo įtaka biskvitų akytumui



34 pav. Rūgščių išrūgų miltelių priedo įtaka biskvitų akytumui

Biskvitų akytumo priklausomybė nuo pakeistos kiaušinio baltymo dalies pavaizduota 35 paveiksle. Iš paveikslo matyti, kad akytumo vertė sparčiai mažėja keičiant vis didesnę kiaušinio baltymo dalį, o visiškai pakeitus kiaušinio baltymą biskvito akytumas nustatytas tik 4,1 % ir tai yra visiškai nepriimtinas rodiklis. Literatūroje aprašyto eksperimento [107] duomenys rodo, jog pakeitus 50 % kiaušinio baltymo išrūgų baltymais kepinio tūris lyginant su kontroliniu bandiniu sumažėjo 43 %, o visiškai pakeitus kiaušinio baltymą išrūgų baltymais kepinio tūris tapo 55 % mažesnis lyginant su kontroliniu bandiniu.



35 pav. Biskvitų akytumo priklausomybė nuo pakeistos kiaušinio baltymo dalies

Vizualiai vertinant kepinis, gautus keičiant kiaušinio baltymus IBK80/vandens mišiniu, matyti, kad pakeitus 10 % kiaušinio baltymų vis dar gaunamas tos pačios kokybės kepinys (vertinant iškilimą), pakeitus 40 % kiaušinio baltymų, gaunamas mažiau iškilęs kepinys, tačiau vizualiai vis dar patenkinamas. Keičiant dar didesnę dalį kiaušinio baltymų, gaunami netenkinamos kokybės biskvitai. Kepinių pjūvis pateiktas 36 paveiksle.

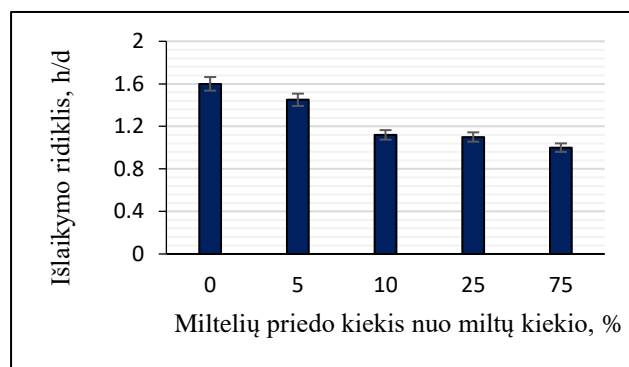


36 pav. Biskvitų pjūvis (iš dešinės į kairę: 1 – kontrolinis kepinys, 2 – pakeista 10 % kiaušinio baltymų, 3 – pakeista 40 % kiaušinio baltymų, 4 - pakeista 70 % kiaušinio baltymų, 5 – pakeista 100 % kiaušinio baltymų)

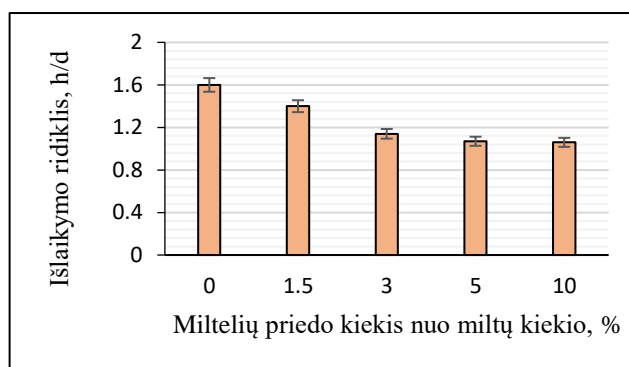
Lyginant tiriamojo darbo metu gautus rezultatus su literatūros apžvalgoje minėto tyrimo [66] rezultatais, matyti, kad optimaliausias rezultatas gali būti pasiektas keičiant tik 20 – 30 % kiaušinio baltymų.

3.4.4 Pradinės duonos formos išlaikymo rodiklio įvertinimas

Nustačius kepinių išlaikymo rodiklį pastebėta, kad didinat išrūgų miltelių priedo kiekį, biskvitų formos išlaikymo rodiklis mažėja nuo 1,6 iki 1,0 (žr. 37 pav.) ir nuo 1,6 iki 1,06 (žr. 38 pav.). Lyginant kepinių išlaikymo rodiklį su 10 % saldžių išrūgų miltelių priedu ir kepinių išlaikymo rodiklį su 10 % rūgščių išrūgų miltelių priedu matyti, kad kepiniai su saldžių išrūgų milteliais pasižymi tik 0,06 didesne formos išlaikymo rodiklio verte.

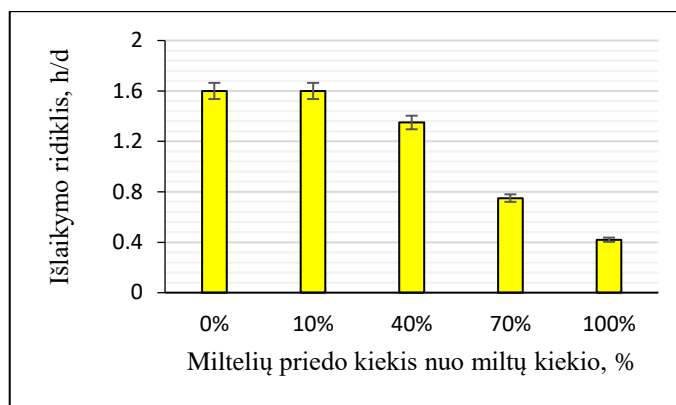


37 pav. Saldžių išrūgų miltelių priedo įtaka biskvitų išlaikymo rodikliui



38 pav. Rūgščių išrūgų miltelių priedo įtaka biskvitų išlaikymo rodikliui

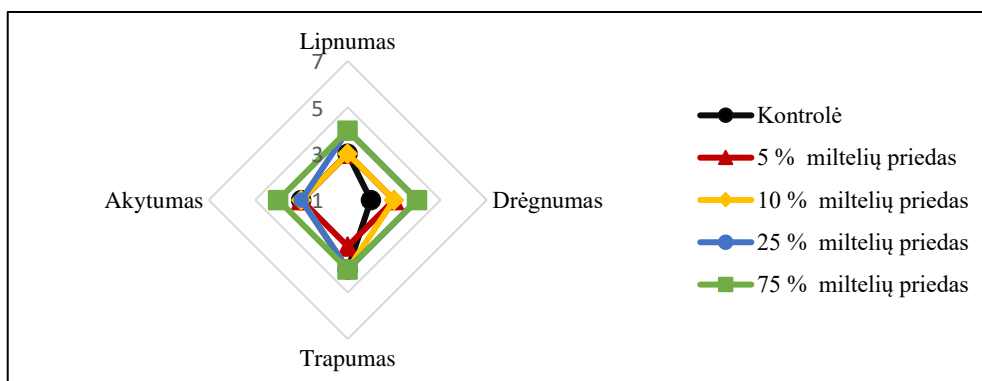
Nustačius biskvitų, ruošų keičiant kiaušinio baltymą išrūgų baltymų koncentrato ir vandens mišiniu, išlaikymo rodiklį, matyti, kad kuo didesnė baltymo dalis keičiama, tuo mažesniu išlaikymo rodikliu biskvitas pasižymi (žr. 39 pav.). Biskvitų, kuriuose buvo pakeista 100 % baltymų, nustatytas mažiausias išlaikymo rodiklis (0,42), kuris yra netenkinamas. Tai yra net 73,75 % mažesnis išlaikymo rodiklis nei kontrolinio kepinio.



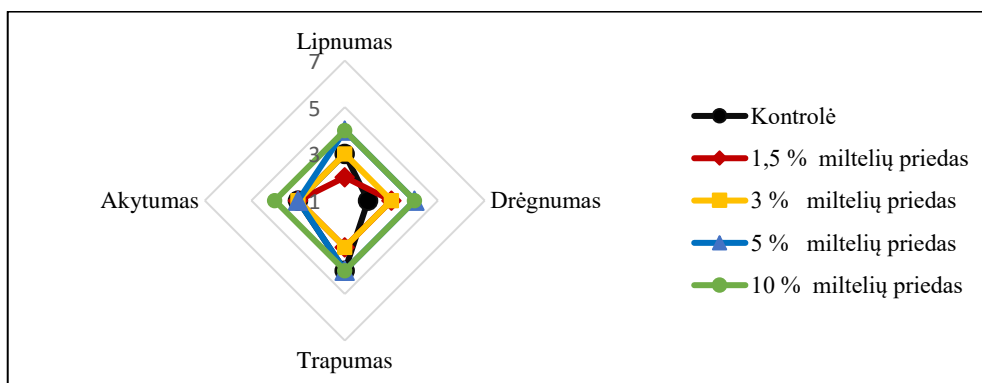
39 pav. Biskvitų išlaikymo rodiklio priklausomybė nuo pakeistos kiaušinio baltymo dalies

3.4.5 Juslinis vertinimas

Atlikus juslinį kepinų vertinimą, buvo pastebėta, kad kepiniai su didžiausiu miltelių priedu (25 ir 75 % saldžių išrūgų miltelių priedu, 5 ir 10 % rūgščių išrūgų miltelių priedu) pasižymėjo didžiausiu drėgnumu, lipnumu, trapumu bei akytumu (40 ir 41 pav.). Mažesnis šių miltelių (tiek saldžių, tiek rūgščių) priedo kiekis neturėjo didelės įtakos biskvitų tekstūros savybėms.

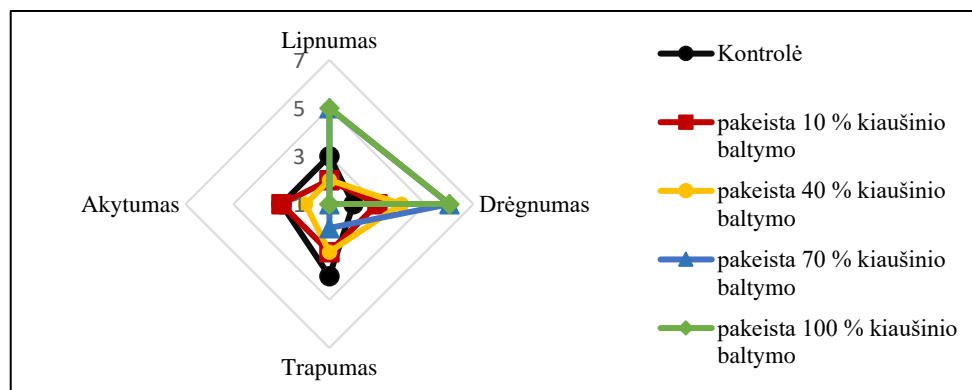


40 pav. Saldžių išrūgų miltelių priedo įtaka biskvitų tekstūros juslinėms savybėms



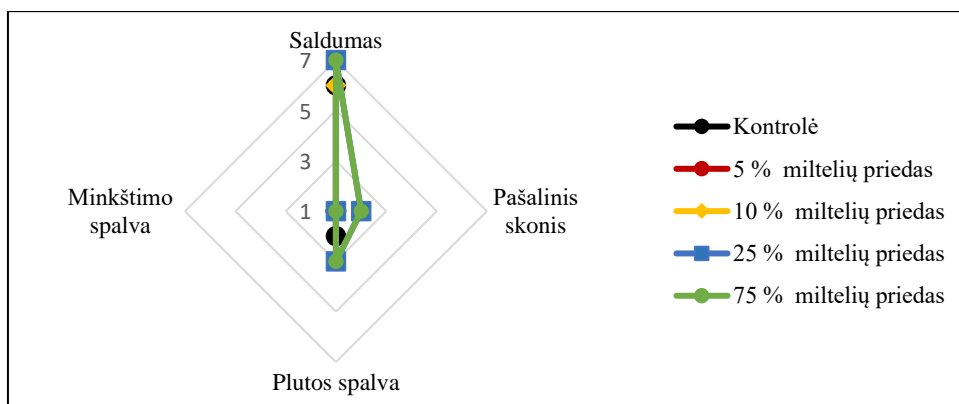
41 pav. Rūgščių išrūgų miltelių priedo įtaka biskvitų tekstūros juslinėms savybėms

Kepiniai, kuriuose vis didesnė kiaušinio baltymo dalis buvo keičiama išrūgų baltymų koncentratu, pasižymėjo vis didesne drėgme ir lipnumu. Artimiausios tekstūros vertės kontroliniam kepiniai buvo gautos keičiant 10 – 40 % kiaušinio baltymo. Juslinio tekstūros vertinimo rezultatai, keičiant kiaušinio baltymą, pateikti 42 paveiksle.

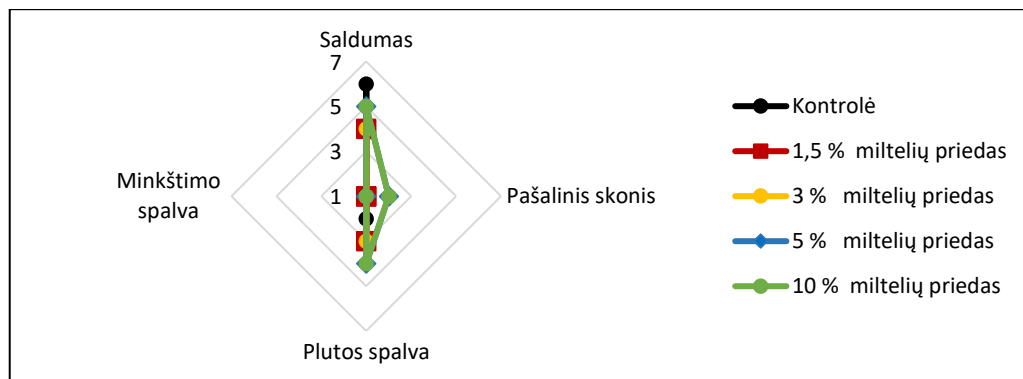


42 pav. Biskvitų tekstūros juslinis vertinimas pakeitus dalį kiaušinio baltymų

Analizuojant kepinų skonį bei išvaizdą, pastebėta, kad saldžiausiu skoniu pasižymėjo kepiniai su 25 ir 75 % saldžių išrūgų miltelių priedu. Šiek tiek mažiau saldūs buvo biskvitai su 5 ir 10 % saldžių išrūgų miltelių priedu. Biskvitai su rūgščių išrūgų miltelių priedu pasižymėjo dar mažesniu saldžiu skoniu. Pašalinis skonis buvo įvertintas minimaliomis vertėmis tiek kepinuose su saldžių išrūgų miltelių priedu, tiek kepinuose su rūgščių išrūgų miltelių priedu. Tamsiausia plutos spalva pasižymėjo kepiniai su 5 ir 10 % rūgščių išrūgų miltelių priedu. Minkšimo splavai nei miltelių priedo rūšis, nei kiekis įtakos neturėjo. Biskvitų, su skirtingu miltelių priedu, skonio bei išvaizdos juslinio vertinimo rezultatai pateikti 43 – 44 paveiksluose.

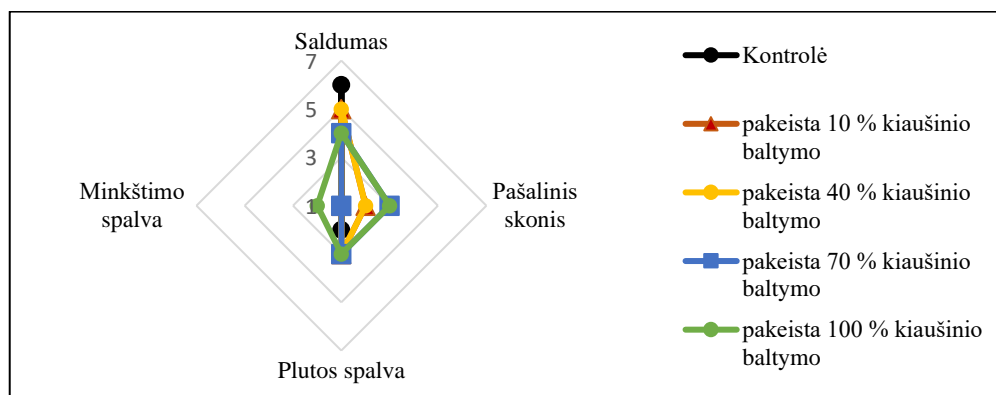


43 pav. Saldžių išrūgų miltelių priedo įtaka biskvitų išvaizdos, skonio ir kvapo juslinėms savybėms



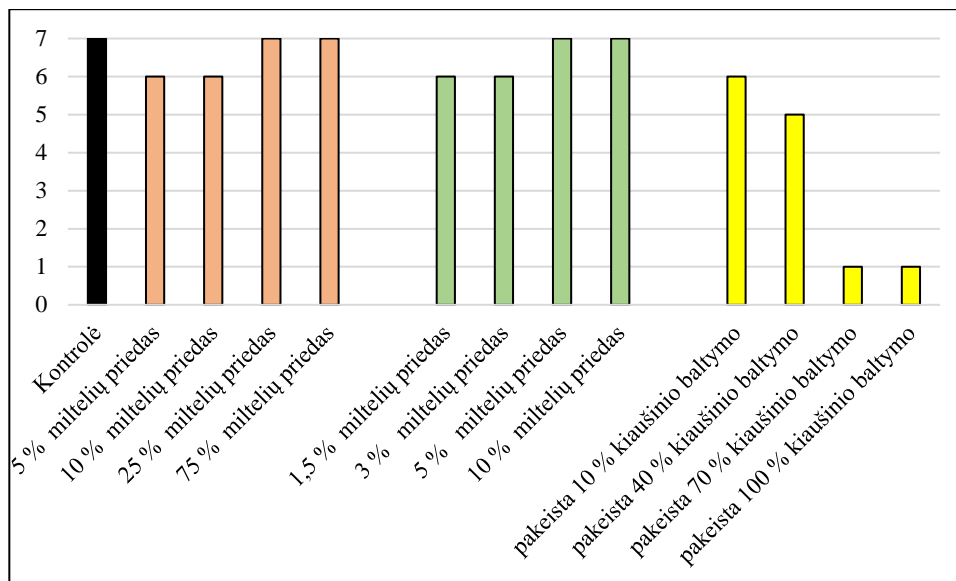
44 pav. Rūgščių išrūgų miltelių priedo įtaka biskvitų išvaizdos, skonio ir kvapo juslinėms savybėms

Analizuojant juslinio vertinimo rezultatus kepinių, kuriuose keičiamas kiaušinio baltymas, matyti, kad keičiant vis didesnę kiaušinio baltymo dalį, biskvitų saldumas mažėja, pašalinis skonis didėja, plutos bei minkštimo spalvos kinta nežymiai (žr. 45 pav.).



45 pav. Biskvitų išvaizdos, skonio ir kvapo juslinių savybių vertinimas pakeitus dalį kiaušinio baltymų

Atlikus bendro visų kepinių priimtimumo juslinį vertinimą, matyti, kad priimtinausiai buvo įvertinti kepiniai su 25 %, 75 % saldžių išrūgų miltelių priedu bei 5 % ir 10% rūgščių išrūgų miltelių priedu. Gauti rezultatai taip pat parodė, kad išrūgų baltymų koncentratu galima pakeisti tik iki 30 % kiaušinio baltymų. Keičiant didesnę baltymų dalį, gaunami nepriimtinos kokybės kepiniai. Bendro biskvitų priimtimumo įvertinimo rezultatai pateikti 46 paveiksle.



46. pav. Bendro visų gaminių priimtumo vertinimas

4. IŠVADOS

1. Skirtingais džiovavimo būdais – liofilizacija ir džiovavimu purkštuvinėje džiovykloje – buvo pagaminti skirtingi rūgščių išrūgų milteliai. Prieš tai dalis rūgščių išrūgų buvo perdirbtos naudojant vieną iš membraninės filtracijos technologijų – ultrafiltraciją.

2. Atlikus miltelių cheminės sudėties tyrimus buvo nustatyta, kad džiovavimo būdas (liofilizacija/ purkštuvinė džiovykla) išrūgų miltelių cheminei sudėčiai reikšmingos įtakos neturėjo. Saldžių išrūgų milteliai pasižymėjo didesniu baltymų ir laktozės kiekiu (atitinkamai – 12,13 % ir 72,89 %) nei rūgščių išrūgų milteliai (atitinkamai – 10,32 % ir 64,90 %). Rūgščių išrūgų milteliuose nustatyta 3,06 % daugiau mineralinių medžiagų nei saldžių išrūgų milteliuose. Didžiausias pieno rūgšties kiekis nustatytas rūgščių išrūgų permeato milteliuose (12,53 %), kuris lėmė ir didžiąją drėgmės kiekį (5,06 %). Saldžių išrūgų milteliai pasižymėjo mažiausiu pieno rūgšties kiekiu (0,68 %) ir mažiausia drėgme (4,19 %). Atlikus cheminę analizę ryškaus skirtumo tarp baltymų saldžių ir rūgščių išrūgų milteliuose nebuvo pastebėta, tačiau chromatografinis tyrimas parodė, kad rūgščiose išrūgose baltymai yra pakitę. Atvirkščiųjų fazių efektyviosios skysčių chromatografijos būdu buvo identifikuotos α – laktoalbumino, β – laktoglobulino frakcijos, kurių didžiausias kiekis nustatytas rūgščių išrūgų retanto milteliuose (atitinkamai 1,81 % ir 6,32 %). Elektroforezės rezultatai taip pat patvirtino šių ir kitų frakcijų buvimą išrūgų milteliuose.

Atlikus baltymų funkcinių savybių tyrimus mažiausiu tirpumu išsiskyrė purkštuvine džiovykla džiovinti rūgščių išrūgų milteliai, kitų miltelių tirpumas buvo gana panašus. Taip pat buvo pastebėta, kad geriausiomis funkcinėmis savybėmis pasižymi milteliai, kuriuose baltymų koncentracija yra didžiausia. Išrūgų milteliai, gauti naudojant purkštuvinę džiovyklą, pasižymėjo didesnėmis dalelėmis nei išrūgų milteliai, gauti liofilizacijos būdu.

3. Ultrafiltracijos metu pieno rūgštis buvo šalinama iš retanto. Rūgščių išrūgų retanto milteliuose pieno rūgšties kiekis buvo 2,17 % mažesnis nei rūgščių išrūgų milteliuose, kurie buvo gauti nenaudojant ultrafiltracijos. Šis skirtumas yra nedidelis dėl nepakankamai ilgai vykdytos ultrafiltracijos, tačiau daroma išvada, kad naudojant ultrafiltraciją galima sumažinti pieno rūgšties kiekį rūgščiose išrūgose.

4. Atlikus kepinų analizę buvo nustatyta, kad didinant saldžių/ rūgščių išrūgų miltelių priedo kiekį biskvitų drėgnis bei rūgštingumas didėjo, o akytumas bei pradinės duonos formos išlaikymo rodiklis mažėjo. Įvertinus kepinus, gautus keičiant kiaušinio baltymus IBK80/vandens mišiniu, buvo prieita išvados, kad optimaliausias kepinys gaunamas pakeitus tik 20 – 30 % kiaušinio baltymų. Keičiant didesnę kiaušinio baltymų dalį, gaunamas netenkinamos kokybės kepinys.

5. BIBLIOGRAFINIŲ NUORODŲ SĄRAŠAS

1. HUMA, N. ir kt. Effect of different filtration membranes on composition of sweet and acid whey protein. *Pakistan Journal of Food Sciences*, [interaktyvus]. 2015, [žiūrėta: 2017-08-08]. ISSN: 2226-5899. Prieiga per: http://psfst.com/_jpd_fstr/f8b2e7ac994965daff06bd8dc9a5962d.pdf
2. CHANDRAPALA, J. ir kt. Removal of lactate from acid whey using nanofiltration. *Journal of food engineering*, [interaktyvus]. 2016, [žiūrėta: 2017-10-20]. Prieiga per: [doi:10.1016/j.jfoodeng.2015.12.019](https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2015.12.019)
3. CSANÁDI, J., G. SZÁSZ, ir O. H-BARA. Simple utilization of lactic acid whey in dairy processing. *Acta Universitatis Sapientiae, Alimentaria*, [interaktyvus]. 2016, [žiūrėta: 2017-10-20]. Prieiga per: [doi: 10.1515/ausal-2016-0001](https://doi.org/10.1515/ausal-2016-0001)
4. SINGH, S. ir kt. Replacement of egg solids with whey protein concentrate and optimization of its levels in cake making. *Journal of food science and technology*, [interaktyvus]. 2003, [žiūrėta: 2017-10-23]. Prieiga per: <https://www.researchgate.net/publication/291254538>
5. WRONKOWSKA, M. ir kt. ACID whey concentrated by ultrafiltration a tool for modeling bread properties. *LWT-Food Science and Technology*, [interaktyvus]. 2015, [žiūrėta: 2017-10-21]. Prieiga per: [doi:10.1016/j.lwt.2014.11.019](https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.11.019)
6. CHRISTOPHER, V. *The Whey Prescription: the healing miracle in milk* [interaktyvus]. Inner Traditions/Bear & Co, 2006. [žiūrėta: 2017-07-15]. ISBN 9781594778933. Prieiga per: https://books.google.lt/books?id=Jj7Zd_39FAMC&pg=PA7&dq=what+is+whey
7. PHADUNGATH, C. The mechanism and properties of acid-coagulated milk gels. *Food Science and Technology Program, The Faculty of Science and Technology*, [interaktyvus]. 2005, [žiūrėta: 2017-07-15]. Prieiga per: <http://www.thaiscience.info/journals/Article/SONG/10462552.pdf>
8. KINDSTEDT, S. P. Mechanisms of Coagulation: The principles, the science and what they mean to cheesemakers. *Department of Nutrition and Food Sciences University of Vermont*, [interaktyvus]. 1998, [žiūrėta: 2017-07-15]. Prieiga per: <http://www.cheesesociety.org/wp-content/uploads/2011/08/2011-Mechanisms-of-Coagulation-Kindstedt.pdf>
9. FOX, Patrick F. ir kt. *Cheese chemistry, physics and microbiology: General Aspects*, [interaktyvus]. 2004, [žiūrėta: 2017-07-15]. Prieiga per: https://books.google.lt/books?hl=lt&lr=&id=a95C5Nza5_EC&oi=fnd&pg=PA105&dq

10. GOFF, H. Douglas. *Dairy Science and Technology Education Series*, [interaktyvus]. University of Guelph, Canada, 2008, [žiūrėta: 2017-07-15]. Prieiga per: <https://www.uoguelph.ca/foodscience/book-page/enzymic-coagulation-milk>
11. FOX, Patrick F. ir P.L.H. MCSWEENEY. *Dairy Chemistry and Biochemistry*, [interaktyvus]. Blackie Academic and Professional Publishers, London, 1998, [žiūrėta: 2017-07-15]. Prieiga per: <http://www.cheesescience.net/2008/06/rennet-coagulation-of-milk.html>
12. TSAKALI, Efstathia, ir kt. A review on whey composition and the methods used for its utilization for food and pharmaceutical products. In: *6th international conference on simulation and modelling in the food and bio-industry FOODSIM, research Centre, Braganca (Portugal)*. 2010, [žiūrėta: 2017-07-15]. Prieiga per: <http://cmapspublic3.ihmc.us/rid=1N1Y36LJ0-25HNYDD-CMTW/Tsakali%20et%20al.%20-%202010%20-%20A%20review%20on%20whey%20composition%20and%20the%20methods%20used.pdf>
13. SMITH, K. *Dried Dairy Ingredients*, [interaktyvus]. Wisconsin Centre for Dairy Research, 2008, [žiūrėta: 2017-02-22]. Prieiga per: http://future.aae.wisc.edu/publications/dried_dairy_ingdients.pdf
14. SPOTTI, M. J. ir kt. Whey protein gelation induced by enzymatic hydrolysis and heat treatment: Comparison of creep and recovery behavior. *Food Hydrocolloids*, [interaktyvus]. 2017, [žiūrėta: 2017-02-22]. Prieiga per: [doi: 10.1016/j.foodhyd.2016.10.014](https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.10.014)
15. KASSEM, Jihan M. Future challenges of whey proteins, *. International Journal of Dairy Science*, [interaktyvus]. 2015, [žiūrėta: 2017-08-06] Prieiga per: [doi:10.3923/ijds.2015.139.159](https://doi.org/10.3923/ijds.2015.139.159)
16. KONTOPIDIS, G., HOLT, C., SAWYER, L. Invited review: β -lactoglobulin: binding properties, structure, and function. *Journal of dairy science*, [interaktyvus]. 2004, [žiūrėta: 2017-02-23]. Prieiga per: [doi:10.3168/jds.S0022-0302\(04\)73222-1](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(04)73222-1)
17. KAMAU, Samuel M. ir kt. Alpha-Lactalbumin: Its Production Technologies and Bioactive Peptides. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, [interaktyvus]. 2010, [žiūrėta: 2017-02-22] Prieiga per: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1541-4337.2009.00100.x/pdf>

18. JAHANBAN-ESFAHLAN, A. ir V. PANAHI-AZAR. Interaction of glutathione with bovine serum albumin: spectroscopy and molecular docking. *Food chemistry*, [interaktyvus]. 2016, [žiūrėta: 2017-02-23]. Prieiga per: [doi:10.1016/j.foodchem.2016.02.026](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.02.026)
19. HURLEY, Walter L. ir Peter K. THEIL. Perspectives on immunoglobulins in colostrum and milk. *Nutrients*, [interaktyvus]. 2011, [žiūrėta: 2017-02-23]. Prieiga per: [doi:10.3390/nu3040442](https://doi.org/10.3390/nu3040442)
20. KORHONEN H., P MARNILA, H. S GILL. Milk immunoglobulins and complement factors. *British Journal of Nutrition*, [interaktyvus]. 2000, [žiūrėta: 2017-02-23]. Prieiga per: [doi:10.1017/S0007114500002282](https://doi.org/10.1017/S0007114500002282)
21. WANG, Bo ir kt. Characteristics of bovine lactoferrin powders produced through spray and freeze drying processes. *International journal of biological macromolecules*, [interaktyvus]. 2017, [žiūrėta: 2017-02-23]. Prieiga per: [doi:10.1016/j.ijbiomac.2016.10.087](https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.10.087)
22. SHARMA, R. ir kt. Chemical and functional properties of glycomacropeptide (GMP) and its role in the detection of cheese whey adulteration in milk: a review. *Dairy science & technology*, [interaktyvus]. 2013, [žiūrėta: 2017-08-06]. Prieiga per: [doi:10.1007/s13594-012-0095-0](https://doi.org/10.1007/s13594-012-0095-0)
23. AMARA, Chedia B. ir kt. Using complex coacervation for lysozyme encapsulation by spray-drying. *Journal of Food Engineering*, [interaktyvus]. 2016, [žiūrėta: 2017-08-06]. Prieiga per: [doi:10.1016/j.jfoodeng.2016.03.016](https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2016.03.016)
24. OUNIS, W., ir kt. Separation of minor protein components from whey protein isolates by heparin affinity chromatography. *International dairy journal*, [interaktyvus]. 2008, [žiūrėta: 2017-08-06]. Prieiga per: doi.org/10.1016/j.idairyj.2008.04.004
25. BYLUND, G. *Dairy processing handbook*, [interaktyvus]. Tetra Pak Processing Systems AB, 2003, [žiūrėta: 2017-08-06] Prieiga per: <http://dairyprocessinghandbook.com/chapter/whey-processing>
26. GLUTZ, François-Nicolas de. Fuel bioethanol production from whey permeate. [interaktyvus]. 2009. [žiūrėta: 2017-08-07] Prieiga per: <https://pdfs.semanticscholar.org/74f4/e3eaf4f5117154a34dc4a84a837405c18cfe.pdf>
27. HOULDSWORTH, D. W. Demineralization of whey by means of ion exchange and electro dialysis. *International Journal of Dairy Technology*, [interaktyvus]. 1980, [žiūrėta: 2017-08-06]. Prieiga per: [doi: 10.1111/j.1471-0307.1980.tb01470.x](https://doi.org/10.1111/j.1471-0307.1980.tb01470.x)

28. GREITER, M. ir kt. Desalination of whey by electrodialysis and ion exchange resins: analysis of both processes with regard to sustainability by calculating their cumulative energy demand. *Journal of Membrane Science*, [interaktyvus]. 2002, [žiūrėta: 2017-08-15]. Prieiga per: [doi:10.1016/S0376-7388\(02\)00378-2](https://doi.org/10.1016/S0376-7388(02)00378-2)
29. GANJU, S. ir P. R. GOGATE, A review on approaches for efficient recovery of whey proteins from dairy industry effluents. *Journal of Food Engineering*, [interaktyvus]. 2017, [žiūrėta: 2017-08-15]. Prieiga per: [doi:10.1016/j.jfoodeng.2017.07.021](https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.07.021)
30. MUNIR, A. Dead end membrane filtration. *Laboratory Feasibility Studies in Environmental Engineering*, [interaktyvus]. 2006, [žiūrėta: 2017-08-08] Prieiga per: <http://www.egr.msu.edu/~hashsham/courses/ene806/docs/Membrane%20Filtration.pdf>
31. *Dairy Technology. Silkeborg [Denmark]:* APV, SPX Corporation, [interaktyvus]. 2008, [žiūrėta: 2017-08-08] Prieiga per: http://www.apv-tapflo.ro/userfiles/file/Dairy_Technology_9002_01_07_2008_GB.pdf
32. WAGNER, J. ir kt. *Membrane filtration handbook: Practical tips and hints*, [interaktyvus]. Minnetonka, MN: Osmonics, 2001, [žiūrėta: 2017-08-08] Prieiga per: <http://www.sapphire-water.ca/wp-content/uploads/2013/09/Membrane-Filtration-Handbook.pdf>
33. HUMA, N. ir kt. Effect of different filtration membranes on composition of sweet and acid whey protein. *Pakistan Journal of Food Sciences*, [interaktyvus]. 2015, [žiūrėta: 2017-08-08]. ISSN: 2226-5899. Prieiga per: http://psfst.com/_jpd_fstr/f8b2e7ac994965daff06bd8dc9a5962d.pdf
34. CANCINO, B., V. ESPINA ir C. ORELLANA. Whey concentration using microfiltration and ultrafiltration. *Desalination*, [interaktyvus]. 2006, [žiūrėta: 2017-08-15]. Prieiga per: [doi:10.1016/j.desal.2006.03.463](https://doi.org/10.1016/j.desal.2006.03.463)
35. DISSANAYAKE, M. *Modulation of functional properties of whey proteins by microparticulation*. PhD Thesis. Victoria University, [interaktyvus]. 2011, [žiūrėta: 2017-09-14]. Prieiga per: http://vuir.vu.edu.au/19358/1/Muditha_Dissanayake.pdf
36. *Ultrafiltration*, [interaktyvus]. MSS – Membrane System specialists. 2017, [žiūrėta: 2017-08-15]. Prieiga per: <http://www.mssincorporated.com/ultrafiltration.html>
37. ALMÉCJA, M. C. ir kt. A flux enhancing pretreatment for the ultrafiltration of acid whey. *Desalination*, [interaktyvus]. 2009, [žiūrėta: 2017-08-15]. Prieiga per: [doi:10.1016/j.desal.2009.02.045](https://doi.org/10.1016/j.desal.2009.02.045)

38. BALDASSO, C., T. C. BARROS ir I. C. TESSARO. Concentration and purification of whey proteins by ultrafiltration. *Desalination*, [interaktyvus]. 2011, [žiūrėta: 2017-08-15]. Prieiga per: [doi:10.1016/j.desal.2011.05.055](https://doi.org/10.1016/j.desal.2011.05.055)
39. PAN, K. ir kt. A study of demineralization of whey by nanofiltration membrane. *Desalination*, [interaktyvus]. 2011, [žiūrėta: 2017-08-11]. Prieiga per: [doi:10.1016/j.desal.2010.09.029](https://doi.org/10.1016/j.desal.2010.09.029)
40. LOURENÇO, N. F. Alexandre. Concentration of whey by nanofiltration and Spray-drying. Instituto Superior Técnico, Lisbon, Portugal, [interaktyvus]. 2014, [žiūrėta: 2017-08-14]. Prieiga per: <https://fenix.tecnico.ulisboa.pt/downloadFile/281870113702074/Artigo%20submetido2.pdf>
41. HERTRAMPF, Joachim W. ir F. PIEDAD-PASCUAL. *Handbook on ingredients for aquaculture feeds*, [interaktyvus]. Springer Science & Business Media, 2012, [žiūrėta: 2017-08-08]. ISBN 0-412-62760-4. Prieiga per: <https://books.google.lt/books?id=o9P5F2mvii0C&pg=PA543&lpg=PA543&dq>
42. TANGUY, G. ir kt. Efficient process for the production of permeate powders. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, [interaktyvus]. 2017, [žiūrėta: 2017-08-08]. Prieiga per: [doi:10.1016/j.ifset.2017.02.008](https://doi.org/10.1016/j.ifset.2017.02.008)
43. CHEGINI, G. ir M. TAHERI. Whey powder: process technology and physical properties: a review. *Middle-East journal of scientific Research*, [interaktyvus]. 2013, [žiūrėta: 2017-08-08]. Prieiga per: [doi:10.5829/idosi.mejsr.2013.13.10.1239](https://doi.org/10.5829/idosi.mejsr.2013.13.10.1239)
44. WANG, W. Lyophilization and development of solid protein pharmaceuticals. *International journal of pharmaceutics*, [interaktyvus]. 2000, [žiūrėta: 2018-05-12]. Prieiga per: [doi:10.1016/S0378-5173\(00\)00423-3](https://doi.org/10.1016/S0378-5173(00)00423-3)
45. NESSMITH, W. Ben. Defining quality of lactose sources used in swine diets. *Journal of Swine Health and Production*, [interaktyvus]. 1997, [žiūrėta: 2017-08-08]. Prieiga per: <https://www.aasv.org/shap/issues/v5n4/v5n4p145.html>
46. *Whey Protein Concentrate*, [interaktyvus]. American Dairy Products Institute. 2017, [žiūrėta: 2017-08-15]. Prieiga per: <https://www.adpi.org/DairyProducts/Whey/WheyProteinConcentrate/tabid/94/Default.aspx>
47. MCDONOUGH, F. E., J. A. ALFORD ir M. WOMACK. Whey protein concentrate as a milk extender. *Journal of Dairy Science*, [interaktyvus]. 1976, [žiūrėta: 2017-08-15]. Prieiga per: [doi:10.3168/jds.S0022-0302\(76\)84151-3](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(76)84151-3)

48. MALCATA, F. X ir T. G. TAVARES. Whey and whey powders: protein concentrates and fractions. *Encyclopedia of Food and Health*, [interaktyvus]. 2016, [žiūrėta: 2017-08-17]. Prieiga per: [doi:10.1016/B978-0-12-384947-2.00748-0](https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00748-0)
49. *Technical evaluation report. Whey Protein Concentrate (WPC) handling*, [interaktyvus]. USDA, AMS, Agricultural Analytics Division for the USDA National Organic Program. 2015, [žiūrėta: 2017-09-10] Prieiga per: <https://www.ams.usda.gov/sites/default/files/media/Whey%20Protein%20Concentrate%20TR.pdf>
50. DA SILVA, A. N. ir kt. Integrated production of whey protein concentrate and lactose derivatives: What is the best combination?. *Food Research International*, [interaktyvus]. 2015, [žiūrėta: 2017-09-12]. Prieiga per: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996915000988>
51. *Whey protein concentrate*, [interaktyvus]. MILKingredients.ca. Canadian Dairy Commission. 2017, [žiūrėta: 2017-09-12] Prieiga per: <http://www.milkingredients.ca/index-eng.php?id=195>
52. BURREINGTON, K. J. ir S. AGRAWAL. Technical Report: Whey Protein Heat Stability. *Emerging Technologies In Food Processing. US Dairy*, [interaktyvus]. 2012, [žiūrėta: 2017-09-12] Prieiga per: <file:///C:/Users/admin/Downloads/TechnicalReportWheyProteinHeatStabilitypdf.pdf>
53. JOVANOVIĆ, S., M. BARAC ir O. MAČEJ. Whey proteins-properties and possibility of application. *Mljekarstvo*, [interaktyvus]. 2005, [žiūrėta: 2017-09-14]. Prieiga per: http://ennutrica.com/04_S_20Jovanovic_20et_20al_Whey_20proteins.pdf
54. ARRIAGA, T. V. Controlled and tailored denaturation and aggregation of whey proteins. [interaktyvus]. 2011, [žiūrėta: 2017-09-14]. Prieiga per: <https://fenix.tecnico.ulisboa.pt/downloadFile/395143154655/Disserta%C3%A7%C3%A3o%20de%20Mestrado.pdf>
55. HULMI, J. J., C. M. LOCKWOOD ir J. R. STOUT. Effect of protein/essential amino acids and resistance training on skeletal muscle hypertrophy: A case for whey protein. *Nutrition & metabolism*, [interaktyvus]. 2010, [žiūrėta: 2017-10-16]. Prieiga per: [doi:10.1186/1743-7075-7-51](https://doi.org/10.1186/1743-7075-7-51)

56. CHEN, G. Q. ir kt. Removal of lactic acid from acid whey using electrodialysis. *Separation and Purification Technology*, [interaktyvus]. 2016, [žiūrėta: 2017-10-19]. Prieiga per: [doi:10.1016/j.seppur.2015.12.016](https://doi.org/10.1016/j.seppur.2015.12.016)
57. CHANDRAPALA, J. ir kt. Strategies for maximizing removal of lactic acid from acid whey– Addressing the un-processability issue. *Separation and Purification Technology*, [interaktyvus]. 2017, [žiūrėta: 2017-10-20]. Prieiga per: [doi:10.1016/j.seppur.2016.09.004](https://doi.org/10.1016/j.seppur.2016.09.004)
58. CHANDRAPALA, J. ir kt. Nanofiltration and nanodiafiltration of acid whey as a function of pH and temperature. *Separation and Purification Technology*, [interaktyvus]. 2016, [žiūrėta: 2017-10-20]. Prieiga per: [doi:10.1016/j.seppur.2015.12.046](https://doi.org/10.1016/j.seppur.2015.12.046)
59. CHANDRAPALA, J. ir kt. Removal of lactate from acid whey using nanofiltration. *Journal of food engineering*, [interaktyvus]. 2016, [žiūrėta: 2017-10-20]. Prieiga per: [doi:10.1016/j.jfoodeng.2015.12.019](https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2015.12.019)
60. WOJTYNIAK, B., J. KOŁODZIEJCZYK ir D. SZANIAWSKA. Production of lactic acid by ultrafiltration of fermented whey obtained in bioreactor equipped with ZOSS membrane. *Chemical Engineering Journal*, [interaktyvus]. 2016, [žiūrėta: 2017-10-20]. Prieiga per: [doi:10.1016/j.cej.2016.01.048](https://doi.org/10.1016/j.cej.2016.01.048)
61. HOPPE, Camilla, ir kt. The use of whey or skimmed milk powder in fortified blended foods for vulnerable groups. *The Journal of nutrition*, [interaktyvus]. 2008, [žiūrėta: 2018-05-20]. Prieiga per: [doi:10.1093/jn/138.1.145S](https://doi.org/10.1093/jn/138.1.145S)
62. RAMOS, Ó. L. ir kt. Whey and whey powders: production and uses. *Encyclopedia of Food Health*, [interaktyvus]. 2016, [žiūrėta: 2017-10-22]. Prieiga per: [doi:10.1016/B978-0-12-384947-2.00747-9](https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00747-9)
63. WRONKOWSKA, M. ir kt. ACID whey concentrated by ultrafiltration a tool for modeling bread properties. *LWT-Food Science and Technology*, [interaktyvus]. 2015, [žiūrėta: 2017-10-21]. Prieiga per: [doi:10.1016/j.lwt.2014.11.019](https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.11.019)
64. *Suppliers information. Use whey proteins instead of eggs*, [interaktyvus]. Hilmar ingredients. 2017, [žiūrėta: 2017-10-22]. Prieiga per: <https://www.nutraingredients-usa.com/Suppliers/Use-Hilmar-sup-TM-sup-whey-proteins-instead-of-eggs>
65. SINGH, S. ir kt. Replacement of egg solids with whey protein concentrate and optimization of its levels in cake making. *Journal of food science and technology*, [interaktyvus]. 2003, [žiūrėta: 2017-10-23]. Prieiga per: <https://www.researchgate.net/publication/291254538>

66. JYOTSNA, R. ir kt. Effect of whey protein concentrate on the rheological and baking properties of eggless cake. *International Journal of Food Properties*, [interaktyvus]. 2007, [žiūrėta: 2017-10-23]. Prieiga per: [doi:10.1080/10942910601048986](https://doi.org/10.1080/10942910601048986)
67. U.S. Dairy Export Council. Whey proteins provide suitable egg replacement options. *Think USA Dairy, Dairy Management*, [interaktyvus]. 2015, [žiūrėta: 2017-10-23]. Prieiga per: <http://dairyspotlight.thinkusadairy.org/whey-proteins-provide-suitable-egg-replacement-options>
68. KRÓLCZYK, J. B. ir kt. Use of Whey and Whey Preparations in the Food Industry—a Review. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, [interaktyvus]. 2016, [žiūrėta: 2017-10-23]. Prieiga internete: [doi:10.1515/pjfn-2015-0052](https://doi.org/10.1515/pjfn-2015-0052)
69. INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. *Milk and milk products. Determination of nitrogen content. Part 1: Kjeldahl principle and crude protein calculation*. International Organization for Standardization, 2014. International standard, ISO 8968-1:2014.
70. INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. *Milk. Determination of casein – nitrogen content. Part 2: Direct method*. International Organization for Standardization, 2004. International standard, ISO 17997-2:2004.
71. INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. *Dried milk. Determination of moisture content (Reference method)*. International Organization for Standardization, 2004. International standard, ISO 5537:2004.
72. INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. *Rennet caseins and caseinates. Determination of ash (Reference method)*. International Organization for Standardization, 2008. International standard, ISO 5545:2008.
73. INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. *Milk. Determination of total phosphorus content. Method using molecular absorption spectrometry*. International Organization for Standardization, 2006. International standard, ISO 9874:2006.
74. INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. *Milk and milk products. Determination of calcium, sodium, potassium and magnesium contents. Atomic absorption spectrometric method*. International Organization for Standardization, 2007. International standard, ISO 8070:2007.
75. LST EN ISO – 1492:2013. *Duona ir pyrago kepiniai. Drėgmės kiekio nustatymo metodas. Lietuvos standartas*. Vilnius: Lietuvos standartizacijos departamentas, 2013.

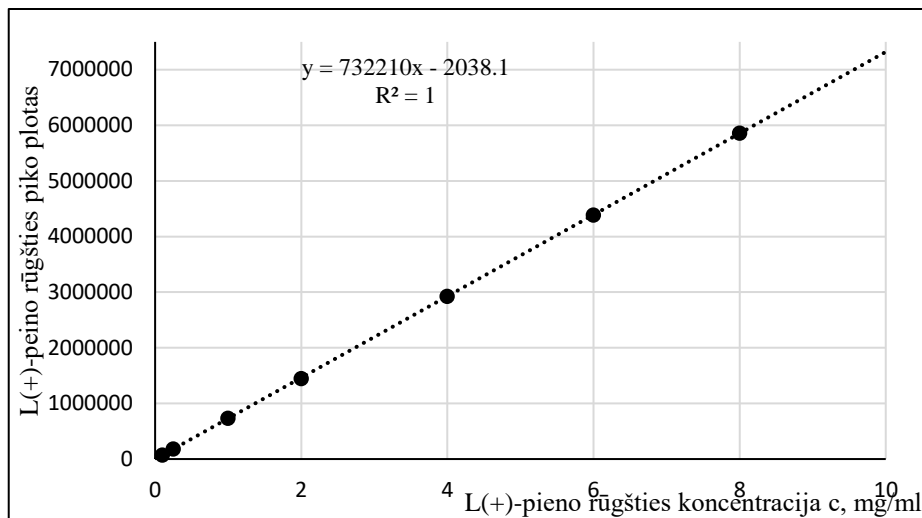
76. LST EN ISO 1553:1998. *Miltiniai kepiniai ir konditerijos gaminiai. Rūgštingumo ir šarmingumo nustatymo metodai. Lietuvos standartas*. Vilnius: Lietuvos standartizacijos departamentas, 1998.
77. LST EN ISO 1442:1996. *Duona ir pyrago kepiniai. Akytumo nustatymas. Lietuvos standartas*. Vilnius: Lietuvos standartizacijos departamentas, 1996.
78. BOŽANIĆ, Rajka, et al. Possibilities of whey utilisation. *Austin J Nutri Food Sci*, [interaktyvus]. 2014, [žiūrėta: 2017-10-22]. Prieiga per: [https://www.researchgate.net/publication/265016830 Possibilities of Whey Utilisation](https://www.researchgate.net/publication/265016830_Possibilities_of_Whey_Utilisation)
79. PANESAR, Parmjit S., ir kt. Bioutilisation of whey for lactic acid production. *Food chemistry*, [interaktyvus]. 2007, [žiūrėta: 2018-05-22]. Prieiga per: [doi:10.1016/j.foodchem.2007.03.035](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.03.035)
80. MAVROPOULOU, I. P., ir F. V. KOSIKOWSKI. Composition, solubility, and stability of whey powders. *Journal of Dairy Science*, [interaktyvus]. 1973, [žiūrėta: 2018-02-06]. Prieiga internete: [doi:10.3168/jds.S0022-0302\(73\)85321-4](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(73)85321-4)
81. BHANDARI, B. R. ir kt. *Handbook of food powders: processes and properties*. Elsevier, [interaktyvus]. 2013, [žiūrėta: 2018-02-06]. Prieiga per: [doi:10.1533/9780857098672.3.437](https://doi.org/10.1533/9780857098672.3.437)
82. NISHANTHI, M., J. CHANDRAPALA ir T. VASILJEVIC. Properties of whey protein concentrate powders obtained by spray drying of sweet, salty and acid whey under varying storage conditions. *Journal of Food Engineering*, [interaktyvus]. 2017, [žiūrėta: 2017-11-20]. Prieiga per: [doi:10.1016/j.jfoodeng.2017.06.032](https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.06.032)
83. SAWYER, M. W. Controlling the mineral content of sweet whey powder in an industrial setting. [interaktyvus]. 2010, [žiūrėta: 2018-02-06]. Prieiga per: <http://digitalcommons.calpoly.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=1041&context=dscisp>
84. ABD EL-SALAM, M. H., S. EL-SHIBINY ir A. SALEM. Factors affecting the functional properties of whey protein products: a review. *Food Reviews International*, [interaktyvus]. 2009, [žiūrėta: 2018-02-07]. Prieiga per: [doi: 10.1080/87559120902956224](https://doi.org/10.1080/87559120902956224)
85. BOBE, G. ir kt. Sample preparation affects separation of whey proteins by reversed-phase high-performance liquid chromatography. *Journal of agricultural and food chemistry*, [interaktyvus]. 1998, [žiūrėta: 2018-02-15]. Prieiga per: [doi:10.1021/jf970687f](https://doi.org/10.1021/jf970687f)
86. DING, X. ir kt. Analysis of α -lactalbumin, β -lactoglobulin A and B in whey protein powder, colostrum, raw milk, and infant formula by CE and LC. *Dairy science & technology*, [interaktyvus]. 2011, [žiūrėta: 2018-02-15]. Prieiga per: [doi:10.1007/s13594-011-0006-](https://doi.org/10.1007/s13594-011-0006-)

87. BOBE, G. ir kt. Separation and quantification of bovine milk proteins by reversed-phase high-performance liquid chromatography. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, [interaktyvus]. 1998, [žiūrėta: 2018-02-15]. Prieiga per: [doi:10.1021/jf970499p](https://doi.org/10.1021/jf970499p)
88. *Whey Protein Components*, [interaktyvus]. Whey Protein Institute. 2018, [žiūrėta: 2018-02-15]. Prieiga per: <http://www.wheyproteininstitute.org/facts/howwheymade/wheyproteincomponents>
89. MADUREIRA, A. R. ir kt. Bovine whey proteins—overview on their main biological properties. *Food Research International*, [interaktyvus]. 2007, [žiūrėta: 2018-04-20]. Prieiga per: <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.873.1675&rep=rep1&type=pdf>
90. CAIRA, S. ir kt. Allergenicity of milk proteins. In: *Milk protein*. InTech, [interaktyvus]. 2012, [žiūrėta: 2018-04-16]. Prieiga per: [doi:10.5772/52086](https://doi.org/10.5772/52086)
91. KILARA, A. ir M. N. VAGHELA. *Whey proteins*. Proteins in food processing, [interaktyvus]. 2018, [žiūrėta: 2018-04-23]. Prieiga per: [doi:10.1016/B978-0-08-100722-8.00005-X](https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100722-8.00005-X)
92. MOHAMED, S., S. M. LAJIS ir N. A. HAMID. Effects of protein from different sources on the characteristics of sponge cakes, rice cakes (apam), doughnuts and frying batters. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, [interaktyvus]. 1995, [žiūrėta: 2018-04-23]. Prieiga per: [doi:10.1002/jsfa.2740680303](https://doi.org/10.1002/jsfa.2740680303)
93. LAVAL, Alfa; PAK, Tetra. *Dairy processing handbook*, [interaktyvus]. Tetra Pak Processing Systems, Lund, Sweden, 1995, [žiūrėta: 2017-02-22]. Prieiga per: <http://197.14.51.10:81/pmb/AGROALIMENTAIRE/Lait%20et%20derives/Dairy%20Processing%20Handbook.PDF>
94. CHEGINI, G. ir kt. Study of physical and chemical properties of spray drying whey powder. *International Journal of Recycling of Organic Waste in Agriculture*, [interaktyvus]. 2014, [žiūrėta: 2018-02-16]. Prieiga per: <https://link.springer.com/article/10.1007/s40093-014-0062-2>
95. NISHANTHI, M., J. CHANDRAPALA ir T. VASILJEVIC. Compositional and structural properties of whey proteins of sweet, acid and salty whey concentrates and their respective spray dried powders. *International Dairy Journal*, [interaktyvus]. 2017, [žiūrėta: 2018-02-16]. Prieiga per: [doi:10.1016/j.idairyj.2017.01.002](https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2017.01.002)

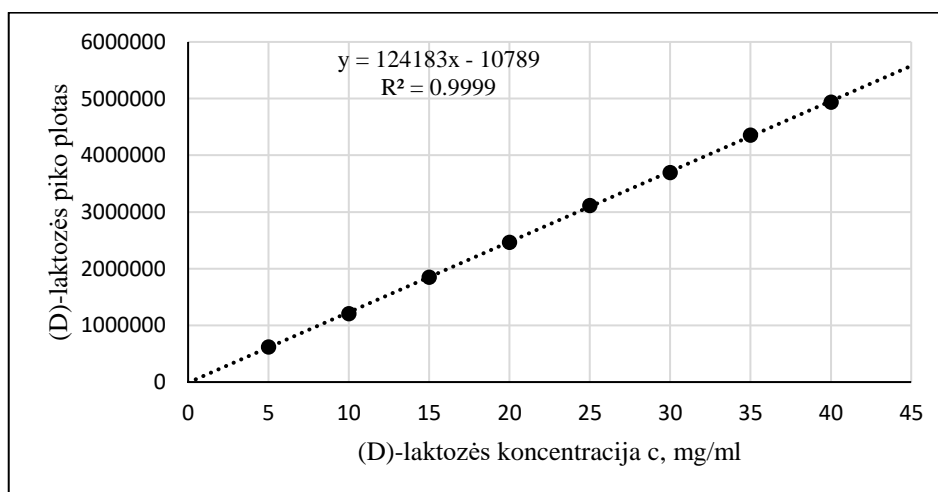
96. PELEGRINE, D. H. G. ir C. A. GASPARETTO. Whey proteins solubility as function of temperature and pH. *LWT-Food Science and Technology*, [interaktyvus]. 2005, [žiūrėta: 2018-02-16]. Prieiga per: [doi:10.1016/j.lwt.2004.03.013](https://doi.org/10.1016/j.lwt.2004.03.013)
97. NISHANTHI, M., J. CHANDRAPALA ir T. VASILJEVIC. Impact of storage conditions on solubility, heat stability and emulsifying properties of selected spray dried whey protein concentrates. *LWT*, [interaktyvus]. 2018, [žiūrėta: 2018-02-16]. Prieiga per: [doi:10.1016/j.lwt.2018.01.068](https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.01.068)
98. FACHIN, L. ir W. H. VIOTTO. Effect of pH and heat treatment of cheese whey on solubility and emulsifying properties of whey protein concentrate produced by ultrafiltration. *International Dairy Journal*, [interaktyvus]. 2005, [žiūrėta: 2018-02-16]. Prieiga per: www.academia.edu/24232891
99. YE, A. Functional properties of milk protein concentrates: Emulsifying properties, adsorption and stability of emulsions. *International Dairy Journal*, [interaktyvus]. 2011, [žiūrėta: 2018-02-16]. Prieiga per: [doi:10.1016/j.idairyj.2010.07.005](https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2010.07.005)
100. HUPPERTZ, T. Foaming properties of milk: A review of the influence of composition and processing. *International Journal of Dairy Technology*, [interaktyvus]. 2010, [žiūrėta: 2018-02-16]. Prieiga per: [doi:10.1111/j.1471-0307.2010.00629.x](https://doi.org/10.1111/j.1471-0307.2010.00629.x)
101. OSORIO, J. ir kt. Effects of spray drying conditions and the addition of surfactants on the foaming properties of a whey protein concentrate. *LWT-Food Science and Technology*, [interaktyvus]. 2014, [žiūrėta: 2018-02-16]. Prieiga per: [doi:10.1016/j.lwt.2014.02.016](https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.02.016)
102. SANMARTÍN, B. ir kt. Functional properties of caprine whey protein concentrates obtained from clarified cheese whey. *Small ruminant research*, [interaktyvus]. 2013, [žiūrėta: 2018-02-16]. Prieiga internete: [doi:10.1016/j.smallrumres.2012.11.029](https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2012.11.029)
103. HEINO, A. T. ir kt. Functional properties of native and cheese whey protein concentrate powders. *International journal of dairy technology*, , [interaktyvus]. 2007, [žiūrėta: 2018-02-16]. Prieiga per: [doi:10.1111/j.1471-0307.2007.00350.x](https://doi.org/10.1111/j.1471-0307.2007.00350.x)
104. OUTINEN, M, P. RANTAMÄKI ir A. HEINO. Effect of milk pretreatment on the whey composition and whey powder functionality. *Journal of food science*, [interaktyvus]. 2010, [žiūrėta: 2018-02-16]. Prieiga per: [doi:10.1111/j.1750-3841.2009.01382.x](https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2009.01382.x)
105. PALATNIK, D. R. ir kt. Recovery of caprine whey protein and its application in a food protein formulation. *LWT-Food Science and Technology*, [interaktyvus]. 2015, [žiūrėta: 2018-02-16]. Prieiga per: [doi:10.1016/j.lwt.2015.03.027](https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.03.027)

106. YAMAUCHI, K., M. SHIMIZU ir T. KAMIYA. Emulsifying properties of whey protein. *Journal of food science*, [interaktyvus]. 1980, [žiūrėta: 2018-02-16]. Prieiga per: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1980.tb06529.x>
107. MOHAMED, S., S. M. LAJIS ir N. A. HAMID. Effects of protein from different sources on the characteristics of sponge cakes, rice cakes (apam), doughnuts and frying batters. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, [interaktyvus]. 1995, [žiūrėta: 2018-04-23]. Prieiga per: [doi:10.1002/jsfa.2740680303](https://doi.org/10.1002/jsfa.2740680303)

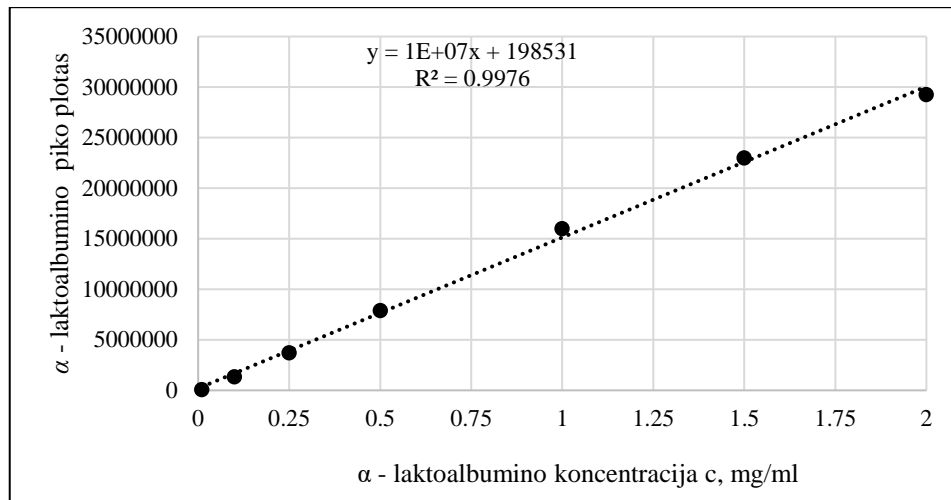
6. PRIEDAI



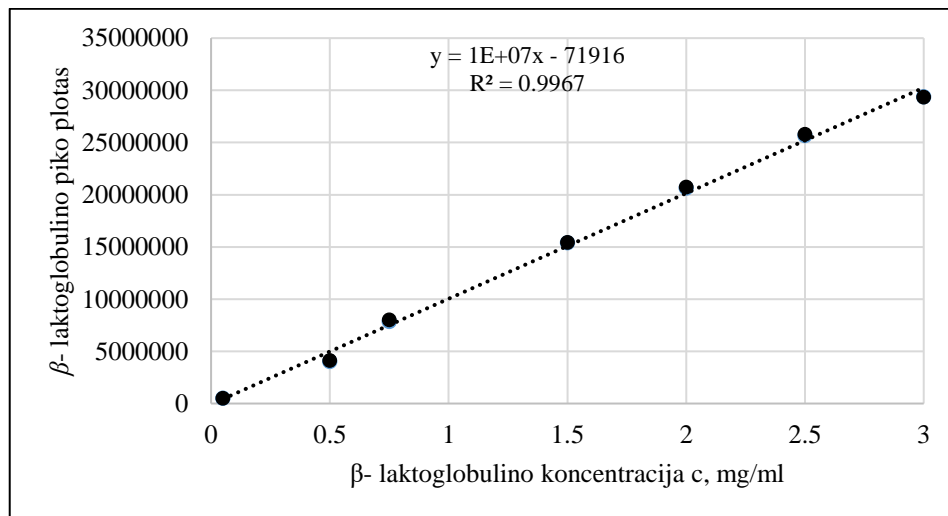
1 pav. L(+)-pieno rūgšties kalibracinė kreivė



2 pav. D-Laktozės kalibracinė kreivė



3 pav. α – laktoalbumino kalibracinė kreivė



4 pav. β – laktoglobulino kalibracinė kreivė