



Kauno technologijos universitetas

Cheminės technologijos fakultetas

Fermentais modifikuotų morkų išspaudų cheminė sudėtis, technologinės ir funkcinės savybės

Baigiamasis magistro projektas

Ugnė Gasiūnaitė

Projekto autorė

Doc. dr. Dalia Čižeikienė

Vadovė

Kaunas, 2026



Kauno technologijos universitetas

Cheminės technologijos fakultetas

Fermentais modifikuotų morkų išspaudų cheminė sudėtis, technologinės ir funkcinės savybės

Baigiamasis magistro projektas

Pramoninė biotechnologija (6211FX010)

Ugnė Gasiūnaitė

Projekto autorė

Doc. dr. Dalia Čižeikienė

Vadovė

Doc. dr. Renata Žvirdauskienė

Recenzentė

Kaunas, 2026



Kauno technologijos universitetas

Cheminės technologijos fakultetas

Ugnė Gasiūnaitė

Fermentais modifikuotų morkų išspaudų cheminė sudėtis, technologinės ir funkcinės savybės

Akademinio sąžiningumo deklaracija

Patvirtinu, kad:

1. baigiamąjį projektą parengiau savarankiškai ir sąžiningai, nepažeisdama(s) kitų asmenų autoriaus ar kitų teisių, laikydamasi(s) Lietuvos Respublikos autorių teisių ir gretutinių teisių įstatymo nuostatų, Kauno technologijos universiteto (toliau – Universitetas) intelektinės nuosavybės valdymo ir perdavimo nuostatų bei Universiteto akademinės etikos kodekse nustatytų etikos reikalavimų;
2. baigiamajame projekte visi pateikti duomenys ir tyrimų rezultatai yra teisingi ir gauti teisėtai, nei viena šio projekto dalis nėra plagijuota nuo jokių spausdintinių ar elektroninių šaltinių, visos baigiamojo projekto tekste pateiktos citatos ir nuorodos yra nurodytos literatūros sąrašė;
3. įstatymų nenumatytų piniginių sumų už baigiamąjį projektą ar jo dalis niekam nesu mokėjęs (-usi);
4. suprantu, kad išaiškėjus nesąžiningumo ar kitų asmenų teisių pažeidimo faktui, man bus taikomos akademinės nuobaudos pagal Universitete galiojančią tvarką ir būsiu pašalinta(s) iš Universiteto, o baigiamasis projektas gali būti pateiktas Akademinės etikos ir procedūrų kontrolieriaus tarnybai nagrinėjant galimą akademinės etikos pažeidimą.

Ugnė Gasiūnaitė

Patvirtinta elektroniniu būdu

Gasiūnaitė, Ugnė. Fermentais modifikuotų morkų išspaudų cheminė sudėtis, technologinės ir funkcinės savybės. Magistro baigiamasis projektas / vadovė doc. dr. Dalia Čižeikienė; Kauno technologijos universitetas, Cheminės technologijos fakultetas.

Studijų kryptis ir sritis (studijų krypčių grupė): Biotechnologijos, Technologijų mokslai.

Reikšminiai žodžiai: morkų išspaudos, fermentinė hidrolizė, skaidulinių medžiagų modifikavimas, prebiotinės savybės, funkcinės savybės, antrinio panaudojimo galimybės.

Kaunas, 2026. 68 p.

Santrauka

Didėjant maisto gamybos mastams, susidaro vis didesni augalinės kilmės šalutinių perdirbimo produktų kiekiai, kurie efektyviai nepanaudoti prisideda prie globalių ekonominių ir aplinkosaugos problemų. Vienas iš tokių šalutinių produktų – morkų išspaudos, liekančios sulčių gamybos metu. Nors šioje žaliavoje lieka reikšmingi kiekiai skaidulinių medžiagų, mikroelementų ir bioaktyvių junginių, vis dėlto jų praktinį pritaikymą riboja didelis netirpių skaidulų kiekis. Galimas šios problemos sprendimas – fermentų panaudojimas skaidulinių medžiagų sudėties modifikavimui, kuris laikomas aplinkai draugišku sprendimu, galinčiu pagerinti jų funkcionalumą bei platesnį pritaikomumą. Šiame projekte iškeltas tyrimo tikslas – įvertinti, kaip fermentinis morkų išspaudų miltelių apdorojimas paveikia skaidulinių medžiagų sudėtį, technologines ir funkcines savybes bei pritaikymo galimybes maisto papildų kūrime. Tyrimų metu naudoti skirtingi komerciniai fermentų preparatai: *Pectinex® Ultra Tropical*, *Celluclast® 1.5 L*, *Viscozyme® L* ir *Sternzym® Oilx*, kurių sudėtyje yra celiulazių, hemiceliulazių bei pektinazių fermentų. Šiais fermentais paveikus morkų išspaudų miltelius nustatytas tirpių ir netirpių skaidulų sumažėjimas bei šių frakcijų santykio pokyčiai. Didžiausias netirpių skaidulų kitimas buvo po hidrolizės su *Viscozyme* – jų kiekis sumažėjo apie 59 %, lyginant su pradine žaliava, ir tai reikšmingai sumažino tirpių–netirpių skaidulų santykį iki 1:1,2. Fermentų poveikis taip pat turėjo įtakos technologinių savybių pokyčiams: mėginiuose padidėjo vandens bei aliejaus sulaikymas, tirpumas, pakito spalvos charakteristikos, o brinkimo geba ir tūrinis tankis sumažėjo, palyginus su neapdorotu mėginiu. Be to, modifikuotais išspaudų milteliais stabilizuotos emulsijos pasižymėjo didesniu stabilumu, iš kurių efektyviausiai stabilizavo *Pectinex* fermentų mišiniu paveiktas mėginys – po 21 dienos išliko 56 ir 62 % stabilios emulsijos, atitinkamai, statinėmis ir terminėmis sąlygomis. Vertinant funkcines savybes, po fermentinės morkų išspaudų miltelių hidrolizės nustatytas padidėjęs laisvų fenolinių junginių kiekis bei ABTS radikalų sujungimas. Stipriausias prebiotines savybes *Lactiplantibacillus plantarum* bakterijoms turėjo *Sternzym* fermentais apdorotos išspaudos, kurių prebiotinis indeksas buvo beveik 8 kartais didesnis už inulino. Paminėtina, kad žaliavos hidrolizė *Pectinex* preparatu reikšmingai pagerino cholesterolio bei natrio cholato surišimą neutralioje terpėje: atitinkamai nuo 19,1 iki 42,7 bei nuo 53 iki 93,4 mg/g sausų medžiagų, lyginant su žaliava, o tai gali turėti teigiamos įtakos cholesterolio mažinimui žmogaus organizme. Galiausiai įvertintos neapdorotos žaliavos bei fermentais modifikuotų morkų išspaudų miltelių pritaikymo galimybės maisto papildų, pasižyminčių pre- ir probiotinėmis savybėmis, vystyme. Ištirta, kad mėginius, praturtinus *L. plantarum* probiotinėmis bakterijomis, didžiausias jų gyvybingumas 3 mėn. laikymo laikotarpiu išliko pradinėje žaliavoje ir siekė apie 8 log₁₀ KSV/g. Tai rodo, kad morkų išspaudos gali būti perspektyvi sistema probiotinių bakterijų gyvybingumui išlaikyti bei vartotojo mitybą papildyti maistinėmis skaidulomis, svarbiomis žarnyno mikrobiotos pusiausvyrai bei virškinimo funkcijoms.

Gasiūnaitė, Ugnė. Chemical Composition, Technological and Functional Properties of Enzyme-Modified Carrot Pomace. Master's Final Degree Project / supervisor Assoc. Prof. Dr. Dalia Čižeikienė; Faculty of Chemical Technology, Kaunas University of Technology.

Study field and area (study field group): Biotechnology, Technological Sciences.

Keywords: carrot pomace, enzymatic hydrolysis, modification of dietary fibers, prebiotic properties, functional properties, possibilities of valorization.

Kaunas, 2026. 68.

Summary

Increasing food production volumes lead to growing amounts of plant-based processing by-products which, if not efficiently utilized, contribute to global problems. One of such by-products is carrot pomace generated during juice production. However, this raw material still contains significant amounts of dietary fiber, microelements, and bioactive compounds. Nevertheless, its application is limited by the high content of insoluble dietary fiber. A potential solution is the use of enzymes for dietary fiber modification, which is considered an environmentally friendly approach capable of improving functionality and broadening application possibilities. Therefore, the aim of this study was to evaluate the effect of enzymatic treatment of carrot pomace powder on dietary fiber composition, technological and functional properties, as well as their potential application in the development of food supplements. Different commercial enzyme preparations were used in the study, including *Pectinex® Ultra Tropical*, *Celluclast® 1.5 L*, *Viscozyme® L*, and *Sternzym® Oilex*, containing cellulases, hemicellulases, and pectinases. Enzymatic treatment of carrot pomace powder resulted in changes in soluble and insoluble dietary fiber contents as well as in the ratio of these fractions. The greatest alteration in insoluble dietary fiber was observed after hydrolysis with *Viscozyme* – its content decreased by approximately 59 % compared to the untreated material, reducing the soluble-to-insoluble fiber ratio to 1:1.2. Enzymatic modification also affected technological properties: water- and oil-holding capacities and solubility increased, color characteristics changed, while swelling capacity decreased compared to the untreated sample. In addition, emulsions stabilized with modified carrot pomace powders demonstrated improved stability. The most effective stabilization was achieved using the sample treated with *Pectinex* enzyme preparation, where 56 % and 62 % of stable emulsion remained after 21 days under static and thermal conditions, respectively. Further evaluation of functional properties revealed that enzymatic hydrolysis increased the content of soluble phenolic compounds and ABTS radical scavenging activity. The strongest prebiotic effect for *Lactiplantibacillus plantarum* was exhibited by carrot pomace treated with *Sternzym* enzymes, whose prebiotic index was almost 8 times higher than that of inulin. It is noteworthy that hydrolysis with the *Pectinex* preparation significantly improved cholesterol and sodium cholate binding capacities under neutral pH: from 19.1 to 42.7 and from 53 to 93.4 mg/g of dry matter, respectively, compared to the raw material. Finally, the potential application of untreated and enzymatically modified carrot pomace powders in the development of synbiotic food supplements possessing prebiotic and probiotic properties was evaluated. After enrichment with *L. plantarum*, the highest bacterial viability during 3 months of storage was maintained in the untreated sample and reached approximately 8 log₁₀ CFU/g. These results indicate that carrot pomace may serve as a promising matrix for maintaining probiotic bacterial viability while also supplementing the human diet with dietary fiber, that is important for gut health.

Turinys

Lentelių sąrašas	8
Paveikslų sąrašas	9
Santrumpų ir terminų sąrašas	10
Įvadas.....	12
1. Literatūros apžvalga	13
1.1. Šalutiniai daržovių perdirbimo produktai.....	13
1.1.1. Susidarančių šalutinių daržovių perdirbimo produktų charakteristikos	13
1.1.2. Morkos ir morkų perdirbimo šalutiniai produktai	14
1.1.3. Morkų išspaudų antrinio panaudojimo galimybės	16
1.2. Maistinės skaidulos ir jų savybės	18
1.2.1. Skaidulinės medžiagos ir jų funkcijos augalų ląstelėse.....	18
1.2.2. Skaidulinių medžiagų klasifikavimas.....	19
1.2.3. Maistinių skaidulų nauda sveikatai	19
1.3. Maistinių skaidulinių medžiagų modifikavimas	21
1.3.1. Skirtingi skaidulinių medžiagų modifikavimo būdai	21
1.3.2. Fermentinis skaidulų modifikavimas	22
1.4. Fermentinės hidrolizės poveikis šalutinių produktų savybėms	23
1.4.1. Cheminės struktūros pokyčiai	23
1.4.2. Poveikis technologiniams parametrams	23
1.4.3. Poveikis skaidulinių medžiagų biologinėms savybėms	24
1.5. Literatūros apžvalgos apibendrinimas	25
2. Medžiagos ir tyrimų metodai	26
2.1. Tyrimo objektas.....	26
2.2. Morkų išspaudų žaliavos paruošimas	26
2.3. Cheminės sudėties tyrimai.....	26
2.3.1. Baltymų kiekio nustatymas	26
2.3.2. Drėgmės kiekio nustatymas.....	27
2.3.3. Riebalų kiekio nustatymas.....	27
2.3.4. Mineralinių medžiagų nustatymas.....	27
2.3.5. Skaidulinių medžiagų sudėties ir kiekio nustatymas.....	28
2.3.6. Angliavandenių kiekio skaičiavimas	28
2.3.7. Gliukozės, sacharozės ir fruktozės analizė	28
2.3.8. Redukuojančių sacharidų kiekybinė analizė	29
2.4. Morkų išspaudų miltelių fermentinė hidrolizė	29
2.5. Technologinių savybių tyrimai	30
2.5.1. Brinkimo gebos, vandens sulaikymo gebos ir tirpumo indekso nustatymas.....	30
2.5.2. Aliejaus sulaikymo gebos nustatymas.....	31
2.5.3. Tūrinio tankio įvertinimas	31
2.5.4. Emulsijų stabilumo statinėmis ir terminėmis sąlygomis įvertinimas	31
2.5.5. Spalvos charakterizavimas	32
2.6. Funkcinių savybių tyrimai	32
2.6.1. Bendro fenolinių junginių kiekio nustatymas vandeniniuose ekstraktuose	32
2.6.2. Antioksidacinio aktyvumo įvertinimas DPPH radikalų surišimo metodu	33
2.6.3. Antioksidacinio aktyvumo nustatymas ABTS radikalų sujungimo metodu	33

2.6.4. Prebiotinių savybių įvertinimas	34
2.6.5. Cholesterolio surišimo gebos nustatymas	36
2.6.6. Tulžies druskų surišimo gebos įvertinimas	37
2.6.7. Gliukozės, sacharozės bei fruktozės absorbcijos gebos nustatymas	38
2.7. Maisto papildo su morkų išspaudų milteliais gamyba bei probiotinių bakterijų gyvybingumo įvertinimas	38
2.7.1. Probiotinių bakterijų inokulianto paruošimas	38
2.7.2. Morkų išspaudų miltelių paruošimas bei maisto papildų gamybos procesas.....	39
2.7.3. Probiotinių bakterijų gyvybingumo įvertinimas.....	39
2.8. Duomenų statistinė analizė	40
3. Tyrimų rezultatai ir jų aptarimas.....	41
3.1. Morkų išspaudų miltelių cheminė sudėtis	41
3.2. Fermentinio modifikavimo įtaka skaidulinių medžiagų sudėties ir cukrų pokyčiams	42
3.3. Morkų išspaudų miltelių technologinės savybės ir jų pokyčiai po fermentinio apdorojimo ...	44
3.3.1. Išspaudų fizikinės-technologinės savybės	44
3.3.2. Spalvos ir bendro spalvos skirtumo charakteristikos	46
3.3.3. Morkų išspaudų miltelių emulsijų stabilizavimas statinėmis ir terminėmis sąlygomis	46
3.4. Fermentais modifikuotų morkų išspaudų miltelių funkcinės savybės	48
3.4.1. Bendro fenolinių junginių kiekio ir antioksidacinių savybių vertinimas	48
3.4.2. Prebiotinės savybės	49
3.4.3. Hipolipidinių savybių įvertinimas	50
3.4.4. Hipoglikeminių savybių įvertinimas	51
3.5. Morkų išspaudų pritaikymo galimybės kuriant maisto papildą	54
4. Rekomendacijų dalis	57
Išvados	59
Literatūros sąrašas	60
Publikacijų sąrašas	69

Lentelių sąrašas

1.1 lentelė. Maistiniai ir biologiškai aktyvūs junginiai šalutiniuose daržovių perdirbimo produktuose	14
1.2 lentelė. Morkų ir morkų išspaudų cheminės sudėties sausomis medžiagomis palyginimas.....	15
1.3 lentelė. Skaidulinių medžiagų sudėties modifikavimo metodų veikimo apibūdinimas bei privalumų–trūkumų palyginimas.....	21
2.1 lentelė. MIM biologiniam modifikavimui naudoti komerciniai fermentų preparatai ir jų sudėtis	30
2.2 lentelė. Iš atskirų komponentų paruoštų mitybinių terpių sudėtys.....	35
3.1 lentelė. MIM cheminė kompozicija sausomis medžiagomis	41
3.2 lentelė. Skaidulinių medžiagų sudėties, kiekio bei jų tirpios–netirpios frakcijų santykių palyginimas tirtuose mėginiuose (čia Pr – pradinė žaliava, K – fermentinės hidrolizės kontrolė, P, S, V ir C – atitinkamai <i>Pectinex</i> , <i>Sternzym</i> , <i>Viscozyme</i> ir <i>Celluclast</i> fermentais paveiktos išspaudos)	42
3.3 lentelė. Gliukozės, sacharozės bei fruktozės kiekių palyginimas skirtinguose MIM mėginiuose: Pr – pradinė žaliava, K – fermentinės hidrolizės kontrolė, P, S, V ir C – <i>Pectinex</i> , <i>Sternzym</i> , <i>Viscozyme</i> ir <i>Celluclast</i> fermentais modifikuota žaliava.....	44
3.4 lentelė. MIM technologinės savybės (Pr – pradinė žaliava, K – hidrolizės kontrolė, P, S, V ir C – atitinkamai <i>Pectinex</i> , <i>Sternzym</i> , <i>Viscozyme</i> ir <i>Celluclast</i> fermentais paveikti mėginiai).	45
3.5 lentelė. Spalvos charakteristikų ir spalvos skirtumo rezultatai, čia Pr – pradinė žaliava, K – hidrolizės kontrolė, P, S, V ir C – atitinkamai <i>Pectinex</i> , <i>Sternzym</i> , <i>Viscozyme</i> ir <i>Celluclast</i> fermentais paveikti MIM.....	46
3.6 lentelė. Bendras laisvų fenolinių junginių ir antioksidacinių savybių palyginimas pradiniam ir fermentais modifikuotame mėginiuose (Pr – pradinė žaliava, K – hidrolizės kontrolė, P, S, V ir C – atitinkamai <i>Pectinex</i> , <i>Sternzym</i> , <i>Viscozyme</i> ir <i>Celluclast</i> fermentais paveikti MIM).....	48
3.7 lentelė. Skirtingų MIM mėginių cholesterolio ir natrio cholato sujungimo gebos (Pr – pradinė žaliava, K – hidrolizės kontrolė, P, S, V ir C – atitinkamai <i>Pectinex</i> , <i>Sternzym</i> , <i>Viscozyme</i> ir <i>Celluclast</i> fermentais apdoroti mėginiai).....	50
4.1 lentelė. Technologinėje schemoje naudotų įrenginių ir srautų ženklavimo reikšmės	58

Paveikslų sąrašas

1.1 pav. Augalų ląstelių sienelės, kur A – pirminės sienelės ir B – antrinės sienelės struktūros schema [37]	19
1.2 pav. Išdžiovintų ananasų atliekų miltelių (A) ir iš jų ultragarsu (B) bei tradicine ekstrakcija (C) išgautų skaidulinių medžiagų, taip pat fermentais modifikuotų (D) skaidulų mikrostruktūrų vaizdai, gauti naudojant skenuojantį elektroninį mikroskopą [54]	24
2.1 pav. D-gliukozės kalibracinė tiesė redukuojančių cukrų kiekiui nustatyti	29
2.2 pav. Galo rūgšties kalibracinė tiesė bendram fenolinių junginių kiekiui įvertinti	32
2.3 pav. Galo rūgšties kalibracinė tiesė DPPH radikalų surišimo gebai apskaičiuoti	33
2.4 pav. Galo rūgšties tiesė ABTS radikalų surišimo gebai nustatyti	34
2.5 pav. Kalibracinė tiesė cholesterolio kiekio nustatymui	36
2.6 pav. Kiekybinei analizei parengta natrio cholato tiesė	37
3.1 pav. Redukuojančių cukrų kiekiai skirtinguose MIM mėginiuose, kur Pr – pradinė žaliava, K – fermentinės hidrolizės kontrolė, P, S, V ir C – Pectinex, Sternzym, Viscozyme ir Celluclast fermentais modifikuota žaliava (a–e raidės nurodo reikšmingus skirtumus tarp mėginių, kai $p < 0,05$)	43
3.2 pav. Emulsijų stabilumas statinėmis sąlygomis (A) ir po jų terminio apdoravimo (B), kur Pr – pradinė žaliava, K – hidrolizės kontrolė, P, S, V ir C – atitinkamai <i>Pectinex</i> , <i>Sternzym</i> , <i>Viscozyme</i> ir <i>Celluclast</i> fermentais paveikti MIM	47
3.3 pav. Prebiotinis indeksas skirtinguose MIM mėginiuose (I – inulinas, K – hidrolizės kontrolė, P, S, V ir C – atitinkamai <i>Pectinex</i> , <i>Sternzym</i> , <i>Viscozyme</i> ir <i>Celluclast</i> fermentais paveiktos išpaudos). a–e raidės rodo reikšmingus skirtumus ($p < 0,05$), vertinant rezultatus pagal tos pačios rūšies bakterijų augimą	49
3.4 pav. GA eksperimento rezultatai: Pr – pradinė žaliava, K – hidrolizės kontrolė, P, S, V ir C – atitinkamai <i>Pectinex</i> , <i>Sternzym</i> , <i>Viscozyme</i> ir <i>Celluclast</i> fermentais apdoroti MIM. Skirtingos raidės žymi statistiškai reikšmingus ($p < 0,05$) skirtumus: didžiosios – tarp skirtingų mėginių, esant vienodai pradinei gliukozės tirpalo koncentracijai, mažosios – tarp to paties mėginio skirtingų gliukozės tirpalo koncentracijų	52
3.5 pav. SA rezultatai skirtinguose mėginiuose: Pr – pradinė žaliava, K – hidrolizės kontrolė, P, S, V ir C – atitinkamai <i>Pectinex</i> , <i>Sternzym</i> , <i>Viscozyme</i> ir <i>Celluclast</i> fermentais apdoroti MIM. Skirtingos raidės žymi statistiškai reikšmingus ($p < 0,05$) skirtumus: didžiosios – tarp skirtingų mėginių esant vienodoms pradinėms gliukozės tirpalo koncentracijoms, mažosios – tarp to paties mėginio skirtingų gliukozės tirpalo koncentracijų	53
3.6 pav. FA gebos mėginiuose: Pr – pradinė žaliava, K – hidrolizės kontrolė, P, S, V ir C – atitinkamai <i>Pectinex</i> , <i>Sternzym</i> , <i>Viscozyme</i> ir <i>Celluclast</i> fermentais apdoroti MIM. Skirtingos raidės žymi statistiškai reikšmingus ($p < 0,05$) skirtumus: didžiosios – tarp skirtingų mėginių esant vienodoms pradinėms gliukozės tirpalo koncentracijoms, mažosios – tarp to paties mėginio skirtingų gliukozės tirpalo koncentracijų	53
3.7 pav. <i>L. plantarum</i> gyvybingumas šaltyje džiovintuose MIM mėginiuose laikymo metu: LK – kontrolės ir bakterijų mėginys, LS – <i>Sternzym</i> fermentais modifikuoti MIM su bakterijomis, LK+LB – kontrolės mėginys, sumaišytas su atskirai liofilizuotomis bakterijomis. Skirtingos raidės žymi statistiškai reikšmingus ($p < 0,05$) skirtumus: didžiosios – tarp skirtingų mėginių tuo pačiu laiku, mažosios – tarp to paties mėginio skirtingu laiku	55
4.1 pav. Principinė maisto papildų miltelių iš morkų išpaudų, praturtintų probiotinėmis bakterijomis, gamybos aparatūrinė schema	58

Santrumpų ir terminų sąrašas

Santrumpos:

ABTS – 2,2'-azino-bis(3- etilbenzotiazolino-6-sulfonines rūgštis) diamoniako druskos radikalai;

ASG – aliejaus sulaikymo geba;

BG – brinkimo geba;

BSM – bendras skaidulinių medžiagų kiekis;

C – *Celluclast*® 1.5 L preparatu modifikuotos morkų išspaudos;

CSG – cholesterolio surišimo geba;

DPPH – 2,2-difenilpikrildidrazido laisvieji radikalai;

FA – fruktozės adsorbcija;

GA – gliukozės adsorbcija;

GE – gliukozės ekvivalentas

GRE – galo rūgštis ekvivalentas;

K – fermentinės hidrolizės kontrolės mėginys;

KSV – kolonijas sudarantys vienetai;

MIM – morkų išspaudų milteliai;

NaChSG – natrio cholato sujungimo geba;

NSM – netirpios skaidulinės medžiagos;

P – *Pectinex*® *Ultra Tropical* preparatu modifikuotos morkų išspaudos;

PI – pebiotinis indeksas;

Pr – pradinė žaliava;

PRB – pieno rūgštis bakterijos;

S – *Sternzym*® *Oilex* preparatu modifikuotos morkų išspaudos;

SA – sacharozės adsorbcija;

SM – sausomis medžiagomis;

TGRR – trumpos grandinės riebalų rūgštys;

TI – tirpumo indeksas;

TSM – tirpios skaidulinės medžiagos;

TT – tūrinis tankis;

V – *Viscozyme*® L preparatu modifikuotos morkų išspaudos;

VSG – vandens sulaikymo geba.

Įvadas

Didėjant maisto pramonės gamybos apimtims, kartu auga šalutinių vaisių ir daržovių produktų kiekiai, kurie, racionaliai nepanaudoti, prisideda prie globalių ekonominių bei aplinkosaugos problemų. Vienas iš reikšmingų šalutinių daržovių perdirbimo produktų yra morkų išspaudos, susidarančios sulčių gamybos metu, panaudojamos bioetanolio, gyvulių pašarų bei trąšų gamyboje arba išmetamos kaip atliekos [1]. Nepaisant to, šių išspaudų sudėtyje lieka biologiškai aktyvūs junginiai, mineralai ir skaidulinės medžiagos, svarbios ne tik maistine verte, bet ir pasižyminčios nauda žmogaus sveikatai: padeda reguliuoti virškinimo procesus, cholesterolio bei gliukozės koncentracijas kraujyje ir palaikyti žarnyno mikrobiotos pusiausvyrą [1, 2]. Tad maisto apdirbimo šalutinių produktų valorizacija – itin svarbi ir perspektyvi sritis siekiant išnaudoti turimus išteklius ir kurti pridėtinės vertės produktus bei alternatyvius maistinių medžiagų šaltinius [3]. Vis dėlto, šalutiniai produktai pasižymi technologiniu apribojimu – didelis netirpių skaidulinių medžiagų kiekis apsunkina jų integravimą į maisto sistemas dėl mažo tirpumo, ribotos sąveikos su kitais maisto komponentais bei nepageidaujamų tekstūros pokyčių [1, 3]. Ši problema sprendžiama taikant fizinius, cheminius ir biologinius šalutinių produktų sudėties modifikavimo metodus bei jų derinius [4]. Plačiai taikomas fermentinis modifikavimas yra selektyvus ir aplinkai draugiškas biologinis apdorojimo metodas, leidžiantis kontroliuoti polisacharidų struktūrinius pokyčius, padidinti tirpių skaidulų frakciją ir taip pakoreguoti šalutinių produktų technologinius parametrus bei pagerinti funkcines savybes [4]. O šių savybių pokyčiai gali turėti reikšmingos įtakos augalinės žaliavos funkcionalumo ir potencialo didinimui, siekiant kurti didelės pridėtinės vertės produktus.

Tyrimo tikslas – įvertinti fermentinio modifikavimo poveikį morkų išspaudų miltelių (MIM) skaidulinių medžiagų sudėčiai, technologinėms ir funkcinėms savybėms, siekiant didinti jų funkcionalumą ir pritaikymo galimybes kuriant maisto papildus.

Tyrimo tikslui pasiekti išsikelti šie uždaviniai:

1. paruošti morkų išspaudų, likusių po sulčių gamybos, žaliavą ir ištirti jos cheminę sudėtį;
2. atlikti morkų išspaudų miltelių fermentinį modifikavimą pasirinktais komerciniais fermentų preparatais;
3. įvertinti fermentinio modifikavimo įtaką skaidulinių medžiagų sudėties pokyčiams;
4. nustatyti ir palyginti pradinės bei fermentais apdorotos žaliavos technologines ir funkcines savybes;
5. pasirinkti didžiausiu funkcinio potencialu pasižyminčius morkų išspaudų mėginius ir įvertinti jų pritaikymo galimybes maisto papildų kūrime.

1. Literatūros apžvalga

Šioje magistro baigiamojo darbo dalyje pateikiama mokslinės literatūros analizė, apžvelgiant morkų išspaudų charakteristikas, cheminę sudėtį bei galimus jų antrinio pritaikymo būdus. Literatūros apžvalgoje taip pat nagrinėjama skaidulinių medžiagų reikšmė ir nauda žmogaus organizmui. Be to, aptariama maistinių skaidulų modifikavimo svarba ir fermentinio apdorojimo poveikis augalų šalutinių produktų cheminėms, technologinėms ir funkcinėms savybėms.

1.1. Šalutiniai daržovių perdirbimo produktai

Daržovės yra neatsiejama žmonių mitybos raciono dalis, padedanti aprūpinti organizmą vitaminais, mineralais, tirpiomis ir netirpiomis skaidulomis bei fitocheminės medžiagomis [5]. Lyginant su grūdinėmis kultūromis, daržovės pasižymi trumpesniu vegetacijos laikotarpiu ir nuo 4 iki 10 kartų didesniu derlingumu, taip sudarydamos svarbią maisto aprūpinimo grandies dalį [5]. Vis dėlto, vaisių ir daržovių perdirbimo pramonė yra viena iš pagrindinių šalutinių maisto produktų šaltinių, prisidedančių prie augančios pasaulinės maisto švaistymo problemos [3, 5]. Statistiškai daržovės ir jų apdirbimo metu susidarantys šalutiniai produktai apima apie 24 % pasaulio maisto atliekų, kurios lemia apie 21 % su maisto sistema susijusių šiltnamio efektą sukeliančių dujų išmetimu [3, 5]. Šie šalutiniai maisto produktai žemės ūkio sektoriuje susidaro skirtingų etapų metu: apie 54 % augalinių atliekų formuojasi po derliaus nuėmimo ir produktų sandėliavimo, o likę 46 % – po perdirbimo, skirstymo ir vartojimo metu [3]. Nuostoliai taip pat gali būti skirstomi į 2 kategorijas: netyčiniai, apimantys netinkamas ūkininkavimo technologijas bei transportavimo sąlygas, ir sąmoningi, susidarantys dėl skirtingų žmonių mitybos įpročių [3].

1.1.1. Susidarantį šalutinių daržovių perdirbimo produktų charakteristikos

Maisto gamyboje panaudojamos skirtingos daržovių dalys – lapai, šakniavaisiai, vaisiai, stiebagumbiai, svogūnėliai, stiebai, žiedynai bei sėklos. Dėl šio didelio daržovių dalių įvairumo bei jų kontrastingos cheminės sudėties, apdorojant daržoves gaunamų šalutinių produktų pobūdis taip pat skiriasi [6]. Dažniausi daržovių perdirbimo produktai yra lupenos, sėklos, koteliai, lapai, šaknys, žievelės ir lukštai, išspaudos po sulčių gamybos ir t. t. [6]. Taip pat tam tikros daržovių dalys yra sąmoningai išmetamos dėl žmonių įpročių, nepalankaus skonio, tekstūros ar išvaizdos [3]. Tačiau, siekiant pritaikyti bioekonomikos principus ir atsižvelgti į tvarios gamybos tikslus, šie produktai gali būti panaudojami kaip antrinės žaliavos, efektyviau išnaudojant išteklius ir siekiant sukurti didesnę pridėtinę vertę turinčius produktus. Be to, susidarantys šalutiniai produktai maistine verte nenusileidžia maistui suvartojamoms daržovių dalims [3, 5, 6]. Atlikti tyrimai patvirtina, kad ši potenciali žaliava yra nebrangus junginių, kaip polifenoliai, vitaminai, baltymai, pigmentai, skaidulinės medžiagos, šaltinis [7]. Keletas šalutinių daržovių apdirbimo produktų bei juose randamų junginių pavyzdžių yra pateikiama 1.1 lentelėje.

1.1 lentelė. Maistiniai ir biologiškai aktyvūs junginiai šalutiniuose daržovių perdirbimo produktuose

Šalutiniai daržovių produktai	Baltymai, g/100 g SM	Skaidulos, g/100 g SM	Mineralai, g/100 g SM	Fenoliniai junginiai, mg GRE/100 g SM	Karotinoidai, µg/g SM	Šaltiniai
Pastarnoko žievelė	8	38	8	117	6	[7]
Agurko žievelė	21	58	10	168	7	[7]
Brokolio lapai	12	iki 32	15	4	1095	[8, 9]
Pomidorų išspaudos	33	29	4	110	3000	[10]

Augaluose biologiškai aktyvios medžiagos sintetamos kaip antriniai metabolitai apsaugoti nuo nepalankių aplinkos veiksnių, pavyzdžiui, žalingo ultravioletinių spindulių poveikio, patogenų, bei palaikyti optimalią ląstelių sveikatą [11]. Be to, šios medžiagos suteikia neprinokusiems vaisiams ir daržovėms nemalonų skonį bei kartumą, siekiant apsaugoti dar nesubrendusius vaisius ir juose esančias sėklas nuo ankstyvo vartojimo [11]. Dėl šios priežasties bioaktyviems junginiams būdingas antioksidacinis, antimikrobinis, priešuždegiminis, priešvėžinis ir pan. poveikis, siejamas su potencialiai teigiamu poveikiu žmogaus sveikatai [7, 11]. Be to, didesnė paminėtų biologiškai aktyvių junginių koncentracija nustatoma šalutiniuose produktuose nei valgomose daržovių dalyse [7]. Pagal naudą žmogaus organizmui, bioaktyvūs junginiai gali būti skirstomi į nepakeičiamuosius (angl. *essential*) ir pakeičiamuosius (angl. *non-essential*) [11]. Nepakeičiamieji yra mikroelementai (mineralai ir vitaminai), reikalingi medžiagų apykaitos procesuose, kaulų vystymuisi, imunitetui ir nervų sistemai [11, 12]. Tuo tarpu pakeičiamieji, tokie kaip fenoliniai junginiai ar karotinoidai, dar vadinami fitocheminėmis medžiagomis, veikia kartu su kitomis maistinėmis medžiagomis ir prisideda prie optimalios ląstelių sveikatos palaikymo [11, 12]. Kita vertus, biologiškai aktyvių junginių kiekiai tos pačios rūšies daržovėse gali skirtis, priklausomai nuo dirvožemio sudėties, abiotinių ir biotinių veiksnių įtakos, nokinimo bei apdorojimo po derliaus nuėmimo [7].

Taip pat svarbu pažymėti, kad susidarantys šalutiniai maisto produktai pasižymi dideliu drėgmės kiekiu, sudarančiu palankias sąlygas mikroorganizmų augimui [11]. Be to, šiems produktams būdingas didelis fermentinis aktyvumas, pagreitinantis jų gedimą [11]. Dėl paminėtų priežasčių susidaro papildomų išlaidų, reikalingų šalutinių produktų džiovinimui, sandėliavimui, transportavimui bei jų modifikavimui, siekiant maisto atliekas konvertuoti į pridėtinės vertės produktus [11]. Tačiau didėjant žmonių populiacijai ir maisto gamybos poreikiui bei stiprėjant aplinkosaugos ir politiniam spaudimui mažinti maisto atliekų kiekius, paminėti apribojimai tampa vis mažiau reikšmingi ir skatina ieškoti efektyvių sprendimų, leidžiančių didinti šalutinių produktų pridėtinę vertę ir ekonominį patrauklumą [3, 11].

1.1.2. Morkos ir morkų perdirbimo šalutiniai produktai

Valgomoji morka (*Daucus carota L.*) yra viena populiariausių šakninių daržovių, auginamų visame pasaulyje, ir viena iš nedaugelio daržovių, kurias galima vartoti be jokio apdorojimo [1, 13]. Šis augalas priklauso salierinių (*Apiaceae*) šeimai ir yra dvimetis: pirmaisiais augimo metais maistinės medžiagos kaupiamos šaknyje, o antraisiais jos naudojamos žydėjimo ir sėklų brandinimo procesams [13]. Tropinio ir subtropinio klimato zonose morkos auginamos rugsėjo–lapkričio mėnesiais, o vidutinio klimato sąlygomis šį šakniavaisį galima auginti ištisus metus, kadangi žemesnė temperatūra

reikalinga sėklų subrendimui [1]. Ši daržovė pasižymi įvairia genotipine ir fenotipine variacijomis, kurios apibūdina cheminę sudėtį, šaknų ilgį bei formą, spalvą ar atsparumą ligoms [1, 14]. Dėl šios įvairovės skirtingų veislių morkos gali pasižymėti nevienodu skaidulinių medžiagų, cukrų bei pigmentų kiekiu, tad cheminė sudėtis varijuoja [15]. Mokslinėje literatūroje pateikiama šios daržovės cheminė kompozicija aprašoma 1.2 lentelėje. Pagrindinis morkų maistinis komponentas – angliavandeniai, kuriuos sudaro paprastieji cukrūs, kaip fruktozė, gliukozė ir sacharozė, ir nedidelis kiekis krakmolo [13]. Skaidulines medžiagas daugiausiai sudaro celiuliozė ir mažesni kiekiai hemiceliuliozės bei lignino [13]. Be to, morkose randama įvairių mineralinių medžiagų, tokių kaip kalis, kalcis, fosforas ir natrias, taip pat nedideliais kiekiais aptinkama geležies, magnio ir cinko [1, 15]. Svarbu pažymėti, kad morkos yra vitaminų C, E, A bei B grupės šaltinis [15]. Paminėti vitaminai prisideda prie imuninės sistemos stiprinimo, genų raiškos reguliavimo bei mažina regos susilpnėjimo prieblandoje ir tamsoje (vištakumo) simptomus [13, 15]. Mineralų ir vitaminų kiekiai morkose yra vieni iš svarbiausių parametru, nustatant šios daržovės kokybinius rodiklius [13]. Be to, morkos būna skirtingų atspalvių, kuriuos lemia skirtingų pigmentų buvimas: oranžinėse morkose dominuoja karotinoidai, tuo tarpu raudoną spalvą lemia likopenas, geltoną – liuteinas, o tamsius violetinius atspalvius – antocianinai [1, 14]. Verta paminėti, kad baltos spalvos morkose nustatomi maži kiekiai liuteino ir β -karoteno [1, 14]. Įprastose oranžinėse morkose karotinoidų kiekis gali siekti iki 38 mg/100 g ir daugiau, priklausomai nuo veislės, o apie 80 % jų sudaro β -karotenas [13]. Šis provitaminas pasižymi stipriomis antioksidacinėmis savybėmis ir pagal poreikį žmogaus organizme yra paverčiamas į vitaminą A, kuris yra svarbus regėjimui ir akių sveikatai palaikyti [1, 13]. Dėl aptartų privalumų ir didelės morkose esančių junginių įvairovės, tai lemia išskirtinę šio šakniavaisio svarbą maisto pramonėje ir nuolat augančią jų paklausą pasaulyje.

Be šviežių morkų vartojimo, dalis jų yra apdirbamos ir naudojamos kaip ingredientas maisto produktuose, pavyzdžiui, sriubose, salotose ar pyraguose. Apdorojimo procesų metu susidaro morkų lupenos, sudarančios iki 14 % pradinės šakniavaisio masės [16]. Taip pat yra gaminamos sultys, koncentratai bei sirupai, kurių gamybos metu generuojamos morkų išspaudų atliekos, sudarančios net iki 50 % pradinės daržovės masės [16]. Tik nedidelė paminėtų atliekų dalis panaudojama gyvulių pašarams, bioetanoliui ar trąšoms gaminti [16]. Tad šalutiniuose morkų apdirbimo produktuose lieka reikšmingi kiekiai biologiškai aktyvių junginių, skaidulinių medžiagų, vitaminų bei mineralų. Palyginimui 1.2 lentelėje yra pateikiama ir morkų išspaudų cheminė sudėtis, perskaičiuota sausoms medžiagoms (SM).

1.2 lentelė. Morkų ir morkų išspaudų cheminės sudėties sausomis medžiagomis palyginimas

Cheminė sudėtis	Angliavandeniai, g/100 g SM	Baltymai, g/100 g SM	Riebalai, g/100 g SM	Mineralai, g/100 g SM	Skaidulos, g/100 g SM	Šaltiniai
Morkos	53,5–75,7	6,2–6,4	1,4–4,0	3,1–7,8	8,5–21,4	[15]
Morkų išspaudos	49,5–62,6	7,2–9,7	0,7 – 1,2	5,9–6,3	21,3–48,0	[16, 17]

Lentelėje pateikti duomenys patvirtina, kad išspaudose, lyginant su šviežiomis morkomis, nustatoma didesnė baltymų, mineralų ir skaidulinių medžiagų koncentracija. Paminėtina, kad dalis tirpių angliavandenių sulčių spaudimo metu yra pašalinama kartu su sultimis. Tad morkų išspaudos – nebrangi ir susidaranti dideliais kiekiais žaliava, reikšminga aukščiau aptartais cheminiais junginiais, kuri iki šiol nėra plačiai komerciškai pritaikoma [18].

Po sulčių gamybos didžiąją dalį morkų išspaudų sudaro skaidulinės medžiagos: 51,6 % celiuliozės, 32,1 % lignino, 12,3 % hemiceliuliozės ir 3,88 % pektino [17]. Dauguma jų – netirpios skaidulinės medžiagos (NSM). NSM žmogaus organizme padeda palaikyti virškinamojo trakto judesius ir mažinti vidurių užkietėjimo simptomus [19]. O tirpios skaidulinės medžiagos (TSM) vandenyje sudaro klampią, į gelį panašią masę, kuri suteikia sotumo jausmo, ir pasižymi prebiotinėmis savybėmis [19]. Nors TSM ir NSM frakcijos veikia sinergetiškai, optimizuodamos virškinimo ir medžiagų apykaitos procesus, ir yra reikalingos subalansuotoje mityboje, tačiau papildant jomis maisto produktus kyla iššūkių dėl didelio NSM kiekio [4, 19]. Didelis jų kiekis gali neigiamai paveikti maisto produktų tekstūrą, spalvą bei skonį, priklausomai nuo NSM frakcijos sudėties ir savybių [19]. Be to, morkų išspaudų skaidulinių medžiagų sudėtis priklauso ir nuo sulčių spaudimo technikos. Pavyzdžiui, naudojant tradicines sulčiaspaudes, kuriose veikia tik mechaninės jėgos, kaip smulkinimas ir presavimas, dalis NSM patenka į sulčių frakciją, todėl pastebimas produkto drumstumas ir skystos-kietos fazės atsiskyrimas (išsisluoksniavimas) laikymo metu [18]. O sultys, išgautos naudojant didelį hidrostatinį slėgį, pasižymi didesniu skaidrumu, kadangi šis slėgis gali nutraukti kovalentines ir nekovalentines jungtis skaidulose ir tokiu būdu modifikuoti skaidulinių medžiagų sudėtį – padidinti TSM kiekį, taip pakeičiant TSM ir NSM santykį išspaudose [4, 18].

Galiausiai morkų išspaudose lieka reikšmingi bioaktyvūs junginiai, kaip fenoliniai junginiai, poliacetilenai ir karotinoidai. Pagrindiniai išspaudose randami fenoliai yra chlorogeninė, kavos, p-kumaro ir ferulo rūgštys bei įvairūs hidroksicinamono rūgšties dariniai [16, 20]. Šie antioksidantai geba neutralizuoti laisvuosius radikalus ir taip padeda apsaugoti ląsteles nuo oksidacinio streso, taip pat gali prisidėti prie kai kurių lėtinių ligų, kaip širdies ir kraujagyslių, susirgimų rizikos mažinimo [20]. Fenoliniai junginiai ne tik siejami su teigiamu poveikiu žmogaus sveikatai, bet ir prisideda prie maisto produktų juslinių savybių, tokių kaip spalva, aromatas, kartumas ar aitrumas, formavimo, todėl gali būti naudojami kaip maisto priedai [16]. Vis dėlto reikšminga dalis fenolinių junginių yra susijusi su augalų ląstelių sienelių struktūromis, todėl jų biologinis prieinamumas išlieka ribotas [21]. Be fenolinių junginių, morkose aptinkami ir poliacetilenų grupės junginiai, tarp kurių nustatomi falkarinolis ir falkarindiolis, pasižymintys priešuždegiminėmis, antimikrobinėmis ir priešvėžinėmis savybėmis [16, 20]. Sulčių gamybos metu reikšminga karotinoidų dalis (~50 %) išlieka šalutinių produktų frakcijoje ir, priklausomai nuo gamybos sąlygų, jų kiekis gali siekti iki 2 g/kg išspaudų sausosios masės [1, 20]. Nustatyta, kad iki 35 % šių junginių sudaro α - ir β -karotenas [20]. Mokslinės literatūros duomenys patvirtina, kad morkų išspaudų atliekos – neišnaudotas fitocheminių medžiagų, skaidulų bei mikroelementų šaltinis, o siekiant padidinti šios potencialios žaliavos funkcionalumą, sumažinti NSM kiekį bei pagerinti TSM ir NSM santykį, yra taikomi įvairūs fiziniai, cheminiai bei biologiniai modifikavimo būdai.

1.1.3. Morkų išspaudų antrinio panaudojimo galimybės

Dideli maisto pramonėje susidarančių šalutinių produktų kiekiai skatina ieškoti tvarių jų antrinio panaudojimo sprendimų. Morkų apdirbimo šalutiniai produktai ne išimtis, todėl pastaraisiais metais didėja susidomėjimas jų pritaikymo galimybėmis dėl sudėtyje esančių vertingų komponentų [1]. Dėl šių junginių teigiamo poveikio sveikatai, morkų išspaudos vis dažniau įtraukiamos į maisto produktus: kepinius, makaronus, pieno produktus bei gėrimus [1, 22]. Literatūros duomenimis, kepinuose morkų išspaudos gali sudaryti iki 30 % produkto masės, pieno produktuose (pvz., jogurtuose) – iki 5 %, makaronuose – iki 12 %, o mėsos gaminiuose – apie 3–5 % [22-26]. Šie kiekiai varijuoja ir priklauso nuo produkto sensorinių savybių pokyčių, tokių kaip spalva, skonis, tekstūra, aromatas ir pan., siekiant išlaikyti vartotojams priimtina produktą [22]. Įtraukiant morkų išspaudas į

maisto sistemas, ši žaliava ne tik praturtina produktų sudėtį biologiškai aktyviomis medžiagomis, bet ir gali pagerinti technologines savybes, pavyzdžiui, vandens surišimą, drėgmės išlaikymą, tekstūrą ar produkto stabilumą [22-26]. Be to, morkų išspaudų panaudojimas maisto produktuose gali prisidėti prie didesnio skaidulinių medžiagų, kurios pasižymi potencialiomis prebiotinėmis savybėmis, suvartojimo, todėl ši žaliava vertinama kaip perspektyvus ingredientas funkcinių maisto produktų kūrimui [23-25].

Be maisto produktų, morkų išspaudas siekiama pritaikyti ir pakuočių sektoriuje. Didelę šių šalutinių produktų dalį sudaro struktūriniai polisacharidai, kaip celiuliozė ir hemiceliuliozė, kurie, išskirti iš morkų išspaudų, gali būti naudojami biologiškai skaidžių pakuočių gamyboje. Literatūroje pateikiama, kad celiuliozės nanoplaušto pagrindu pagamintos apsauginės maisto pakuotės pasižymi tinkamomis mechaninėmis ir barjerinėmis savybėmis, galinčiomis padėti išlaikyti produktų šviežumą bei apsaugoti juos nuo drėgmės, mechaninių pažeidimų ir mikroorganizmų poveikio [27]. Tyrimų rezultatai parodė, kad tokios plėvelės gali iki savaitės sulėtinti bananų žievelių rudėjimą, kurį lemia oksidaciniai procesai ir fermentų poveikis [27]. Kiti tyrimai atlikti kuriant valgomas (angl. *edible*) maisto plėveles ir jas papildant iš raudonų morkų išspaudų išgautais karotinoidais [28]. Tyrimo rezultatuose nurodoma, kad plėvelės su karotinoidais pasižymėjo lygesniu ir mažiau įtrūkimų turinčiu paviršiumi, kuris suteikia plėvelėms ne tik apsauginę funkciją, bet ir antioksidacinį poveikį [28]. Be to, morkų išspaudos gali būti panaudojamos biokompozitų su daržovių baltymais gamyboje, kurie pasižymi mechaniniu atsparumu, efektyviu ultravioletinių spindulių blokavimu, antioksidaciniu aktyvumu ir mažu dujų pralaidumu [29]. Šie biokompozitais potencialiai gali būti panaudojami maisto produktų pakavime, kadangi aptartos savybės gali padėti prailginti produktų galiojimo laiką ir sumažinti skonio ar aromato pokyčius supakuotuose maisto produktuose [29]. Visi šie atradimai leidžia plėsti ekologiškų alternatyvų taikymą maisto pakuočių pramonėje ir išnaudoti šalutinių daržovių apdirbimo produktų potencialą.

Taip pat morkų išspaudų atliekos gali prisidėti prie aplinkai draugiškų sprendimų kūrimo. Vienas iš tokių pavyzdžių – *Rhizopus delemar* grybų kultivavimas ant šios daržovės išspaudų, naudojant jas kaip substratą grybų biomasei išgauti. Tokia biomasa gali būti toliau panaudojama pašarų ir maisto sektoriuose, fermentų gamyboje bei biomedžiagų kūrime [30]. Kituose tyrimuose pateikiama, kad iš morkų išspaudų ir *Rhizopus delemar* grybų biomasės pagamintas popierius pasižymėjo apie 92 % efektyvumu šalinant dažus iš vandens terpės [31]. Tai rodo potencialias tokios medžiagos panaudojimo galimybes buitinių nuotekų ir gamybinėje veikloje naudoto vandens valymo procesuose [31]. Galiausiai, iš grybų micelio ir morkų išspaudų gali būti gaminama aplinkai draugiška putplasčio alternatyva [32]. Šio proceso metu *Aspergillus oryzae* grybiena kultivuojama ant morkų išspaudų, o gauta masė papildomai apdorojama ir formuojama į lengvą pakavimo medžiagą, pasižyminčią pakankamu atsparumu gniuždymui ir tinkamą apsauginėms reikmėms [32].

Be šių paminėtų pritaikymo galimybių, morkų išspaudos ir iš jų išgautos skaidulos ar kiti cheminiai junginiai siekami pritaikyti maisto papildų, kosmetikos, biokuro gamyboje, taip pat žemės ūkio sektoriuje [1, 22]. Vis dėlto morkų atliekų pritaikymas pramonėje vis dar yra ribotas, o aptartos pritaikymo galimybės yra mokslinių tyrimų ar pilotinės gamybos etapuose – nėra pritaikytos komercinei gamybai.

1.2. Maistinės skaidulos ir jų savybės

Maisto kodeksas (angl. *Codex Alimentarius*) maistines skaidulines medžiagas apibrėžia kaip angliavandenių polimerus¹ su dešimt² ar daugiau monomerų, kurių nehidrolizuoja endogeniniai fermentai žmogaus plonojoje žarnoje ir kurie priklauso šioms kategorijoms:

- valgomieji angliavandenių polimerai, natūraliai esantys maiste;
- angliavandenių polimerai, gauti iš maisto žaliavų fizikiniais, fermentiniais arba cheminiais metodais ir turintys teigiamą fiziologinį poveikį, įrodytą visuotinai pripažintais moksliniais įrodymais;
- valgomieji sintetiniai arba modifikuoti angliavandenių polimerai, kurie pasižymi teigiamu poveikiu sveikatai, įrodytu visuotinai pripažintais moksliniais įrodymais [33].

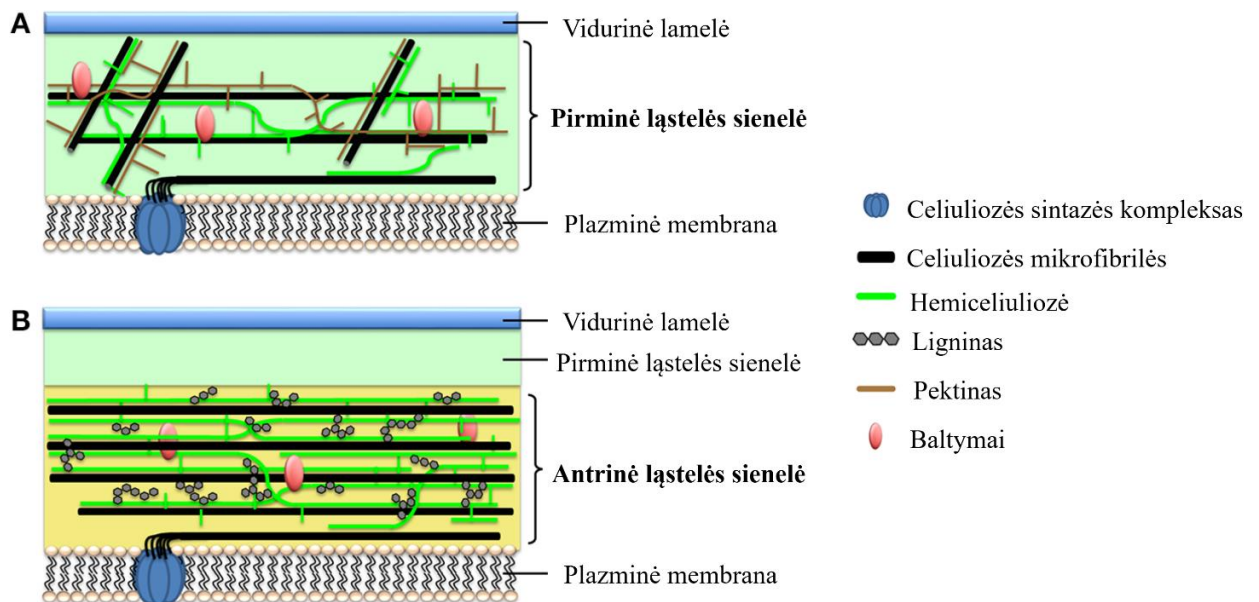
Tai angliavandenių ir jų analogų visuma, įskaitant nevirškinamus polisacharidus, oligosacharidus ir susijusias augalines medžiagas (polifenolius, saponinus ir pan.) [2].

1.2.1. Skaidulinės medžiagos ir jų funkcijos augalų ląstelėse

Augalai bei augalinės kilmės produktai yra laikomi skaidulinių medžiagų šaltiniu. Augaluose skaidulinės medžiagos yra lokalizuotos jų ląstelės sienelėje, kuri sudaryta iš kompleksinės polisacharidų ir neangliavandenių (angl. *non-carbohydrate*) junginių matricos [34]. Vientisą ląstelės sienelės struktūrą daugiausia sudaro tarpusavyje susiję celiuliozės, hemiceliuliozės ir pektino polisacharidai bei lignino polimerai [34]. Šie struktūriniai komponentai ląstelės sieniei suteikia skirtingas funkcijas: celiuliozė teikia mechaninį tvirtumą, hemiceliuliozė veikia kaip jungiamoji grandis tarp komponentų, pektinai lemia sienelės poringumą bei ląstelių tinklo vientisumą, o ligninas didina sienelės standumą bei atsparumą patogeniniams organizmams ir mikrobiniam skaidymui [35]. Taip pat ląstelės sienelė dar yra skirstoma į pirminę ir antrinę [36, 37]. Elastinga ir plona pirminė sienelė (žr. 1.1 pav. A) susidaro ląstelės augimo metu ir leidžia ląstelei plėstis, tad sudėtyje vyrauja trumpos grandinės celiuliozės mikrofibrilės, kurios sudarytos iš ~40 celiuliozės grandinių, suformuotų į ryšulėlius, taip pat hemiceliuliozė ir pektinas [36, 37]. Toliau vėlesniuose augalo vystymosi etapuose formuojasi standi ir stora antrinė sienelė (žr. 1.1 pav. B), suteikianti ląstelei tvirtumo ir atsparumo nuo nepalankių aplinkos veiksnių, kurios sudėtyje randami didesni celiuliozės mikrofibrilių bei lignino kiekiai [36, 37].

¹ Augalinės kilmės maistinės skaidulos gali apimti su polisacharidais susijusius junginius (pvz., ligniną, fenolinius junginius, baltymus ir pan.), kurie laikomi skaidulomis tik tuomet, kai yra natūraliai susieti su angliavandenių polimerų struktūra.

² Angliavandenių polimerų, turinčių nuo 3 iki 9 monomerinių vienetų, įtraukimas lieka neprivalomas ir sprendžiamas nacionalinių valdžios institucijų nuožiūra.



1.1 pav. Augalų ląstelių sienelės, kur A – pirminės sienelės ir B – antrinės sienelės struktūros schema [37]

Tad pirminės ir antrinės ląstelės sienelės sudėties skirtumai suteikia ląstelės sieniei skirtingas fizines savybes bei funkcijas, kurios yra susijusios su skaidulinių medžiagų rodikliais.

1.2.2. Skaidulinių medžiagų klasifikavimas

Skaidulinių medžiagų daugiausia gaunama iš grūdų, ankštinių augalų, riešutų, vaisių bei daržovių ir yra skirstomos pagal jų tirpumą vandenyje į TSM ir NSM [38]. TSM vandenyje sudaro klampus tirpalus ar į gelį panašią masę, kuri lėtina skrandžio ištuštėjimą, taip prisideda prie gliukozės kiekio kraujyje reguliavimo ir suteikia sotumo jausmą [19]. TSM apima angliavandenių polimerus, tokius kaip pektinas, arabinoksilanas, β -gliukanai, frukto- ir galaktooligosacharidai, inulinas bei ksilogliukanai [38]. Tuo tarpu NSM nesudaro klampių tirpalų ir vandenyje išlaiko nepakitusią struktūrą, bet gerina virškinamojo trakto veiklą ir maisto tranzitą [19]. Šioms skaiduloms priskiriama celiuliozė, kai kurios hemiceliuliozės bei lignoceliuliozė [2, 38].

Skaidulos taip pat gali būti klasifikuojamos pagal mikrobinę fermentaciją storojoje žarnoje į fermentuojamas ir nefermentuojamas maistines skaidulas [39]. Fermentuojamos skaidulos dar vadinamos prebiotikais, kuriuos žarnyno bakterijos storojoje žarnoje geba anaerobinės fermentacijos būdu paversti fiziologiškai aktyviais metabolitais, tokiais kaip organinėmis rūgštimis, ir dujomis [39]. Dauguma TSM, kaip pektinai, β -gliukanai, frukto- ir galaktooligosacharidai, priskiriama pilnai ar dalinai fermentuojamoms skaiduloms, išimtis Balkšvojo gysločio sėklų luobelės (angl. *Psyllium*), kurios priskiriamos tirpioms skaiduloms, tačiau dėl didelės klampos – ribotai fermentuojamos storojoje žarnoje [39, 40]. Nefermentuojamų skaidulų (pvz., celiuliozės ir celiuliozės darinių) storosios žarnos mikrobiota visiškai neskaido arba skaido labai ribotai, tad šios skaidulos išlieka nepakitusios visame virškinamajame trakte [40].

1.2.3. Maistinių skaidulų nauda sveikatai

Maistinės skaidulos, kaip vertingas maisto ingredientas, sulaukia vis daug dėmesio dėl teikiamo poveikio žmogaus sveikatai, o tai susiję su ligų, tokių širdies ir kraujagyslių, diabeto, uždegiminių žarnyno ligų, nutukimo, metabolinio sindromo (medžiagų apykaitos sutrikimų) ir vėžio, prevencija

[38]. Pirmiausia, virškinamasis traktas yra didžiausias barjerinis audinys žmogaus kūne – esant sveikam žarnynui, žarnyno aplinka kartu su mikrobiota prisideda prie efektyvaus maisto virškinimo ir gleivinės imuninės sistemos funkcijų palaikymo [2]. Žarnyno mikrofloros disbalansas gali pažeisti žarnyno barjerinę funkciją ir padidinti įvairių ligų išsivystymo riziką, o maistinės skaidulos prisideda prie virškinimo procesų ir žarnyno sveikatos palaikymo [2]. NSM skatina žarnyno peristaltiką, maisto tranzitą virškinamuoju traktu bei reguliarių tuštinimasi, be to, palaiko storosios žarnos mikrobinę įvairovę [40]. Tuo tarpu TSM virškinimo sistemoje formuoja klampią gelinę masę, kuri ne tik suteikia sotumo jausmą, tačiau reguliuoja virškinimo fermentų veiklą, lipidų ir gliukozės apykaitą [41]. TSM taip pat pasižymi prebiotinėmis savybėmis – palaiko naudingų mikroorganizmų augimą ir įvairovę storojoje žarnoje, o šių skaidulų anaerobinės fermentacijos metu gaminamos trumpos grandinės riebalų rūgštys (TGRR) [41]. Susintetintos TGRR, iš kurių pagrindinės acetatas, propionatas ir butiratas, turi įtakos šeimininko fiziologijai [40]. Gausiausiai sintetinamas acetatas tarnauja kaip energijos šaltinis: dalyvauja ATP susidaryme per citrinos rūgšties ciklą ir patenkina apie 5–10 % žmogaus energijos poreikio [40, 41]. Propionatas gali sumažinti cholesterolio koncentraciją kraujyje [41]. O butiratas laikomas viena iš svarbiausių TGRR dėl jo apsauginio poveikio storosios žarnos epitelio ląstelėms – apsaugo nuo kancerogenezės ir ją slopina, mažina gleivinės oksidacinį stresą ir stiprina apsauginį barjerą [41]. Taip pat TGRR mažina storosios žarnos pH vertę, tokiu būdu siekiant išvengti patogeninių organizmų dauginimosi [40, 41]. Galiausiai, naujausi tyrimai rodo, kad TGRR gali dalyvauti mikrobiotos–žarnyno–smegenų ašies veikloje, veikdamos imuninę ir endokrininę sistemas, ir moduluoti su neuroaktyvumu susijusius procesus, įskaitant mokymąsi, atmintį ir nuotaiką [41].

Taip pat skaidulinių medžiagų įtraukimas į mitybą gali padėti spręsti viršsvorio problemas bei su nutukimu susijusių metabolinių sutrikimų riziką. Tai siejama su keliais veikimo mechanizmais. Pirmiausia didelis TSM klampumas sulėtina maistinių medžiagų migraciją, o skaidulinių medžiagų tinklas adsorbuoja riebalų molekules [2]. Toliau TSM dėl didelės klampios prailgina sotumo jausmą ir taip mažina suvartojamo maisto kiekius [2]. Galiausiai skaidulų vartojimas skatina TGRR gamybą bei žarnyno hormonų sekreciją, kurie prisideda prie insulino išsiskyrimo, glikogeno sintezės reguliavimo ir apetito slopinimo [2, 41]. Tačiau maistinės skaidulos gali surišti ne tik su maistu gautas riebalų molekules, o ir laisvą cholesterolį [42]. Taip pat skaidulų tinkle gali būti sulaikomos tulžies rūgštys, kurios susijusios su cholesterolio kiekio reguliavimu [42]. Porėtas skaidulų tinklas gali adsorbuoti šias medžiagas, taip sumažinti tulžies rūgščių pakartotinę absorbciją kepenyse, tad organizme sukauptas cholesterolis intensyviau naudojamas naujų tulžies rūgščių sintezei ir tokiu būdu gali mažėti cholesterolio koncentracija kraujyje [42]. Tad aptartas maistinių skaidulų poveikis organizmui gali padėti reguliuoti energijos apykaitą, lipidų metabolizmą ir mažinti nutukimo bei širdies ir kraujagyslių ligų riziką.

Be to, skaidulinių medžiagų tinklo struktūra ir TSM frakcijos klampa gali prisidėti prie gliukozės kiekio kraujyje reguliavimo. Skaidulos sudaro fizinį barjerą, kuris lėtina gliukozės difuziją ir absorbciją žarnyne, o porėta struktūra bei funkcinės grupės jų paviršiuje stiprina skaidulų sąveiką su gliukoze – jas adsorbuoja [2]. Taip pat nustatyta, kad maistinės skaidulos gali riboti angliavandenių virškinimo fermentų aktyvumą arba apsunkinti jų sąveiką su substratu, todėl sulėtinamas jų hidrolizės ir gliukozės išsiskyrimo procesas [43]. Be to, klampų gelį formuojančios skaidulos lėtina skrandžio tuštėjimą, o jų fermentacijos metu žarnyne susidaro TGRR, kurios skatina hormonų, prisidedančių prie insulino išsiskyrimo ir gliukozės homeostazės palaikymo, sekreciją [2]. Ši maistinių skaidulų

galimybė reguliuoti gliukozės kiekį kraujyje prisideda prie gliukozės šuolių po valgio mažinimo ir reguliavimo bei diabeto prevencijos.

Daugumoje šalių rekomenduojamas maistinių skaidulų suvartojimas siekia apie 20–35 g per dieną, tačiau globaliu mastu vidutinis jų suvartojimas išlieka mažesnis ir dažniausiai sudaro 15–26 g/dieną [44]. Nepakankamas skaidulų vartojimas siejamas su didesne nutukimo, 2 tipo diabeto, širdies ir kraujagyslių bei virškinamojo trakto ligų rizika [44]. Atlikti tyrimai rodo, kad didesnis maistinių skaidulų suvartojimas yra tiesiogiai susijęs su geresniais sveikatos rodikliais, pavyzdžiui, padidinus bendrą skaidulų suvartojimą 10 g per dieną, metabolinio sindromo tikimybė sumažėja 11 % [38]. Dėl šių priežasčių pakankamas maistinių skaidulų kiekis mityboje laikomas svarbiu, bendrą žmogaus sveikatą lemiančiu, rodikliu.

1.3. Maistinių skaidulinių medžiagų modifikavimas

Atsižvelgiant į sudėtingą ląstelės sienelės struktūrą, jos komponentų tarpusavio sąveiką bei ribotą prieinamumą, skaidulinių medžiagų modifikavimas yra neatsiejamas nuo ląstelės sienelės polisacharidų (celiuliozės, hemiceliuliozės bei pektino) struktūros pokyčių.

1.3.1. Skirtingi skaidulinių medžiagų modifikavimo būdai

Neapdorotose daržovių išspaudose vyrauja NSM, todėl nustatomas neoptimalus NSM ir TSM frakcijų santykis, o tai riboja jų funkcinį potencialą antriniam panaudojimui [45]. Šis santykis yra svarbus žarnyno mikrobiotos įvairovei, virškinimo procesams bei metabolizmo parametrams ir laikomas fiziologiškai palankiausiu nuo 1:1 iki 2:1 intervale [46, 47]. Tad norint pasiekti tokį NSM/TSM santykį – taikomi skirtingi skaidulų sudėties modifikavimo metodai, kurie gali būti skirstomi į 3 kategorijas pagal veikimo pobūdį: fiziniai, cheminiai ir biologiniai [45]. Šių metodų palyginimas aprašomas 1.3 lentelėje.

1.3 lentelė. Skaidulinių medžiagų sudėties modifikavimo metodų veikimo apibūdinimas bei privalumų–trūkumų palyginimas

Metodas	Veikimo pobūdis	Privalumai	Trūkumai
Fizinis	Glikozidinės jungtys skaidulose nutraukiamos naudojant aukštą temperatūrą, slėgį ir jo staigius pokyčius, ultragarsą, mechanines jėgas ir kitas technologijas [4, 45]	Plačiai naudojamas metodas, kuris reikalauja mažai kaštų, įvykdomas per trumpą laiką, negeneruoja cheminių atliekų ir lengvai integruojamas į pramoninius procesus [45]	Didelės energijos sąnaudos, rizika darbuotojams, ribotas veikimo efektyvumas bei selektyvumas, galimas biokatyvių junginių praradimas dėl aukštos temperatūros [48]
Cheminis	Vykdomos cheminės reakcijos, kada polisacharidų -OH grupės pakeičiamos kitomis funkcinėmis grupėmis (pvz., karboksimetilo, hidroksipropilo) arba rūgštys ir šarmai hidrolizuoja glikozidinius ryšius [45, 49]	Metodui reikalinga žemesnė temperatūra ir slėgis nei fiziniuose metoduose ir modifikavimas atliekamas per trumpą laiką [45]	Reikalingas pH, reakcijos laiko ir temperatūros kontroliavimas, cheminių medžiagų pašalinimas iš produkto, taip pat pastebimas jautrių bioaktyvių junginių praradimas dėl koncentruotų cheminių reagentų naudojimo [4]
Biologinis	Naudojami išgryninti fermentai ar mikroorganizmai, kurie vykdo fermentinę hidrolizę – selektyviai nutraukiamos specifinės jungtys polisachariduose [49]	Šis būdas laikomas aplinkai draugišku, pasižymi dideliu efektyvumu, veikimo specifiškumu bei vyksta švelniomis sąlygomis [45]	Ilgai vykstantis procesas, reikalinga proceso kontrolė, galimas užteršimas mikroorganizmais bei sudėtingas optimizavimas ir integravimas į pramonę [45]

Praktikoje vis dažniau naudojami ir aptartų metodų deriniai. Tačiau ne visi metodai yra suderinami, pavyzdžiui, biologinio modifikavimo metu naudojama kambario ar šiek tiek aukštesnė temperatūra ir neutralus pH (angl. *mild environment*), tuo tarpu cheminis vykdomas didesnės temperatūros intervale ir labiau šarminėje ar rūgštinėje terpėje (angl. *harsh environment*), todėl apjungiant šiuos du metodus yra tikimybė prarasti dalį jautrių biologiškai aktyvių medžiagų dėl jiems nepalankių sąlygų [48]. Siekiant išvengti tokių neigiamų padarinių, praktikoje bandomi derinti šie keturi metodai: fizinis su kitu fiziniu, fizinis kartu su cheminiu, fizinis su biologiniu bei biologinis būdas su biologiniu [48]. Derinant kelis metodus galima kompensuoti pavienių modifikavimo technikų trūkumus ir polisacharidų struktūrą pakeisti efektyviau – su didesne TSM frakcijos išėiga, per trumpesnę laiką bei naudojant mažiau energijos išteklių, bet šie metodų deriniai turi būti tinkamai parinkti ir suderinti [45, 48]. Nepaisant paminėtų privalumų, kelių modifikavimo metodų derinio optimizavimo etapas yra vienas didžiausių trūkumų [48].

Šiame baigiamajame projekte naudojamas vienas iš biologinių skaidulų sudėties pakeitimo būdų – fermentinė hidrolizė, tad toliau šis būdas aprašomas išsamiau.

1.3.2. Fermentinis skaidulų modifikavimas

Fermentinė hidrolizė yra laikoma tvaria ir pažangia technologija, kuri pagrįsta išgrynintų fermentų panaudojimu [49]. Veikimo specifiškumu pasižymintys fermentai katalizuoja tikslių ryšių nutraukimą polisachariduose: fiksuojamas polisacharidų polimerizacijos laipsnio ir molekulinės masės mažėjimas, taip keičiant ir jų struktūrą, technologines ir funkcines savybes [49]. Dažniausiai taikomos celiuliazės ir ksilanazės, rečiau pektinazės bei ligniną modifikuojantys fermentai [4, 49]. Celiuliazės priklauso hidrolazių klasės fermentams [48, 50]. Ši sinergetiškai veikianti daugiakomponentė fermentų sistema, sudaryta iš endo- ir egzo- β -gliukanazių bei β -gliukozidazės, hidrolizuoja β -1,4-glikozidinius ryšius celiuliozės molekulėse iki gliukozės ir celobiozės [50]. Hemiceliuliazės taip pat priklauso hidrolazių klasės fermentams [50]. Šių fermentų sistema, kurioje dominuoja fermentai, kaip β -1,4-endoksilanazės ir β -ksilozidazės, hidrolizuoja hemiceliuliozės (dažniausiai ksilano) struktūroje esančius β -1,4-glikozidinius ryšius [48, 50]. Paminėtina, kad pagalbiniai fermentai (α -L-arabinozidazė, α -gliukuronidazė) nutraukia šoninių grandinių α -glikozidinius ryšius, taip padidindami substrato prieinamumą pagrindiniams fermentams [50]. Hemiceliulazių veikimo metu susidaro mažesnės molekulinės masės junginiai – ksilooligosacharidai ir monosacharidai, tokie kaip ksilozė ir arabinozė [50].

Nors pektinas yra tirpus vandenyje, tačiau jo modifikavimas pektinazėmis gali padidinti fermentinės hidrolizės efektyvumą. Pektinazės tarpląstelinėje matricoje suardo ląsteles jungiančio pektino struktūrą ir taip sumažina sudėtingo ląstelių tinklo vientisumą bei padidina sienelių poringumą [49]. Dėl šių pokyčių palengvėja vandens ir fermentų difuzija į ląstelės sienelės, o tai lemia efektyvesnį kitų polisacharidų hidrolizės procesą [49]. Pektinazės fermentai, sudaryti iš endo- ir egzo-poligalakturonazių bei pektinliazių, suardo α -1,4-glikozidinius ryšius atitinkamai hidrolizės ir β -eliminacijos reakcijomis pektino polimeruose iki galakturono rūgšties ir pektino oligosacharidų (angl. *oligogalacturonides*) [50]. Dar vienas pektinazių grupės fermentas pektinesterazė hidrolizuoja pektino metilesterio jungtis, sudarant pektino rūgščiai ir metanoliui [50].

Galiausiai, ligniną modifikuojančių fermentų panaudojimas gali tiesiogiai ir netiesiogiai prisidėti prie skaidulinių medžiagų modifikavimo. Sudėtingos, trimatės struktūros lignino polimeras, sudarytas iš kryžmiškai sujungtų fenilpropanoidinių vienetų (p-kumarilo, koniferilo ir sinapilo alkoholių) ir

priskiriamas prie NSM, kai šis susietas su kitais ląstelės sienelės polisacharidais [51, 52]. Todėl lignino fermentinis skaidymas gali sumažinti NSM frakciją [51, 52]. Bet lignino biologinio skaidymo metu naudojant lignino peroksidazės, mangano peroksidazės ir lakazės fermentus susidaro mažos molekulinės masės aromatiniai junginiai, kurie nepriskiriami prie TSM [51]. Be to, ligninas, kaip vienas iš ląstelės sienelės komponentų, riboja fermentų prieinamumą prie polisacharidų, todėl ligniną modifikuojančių fermentų taikymas gali sumažinti šį barjerą ir taip padidinti fermentų sąveiką su tiksliniais hidrolizuojamais polisacharidais [52]. Nepaisant to, ligniną skaidančių fermentų taikymas skaidulinių medžiagų modifikavime išlieka ribotas dėl jų kainos bei sudėtingos ir heterogeniškos polimero struktūros, kas apsunkina jo fermentinį skaidymą [51].

Tad celiuliazų, hemiceliuliazų ir pektinazių fermentų taikymas skaidulų modifikavimui lemia struktūrinių polisacharidų depolimerizaciją, taip pagerinant jų tirpumą vandenyje ir keičiant technologinius parametrus [53]. Be to, fermentinių reakcijų produktai oligosacharidai pasižymi prebiotiniu poveikiu bei antioksidacinėmis savybėmis, tokiu būdu gerinant augalinės žaliavos funkcines savybes [53].

1.4. Fermentinės hidrolizės poveikis šalutinių produktų savybėms

Pagrindinis fermentinės hidrolizės tikslas – šalutinių maisto perdirbimo produktų skaidulinių medžiagų sudėties modifikavimas NSM frakciją hidrolizuojant iki TSM. Tad šio proceso metu vyksta reikšmingi cheminės struktūros, technologinių bei funkcinių savybių pokyčiai.

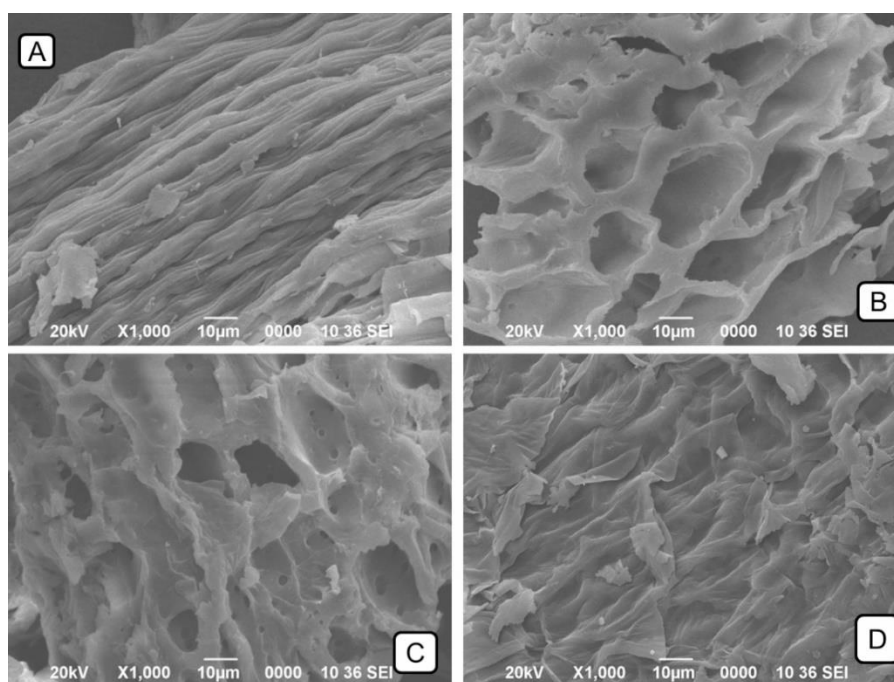
1.4.1. Cheminės struktūros pokyčiai

Fermentinių reakcijų metu yra nutraukiamos glikozidinės jungtys polisachariduose, gaunami mažesnės molekulinės masės oligosacharidai bei di- ir monosacharidai – vyksta cheminės struktūros pakitimai. Šių reakcijų produktų savybės priklauso nuo įvairių cheminių veiksnių, vienas iš jų yra molekulinė masė [45]. Vidutinės molekulinės masės junginiai dažnai pasižymi stipriausiu biologiniu aktyvumu [45]. Tuo tarpu mažos molekulinės masės sacharidai paprastai yra geriau tirpūs vandenyje, o didelės – pasižymi didesne vandens sulaikymo geba (VSG) [45]. Fermentinių reakcijų produktų biologinis aktyvumas taip pat priklauso nuo jų cheminės struktūros, įskaitant pagrindinės ir šoninių grandinių santykį, šakotumo laipsnį (angl. *degree of branching*) bei glikozidinių ryšių tipą [45]. Pavyzdžiui, β -1,3-gliukanai pasižymi didesniu aktyvumu nei β -1,6-gliukanai [45]. Šakotumo laipsnis lemia tirpumą, struktūrinį stabilumą ir sąveiką su biologiniais receptoriais [45]. Modifikavimo metu padidėjęs funkcinių grupių kiekis taip pat gali keisti junginių hidrofiliškumo ir lipofiliškumo parametrus [45, 52]. Remiantis Furjė transformacijos infraraudonųjų spindulių spektrometro (angl. *FTIR*) duomenimis, po skaidulų modifikavimo padidėja OH grupės virpesių smailė, tai nurodo apie tarpmolekulinių vandenilinių jungčių nutraukimą, dėl kurio padaugėja laisvų hidroksilo grupių [52]. O laisvos hidroksigrupės gali pagerinti žaliavos hidratacinės savybės, ypač VSG [52]. Tuo tarpu C-O-C virpesių smailės intensyvumo sumažėjimas siejamas su celiuliozės bei hemiceliuliozės glikozidinių jungčių nutraukimu, kristalinių sričių virsmu į amorfines, o tai taip pat pagerina brankimo bei vandens sulaikymo rodiklius [45, 52].

1.4.2. Poveikis technologiniams parametrams

Fermentinis modifikavimas reikšmingai pakeičia šalutinių maisto perdirbimo produktų mikrostruktūrą. 1.2 pav. matomi ananasų atliekų miltelių, kada skaidulinės medžiagos buvo išgautos skirtingais metodais bei modifikuotos, struktūros vaizdai patvirtina, kad fermentinė hidrolizė

sumažina šalutinių produktų kristališkumą [54]. Dėl to žaliava tampa porėtesnė, šiurkštesnė bei sudėtinga ląstelių matrica labiau atpalaiduota, o tai turi tiesioginės įtakos fizikocheminiams parametrams [45, 54]. Fermentai pirmiausia paveikia amorfinės skaidulinių medžiagų sritis, depolimerizuoja polisacharidus bei nutraukia vandenilinius ryšius tarp ląstelės sienelės komponentų [54]. Tokiu būdu fermentinis apdorojimas gali sumažinti dalelių dydį ir padidinti paviršiaus plotą [45, 52]. Todėl padidėja hidrofilinių funkcinių grupių skaičius ir specifinis skaidulų paviršiaus plotas, kas lemia hidratacinių savybių pokyčius – didesnes klampos, brinkimo, tirpumo bei VSG rodiklių vertes [55, 56]. Paminėtina, kad sumažėjęs NSM kiekis bei pakitusios paviršiaus savybės ir bendras krūvio tankis gali lemti aliejaus sulaikymo gebos (ASG) sumažėjimą arba padidėjimą, priklausomai nuo hidrolizės produktų lipofilinių savybių [45, 55, 56]. Terminis stabilumas taip pat yra svarbi fizikinė savybė tolimesniems žaliavos apdorojimo etapams. Nustatyta, kad modifikavimas gali pagerinti terminį stabilumą, nes susidariusios trumpos grandinės TSM formuoja stabilesnes tarpmolekulines sąveikas ir šių sąveikų vandeniliniams ryšiams nutraukti reikia daugiau energijos [45].



1.2 pav. Išdžiointų ananasų atliekų miltelių (A) ir iš jų ultragarsu (B) bei tradicine ekstrakcija (C) išgautų skaidulinių medžiagų, taip pat fermentais modifikuotų (D) skaidulų mikrostruktūrų vaizdai, gauti naudojant skenuojantį elektroninį mikroskopą [54]

Šios patobulintos fizikocheminės savybės praplečia šalutinių produktų panaudojimo galimybes, pavyzdžiui, padidėjęs brinkimas vandenyje siejamas su didesniu sotumo jausmu ir tokia žaliava gali būti perspektyvi kaip mažo kaloringumo užpildas maisto produktuose, kuriuose reikalingas drėgmės išlaikymas [56].

1.4.3. Poveikis skaidulinių medžiagų biologinėms savybėms

Visos aptartos cheminės bei fizikocheminės savybės turi įtakos skaidulų biologinėms (funkcinėms) savybėms. Po fermentinės hidrolizės padidėjusi TSM frakcija pasižymi didesniu prebiotiniu potencialu, kuris prisideda prie žarnyno sveikatos palaikymo, lyginant su NSM [52]. Atlikti tyrimai patvirtina, kad fermentais modifikuotos skaidulos padidina probiotinių bakterijų *Bifidobacterium* ir *Lactobacillus*, padedančių palaikyti imunitetą bei pasižyminčių priešuždegiminėmis savybėmis, populiaciją ir taip gali pakeisti mikroorganizmų įvairovę bei dominuojančių *Firmicutes* ir

Bacteroidetes bakterijų santykį žarnyne [52, 57]. Be to, TSM frakciją žarnyno mikroorganizmai geba fermentuoti – proceso metu susidaro TGRR [52]. Šios riebalų rūgštys atlieka svarbų vaidmenį skatindamos žarnyno gleivinės sveikatą, taip pat prisideda prie žarnyno pH ir mikrobinės sudėties reguliavimo [52]. Papildomai skaidulinės medžiagos prisideda prie gliukozės ir lipidų apykaitos reguliavimo, o fermentinė hidrolizė gali sustiprinti šias savybes dėl pagerėjusių hidratacinių charakteristikų bei padidėjusio funkcinių grupių skaičiaus [45]. Dėl to didėja skaidulų gebėjimas adsorbuoti arba sulaikyti gliukozės ir lipidų molekules skaidulų matricoje. Gliukozės kiekio kraujyje reguliavimas susijęs su TSM gebėjimu skrandyje ir žarnyne suformuoti klampią, į gelį panašią masę, kuri gali sulėtinti gliukozės difuziją iš žarnyno į kraują, taip pat slopinti virškinimo fermentų (kaip α -amilazė ir α -gliukozidazė) aktyvumą – taip mažinti angliavandenių virškinimo greitį [43]. Tuo tarpu lipidų metabolizmo reguliavimas, o tiksliau cholesterolio kiekio mažinimas, susijęs su keliais mechanizmais [45]. Kadangi tulžies rūgštys yra sintetamos kepenyse iš cholesterolio, išskiriamos į dvylikapirštę žarną ir pakartotinai absorbuojamos žarnyne, TSM gali sutrikdyti šį procesą surišant tulžies druskas, taip skatindamos jų pasišalinimą iš organizmo [45]. Tokiu būdu organizmas naudoja daugiau cholesterolio naujų tulžies rūgščių sintezei [45]. Kitas mechanizmas susijęs su žarnyne vykstančia skaidulų fermentacija, kuri lemia TGRR susidarymą, o rūgštys gali slopinti cholesterolio sintezę kepenyse [45]. Galiausiai skaidulos gali veikti lipidų apykaitą per fermentų aktyvumo reguliavimą [45]. O be paminėtų biologinių savybių, skaidulos po fermentinės hidrolizės gali pasižymėti didesniu antioksidaciniu, priešuždegiminiu ir priešvėžiniu aktyvumu bei pagerinti imuninės sistemos reguliavimą [45, 52].

Tad fermentų panaudojimas skaidulų modifikavimui lemia ne tik TSM ir NSM frakcijų sudėties pokyčius, bet ir reikšmingai keičia jų struktūrą, technologines bei funkcines savybes. Šių parametru kitimas siejamas su teigiamais skaidulinių medžiagų savybių pokyčiais, kurie praplečia augalinių šalutinių maisto perdirbimo produktų funkcionalumą ir potencialą platesniam panaudojimui.

1.5. Literatūros apžvalgos apibendrinimas

Morkos (*Daucus carota L.*) yra plačiai vartojama ir vertinama daržovė dėl teigiamo poveikio regėjimui ir bendrai žmogaus sveikatai. Tačiau morkų išspaudos, liekančios po sulčių ar koncentratų gamybos, gali sudaryti iki 50 % pradinės šakniavaisio masės ir dažnai nėra efektyviai išnaudojamos. Šiame šalutiniame produkte sukonzentruojamos maistinės ir biologiškai aktyvios medžiagos, tokios kaip skaidulos, fenoliniai junginiai, mikroelementai, karotinoidai bei baltymai. Nepaisant to, tik nedidelė dalis išspaudų panaudojama pašarų, bioetanolio ar trašų gamyboje. Siekiant įgyvendinti žiedinės ekonomikos ir tvarios gamybos principus, morkų išspaudas bei iš jų išgrynintus komponentus siekiama iš naujo pritaikyti maisto pramonėje, taip pat maisto papildų, pakuočių, biomedžiagų, kosmetikos gamyboje bei žemės ūkio sektoriuje. Vis dėlto didelis NSM kiekis bei neoptimalus tirpių–netirpių skaidulų santykis gali riboti šios žaliavos funkcionalumą ir platesnį pritaikymą kuriant didesnės pridėtinės vertės produktus, todėl aktualūs tampa skaidulinių medžiagų modifikavimo metodai. Vienas iš aplinkai draugiškų metodų – fermentų panaudojimas, kuris laikomas selektyviu struktūrinių augalinės ląstelės polisacharidų modifikavimo būdu. Fermentinio poveikio metu gali būti pakeičiama ne tik skaidulinių medžiagų sudėtis, tačiau ir TSM/NSM frakcijų santykis, skaidulų cheminė struktūra, o tai tiesiogiai turi įtakos technologiniams ir funkciniams augalinės žaliavos rodikliams. Pakitę technologiniai parametrai, kaip padidėjęs vandens sulaikymas, tirpumas bei klampa, taip pat funkcinės savybės, tokios kaip didesnis prebiotinis indeksas, gliukozės ir lipidų sujungimo gebos, yra perspektyvūs siekiant didinti augalinės kilmės šalutinių produktų pridėtinę vertę.

2. Medžiagos ir tyrimų metodai

Tyrimai atlikti Kauno technologijos universiteto Cheminės technologijos fakultete, Maisto mokslo ir technologijų katedroje. Tyrimai atlikti keliais etapais, kurie apėmė morkų išspaudų paruošimą, jų cheminės ir skaidulinių medžiagų sudėties tyrimus, išspaudų fermentinę hidrolizę, technologinių ir funkcinių savybių eksperimentus bei maisto papildų iš morkų išspaudų vystymą.

2.1. Tyrimo objektas

Morkų išspaudų, susidarantių sulčių gamybos metu, sudėties bei technologinių ir funkcinių savybių pokyčių po fermentinio apdorojimo tyrimas ir modifikuotos žaliavos antrinio panaudojimo galimybių įvertinimas kuriant maisto papildus.

2.2. Morkų išspaudų žaliavos paruošimas

Plautos morkos įsigytos iš prekybos centro *Maxima*. Daržovės papildomai nuplautos, pašalinti šakniavaisio pažeidimai ar spalvą pakeitę plotai. Paruoštos morkos susmulkintos naudojant elektrinę daržovių tarkavimo mašiną (*Migiris BETM-1*, Lietuva) o gauti tarkiai nuspausti pro marlę siekiant išspausti sultis. Gautos išspaudos džiovintos 37 ± 2 °C temperatūros džiovinimo spintoje (*POL-EKO® SLN 32*, Lenkija) 48 ± 2 val., periodiškai pamaišant. Išdžiovintos morkų išspaudos sumaltos elektriniu ultracentrifuginiu malūnėliu (*Retsch GmbH ZM 200*, Vokietija) 6000 aps./min. greičiu, iš eilės naudojant 1,5; 0,75 ir 0,2 mm akučių diametro sietus. Homogeninė MIM (dalelių dydis $\leq 0,2$ mm) žaliava laikyta sandariai uždarytame maiše 4 °C temperatūroje.

2.3. Cheminės sudėties tyrimai

Toliau pateikiamos cheminių rodiklių, kaip baltymų, lipidų, pelenų, drėgmės, skaidulinių medžiagų bei redukuojančių angliavandenių, bei cukrų tyrimų metodikos.

2.3.1. Baltymų kiekio nustatymas

Baltymų kiekis nustatytas Kjeldalio analizės metodu pagal oficialiųjų chemikų analitikų asociacijos (AOAC) (angl. *Association of Official Analytical Chemists*) 978.04 metodiką. Metodą sudaro trys pagrindiniai etapai: žaliavos mineralizacija (oksidacija), distiliavimas ir titravimas. 1 g tiriamojo mėginio sumaišoma su 20 mL koncentruotos (95 %) sieros rūgšties (*Eurochemicals*) ir katalizatoriaus tablete (K_2SO_4 ; $CuSO_4 \cdot 5 H_2O$, TiO_2) (*Thompson & Capper Ltd.*, Jungtinė Karalystė) Kjeldalio kolboje – vykdoma 90 min. mineralizacija (*Behr-Labor Behrotest® InKjel 1225 P* mineralizatorius, Vokietija). Reakcijos metu organinės azoto turinčios medžiagos oksiduojasi iki amonio sulfato. Toliau, amonio sulfatą veikiant natrio hidroksidu (≥ 99 % grynumas, *Eurochemicals*), susidaro amoniakas, kuris distiliuojamas vandens garais automatiniam distiliatoriuje (*Behr-Labor Behrotest® S4*, Vokietija) ir surenkamas boro rūgšties (≥ 99 %, *Eurochemicals*) tirpale – susidaro amonio boratas. Šis titruojamas 0,1 N druskos rūgštimi (37 %, *Eurochemicals*) iki violetinės spalvos, naudojant kelis lašus Tašyro indikatorius.

Pagal sunaudotą rūgšties kiekį amonio boratui nutitruoti apskaičiuojamas azoto kiekis tiriamame produkte pagal (2.1) formulę.

$$\text{Azoto kiekis, \%} = \frac{1,4007 \cdot n \cdot (V_1 - V_0)}{m}; \quad (2.1)$$

čia 1,4007 – azoto kiekis, kurį sujungia 1 mL 0,1 N HCl;

- n – titravimui naudotos druskos rūgšties normalingumas, $N(0,1 N)$;
- V_1 – titravimui sunaudoto $0,1 N$ HCl kiekis, mL;
- V_0 – tuščio mėginio titravimui sunaudoto $0,1 N$ HCl kiekis, mL;
- m – analizei sunaudota tiriamojo mėginio masė, g.

Apskaičiuotas azoto kiekis toliau perskaičiuojamas į baltymų kiekį mėginyje naudojantis perskaičiavimo koeficientu (2.2) formulėje.

$$\text{Baltymų kiekis, \%} = \text{azoto kiekis, \%} \cdot k; \quad (2.2)$$

čia k – koeficientas, skirtas perskaičiuoti azoto kiekį į baltymų kiekį (6,25).

2.3.2. Drėgmės kiekio nustatymas

Tiriamuosiuose mėginiuose bei pradinėje žaliavoje drėgmės kiekis tirtas remiantis AOAC 925.10-1925 metodu. Žaliava džiovinta elektrinėje krosnelėje (*POL-EKO® SLN 32*, Lenkija) 105 ± 2 °C temperatūroje iki pastovios masės. Pagal masės pokytį apskaičiuotas drėgmės kiekis naudojantis (2.3) formule.

$$\text{Drėgnis, \%} = \left(\frac{m_1 - m_2}{m_1} \right) \cdot 100 \%; \quad (2.3)$$

čia m_1 – mėginio svoris prieš džiovinimą, g;

m_2 – mėginio svoris po džiovinimo, g.

2.3.3. Riebalų kiekio nustatymas

Bendras lipidų kiekis įvertintas taikant Soksleto ekstrakcijos metodą pagal AOAC 948.22. Analizei naudotas išdžiovintas mėginys, likęs po drėgmės kiekio nustatymo (apie 3 g). Mėginys be nuostolių perkeltas ant filtro popieriaus, jo kraštai užlankstyti ir aprišti siūlu. Paruoštas paketas pasvertas ir 3 val. ekstrahuotas Soksleto aparatu (*Behr-Labor Behrotest® KEX 60*, Vokietija) naudojant tirpiklį heksaną. Po ekstrakcijos iš paketo nugarinti tirpiklio likučiai ir mėginys toliau džiovintas 105 ± 2 °C temperatūros krosnelėje (*POL-EKO® SLN 32*, Lenkija) iki pastovios masės. Naudojant heksaną kaip tirpiklį yra ekstrahuojami lipidai iš mėginio, todėl jų kiekis nustatomas pagal pradinės ir nuriebalintos žaliavos masių skirtumą. Gauti rezultatai išreiškiami procentais, kaip pateikta (2.4) formulėje.

$$\text{Riebalų kiekis, \%} = \left(\frac{m_1 - m_2}{m} \right) \cdot 100 \%; \quad (2.4)$$

čia m – pradinis mėginio svoris iki džiovinimo, g;

m_1 – mėginio ir filtro popieriaus paketo svoris prieš ekstrakciją, g;

m_2 – mėginio ir filtro popieriaus paketo svoris po ekstrakcijos ir džiovinimo, g.

2.3.4. Mineralinių medžiagų nustatymas

Mineralinių medžiagų (pelenų) kiekis tiriamoje žaliavoje nustatytas pagal AOAC 930.05 metodą. Keli gramai žaliavos pasveriami kartu su keramikiniu tigliu ir žaliava apanglinama virš ugnies (2–3 min.). Tiglius su apanglintu mėginiu perkeliama į mufelinę krosnį (*SNOL® 8.2/1100*, Lietuva), kurioje deginamas 525 °C temperatūroje 2 val. Indas su likusiais pelenais ataušinamas eksikatoriuje ir pasveriamas. Pelenų kiekis apskaičiuojamas pagal (2.5) lygtį.

$$\text{Pelenų kiekis, \%} = \left(\frac{m_2 - m_0}{m_1 - m_0} \right) \cdot 100 \%; \quad (2.5)$$

čia m_0 – tuščio tiglio svoris, g;

m_1 – pradinis tiglio ir žaliavos svoris, g;

m_2 – tiglio ir pelenų svoris po deginimo ir ataušinimo, g.

2.3.5. Skaidulinių medžiagų sudėties ir kiekio nustatymas

Bendras skaidulinių medžiagų bei TSM ir NSM frakcijų kiekybinis įvertinimas atliktas naudojant *K-TDFR100A* rinkinį (*Megazyme*, Airija), pagrįstą AOAC 991.43 metodu. 1 g MIM sumaišyta su 40 mL šviežiai paruošto MES-Tris (2-(N-morfolino)etansulfonrūgšties monohidrato ir tris(hidroksimetil)aminometano) buferio (0,05 M, pH 8,2) ir iš eilės tiriamasis mėginys hidrolizuotas šiais fermentais: 50 µL termostabilia α -amilaze 90 °C temperatūroje 30 min., 100 µL proteaze 60 °C temperatūroje 30 min., 200 µL amilogliukozidaze 60 °C temperatūroje 30 min. Papildomai, prieš pilant amilogliukozidazės fermentą, terpė parūgštinta – pH siekė 4,1–4,8 intervale. Vykdamas hidrolizę fermentais mėginiai inkubuoti vandens vonelėje (*Memmert GmbH + Co. WNB 22*, Vokietija) ir nuolat maišyti 120 aps./min. greičiu. Po hidrolizės gauta suspensija filtruota pro celito sluoksnį (*Labochema*) Gučo tiglyje naudojant filtravimo sistemos (*Foss System Fibertec 1023 E*, Danija) įrangą ir likučiai plauti 70 °C temperatūros distiliuotu vandeniu. Tiglyje likusios nuosėdos vertintos kaip NSM, kurios toliau išdžiovintos 105 ± 2 °C temperatūros krosnelėje (*POL-EKO® SLN 32*, Lenkija) iki pastovios masės. Surinktas filtratas sumaišytas su 60 °C temperatūros etanolium (96 %, *Stumbras*) santykiu 1:4 ir paliktas per naktį TSM nusodinti. Vykdyta filtracija TSM frakcijai surinkti per filtravimo sistemą ir Gučo tiglyje su celito sluoksniu, likučiai plauti 60 °C temperatūros etilo alkoholiu (96 %). Tiglyje surinktos TSM džiovintos 105 ± 2 °C temperatūroje iki pastovios masės. Išdžiovinti ir pasverti tigliai su TSM ir NSM nuosėdomis toliau panaudoti pelenų ir baltymų kiekių nustatymams. TSM ir NSM frakcijų kiekiai apskaičiuoti pagal (2.6) formulę. Bendras skaidulinių medžiagų kiekis apskaičiuotas sudedant gautus TSM ir NSM kiekius.

$$\text{Skaidulos, \%} = \frac{\frac{R_1 + R_2}{2} - p - A}{\frac{m_1 + m_2}{2}} \cdot 100; \quad (2.6)$$

čia R_1 ir R_2 – nuosėdų kiekis, likęs po filtravimo tiglyje, g;

p – baltymų kiekis, g;

A – pelenų kiekis, g;

m_1 ir m_2 – pradinis mėginių svoris, g.

2.3.6. Angliavandenių kiekio skaičiavimas

Bendras angliavandenių kiekis apskaičiuotas skirtumo metodu pagal (2.7) lygtį.

$$\text{Angliavandeniai, g/100 g SM} = 100 - (\text{baltymai} + \text{riebalai} + \text{pelenai} + \text{skaidulinės medžiagos}); \quad (2.7)$$

čia baltymai, riebalai, pelenai ir skaidulinės medžiagos – atitinkamai pagal aprašytas metodikas apskaičiuoti šių medžiagų kiekiai sausame mėginyje, g/100 g SM.

2.3.7. Gliukozės, sacharozės ir fruktozės analizė

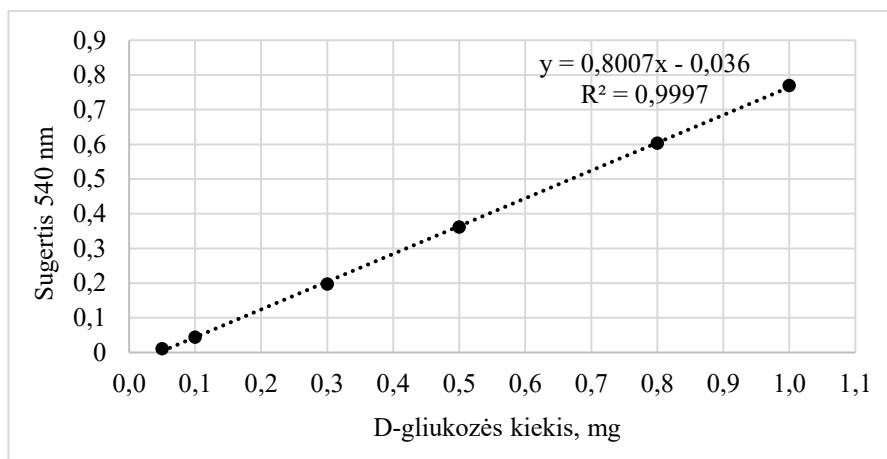
Mažos molekulinės masės cukrų analizė atlikta pagal sacharozės / D-fruktozės / D-gliukozės tyrimo rinkinį (*Megazyme*, Airija). Šiame rinkinyje cukrūs nustatomi naudojant fermentinius ir spektrofotometrinius tyrimus, pagrįstus NADPH susidarymu. D-gliukozė fosforilinama heksokinazės fermentu, o po to oksiduojama gliukozės-6-fosfato dehidrogenaze, susidarant NADPH, kuris

išmatuojamas spektrofotometru (*Thermo Scientific™ GENESYS™ 10 UV-Vis*, Vokietija) 340 nm bangos ilgio šviesos spinduliu ir yra proporcingas gliukozės koncentracijai. D-fruktozė pirmiausia fermentinių reakcijų būdu paverčiama gliukozės-6-fosfatu, o tada tuo pačiu būdu kiekybiškai įvertinama sudarant NADPH [58]. Tuo tarpu sacharozė nustatoma po β-fruktozidazės fermentinės hidrolizės į gliukozę ir fruktozę, o jos kiekis apskaičiuojamas pagal gliukozės koncentracijos padidėjimą prieš ir po hidrolizės. Naudojant rinkinyje pateiktus reagentus ir laikantis gamintojo instrukcijų, atliktas sacharozės, D-fruktozės ir D-gliukozės nustatymo procedūros, kurių kiekiai taip pat apskaičiuoti pagal gamintojo pateiktas formules [58].

2.3.8. Redukuojančių sacharidų kiekybinė analizė

Redukuojančių sacharidų kiekis nustatytas naudojant 3,5-dinitrosalicilo rūgštį (DNS) (98 % grynumas, *Sigma-Aldrich*) [59]. 0,5 g mėginio sumaišyta su 100 mL distiliuoto vandens ir 10 min. maišyta ant magnetinės maišyklės (*Biosan® MSH-300*, Latvija). Gauta suspensija toliau centrifuguota (*Hettich 320* centrifuga, Vokietija) 5000 aps./min. greičiu 15 min. kambario temperatūroje kietoms dalelėms nusodinti. 1 mL gauto supernatanto sumaišyta su 1 mL DNS reagento, kaitinta 5 min. vandens vonelėje 95 °C temperatūros vandens vonelėje. Po kaitinimo reakcijos mišinys staigiai atšaldytas ir praskiestas su 6 mL distiliuoto vandens. Spektrofotometru (*Thermo Scientific™ GENESYS 10 UV-Vis*, Vokietija) išmatuota absorbcija, esant 540 nm bangos ilgio šviesos spinduliu.

Lygiagrečiai paruošti tirpalai kalibracinei tiesei sudaryti: paruošti skirtingų koncentracijų D-gliukozės tirpalai ir pakartota aukščiau aprašyta procedūra, tik tuščiam mėginiui vietoje gliukozės tirpalo naudotas toks pat kiekis distiliuoto vandens.



2.1 pav. D-gliukozės kalibracinė tiesė redukuojančių cukrų kiekiui nustatyti

Redukuojančių sacharidų kiekis apskaičiuotas iš kalibracinės tiesės lygties (žr. 2.1 pav.) ir išreikštas D-gliukozės ekvivalento (GE) verte 100 g tiriamosios žaliavos SM.

2.4. Morkų išspaudų miltelių fermentinė hidrolizė

MIM fermentinei hidrolizei naudoti *Pectinex® Ultra Tropical* (toliau *Pectinex*), *Celluclast® 1.5 L* (toliau *Celluclast*), *Viscozyme® L* (toliau *Viscozyme*) (*Novozyme A/S*, Danija) ir *Sternzym® Oilex* (toliau *Sternzym*) (*MK Enzym GmbH & Co.*, Vokietija) komerciniai fermentų preparatai. Šių preparatų fermentų sudėtis pateikiama 2.1 lentelėje. Hidrolizės mišinys paruoštas 2,5 g pradinės žaliavos sumaišant su 37,5 mL distiliuoto vandens (gauto mišinio pH 3,7) ir inkubuotas 5 min. 50 ±

1 °C temperatūros vandens vonelėje (*Memmert GmbH + Co. WNB 22*, Vokietija). Toliau įpilta 0,25 mL pasirinkto fermento preparato (kontroliniame mėginyje panaudotas toks pat kiekis distiliuoto vandens) ir hidrolizė vykdyta 1 val. 50 ± 1 °C temperatūros vandens vonelėje su 200 aps./min. greičio purtymu. Papildomai fermentai inaktyvuoti mėginį kaitinant vandens vonelėje 90 °C temperatūroje 20 min. ir mišinys atvėsintas iki kambario temperatūros. Atvėsęs hidrolizės mišinys perkeltas į indelius, skirtus džiovinimui šaltyje, liofilizuotas (*Harvest Right™*, JAV) ir gauti milteliai laikyti 4 °C temperatūroje sandariai uždarytame indelyje.

2.1 lentelė. MIM biologiniam modifikavimui naudoti komerciniai fermentų preparatai ir jų sudėtis

Fermentų preparatas	Fermentai, įeinantys į preparato sudėtį
<i>Pectinex® Ultra Tropical</i>	Pektinazės, celiuliazės, hemiceliuliazės ir β-gliukanazės
<i>Celluclast® 1.5 L</i>	Celiuliazės
<i>Viscozyme® L</i>	Celiuliazės, β-gliukanazės, hemiceliuliazės ir ksilanazės
<i>Sternzym® Oilex</i>	Pektinazės ir hemiceliuliazės

Prebiotinių savybių tyrimui po hidrolizės buvo surinkta tik tirpi frakcija: pakartoti visi aukščiau aprašyti veiksmi, tik papildomai po hidrolizės mišinio atvėsavimo mėginiai centrifuguoti (*Hettich 320*, Vokietija) 8000 aps./min. greičiu 20 min. ir surinktas supernatantas, kuris liofilizuotas. Šaltyje išdžiovinta frakcija laikyta 4 °C temperatūroje sandariai uždarytame indelyje.

2.5. Technologinių savybių tyrimai

2.5.1. Brinkimo gebos, vandens sulaikymo gebos ir tirpumo indekso nustatymas

Pradinės žaliavos ir fermentais paveiktų mėginių brinkimo gebos (BG), vandens sulaikymo gebos (VSG) bei tirpumo indeksai (TI) nustatyti pagal Yu'o ir kt. metodą su nežymiais pakeitimais [60]. Pasverta 0,2 g MIM graduotame mėgintuvėlyje ir įvertintas sauso mėginio užimamas tūris. Sausa masė sumaišyta su 6 mL distiliuoto vandens ir palikta 18 val. kambario temperatūroje. Po hidratacijos įvertintas išbrinkusio mėginio tūris ir mėginys centrifuguotas (*Hettich 320*, Vokietija) 5000 aps./min. greičiu 20 min. Supernatantas nupiltas, o išbrinkęs mėginys pasvertas prieš ir po džiovinimo 105 ± 2 °C temperatūros elektrinėje krosnelėje (*POL-EKO® SLN 32*, Lenkija) iki pastovios masės. BG, VSG ir TI apskaičiuojami atitinkamai pagal (2.8), (2.10) ir (2.11) lygtis.

$$BG, \text{ mL/g SM} = \frac{V_1 - V_0}{m_{s.m.}}; \quad (2.8)$$

$$m_{s.m.}, \text{ g} = \frac{m \cdot (100 - BD)}{100}; \quad (2.9)$$

$$VSG, \text{ g/g SM} = \frac{m_1 - m_2}{m_2 - m_0}; \quad (2.10)$$

$$TI, \% = \left(\frac{m_2 - m_0}{m_{s.m.}} \right) \cdot 100 \%; \quad (2.11)$$

kur V_1 – išbrinkusio mėginio užimamas tūris, mL;

V_0 – sauso mėginio užimamas tūris, mL;

$m_{s.m.}$ – perskaičiuotas mėginio svoris SM, g;

m – mėginio svoris, g;

BD – bandinio drėgnis, %;

m_1 – mėginio ir mėgintuvėlio svoris po supernatanto dekantavimo, g;
 m_2 – mėginio ir mėgintuvėlio svoris po džiovinimo, g;
 m_0 – mėgintuvėlio svoris, g.

2.5.2. Aliejaus sulaikymo gebos nustatymas

Aliejaus sulaikymo geba (ASG) nustatyta remiantis Yu'o ir kt. metodika su pakeitimais [60]. 0,2 g MIM sumaišyta su 2 g saulėgražų aliejaus (*Natura*) ir palikta 1 val. kambario temperatūroje. Toliau kietos dalelės nusodintos centrifuga (*Hettich 320*, Vokietija) 3000 aps./min., 10 min. Po centrifugavimo supernatantas atsargiai nupiltas, o gautos mėginio ir sulaikyto aliejaus nuosėdos pasvertos. ASG apskaičiuojamas pagal (2.12) lygtį.

$$\text{ASG, g/g SM} = \frac{m_1 - m_0}{m_0}; \quad (2.12)$$

čia m_1 – mėginio ir sulaikyto aliejaus masė, g;
 m_0 – pradinė mėginio masė, perskaiciuota SM, g.

2.5.3. Tūrinio tankio įvertinimas

Tūrinis tankis (TT) nustatytas pasveriant 1 g tiriamojo mėginio į graduotą mėgintuvėlį ir įvertinant užimamą tūrį. Šis parametras apskaičiuotas pagal (2.13) formulę.

$$\text{TT, g/mL} = \frac{m}{V}; \quad (2.13)$$

čia m – mėginio masė SM, g;
 V – mėginio užimamas tūris, mL.

2.5.4. Emulsijų stabilumo statinėmis ir terminėmis sąlygomis įvertinimas

MIM žaliavos ir fermentais paveiktų mėginių emulsijos paruoštos 0,16 g išspaudų miltelių sumaišius su 8 g distiliuoto vandens bei 8 g rapsų aliejaus (*Valdo ūkis*) ir mišinys homogenizuotas (*IKA® T-25 digital Ultra-Turrax*, Vokietija) 5 min., esant 10000 aps./min. greičiui. Mišinių pH $3,7 \pm 0,3$ (dydis papildomai nekoreguotas). Paruoštos emulsijos iš karto perpiltos į graduotus mėgintuvėlius ir laikytos 3 savaites 4 °C temperatūroje, kas keletą dienų įvertinant stabilios emulsijos tūrį. Emulsijos stabilumas statinėmis sąlygomis įvertintas vizualiai pagal Huang'ą ir kt. [61]. Emulsijos stabilumas statinėmis sąlygomis išreiškiamas procentais, kaip likusios stabilios emulsijos tūris nuo bendro tūrio. Skaičiavimams naudota (2.14) formulė.

$$\text{Emulsijos stabilumas, \%} = \left(\frac{VE}{VB} \right) \cdot 100 \%; \quad (2.14)$$

kur VE – likęs stabilios emulsijos tūris, mL;
VB – bendras tūris, mL.

Vertinant emulsijų terminį stabilumą, atlikti aukščiau aprašyti veiksmai, tik papildomai graduoti mėgintuvėliai su emulsijomis kaitinami 30 min. 80 °C temperatūros vandens vonelėje (*Memmert GmbH + Co. WNB 22*, Vokietija). Po kaitinimo mėginiai atvėsinti iki kambario temperatūros, įvertintas stabilios emulsijos tūris. Toliau emulsijos laikytos 3 savaites 4 °C temperatūroje, kas keletą dienų įvertinant likusios stabilios emulsijos tūrį. Terminis emulsijų stabilumas išreikštas kaip stabilios emulsijos tūris procentais nuo bendro tūrio naudojant (2.14) formulę.

2.5.5. Spalvos charakterizavimas

MIM mėginių spalvų charakteristikos apibūdintos naudojant kolorimetrą (*Konica Minolta*, Japonija). Įvertinimui naudota *CIE Lab** spalvų erdvė: L^* skaitinė vertė apibūdina šviesumą (0 – juoda spalva, o 100 – balta spalva), a^* reikšmė – spalvos kryptis nuo žalios iki raudonos ir b^* vertė – spalvos kryptis nuo mėlynos iki geltonos. Tiriamasis mėginys pirmiausia homogenizuotas grūstuvėje ir paskleistas indelyje taip, kad pilnai padengtų indo, kuriame vykdomi matavimai, dugną. Mėginių spalvos pokyčiai nuo pradinės žaliavos įvertinti apskaičiuojant bendrą spalvos skirtumą (ΔE) iš gautų kolorimetro L^* , a^* ir b^* skaitinių verčių pagal (2.15) lygtį.

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2}; \quad (2.15)$$

kur ΔL^* – pradinės ir tiriamosios žaliavos L^* verčių skirtumas;

Δa^* – pradinės ir tiriamosios žaliavos a^* verčių skirtumas;

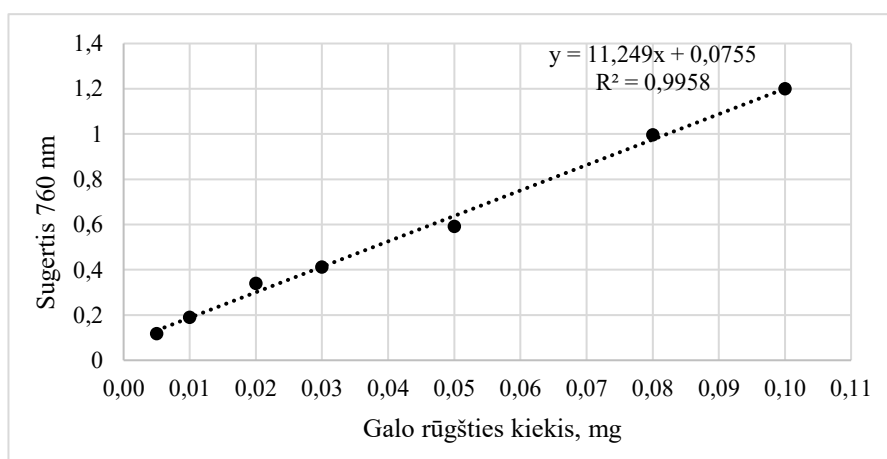
Δb^* – pradinės ir tiriamosios žaliavos b^* verčių skirtumas.

2.6. Funkcinių savybių tyrimai

2.6.1. Bendro fenolinių junginių kiekio nustatymas vandeniniuose ekstraktuose

Laisvų fenolinių junginių kiekis vandeniniuose ekstraktuose nustatytas naudojant *Folin-Ciocalteu* reagentą pagal Juodeikienę ir kt. [62]. Pirmiausia paruošti vandeniniai pradinės ir fermentais modifikuotos žaliavos ekstraktai sumaišant tiriamąjį mėginį su distiliuotu vandeniu santykiu 1:25. Mišinys centrifuguotas (*Hettich 320*, Vokietija) 8000 aps./min. greičiu 15 min. ir gautas supernatantas naudotas kiekybiniame fenolinių junginių nustatyme ir antioksidacinio aktyvumo įvertinime.

Kiekybinėje analizėje 100 μL vandeninio ekstrakto sumaišyta su 3000 μL 3,3 % Na_2CO_3 ($\geq 99,8$ % grynumo, *Eurochemicals*) vandeniniu tirpalu ir 100 μL *Folin-Ciocalteu* (*Sigma-Aldrich*) reagentu. Reakcijos mišinys sumaišytas ir laikytas kambario temperatūroje 30 min. Toliau spektrofotometru (*Thermo Scientific™ GENESYS™ 10 UV-Vis*, Vokietija) matuota šviesos spindulio sugertis 760 nm bangos ilgyje tiriamuoju tirpalu.



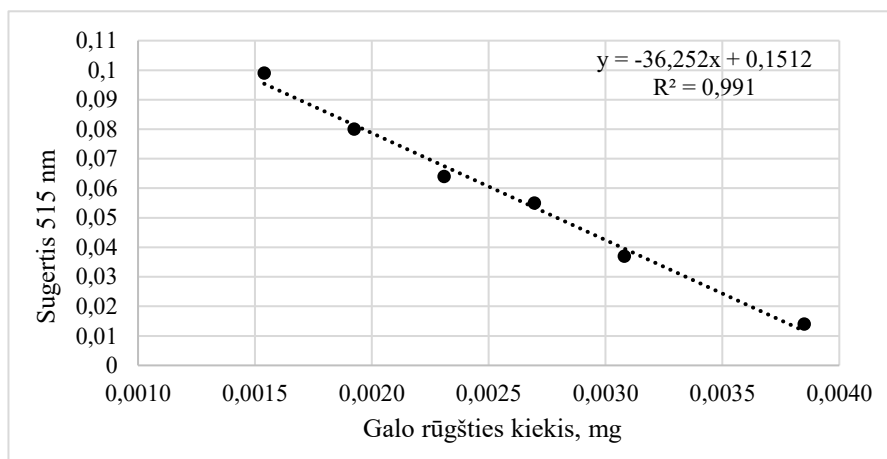
2.2 pav. Galo rūgšties kalibracinė tiesė bendram fenolinių junginių kiekiui įvertinti

Sudaryta galo rūgšties ($\geq 97,5$ % grynumo, *Sigma-Aldrich*) kalibracinė tiesė (2.2 pav.), naudojant skirtingų koncentracijų tirpalus, pakartojant aukščiau aprašytą procedūrą. Iš sudarytos tiesės lygties

nustatytas bendras laisvų fenolinių junginių kiekis, kuris išreikštas mg galo rūgšties ekvivalento (GRE) verte 100 g tiriamo mėginio SM.

2.6.2. Antioksidacinio aktyvumo įvertinimas DPPH radikalų surišimo metodu

Antioksidacinio aktyvumo nustatymui naudoti 2,2-difenilpikrildidrazido (DPPH) laisvieji radikalai [63]. Šviežiai paruošti 0,1 mM DPPH (95 %, *Alfa Aesar*) tirpalas metanolyje ir 100 mM natrio acetato buferis (pH 5,5) sumaišyti lygiomis dalimis. Toliau 3000 µL šio reagento sumaišyta su 77 µL tiriamojo mėginio vandeniniu ekstraktu ir mišinys inkubuotas 15 min. kambario temperatūroje tamsoje. Spektrofotometru (*Thermo Scientific™ GENESYS™ 10 UV-Vis*, Vokietija) išmatuota 515 nm bangos ilgio šviesos spindulio sugertis tiriamaisiais tirpalais.



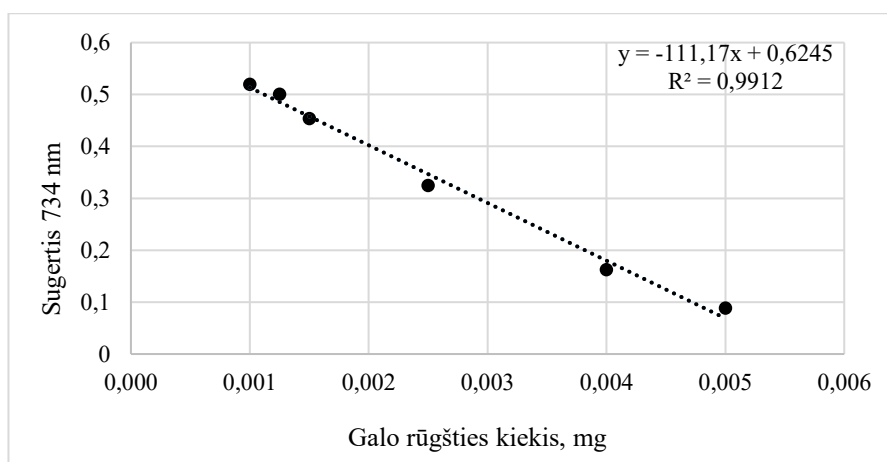
2.3 pav. Galo rūgšties kalibracinė tiesė DPPH radikalų surišimo gebai apskaičiuoti

Laisvųjų DPPH radikalų surišimo gebos įvertinimui lygiagrečiai pagal aprašytą metodiką sudaryta galo rūgšties ($\geq 97,5$ % grynumo, *Sigma-Aldrich*) kalibracinė tiesė (2.3 pav.), kurios lygtis panaudota antioksidaciniam aktyvumui apskaičiuoti, ir rezultatai išreikšti mg GRE/100 g tiriamojo mėginio SM.

2.6.3. Antioksidacinio aktyvumo nustatymas ABTS radikalų sujungimo metodu

Taip pat antioksidacinės savybės įvertintos naudojant ABTS laisvuosius radikalus pagal Re'o ir kt. modifikuotą metodiką [64]. Pirmiausia paruoštas 2,2'-azino-bis(3- etilbenzotiazolino-6-sulfonines rūgšties) diamoniako druskos (ABTS) reagentas, turintis laisvų ABTS^{•+} radikalų, kurie gaunami vykdant reakciją tarp 1:1 santykiu sumaišytų 7 mM ABTS (98 % grynumo, *Sigma-Aldrich*) vandeninio tirpalo ir 2,45 mM kalio persulfato ($\geq 99,0$ % grynumo, *Eurochemicals*) tirpalo 16 val. kambario temperatūroje tamsoje. Gautas reagentas toliau skiestas metanoliu ir matuota jo absorbcija 734 nm bangos ilgio šviesos spinduliu, kol gauta $0,700 \pm 0,010$ optinio tankio vienetų. Antioksidacinio aktyvumo tyrime 50 µL tiriamojo mėginio vandeninio ekstrakto sumaišyta su 3950 µL praskiesto ABTS tirpalo, reakcijos mišinys 30 min. maišytas ant magnetinės maišyklės (*Biosan® MSH-300*, Latvija) ir spektrofotometru (*Thermo Scientific™ GENESYS™ 10 UV-Vis*, Vokietija) išmatuota tiriamųjų tirpalų absorbcija 734 nm bangos ilgio spinduliu.

Laisvųjų ABTS radikalų surišimo gebos nustatymui lygiagrečiai pagal tą pačią procedūrą sudaryta galo rūgšties ($\geq 97,5$ % grynumo, *Sigma-Aldrich*) kalibracinė kreivė, kuri pateikiama 2.4 pav.



2.4 pav. Galo rūgšties tiesė ABTS radikalų surišimo gebai nustatyti

Kalibracinės tiesės lygtis naudota radikalų surišimo gebos skaičiavimams, o rezultatai išreikšti mg GRE/100 g tiriamojo mėginio SM.

2.6.4. Prebiotinių savybių įvertinimas

Prebiotinių savybių tyrimas atliktas pagal Przyborska ir kt. aprašytą procedūrą [65].

Bakterijų kultūrų atgaivinimas ir padauginimas

Užšaldytos bakterijų *Lactiplantibacillus plantarum* DSM 24624 ir *Lactobacillus acidophilus* DSM 20079 kultūros atgaivintos ir padaugintos komerciniame 10 mL *MRS* sultinyje (*Biolife*), o patogeno *Escherichia coli* DSM 27503 kultūra – ant 10 mL nuožulnaus *Nutrient* agarų (*Biolife*). Mėgintuvėliai su inokuliuotomis bakterijomis inkubuoti 37 °C temperatūros inkubatoriuje (*SalvisLab Incucenter IC40*, Šveicarija), skiriant po 24 ± 2 val. kiekvienam etapui: pirmoji para – atgaivinimui, o sekanti para – padauginimui.

Bakterijų inokulianto paruošimas

Toliau paruoštos bakterijų suspensijos distiliuotame vandenyje. Dviejų mėgintuvėlių turinys su padaugintomis tos pačios rūšies pieno rūgšties bakterijomis (PRB) sumaišytas purtykle (*Biosan® Vortex V-1 plus*, Latvija) ir supiltas į sterilų centrifuginį mėgintuvėlį, centrifuguota šaldoma centrifuga (*ORTOALRESA Consul 22 R*, Ispanija) 5000 aps./min. greičiu 15 min. 4 °C temperatūroje. Po centrifugavimo supernatantas nupiltas, o bakterijos resuspenduotos 20 mL sterilaus distiliuoto vandens. Dar 1 kartą pakartoti centrifugavimo, supernatanto pašalinimo ir bakterijų resuspendavimo žingsniai. Galiausiai gautos skirtingų PRB suspensijos distiliuotame vandenyje.

E. coli suspensija distiliuotame vandenyje paruošta su nedideliu kiekiu sterilaus vandens bei kilpele nuplaunant padaugintas bakterijų kolonijas nuo agarų paviršiaus ir jas perpilant į sterilų mėgintuvėlį. Plovimas pakartotas kelis kartus bei užpilta šiek tiek vandens, kad galutinis *E. coli* suspensijos tūris būtų 20 mL.

Mitybinių terpių paruošimas

Prebiotinių savybių tyrime komercinis prebiotikas (100 % cikorijos šaknų inulinas, *SCUCO*) bei pradinė ir fermentais modifikuotų MIM tirpios frakcijos naudotos kaip anglies šaltinio alternatyvos. Komerciniai *MRS* ir *Nutrient* mitybinių terpių sultiniai savo sudėtyje jau turi gliukozės, tad šiame

tyrimo žingsnyje ruoštos terpės iš atskirų komponentų ir be anglies šaltinio. Paruoštų mitybinių terpių sudėtis pateikta 2.2 lentelėje.

2.2 lentelė. Iš atskirų komponentų paruoštų mitybinių terpių sudėtys

MRS sultinio sudėtis be gliukozės:	– 10 g sojų peptono (<i>Liofilchem</i>);	– 2 g dikalio fosfato ($\geq 98\%$, <i>Sigma-Aldrich</i>);
	– 8 g jautienos ekstrakto (<i>Liofilchem</i>);	– 1 g polisorbato 80 (<i>Liofilchem</i>);
	– 5 g natrio acetato ($\geq 99\%$, <i>Eurochemicals</i>);	– 0,2 g magnio sulfato heptahidrato ($\geq 99,5\%$, <i>Sigma-Aldrich</i>);
	– 4 g mielių ekstrakto (<i>Liofilchem</i>);	– 0,05 g mangano (II) sulfato tetrahidratas (\geq 98,5 %, <i>Sigma-Aldrich</i>);
	– 2 g amonio citrato ($\geq 98\%$, <i>Sigma-Aldrich</i>);	– 1000 mL distiliuoto vandens.
Nutrient sultinio sudėtis be gliukozės:	– 15 g sojų peptono (<i>Liofilchem</i>);	– 3 g mielių ekstrakto (<i>Liofilchem</i>);
	– 6 g natrio chlorido ($\geq 99\%$, <i>Eurochemicals</i>)	– 1000 mL distiliuoto vandens.

Paruoštos terpės toliau papildytos 1 g/L D-gliukozės, inulinu ir skirtingų MIM mėginių tirpiomis frakcijomis (prebiotikais), išskyrus eksperimento kontrolinį mėginį, kuriame nebuvo anglies šaltinio.

Prebiotinių savybių nustatymo tyrimas

Paruoštos prebiotinių bakterijų suspensijos distiliuotame vandenyje toliau naudotos inokuliuoti (po 100 μ L) paruoštas 10 mL *MRS* sultinio mitybines terpes su skirtingais anglies šaltiniais, o patogeno suspensija – 10 mL *Nutrient* sultinio mitybines terpes su skirtingomis gliukozės alternatyvomis. Mėginiai su bakterijomis inkubuoti 37 °C temperatūros termostate (*SalvisLab Incucenter IC40*, Šveicarija) 48 ± 2 val. Siekiant įvertinti pradinę bakterijų koncentraciją mėginiuose, po inokuliacijos (0 val.) paimti mėginių 1 mL bandiniai, kuriems spektrofotometru (*Thermo Scientific™ GENESYS™ 10 UV-Vis*, Vokietija) matuotas optinis tankis 600 nm bangos ilgio spinduliu. Optinio tankio matavimai pakartoti praėjus 24 ± 2 ir 48 ± 2 val. po inokuliacijos, siekiant įvertinti, ar įdėtas alternatyvus anglies šaltinis skatina mikroorganizmų augimą. Tyrimas atliktas su dviem pakartojimais, o iš vieno mėgintuvėlio paimtų bandinių absorbcijos matuotos po 2 kartus. PRB, augintų su skirtingais prebiotikais, prebiotinio indekso (PI) vertės apskaičiuotos pagal (2.16) lygtį [65].

$$PI = \frac{(\Delta OT_{PRB} \text{ su prebiotiku} - \Delta OT_{PRB} \text{ kontrolė}) / (\Delta OT_{PRB} \text{ su gliukoze} - \Delta OT_{PRB} \text{ kontrolė})}{(\Delta OT_P \text{ su prebiotiku} - \Delta OT_P \text{ kontrolė}) / (\Delta OT_P \text{ su gliukoze} - \Delta OT_P \text{ kontrolė})}; \quad (2.16)$$

čia ΔOT_{PRB} su prebiotiku – optinių tankių, išmatuotų 24 ir 0 val., skirtumas, kada mėginyje kultivuotos PRB su tiriamuoju prebiotiku kaip anglies šaltiniu;

ΔOT_{PRB} kontrolė – optinių tankių, išmatuotų 24 ir 0 val., skirtumas, kada mėginyje kultivuotos PRB be gliukozės;

ΔOT_{PRB} su gliukoze – optinių tankių, išmatuotų 24 ir 0 val., skirtumas, kada mėginyje kultivuotos PRB su gliukoze;

ΔOT_P su prebiotiku – optinių tankių, išmatuotų 24 ir 0 val., skirtumas, kada mėginyje kultivuotos patogeninės bakterijos su tiriamuoju prebiotiku;

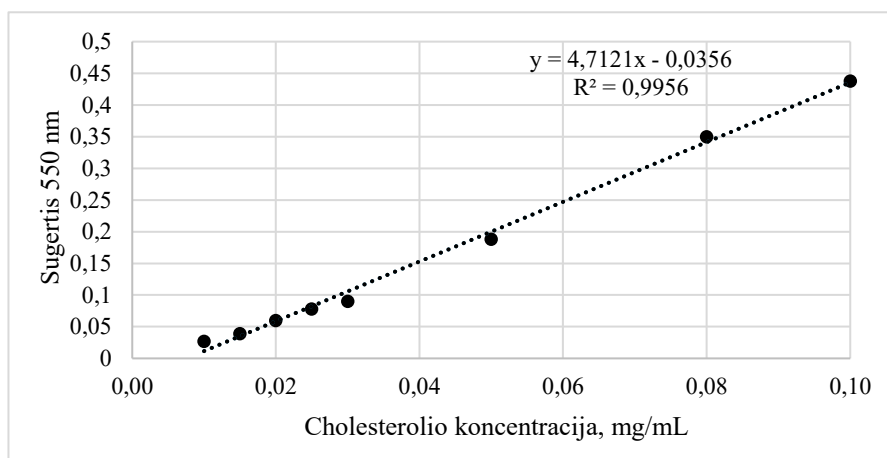
ΔOT_P kontrolė – optinių tankių, išmatuotų 24 ir 0 val., skirtumas, kada mėginyje kultivuotos patogeninės bakterijos be gliukozės;

ΔOT_P su gliukoze – optinių tankių, išmatuotų 24 ir 0 val., skirtumas, kada mėginyje kultivuotos patogeninės bakterijos su gliukoze.

2.6.5. Cholesterolio surišimo gebos nustatymas

Žaliavos bei fermentais paveiktų MIM gebėjimas surišti cholesterolį *in vitro* tirtas pagal Zhang'as ir kt. metodiką su pakeitimais [66]. Šiame metode naudotas šviežias kiaušinio trynys, kuris natūraliai sudėtyje turi apie 15 mg/g cholesterolio, kaip modelinė sistema vietoj cholesterolio, kadangi šis sunkiai tirpsta vandenyje net ir pridėjus emulsiklių [66]. Pirmiausia kiaušinio trynys atskirtas nuo baltymo ir išplaktas su 9 kartais didesniu kiekiu distiliuoto vandens. Toliau 0,5 g tiriamojo mėginio sumaišyta su 25 mL praskiesto kiaušinio trynio tirpalu (tyrimo kontrolei naudotas trynio tirpalas be MIM) ir sureguliuotas mišinio terpės pH iki 7 ir 2 su 1M NaOH ($\geq 99\%$ grynumo, *Eurochemicals*) bei HCl (37 %, *Eurochemicals*) – šios sąlygos atitinkamai imituoja pH vertes plonojoje žarnoje ir skrandyje. Mišiniai inkubuoti 2 val. 37°C temperatūroje vandens vonelėje (*Memmert GmbH + Co. WNB 22*, Vokietija) su 120 aps./min. greičio maišymu. Mėginių spalvos pašalinimui 10 mL reakcijos mišinio sumaišyta su 0,1 g polivinilpolipirolidono (dalelių dydis apie 110 μm , *Sigma-Aldrich*) ir po 1 min. maišymo adsorbentas nufiltruotas per filtrinį popierių (*PRAT DUMAS QLDF-125-100*, Prancūzija). Toliau 0,25 mL surinkto filtrato sumaišyta su 1 mL 96 % etilo alkoholiu (*Stumbras*) ir TSM nuosėdos išsodintos centrifuga (*Hettich 320*, Vokietija) 5000 aps./min. greičiu 20 min.

Laisvo (nesurišto) cholesterolio kiekio nustatymui kiaušinio trynio bei MIM mišiniuose naudotas kolorimetrinis metodas pagal Park'o aprašytą procedūrą su pakeitimais [67]. Pirmiausia paruoštas ftaldialdehido reagentas: 0,05 g ftaldialdehido ($\geq 97\%$ grynumo, *Biotecha*) ištirpinta 100 mL ledinės acto rūgšties (99,5%, *Eurochemicals*). Toliau 1 mL supernatanto (tuščiame mėginyje supernatantas pakeistas tokiu pačiu kiekiu etanolio) sumaišyta su 4 ml ftaldialdehido reagento, palaikyta 10 min. Toliau pilta 2 mL koncentruotos (95 %) sieros rūgšties (*Eurochemicals*) ir dar po 10 min. spektrofotometru (*Thermo Scientific™ GENESYS™ 10 UV-Vis*, Vokietija) matuota absorbcija 550 nm bangos ilgio šviesos spinduliu. Cholesterolio kiekis apskaičiuotas pagal cholesterolio kalibracinės tiesės lygtį.



2.5 pav. Kalibracinė tiesė cholesterolio kiekio nustatymui

Cholesterolio kiekiui mėginiuose apskaičiuoti sudaryta cholesterolio kalibracinė tiesė (žr. 2.5 pav.): pasiruoštas 1 mg/mL cholesterolio ($\geq 99\%$ grynumo, *Biotecha*) tirpalas etanolyje, o ši toliau skiedžiant paruošti skirtingų koncentracijų (0,01 – 0,3 mg/mL) tirpalai. Vykdytas kolorimetrinis cholesterolio kiekio nustatymas su ftaldialdehido reagentu pagal aprašytą procedūrą.

Galiausiai tiriamųjų mėginių cholesterolio surišimo geba (CSG) apskaičiuota pagal pateiktą (2.17) formulę ir gauti rezultatai perskaičiuoti į SM įvertinant mėginių drėgnius [66].

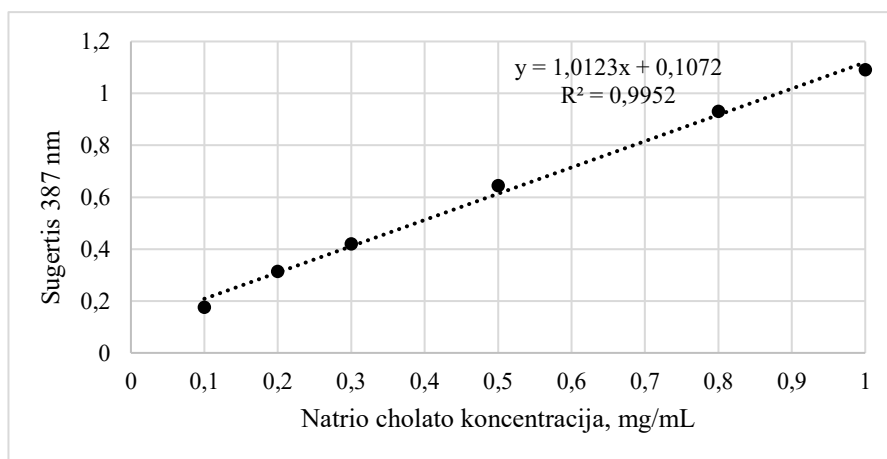
$$\text{CSG, mg/g} = \frac{(C_1 - C_2) \cdot F}{m} \cdot V; \quad (2.17)$$

čia C_1 – cholesterolio koncentracija kontroliniame mėginyje (kiaušinio trynio tirpale), mg/mL;
 C_2 – cholesterolio koncentracija MIM ir kiaušinio trynio mišinyje po inkubacijos, mg/mL;
 F – praskiedimas, kartai;
 m – MIM kiekis, g;
 V – inkubuoto mėginio (MIM ir kiaušinio trynio mišinio) tūris, mL (25 mL).

2.6.6. Tulžies druskų surišimo gebos įvertinimas

MIM gebėjimas surišti tulžies druskas *in vitro* įvertintas remiantis Xu'o ir kt. aprašyta metodika [68]. Pirmiausia 0,2 g tiriamojo mėginio ir 0,2 g natrio cholato ($\geq 97\%$ grynumo, *Sigma-Aldrich*) sumaišyta su 100 mL natrio chlorido ($\geq 99\%$, *Eurochemicals*) tirpalu, kurio koncentracija 125 mmol/l ir pH lygus 7. Lygiagrečiai paruoštas kontrolinis mėginys be išspaudų. Paruošti mišiniai inkubuoti 2 val. 37 °C temperatūros vandens vonelėje (*Memmert GmbH + Co. WNB 22*, Vokietija) su 120 aps./min. greičio maišymu. Po inkubacijos mėginiai centrifuguoti (*Hettich 320*, Vokietija) 5000 aps./min. 20 min. ir surinktas supernatantas toliau naudotas nesurišto natrio cholato kiekio nustatymui.

Natrio cholato kiekybinė analizė supernatante atlikta pagal Shen'o ir kt. metodinį aprašą [69]. 0,5 ml supernatanto sumaišyta su 4,5 ml 42 % sieros rūgštimi (*Eurochemicals*) ir mišinys inkubuotas 20 min. 70 °C temperatūros vandens vonelėje. Natrio cholato koncentracija apskaičiuota pagal parengtą kalibracinę kreivę (2.6 pav.), kuri sudaryta sumaišius skirtingų koncentracijų (0,1–1 mg/mL) natrio cholata, ištirpintą 125 mmol/L natrio chlorido tirpale, su sieros rūgštimi (kaip aprašyta aukščiau) ir spektrofotometru (*Thermo Scientific™ GENESYS™ 10 UV-Vis*, Vokietija) išmatavus šių tirpalų absorbcijas 387 nm bangos ilgio šviesos spinduliu.



2.6 pav. Kiekybinei analizei parengta natrio cholato tiesė

Galiausiai natrio cholato surišimo geba (NaChSG) apskaičiuota pagal (2.18) formulę [69].

$$\text{NaChSG, mg/g} = \frac{C_1 - C_2}{m} \cdot V; \quad (2.18)$$

čia C_1 – natrio cholato koncentracija kontroliniame mėginyje, mg/mL;
 C_2 – natrio cholato koncentracija mėginyje su išspaudomis, mg/mL;
 m – tiriamojo mėginio masė, g;
 V – inkubuoto mišinio tūris, mL (100 mL).

2.6.7. Gliukozės, sacharozės bei fruktozės absorbcijos gebos nustatymas

Pradinių ir fermentais paveiktų MIM gebėjimas absorbuoti gliukozę (GA), sacharozę (SA) ir fruktozę (FA) nustatytas pagal Bhutkar'o ir kt. metodiką su pakeitimais [70]. Pirmiausia 1 g tiriamojo mėginio sumaišyta su 25 mL įvairios koncentracijos (5, 10, 50 ir 100 mmol/L) D-gliukozės tirpalais (papildomai sacharozės bei fruktozės nepridėta), o kontrolėje naudotas toks pat kiekis distiliuoto vandens. Mišinys inkubuotas 6 val. 37 °C temperatūros vandens vonelėje (*Memmert GmbH + Co. WNB 22*, Vokietija) su periodiniu 120 aps./min. greičio maišymu. Po inkubacijos gliukozės, sacharozės bei fruktozės koncentracijos mišiniuose tirtos naudojant sacharozės / D-fruktozės / D-gliukozės tyrimo rinkinį (*Megazyme*, Airija), kaip nurodyta 2.3.7 poskyryje. Galiausiai MIM gebėjimas surišti skirtingus cukrus įvertintas pagal (2.19) ir (2.20) formules [70].

$$GA, \text{ mmol/g} = \frac{C_0 - (C_1 - C_2)}{m} \cdot V; \quad (2.19)$$

$$SA \text{ (FA)}, \text{ mmol/g} = \frac{C_3 - C_4}{m} \cdot V; \quad (2.20)$$

kur C_0 – pradinė gliukozės tirpalo koncentracija, mmol/L;

C_1 – nustatyta gliukozės koncentracija mėginiuose su MIM ir įvairių koncentracijų (5, 10, 50 ir 100 mmol/L) gliukozės tirpalu po 6 val. inkubacijos, mmol/L;

C_2 – nustatyta gliukozės koncentracija kontroliniame MIM mėginyje (be papildomos gliukozės) po 6 val. inkubacijos, mmol/L;

C_3 – nustatyta sacharozės (ar fruktozės) koncentracija mėginiuose su MIM ir įvairių koncentracijų (5, 10, 50 ir 100 mmol/L) gliukozės tirpalu po 6 val. inkubacijos, mmol/L;

C_4 – nustatyta sacharozės (fruktozės) koncentracija kontroliniame MIM mėginyje po 6 val. inkubacijos, mmol/L;

m – MIM kiekis, g;

V – mėginio tūris, L (0,025 L).

2.7. Maisto papildu su morkų išspaudų milteliais gamyba bei probiotinių bakterijų gyvybingumo įvertinimas

Siekiant įvertinti pradinės bei fermentais modifikuotos MIM žaliavos panaudojimo galimybes, tirtas jų pritaikomumas kuriant prebiotinėmis bei probiotinėmis savybėmis pasižyminčius sinbiotinius maisto papildus. Tam į pradinę, *Sternzym* fermentų preparatu paveiktą bei šaltyje džiovintą žaliavą įterptos *L. plantarum* bakterijos, kurių gyvybingumas įvertintas laikymo metu.

2.7.1. Probiotinių bakterijų inokulianto paruošimas

Užšaldyta bakterijų *Lactiplantibacillus plantarum* DSM 24624 kultūra pirmiausia atgavinta dvejuose mėgintuvėliuose su 10 mL *MRS* sultiniu (*Biolife*), šie inkubuoti 48 ± 2 val. 37 ± 1 °C temperatūros inkubatoriuje (*SalvisLab Incucenter IC40*, Šveicarija). Mėgintuvėliai su atgavintomis bakterijomis sumaišyti purtykle (*Biosan® Vortex V-1 plus*, Latvija) ir supilti į sterilius centrifuginius mėgintuvėlius, centrifuguoti (*ORTOALRESA Consul 22 R*, Ispanija) 5000 aps./min. greičiu 15 min. 4 °C temperatūroje. Po centrifugavimo supernatantai nupilti, o bakterijos perkeltos padauginimui į mėgintuvėlius su 10 mL šviežios *MRS* terpės. Mėgintuvėliai inkubuoti 24 ± 2 val. 37 ± 1 °C temperatūros inkubatoriuje. Toliau atliktas antras probiotikų pagausinimas: pakartotas centrifugavimo žingsnis, o nusodintos bakterijos perkeltos į buteliukus su 200 mL *MRS* sultinio, kurie laikyti sekančias 24 ± 2 val. 37 ± 1 °C temperatūros inkubatoriuje. Galiausiai paruoštos bakterijų

suspensijos distiliuotame vandenyje: bakterijų ir sultinio turinys iš buteliuko supilstytas į sterilius centrifuginius mėgintuvėlius, centrifuguota 5000 aps./min. greičiu 15 min. 4 °C temperatūroje, bakterijos resuspenduotos 20 mL sterilaus distiliuoto vandens. Pakartoti dar 2 kartus centrifugavimo, supernatanto pašalinimo ir bakterijų resuspendavimo žingsniai siekiant pašalinti *MRS* terpės likučius, o po kiekvieno centrifugavimo bakterijų biomasė sukoncentruota kelių mėgintuvėlių turinį perpilant į vieną. Tokiu būdu gautos dvi koncentruotos probiotikų suspensijos distiliuotame vandenyje.

2.7.2. Morkų išspaudų miltelių paruošimas bei maisto papildų gamybos procesas

Paruošti trys mėginiai: pradinė bei *Sternzym* fermentų preparatu paveikta MIM, taip pat liofilizuota žaliava. Mėginiai paruošti pagal 2.4 poskyryje aprašytą metodiką su nedideliais pakeitimais. Trumpai: paruošti tik fermentinės hidrolizės kontrolės bei *Sternzym* fermentų mišiniu modifikuoti MIM mėginiai (po 2 pakartojimus) sumaišant 7,5 g MIM su 112,5 mL distiliuoto vandens bei 0,75 mL fermento (kontrolėje – tokiu pačiu kiekiu distiliuoto vandens) ir vykdyta hidrolizė 1 val. 50 ± 1 °C temperatūros vandens vonelėje (*Memmert GmbH + Co. WNB 22*, Vokietija) su 200 aps./min. greičio purtymu. Po hidrolizės atliktas fermentų inaktyvavimas karštoje vandens vonelėje ir mėginiai atvėsinti iki kambario temperatūros bei sumaišyti su probiotinėmis bakterijomis: probiotinių bakterijų suspensija padalinta į 3 lygias dalis ir po 1 dalį (šiuo atveju po 20 mL) įpilta į atvėsčius hidrolizės kontrolės bei *Sternzym* preparatu modifikuotus MIM mėginius. Lengvais judesiais mėginiai su bakterijomis išmaišyti, išpilstyti į liofilizavimo indelius, užšaldyti ir liofilizuoti (*Harvest Right™*, JAV). Šaltyje išdžiovinti MIM bei probiotikų milteliai laikyti 4 °C temperatūroje sandariai uždarytame indelyje, kurie papildomai apsukti plėvele (*Bemis Company Parafilm® M*, JAV). Likusi 1 dalis *L. plantarum* bakterijų suspensijos taip pat supilta į liofilizavimo indelį ir išdžiovinta šaltyje.

Lygiagrečiai paruoštas liofilizuotas hidrolizės kontrolės mėginys: 7,5 g MIM sumaišyta su 113,25 mL distiliuoto vandens, mišinys išlaikytas 1 val. 50 ± 1 °C temperatūros vandens vonelėje, po šio laiko atvėsintas iki kambario temperatūros. MIM ir vandens mišinys išpilstytas į indelius ir išdžiovintas šaltyje. Atskirai liofilizuotos probiotinės bakterijos bei liofilizuotas hidrolizės kontrolės mėginys sumaišyti viename indelyje, o uždarytas indelis apsuktas drėgmei atsparia plėvele ir laikytas 4 °C temperatūroje kartu su kitais mėginiais.

2.7.3. Probiotinių bakterijų gyvybingumo įvertinimas

Prieš MIM papildant bakterijomis, įvertinta probiotikų koncentracija pradinėje suspensijoje: išmatuotas suspensijos optinis tankis 600 nm bangos ilgyje, kad būtų nustatyta preliminari koncentracija, toliau atlikti serijiniai skiedimai mėgintuvėliuose su 0,85 % steriliu fiziologiniu (NaCl) tirpalu ir trys skiedimai (kiekvieno 2 pakartojimai) po 1 mL giluminiu būdu pasėti į *Petri* lėkšteles, kurios užpiltos *MRS* agaru (*Biolife*). Lėkštelės inkubuotos 48 ± 2 val. 37 ± 1 °C temperatūros inkubatoriuje, po šio laiko lėkštelėse išaugusios bakterijų kolonijos suskaičiuotos ir kolonijas sudarančių vienetų skaičius N apskaičiuotas pagal (2.21) formulę ir papildomai perskaičiuotas į \log_{10} KSV/mL.

$$N, \text{ KSV/mL} = \frac{n \cdot d}{V}; \quad (2.21)$$

čia n – suskaičiuotos kolonijos (nuo 10 iki 300 kolonijų), vnt.;

d – praskiedimo laipsnis;

V – į lėkštelę pasėtas mėginio tūris, mL (1 mL).

Bakterijų gyvybingumas pagamintuose trijuose maisto papilduose vertintas praėjus 24 val., 1–4 sav., 8 sav. ir 12 sav. nuo liofilizavimo pagal Boev'o ir kt. metodiką su pakeitimais [71]. Įvertinimas atliktas tokia tvarka: pirmiausia kiekvieno produkto pasverta po 0,5 g steriliame 100 mL buteliuke, užpilta 49,5 mL steriliu 0,85 % fiziologiniu tirpalu ir mėginiai palikti 10 min. hidratuoti. Po šio laiko atlikti serijiniai skiedimai ir trys paskiedimai (po 2 pakartojimus) pasėti giluminiu būdu *Petri* lėkštelėse kaip aprašyta aukščiau. Galiausiai pagal (2.22) formulę įvertintas bakterijų kolonijas sudarančių vienetų skaičius, kuris toliau perskaičiuotas į \log_{10} KSV/g rezultatų palyginimo tikslais.

$$N, \text{ KSV/g} = \frac{n \cdot d}{V \cdot m}; \quad (2.22)$$

čia n – suskaičiuotos kolonijos (nuo 5 iki 300 kolonijų), vnt.;

d – praskiedimo laipsnis;

V – į lėkštelę pasėtas mėginio tūris, mL (1 mL);

m – mėginio kiekis, g.

2.8. Duomenų statistinė analizė

Duomenys apdoroti *Microsoft Excel* programiniame pakete. Eksperimentų rezultatai pateikiami apskaičiuota vidutine duomenų verte \pm standartinis nuokrypis. Statistiškai reikšmingi skirtumai tarp mėginių įvertinti taikant vieno faktoriaus dispersinę analizę (angl. *one-way ANOVA*) pagal Brown-Forsythe ir Welch testus. Grupių skirtumų indentifikavimui atlikti daugybiniai palyginimai (angl. *post hoc*) taikant Games-Howell kriterijų. Ši duomenų analizė atlikta naudojant *GraphPad Prism* programinę įrangą. Emulsijų stabilumo, gliukozės adsorbcijos gebos ir bakterijų gyvybingumo duomenims analizuoti taikyta dviejų faktorių dispersinė analizė ir daugybiniai palyginimai pagal Šidák kriterijų, naudojant *RStudio* programinę aplinką dėl *GraphPad Prism* programos apribojimų. Skirtumai laikyti statistiškai reikšmingais, kai $p < 0,05$.

3. Tyrimų rezultatai ir jų aptarimas

Laboratorinių tyrimų metu buvo siekiama nustatyti morkų išspaudų charakteristikas bei skirtingų komercinių fermentų preparatų poveikį jų skaidulinių medžiagų sudėčiai, technologiniams bei funkciniais rodikliams. Taip pat įvertintos pradinės ir fermentais modifikuotos žaliavos galimybės maisto papildų vystyme.

3.1. Morkų išspaudų miltelių cheminė sudėtis

Pirmajame eksperimentų etape įvertinti pradinės žaliavos miltelių, kurių dalelių dydis $\leq 0,2$ mm, cheminiai rodikliai (žr. 3.1 lentelė). Nustatytas MIM drėgnis siekė $9,63 \pm 0,20$ g/100 g, kuris įvertintas sudėties perskaičiavimui į SM.

3.1 lentelė. MIM cheminė kompozicija sausomis medžiagomis

Parametrai	Cheminė sudėtis, g/100 g SM
Baltymų kiekis	$6,91 \pm 0,30$
Lipidų kiekis	$0,59 \pm 0,02$
Mineralinių medžiagų kiekis	$6,81 \pm 0,06$
Angliavandenių kiekis	$18,70 \pm 1,29$
Redukuojantys sacharidai	$12,39 \pm 0,04$
Tirpios skaidulinės medžiagos	$25,52 \pm 0,70$
Netirpios skaidulinės medžiagos	$41,48 \pm 1,95$
Bendras skaidulinių medžiagų kiekis	$66,99 \pm 1,25$

Iš 3.1 lentelėje pateiktų rezultatų matyti, kad pradinė žaliava turtinga skaidulinėmis medžiagomis, iš kurių daugiausia NSM, o didžiąją dalį angliavandenių sudaro redukuojantys cukrūs. Taip pat šiame šalutiniame sulčių gamybos produkte nustatytas nedidelis lipidų kiekis su panašiais mineralų ir baltymų kiekiais.

Kitų tyrimų rezultatai patvirtina, kad morkų išspaudų cheminė sudėtis gali varijuoti priklausomai nuo šakniavaisio rūšies. Luca'as ir kt. nustatė keturių skirtingų rūšių morkų išspaudų cheminę sudėtį tokiuose režiuose: $46,6\text{--}59,0$ g/100 g angliavandenių, $6,9\text{--}9,1$ g/100 g baltymų, $0,7\text{--}1,1$ g/100 g riebalų, $5,3\text{--}5,9$ g/100 g mineralų ir $20,1\text{--}33,3$ g/100 g skaidulų [17]. Kituose tyrimuose pateikiama panaši išspaudų sudėtis, papildomai nurodant $8\text{--}9$ g/100 g redukuojančių cukrų ir didesnius, iki 60 g/100 g, skaidulinių medžiagų kiekius [72, 73].

Palyginus literatūroje pateiktus duomenis su šiame tyrime gautais rezultatais, nustatyti didesni skaidulinių medžiagų bei mažesni angliavandenių kiekiai. Kaip ir minėta literatūros analizėje (1.1.2 skyrelyje), skaidulinių medžiagų sudėtis bei kiekis gali kisti ne tik nuo daržovės rūšies, tačiau ir nuo sulčių išgavimo būdo. Kadangi tyrime išspaudos išgautos tik mechaninėmis jėgomis, daroma prielaida, kad šios jėgos neturėjo įtakos skaidulinių medžiagų sudėties pokyčiams bei didesnis netirpios frakcijos kiekis liko sulčių gamybos šalutiniame produkte. Tuo tarpu tirpūs angliavandeniai galėjo būti pašalinti kartu su sulčių frakcija. Taip pat nustatytas didesnis redukuojančių sacharidų ir mineralinių medžiagų kiekis, kuriems įtakos galėjo turėti morkų augimo sąlygos bei šakniavaisio branda – sukaupta daugiau maistinių medžiagų, kurios reikalingos sėklų brandinimui.

3.2. Fermentinio modifikavimo įtaka skaidulinių medžiagų sudėties ir cukrų pokyčiams

Mitybos požiūriu palankiausi laikomas TSM ir NSM santykis 1:1–1:2 ribose, kadangi šis balansas siejamas su didžiausiu skaidulų fiziologiniu efektyvumu žmogaus sveikatai [46, 47]. Pradinėje MIM žaliavoje šis santykis siekė 1:1,6. Nors nustatytas maistingų skaidulų santykis atitinka rekomendacijas, tačiau siekiant padidinti šalutinio produkto funkcionalumą bei kryptingai modifikuoti skaidulų sudėtį ir pakoreguoti TSM/NSM santykį, panaudoti komerciniai fermentų mišiniai, kurių sudėtis nurodoma 2.1 lentelėje. Šių preparatų sudėtį sudaro skirtingų grupių fermentai (celiulazių, pektinazių ir hemiceliulazių), veikiantys skirtingus skaidulų struktūrinius komponentus. Skaidulinių medžiagų sudėties bei TSM ir NSM santykio pokyčiai pradiniam bei skirtingais fermentais apdorotuose MIM mėginiuose pateikti 3.2 lentelėje.

3.2 lentelė. Skaidulinių medžiagų sudėties, kiekio bei jų tirpios–netirpios frakcijų santykių palyginimas tirtuose mėginiuose (čia Pr – pradinė žaliava, K – fermentinės hidrolizės kontrolė, P, S, V ir C – atitinkamai *Pectinex*, *Sternzym*, *Viscozyme* ir *Celluclast* fermentais paveiktos išspaudos)

Mėginys	TSM, g/100 g SM	NSM, g/100 g SM	BSM, g/100 g SM	TSM/NSM santykis
Pr	25,52 ± 0,70 ^a	41,48 ± 1,90 ^a	66,99 ± 1,25 ^a	1:1,6
K	25,71 ± 1,33 ^a	41,06 ± 0,59 ^a	66,77 ± 0,73 ^a	1:1,6
P	13,87 ± 0,12 ^b	18,35 ± 0,97 ^b	32,22 ± 0,85 ^b	1:1,3
S	13,31 ± 0,70 ^b	22,63 ± 0,19 ^c	35,94 ± 0,90 ^c	1:1,7
V	13,64 ± 0,11 ^b	17,03 ± 0,28 ^b	30,67 ± 0,17 ^b	1:1,2
C	24,24 ± 1,45 ^a	36,12 ± 0,55 ^d	60,35 ± 2,00 ^d	1:1,5

Skirtingos raidės rodo statistiškai reikšmingus skirtumus stulpelyje, kai $p < 0,05$.

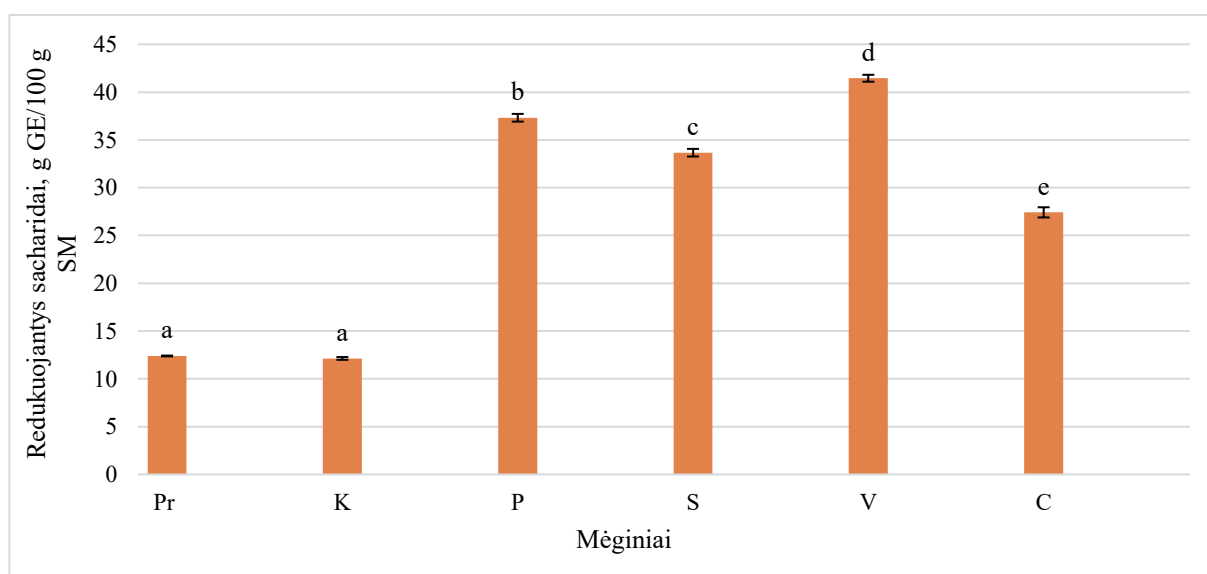
Tyrime nustatytas reikšmingas NSM frakcijos bei bendro skaidulinių medžiagų (BSM) kiekio sumažėjimas visuose fermentais apdorotuose mėginiuose, lyginant su pradine žaliava. Tuo tarpu TSM pokytis priklausė nuo naudotų fermentų preparato. Didžiausi NSM ir BSM kiekio sumažėjimai užfiksuoti *Viscozyme* apdorotuose MIM, kuriuose aptarti dydžiai atitinkamai pakito 59,0 % ir 54,2 %. Šiek tiek mažesni, bet panašūs, paminėtų parametrų pokyčiai užfiksuoti ir mėginyje, modifikuotame su *Pectinex* preparatu. Kadangi hidrolizė su *Viscozyme* ir *Pectinex* labiausiai paveikė NSM frakcijos kiekius bei reikšmingais sumažino TSM, šių rodiklių verčių sumažėjimas turėjo įtakos ir TSM/NSM santykiui, kuris atitinkamai sumažėjo iki 1:1,2 ir 1:1,3. Kita vertus, didžiausias TSM frakcijos pokytis (47,9 %) nustatytas MIM, paveiktuose *Sternzym*, tačiau šie fermentai mažiau (46,4 %) paveikė NSM kiekį. Paminėti pakitimai skaidulų frakcijose turėjo įtakos TSM/NSM santykiui – šis padidėjo iki 1:1,7. Tuo tarpu hidrolizė su *Celluclast* mažiausiai paveikė NSM ir BSM kiekius – apskaičiuoti pokyčiai atitinkamai siekė 12,9 % ir 9,9 %, o TSM pokyčiui reikšmingos įtakos neturėjo.

Panašūs pastebėjimai pateikiami Šimkutės ir kt. tyrime, kuriame nurodoma, kad bruknių išspaudų fermentinė hidrolizė, taikant *Viscozyme*[®] L ir *Pectinex*[®] Ultra Tropical fermentų preparatus, turėjo reikšmingos įtakos BSM sumažėjimui, o *Celluclast*[®] 1.5 L fermentai mažiau paveikė šį rodiklį [74]. Tačiau, priešingai nei nustatyta šiame tyrime, mokslinėje literatūroje dažnu atveju nurodomas TSM frakcijos kiekio padidėjimas. Pavyzdžiui, fermentinis apdorojimas *Pectinex*[®] Ultra SP-L, *Viscozyme*[®] L ir *Celluclast*[®] 1.5 L padidino TSM frakcijas skirtinguose vaisių ir daržovių šalutiniuose produktuose, o didžiausias BSM sumažėjimas taip pat siejamas su *Viscozyme*[®] L veikimu [75]. Nors šiame tyrime neužfiksuotas TSM kiekio pagausėjimas, vis dėlto tai gali būti susiję su tiriamos augalinės žaliavos ląstelės sienelės polisacharidų sudėtimi, apdorojimo sąlygomis bei

taikyto skaidulinių medžiagų nustatymo metodo apribojimais. Tikėtina, kad dalis susidariusių mažesnės molekulinės masės tirpių angliavandenių šiame tyrime nebuvo išsodinti 96 % etanoliu, tad tikslesnei TSM frakcijos sacharidų sudėčiai nustatyti reikėtų naudoti papildomus analizės metodus, kaip didelio efektyvumo skysčių chromatografiją (angl. *high-performance liquid chromatography*).

Mokslinėje literatūroje duomenų apie morkų išspaudų modifikavimą naudojant komercinius fermentų mišinius yra nedaug, tačiau Yu'o ir kt. tyrimai patvirtina tai, kad morkų išspaudų skaidulų sudėties modifikavimas fermentais yra efektyviausias būdas didinti TSM kiekį, lyginant su itin smulkaus smulkinimo (angl. *ultrafine comminution*) bei aukšto hidrostatinio slėgio modifikavimo technikomis [60].

MIM fermentinės hidrolizės metu nustatyti ne tik maistinių skaidulų sudėties ir kiekio pokyčiai, bet ir redukuojančių sacharidų didėjimas. Hidrolizės metu skaidant struktūrinius polisacharidus susidarė mažesnės molekulinės masės angliavandeniai – oligosacharidai bei di- ir monosacharidai, kas lėmė redukuojančių sacharidų kiekio pokytį. Visuose fermentais paveiktuose MIM mėginiuose (žr. 3.1 pav.) nustatytas statistiškai reikšmingas redukuojančių angliavandenių kiekio padidėjimas, kuris, didėjančia tvarka, pasiskirstė taip: C < S < P < V. MIM hidrolizė su *Celluclast* lėmė mažiausią, 2,21 karto, redukuojančių cukrų padidėjimą, o hidrolizė su *Viscozyme* fermentų preparatu – didžiausią, 3,34 karto, pokytį lyginant su nehidrolizuotu pradinio mėginiu.



3.1 pav. Redukuojančių cukrų kiekiai skirtinguose MIM mėginiuose, kur Pr – pradinė žaliava, K – fermentinės hidrolizės kontrolė, P, S, V ir C – Pectinex, Sternzym, Viscozyme ir Celluclast fermentais modifikuota žaliava (a–e raidės nurodo reikšmingus skirtumus tarp mėginių, kai $p < 0,05$)

Mokslinėje literatūroje pateikiami eksperimentų rezultatai patvirtina redukuojančių cukrų didėjimą po žaliavos fermentinio apdorojimo [55, 76, 77]. Taip pat nurodoma, kad celiuliazės ir β -gliukozidazės fermentai yra efektyviausi išskiriant gliukozę, pektinazės išlaisvina fruktozę, o hemiceliuliazės – kilozę, arabinozę ir manozę [77]. O paminėti cukrūs priskiriami redukuojantiems sacharidams.

Be to, šiame darbe gauti rezultatai nurodo, kad redukuojančių cukrų kiekio pokyčiai tiesiogiai siejami su skaidulinių medžiagų hidrolizės mastu: mėginiuose, kuriuose buvo intensyviausias NSM frakcijos skaidymas, nustatytas ir didžiausias redukuojančių angliavandenių kiekio padidėjimas.

Galiausiai, nehidrolizuotuose ir skirtingais fermentais paveiktuose MIM nustatyti trys paprastieji cukrūs: gliukozė, fruktozė bei sacharozė ir jų kiekių pokyčiai po fermentų poveikio (žr. 3.3 lentelę). Pateikti rezultatai nurodo, kad didžiausias D-gliukozės ir D-fruktozės padidėjimas nustatytas po MIM hidrolizės su *Pectinex* fermentais – pokytis atitinkamai siekė apie 4,2 ir 1,3 karto, lyginant su nehidrolizuotu mėginiu. Tuo tarpu didžiausias sacharozės kiekio kitimas nustatytas po apdorojimo *Sternzym* preparatu – šis rodiklis pakito 1,3 karto, lyginant su pradine MIM žaliava. Į *Pectinex* preparato sudėtį įeina pektinazės, celiuliazės ir β -gliukanazės, o kitų tyrėjų duomenimis būtent šie fermentai labiausiai prisideda prie gliukozės ir fruktozės išlaisvinimo iš ląstelės sienelės polisacharidų [77].

3.3 lentelė. Gliukozės, sacharozės bei fruktozės kiekių palyginimas skirtinguose MIM mėginiuose: Pr – pradinė žaliava, K – fermentinės hidrolizės kontrolė, P, S, V ir C – *Pectinex*, *Sternzym*, *Viscozyme* ir *Celluclast* fermentais modifikuota žaliava

Mėginys	D-gliukozė, g/100 g SM	Sacharozė, g/100 g SM	D-fruktozė, g/100 g SM
Pr	1,47 ± 0,11 ^a	7,88 ± 0,42 ^a	7,46 ± 0,11 ^a
K	1,53 ± 0,11 ^a	7,23 ± 0,20 ^a	7,18 ± 0,28 ^a
P	6,10 ± 0,00 ^b	8,07 ± 0,35 ^a	9,81 ± 0,22 ^{bc}
S	4,22 ± 0,37 ^c	9,87 ± 0,20 ^b	9,37 ± 0,28 ^b
V	3,19 ± 0,33 ^c	9,45 ± 0,25 ^{ab}	7,27 ± 0,10 ^a
C	3,38 ± 0,11 ^c	8,58 ± 0,25 ^{ab}	7,37 ± 0,28 ^a

Skirtingos raidės nurodo statistiškai reikšmingus skirtumus stulpelyje, kai $p < 0,05$.

Kita vertus, atliktų tyrimų duomenimis morkų išspaudose nustatomų laisvųjų cukrų kiekiai varijuoja: nustatyta 14,3–47,2 % sacharozės, 7,9–30,4 % gliukozės bei 5,4–14,2 % fruktozės [30]. Šiame tyrime nustatyti gliukozės ir sacharozės kiekiai pradinėje žaliavoje yra mažesni, tačiau, kaip jau minėta, tai gali būti susiję su sulčių spaudimo metodu, kurio metu dalis tirpių angliavandenių galėjo būti pašalinti su sulčių frakcija, o skaidulinės medžiagos, mineralai bei kiti su ląstelės matrica susiję komponentai sukonzentruoti išspaudose. Po hidrolizės nustatytas laisvųjų cukrų kiekio padidėjimas nurodo vykusių fermentinių reakcijų sukeltus polisacharidų struktūrinius pokyčius ir jų skaidymą į mažesnės molekulinės masės junginius.

3.3. Morkų išspaudų miltelių technologinės savybės ir jų pokyčiai po fermentinio apdorojimo

Fermentinis žaliavos apdorojimas gali lemti ne tik skaidulinių medžiagų sudėties pokyčius, bet ir turėti įtakos jų technologinėms savybėms. Fermentų poveikio metu, nutraukiant glikozidinius ryšius bei tarpmolekulines jungtis polisachariduose, susidaro mažesnės molekulinės masės angliavandeniai, pasižymintys pakitusiomis funkcinėmis grupėmis, polimerizacijos laipsniu, struktūra bei molekuline mase nei prieš hidrolizę, o tai lemia jų technologinių bei funkcinių savybių kitimą [45, 52].

3.3.1. Išspaudų fizikinės-technologinės savybės

Technologinių savybių nustatymas leidžia įvertinti žaliavos elgseną apdirbimo procesuose bei prognozuoti technologinių parametru įtaką galutinio produkto tekstūrai, stabilumui, spalvai ir kitiems kokybiniais rodikliams [78]. Pradinės žaliavos ir fermentais paveiktų MIM mėginių technologinės savybės aprašomos 3.4 lentelėje.

3.4 lentelė. MIM technologinės savybės (Pr – pradinė žaliava, K – hidrolizės kontrolė, P, S, V ir C – atitinkamai *Pectinex*, *Sternzym*, *Viscozyme* ir *Celluclast* fermentais paveikti mėginiai).

Mėginys	BG, mL/g SM	VSG, g/g SM	ASG, g/g SM	TI, %	TT, g SM/mL
Pr	10,66 ± 0,30 ^a	12,04 ± 0,20 ^a	2,04 ± 0,12 ^a	39,15 ± 0,56 ^a	0,42 ± 0,05 ^a
K	4,77 ± 0,48 ^{bc}	17,81 ± 0,78 ^b	9,90 ± 0,15 ^b	43,13 ± 0,17 ^b	0,14 ± 0,01 ^{cd}
P	3,90 ± 0,28 ^c	18,38 ± 0,27 ^b	7,79 ± 0,18 ^c	48,21 ± 0,71 ^c	0,21 ± 0,02 ^b
S	3,17 ± 0,01 ^c	19,82 ± 1,03 ^b	7,42 ± 0,50 ^c	70,43 ± 0,27 ^c	0,18 ± 0,02 ^{bc}
V	5,60 ± 0,30 ^b	17,38 ± 1,24 ^b	8,39 ± 0,40 ^{bc}	71,67 ± 0,99 ^c	0,12 ± 0,00 ^c
C	4,43 ± 0,30 ^c	17,84 ± 0,55 ^b	8,83 ± 0,18 ^{bc}	57,54 ± 0,71 ^d	0,13 ± 0,01 ^{dc}

Skirtingos raidės nurodo statistiškai reikšmingus skirtumus tarp mėginių stulpelyje, kai $p < 0,05$.

Visų pirma pateikti rezultatai patvirtina, kad fermentinis MIM apdorojimas turėjo reikšmingos įtakos visiems tirtiems technologiniams parametrams. Lyginant su pradine žaliava, BG po fermentinės hidrolizės sumažėjo 47,5–70,3 %, o didžiausias pokytis – po apdorojimo su *Sternzym*. Priešingai, fermentinis modifikavimas turėjo teigiamos įtakos VSG: visuose hidrolizuotuose MIM mėginiuose vertės padidėjo 44,4–64,6 % nuo pradinės žaliavos vertės, tačiau skirtingų fermentų preparatų poveikis neturėjo statistiškai reikšmingos įtakos. Taip pat 47,0–83,1 % išaugusios TI reikšmės, ypač po hidrolizės su *Viscozyme*, indikuoja apie fermentų veikimo efektyvumą ir tirpių junginių susidarymą polisacharidų skaidymo metu. Panaši tendencija hidratacinių savybių pokyčiuose užfiksuota po bruknių išspaudų fermentinės hidrolizės [74]. Tuo tarpu kitame tyrime pateikiamos BG ir VSG rodiklių skaitinės vertės po morkų išspaudų fermentinės hidrolizės padidėjo, o VSG vertės prieš ir po modifikavimo atitinkamai siekė tik apie 4,5 ir 5,8 g/g – mažiau nei nustatyta šiame projekto eksperimente [60]. Kitaip nurodoma Sharoba'o ir kt. straipsnyje, kada pateikiama morkų išspaudų VSG vertė yra didesnė nei nustatyta šiame tyrime – apie 19,7 g/g, o tai siejama su TSM frakcijos, ypač pektino, gausa [79]. Aprašyti atlikto tyrimo ir mokslinėje literatūroje pateikiamų rezultatų skirtumai gali būti siejami su žaliavos dalelių dydžio, skaidulų sudėties bei TSM/NSM santykio skirtumais [80].

Antra, ASG rodiklio vertės po fermentinio modifikavimo padidėjo net iki 4,3 karto lyginant su MIM žaliava, o didžiausias pokytis nustatytas mėginyje po hidrolizės su *Celluclast* fermentais. ASG vertės padidėjimas augalinę žaliavą veikiant *Celluclast*® 1.5 L preparatu nurodomas ir kituose eksperimentuose [55, 74]. Aliejaus sulaikymas daugiausia susijęs su paviršiaus savybėmis, bendru krūvio tankiu ir žaliavos sudedamųjų dalių hidrofilinėmis savybėmis [55].

Toliau TT vertės po modifikavimo sumažėjo visuose mėginiuose, priklausomai nuo naudoto fermentų preparato. Mažiausias šio parametro pokytis nustatytas po MIM apdorojimo *Pectinex* preparatu (50,4 %), o didžiausias – po hidrolizės su *Viscozyme* fermentų mišiniu (71,8 %). TT yra susijęs su dalelių struktūra ir jų išsidėstymu tūrio vienetė: didesnės šio rodiklio vertės paprastai siejamos su tankesniu dalelių supakavimu, mažesniu poringumu ir mažesniu dalelių dydžiu [81]. Atitinkamai TT sumažėjimas po fermentinio apdorojimo gali nurodyti apie padidėjusį poringumą, todėl tokioje struktūroje buvo sulaikoma daugiau vandens bei aliejaus nei pradinėje žaliavoje.

Galiausiai, technologinių savybių pokyčiai nustatyti ir hidrolizės kontrolės mėginyje, kuris buvo išlaikytas hidrolizės sąlygomis (1 val. 50 °C ir 20 min. 90 °C) ir toliau išdžiovintas šaltyje. Nors šiame mėginyje fermentai nebuvo naudoti, pastebėtas reikšmingas technologinių parametru kitimas, iš kurių

ryškiausias – ASG padidėjimas. Kadangi TT sumažėjo ir BSM kiekis nepakito, daroma prielaida, kad taikytas apdorėjimas (terminės sąlygos ir džiovinimas šaltyje) lėmė struktūrinius pokyčius, tokius kaip padidėjusį mėginio poringumą ir pakitusį dalelių dydį [82]. Dėl šių pokyčių galėjo padidėti paviršiaus plotas ir atsirasti daugiau prieinamų funkcinių grupių lipofilinėms bei hidrofiliinėms sąveikoms, o tai paaiškintų didesnes aliejaus ir vandens sulaikymo reikšmes nei tirtyje pradinėje žaliavoje.

3.3.2. Spalvos ir bendro spalvos skirtumo charakteristikos

Toliau vertinant spalvą, 3.5 lentelėje pateikti rezultatai rodo reikšmingus spalvos charakteristikų pokyčius. Palyginti su neapdorotais MIM, visi fermentais apdoroti mėginiai parodė reikšmingai mažesnes L^* , a^* ir b^* koordinačių vertes, kurios sumažėjo atitinkamai nuo 12,4 iki 35,1 %, 2,3–21,5 % ir 13,2–40,9 %. Remiantis Tarptautinės apšvietimo komisijos (angl. *Commission on Illumination*) duomenimis, didesnė nei 3,5 ΔE^* parametro vertė rodo žmogaus regėjimui pastebimą spalvos pasikeitimą, tad fermentinė hidrolizė sukėlė matomus spalvinius pokyčius. Tuo tarpu spalvos skirtumo pokytis užfiksuotas ir kontroliniame mėginyje, kuriuos galėjo sukelti terminis apdorėjimas.

3.5 lentelė. Spalvos charakteristikų ir spalvos skirtumo rezultatai, čia Pr – pradinė žaliava, K – hidrolizės kontrolė, P, S, V ir C – atitinkamai *Pectinex*, *Sternzym*, *Viscozyme* ir *Celluclast* fermentais paveikti MIM

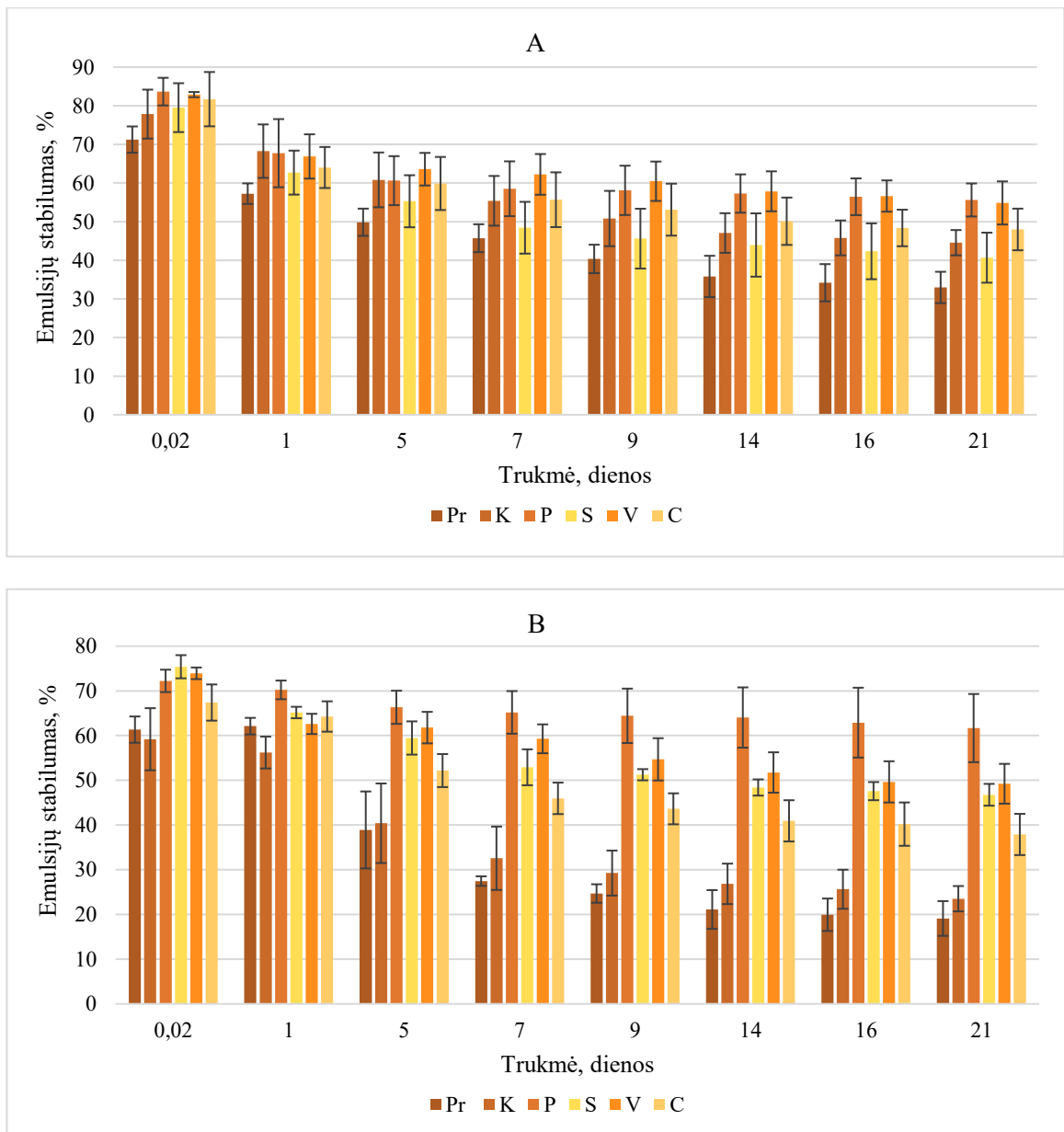
Mėginys	Spalvos koordinatės			Bendras spalvos skirtumas ΔE
	L^* vertė	a^* vertė	b^* vertė	
Pr	57,01 ± 1,16 ^a	11,25 ± 0,07 ^a	29,71 ± 0,52 ^a	-
K	49,97 ± 0,15 ^b	10,34 ± 0,02 ^b	25,79 ± 0,14 ^b	7,64 ± 0,74 ^a
P	40,52 ± 0,05 ^c	9,87 ± 0,08 ^c	21,09 ± 0,09 ^c	18,66 ± 1,26 ^b
S	36,98 ± 0,24 ^d	8,83 ± 0,15 ^d	17,56 ± 0,31 ^d	23,56 ± 1,23 ^c
V	37,05 ± 0,81 ^d	9,34 ± 0,21 ^e	19,15 ± 0,37 ^e	22,67 ± 2,00 ^c
C	45,43 ± 0,13 ^e	11,00 ± 0,03 ^f	24,79 ± 0,10 ^f	12,15 ± 0,82 ^d

a–f raidės rodo statistiškai reikšmingus skirtumus stulpelyje, kai $p < 0,05$.

Morkų šaknų spalva, kuri priklauso nuo veislės ir esančių cheminių junginių, gali svyruoti nuo oranžinės iki violetinės [83]. Tyrimo rezultatuose nustatytas a^* ir b^* koordinačių verčių reikšmingas neigiamas pokytis rodo sumažėjusį raudonumą ir geltonumą, kuris gali būti susijęs su karotinoidų ir kitų MIM esančių raudonos–geltonos spalvos pigmentų degradacija. Taip pat spalviniai pokyčiai gali būti susiję su terminio apdorėjimo (hidrolizės ir fermentų inaktyvavimo) metu vykstančia karamelizacija ir nefermentinėmis rudavimo reakcijomis (angl. *browning reactions*) [56]. Viena iš tokių reakcijų – Mailardo reakcija, kai po fermentinės hidrolizės padidėjęs redukuojančių cukrų kiekis gali reaguoti su laisvomis aminorūgštimis ir sudaryti rudos spalvos šalutinius produktus [56].

3.3.3. Morkų išspaudų miltelių emulsijų stabilizavimas statinėmis ir terminėmis sąlygomis

Dar viena tirta technologinė savybė – gebėjimas stabilizuoti emulsijas statinėmis (3.2 pav. A) ir terminėmis sąlygomis (3.2 pav. B). Statistiškai reikšmingi skirtumai nustatyti tiek vertinant to paties mėginio emulsijų pokyčius laikymo metu, tiek lyginant skirtingus mėginius tuo pačiu vertinimo momentu. Nustatyta, kad fermentais apdoroti MIM pagerino emulsijų stabilumą tiek statinėmis, tiek terminėmis sąlygomis lyginant su pradine žaliava.



3.2 pav. Emulsijų stabilumas statinėmis sąlygomis (A) ir po jų terminio apdorojimo (B), kur Pr – pradinė žaliava, K – hidrolizės kontrolė, P, S, V ir C – atitinkamai *Pectinex*, *Sternzym*, *Viscozyme* ir *Celluclast* fermentais paveikti MIM

Didžiausiu stabilumu pasižymėjo emulsijos su *Pectinex* fermentais apdorotu mėginiu – po 21 dienos išliko $55,6 \pm 4,3$ % emulsijos statinėmis sąlygomis ir $61,7 \pm 7,6$ % po terminio poveikio. Emulsijos, stabilizuotos su *Viscozyme* fermentais modifikuotais MIM, išliko šiek tiek mažiau stabilios. Užfiksuota, kad *Pectinex* ir *Viscozyme* fermentai labiausiai pagerino TSM/NSM santykį (atitinkamai iki 1:1,3 ir 1:1,2), o *Sternzym* šią vertę padidino iki 1:1,7 ir šiuo mėginiu stabilizuota emulsija pasižymėjo mažiausiu stabilumu statinėmis sąlygomis. Tad daroma prielaida, kad emulsijų stabilumui įtakos turėjo TSM/NSM santykis. Literatūroje ši priklausomybė paaiškinama tuo, kad TSM ir NSM atlieka skirtingus vaidmenis emulsijų stabilizavime. TSM didina disperguotos fazės klampumą ir gali adsorbuotis aliejaus–vandens sąsajoje, taip sumažinant tos pačios fazės lašelių susiliejamą, o NSM veikia kaip stabilizatoriai, kurie sudaro fizinį barjerą aplink lašelius ir taip slopina jų susiliejamą [84]. Tad optimalus TSM/NSM santykis užtikrina sinergetinį skaidulų efektą emulsijų stabilizavime.

Terminis vertinimas yra svarbus siekiant nustatyti, kaip emulsijų stabilumas išsilaikytų technologinių procesų, pavyzdžiui, pasterizavimo, džiovavimo ar kitų šiluminių operacijų metu. Kaitinant emulsijas vysta didesnis dalelių judėjimas, todėl didėja tikimybė lašelių susidūrimui ir fazių išsiskyrimui, o tai turi reikšmingos įtakos maisto sistemose, kadangi taip gali būti paveikiami produktų kokybės rodikliai [84-86]. Tad remiantis mokslinės literatūros duomenimis bei šio darbo rezultatais, nustatyta, kad daugeliu atvejų terminis apdorojimas gali mažinti emulsijų stabilumą [85, 86]. Vis dėlto priešinga tendencija užfiksuota emulsijose, stabilizuotose su *Pectinex* ir *Sternzym* preparatais modifikuotais MIM: laikymo pabaigoje šių emulsijų stabilumas buvo didesnis atitinkamai 10,9 % ir 15,0 %, palyginti su tų pačių emulsijų stabilumu statinėmis sąlygomis. Paminėtina, kad šie tiriamieji mėginiai pasižymėjo didžiausiomis VSG vertėmis, todėl tikėtina, kad didesnis vandens surišimas galėjo sumažinti laisvo vandens kiekį ir taip paveikti emulsijos fazių mobilumą, todėl terminio apdorojimo metu buvo slopinami lašelių agregacijos bei fazių atsiskyrimo procesai.

3.4. Fermentais modifikuotų morkų išspaudų miltelių funkcinės savybės

Funkcinių savybių analizė svarbi siekiant įvertinti potencialų žaliavos biologinį poveikį žmogaus organizmui ir sveikatai, kadangi tokie rodikliai, kaip antioksidacinis aktyvumas, prebiotinės savybės, cholesterolio surišimas ir pan., atspindi tiriamų mėginių gebėjimą sąveikauti su biologinėmis sistemomis.

3.4.1. Bendro fenolinių junginių kiekio ir antioksidacinių savybių vertinimas

Pirmiausia nustatytas laisvų fenolinių junginių kiekis bei antioksidaciniai parametrai pagal DPPH ir ABTS radikalų surišimą, kurių rezultatai pateikiami 3.6 lentelėje.

3.6 lentelė. Bendras laisvų fenolinių junginių ir antioksidacinių savybių palyginimas pradiniam ir fermentais modifikuotame mėginiuose (Pr – pradinė žaliava, K – hidrolizės kontrolė, P, S, V ir C – atitinkamai *Pectinex*, *Sternzym*, *Viscozyme* ir *Celluclast* fermentais paveikti MIM)

Mėginys	Fenolinių junginių kiekis, mg GRE/100 g SM	Antioksidacinis aktyvumas DPPH metodu, mg GRE/100 g SM	Antioksidacinis aktyvumas ABTS metodu, mg GRE/100 g SM
Pr	948,6 ± 20,6 ^a	198,2 ± 0,8 ^a	180,8 ± 4,4 ^a
K	947,6 ± 19,2 ^a	196,0 ± 0,8 ^b	202,4 ± 2,1 ^b
P	1044,6 ± 32,4 ^b	185,1 ± 2,8 ^c	216,9 ± 5,3 ^{bc}
S	1171,9 ± 24,6 ^c	194,7 ± 1,2 ^b	184,3 ± 2,2 ^a
V	1149,0 ± 81,9 ^{abc}	194,5 ± 1,4 ^b	234,2 ± 3,0 ^{cd}
C	1154,0 ± 42,4 ^c	189,5 ± 1,4 ^c	239,2 ± 2,6 ^d

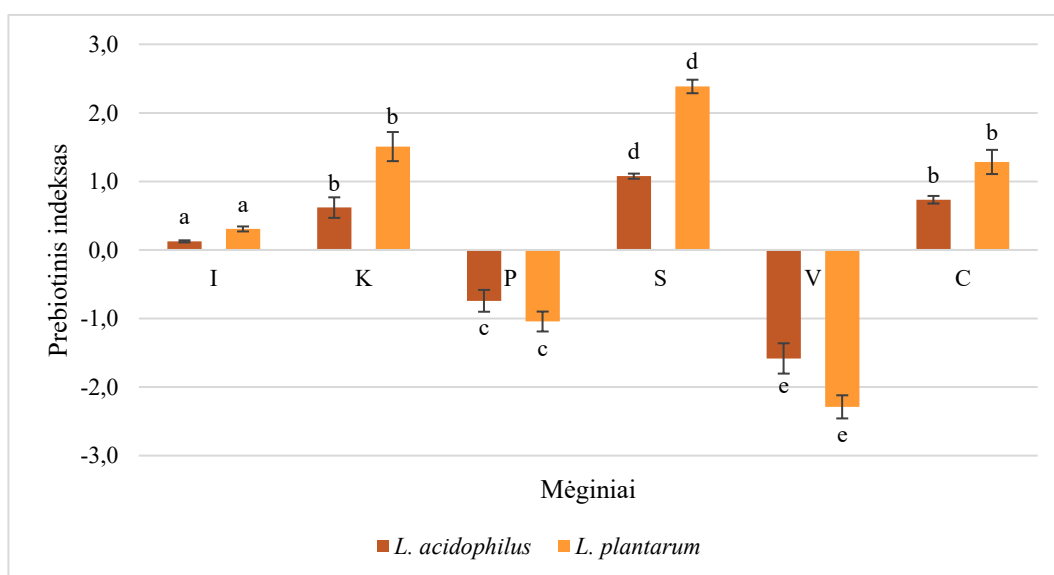
Skirtingos raidės rodo statistiškai reikšmingus skirtumus stulpelyje, kai $p < 0,05$.

Nustatyta, kad po fermentinio modifikavimo reikšmingai padidėjo laisvų fenolinių junginių kiekis, tad hidrolizės metu skaidant struktūrinius ląstelės sienelės komponentus susidarė ne tik įvairūs sacharidai, bet ir buvo išlaisvinti su polisacharidais susiję fenoliniai junginiai. Didžiausia šio parametro reikšmė nustatyta MIM po hidrolizės *Sternzym* fermentų preparatu, kuri pakito 23,5 % nuo pradinės žaliavos. Panaši fenolinių junginių didėjimo tendencija po daržovių ir vaisių fermentinio modifikavimo pateikiama ir kituose tyrimuose [75, 86, 87]. Nepaisant to, šiame tyrime nustatytas fenolinių junginių kiekis pradiniam MIM vandeniniame ekstrakto yra didesnis nei pateikiama kituose morkų ir jų apdirbimo produktų analizės tyrimuose [88, 89]. Tai gali būti susiję su pritaikytą analizės metodu, žaliavos apdorojimo ir dalelių dydžio, augimo sąlygų ir pan. skirtumais.

Toliau antioksidacinės mėginių savybės įvertintos 2 metodais: DPPH ir ABTS radikalų surišimo geba. Analizuojant DPPH radikalų sujungimo rezultatus matyti, kad po fermentinio poveikio mėginių antioksidacinis aktyvumas sumažėjo 1,8–6,6 % ribose. Kitaip nei DPPH, ABTS metodu tirtas antioksidacinis aktyvumas reikšmingai padidėjo. O didžiausios vertės gautos po MIM hidrolizės su *Viscozyme* ir *Celluclast* preparatais, kurios pakito atitinkamai 29,5 % ir 32,3 % nuo pradinės žaliavos ABTS radikalų surišimo gebos. Šių dviejų analizės metodų skirtumai gali būti susiję su skirtingais reakcijų mechanizmais. Platzer'as ir kt. nurodė, kad DPPH ir ABTS būdais nustatytas antioksidacinis aktyvumas priklauso nuo kelių veiksnių, tokių kaip specifiskumas ir jautrumas antioksidantų molekulinei struktūrai bei reakcijos stochiometrijos [90]. Tame pačiame tyrime nustatyta, kad hidroksicinamo rūgštys pasižymėjo stipresniu reaktyvumu su ABTS nei DPPH radikalais [90]. Kadangi hidroksicinamo rūgštys ir jų dariniai yra vienos iš vyraujančių fenolinių rūgščių morkų šalutiniuose produktuose, daroma prielaida, kad fermentinė hidrolizė išlaisvino šias rūgštis iš ląstelės sienelės matricos ir padidino jų prieinamumą ir reakingumą su radikalais [16, 20]. Tai galėjo lemti skirtumus tarp ABTS ir DPPH metodais nustatytų antioksidacinio aktyvumo rezultatų. Be to, antioksidacinio aktyvumo didėjimas arba mažėjimas po fermentinio augalinės kilmės šalutinių produktų apdoravimo, priklausomai nuo tiriamo produkto, naudojamų fermentų bei analizės metodo, aprašomas ir kituose tyrimuose [75, 91, 92]. Taip pat pažymima, kad fenolinių junginių kiekis tiesiogiai koreliuoja su antioksidaciniu aktyvumu, t. y. mėginyje, kuriame nustatytas didžiausias laisvų fenolinių junginių kiekis pasižymi stipriausiomis laisvų radikalų surišimo gebomis [91, 92]. Toks tiesioginis sąryšis tarp aprašytų parametru šiame projekte nenustatytas.

3.4.2. Prebiotinės savybės

Be to, MIM pradiniam ir fermentais paveiktiems mėginiams nustatytos prebiotinės savybės. Kadangi prebiotinės savybės leidžia įvertinti, kaip produktas gali skatinti naudingų žarnyno bakterijų augimą, šis rodiklis įvertintas dviem prebiotinėms žarnyno bakterijoms – *Lactiplantibacillus plantarum* DSM 24624 (toliau *L. plantarum*) ir *Lactobacillus acidophilus* DSM 20079 (toliau *L. acidophilus*). Apskaičiuoti prebiotinio indekso rezultatai pateikiami 3.3 pav.



3.3 pav. Prebiotinis indeksas skirtinguose MIM mėginiuose (I – inulinas, K – hidrolizės kontrolė, P, S, V ir C – atitinkamai *Pectinex*, *Sternzym*, *Viscozyme* ir *Celluclast* fermentais paveiktos išspaudos). a–e raidės rodo reikšmingus skirtumus ($p < 0,05$), vertinant rezultatus pagal tos pačios rūšies bakterijų augimą

Ištirta, kad skirtingi MIM mėginiai labiau skatino *L. plantarum* bakterijų augimą nei *L. acidophilus*. O didžiausios prebiotinio indekso vertės nustatytos kontroliniame mėginyje bei MIM, paveiktuose *Sternzym* preparatu, kurios siekė $1,51 \pm 0,21$ ir $2,39 \pm 0,10$ atitinkamai, *L. plantarum* bakterijoms. Palyginimui į tyrimą įtrauktas ir komercinis prebiotikas inulinas, tačiau pradinė žaliava ir MIM mėginiai po hidrolizės su *Sternzym* ir *Celluclast* fermentais viršijo inulino prebiotinio indekso vertes. Tai nurodo, kad sacharidai, iš skirtingų morkų mėginių, yra palankesni tirtų probiotinių bakterijų augimui ir dauginimuisi. Kita vertus, *Pectinex* ir *Viscozyme* fermentų poveikis turėjo neigiamos įtakos tirtų bakterijų augimui: šie mėginiai turėjo neigiamas prebiotinio indekso vertes, t. y. angliavandenių sudėtis nebuvo palanki bakterijų metabolizmui ir neskatino jų augimo taip, kaip gliukozė. Panašūs pastebėjimai apie morkų išspaudų prebiotines savybes pateikiama Mall'o ir kt. tyrime, kuriame nurodoma, kad ši žaliava skatina *L. acidophilus* bakterijų augimą bei TGRR sintezę *in vitro* fermentacijos metu [93].

Apibendrinant, gauti rezultatai rodo, kad fermentinis apdorojimas gali reikšmingai pakeisti žaliavos angliavandenių sudėtį ir net pagerinti prebiotines savybes. Tikėtina, kad hidrolizės metu su *Sternzym* ir *Celluclast* preparatais susidarė mažesnės molekulinės masės, lengviau fermentuojami oligosacharidai, tokie kaip fruktooligosacharidai, galaktooligosacharidai, kurie buvo efektyviau panaudoti probiotinių bakterijų metabolizme [94, 95]. Tai patvirtina, kad ne tik TSM kiekis, bet ir jų struktūra bei modifikacijos būdas yra reikšmingi faktoriai, lemiantys prebiotines augalinės žaliavos savybes.

3.4.3. Hipolipidinių savybių įvertinimas

Taip pat hidrolizuotiems MIM nustatytos cholesterolio (CSG) ir natrio cholato sujungimo galimybės (NaChSG), kurios siejamos su hipolipidinėmis savybėmis, o rezultatai aprašomi 3.7 lentelėje.

3.7 lentelė. Skirtingų MIM mėginių cholesterolio ir natrio cholato sujungimo gebos (Pr – pradinė žaliava, K – hidrolizės kontrolė, P, S, V ir C – atitinkamai *Pectinex*, *Sternzym*, *Viscozyme* ir *Celluclast* fermentais apdoroti mėginiai)

Mėginys	CSG, mg/g SM		NaChSG, mg/g SM
	pH 2	pH 7	pH 7
Pr	$32,56 \pm 2,24^a$	$19,10 \pm 0,36^a$	$53,38 \pm 3,40^a$
K	$23,48 \pm 1,71^b$	$16,18 \pm 0,68^b$	$52,90 \pm 2,57^a$
P	$33,76 \pm 1,16^a$	$42,67 \pm 1,07^c$	$93,42 \pm 2,64^b$
S	$13,57 \pm 1,45^{cd}$	$33,74 \pm 0,57^d$	$76,26 \pm 3,02^c$
V	$18,73 \pm 1,27^{bc}$	$41,14 \pm 1,83^{cd}$	$29,83 \pm 3,33^d$
C	$10,55 \pm 1,20^d$	$25,41 \pm 0,94^c$	$36,94 \pm 3,48^d$

Skirtingos raidės a–e rodo statistiškai reikšmingus skirtumus tarp mėginių stulpelyje, kai $p < 0,05$.

Fermentinis MIM modifikavimas turėjo reikšmingos įtakos CSG vertėms *in vitro*. Fermentais apdoroti MIM pasižymėjo didesnėmis arba mažesnėmis CSG vertėmis negu nehidrolizuotas mėginys, priklausomai nuo terpės pH vertės. Nustatyta, kad fermentinis MIM modifikavimas padidino CSG skaitines reikšmes neutralioje terpėje (pH 7), o daugeliu atvejų sumažino šio parametro vertes rūgščioje terpėje (pH 2), palyginus su pradiniu mėginiu. Išskyrus MIM, modifikuotus su *Pectinex* preparatu: šis mėginys pasižymėjo didžiausiomis CSG tiek neutralioje, tiek rūgščioje terpėje. Ši tendencija atitinka kitų tyrimų rezultatus, rodančius, kad cholesterolio adsorbcija skaidulose vyksta

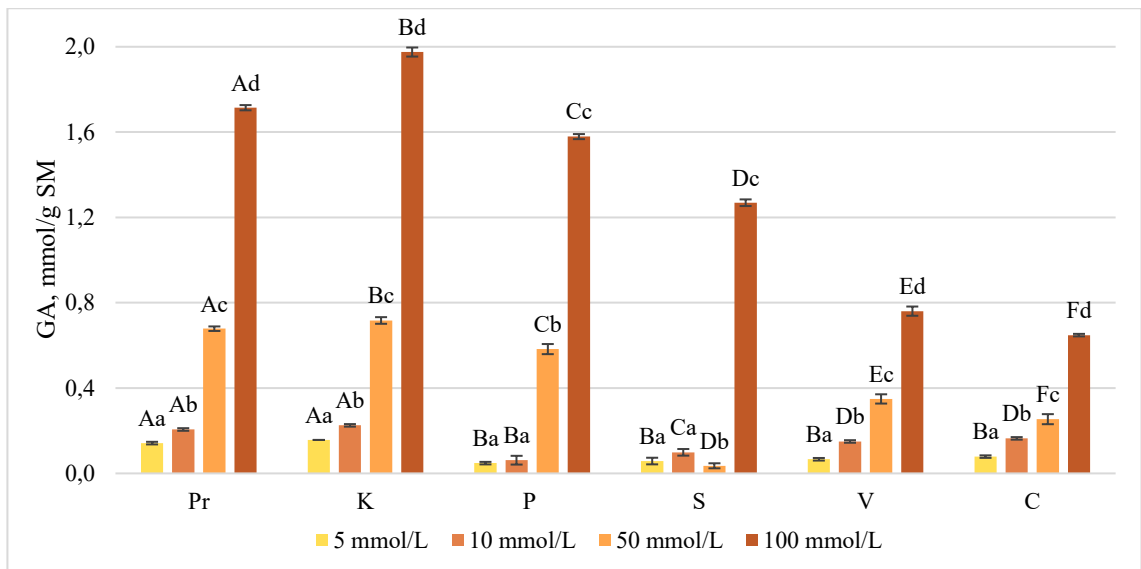
daugiausia žarnyne, o maisto šalutinių produktų fermentinis modifikavimas pagerina šią savybę [52, 76, 96]. Taip pat Yu'o ir kt. tyrime pradinės ir celiuliazės–ksilanazės fermentais modifikuotų morkų išspaudų CSG vertės neutralioje terpėje atitinkamai siekė apie 30 ir 38 mg/g [60]. Šiame darbe nustatytos didesnės nei literatūroje pateikiamos CSG vertės gali būti susijusios su kompleksine naudotų fermentų sudėtimi, kuri užtikrino efektyvesnę ląstelės sienelės matricos hidrolizę ir taip padidino specifinį paviršiaus plotą ir funkcinių grupių prieinamumą cholesterolio adsorbacijai, palyginti su celiuliazės ir ksilanazės fermentų poveikiu.

Kitaip nei CSG, fermentinės hidrolizės poveikis NaChSG parametrui priklausė nuo naudotų fermentų. Hidrolizė su *Viscozyme* ir *Celluclast* fermentų preparatais sumažino šio rodiklio skaitines reikšmes atitinkamai 44,1 % ir 30,8 % nuo nehidrolizuoto mėginio NaChSG vertės. Tuo tarpu MIM, apdoroti *Pectinex* fermentais, pasižymėjo didžiausia NaChSG, kuri siekė $93,42 \pm 2,64$ mg/g ir pakito net 75,0 %, lyginant su pradiniu MIM mėginiu. Toliau rezultatus lyginant su moksline literatūra, pradinės MIM žaliavos tulžies druskų sulaikymo vertė yra panaši į bruknių išspaudų ($52,68 \pm 2,07$ mg/g), bet mažesnės už juodųjų serbentų išspaudų ($74,78 \pm 1,39$ mg/g) vertes [97]. Tačiau duomenų apie morkų išspaudų bei fermentinio apdorojimo įtaką jų tulžies druskų sujungimo geboms mokslinėje literatūroje trūksta.

Be to, natrio cholato sujungimo tyrimas leidžia įvertinti skaidulų potencialą mažinti cholesterolio kiekį žmogaus organizme, kadangi natrio cholato surišimas ir pašalinimas su išmatomis skatina organizmą naudoti daugiau cholesterolio naujų tulžies rūgščių sintezei [98]. Šią sąveiką lemia keletas mokslinėje literatūroje aprašytų mechanizmų. Fiziškai natrio cholatas gali būti sulaikomas ištirpusiose TSM, kurios suformuoja į gelį panašią masę, ir taip neleidžia druskoms reabsorbuotis žarnyne [98]. Be to, natrio cholatas gali būti sulaikomas dėl silpnų sąveikų, tokių kaip elektrostatinė, hidrofobinė, Van der Valso bei vandenilinių ryšių, su skaidulomis suformavimo [99].

3.4.4. Hipoglikeminių savybių įvertinimas

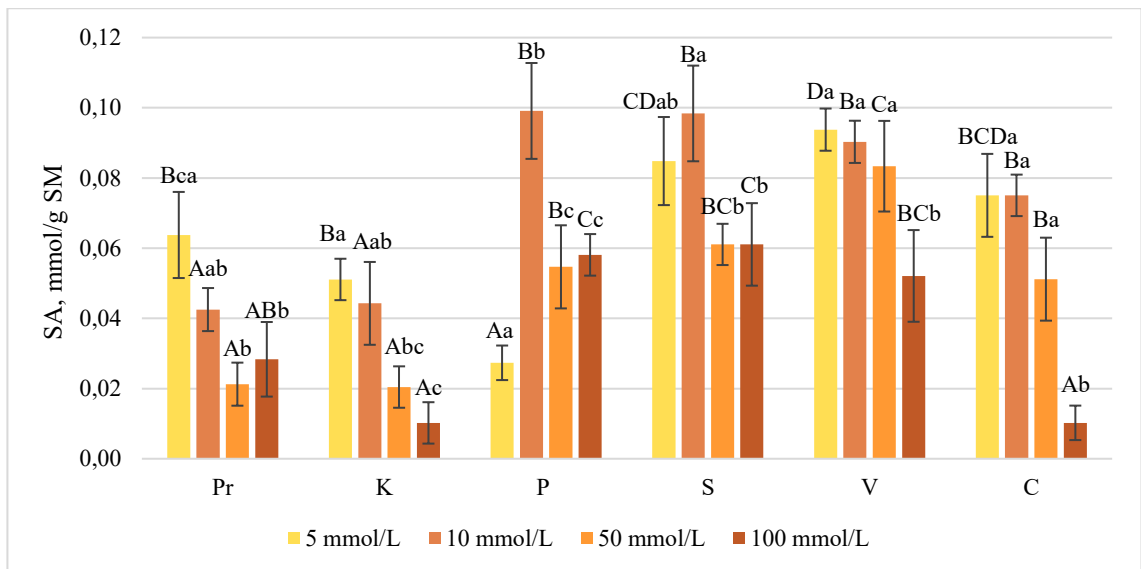
Gliukozės adsorbcijos (GA) indeksas leidžia įvertinti skaidulų gliukozės adsorbcijos galimybes (kitais hipoglikemines savybes) imituojant virškinamąjį traktą *in vitro* [100]. Nustatyta, kad maistinės skaidulos gali prisidėti prie gliukozės difuzijos ir hiperglikemijos po valgio mažinimo [100]. Šiame tyrime nustatytos GA vertės (žr. 3.4 pav.) priklausė nuo pradinės gliukozės tirpalo koncentracijos: esant mažai (5 mmol/L) gliukozės koncentracijai, visuose mėginiuose užfiksuotos nedidelės (iki 0,157 mmol/g SM) adsorbcijos vertės, o didėjant gliukozės koncentracijai – šios vertės reikšmingai padidėjo. Stipriausia GA geba pasižymėjo MIM fermentinės hidrolizės kontrolinis mėginys bei pradinė žaliava, kurių GA vertės siekė atitinkamai $1,97 \pm 0,02$ ir $1,71 \pm 0,01$ mmol/g SM, kada mėginiai inkubuoti su 100 mmol/L koncentracijos gliukozės tirpalu. Tuo tarpu MIM, hidrolizuoti su *Sternzym* preparatu, pasižymėjo beveik mažiausiomis (0,04–0,10 mmol/g SM) GA gebomis esant 5–50 mmol/L gliukozės koncentracijai, tačiau ši vertė reikšmingai padidėjo, kai pradinė gliukozės koncentracija siekė 100 mmol/L.



3.4 pav. GA eksperimento rezultatai: Pr – pradinė žaliava, K – hidrolizės kontrolė, P, S, V ir C – atitinkamai *Pectinex*, *Sternzym*, *Viscozyme* ir *Celluclast* fermentais apdoroti MIM. Skirtingos raidės žymi statistiškai reikšmingus ($p < 0,05$) skirtumus: didžiosios – tarp skirtingų mėginių, esant vienodai pradinėi gliukozės tirpalo koncentracijai, mažosios – tarp to paties mėginio skirtingų gliukozės tirpalo koncentracijų

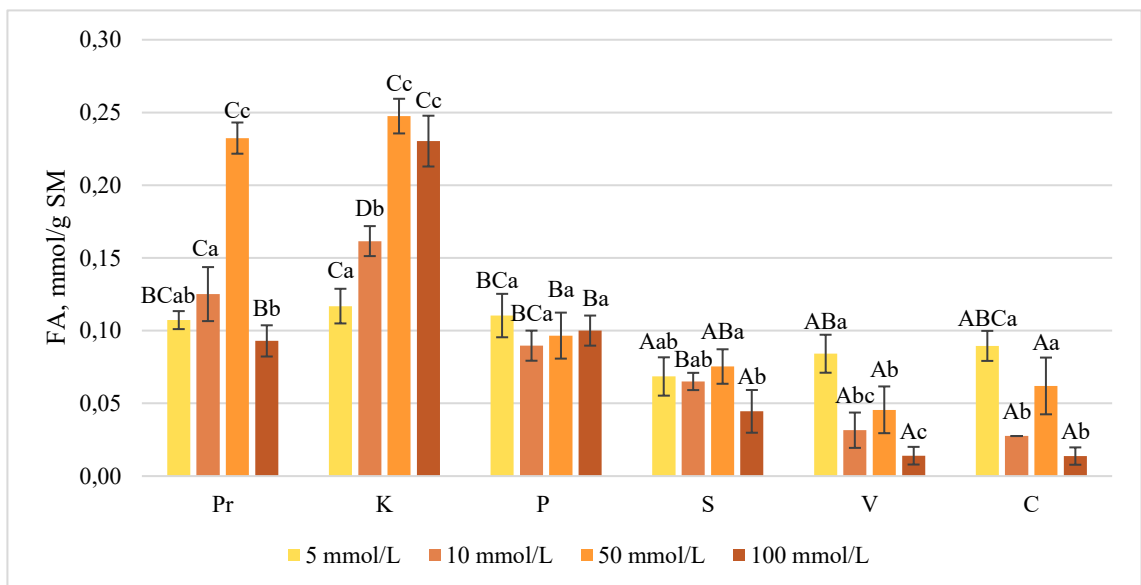
Mokslinėje literatūroje nurodoma, kad tiek biologiniai, tiek fiziniai skaidulų modifikavimo būdai gali pagerinti GA gebas, o didžiausios GA vertės paprastai nustatomos esant 100 mmol/L gliukozės tirpalo koncentracijai [60, 76, 97, 101]. Taip pat yra duomenų, nurodančių, kad morkų išspaudų skaidulinės medžiagos pasižymi apie 1,00 mmol/g, o fermentais modifikuotos – apie 2,45 mmol/g GA vertėmis, kai gliukozės tirpalo koncentracija siekia 100 mmol/L [60]. Tad GA priklauso nuo modifikavimo metodo, taip pat skaidulų cheminės sudėties ir struktūros. Gliukozės adsorbcijos mechanizmas paaiškinamas tirpių ir klampių skaidulų galimybe sudaryti gelinę struktūrą, kuri adsorbuoja ar įkalina mažas cukraus molekules ir taip riboja gliukozės difuziją [100]. Paminėtina, kad skaidulų modifikavimas gali padidinti jų paviršiaus plotą, poringumą ir funkcinių grupių kiekį, taip pagerinant sąveiką su gliukoze [102]. Nors šiame tyrime nustatyta, kad fermentų panaudojimas nepagerino MIM skaidulinių medžiagų galimybės sujungti gliukozės molekules, tačiau visi tirti mėginiai gali prisidėti prie gliukozės prieinamumo mažinimo.

Toliau hipoglikeminės savybės įvertintos pagal sacharozės (SA) bei fruktozės adsorbcijos (FA) galimybes. Iš 3.5 pav. pateiktų SA gebų matoma tendencija, kad mėginiai pasižymėjo didesnėmis SA vertėmis esant mažesnėms (5 ir 10 mmol/L) gliukozės tirpalo koncentracijoms, t. y. kai užfiksuotos mažesnės GA gebos. Didžiausios SA vertės nustatytos MIM mėginiuose, kurie paveikti *Pectinex* ir *Sternzym* preparatais, ir atitinkamai siekė $0,099 \pm 0,014$ ir $0,098 \pm 0,014$ mmol/g SM esant 10 mmol/L gliukozės koncentracijai. Būtent šiuose mėginiuose, lyginant su kitais fermentais paveiktais mėginiais, nustatytos mažiausios GA gebos, kai gliukozės tirpalo koncentracija – 10 mmol/L.



3.5 pav. SA rezultatai skirtinguose mėginiuose: Pr – pradinė žaliava, K – hidrolizės kontrolė, P, S, V ir C – atitinkamai *Pectinex*, *Sternzym*, *Viscozyme* ir *Celluclast* fermentais apdoroti MIM. Skirtingos raidės žymi statistiškai reikšmingus ($p < 0,05$) skirtumus: didžiosios – tarp skirtingų mėginių esant vienodoms pradinėms gliukozės tirpalo koncentracijoms, mažosios – tarp to paties mėginio skirtingų gliukozės tirpalo koncentracijų

Skirtingų mėginių FA gebos rezultatai neturėjo aiškios kitimo tendencijos (3.6 pav.). Pradinės žaliavos, kontrolės ir *Sternzym* fermentais paveiktuose mėginiuose didžiausios FA vertės nustatytos, kai gliukozės koncentracija siekė 50 mmol/L, o kituose – kai gliukozės koncentracija 5 mmol/L. Vis dėlto stipriausiomis FA galimybėmis pasižymėjo pradinis ir kontrolinis mėginiai.



3.6 pav. FA gebos mėginiuose: Pr – pradinė žaliava, K – hidrolizės kontrolė, P, S, V ir C – atitinkamai *Pectinex*, *Sternzym*, *Viscozyme* ir *Celluclast* fermentais apdoroti MIM. Skirtingos raidės žymi statistiškai reikšmingus ($p < 0,05$) skirtumus: didžiosios – tarp skirtingų mėginių esant vienodoms pradinėms gliukozės tirpalo koncentracijoms, mažosios – tarp to paties mėginio skirtingų gliukozės tirpalo koncentracijų

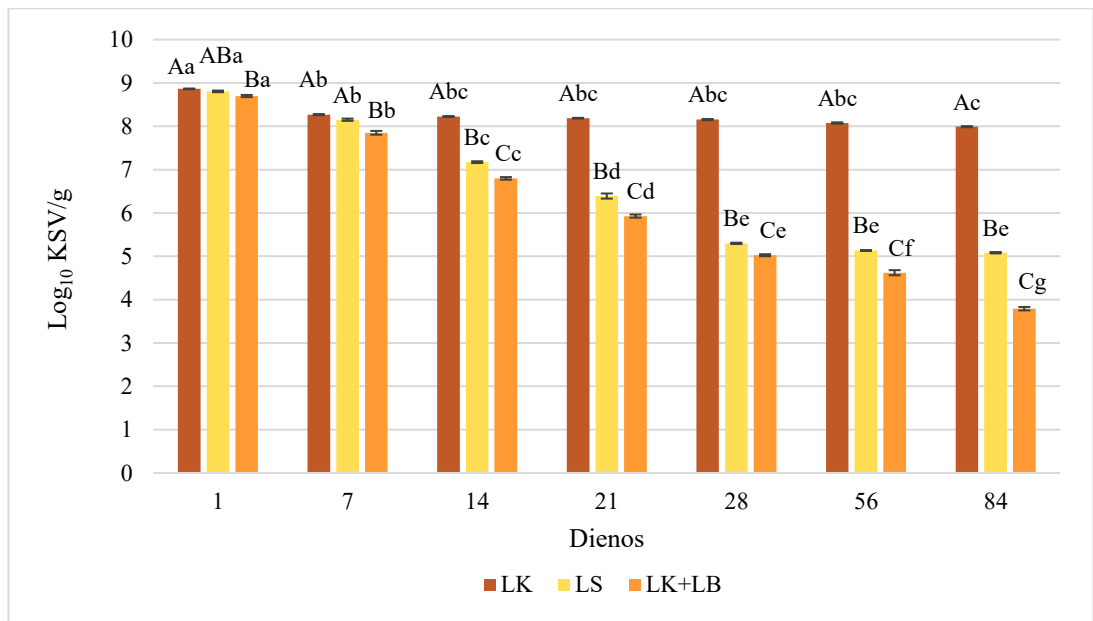
Šie GA, SA ir FA rezultatų skirtumai, kai eksperimento mėginiai inkubuoti pridedant skirtingų koncentracijų gliukozės tirpalus, tačiau be papildomos sacharozės ir fruktozės, nurodo, kad skaidulinėse medžiagose gali vykti konkurencinis cukrų adsorbavimas. Kai pridėtos gliukozės

koncentracija nedidelė, užfiksuotos mažos GA, bet didžiausios SA ir vienos iš didesnių FA skaitinių verčių. Tačiau pridėjus didesnės koncentracijos gliukozės tirpalo, kada užfiksuota ir didžiausia GA, SA ir FA gebos reikšmingai sumažėjo, lyginant su tų pačių parametrų kitomis vertėmis, kurios gautos esant mažesnėms gliukozės koncentracijoms. Vis dėlto tyrimų, kuriuose būtų aprašytos ne tik gliukozės, bet ir kitų cukrų adsorbcijos galimybės skaidulinėse medžiagose, yra labai ribotas. Paminėtina ir tai, kad fruktozė, lyginant su gliukoze, pasižymi žemu glikeminiu indeksu, todėl jos adsorbcijos pokyčiai turi mažesnę įtaką hiperglikemiam poveikiui, tuo tarpu sacharozė, kuri organizme skaidoma į gliukozę ir fruktozę, pasižymi vidutiniu hiperglikeminiu poveikiu [103]. Atsižvelgiant į tai, kad morkų išspaudos pasižymėjo didesne gliukozės nei kitų cukrų adsorbcijos geba, daroma prielaida, jog jų hipoglikeminės savybės daugiausia siejamos su gebėjimu mažinti gliukozės prieinamumą, kuris yra svarbus gliukozės kiekio kraujyje reguliavimui ir diabeto prevencijai.

3.5. Morkų išspaudų pritaikymo galimybės kuriant maisto papildą

Remiantis Europos Parlamento ir Tarybos direktyva, maisto papildai apibrėžiami kaip koncentruoti maistinių ar kitą fiziologinį poveikį turinčių medžiagų šaltiniai, skirti papildyti įprastą mitybą [104]. Dėl augančio vartotojų susidomėjimo sveikatai palankiais ir natūralios kilmės produktais, didėja poreikis kurti maisto papildus, kurių sudėtyje būtų ne tik pavienės veikliosios medžiagos, bet ir kompleksiniai funkciniai ingredientai [105].

Morkų išspaudos vertinamos kaip perspektyvi žaliava maisto papildų kūrimui dėl jose esančio didelio maistinių skaidulų bei kitų biologiškai aktyvių junginių kiekio [1, 22]. Be to, augalinės kilmės šalutinių produktų panaudojimas maisto papildų gamyboje atitinka žiedinės ekonomikos principus, mažinant ir iš naujo panaudojant maisto pramonėje susidarančias atliekas [1, 22]. Tad paskutiniame baigiamojo projekto etape siekiama įvertinti MIM pritaikymo galimybes prebiotinėmis ir probiotinėmis savybėmis pasižyminčių maisto papildų vystyme. Kadangi svarbus aspektas yra MIM prebiotinis potencialas, 3.3 pav. pateikti tyrimo rezultatai nurodo, kad didžiausiomis prebiotinėmis savybėmis pasižymi pradinis (kontrolinis) mėginys bei MIM, modifikuoti su *Sternzym* fermentų preparatu. Tuo pačiu šie mėginiai labiausiai skatino *L. plantarum* kultūros augimą. Remiantis šiais rezultatais, maisto papildams kurti pasirinkti aptarti mėginiai, kurie papildyti *L. plantarum* probiotinėmis bakterijomis. Taip pat tokia sistema gali būti laikoma sinbiotine, kadangi joje derinamos prebiotinėmis savybėmis pasižyminčios skaidulinės medžiagos ir probiotinės bakterijos. Be to, vienas iš svarbiausių probiotinius produktus apibūdinančių kriterijų yra pakankamas bakterijų stabilumas laikymo metu, todėl svarbu įvertinti, kokią įtaką bakterijų stabilumui turi skirtingos morkų išspaudų sistemos [71]. Skirtinguose MIM mėginiuose nustatytas bakterijų gyvybingumas pateikiamas 3.7 pav.



3.7 pav. *L. plantarum* gyvybingumas šaltyje džiovintuose MIM mėginiuose laikymo metu: LK – kontrolės ir bakterijų mėginys, LS – *Sternzym* fermentais modifikuoti MIM su bakterijomis, LK+LB – kontrolės mėginys, sumaišytas su atskirai liofilizuotomis bakterijomis. Skirtingos raidės žymi statistiškai reikšmingus ($p < 0,05$) skirtumus: didžiosios – tarp skirtingų mėginių tuo pačiu laiku, mažosios – tarp to paties mėginio skirtingu laiku

Probiotikų pradinėje suspensijoje nustatyta $9,26 \pm 0,08 \log_{10}$ KSV/mL bakterijų koncentracija. Praėjus 1 dienai po mėginių liofilizavimo, visuose mėginiuose užfiksuotas panašus bakterijų gyvybingumas, siekęs 8,86–8,70 \log_{10} KSV/g. Toliau vertinant bakterijų gyvybingumo pokyčius laikymo metu nustatyta, kad didžiausiu stabilumu pasižymėjo pradinis MIM mėginys, kuriame po 3 mėn. laikymo išliko $7,99 \pm 0,01 \log_{10}$ KSV/g gyvybingų PRB. Tuo tarpu didžiausias probiotikų gyvybingumo sumažėjimas per 84 dienų laikotarpį nustatytas liofilizuotame kontroliniame mėginyje, sumaišytame su atskirai liofilizuotomis bakterijomis. Paminėtina, kad MIM, po hidrolizės su *Sternzym* fermentais, išliko $5,08 \pm 0,02 \log_{10}$ KSV/g gyvybingų bakterijų praėjus 84 dienoms. Taip pat užfiksuota, kad didžiausi bakterijų gyvybingumo pokyčiai šiame mėginyje vyko per pirmąsias 3 laikymo savaites, o vėliau gyvybingų bakterijų koncentracija išliko stabilesnė. Kontroliniame ir *Sternzym* preparatu modifikuotuose MIM mėginiuose nustatytas bakterijų gyvybingumas galėjo skirtis dėl skirtingos skaidulinių medžiagų sudėties. Kontroliniame mėginyje užfiksuotas didesnis TSM, NSM ir BSM kiekis, lyginant su hidrolizuotais MIM. Mokslinėje literatūroje nurodoma, kad TSM, dėl gebėjimo formuoti klampią masę, gali sudaryti bakterijų stabilizavimui palankią terpę, apsaugančią bakterijų ląsteles nuo išorinių veiksnių, bei surišti vandenį ir taip sumažinti vandens aktyvumą [106, 107]. Tuo tarpu NSM gali prisidėti prie fizinio barjero sudarymo ir bakterijų imobilizavimo porėtame skaidulų tinkle [106, 107]. Dėl šių priežasčių didesnis skaidulų kiekis galėjo prisidėti prie palankesnių sąlygų probiotinių bakterijų stabilizavimui. Be to, skaidulinių medžiagų sudėties pokyčiai patvirtina, kad fermentinė hidrolizė turėjo įtakos kompleksinei skaidulų tinklo struktūrai, tad sumažėjęs struktūros vientisumas, pakitęs poringumas bei technologinės savybės taip pat galėjo prisidėti prie mažesnės probiotikų stabilizavimo gebos.

Boev'o ir kt. atliktame tyrime nurodoma, kad PRB populiacijai įtakos gali turėti produktų apdorojimo metodas, o didžiausias *L. plantarum* gyvybingumas morkų produktuose išliko po džiovinimo šaltyje [71]. Kituose tyrimuose taip pat nurodoma, kad džiovinimas šaltyje yra palankus metodas, siekiant

išsaugoti bioaktyvius junginius, lyginant su tradiciniu karšto oro džioviniu [108]. Šių tyrimų rezultatai patvirtina, kad augalinė matrica gali apsaugoti ir imobilizuoti gyvybingas ląsteles, o liofilizavimas gali būti tinkamas metodas aukštos kokybės produktų gamybai, kadangi metodo metu nėra naudojama aukšta temperatūra ir tai leidžia išsaugoti tiek augalinės žaliavos funkcionalumą, tiek ląstelių struktūros savybes [71, 107, 108].

Galiausiai, remiantis Europos Sąjungos reglamentu, produktas gali būti vadinamas skaidulų šaltiniu, kai skaidulos sudaro ne mažiau kaip 3 g/100 g, o produktas, turintis skaidulinių medžiagų ne mažiau kaip 6 g/100 g, yra laikomas didelio skaidulų kiekio šaltiniu [109]. Kita vertus, ES aktuose nėra aiškiai nurodyta minimali riba gyvybingų probiotinių baterijų, esančių maisto produktuose, tačiau mokslinėje literatūroje nurodoma rekomenduojama riba yra 10^6 – 10^7 KSV/g ar KSV/mL, kad produktas turėtų fiziologinį poveikį sveikatai [71, 105]. Tad tiek kontrolinis, tiek hidrolizuotas su *Sternzym* fermentais MIM mėginiai atitiktų didelio skaidulinių medžiagų šaltinio apibūdinimą ir 100 g šių produktų užtikrintų rekomenduojamą minimalią probiotikų koncentraciją maisto papilduose.

Tad apibendrinant rezultatus, morkų išspaudų matrica gali būti perspektyvi žaliava probiotinių bakterijų stabilumui išlaikyti bei sinbiotinių maisto papildų vystymui. Nors laikymo metu visuose mėginiuose nustatytas bakterijų gyvybingumo mažėjimas, vis dėlto pradiniam bei *Sternzym* preparatu hidrolizuotuose MIM mėginiuose išliko aukštas gyvybingų mikroorganizmų kiekis 3 mėn. laikymo laikotarpiu 4°C temperatūroje. O šaltyje džiovinti MIM mėginiai galėtų būti pritaikomi kuriant miltelių ar kapsulių formos maisto papildus, praturtintus maistinėmis skaidulomis ir probiotinėmis *L. plantarum* bakterijomis.

4. Rekomendacijų dalis

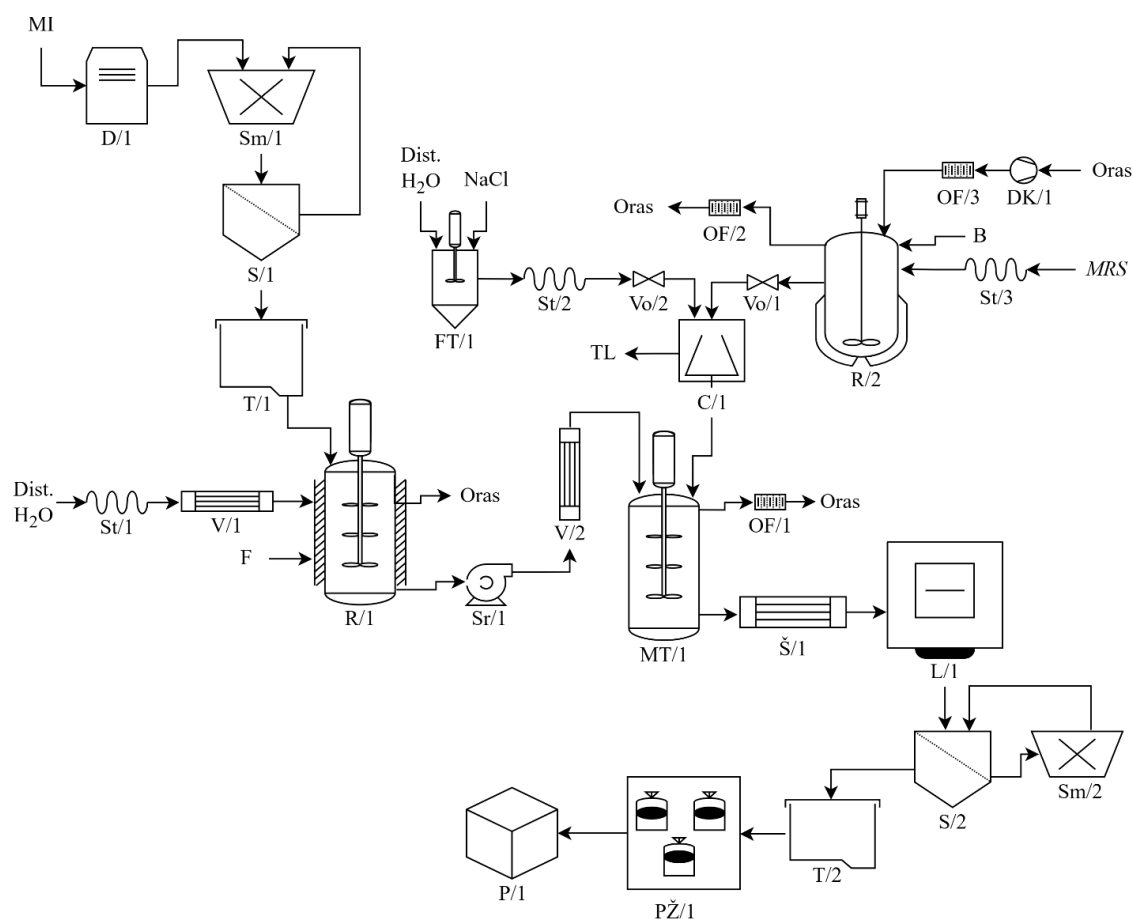
Atliktų tyrimų rezultatai atspindi tai, kad skirtingų komercinių fermentų preparatų panaudojimas turi įtakos MIM skaidulinių medžiagų sudėties pokyčiams. Tačiau naudotas skaidulų kiekybinis analizės metodas turi apribojimų – ne visi tirpūs mažos molekulinės masės polisacharidų fragmentai yra išsodinami 96 % etilo alkoholiu. Tad, siekiant tikslesnių rezultatų, rekomenduojama papildomai atlikti pažangesnę filtrato, likusio po NSM filtravimo, kiekybę analizę. Taip pat tolesniuose tyrimuose rekomenduojama patikrintų kitų fermentinės hidrolizės sąlygų, tokių kaip skirtingų fermentų koncentracijų, maišymo greičio ar terpės pH, įtaką TSM kiekio didinimui. Atliktus tyrimus taip pat galima praplėsti taikant kitą biologinį skaidulų modifikavimo būdą, kaip skirtingų bakterijų ar grybų kultūrų panaudojimą, bei derinti kelis modifikavimo būdus. Be to, įvertinti prebiotines savybes panaudojant daugiau probiotinių bakterijų kultūrų.

Taip pat šiame projekte apžvelgtos MIM panaudojimo galimybės maisto papildų, kurie pasižymėtų pre- ir probiotinėmis savybėmis, gamyboje. Tokio produkto principinė aparatūrinė schema pateikiama 4.1 pav. Pirmiausia paruošiami MIM: morkų išspaudos (MI) džiovinamos (D/1) 37 °C temperatūroje iki <10 % drėgmės ir sumalamos (Sm/1), panaudojamas 0,2 mm akučių diametro sietas (S/1), kad sumalta žaliava būtų panašaus dalelių dydžio. Paruošti ir išdžiovinti MIM sandėliuojami laikymo talpoje (T/1) iki maisto papildų gamybos. Tuo tarpu probiotinių bakterijų biomasė pagausinama bioreaktoriuje (R/2): *MRS* mitybinė terpė pirmiausia sterilizuojama (St/3) 121 °C temperatūroje 15 min., toliau tiekama į bioreaktorių (R/2) ir atvėsusi inokuliuojama *Lactiplantibacillus plantarum* bakterijų kultūra (B). Bioreaktoriuje (R/2) palaikoma 37 °C temperatūra 24–48 val. bei taikomas periodinis maišymas, o deguonies kiekis tiekiamas dujų kompresoriumi (DK/1) ir tiek įeinančio, tiek išeinančio oro srautai išvalomi oro filtruose (OF/2 ir OF/3). Papildų gamyba prasideda nuo MIM žaliavos fermentinės hidrolizės bioreaktoriuje (R/1): iš talpos (T/1) tiekiami milteliai, kurie sumaišomi su 121 °C temperatūroje 15 min. sterilizuotu (St/1) ir atvėsintu (V/1) iki 50 °C temperatūros distiliuotu vandeniu bei *Sternzym® Oilex* fermentų preparatu (F). Hidrolizė bioreaktoriuje (R/1) vykdoma 1 val., taikant 200 aps./min. maišymą ir palaikant 50 °C temperatūrą. Po hidrolizės tame pačiame reaktoriuje (R/1) pakeliama hidrolizės mišinio temperatūra iki 90 °C ir išlaikoma 20 min. fermentų inaktyvavimui. Karštas hidrolizės mišinys toliau siurbliu (Sr/1) transportuojamas į vėsinimo įrenginį (V/2) ir maišymo talpą (MT/1). Lygiagrečiai iš bioreaktoriaus (R/2) bakterijų ir mitybinės terpės mišinys tiekiamas į šaldomą centrifugą (C/1), kurioje 4 °C temperatūroje biomasė atskiriama nuo skystos terpės, o mitybinės terpės atliekos (TL) pašalinamos. Papildomai nusodinta biomasė resuspenduojama steriliame 0,85 % fiziologiniame tirpale siekiant pašalinti mitybinės terpės likučius. Fiziologinis tirpalas paruošiamas talpoje su maišykle (FT/1), distiliuotame vandenyje ištirpinant natrio chloridą, o tirpalą sterilizuojant sterilizatoriuje (St/2) 121 °C temperatūroje 15 min. Fiziologinio tirpalo ir bakterijų suspensijos srautai į centrifugą (C/1) reguliuojami vožtuvais (Vo/1 ir Vo/2). Resuspenduota biomasė pakartotinai centrifuguojama (C/1), pašalinant fiziologinį skystį (TL). Paruošta probiotikų biomasė tiekama į maišymo talpą (MT/1), kur sumaišoma su iki kambario temperatūros atvėsintu MIM fermentinės hidrolizės mišiniu. Gautas MIM ir bakterijų mišinys toliau užšaldomas iki -80 °C temperatūros gilaus šaldymo šaldiklyje (Š/1) ir tiekiamas į liofilizatorių (L/1), kuriame džiovinamas 10 mBar ir -50 °C temperatūros sąlygomis. Šaltyje išdžiovinti milteliai homogenizuojami: panaudojamas 0,2 mm akučių diametro sietas (S/2), o ant sieto likusios dalelės susmulkinamos (Sm/2) ir vėl perleidžiamos per sietą (S/2). Homogenizuoti produkto milteliai laikomi talpoje (T/2), iš kurios toliau tiekiami pakavimui bei ženklinimui (PŽ/1) ir galutinis produktas (P/1) tiekiamas vartotojams.

Paminėtina, kad aprašyto produkto vystymui yra reikalinga atlikti daugiau mokslinių tyrimų, kurie galėtų patvirtinti prebiotinį ir probiotinį produkto poveikį organizmams *in vivo*, tinkamą produkto dienos dozę, sensorines savybes bei galutinio produkto formulavimą.

4.1 lentelė. Technologinėje schemoje naudotų įrenginių ir srautų ženklavimo reikšmės

Žymėjimas	Reikšmė	Žymėjimas	Reikšmė
D/1	Džiovinimo spinta	OF/1–3	Oro filtrai
Sm/1 ir Sm/2	Smulkintuvai	DK/1	Dujų kompresorius
S/1 ir S/2	Sietai	MRS	MRS mitybinė terpė
T/1 ir T/2	Laikymo talpos	B	Bakterijų kultūra
Dist. H ₂ O	Distiliuotas vanduo	TL	MRS terpės atliekos
St/1-3	Sterilizatoriai	Vo/1 ir Vo/2	Vožtuvai
V/1 ir V/2	Vėsinimo įrenginiai (šilumokaičiai)	C/1	Centrifuga
F	Fermentai	MT/1	Maišymo talpa
R/1 ir R/2	Bioreaktoriai	Š/1	Gilaus šaldymo šaldiklis
Sr/1	Siurblys	L/1	Liofilizatorius
MI	Morkų išspaudos	PŽ/1	Pakavimas ir ženklinimas
FT/1	Fiziologinio tirpalo ruošimo talpa	P/1	Galutinis produktas
NaCl	Natrio chloridas	Oras	Į-/išeinančio oro srautai



4.1 pav. Principinė maisto papildų miltelių iš morkų išspaudų, praturtintų probiotinėmis bakterijomis, gamybos aparatinė schema

Išvados

1. Nustatyta, kad morkų išspaudų milteliuose vyravo skaidulinės medžiagos (67 g/100 g sausų medžiagų), kurių didžioji dalis – netirpios. Mažesniais kiekiais nustatyta baltymų, lipidų, mineralinių medžiagų, angliavandenių bei redukuojančių sacharidų, kurie atitinkamai sudarė 6,9, 0,6, 6,8, 18,7 ir 12,4 g/100 g žaliavos sausų medžiagų.
2. Fermentinis apdorojimas, ypač su *Viscozyme® L* preparatu, sumažino bendrą ir netirpių skaidulų kiekį morkų išspaudų milteliuose bei padidino redukuojančių sacharidų koncentraciją 2–3 kartus, o tai patvirtina polisacharidų skaidymą.
3. Fermentinis modifikavimas pakeitė technologines savybes: padidėjo vandens ir aliejaus sulaikymas, tirpumas bei emulsijų stabilumas, tačiau sumažėjo brinkimo geba ir tūrinis tankis. O efektyviausiomis emulsijų stabilizavimo savybėmis pasižymėjo *Pectinex® Ultra Tropical* preparatu paveikti mėginiai.
4. Nustatyta, kad fermentinis apdorojimas pagerino funkcines savybes: padidėjo laisvų fenolinių junginių kiekis, antioksidacinis aktyvumas pagal ABTS radikalų sujungimą, prebiotinis potencialas bei cholesterolio ir natrio cholato surišimas. Didžiausias prebiotinis indeksas nustatytas po morkų išspaudų miltelių hidrolizės *Sternzym® Oilex* preparatu. Bet fermentų panaudojimas neigiamai veikė gliukozės adsorbciją.
5. Sukurtų produktų 3 mėn. laikymo laikotarpiu užfiksuotas didžiausias gyvybingų probiotinių bakterijų kiekis išliko kontroliniame mėginyje. Tai rodo, kad morkų išspaudų milteliai gali būti perspektyvi žaliava bakterijų imobilizavimui ir stabilizavimui dėl didelio skaidulinių medžiagų kiekio.

Literatūros sąrašas

1. IKRAM, A.; A. RASHEED; A. AHMAD KHAN; R. KHAN; M. AHMAD ir kt. Exploring the health benefits and utility of carrots and carrot pomace: a systematic review. *International Journal of Food Properties*, t. 27 (2024), nr. 1, p. 180–193. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.1080/10942912.2023.2301569>.
2. HE, Y.; B. WANG; L. WEN; F. WANG; H. YU ir kt. Effects of dietary fiber on human health. *Food Science and Human Wellness*, t. 11 (2022), nr. 1, p. 1–10. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2021.07.001>.
3. LAU, K. Q.; M. R. SABRAN ir S. R. SHAFIE. Utilization of Vegetable and Fruit By-products as Functional Ingredient and Food. *Frontiers in nutrition*, t. 8 (2021), p. 661693. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.3389/fnut.2021.661693>.
4. IQBAL, S.; Ö. TIRPANALAN-STABEN ir K. FRANKE. *Modification of Dietary Fibers to Valorize the by-Products of Cereal, Fruit and Vegetable Industry—A Review on Treatment Methods*. *Plants*, t. 11 (2022), nr. 24, p. 3466. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.3390/plants11243466>.
5. ESPINOSA-ALONSO, L. G.; M. VALDEZ-MORALES; X. APARICIO-FERNANDEZ; S. MEDINA-GODOY ir F. GUEVARA-LARA. Vegetable By-products. Iš: *Food Wastes and By-products: Nutraceutical and Health Potential*. Hoboken: John Wiley & Sons, 2020, p. 223–266. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.1002/9781119534167.ch8>.
6. VILAS-FRANQUESA, A.; M. MONTEMURRO; M. CASERTANO ir V. FOGLIANO. The food by-products bioprocess wheel: a guidance tool for the food industry. *Trends in food science & technology*, t. 152 (2024), p. 104652. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2024.104652>.
7. CICCORITTI, R.; R. CIORBA; D. CECCARELLI; M. AMORIELLO ir T. AMORIELLO. Phytochemical and Functional Properties of Fruit and Vegetable Processing By-Products. *Applied sciences*, t. 14 (2024), nr. 20, p. 9172. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.3390/app14209172>.
8. YAN, L.; G. ZHOU; K. SHAHZAD; H. ZHANG; X. YU ir kt. Research progress on the utilization technology of broccoli stalk, leaf resources, and the mechanism of action of its bioactive substances. *Frontiers in plant science*, t. 14 (2023), p. 1138700. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1138700>.
9. LIU, M.; L. ZHANG; S. SER; J. CUMMING ir K. KU. Comparative Phytonutrient Analysis of Broccoli By-Products: The Potentials for Broccoli By-Product Utilization. *Molecules*, t. 23 (2018), nr. 4, p. 900. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.3390/molecules23040900>.
10. AKSOYLU ÖZBEK, Z.; K. ÇELİK; P. GÜNÇ ERGÖNÜL ir A. Z. HEPCİMEN. A Promising Food Waste for Food Fortification: Characterization of Dried Tomato Pomace and Its Cold Pressed Oil. *Journal of Food Chemistry & Nanotechnology*, t. 6 (2020), nr. 1. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.17756/jfcn.2020-078>.
11. TRIGO, J. P.; E. M. C. ALEXANDRE; J. A. SARAIVA ir M. E. PINTADO. High value-added compounds from fruit and vegetable by-products - Characterization, bioactivities, and application in the development of novel food products. *Critical reviews in food science and nutrition*, t. 60 (2020), nr. 8, p. 1388–1416. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1572588>.
12. KUSSMANN, M.; D. H. ABE CUNHA ir S. BERCIANO. Bioactive compounds for human and planetary health. *Frontiers in nutrition (Lausanne)*, t. 10 (2023), p. 1193848. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.3389/fnut.2023.1193848>.

13. MANDRICH, L.; A. V. ESPOSITO; S. COSTA ir E. CAPUTO. Chemical Composition, Functional and Anticancer Properties of Carrot. *Molecules*, t. 28 (2023), nr. 20, p. 7161. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.3390/molecules28207161>.
14. RIAZ, N.; Z. YOUSAF; Z. YASMIN; M. MUNAWAR; A. YOUNAS ir kt. Development of Carrot Nutraceutical Products as an Alternative Supplement for the Prevention of Nutritional Diseases. *Frontiers in nutrition (Lausanne)*, t. 8 (2022), p. 787351. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.3389/fnut.2021.787351>.
15. SHARMA, K. D.; S. KARKI; N. S. THAKUR ir S. ATTRI. Chemical composition, functional properties and processing of carrot—a review. *Journal of Food Science and Technology*, t. 49 (2012), nr. 1, p. 22–32. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0310-7>.
16. ŠEREGELJ, V.; J. VULIĆ; G. ĆETKOVIĆ; J. ČANADANOVIĆ-BRUNET; V. TUMBAS ŠAPONJAC ir kt. Natural bioactive compounds in carrot waste for food applications and health benefits. *Studies in Natural Products Chemistry*, t. 67 (2020), p. 307–344. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819483-6.00009-6>.
17. LUCA, M. I.; M. UNGUREANU-IUGA ir S. MIRONEASA. Carrot Pomace Characterization for Application in Cereal-Based Products. *Applied sciences*, t. 12 (2022), nr. 16, p. 7989. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.3390/app12167989>.
18. SHARMA, H. K. ir N. KUMAR. Utilization of Carrot Pomace. Iš: *Food Processing By-Products and their Utilization*, p. 207–229. Hoboken (NJ): John Wiley & Sons, 2017. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.1002/9781118432921.ch10>.
19. DEEPAK, M. The Interaction Between Insoluble and Soluble Fiber. Iš: *Dietary Fiber for the Prevention of Cardiovascular Disease*, p. 35–59. London: Academic Press, 2017. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-805130-6.00003-3>
20. ÜSTÜN ARGON, Z.; Z. P. GÜMÜŞ; S. DOĞU ir T. AKDAĞ. Bioactive Phytochemicals from Carrot (*Daucus carota*) By-Products. *Bioactive Phytochemicals in By-products from Leaf, Stem, Root and Tuber Vegetables* (2025), p. 181–205. Prieiga per internetą: https://doi.org/10.1007/978-3-031-80700-8_10.
21. PADAYACHEE, A.; G. NETZEL; M. NETZEL; L. DAY; D. MIKKELSEN ir M. J. GIDLEY. Lack of release of bound anthocyanins and phenolic acids from carrot plant cell walls and model composites during simulated gastric and small intestinal digestion. *Food & function*, t. 4 (2013), nr. 6, p. 906–916. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.1039/c3fo60091b>.
22. KAUR, A.; R. KUMAR TIWARI; S. SINGH GAUR ir P. CHOUDHARY. Carrot and its by-products in the circular economy: a review of valorisation pathways. *Sustainable Food Technology* (2026). Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.1039/d5fb00493d>.
23. GHADIMI, N. S.; M. HOUSHMAND-DALIR; H. R. JAFARLOO ir A. AHMADI-DASTGERDI. Application of Carrot Pomace as Dietary Fiber in the Formulation of Bread. *Journal of food biochemistry*, t. 2025 (2025), nr. 1. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.1155/jfbc/6016591>.
24. GHEORGHE (MĂRTIN), A.; O. E. CONSTANTIN; I. APRODU; D. G. ANDRONOIU; F. STOICA ir kt. Application of purple carrot pomace as a by-product-derived functional ingredient In dairy-based spreadable formulations: impact on nutritional and sensory quality. *Cogent food & agriculture*, t. 12 (2026), nr. 1. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.1080/23311932.2026.2668759>.
25. STOICA, F.; R. N. RAȚU; I. MOTRESCU; I. G. CARA; M. FILIP ir kt. Application of Pomace Powder of Black Carrot as a Natural Food Ingredient in Yoghurt. *Foods*, t. 13 (2024), nr. 7, p. 1130. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.3390/foods13071130>.

26. LUCA, M. I.; M. UNGUREANU-IUGA; A. BATARIUC ir S. MIRONEASA. Physical Characteristics of Durum Wheat Dough and Pasta with Different Carrot Pomace Varieties. *Gels*, t. 11 (2025), nr. 7, p. 481. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.3390/gels11070481>.
27. AMOROSO, L.; K. J. DE FRANCE; C. I. MILZ; G. SIQUEIRA; T. ZIMMERMANN ir kt. Sustainable Cellulose Nanofiber Films from Carrot Pomace as Sprayable Coatings for Food Packaging Applications. *ACS sustainable chemistry & engineering*, t. 10 (2022), nr. 1, p. 342–352. Prieiga per internetą: <http://doi.org/10.1021/acssuschemeng.1c06345>.
28. CHHODEN, T.; P. AGGARWAL; A. SINGH; S. KAUR ir S. GROVER. Application of red carrot pomace carotenoids for the development of biofunctional edible film: a sustainable approach. *Biomass conversion and biorefinery*, t. 15 (2025), nr. 21, p. 27575–27592. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.1007/s13399-024-05339-1>.
29. MERINO, D.; U. C. PAUL ir A. ATHANASSIOU. Blending of polysaccharide-based carrot pomace with vegetable proteins for biocomposites with optimized performance for food packaging applications. *Food hydrocolloids*, t. 152 (2024), p. 109903. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2024.109903>.
30. MOUSAVI, S. N.; M. PARCHAMI; S. K. RAMAMOORTHY; A. M. SOUFIANI; M. HAKKARAINEN ir kt. Bioconversion of Carrot Pomace to Value-Added Products: Rhizopus delemar Fungal Biomass and Cellulose. *Fermentation (Basel)*, t. 9 (2023), nr. 4, p. 374. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.3390/fermentation9040374>.
31. MOUSAVI, S. N.; S. K. RAMAMOORTHY; M. HAKKARAINEN ir A. ZAMANI. Production of Mycelium-Based Papers from Carrot Pomace and Their Potential Applications for Dye Removal. *Journal of polymers and the environment*, t. 32 (2024), nr. 9, p. 4716–4732. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.1007/s10924-024-03238-0>.
32. MOUSAVI, S. N.; P. POU I RODRÍGUEZ; J. ARISTÉIA DE LIMA; E. R. K. B. WIJAYARATHNA; S. K. RAMAMOORTHY ir kt. Valorization of Juice Industry Waste Into Foam-Like Materials Using Mycelium as Natural Binder. *CleanMat*, t. 3 (2026), nr. 1, p. 28–38. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.1002/clem.70023>.
33. JOINT FAO/WHO FOOD STANDARDS PROGRAMME. *Agenda Item 8 (NFSDU/43 CRD 15): Codex Committee on Nutrition and Foods for Special Dietary Uses, 43rd Session*. Düsseldorf, Germany, 7–10 March 2023.
34. AN, Y.; W. LU; W. LI; L. PAN; M. LU ir kt. Dietary fiber in plant cell walls—the healthy carbohydrates. *Food quality and safety*, t. 6 (2022). Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.1093/fqsafe/fyab037>.
35. SERNA SALDÍVAR, S. O. ir F. E. AYALA SOTO. Chemical Composition and Biosynthesis of Dietary Fiber Components. Iš: *Science and Technology of Fibers in Food Systems*, p. 15–43. Cham: Springer, 2020. Prieiga per internetą: https://doi.org/10.1007/978-3-030-38654-2_2.
36. PADAYACHEE, A.; L. DAY; K. HOWELL ir M. J. GIDLEY. Complexity and health functionality of plant cell wall fibers from fruits and vegetables. *Critical reviews in food science and nutrition*, t. 57 (2017), nr. 1, p. 59–81. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.1080/10408398.2013.850652>.
37. NAKANO, Y.; M. YAMAGUCHI; H. ENDO; N. A. REJAB ir M. OHTANI. NAC-MYB-based transcriptional regulation of secondary cell wall biosynthesis in land plants. *Frontiers in Plant Science*, t. 6 (2015), p. 288. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00288>.
38. KHORASANIHA, R.; H. OLOF; A. VOISIN; K. ARMSTRONG; E. WINE ir kt. Diversity of fibers in common foods: Key to advancing dietary research. *Food Hydrocolloids*, t. 139 (2023), p. 108495. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2023.108495>.

39. IBRAHIM, O. ir M. MENKOVSKA. Dietary fibers—classification, properties, analysis and function: a review. *Advances in bioscience and biotechnology*, t. 13 (2022), nr. 12, p. 527–544. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.4236/abb.2022.1312036>.
40. MODASIA, A. A.; R. C. SPILLER ir F. J. WARREN. Role of fermentation-resistant and non-fermentable fibers in gastrointestinal health: mechanisms, benefits, and challenges. *Critical reviews in food science and nutrition* (2026), p. 1–17. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.1080/10408398.2025.2612556>.
41. YE, S.; B. R. SHAH; J. LI; H. LIANG; F. ZHAN ir kt. A critical review on interplay between dietary fibers and gut microbiota. *Trends in Food Science & Technology*, t. 124 (2022), p. 237–249. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2022.04.010>.
42. NIE, Y. ir F. LUO. Dietary Fiber: An Opportunity for a Global Control of Hyperlipidemia. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, t. 2021 (2021), nr. 1, p. 5542342. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.1155/2021/5542342>.
43. GIUNTINI, E. B.; F. A. H. SARDÁ ir E. W. DE MENEZES. The Effects of Soluble Dietary Fibers on Glycemic Response: An Overview and Futures Perspectives. *Foods*, t. 11 (2022), nr. 23, p. 3934. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.3390/foods11233934>.
44. FU, J.; Y. ZHENG; Y. GAO ir W. XU. Dietary Fiber Intake and Gut Microbiota in Human Health. *Microorganisms (Basel)*, t. 10 (2022), nr. 12, p. 2507. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.3390/microorganisms10122507>.
45. TANG, W.; X. LIN; N. WALAYAT; J. LIU ir P. ZHAO. Dietary fiber modification: structure, physicochemical properties, bioactivities, and application—a review. *Critical reviews in food science and nutrition*, t. 64 (2024), nr. 22, p. 7895–7915. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.1080/10408398.2023.2193651>.
46. WANG, L.; J. WANG; J. WANG; Z. GUO; Z. LI ir kt. Soluble and insoluble dietary fiber at different ratios: Hydration characteristics, rheological properties, and ameliorative effects on constipation. *Food Chemistry: X*, t. 24 (2024), p. 101996. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2024.101996>.
47. KHANPIT, V. V.; S. P. TAJANE ir S. A. MANDAVGANE. Dietary fibers from fruit and vegetable waste: methods of extraction and processes of value addition. *Biomass conversion and biorefinery*, t. 15 (2025), nr. 2, p. 1667–1686. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.1007/s13399-021-01980-2>.
48. GAN, J.; L. XIE; G. PENG; J. XIE; Y. CHEN ir kt. Systematic review on modification methods of dietary fiber. *Food hydrocolloids*, t. 119 (2021), p. 106872. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.106872>.
49. LI, J.; W. LANG; S. HAN; X. WU; F. HAO ir kt. Insights into the Mechanisms and Functional Effects of Insoluble Dietary Fiber Modification: A Review. *Foods*, t. 15 (2025), nr. 1, p. 38. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.3390/foods15010038>.
50. FERNANDES, P. Enzymatic Processing in the Food Industry. *Iš: Reference Module in Food Science*. Elsevier, 2018. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.22341-X>.
51. CHOWDHARY, P.; N. MORE; A. YADAV ir R. N. BHARAGAVA. Chapter 12 - Ligninolytic Enzymes: An Introduction and Applications in the Food Industry. *Iš: Enzymes in Food Biotechnology*, p. 181–195. London: Academic Press, 2019. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813280-7.00012-8>.
52. WANG, S.; J. LIU; X. WANG; S. LIU; Y. LU ir kt. Targeted Modification of Dietary Fiber for Increasing Soluble Dietary Fiber and Its Application in Foods. *Comprehensive reviews in food*

- science and food safety*, t. 25 (2026), nr. 2, p. 70423. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.1111/1541-4337.70423>.
53. SPOTTI, M. J. ir O. H. CAMPANELLA. Enzymatic Processes of Dietary Fibers. *Science and Technology of Fibers in Food Systems* (2020), p. 301–327. Prieiga per internetą: https://doi.org/10.1007/978-3-030-38654-2_13.
54. DHAR, P.; C. NICKHIL ir S. C. DEKA. Enzymatic modification of dietary fiber extracted from queen pineapple waste: implications for functional and structural properties. *Journal of food measurement & characterization*, t. 19 (2025), nr. 4, p. 2195–2207. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.1007/s11694-024-03043-2>.
55. JAGELAVIČIUTE, J.; G. STANIULYTE; D. CIZEIKIENE ir L. BASINSKIENE. Influence of Enzymatic Hydrolysis on Composition and Technological Properties of Apple Pomace and Its Application for Wheat Bread Making. *Plant foods for human nutrition*, t. 78 (2023), nr. 2, p. 307–313. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.1007/s11130-023-01054-w>.
56. DÍAZ-NÚÑEZ, A.; G. LÓPEZ-GÁMEZ; O. MARTÍN-BELLOSO; R. SOLIVA-FORTUNY ir P. ELEZ-MARTÍNEZ. Effects of Different Carbohydrase Complexes on Dietary Fiber Composition, Techno-Functional Properties, and Structural Characteristics of Apple Pomace. *Food and bioprocess technology*, t. 19 (2026), nr. 3, p. 133. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.1007/s11947-025-04144-6>.
57. HUANG, F.; R. HONG; Y. YI; Y. BAI; L. DONG ir kt. In vitro digestion and human gut microbiota fermentation of longan pulp polysaccharides as affected by *Lactobacillus fermentum* fermentation. *International journal of biological macromolecules*, t. 147 (2020), p. 363–368. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.01.059>.
58. Megazyme. *Sucrose / D-Fructose / D-Glucose Assay Kit*. Svetainė. Prieiga per internetą: <https://www.megazyme.com/sucrose-fructose-d-glucose-assay-kit>. [žiūrėta 2026-01-28].
59. MILLER, G. L. Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. *Analytical Chemistry*, t. 31 (1959), nr. 3, p. 426–428. Prieiga per internetą: <http://doi.org/10.1021/ac60147a030>.
60. YU, G.; J. BEI; J. ZHAO; Q. LI ir C. CHENG. Modification of carrot (*Daucus carota* Linn. var. *Sativa* Hoffm.) pomace insoluble dietary fiber with complex enzyme method, ultrafine comminution, and high hydrostatic pressure. *Food chemistry*, t. 257 (2018), p. 333–340. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.03.037>.
61. HUANG, L.; J. LIU; M. ADDY; B. DING; Y. CHENG ir kt. Physicochemical and emulsifying properties of orange fibers stabilized oil-in-water emulsions. *LWT – Food Science and Technology*, t. 133 (2020), p. 110054. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110054>.
62. JUODEIKIENĖ, G.; L. BAŠINSKIENĖ ir A. REPEČKIENĖ. *Grūdų cheminės sudėties ir technologinių savybių nustatymas : mokomoji knyga*. Kaunas: Technologija, 2007.
63. BLOIS, M. S. Antioxidant Determinations by the Use of a Stable Free Radical. *Nature*, t. 181 (1958), nr. 4617, p. 1199–1200. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.1038/1811199a0>.
64. RE, R.; N. PELLEGRINI; A. PROTEGGENTE; A. PANNALA; M. YANG ir kt. Antioxidant Activity Applying an Improved ABTS Radical Cation Decolorization Assay. *Free Radical Biology and Medicine*, t. 26 (1999), nr. 9–10, p. 1231–1237. Prieiga per internetą: [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3).
65. PRZYBORSKA, J.; M. C. HALL ir M. CONCANNON. In vitro determination of prebiotic potential of aqueous extract of horse chestnut by-product. *Bioactive carbohydrates and dietary fibre*, t. 19 (2019), p. 100190. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.1016/j.bcdf.2019.100190>.

66. ZHANG, N.; C. HUANG ir S. OU. In vitro binding capacities of three dietary fibers and their mixture for four toxic elements, cholesterol, and bile acid. *Journal of Hazardous Materials*, t. 186 (2011), nr. 1, p. 236–239. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2010.10.120>.
67. PARK, Y. W. Cholesterol Contents of U.S. and Imported Goat Milk Cheeses as Quantified by Different Colorimetric Methods. *Small Ruminant Research*, t. 32 (1999), nr. 1, p. 77–82. Prieiga per internetą: [https://doi.org/10.1016/S0921-4488\(98\)00165-5](https://doi.org/10.1016/S0921-4488(98)00165-5).
68. XU, H.; Q. JIAO; F. YUAN ir Y. GAO. In vitro binding capacities and physicochemical properties of soluble fiber prepared by microfluidization pretreatment and cellulase hydrolysis of peach pomace. *LWT - Food Science and Technology*, t. 63 (2015), nr. 1, p. 677–684. Prieiga per DOI: [10.1016/j.lwt.2015.03.033](https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.03.033).
69. SHEN, J.; X. YANG; X. SUN; W. GONG; Y. MA ir kt. Amino-functionalized cellulose: a novel and high-efficiency scavenger for sodium cholate sorption. *Cellulose*, t. 27 (2020), nr. 7, p. 4019–4028. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.1007/s10570-020-03066-0>.
70. BHUTKAR, M. A.; S. D. BHINGE; D. S. RANDIVE ir G. H. WADKAR. Hypoglycemic effects of *Berberis aristata* and *Tamarindus indica* extracts in vitro. *Bulletin of Faculty of Pharmacy, Cairo University*, t. 55 (2017), nr. 1, p. 91–94. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.1016/j.bfopcu.2016.09.001>.
71. BOEV, M.; C. STĂNESCU; M. TURTURICĂ; M. COTĂRLEȚ; D. BATÎR-MARIN ir kt. Bioactive Potential of Carrot-Based Products Enriched with *Lactobacillus plantarum*. *Molecules*, t. 29 (2024), nr. 4, p. 917. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.3390/molecules29040917>.
72. SURBHI, S.; R. C. VERMA; R. DEEPAK; H. K. JAIN ir K. K. YADAV. A Review: Food, Chemical Composition and Utilization of Carrot (*Daucus Carota* L.) Pomace. *International Journal of Chemical Studies*, t. 6 (2018), nr. 3, p. 2921–2926. Prieiga per internetą: https://www.researchgate.net/publication/328450822_A_review_Food_chemical_composition_and_utilization_of_carrot_Daucus_carota_L_pomace.
73. KOHAJDOVÁ, Z.; J. KAROVIČOVÁ ir M. JURASOVÁ. Influence of carrot pomace powder on the rheological characteristics of wheat flour dough and on wheat rolls quality. *Acta Scientiarum Polonorum, Technologia Alimentaria*, t. 11 (2012), nr. 4, p. 381–387. Prieiga per internetą: https://www.researchgate.net/publication/267709669_Influence_of_carrot_pomace_powder_on_the_rheological_characteristics_of_wheat_flour_dough_and_on_wheat_rolls_quality.
74. ŠIMKUTĖ, S.; L. BAŠINSKIENĖ; M. SYRPAS ir D. ČIŽEIKIENĖ. Composition and Technological Properties of Modified Lingonberry (*Vaccinium vitis-idaea* L.) Pomace. *Applied sciences*, t. 15 (2025), nr. 7, p. 3661. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.3390/app15073661>.
75. YUSO, P.; R. PEÑALVER; J. QUIZHPE; M. d. I. Á. ROSELL ir G. NIETO. Broccoli, Artichoke, Carob and Apple By-Products as a Source of Soluble Fiber: How It Can Be Affected by Enzymatic Treatment with Pectinex® Ultra SP-L, Viscozyme® L and Celluclast® 1.5 L. *Foods*, t. 14 (2025), nr. 1, p. 10. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.3390/foods14010010>.
76. MA, Q.; Z. MA; W. WANG; J. MU; Y. LIU ir kt. The effects of enzymatic modification on the functional ingredient - Dietary fiber extracted from potato residue. *LWT*, t. 153 (2022), p. 112511. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112511>.
77. STANEK-WANDZEL, N.; A. KRZYSZOWSKA; M. ZAREBSKA; K. GĘBURA; T. WASILEWSKI ir kt. Evaluation of Cellulase, Pectinase, and Hemicellulase Effectiveness in Extraction of Phenolic Compounds from Grape Pomace. *International journal of molecular sciences*, t. 25 (2024), nr. 24, p. 13538. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.3390/ijms252413538>.

78. LÓPEZ-GÁMEZ, G.; A. MANTHEI; R. SOLIVA-FORTUNY; O. MARTÍN BELLOSO ir P. ELEZ MARTÍNEZ. Relationship between Physicochemical, Techno-Functional and Health-Promoting Properties of Fiber-Rich Fruit and Vegetable By-Products and Their Enhancement by Emerging Technologies. *Foods*, t. 12 (2023), nr. 20, p. 3720. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.3390/foods12203720>.
79. SHAROBA, A. M.; M. A. FARRAG ir A. M. ABD EL-SALAM. Utilization of some fruits and vegetables waste as a source of dietary fiber and its effect on the cake making and its quality attributes. *Journal of Agroalimentary Processes and Technologies*, t. 19 (2013), nr. 4, p. 429–444. Prieiga per internetą: https://www.researchgate.net/publication/263046818_Utilization_of_some_fruits_and_vegetables_waste_as_a_source_of_dietary_fiber_and_its_effect_on_the_cake_making_and_its_quality_attributes.
80. AMIN, S.; S. JUNG; I. KANG ir A. DUVAL. Valorization of Baby Carrot Processing Waste. *Journal of culinary science & technology*, t. 21 (2023), nr. 1, p. 1–17. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.1080/15428052.2021.1879338>.
81. CAPARINO, O. A.; J. TANG; C. I. NINDO; S. S. SABLANI; J. R. POWERS ir kt. Effect of drying methods on the physical properties and microstructures of mango (Philippine ‘Carabao’ var.) powder. *Journal of Food Engineering*, t. 111 (2012), nr. 1, p. 135–148. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2012.01.010>.
82. RICHARDS, J.; A. LAMMERT; J. MADDEN; I. KANG ir S. AMIN. Physical Treatments Modified the Functionality of Carrot Pomace. *Foods*, t. 13 (2024), nr. 13, p. 2084. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.3390/foods13132084>.
83. WITROWA-RAJCHERT, D.; A. BAWOŁ; J. CZAPSKI ir M. KIDOŃ. Studies on Drying of Purple Carrot Roots. *Drying technology*, t. 27 (2009), nr. 12, p. 1325–1331. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.1080/07373930903226043>.
84. LI, X. ir Y. XIANYU. Dietary fiber emulsifiers: Performance modulation, stabilization mechanisms, multiscale characterization, and emerging frontiers. *Trends in Food Science & Technology*, t. 170 (2026), p. 105598. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2026.105598>.
85. KAMINSKYTĖ, G.; J. JAGELAVIČIŪTĖ; L. BAŠINSKIENĖ; M. SYRPAS ir D. ČIŽEIKIENĖ. Effect of Modification Methods on Composition and Technological Properties of Sea Buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) Pomace. *Applied sciences*, t. 15 (2025), nr. 15, p. 8722. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.3390/app15158722>.
86. KAIRĖ, A.; J. JAGELAVIČIŪTĖ; L. BAŠINSKIENĖ; M. SYRPAS ir D. ČIŽEIKIENĖ. Influence of Enzymatic Hydrolysis on Composition and Technological Properties of Black Currant (*Ribes nigrum*) Pomace. *Applied sciences*, t. 15 (2025), nr. 11, p. 6207. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.3390/app15116207>.
87. ZHANG, J.; M. LI; J. CHENG; X. ZHANG; K. LI ir kt. Viscozyme L hydrolysis and Lactobacillus fermentation increase the phenolic compound content and antioxidant properties of aqueous solutions of quinoa pretreated by steaming with α -amylase. *Journal of food science*, t. 86 (2021), nr. 5, p. 1726–1736. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.1111/1750-3841.15680>.
88. LEJA, M.; I. KAMIŃSKA; M. KRAMER; A. MAKSYLEWICZ-KAUL; D. KAMMERER ir kt. The Content of Phenolic Compounds and Radical Scavenging Activity Varies with Carrot Origin and Root Color. *Plant Foods for Human Nutrition*, t. 68 (2013), nr. 2, p. 163–170. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.1007/s11130-013-0351-3>.

89. ARAÚJO-RODRIGUES, H.; D. SANTOS; D. A. CAMPOS; M. RATINHO; I. M. RODRIGUES ir kt. Development of Frozen Pulps and Powders from Carrot and Tomato by-Products: Impact of Processing and Storage Time on Bioactive and Biological Properties. *Horticulturae*, t. 7 (2021), nr. 7, p. 185. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.3390/horticulturae7070185>.
90. PLATZER, M.; S. KIESE; T. HERFELLNER; U. SCHWEIGGERT-WEISZ; O. MIESBAUER ir kt. Common Trends and Differences in Antioxidant Activity Analysis of Phenolic Substances Using Single Electron Transfer Based Assays. *Molecules*, t. 26 (2021), nr. 5, p. 1244. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.3390/molecules26051244>.
91. RAKARIYATHAM, K.; X. LIU; Z. LIU; S. WU; F. SHAHIDI ir kt. Improvement of Phenolic Contents and Antioxidant Activities of Longan (*Dimocarpus longan*) Peel Extracts by Enzymatic Treatment. *Waste and biomass valorization*, t. 11 (2020), nr. 8, p. 3987–4002. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.1007/s12649-019-00723-9>.
92. WANG, L.; Y. WU; Y. LIU ir Z. WU. Complex Enzyme-Assisted Extraction Releases Antioxidative Phenolic Compositions from Guava Leaves. *Molecules*, t. 22 (2017), nr. 10, p. 1648. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.3390/molecules22101648>.
93. MALL, U. P. ir V. H. PATEL. Carrot pomace powder: a promising source of polyphenols and prebiotics for improving gut health. *Nutrire*, t. 49 (2024), nr. 1, p. 9. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.1186/s41110-023-00250-7>.
94. DWIVEDI, S.; K. SAHRAWAT; N. PUPPALA ir R. ORTIZ. Plant prebiotics and human health: Biotechnology to breed prebiotic-rich nutritious food crops. *Electronic Journal of Biotechnology*, t. 17 (2014), nr. 5, p. 238–245. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.1016/j.ejbt.2014.07.004>.
95. LUKOVA, P.; E. PETIT; G. PIERRE; P. MICHAUD; I. ILIEV ir kt. Prebiotic Activity of Poly- and Oligosaccharides Obtained from Plantago major L. Leaves. *Applied sciences*, t. 10 (2020), nr. 8, p. 2648. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.3390/app10082648>.
96. WANG, C.; R. SONG; S. WEI; W. WANG; F. LI ir kt. Modification of insoluble dietary fiber from ginger residue through enzymatic treatments to improve its bioactive properties. *LWT*, t. 125 (2020), p. 109220. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109220>.
97. JUREVIČIŪTĖ, I.; M. KERŠIENĖ; L. BAŠINSKIENĖ; D. LESKAUSKAITĖ ir I. JASUTIENĖ. Characterization of Berry Pomace Powders as Dietary Fiber-Rich Food Ingredients with Functional Properties. *Foods*, t. 11 (2022), nr. 5, p. 716. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.3390/foods11050716>.
98. ZHANG, S.; X. XU; X. CAO ir T. LIU. The structural characteristics of dietary fibers from *Tremella fuciformis* and their hypolipidemic effects in mice. *Food Science and Human Wellness*, t. 12 (2023), nr. 2, p. 503–511. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2022.07.052>.
99. CHENG, L.; X. ZHANG; Y. HONG; Z. LI; C. LI ir kt. Characterisation of physicochemical and functional properties of soluble dietary fibre from potato pulp obtained by enzyme-assisted extraction. *International journal of biological macromolecules*, t. 101 (2017), p. 1004–1011. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.03.156>.
100. GOFF, H. D.; N. REPIN; H. FABEK; D. EL KHOURY ir M. J. GIDLEY. Dietary fibre for glycaemia control: Towards a mechanistic understanding. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, t. 14 (2018), p. 39–53. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.1016/j.bcdf.2017.07.005>.
101. TAN, Y.; S. LI; C. LI ir S. LIU. Glucose adsorption and α -amylase activity inhibition mechanism of insoluble dietary fiber: Comparison of structural and microrheological properties of three different modified coconut residue fibers. *Food Chemistry*, t. 418 (2023), p. 135970. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.135970>.

102. ZHANG, G.; D. WANG; Y. DING; J. ZHANG; Y. DING ir kt. Effect and mechanism of insoluble dietary fiber on postprandial blood sugar regulation. *Trends in Food Science & Technology*, t. 146 (2024), p. 104354. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2024.104354>.
103. ELEAZU, C. O. The concept of low glycemic index and glycemic load foods as panacea for type 2 diabetes mellitus; prospects, challenges and solutions. *African health sciences*, t. 16 (2016), nr. 2, p. 468–479. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.4314/ahs.v16i2.15>.
104. EUROPOS PARLAMENTAS IR TARYBA. 2002 m. birželio 10 d. Europos Parlamento ir Tarybos direktyva 2002/46/EB dėl valstybių narių įstatymų, susijusių su maisto papildais, suderinimo. 2002-07-12, p. 51–57. Prieiga per internetą: <http://data.europa.eu/eli/dir/2002/46/oj>. [žiūrėta 2026-05-14].
105. BINDA, S.; C. HILL; E. JOHANSEN; D. OBIS; B. POT ir kt. Criteria to Qualify Microorganisms as “Probiotic” in Foods and Dietary Supplements. *Frontiers in microbiology*, t. 11 (2020), p. 1662. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01662>.
106. XUE, Z.; Z. CHEN; X. GAO; M. ZHANG; P. PANICHAYUPAKARANANT ir kt. Functional protection of different structure soluble dietary fibers from *Lentinus edodes* as effective delivery substrate for *Lactobacillus plantarum* LP90. *LWT*, t. 136 (2021), p. 110339. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110339>.
107. ZHANG, Y.; K. AMIN; Q. ZHANG; Z. YU; W. JING ir kt. The application of dietary fibre as microcapsule wall material in food processing. *Food Chemistry*, t. 463 (2025), p. 141195. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2024.141195>.
108. KAUR, N.; P. AGGARWAL ir S. KAUR. Phytochemical profile and techno-functional properties of black carrot (*Daucus carota*) pomace powder for the formulation of nutraceutical tablets: an impact of drying methods. *Biomass conversion and biorefinery*, t. 14 (2024), nr. 19, p. 23473–23483. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.1007/s13399-023-04511-3>.
109. EUROPOS PARLAMENTAS IR TARYBA. 2006 m. gruodžio 20 d. Europos Parlamento ir Tarybos reglamentas (EB) Nr. 1924/2006 dėl maisto produktų teiginių apie maistingumą ir sveikatingumą. 2006-12-30, p. 9–25. Prieiga per internetą: <http://data.europa.eu/eli/reg/2006/1924/oj>. [žiūrėta 2026-05-15].

Publikacijų sąrašas

Projektas dalinai finansuotas Lietuvos mokslo tarybos, paraiškos Nr. S-SV-25-283, pagal programą „Studentų mokslinių tyrimų ir stažuočių projektai“, finansuojamą iš Lietuvos valstybės biudžeto. Projekto rezultatai pristatyti Lietuvos mokslo tarybos organizuotoje „Mokslo vasara su LMT“ konferencijoje:

1. GASIŪNAITĖ, U. Fermentais modifikuotų morkų išspaudų sudėtis, funkcinės ir technologinės savybės. Iš: *Mokslo vasara su LMT, 2025 m. Studentų vasaros mokslinės praktikos rezultatai*, p. 335-336. Vilnius: Lietuvos mokslo taryba, 2025.

Taip pat magistro baigiamojo projekto tezių tema publikuotų mokslinių publikacijų sąrašas:

1. GASIŪNAITĖ, U.; J. JAGELAVIČIŪTĖ; L. BAŠINSKIENĖ ir D. ČIŽEIKIENĖ. Composition, Functional and Technological Properties of Enzyme-Modified Carrot Pomace. *Applied Sciences*, t. 16 (2026), nr. 11, p. 5552. Prieiga per internetą: <https://doi.org/10.3390/app16115552>.