



Kauno technologijos universitetas

Cheminės technologijos fakultetas

**LINŲ SĖMENŲ BALTYMINIŲ MEDŽIAGŲ FUNKCINĖS
SAVYBĖS IR JŲ POKYČIAI ULTRAGARSINIO
APDOROJIMO METU**

Baigiamasis magistro projektas

Kotryna Gasauskaitė

Projekto autorė

Prof. Habil. dr. Gražina Juodeikienė

Vadovė

Kaunas, 2019



Kauno technologijos universitetas
Cheminės technologijos fakultetas

**LINŲ SĖMENŲ BALTYMINIŲ MEDŽIAGŲ FUNKCINĖS
SAVYBĖS IR JŲ POKYČIAI ULTRAGARSINIO
APDOROJIMO METU**

Baigiamasis magistro projektas
Maisto mokslas ir sauga (kodas 6211FX011)

Kotryna Gasauskaitė

Projekto autorė

Prof. Habil. dr. Gražina Juodeikienė

Vadovė

Doc. dr. Ina Jasutienė

Recenzentė

Kaunas, 2019



Kauno technologijos universitetas

Cheminės technologijos fakultetas

Kotryna Gasauskaitė

LINŲ SĖMENŲ BALTYMINIŲ MEDŽIAGŲ FUNKCINĖS SAVYBĖS IR JŲ POKYČIAI ULTRAGARSINIO APDOROJIMO METU

Akademinio sąžiningumo deklaracija

Patvirtinu, kad mano, Kotrynos Gasauskaitės, baigiamasis projektas tema „Linų sėmenų baltyminių medžiagų funkcinės savybės ir jų pokyčiai ultragarsinio apdorojimo metu“ yra parašytas visiškai savarankiškai ir visi pateikti duomenys ar tyrimų rezultatai yra teisingi ir gauti sąžiningai. Šiame darbe nei viena dalis nėra plagijuota nuo jokių spausdintinių ar internetinių šaltinių, visos kitų šaltinių tiesioginės ir netiesioginės citatos nurodytos literatūros nuorodose. Įstatymų nenumatytų piniginių sumų už šį darbą niekam nesu mokėjęs.

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

(vardą ir pavardę įrašyti ranka)

(parašas)

Gasauskaitė, Kotryna. Linų sėmenų baltyminių medžiagų funkcinės savybės ir jų pokyčiai ultragarsinio apdorojimo metu. Magistro baigiamasis projektas / vadovė prof. habil. dr. Gražina Juodeikienė; Kauno technologijos universitetas, cheminės technologijos fakultetas.

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

Reikšmingiausi žodžiai: *linų sėmenų išspaudos, baltyminės frakcijos, ultragaras, funkcinės savybės, fermentacija.*

Kaunas, 2019. 61 p.

Santrauka

Augalinės žaliavos perdirbimo metu gaunamų antrinių produktų (biomasių) racionalus panaudojimas yra aktuali problema. Pastaruoju metu dėmesys yra skiriamas ultragarso panaudojimui, augalinės kilmės baltyminių medžiagų apdorojimui, taikant šią techniką žemose temperatūrose ($< 50\text{ }^{\circ}\text{C}$).

Šio darbo tikslas yra įvertinti sausojo frakcionavimo būdu išgautų iš linų sėmenų išspaudų baltyminių medžiagų funkcinės savybės, jų pokyčius ultragarsinio apdorojimo metu, taikant įvairius terpės pH ir panaudojimo galimybes bioprocesuose bei hidratuotų gelių gamybai.

Pradiniame darbo etape baltymais praturtintų linų sėmenų frakcijų (BLSF) iš išspaudų išgavimui taikyti du sausojo separavimo etapai: (i) kombinuotas separavimas (aerodinaminis separavimas derinyje su frakcionavimu sietais) ir (ii) separavimas pagal geometrinius požymius. Kombinuotas separavimas buvo efektyvesnis bei paprastesnis, leidęs vidutiniškai iki 35 % praturtinti baltymais išgautas iš linų sėmenų išspaudų smulkiąsias frakcijas ($d \leq 0,315\text{ mm}$; $0,315 < d \leq 0,500\text{ mm}$). Šiose frakcijose taip pat aptikta daugiausiai riebalų (17,28 %; 7,51 % atitinkamai). BLSF apdorojimas ultragarsu (850 kHz; 2 W/cm^2), lyginant su kontrole, 2,80 % padidino tirpiųjų baltymų kiekį. Atlikus BLSF albuminų ir globulinų analizę SDS-PAGE elektroforezės metodu, standartų diapazone nuo 8,000 Da iki 220,000 Da, fiksuota ultragarsinio apdorojimo įtaka baltyminių medžiagų kokybiniams pokyčiams. Albuminų frakcijoje buvo stebima didesnė ultragarsinio poveikio įtaka nei globulinų, inicijuojant mažesnės molekulinės masės ($< 12,000\text{ Da}$) baltyminių frakcijų susidarymą. Taip pat vertinta ultragarsinio poveikio įtaka BLSF funkcinėms savybėms. BLSF geliai efektyviau formavosi ir buvo intensyvesnės spalvos, naudojant jų ruošimui 15 % koncentracijos BLSF suspensijas ir apdorojant jas aukšto dažnio ultragarsu (850 kHz, $0,9\text{ W/cm}^2$ ir $1,3\text{ W/cm}^2$) nei žemame dažnyje (37 kHz, 2 W/cm^2). Naudojant mėginių apdorojimui didžiausią ultragarsinį intensyvumą (850 kHz; intensyvumas – 2 W/cm^2), buvo stebimas mažesnis emulsijų susidarymo pajėgumas albuminų frakcijose nei prie mažesnių intensyvumų ($0,9\text{ W/cm}^2$, $1,3\text{ W/cm}^2$). Emulsijos susidarymo pajėgumas priklausė nuo pH ir buvo didžiausias rūgštinėje terpėje (pH 3). Globulinų frakcijose teigiamas ultragarso poveikis ir reikšmingas putų susidarymo pajėgumo padidėjimas nustatytas naudojant mažiausią intensyvumą ($0,9\text{ W/cm}^2$) ir esant pH 7. BLSF apdorojimas ultragarsu (850 kHz, intensyvumas – $0,9\text{ W/cm}^2$) pagerino jose PRB dauginimąsi. BLSF visais fermentacijos tarpsniais (po 6, 22, 30 val. fermentacijos) buvo palankesnė terpė *L. paracasei* kultivavimui nei *P. pentosaceus* (KTU 05–9). Pritaikius BLSF apdorojimą ultragarsu (trukmė – 30 min), buvo galima panaudoti gelių ruošimui didesnę liofilizuotų aviečių priedo kiekį (5 %) ir taip pasiekti geresnį jo poveikį gelių kokybei.

Gasauskaite, Kotryna. Functional properties of flaxseed proteins and their changes during ultrasonic treatment. Master's Final Degree Project / supervisor prof. habil. dr. Grazina Juodeikiene, The Faculty of Chemical Technology, Kaunas University of Technology.

Study field and area (study field group); Technological Sciences, Food Technologies.

Keywords: *flaxseed cake, protein fractions, ultrasound, functional properties, fermentation.*

Kaunas, 2019. 61 p.

Summary

Rational utilisation of biomass, which occurs as a secondary product in the process of recycling raw plant material, is a relevant issue. Currently the biggest emphasis is on the ultrasound application for plant-based protein treatment within lower temperatures ($< 50\text{ }^{\circ}\text{C}$).

The aim of this thesis is to evaluate the functional features of flaxseed protein extract after dry fractionation, their changes after the ultrasound treatment using different levels of pH and their potential use in bioprocesses as well as the manufacture of hydrated gel.

In the beginning of the experiment there were two stages of dry separation used to get the protein-rich fractions of flaxseed: (i) combined separating (aero-dynamical separation and sieving fractionation) and (ii) separation based on geometric features. Combined separation was found to be more effective and simpler allowing to get up to 35 % more protein on average in the extracted flaxseed fractions ($d \leq 0,315\text{ mm}$; $0,315 < d \leq 0,500\text{ mm}$). These fractions were found to contain the highest level of fat (17,28 %; 7,51 % respectively). Ultrasound treatment of flaxseed protein fractions (850 kHz; 2 W/cm^2) increased soluble protein contents by 2,80 % compared to baseline. Analysis of albumins and globulins within flaxseed protein fractions using SDS-PAGE electroferosis technique in a range of 8,000 and 220,000 D, revealed the impact of ultrasound treatment on the qualitative changes of protein. In all cases, higher ultrasound effects on protein substances have been observed on albumin fractions than on globulins by initiating especially lower molecular weight ($< 12,000\text{ D}$) protein formation. The further analysis also includes ultrasonication impact on functional properties of flaxseed protein fractions. Using 15 % solution of flaxseed protein fractions, gel formed more effectively and had a more intense colour during high frequency ultrasonic treatment (850 kHz, $0,9\text{ W/cm}^2$ and $1,3\text{ W/cm}^2$) rather than low frequency (37 kHz, 2 W/cm^2). Emulsion formation capacity within albumin fractions was lower with the highest ultrasound intensity used on samples (850 kHz; intensity – 2 W/cm^2) compared with the lower intensities ($0,9\text{ W/cm}^2$, $1,3\text{ W/cm}^2$). Emulsion formation capacity was found to be related to pH and it was the highest within acidic medium (pH 3). Positive ultrasound impact and significant increase of foam formation capacity within globulin fractions was found to be using the lowest ultrasound intensity ($0,9\text{ W/cm}^2$) and pH 7. Ultrasonic treatment (850 kHz, intensity – $0,9\text{ W/cm}^2$) of flaxseed protein fractions increased growth of their lactic acid bacteria (LAB). Flaxseed protein fractions in all stages of fermentation (after 6, 22 and 30 hours) were a better medium for cultivation of *L. paracasei* than *P. pentosaceus* (KTU 05–9). While applying ultrasonic treatment of flaxseed protein fractions (duration – 30 min), it allowed to use higher quantity of lyophilised raspberry additive (5%) for gel preparation and hence increase its effect on gel quality.

TURINYS

Santrumpų sąrašas	7
Įvadas	8
1. Literatūros apžvalga	10
1.1. Linų sėmenų sėklų cheminės sudėties savitumai	10
1.1.1. Linų sėmenų baltyminių medžiagų chemija ir analizė	11
1.1.2. Baltyminių medžiagų išskyrimo iš linų sėmenų būdai	12
1.1.3. Baltyminių medžiagų funkcinės savybės	14
1.2. Ultragarso panaudojimas linų sėmenų funkcinių savybių modifikavimui	16
1.3. Linų sėmenų biologinis aktyvumas ir panaudojimas maisto produktų gamyboje.....	18
2. Tyrimo objektai ir metodai	21
2.1. Tyrimų kryptys	21
2.2. Tyrimo objektai	23
2.3. Tyrimo metodai	25
2.3.1. BLSF produktų cheminės sudėties tyrimai ir mikrobinės taršos vertinimas	25
2.3.2. Ultragarso apdorojimo įtakos vertinimas BLSF kokybei.....	27
2.3.3. BLSF panaudojimo galimybių tyrimai PRB fermentacijos procesuose ir gelių gamybai.....	29
2.4. Matematinė statistinė duomenų analizė.....	30
3. Rezultatai ir jų aptarimas	31
3.1. Sausojo separavimo taikymas BLSF išgavimui iš linų sėmenų išspaudų ir jų charakteristika	31
3.1.1. Baltymais praturtintų linų sėmenų produktų sudėties komponentai	33
3.1.2. Mikrobinė tarša linų sėmenų perdirbimo produktuose.....	34
3.2. Ultragarso apdorojimo įtaka linų sėmenų baltyminių medžiagų pokyčiams	35
3.2.1. BLSF tirpiųjų baltymų pokyčiai	35
3.2.2. BLSF albuminų ir globulinų kokybinės sudėties charakteristika	36
3.3. Baltymų funkcinių savybių pokyčiai aukšto dažnio ultragarso apdorojimo metu	37
3.3.1. Baltymingų gelių susidarymo galimybių tyrimas ultragarso poveikyje žemose temperatūrose ...	37
3.3.2. Emulsijų ir putų susidarymas ir jų stabilumas.....	42
3.4. BLSF panaudojimas fermentacijos procesuose.....	47
3.4.1. BLSF ultragarso apdorojimo įtaka mikrobinės taršos mažinimui.....	47
3.4.2. BLSF panaudojimo galimybių tyrimai PRB kultivavimui	48
3.5. BLSF derinyje su aviečių išspaudomis panaudojimas gelių gamybai.....	49
Išvados	52
Literatūros sąrašas	54

Santrumpų sąrašas

Santrumpos:

BLSF – Baltymingos linų sėmenų frakcijos;

PRB – Pieno rūgšties bakterijos;

Pp – *Pediococcus pentosaceus* KTU 05–9;

Lp – *Lactobacillus paracasei* LUHS244;

MRS – De Man, Rogosa ir Sharpe mitybinė terpė;

BMS – bendras mikroorganizmų skaičius;

PCA – Plate count agar;

KSV – kolonijas sudarantys vienetai;

SDS-PAGE – natrio dodecilsulfato poliakrilamidinio gelio elektroforezė;

TEMED – tetrametiledilendiaminas;

TRIS – tris(hidroksimetil)aminometanas;

NDS – natriododecilsulfatas.

ĮVADAS

Šiomis dienomis didėjantis žmonių susidomėjimas sveikata skatina maisto pramonę kurti naujus funkcionaliuosius maisto produktus ir/ar jų komponentus. Ypač didelį susirūpinimą kelia antriniai maisto produktai, kurie dažniausiai naudojami neefektyviai (daugiausiai pašarams) ir gali sukelti aplinkosaugos problemų. Linų sėmenų perdirbimo į augalinių aliejų metu susidaro dideli išspaudų kiekiai, įskaitant žmogaus organizmui vertingas baltymines medžiagas. Europos ir Artimųjų Rytų regionuose, linų sėmenys nuo seno naudojami žmonių mityboje. Pastaruoju metu žmonių susidomėjimas linų sėmenimis dar labiau padidėjo dėl vertingos cheminės sudėties (riebalų rūgščių, aukštos kokybės baltymų ir fitochemikalų) ir įrodyto teigiamo poveikio ligų prevencijai. Be to, baltyminės sėmenų medžiagos gali būti rišiklis biologiškai aktyviųjų medžiagų ir mikroorganizmų imobilizavimui. Linų sėmenų baltymai, patenkantys į išspaudas, pasižymi unikalia sudėtimi, o norint plėsti jų panaudojimą naujų maisto produktų gamybai, svarbu išgauti iš išspaudų praturtintas baltymais frakcijas. Kita vertus, atkreiptinas dėmesys į jų funkcines savybes (vandens absorbciją, emulsijų ir putojimo susidarymą bei gebėjimą formuoti gelius). Baltymų funkcinių savybių modifikavimui, pvz., gelių susidarymui, labiausiai efektyvus yra terminis apdorojimas aukštoje temperatūroje (80 °C). Įvertinant tai, kad šis apdorojimas sukelia baltymų struktūros pokyčius ir mažina jų biopasisavinamumą, vis intensyviau ieškoma žematemperatūrių baltymų apdorojimo būdų. Šiuo metu susidomėjimą kelia cheminiai, fermentiniai, taip pat fiziniai baltyminių medžiagų apdorojimo būdai. Neseniai buvo nustatyta, kad ultragarso technologija yra potencialus tiek augalinių, tiek ir gyvūninės kilmės baltymų apdorojimo būdas. Dėl akustinės kavitacijos (garų burbuliukų susidarymas ir staigus sproginimas), ultragarso pasiskirstymas skystoje matricoje generuoja mechaninį maišymą ir turi teigiamos įtakos emulsijoms susidaryti. Ultragarso apdorojimo poveikis priklauso nuo poveikio pobūdžio ir trukmės. Iki šiol baltyminių medžiagų apdorojimui taikomas žemo dažnio (20 kHz) ir didelio intensyvumo ultragarsas. Įrodyta, kad parinkus optimalius ultragarso apdorojimo parametrus, galima išgauti fermentų veikimui paslankesnes baltyminių medžiagų struktūras. Tai rodo ultragarso apdorojimo taikymo perspektyvumą bioprocusuose. Aukšto dažnio ir mažo intensyvumo ultragarsas iki šiol taikomas ribotai, nors tam yra sukurta įranga, sudaranti prielaidas jo panaudojimui. Vis daugiau tyrimų patvirtina, kad maisto ingredientų apdorojimas ultragarsu yra potenciali technologija, kurią tikslinga išbandyti linų sėmenų baltyminių medžiagų biomasė apdorojimui ir šio poveikio įtaką funkcinių savybių įvertinimui bei naujų produktų kūrimui.

Darbo tikslas – įvertinti sausojo frakcionavimo būdu išgautų iš linų sėmenų išspaudų baltyminių medžiagų funkcines savybes, jų pokyčius ultragarso apdorojimo metu, taikant įvairius terpės pH ir panaudojimo galimybes bioprocusuose bei hidratuotų gelių gamybai.

Pagrindiniai uždaviniai:

1. įvertinti linų sėmenų sausojo frakcionavimo pagal aerodinamines ir geometrines savybes įtaką baltymų pasiskirstymui frakcijose;
2. įvertinti kitų sudėties komponentų pasiskirstymą BLSF;
3. įvertinti ultragarso apdorojimo įtaką baltyminių medžiagų funkcinėms savybėms įvairiuose terpės pH;

4. nustatyti ultragarsu apdorotų baltyminėmis medžiagomis praturtintų linų sėmenų frakcijų panaudojimo bioprocesuose galimybes;
5. įvertinti baltyminėmis medžiagomis praturtintų linų sėmenų produktų ultragarsinio apdorojimo įtaką geliams susidaryti žemose temperatūrose ir išbandyti gelių stabilizavimui uogų išspaudas.

1. LITERATŪROS APŽVAGA

1.1. Linų sėmenų sėklų cheminės sudėties savitumai

Linai (*Linum usitatissimum* L.) yra vienmetis augalas, priklausantis *Linaceae* šeimai ir plačiai paplitęs vidutinio klimato zonoje [1]. Nuo senų laikų linai, dėl jų sėklose esančių skaidulų, buvo auginami Vakarų Azijoje ir netoli Viduržemio jūros [2]. Tradiciškai linai naudojami kaip skaidulų šaltinis, o linų sėmenų aliejus dėl savo greitą polimerizacijos savybių – pramoninėje dažų, lako ir rašalo gamyboje [3; 4].

Linų sėklos, dažnai vadinamos linų sėmenų sėklomis, gaunamos iš linų augalų (*Linum usitatissimum* L.), *Linum genties* [5]. Linų sėklos yra augalų kultūra, kurių sėklų spalva keičiasi nuo aukso geltonos iki rausvai rudos. Šis augalas auga iki 60 cm aukščio, turi liekną ir pluoštinį stiebą. Lapai būna iki 4 cm ilgio ir 4 mm pločio. *Linum* sėklų skersmuo priklauso nuo jų dydžio (1,5–5,5 mm), o forma dažniausiai būna ovali, su smailiu galu [6].

Linų sėklos (*Linum usitatissimum* L.) – aliejinis augalas, turintis daug polinesočiųjų riebalų rūgščių (73 % visų riebalų rūgščių), mononesočiųjų riebalų rūgščių (18 %) ir sočiųjų riebalų rūgščių (9 %). Linolo rūgštis sudaro 16 % visų riebalų rūgščių, o α -linoleno rūgštis – 57 % [7]. Linų sėklos naudojamos pramoninių ir natūralių sveikatai naudingų maisto produktų ruošimui. Jose gausu biologiškai aktyviųjų junginių, tokių kaip linoleno rūgštis, lignanai, cikliniai peptidai, polisacharidai, alkaloidai, cianogeniniai glikozidai ir kadmis. Dauguma biologinių ir klinikinių linų sėmenų tyrimų buvo skirti jų ekstraktams (α -linoleno rūgščiai ir lignanamams). Kitų linų sėmenų junginių veikla nėra gerai iširta ir paskelbta. Norint įvertinti linų sėklose esančių bioaktyvių medžiagų (gleivių, aliejaus ir baltymų) vartojimo naudą, jų biologinis aktyvumas turi būti susietas su specifiniais, jų sudėtyje esančiais, junginiais [3; 4].

Linų sėmenų sėklų sudėtyje yra 40 % aliejaus, 30 % maistinių skaidulų, 20 % baltymų, 4 % pelenų ir 6 % drėgmės (žr. 1 lentelę). Jų sudėtis labai skiriasi priklausomai nuo mėginių kilmės, tyrimui naudoto genotipo ir kiekvienam sudėtiniam komponentui taikytos tyrimų metodikos. Skirtumų, kurie atsiranda dėl mėginių kilmės, negalima kontroliuoti, tačiau analizės metodai gali būti kontroliuojami, pasirenkant tik tuos metodus, kurie tiksliai įvertina atitinkamą komponentą ir nurodo galimas paklaidų priežastis [8].

1 lentelė. Linų sėmenų analizė (ND – nėra duomenų)

	Aliejai	Bendras skaidulinių medžiagų kiekis	Tirpios ir netirpios skaidulinės medžiagos	Baltymai	Drėgmė	Pelenai	Energinė vertė (cal)
Šaltinis (g/100 g)							
Saskačevano universitetas	41	28	-	26	0	4	ND
JAV žemės ūkio departamentas	34	27,9	-	19,5	8,74	3,5	492
Kanados linų taryba	41	28	-	20	7	4	450
Kanados grūdų komisija	39,8–45,6	-	30,5–36,8	17,4–24,1	4,2–4,9	ND	ND

Dauguma linų sėmenų baltymų lokalizuojasi sėklų embrionuose, kaip pagrindinis azoto šaltinis dygimui ir augimui. Po separavimo ir nuriebtose linų sėmenų sėklose baltymai sudaro 35–45 %. Nuriebtos sėklos ar linų sėmenų miltai yra nepakeičiama žaliava baltymų hidrolizatų gavybai [6]. Taip pat sėklose yra baltymų, vitaminų, cholino ir cianogeninių glikozidų [9].

Linų sėmenų, lyginant su kitomis aliejinių augalų sėklomis, panaudojimas baltymų gavybai komplikotas dėl jose esančių gleivių, kurios yra tirpios ir klampios. Šios gleivės sudaro beveik 8 % sėklų sausųjų medžiagų masės ir gali pasižymėti naudingomis emulgavimo savybėmis, tačiau didelis gleivių klampumas mažina baltymų išskyrimo efektyvumą ir trukdo baltymų nusodinimą [10].

1.1.1. Linų sėmenų baltyminių medžiagų chemija ir analizė

Pastaraisiais metais linų sėmenys sulaukė daug žmonių susidomėjimo dėl juose esančių naudingų baltymų ir bioaktyvių junginių (daugiausia peptidų). Baltymų kiekiui linų sėmenų produktuose įtakos turi perdirbimo procesai [5; 11; 12].

Linų sėmenų sėklų baltymai pasižymi didele biologine verte [13]. Linų baltymų sudėtyje yra arginino, leucino, asparto rūgšties ir glutamo rūgšties, o mažesniais kiekiais lizino, metionino ir cisteino [14]. Sėmenų baltymai panašūs į sojų baltymus, kuriuose taip pat yra asparto ir glutamo rūgšties, leucino ir arginino [15]. T. Panaitė ir kt., tyrę linų sėmenų baltymų aminorūgščių sudėtį, nustatė, kad leucinas, izoleucinas, lizinas, metioninas, fenilalaninas, treoninas ir valinas yra pagrindinės septynios aminorūgštys, sudarančios 34 % bendro baltymų kiekio [16].

Linų sėklų baltymai pasižymi antigrybelinėmis savybėmis, o atskiros aminorūgštys (cisteino, metionino) pasižymi antioksidacinėmis savybėmis [17]. Be to, kaip ir daugelyje kitų sėklų, turinčių didelį baltymų kiekį, linų sėmenų baltymų hidrolizatams būdingos antineurodegeneracinės ir antihipertenzinės savybės, taip pat savybė mažinti gliukozės koncentraciją kraujyje ir kt [18]. Baltymai su mažesniu lizino ir arginino santykiu (0,42), būdingu linų sėmenims, pasižymi mažesniu aterogeniniu efektu nei kiti augaliniai baltymai. Argininas ir glutaminas daro teigiamą įtaką žmogaus organizmo imuninei sistemai [17].

Linų sėmenyse yra ciklinių peptidų, kurie išskiriami iš linų sėmenų aliejaus. Sėklose iki šiol buvo nustatyta daugiau nei 25 šių peptidų rūšys, pvz., yra įrodyta, kad bioaktyvūs peptidai pasižymi antimaliariniu ir imunosupresiniu aktyvumu, taip pat slopina didelių daugiabranduolių kaulinio audinio ląstelių (osteoklastų), kurios geba ardyti kaulą ir kremzlę, diferenciaciją. Osteoklastai daugiausia koncentruojasi ten, kur vyksta kaulinio audinio irimas ir aktyvus kaulo persitvarkymo procesas [19].

Baltymai yra aminorūgščių polimerai, kurių molekulinė masė svyruoja nuo kelių tūkstančių iki kelių milijonų, sudarydami struktūras ir kontroliuodami fermentines reakcijas gyvuose organizmuose. Maisto produktuose neįmanoma tiksliai įvertinti baltymų kiekio, nes jis yra labai didelis, todėl baltymų kiekis apskaičiuojamas pagal azoto kiekį. Azotas vidutiniškai sudaro apie 16 % visų aminorūgščių, todėl buvo priimtas azoto ir baltymo konversijos koeficientas (6,25), kuris apytikriai nusako „neapdoroto baltymo“ kiekį. Augalinių baltymų konversijos koeficientas yra labai didelis, kadangi augalai pasižymi ne tik dideliu baltymų kiekiu, bet ir turi skirtingą aminorūgščių sudėtį nei gyvūninės kilmės baltymai [8].

Tikrojo baltymo koeficiento naudojimas sumažina neapdorotų baltymų vertes iki 15 %. Nustatyta, kad per pastaruosius penkerius metus Kanadoje augančiose linų sėmenų sėklose rasta 23 % baltymų (20 % tikrojo baltymo arba 18 % baltymo, nustatyto pagal azoto kiekį). Iš atskirų ūkių paimtų linų sėmenų mėginiuose, baltymų kiekis svyravo nuo 17,4 % iki 29,2 %, o eksportuojamose linų sėmenyse – nuo 20,9 % iki 25,1 %. Kaip ir kitos aliejinių augalų sėklos, linų sėmenys turi ryšį tarp aliejaus ir baltymų kiekio.

Linų sėmenų ryšys tarp aliejaus ir baltymų yra ne toks stiprus (koreliacijos koeficientas, $r = -0,50$) kaip kitų aliejinių augalų sėklų, pvz., rapsų ($r = -0,85$) [8].

Tyrimais nustatyta, kad baltymai linų sėmenų sėklose susideda iš 20 % albuminų (1,6S ir 2S) ir 80 % globulinų (11S ir 12S). Linų sėmenų baltymai yra struktūriškai lipofiliškesni nei sojos sėklų baltymai. Globulinų frakcija yra praturtinta sierą turinčiomis aminorūgštimis, tačiau ištirta, kad 1,6S baltymų frakcija yra sieros turinčios aminorūgštys, reikalingos sėklų dygimui [8].

Bendras baltymų kiekis įprastai matuojamas nustatant azotą ir taikant konversijos koeficientą. Daugelį metų labiausiai paplitęs metodas azoto nustatymui biologinėse medžiagose buvo Kjeldalio metodas. Šis metodas apima mėginio mineralizaciją koncentruotoje sieros rūgštyje, kurios metu organinis azotas paverčiamas amoniaku. Amoniakas iš mėginio distiluojamas į boro rūgšties tirpalą, po kurio seka titravimas rūgštimi. Nors Kjeldalio metodas yra patikimas, tačiau jis turi tam tikrų trūkumų, įskaitant tendenciją sumažinti azoto išgavimą iš aliejinių augalų mėginių. Be to, šis metodas sukuria didelius cheminių atliekų kiekius, todėl nėra draugiškas aplinkai. Visai neseniai Diama sausojo degimo metodas pakeitė Kjeldalio metodą ir tapo pagrindiniu metodu bendro azoto kiekio nustatymui. Diama metodas numato sausą mėginio deginimą deguonies srove, paverčiant visą organinį azotą azoto oksidais. Tyrimais nustatyta, kad Diama metodas yra patikimesnis nei Kjeldalio metodas, įskaitant gaunamus rezultatus ir į aplinką išsiskiria mažesni atliekų kiekiai [8].

Diama metodo principas, tai sauso mėginio deginimas deguonies srove 900 °C temperatūroje. Mėginys sudeginamas ir likę organiniai elementai oksiduojami. Degimo dujos (O_2 , CO_2 , H_2O , N_2 ir azoto oksidai NO_x) surenkamos ir perduodamos per vamzdelius. Visos dujos pašalinamos, išskyrus azotą ir azoto oksidus. Sujungtas azotas perkeliama į molekulinį azotą ir azoto oksidus. Analizuojamos dujos pernešamos su CO_2 į redukcijos zoną, kurio metu volframe vyksta azoto oksidų konversija į azotą. Po dviejų džiovinimo fazių, dujų mišinys nukreipiamas į šiluminio laidumo detektorius. Neapdoroto baltymo kiekis apskaičiuojamas, padauginus išmatuoto azoto kiekį iš atitinkamo koeficiento (6,25) ir išreiškiamas procentais. Diama metodas yra skirtas kiekybiniam azoto nustatymui, nes galima išanalizuoti daug mėginių, lengva eksploatuoti ir yra našesnis, t.y. greičiau atliekama azoto kiekio analizė nei Kjeldalio metodu. Pagrindinis Diama metodo trūkumas yra tas, kad didelės išlaidos įrangos įsigijimui [20].

1.1.2. Baltyminių medžiagų išskyrimo iš linų sėmenų būdai

Per kelis dešimtmečius buvo naudota daug frakcionavimo metodų, siekiant išskirti iš sėklų baltymus, tame tarpe ir iš linų sėmenų. Linų sėklų baltymai skirstomi į tris grupes – albuminus, globulinius ir gliutelinus [21]. Išgaunami iš linų sėmenų baltymai maisto produktų gamyboje turi pasižymėti geru virškinamumu, funkcinėmis savybėmis, priimtiniu skoniu ir spalva. Be to, juose turi būti minimalus nemaistinių medžiagų kiekis [22].

M.H.H. Tehrani'is, R. Batal'as, ir M. Kamalinejad'as linų sėklų baltymus ekstrahavo vandeniu ir buferiniu karbamiidu, kurie po to buvo analizuoti SDS-PAGE elektroforezės metodu. Tyrimo metu nustatytos šešios pagrindinės baltyminių medžiagų frakcijos, kurių molekulinė masė kito ribose nuo 41,000 Da iki 55,000 Da. Didžioji dalis linų sėmenų baltymų buvo globulinai ir albuminai [23].

Norint išskirti baltymus iš linų sėmenų, taikomi įvairūs jų ekstrahavimo metodai. Naudojami tradiciniai metodai ir vystomos naujos technologijos. Tradiciniams metodams priskiriamas šarminis/izoelektrinis baltymų nusodinimas, ultrafiltracija ir micelizacijos technika (nusodinimas sulfatu). Baltymų ekstrahavimui buvo pritaikyta ir keletas naujų technologijų, kurios leido padidinti jų funkcionalumą ir tvarumą baltymų gamybos metu [24]. Naujoms technologijoms priklauso ultragarsinis ekstrahavimas, elektroninės aktyvacijos technologija, impulsinio elektrinio lauko apdorojimo technologija, aukštos įtampos elektros iškrova ir pilna arba ribota fermentinė hidrolizė. Norint palengvinti baltymų ekstrakciją iš žaliavinių linų sėmenų, pradiniam etape vykdomas smulkinimas, gleivių ekstrahavimas ir riebalų atskyrimas [25].

Izoelektrinis nusodinimas dažniausiai naudojamas pakartotiniam nusodintų baltymų ištirpinimui, keičiant tirpalo pH. Naudojant šį ekstrahavimo procesą baltymams išgauti, riebalų neturinčios linų sėmenys yra suspenduojamos vandenyje (santykiu 1:10 arba 1:20), pH intervale (pH 9–10) ir keletą valandų homogenizuojama 37 °C – 40 °C temperatūroje [26]. Gauta baltymų suspensija centrifuguojama, kad būtų išgautas supernatantas ir nuosėdos. Iš nuosėdų papildomai ekstrahuojami baltymai ir vėl centrifuguojama. Gauti ekstraktai linų sėmenų baltymų nusodinimui sumaišomi su rūgštimi iki pH 4,5–5, kambario temperatūroje. Baltymai suspenduojami distiliuotu vandeniu ir pH sureguliuojamas iki neutralaus. Izoelektrinių nuosėdų pakartotinas naudojimas baltymų išgavimui padidina jų išeigą, tačiau šis procesas turi ir trūkumų [25]. Paveikus baltymus mineralinėmis rūgštimis, jie negrįžtamai denatūruoja, praranda funkcinės savybes (tirpumą, emulsijų ir putų susidarymą), sumažėja jų maistinė vertė [26].

Taikant dalinės hidrolizės metodą, linų sėmenų miltai yra veikiami proteazėmis (pvz., naudojamas papainas, tripsinas, alkalazė, pronazė ir ficinas). Pradedant fermentinę hidrolizę nuriebinose linų sėmenyse, pirmiausia turi būti sureguliuotas pH fermentinei hidrolizei (alkalazėms – pH 8,0; tripsinui ir pankreatinui – pH 7,5 ir papainui – pH 6,5). Suregulius pH, linų sėmenų ir fermentų suspensija inkubuojama, kurios metu proteazės skaido peptidinius ryšius tarp aminorūgščių arba baltymų–angliavandenių molekulėse. Po kelių valandų tirpalas išimamas iš inkubatoriaus, proteazės inaktyvuojamos kaitinant ir greitai šaldant. Suspensija apdorojama ultragarsu ir baltymai išskiriami nuosėdose centrifuguojant ir galiausiai liofilizuojami [27; 28]. Dalinė hidrolizė leidžia pagerinti funkcinės savybes (emulsijų susidarymo, putojimo, vandens ir riebalų absorbcijos pajėgumą) [27]. Be to, šis dalinės ekstrakcijos metodas gali padėti išskirti sudėtinius baltymus, pvz., glikoproteinus [29]. Tačiau, fermentų naudojimas gali padidinti baltymų išgavimo savikainą. Be to, dalinė hidrolizė yra labiau naudinga nei pilnai atlikta hidrolizė, nes ją taikant išskirti baltymai pasižymi geresniu funkcionalumu [19].

Micelizacija taip pat yra žinomas baltymų išskyrimo metodas, padedantis išsaugoti natūralią baltymų būklę ir leidžiantis pašalinti nebaltyminius komponentus [24]. Baltymai nusodinami pridedant skirtingas druskų koncentracijas. Amonio sulfatas, lyginant su kitomis druskomis, yra dažniausiai naudojamas baltymų nusodinimui, kadangi pasižymi dideliu tirpumu, buferiškumu ir yra nebrangus [30]. Micelizacija apima baltymų ekstrakciją druskos tirpalu, kai centrifuguojant pašalinamos netirpios medžiagos, o perteklinės druskos atskiriamos diafiltracijos būdu. Micelizacijos būdu ekstrahuoti baltymai turi mažus

fitino rūgšties ir pentozanų kiekius, tačiau amonio sulfato nusodinimas yra darbu imlus [24; 30]. Micelizacija leidžia išskirti iš linų sėmenų baltymus iki 93 % [31].

Rūgštinis apdorojimas derinyje su ultrafiltracija yra žinomas metodas baltymų išgavimui, apimantis linų sėklų apdorojimą rūgštimi, o po to baltymų atskyrimą ultrafiltruojant [32]. Nuriebinėti linų sėmenų miltai suspenduojami vandenyje (kambario temperatūroje), suregulius rūgštimi terpės pH iki 4,5. Nusodinti linų sėmenų baltymai atskiriami centrifuguojant. Siekiant išgauti didesnę baltymų kiekį, šis procesas keletą kartų kartojamas su linų sėmenų nuosėdomis. Pastarasis vėliau filtruojamas (ultrafiltracija), kad būtų gautas retentatas (baltymai, kurie laikomi filtre arba poringoje membranoje). Ultrafiltracijos taikymas baltymų išgavimui turi pranašumą, nes leidžia išgauti baltymus, pasižyminčius geresnėmis funkcinėmis ir maistinėmis savybėmis. Taip pat, taikant šį metodą, išgauti baltymai pasižymi mažu mikrobiniu užterštumu [26].

Linų sėmenų sėklose yra lipidų, skaidulinių medžiagų, kurios apsunkina baltymų išgavimo procesą [1]. Siekiant palengvinti baltymų iš linų sėmenų išgavimą, pirmiausiai iš sėklų pašalinamos gleivės, to rezultate, džiovintų sėklų masė sumažėja 7–8 %. Kadangi lipoidinės medžiagos taip pat trukdo baltymų tirpumui vandenyje, buvo atliktas lipidų pašalinimas šaltyje su n–heksano milteliais. Po lipidų pašalinimo gauti milteliai naudojami tolesnei baltymų ekstrakcijai, siekiant pašalinti netirpias nuosėdas [23].

1.1.3. Baltyminių medžiagų funkcinės savybės

Dauguma maisto produktų, pvz., majonezas, ledai, pienas, sviestas, sūris, sriubos ir gėrimai yra ruošiami su emulsijomis ir dažniausiai taikomas emulsijos tipas yra aliejus/vandenyje [33]. Tradiciškai aliejaus ir vandeninių fazių homogenizavimas maisto produktų gamybai vykdomas aukštame slėgyje, naudojant vieną ar daugiau emulsiklių [34]. Baltymai dėl jų amfifilinio pobūdžio (tai molekules, turinčios tiek hidrofilinę, tiek hidrofobinę dalį), kuris palengvina emulsijos susidarymą, pagerina jos stabilumą ir suteikia pageidautinas fizines ir chemines savybes, yra naudojami kaip emulsikliai maisto pramonėje [35]. Homogenizacijos metu baltymai gali adsorbuotis ant susidariusių aliejaus lašelių paviršiaus, mažinti paviršiaus įtampą ir formuoti aplink lašelius membraną, apsaugančią juos nuo agregacijos [34]. Izoelektriniame taške galimos lašelių sąveikos, galinčios sukelti sistemų destabilizaciją, todėl emulsijų gamyba yra sudėtingas technologinis klausimas.

Linų sėmenų baltymai, apart naudos žmogaus sveikatai, taip pat pasižymi ir technologinėmis savybėmis (pvz., gebėjimu absorbuoti vandenį ir aliejų) [5]. Sėmenų baltymai susideda iš dviejų pagrindinių frakcijų: (i) viena iš jų yra didelės molekulinės masės (11–12S) ir tirpi druskų tirpaluose ir (ii) kita frakcija – mažos molekulinės masės (1,6–2S), ir tirpi vandenyje [14]. Linų sėmenų baltymų hidrofilinėms savybėms įtakos turi polisacharidiniai geliai, kurie taip pat gali trukdyti baltymų nusėdimui ir išskyrimui. Arabinės gumos (stabilizatoriaus) priedas iki 2 % padidino linų sėmenų baltymų koncentratų klampumą ir dėl to pagerėjo skystųjų aliejinių emulsijų, ruošų su linų sėmenų baltymų koncentratu, stabilumas [36]. Panašiu būdu, iš sojos pupelių išgautų emulsijų (aliejus/vandenyje) stabilumas didėjo, padidinus emulsijų ruošimui linų sėmenų baltymų koncentrato kiekius [10].

K.R. Kuhn'as tyrimais nustatė, kad linų sėmenų baltymų izoliatų ir išrūgų–linų sėmenų baltymų izoliatų emulsijos išsisluoksniuoja dėl didelės baltymų izoliatų koncentracijos ir nepalankių homogenizacijos

sąlygų (slėgio). Didesnis linų sėmenų baltymų izoliatų kiekis (0,7 %) gerina emulsijų stabilumą ir gelių susiformavimą. Esant didesnei linų sėmenų baltymų izoliatų koncentracijai, didėja emulsijos dispersiškumas [37].

Maisto baltymų funkcinės savybės dar gali būti vadinamos ir apibūdinamos kaip fizikinės ir cheminės savybės, kurios suteikia informacijos apie baltymų funkcionalumą [38]. Linų sėmenų funkcinių savybių tyrimai daugiausiai skirti linų sėmenų baltymų ir gleivinių medžiagų tyrimams, tačiau šie tyrimai vykdyti dažniausiai modelinėse sistemose arba atliekami laboratorinėmis sąlygomis [10]. Taip pat nedaug tyrimų atlikta apie netirpių linų sėmenų sudėtinių komponentų funkcines savybes [9].

Linų sėmenų sėklų baltymų pagrindinės funkcinės savybės – terminis denatūravimas, tirpumas, vandens surišimas ir riebalų absorbcija, emulsijos ir putų susidarymo pajėgumas ir jų stabilumas bei jų klampumas. Šios savybės gali būti naudojamos maisto kokybės gerinimui [38].

Baltymų tirpumas tai viena iš svarbiausių funkcinių savybių, kuri turi įtakos kitoms baltymų funkcinėms savybėms. Linų sėmenų baltymų tirpumas priklauso nuo pH ir turi poveikį intramolekulinėms sąveikoms bei baltymų struktūrai [9]. Linų sėmenų sėklų baltymų izoliatai dažnai gaminami tirpinant šarmines medžiagas ir po to nusodinant rūgštimi. Taip pat, sėmenų baltymai gerai tirpsta tiek mažose, tiek didelėse NaCl koncentracijos tirpaluose [5].

Siekiant pagerinti baltymų funkcines savybes, dažnai naudojama fermentinė baltymų hidrolizė. Baltymų izoliatai pasižymi padidintu tirpumu, esant skirtingam pH ir temperatūrai nei natūralūs baltymai. Natūralių baltymų tirpumas izoelektriniame taške sumažėja, padidinus temperatūrą [39]. Mažiausias linų sėmenų baltyminių medžiagų tirpumas nustatytas esant pH 5 (20 %). Kai linų sėmenų pH yra arti izoelektrinio taško, baltymų įkrovimas yra minimalus ir sustiprėjus hidrofobinei sąveikai, baltymų agregacija arba nusodinimas padidėja. Kai pH yra didesnis arba mažesnis nei izoelektrinis taškas, baltymai turi teigiamą ir neigiamą įkrovimą, kuris sukelia elektrostatinį atostūmį ir destabilizuoja struktūrą. Linų sėmenų apdorojimas, išgaunant iš jų išspaudų miltus, sumažina baltymų tirpumą nuo 73,2 % iki 44,9 %. Sustiprėjus hidrofobinei sąveikai, denatūruoti baltymai yra labiau jautrūs agregacijai, dėl to sumažėja jų tirpumas [9].

Baltymų emulsuojančios savybės vertinamos pagal emulsijų susidarymo pajėgumą ir emulsijų stabilumą. Baltymai gali sudaryti emulsijas, kurios tam tikrą laiko tarpą išlieka stabilios (nepakitusios). Dauguma lipidų prisijungia prie baltymų vandenilinėmis jungtimis arba hidrofobinėmis sąveikomis. Emulsijos gali susidaryti pridedant emulsiklio, susidedančio iš hidrofobinių ir hidrofiliinių grupių [40]. Emulsikliai yra paviršiaus aktyviosios medžiagos, kurios naudojamos paviršiaus įtempimo sumažinimui ir sudaro viskoelastinį apsauginį sluoksnį, mažinantį aliejaus lašelių koalescenciją [41].

Putų susidarymo pajėgumas – tai putų gebėjimas padidinti savitąjį tūrį, įterpiant į disperguojamą sistemą orą, o putų stabilumas, tai putų gebėjimas išlaikyti savo tūrį tam tikrą laiko tarpą. Linų sėklų baltymai pasižymi stabiliu putų susidarymo pajėgumu, kuris padidina tūrį 25 % (pH 2,0–6,0) ir reikšmingai padidina putų stabilumą (esant pH 8). Linų sėmenų baltymų putų susidarymo pajėgumas prie tokių pačių pH verčių nustatytas mažesnis nei sojos baltymų. Pagal A.A. Bekhit'ą ir kt. tyrimus, linų sėmenų baltymų putų susidarymo pajėgumas 45 °C temperatūroje išliko pastovus ir sumažėjo, pakilus daugiau nei 80 °C

temperatūrai. Taigi, šildymas 45 °C – 80 °C temperatūroje gali pagerinti putų susidarymo pajėgumą, o kaitinimas aukštesnėje nei 80 °C temperatūroje gali sąlygoti baltymų denatūraciją, todėl sumažėja jų tirpumas ir putų susidarymo pajėgumas bei stabilumas [9].

Linų sėmenų baltymų, lyginant su sojos baltymais, putų susidarymo stabilumas išlieka stabilus rūgštinėje ir neutralioje terpėje, tačiau putos, gautos iš termiškai apdorotų linų sėmenų baltymų, pasižymi mažesniu stabilumu nei putos, iš sojos baltymų ir tai būdinga esant bet kuriam pH intervalui [9].

Labiausiai pastebima linų sėmenų funkcinė savybė, tai gebėjimas formuoti gelius. Linų sėmenys pasižymi geru klampumu, elastingumu ir savybe formuoti gelį, todėl gali būti naudojama maisto pramonėje kaip tirštiklis, emulsiklis ar stabilizatorius [42].

Gelis susidaro tarp dviejų skirtingų medžiagų, pasižyminčių elastingumo (kietumo) ir tekėjimo (skysčio) savybėmis, ir susiformuoja aušinant arba šaldant. Dėl šių savybių, gelis gali išlaikyti skirtingą formą (pasižymėti mechaniniu atsparumu). Vandeniai geliai yra didelio drėgno trimatės polimerinės struktūros, kurias stabilizuoja vandeniliniai ryšiai, elektrostatinės ir Van der Valso jėgos bei hidrofobinės sąveikos. Gelio susidarymo mechanizmas priklauso nuo susidarymo sąlygų, pvz., baltymų koncentracijos, temperatūros, jonų buvimo, pH ir baltyminių medžiagų koncentracijos. Gelis tradiciniu būdu gaunamas kaitinant denatūruotus baltymus, iš kurių susidaro agregatai ir taip suformuojami geliai. Didesnė baltyminių medžiagų koncentracija sąlygoja geresnės konsistencijos gelių susidarymą [43].

Literatūroje daug dėmesio skiriama sojos baltymų izoliatams ir jų funkcinėms savybėms, nes jie plačiausiai naudojami maisto produktuose. Sojų baltymų izoliatai pasižymi geromis funkcinėmis savybėmis (emulsijų ir gelių susidarymo), tačiau nesuformuoja reikiamos konsistencijos gelių aukštose temperatūrose [44].

1.2. Ultragarso panaudojimas linų sėmenų funkcinėms savybėms modifikavimui

Šiomis dienomis maisto pramonėje tampa populiarus ultragarsinės technologijos vystymas ir taikymas. Ultragarso technologija paremta mechaninėmis bangomis ir paprastai nusakoma kaip garsas, kurio dažnis yra aukštesnis nei gali girdėti žmogaus ausis (> 16 kHz). Priklausomai nuo skirtingų dažnių diapazono, ultragaras gali būti suskirstytas į tris kategorijas: (i) galingas ultragaras (20 kHz – 100 kHz), (ii) aukšto dažnio ultragaras (20 kHz – 2 MHz) ir (iii) diagnostinis ultragaras (> 1 MHz). Ultragaras taip pat gali būti skirstomas į mažą intensyvumą (< 1 W/cm²) ir aukštą intensyvumą (10–1000 W/cm²). Aukšto dažnio ir žemo intensyvumo ultragaras dažniausiai naudojamas kaip analizės metodas, suteikiantis informaciją apie maisto fizikines ir chemines savybes, pvz., tvirtumą, rūgštingumą. Naudojant žemo dažnio ir aukšto intensyvumo ultragarą, galima fiziškai arba chemiškai pakeisti maisto savybes. Ultragarso poveikis skysčių sistemose daugiausia susijęs su kavitacijos reiškiniu [45]. Veikiant ultragarsu, susiformuoja kavitacijos burbuliukai. Jie greitai susidaro ir stipriai sprogs, sukeldami temperatūros ir slėgio pokyčius, dėl kurių kavitacijos vietoje gali atsirasti didelės šlyties energijos bangos ir turbulencija. Taip pat, ultragaras gali generuoti reaktyvius laisvuosius radikalus iš vandens molekulių ($H_2O \rightarrow HOH$), dėl kurių galimos reakcijos su kitomis molekulėmis [46].

Baltymų cheminių reakcijų metu, pirmiausia buvo taikomas apdorojimas aukšto intensyvumo ultragarsu. Pagal L. Mu ir kt. [47] ultragarsinis apdorojimas yra efektyvus metodas baltymų ir polisacharidų

konjugatų formavimuisi. L. Chen'o ir kt. [48] tyrimai rodo, kad ultragarsinis apdorojimas padidina fermentų sąlygojamus hidrolizės procesus. Kitais tyrimais nustatyta, kad veikiant aukšto intensyvumo ultragarsu, tiesiogiai modifikuojamos funkcinės ir fizinės baltymų savybės (gelių susidarymas, emulsijų ir putų susidarymo pajėgumas). G. Krešič'as ir kt. [49] nustatė, kad apdorojus išrūgų baltymus aukšto intensyvumo ultragarsu, padidėjo jų tirpumas, klampumas ir putų susidarymo pajėgumas. Taip pat apdorojimas ultragarsu pakeitė ir sojos baltymų koncentratų reologines savybes, padidino tirpumą ir emulsijos susidarymą bei komercinių sojos baltymų tirpumą [50]. Taigi, apdorojimas aukšto dažnio intensyvumu yra ne tik veiksminga ir patikima alternatyva maistinių baltymų kokybei gerinti, bet ir galinti sukurti naujus maisto produktus. Literatūroje aprašoma apie molekulinis ir struktūrinius pokyčius, gautus, apdorojus sojų baltymų izoliatus aukšto intensyvumo ultragarsu (padidėjęs vidinis molekulinis mobilumas, paviršiaus aktyvumas, aptikti laisvųjų sulfhidrilo grupių pokyčiai, dalelių dydžių pokyčiai ir padidėjęs paviršiaus hidrofobiškumas) [46].

Pastaruoju metu, vis daugiau vartotojų domisi funkciniais maisto produktais, kurie be maistinės vertės išsiskiria papildomomis savybėmis, skatinančiomis ligų prevenciją ir jų gydymą. Šiuo atžvilgiu, svarbu turėti kokybiškus žaliavų apdorojimo būdus, kurie išsaugotų ne tik maistinę vertę ir kokybę, bet ir tam tikrų maisto sudedamųjų dalių bioaktyvumą. Apdorojimas ultragarsu gali išsaugoti maisto produktus, inaktyvuodamas fermentus ir mikroorganizmus (esant tinkamoms temperatūros sąlygoms), ir pagerinti maisto kokybę, prailginti produktų saugojimo laiką ir jų stabilumą [51].

Ultragarsas – tai efektyvus ir naujoviškas žaliavų perdirbimo būdas, kuris taikomas daugelyje procesų, pvz., emulgavimui, kristalizacijai, homogenizacijai, hidrolizacijai, ekstrakcijai ir mikroorganizmų inaktyvacijai. Šis perspektyvus metodas turi daugybę privalumų, lyginant su tradiciniais metodais, kadangi suteikia tam tikrus teigiamus pokyčius ir pagerina maisto kokybę [52]. Iki šiol apdorojimas ultragarsu yra labiausiai paplitęs būdas dėl jo gebėjimo sumažinti mikrobine taršą. Be to, kuriamos lengvesnio valdymo ultragarsinės įrangos [45].

Yra žinoma, kad ultragarsas turi didelį poveikį įvairių maisto produktų gamybos procesams. Naudojant ultragarsą, maisto gamybos procesai gali būti realizuojami greičiau (per kelias sekundes ar minutes), padidina apdorojamo produkto saugą, sąlygoja energijos ir masės perdavimą, leidžia vykdyti procesus prie žemų temperatūrų. Priklausomai nuo ultragarso intensyvumo, maisto produktų klampumas gali didėti arba mažėti, o poveikis gali būti laikinas arba nuolatinis [53].

Technologija – apdorojimas ultragarsu buvo plačiai tirta žaliavų perdirbimo procesuose, siekiant išvengti neigiamo terminio apdorojimo poveikio, pvz., baltymų denatūracijos [54]. Maisto produktuose yra daug maistinių medžiagų ir vandens, o tai sukuria tinkamą aplinką pašalinės mikrofloros augimui. Siekiant išsaugoti maistą, buvo sukurti terminiai procesai mikroorganizmams inaktyvuoti. Tačiau aukštos temperatūros gali turėti neigiamos įtakos baltymų funkcinėms savybėms ir jas bloginti. Ultragarsas buvo sėkmingai naudojamas didelį lipidų kiekį turinčių produktų mikrobinės taršos mažinimui, kaip alternatyvi technologija tradiciniams metodams. Ultragarsas leidžia naudoti švelnesnius temperatūros režimus ir sumažinti jautrių temperatūrai junginių apdorojimo trukmę [53]. Mikroorganizmai turi hidrofobinius paviršius, kurie skatina kavitacinių burbuliukų sprogamą ant paviršiaus ir tai sukelia

ląstelės sienelių pažeidimus [51]. Ultragarsiniais tyrimais siekiama pagerinti mikrobu inaktyvumą maiste, padidinant kavitaciją ir burbuliukų sproginimo energiją [55].

Ultragarso naudojimas yra naudingas daugelyje maisto gamybos procesų. Apdorojimas ultragarsu yra ne tik greita, veiksminga ir patikima alternatyva, gerinanti maisto produktų kokybę, bet ir galinti sukurti naujus produktus, turinčius unikalias funkcijas. Naujai sukurtos ultragarsinės sistemos pasižymi dideliu selektyvumu, trumpesniu ekstrahavimo procesu, geresne ekstraktų kokybe ir saugumu. Šios ultragarso sistemos yra lengvai integruojamos į gamybos procesus ir yra ekologiškos [45].

1.3. Linų sėmenų biologinis aktyvumas ir panaudojimas maisto produktų gamyboje

Linų sėmenys neseniai buvo pripažinti funkcionaliuoju maistu žmogaus mityboje, kadangi jų vartojimas suteikia naudos sveikatai (sumažina navikų augimą, cholesterolio kiekį kraujyje, mažina širdies ir kraujagyslių ligų ir vėžio riziką, ypač storosios žarnos vėžio riziką, sumažina menopauzinius simptomus ir osteoporozę) [16]. Taip pat, linų sėmenys turi teigiamos įtakos inkstų funkcijoms, kaulams, suteikia stiprų fitoestrogeninį ir terapinį poveikį bei mažina su hormonais susijusią vėžinių susirgimų riziką.

Vis didėjantis linų sėmenų, kaip funkcinio maisto populiarumas, paskatino vartotojus rinktis produktus, praturtintus linų sėmenimis. Šiomis dienomis, linų sėmenys yra naudojami duonos, pusryčių dribsnių, gėrimų, salotų padažų, sausainių, krekerių ir pyragų sudėtyje [3; 56]. Linų sėklų sudedamosiose dalyse yra tam tikrų unikalių savybių, dėl kurių jos yra vertingas maisto šaltinis. Tačiau turi būti nustatytas tikslus antimitybinų komponentų kiekis (cianogeninių glikozidų, tiامينo inhibitoriaus linatino), nes linų sėmenys dažniausiai naudojami mitybai be terminio apdorojimo [8].

Linų sėklų baltymai pasižymi dideliu arginino ir glutamo kiekiu, todėl gali būti naudingi apsisaugant nuo širdies ligų ir stiprinant imuninę sistemą [57]. Kai kuriuose tyrimuose daugiausia dėmesio buvo skirta antigrybeliniam linų sėmenų baltymų aktyvumui. Vis dar nėra atlikta pakankamai tyrimų apie linų sėklų baltymų antibakterinį aktyvumą. Tačiau buvo įrodyta, kad linų sėmenų baltymai ir peptidai pasižymi biologiniu aktyvumu (antioksidaciniu, priešūždegiminiu, antihipertenziniu, imuniteto stiprinimu, gliukozės absorbcijos kontrole ir kt.). Dėl šių priežasčių, linų sėmenys yra įtraukti į daugelių funkcionaliųjų maisto produktų receptūras [23].

C.C. Udenigwe'is ir kt. [58] tyrimais nustatė, kad linų sėmenų baltymų vartojimas gali sumažinti kraujo spaudimą. Linų sėmenų baltymų izoliatais (200 mg/kg kūno svorio) buvo šeriamos hipertenzinės žiurkės ir praėjus kelioms valandoms po vartojimo, buvo stebimas kraujospūdžio sumažėjimas. Linų sėmenų baltymuose gausu arginino, kuris hipertenzinėms žiurkėms sukėlė, laike 2 valandų, kraujospūdžio sumažėjimą. Linų sėmenų baltymų, kaip ir kitų augalinių baltymų sudėtyje, yra bioaktyvių peptidų. Atliktais tyrimais įrodyta, kad linų sėmenų baltymai susieti su juose esančiomis gleivinėmis medžiagomis ir gali būti naudojami įvairiose maisto produktų formose. Tačiau gleivės padidina tirpalų klampumą, todėl baltymų atskyrimas nuo gleivių yra sunkus.

Linų sėmenyse esančių baltymų virškinamumas priklauso nuo to ar baltymai yra išskiriami grynoje formoje, ar yra kartu su kitais sudėtiniais komponentais (gleivėmis, aliejais ir kt.). Baltymų gryniesi ekstraktai pasižymi dideliu virškinamumu (virškinamumo koeficientas – 89,6 %). Linų sėmenų baltymų hidrolizės produktai gali slopinti fermento angiotenzino I aktyvumą ir tyrimai rodo, kad linų sėmenų

baltymų hidrolizė vyksta žarnyne. H.K. Marambe, P.J. Shand'as ir J.P.D. Wanasundara [59] tyrė linų sėmenų baltymų virškinamumą *in vitro* ir nustatė, kad skrandžio ir žarnyno virškinimo sąlygose, jie buvo atsparūs virškinamumui. Tačiau pašalinus aliejus ir/ar gleives, pagerinamas linų sėmenų baltymų *in vitro* virškinamumas [60].

M.H.H. Tehrani'is, R. Batal'as ir M. Kamalinejad'as [23] tyrė linų sėmenų baltymų antimikrobinį aktyvumą. Iš homogenizuotų linų sėmenų miltų buvo pašalinti riebalai ir gleivės, o likę baltymai ekstrahuoti distiliuotame vandenyje. Po centrifugavimo, supernatanto baltymai buvo izoliuoti, reguliuojant pH. Gelio filtravimo ir jonų mainų chromatografijos metodais iš baltymų ekstrakto buvo išgautos pakankamai grynios baltymų frakcijos, kurių antibakterinis aktyvumas buvo tiriamas prieš mikroorganizmus praskiedimo metodu. Rezultatai parodė, kad linų sėmenų baltymai slopina patogenų (*Enterococcus faecalis*, *Salmonella typhimurium* ir *Escherichia coli*) aktyvumą. Šiuo eksperimentu buvo įrodyta, kad gleivės, sudarytos iš angliavandenių, nepasižymi antimikrobinio poveikiu.

Beveik į bet kurią keptą produktą gali būti pridedama maltų ar nesmulkintų linų sėmenų sėklų, kurios suteikia tam tikrą skonį duonai, vafliams, blynams ir kitiems maisto produktams. Šiomis dienomis, maisto produktų pasirinkimas, kurių sudėtyje yra linų sėmenų, tampa vis platesnis ir įvairesnis (greito paruošimo sausi pusryčių dribsniai, salotų padažai, pagaminti iš šalto spaudimo linų sėmenų aliejaus, salotų užpilai, sausainiai ir kt.) [61].

Atlikti tyrimai rodo, kad linų sėmenų maistinės skaidulos slopina lipemiją (riebalų kiekio padidėjimą kraujyje) ir reguliuoja apetitą, todėl sumažėja širdies ir kraujagyslių ligų rizika, sumažėja kūno masės indeksas ir riebalų kiekis organizme [62]. Lignanai, esantys linų sėmenyse, taip pat apsaugo kraujagysles nuo uždegiminių pažeidimų [63]. Kadangi linų sėmenų sudėtyje yra trys bioaktyvios sudedamosios dalys, maistinės skaidulos, lignanai ir α -linoleno rūgštis, jos siejamos su galimu sveikatingumo gerinimu, pvz., sumažina krūties vėžio, osteoporozės, diabeto, širdies ligų atsiradimo riziką ir kontroliuoja menopauzinius simptomus. Pagal naujausius tyrimus, linų sėmenų vartojimas lėtina gliukozės (po valgio) absorbciją į kraują, gliukozės tolerancijos pagerėjimą ir cholesterolio sumažėjimą kraujyje [7].

Taigi, linų sėmenys į maisto produktus gali būti pridėtos maltos arba iš linų sėmenų gautomis išspaudomis, po aliejaus išgavimo. Linų sėklos gali būti naudojamos įvairiuose kepiniuose (sausainiuose, kinų duonoje, valgomajame ryžių popieriuje). Linų sėklų maistinės medžiagos, ypač lignanai ir α -linoleno rūgštis, yra stabilūs laikymo metu [7].

Fermentacijos procesuose. Pastaraisiais metais vartotojai vis labiau ieško natūralių, be pridėtinių cheminių konservantų maisto produktų, kurie būtų tinkami jų sveikam gyvenimo būdui. Biologinis maisto produktų saugumas reiškia ilgesnį galiojimo laiką ir didesnę maisto produktų, kurių sudėtyje yra mikroorganizmų ir/ar jų metabolitų, saugumą. PRB fermentacijai yra naudojami natūralūs ar atrinkti starteriniai organizmai, pasižymintys antimikrobinėmis savybėmis ir skirtingais metaboliniais procesais (laktozės metabolizmu, proteolitinių fermentų, bakteriofagų atsparumu, bakteriocinų gamyba, atsparumu antibiotikams ir kt.). Pieno rūgšties bakterijos (PRB) atlieka svarbų vaidmenį fermentacijos procesuose, nes jos prisideda prie galutinio produkto mikrobiologinio saugumo. PRB turi GRAS statusą (pripažįstamos saugiomis) ir apskaičiuota, kad fermentuoti maisto produktai Europos žmonių mityboje sudaro 25 %, o besivystančiose šalyse – 60 % [64]. Jų išlikimas maisto produktuose yra labai svarbus ir

priklauso nuo maistinių medžiagų, esančių maisto matricoje bei aplinkos sąlygų (temperatūros, pH ir jonų buvimo) [65].

Pieno rūgšties bakterijos (PRB), priklausančios *Lactobacillaceae* šeimai, yra vienos iš daugelio bakterijų grupių, kurios įtraukiamos į žmonių mitybą. Paprastai naudojamos kaip probiotikai arba funkciniai starteriniai organizmai maisto ir gėrimų fermentacijos pramonėje. Šie starteriniai organizmai angliavandenių fermentacijos metu gamina vieną iš pagrindinių produktų – pieno rūgštį. PRB atsparios rūgštimis, sporų nesudarančios gram–teigiamos lazdelės (*Lactobacillus*, *Enterococcus* ir *Carnobacterium*) arba kokai (visos kitos bakterijos) [66].

PRB bakterijos randamos įvairių maisto produktų sudėtyje, tokių kaip jogurto, pieno gėrimų, sūrio, fermentuotų pupelių ir kitų fermentuotų maisto produktų. Žmonės, netoleruojantys laktozės ir vegetarai, vis labiau domisi nekomerciniais (produktais be pieno) PRB fermentuotais maisto produktais. Ši paklausa lėmė PRB fermentuotus produktus, kuriuose nebūtų laktozės, matricos kūrimą. Pavyzdžiui, daržovės ir vaisiai buvo pasiūlyti kaip nauja alternatyva PRB augimui. Yra atliekami tyrimai, kurie į vaisių ir daržovių sudėtį įveda PRB bakterijas, pakeisdami galutines produktų juslines, mitybos ir funkcines savybes [67]. Tokiu būdu, perspektyvu išbandyti PRB ir linų sėmenis fermentuotų produktų gamybai.

2. TYRIMO OBJEKTAI IR METODAI

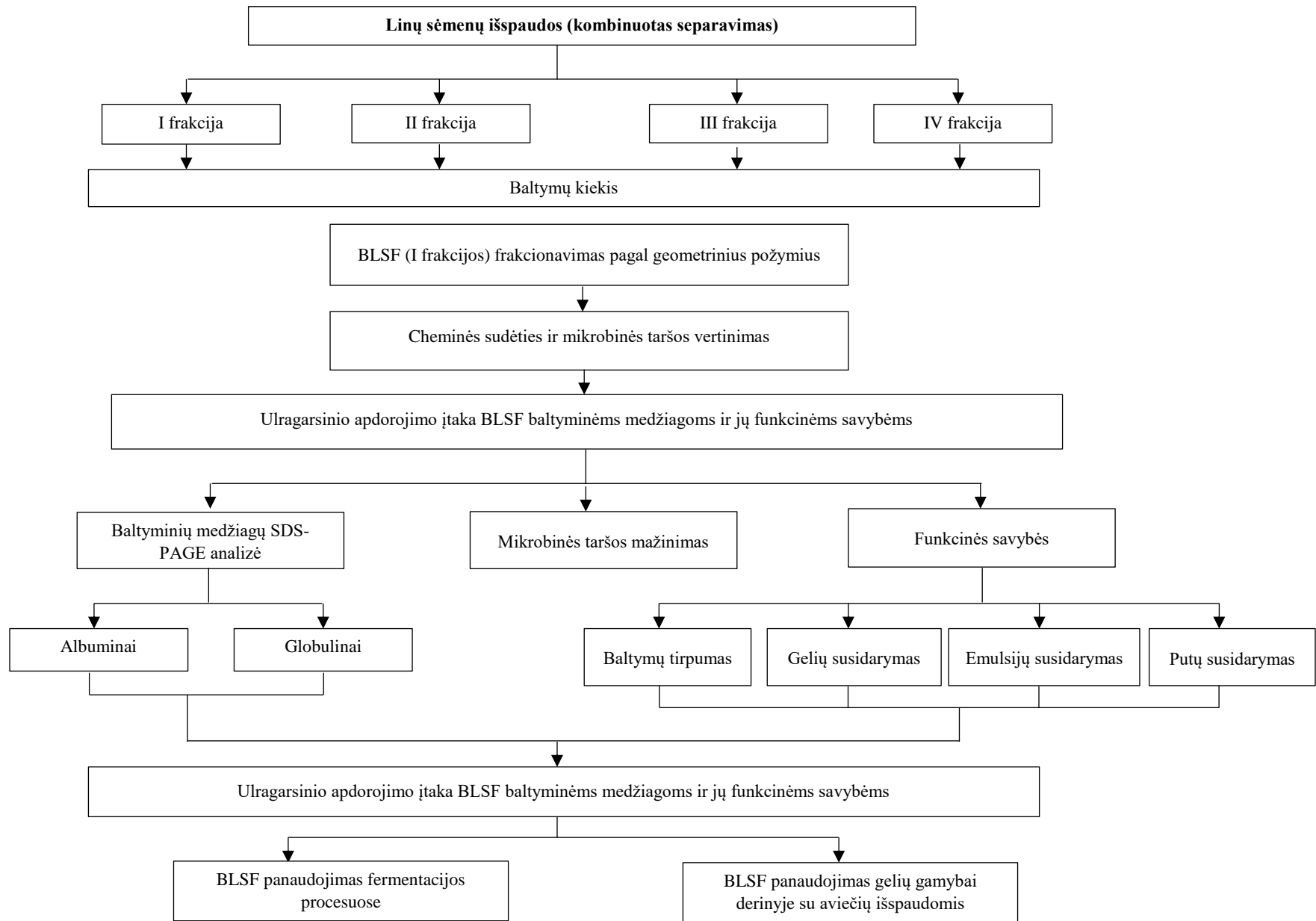
2.1. Tyrimų kryptys

Pradiniame darbo etape analizuotos galimybės išgauti baltymais praturtintas frakcijas iš linų sėmenų išspaudų, taikant sausąjį frakcionavimo būdą. Tam tikslui sėmenų išspaudos (po augalinio aliejaus atskyrimo) skirstytos gamybinėse sąlygose (UAB „Ustukių malūnas“) aerodinaminiu separatoriumi į keturias skirtingo stambumo frakcijas. Atliktas šių frakcijų tyrimas – bendras baltymų kiekio nustatymas. Didžiausiu baltymų kiekiu pasižyminti frakcija buvo papildomai frakcionuota *Haver EML Digital plus, Test Sieve Shaker, 59302 OELDE* (Vokietija) sietų sistema, esančia KTU Silikatų technologijos katedroje. Po papildomo separavimo gautos keturios skirtingo stambumo frakcijos (I – $d \leq 0,315$ mm; II – $0,315 < d \leq 0,500$ mm; III – $0,500 < d \leq 1,000$ mm; IV – $d > 1,000$ mm). Linų sėmenų išspaudų produktuose analizuotas bendras baltymų ir riebalų kiekis, *trans*-riebalų izomerai ir mikrobinė tarša pagal BMS. Kaip potencialus ingredientas naujų produktų, pvz., gelių gamybai, tolesniems tyrimams pasirinktas smulkiusių frakcijų mišinys (I – $d \leq 0,315$ mm; II – $0,315 < d \leq 0,500$ mm), išsiskiriantis didžiausiu baltymų kiekiu.

Antrajame tyrimų etape vertinta skirtingo dažnio ir intensyvumo ultragarsinio apdorojimo įtaka linų sėmenų baltyminių medžiagų sudėčiai ir funkcinėms savybėms žemose temperatūrose (45 °C – 50 °C). BLSF gelių gamybai išbandytos dvi skirtingos ultragarsinės įrangos: (i) 37 kHz dažnio, intensyvumas – 2 W/cm² ir (ii) 850 kHz, naudojant įvairius intensyvumus – 0,9 W/cm²; 1,3 W/cm²; 2 W/cm². Kitame tyrimo etape vertinta ultragarsinio poveikio įtaka BLSF tirpiems baltymams ir albuminų bei globulinų frakcijoms, tirtoms SDS-PAGE elektroforezės metodu. Taip pat, analizuota ultragarsinio poveikio įtaka BLSF baltyminių medžiagų emulsijų ir putų susidarymo pajėgumui bei jų stabilumui. Tolesniame etape vertinta ultragarso įtaka BLSF gelių susidarymui. Papildomai tirta ultragarsinio apdorojimo įtaka ir gelių spalvai.

Tiriant BLSF panaudojimo galimybes bioprocesuose, vertinta skirtingai ultragarsu apdorotų mėginių PRB (*P. pentosaceus* KTU 05–9 ir *L. paracasei* LUHS244) fermentacija. Apie fermentacijos efektyvumą buvo sprendžiama pagal PRB dauginimosi kreivę ir vieno iš pagrindinių metabolitų – pieno rūgšties izomerų susidarymą.

Paskutiniame etape vertintas baltyminėmis medžiagomis praturtintų linų sėmenų frakcijų panaudojimo galimybės hidratuotų gelių gamybai. Jų tekstūrai stabilizuoti buvo išbandytos aviečių išspaudos, nustatant šios rūšies priedų įtaką gelių tekstūros parametrams, spalvai ir priimtinumui.

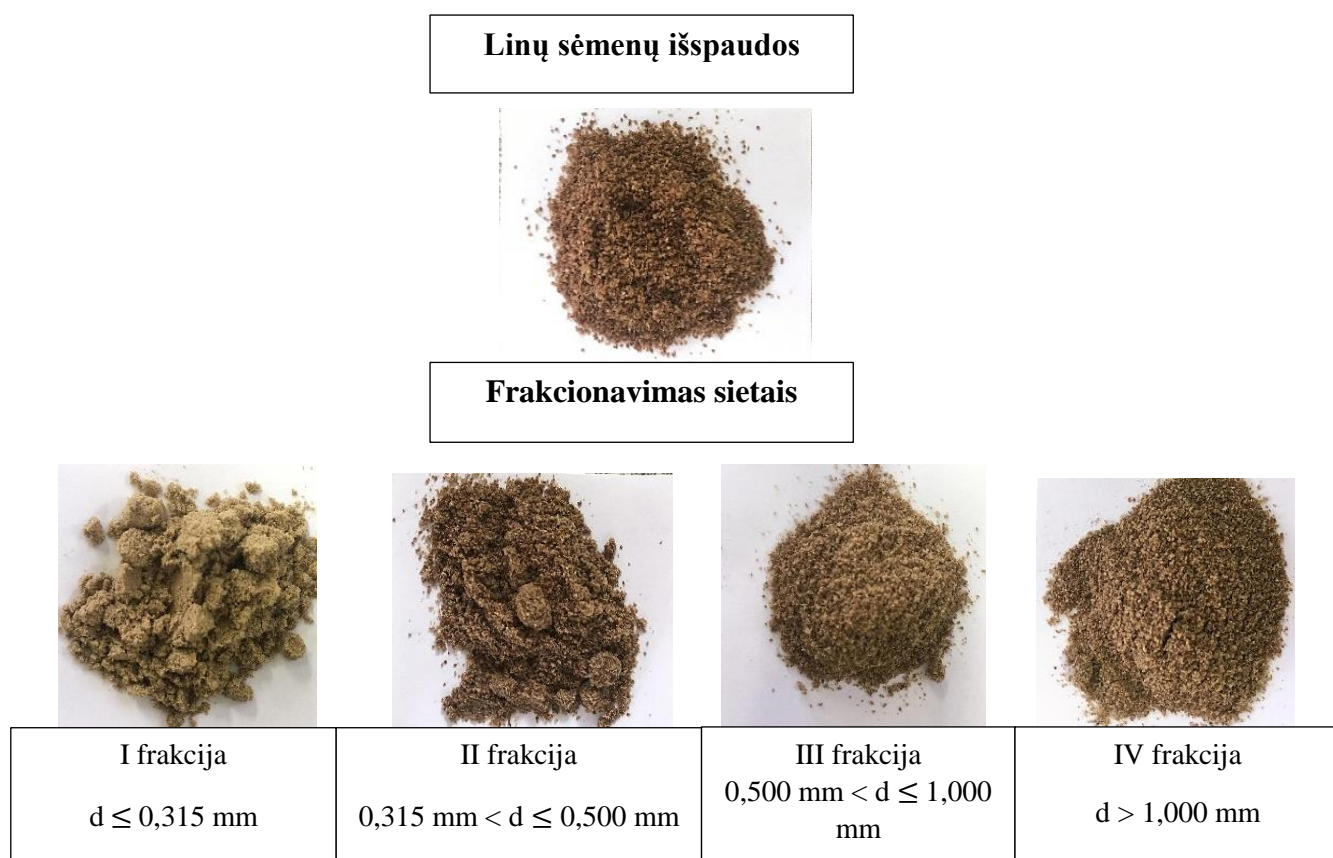


2.1 pav. Pagrindinės tyrimų kryptys

2.2. Tyrimo objektai

Mėginių charakteristika ir jų paruošimas

Praturtintų baltymais linų sėmenų produktų ruošimas. Tyrimui pasirinktos linų sėmenų išspaudos (atskyrus aliejų), gautos iš UAB „Ustukių malūnas“ (Vytauto g. 1, Ustukių k., Pasvalio raj.). Išspaudos gamybinėse sąlygose buvo frakcionuotos kombinuotu aerodinaminiu separatoriumi (aerodinaminis separavimas derinyje su frakcionavimu sietais) į I–IV frakcijas. Pradiniame eksperimento etape tirtos įmonės gautos frakcijos, atliktas pristatytų frakcijų bendras baltymų kiekis ir tolesniam separavimui sietais pasirinkta smulčiausia frakcija, kuri pasižymėjo didžiausiu baltymų kiekiu. Baltymais praturtintų linų sėmenų produktų (BLSF) išgavimui atliktas šios frakcijos papildomas frakcionavimas pagal geometrinius požymius sietų sistema (*Haver EML Digital plus, Test Sieve Shaker, 59302 OELDE*) ir nustatyta gautų frakcijų granulimetrinė sudėtis (2.2 pav.).

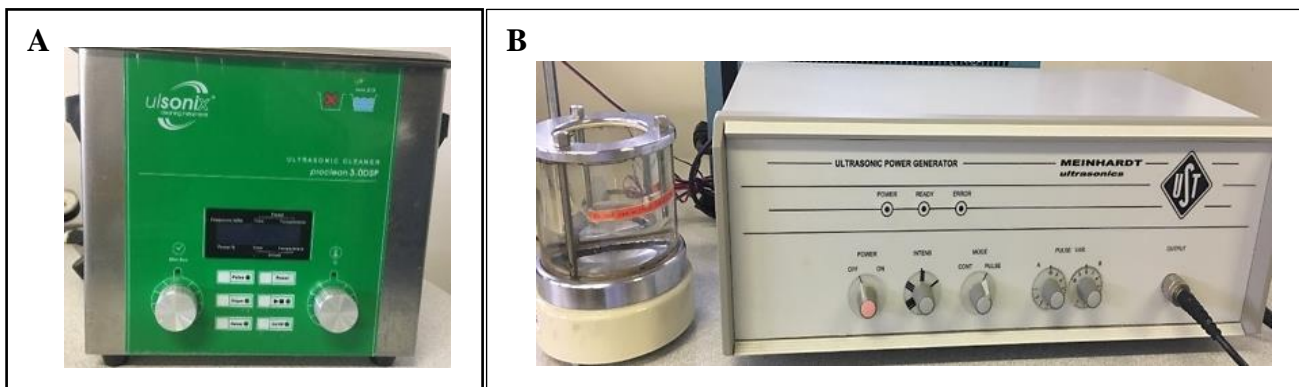


2.2 pav. Linų sėmenų išspaudų frakcijos ir jų granulimetrinė sudėtis

Tyrimų rezultatai parodė, kad frakcijos (I frakcija – $d \leq 0,315 \text{ mm}$; II – $0,315 < d \leq 0,500 \text{ mm}$; III – $0,500 < d \leq 1,000 \text{ mm}$; IV – $d > 1,000 \text{ mm}$) reikšmingai skyrėsi pagal baltymų kiekį. Smulčiausiose I ir II frakcijose, atitinkamai $d \leq 0,315 \text{ mm}$ ir $d \leq 0,500 \text{ mm}$, nustatytas vidutiniškai 9,69 % didesnis baltymų kiekis nei III ir IV frakcijose. Tolimesniems tyrimams pasirinktas smulčiausias pagal vyraujančių jame dalelių dydį linų sėmenų išspaudų frakcijų mišinys (I – $d \leq 0,315 \text{ mm}$ ir II – $0,315 < d \leq 0,500 \text{ mm}$), pasižymintis didžiausiu baltymų kiekiu (37,14 % ir 35,50 % atitinkamai).

Gelių gamybai naudotos BLSF derinyje su liofilizuotomis aviečių išspaudomis, gautomis iš LAMMC.

BLSF apdorojimui naudota skirtingo dažnio (37 kHz ir 850 kHz) ultragarsinė technika: (i) *Ultrasonic Cleaner Proclean 3.0DSP* tipo vonelė (žr. 2.3 A pav.), veikianti prie 37 kHz dažnio ir prie didelio intensyvumo (2 W/cm^2), ir (ii) *Ultrasonic Power Generator MEINHARDT Ultrasonics* prietaisas (Vokietija), operuojantis 850 kHz dažnyje ir žemų intensyvumų ($0,9 \text{ W/cm}^2$; $1,3 \text{ W/cm}^2$; 2 W/cm^2) diapazone (žr. 2.3 B pav.).



2.3 pav. Skirtingo dažnio ultragarsinė technika: A – Ultrasonic Cleaner Proclean 3.0DSP tipo vonelė (37 kHz) B – Ultrasonic Power Generator MEINHARDT Ultrasonics prietaisas (Vokietija) (850 kHz)

Eksperimento metu ruoštos iš BLSF įvairių koncentracijų (3 %; 6 %; 9 %; 12 % ir 15 %) vandeninės suspensijos, naudojant „IKA T25 digital“ tipo homogenizatorių (Vokietija). Paruošti mėginiai supilti į sandarius maišelius (6 x 8 cm) ir patalpinti į ultragarsinę įrangą (žr. 2.3 pav.), kur veikti nuo 10 min iki 30 min, intervalu kas 10 min. Šio pradinio tyrimo metu analizuota ultragarsinio poveikio įtaka skirtingų koncentracijos mėginių tekstūros pokyčiams. Tolesniam eksperimentui (gelių iš BLSF ruošimui) atrinkti mėginiai (15 % koncentracijos ir veikti 850 kHz dažnio ultragarsiniu prietaisu), kurių ruošimo metu buvo stebimi reikšmingiausi tekstūros pokyčiai.

Galiniame etape tirtos baltymais praturtintų linų sėmenų frakcijų (BLSF) panaudojimo galimybės: (i) PRB fermentacijos procesuose ir (ii) gelių gamybai.

*Tiriant BLSF panaudojimo galimybes fermentacijos procesuose, vertintas ultragarsinio apdorojimo poveikis BLSF (augalinės žaliavos prieš fermentaciją) mikrobinei taršai. BLSF mėginiai veikti Ultrasonic Cleaner Proclean 3.0DSP tipo vonelėje (37 kHz, 2 W/cm^2), laike 30 min, įvairiose temperatūrose (30 °C, 40 °C ir 50 °C). Tolimesniame etape BLSF mėginiai (apdoroti ultragarsu 50 °C temperatūroje) išbandyti kaip fermentacijos terpė antimikrobinėmis savybėmis pasižyminčių PRB padermių (PRB I – *Pediococcus pentosaceus* KTU 05–9 ir PRB II – *Lactobacillus paracasei*) kultivavimui [68; 69].*

*Pieno rūgšties bakterijos (PRB) saugotos –70 °C temperatūroje, „Microbank Pro Lab Diagnostics“ sistemoje, esančioje KTU Maisto mokslo ir technologijos katedros laboratorijoje. PRB atgaivintos modifikuotame MRS (*De Mar Ragosa ir Shape*) sultinyje (CM0359, Oxoid, UK).*

PRB paruošimas fermentacijai. Ruošti du PRB mėginiai, kurie fermentuoti su skirtingomis padermėmis: 3 g linų sėmenų + 54 ml H₂O + 0,5 ml PRB I ir PRB II. PRB augintos 30 °C temperatūroje, laike 30 valandų. Fermentuoti BLSF mėginiai analizei imti po 0, 6, 22 ir 30 val. fermentacijos ir tirti naudojant įvairius skiedimus (10⁻⁴, 10⁻⁵, 10⁻⁶). Kolonijas sudarančių vienetų (KSV) skaičius 1 ml (g) fermentuoto produkto apskaičiuotas pagal formulę:

$$N = CV \times (n_1 + (0,1 \times n_2)) \times d$$

- C – suma kolonijų, suskaičiuotų visose neatmestose lėkštelėse iš dviejų vienas po kito einančių skiedinių, kai bent vienoje lėkštelėje yra 15–300 kolonijų;
- V – užsėtos medžiagos ar skiedinio tūris lėkštelėje mililitrais;
- n₁ – pirmojo skiedinio vertinamų lėkštelių skaičius;
- n₂ – antrojo skiedinio vertinamų lėkštelių skaičius;
- d – pirmojo vertinamo skiedinio koeficientas.

Gelių ruošimas. BLSF mėginiai (apdoroti ultragarsu 850 kHz, 0,9 W/cm²) sumaišyti „IKA T25 digital“ tipo homogenizatoriumi (Vokietija), laike 2 min, su skirtingais aviečių išspaudų kiekiais (1 %; 3 %; 5 %, 7 %; 9 %). Gauti mėginiai supilti į *Petri* lėkšteles, sulygintas jų paviršius ir išlaikyti 24 val. šaldytuve (6 °C temperatūroje). Mėginių konsistencija tirta iš karto po BLSF ir aviečių išspaudų sumaišymo bei po 24 val. išlaikymo (susidarius geliams).

2.3. Tyrimo metodai

2.3.1. BLSF produktų cheminės sudėties tyrimai ir mikrobinės taršos vertinimas

Granulimetrinė linų sėmenų frakcijų sudėtis tirta *Haver EML Digital plus, Test Sieve Shaker, 59302 OELDE* (Vokietija) sietų sistema (eilės tvarka nuo viršutinio sieto): 63 mm, 45 mm, 16 mm, 8 mm, 5 mm, 3 mm, 1 mm. Linų sėmenų išspaudos (I frakcija – 1516,11 g) supiltos ant viršutinio sieto, sijotos 5 min, esant 2,0 amplitudei. Po to pasvertos gautos prasijos ir įvertintas jų kiekis (nuo sijojimui paimto mėginio dalies) procentais ir vyraujančių frakcijose dalelių stambumas [70].

Drėgnio nustatymas įprastiniu pamatiniu metodu [71]. Grūdų ėminiai imami pagal LST ISO 13690 arba LST ISO 6644 (žr. 3.1.1 Grūdų ir maltų grūdų produktų mėginių ėmimas). Tyrimas buvo pakartotinai atliktas 2 kartus, kad būtų pasiektas patikimas rezultatas ir rezultatų skirtumas neviršytų pakartojamumo ribos *r* [72]. Drėgnis (*w*) išreiškiamas procentais (%) ir apskaičiuojamas pagal formulę:

$$w = \left(1 - \frac{m_1}{m_0}\right) \times 100\%$$

- m₀ – ėminio masė;
- m₁ – išdžiovinto ėminio masė, g.

Bendras baltymų kiekis. Baltymų kiekis linų sėmenyse nustatomas Kjeldalio metodu pagal standartą ISO 20483:2013 [73]. Įdedama po 1 g linų sėmenų mėginio (iš viso 6 mėginiai, po 2 pakartojimus kiekvienos frakcijos ir išvedamas vidurkis) į Kjeldalio kolbas, užpilama 20 ml koncentruotos H₂SO₄ ir įdedama po vieną Kjeldalio tabletes. Kjeldalio kolbos sudedamos į stovą ir mineralizavimo prietaise lėtai kaitinamos

80–90 min, kad skystis neputotų. Pasibaigus kaitinimo procesui, tirpalas kolboje tampa skaidrus ir bespalvis. Tirpalo skaidrumas parodo, kad produkto organinės medžiagos suskilo ir kolboje liko mineraliniai junginiai. Atvėsintas tirpalas perpilamas į matavimo kolbą (100 ml) ir praskiedžiamas distiliuotu vandeniu iki žymės. Kiekviena Kjeldalio kolba atvėsinama ir viena po kitos prijungiama prie distiliatoriaus (*Behr Distillation Unit S4, T-Optimus*, Šv. Gertrūdės g. 22a – 6 LT–44260, Kaunas), naudojamas boro rūgštis tirpalas. Kondensatoriaus išėjimo vamzdelio galiukas turi būti pamerktas į kūginę 300 ml talpos kolbą distiliatui surinkti. Viena Kjeldalio kolba distiliuojasi 5 min. Į gautą distiliatą įlašinamas vienas lašas Taširo indikatorius ir titruojama HCl tirpalu, kol distiliato spalva iš žalios tampa rausva. Kontrolinis mėginys (distiliuotas H₂O) distiliuojamas ir titruojamas tokiomis pat sąlygomis.

Azoto kiekis (N) % arba g, 100 g tiriamame mėginyje skaičiuojamas atsižvelgiant į tyrimui paimtos medžiagos masę, titruojant sunaudotą HCl kiekį, jos koncentraciją ir praskiedimą [73]:

$$N = \frac{0,014 \times (V_1 - V_0) \times B \times 100}{m \times b}; \%$$

- 0,014 – azoto kiekis, kurį sujungia 1 ml 0,01 N HCl, g;
- V₁ – 0,01 M HCl kiekis, sunaudotas iš distiliuojamo mineralizato išsiskyrusiam anioniakui sujungti, ml;
- V₀ – 0,01 M HCl kiekis, sunaudotas tuščiajam mėginiui nutitruoti, ml;
- B – mėginio, mineralizuoto Kjeldalio kolboje, praskiedimo tūris, ml (B = 100);
- b – distiliuoti paimtas mineralizato kiekis, ml (jeigu distiliuojamas visas mineralizuotas mėginys (B = b), šis dydis lygus m);
- m – pasvertas analizei medžiagos kiekis, g;
- 100 – daugiklis perskaičiuoti azotui, nustatytame mėginyje, į 100 g produkto.

Baltymų kiekis apskaičiuojamas pagal formulę:

$$B_{pr} = N \times k$$

- N – azoto kiekis;
- k – atitinkamas koeficientas perskaičiuoti azoto kiekį į baltymų kiekį, k=5,5 [74].

Riebalų kiekio nustatymas Soksleto metodu. Lipidų kiekis nustatomas Soksleto metodu, kuris paremtas daugkartine lipidų ekstrakcija tirpikliu iš išdžiovintos medžiagos [75].

Trans–riebalų tyrimai linų sėmenų frakcijose. Mėginiuose riebalų rūgštys buvo metilintos KOH metanoliniu tirpalu, paruošiant metilo esterius pagal LST EN ISO 12966-2:2011 standartą [76].

Sėmenų mikrobinės taršos vertinimas. Bendras mikroorganizmų skaičius (BMS) nustatomas pagal LST EN ISO 4833-1:2013 Maisto grandinės mikrobiologija. Bendras mikroorganizmų skaičiavimo metodas. 1 dalis. Kolonijų skaičiavimas 30 °C temperatūroje, taikant lėkštelių užpylimo būdą [77]. Tiriamoji mėginio dalis (10 g) buvo atsverta svarstyklėmis ir praskiesta specialiu skiedikliu, santykiu 1:9. Mišinys specialia įranga homogenizuotas. Homogenato dalis vėl skiedžiama santykiu 1:9 iki 10⁻⁴. Sterilia pipete iš 10⁻², 10⁻³ ir 10⁻⁴ praskiedimo 0,1 ml suspensijos paviršiniu metodu buvo paskleidžiama ant standžios,

specialios (15 ml) terpės PCA (*Plate count agar*), bendram mikroorganizmų skaičiui (BMS) nustatyti, atvėsintos iki 45 °C temperatūros. Užnešta suspensija glaistikliu buvo tolygiai paskleidžiama visame terpės paviršiuje. Paruoštos lėkštelės inkubuojamos 72 val. termostate 30 °C temperatūroje. Pasibaigus inkubavimo laikui, bakterijų kolonijos suskaičiuotos ir apskaičiuotas jų kiekis 1 g tiriamojo mėginio. Skaičiavimui atrenkamos lėkštelės, kuriose išaugo mažiausiai 15 ir ne daugiau kaip 300 kolonijų [77].

2.3.2. Ultragarinio apdorojimo įtakos vertinimas BLSF kokybei

Ultragarinio poveikio įtaka BLSF mikrobinei taršai vertinta pagal BMS (prieš augalinės žaliavos fermentaciją). BLSF veiktos *Ultrasonic Cleaner Proclean 3.0DSP* tipo vonelėje (37 kHz, 2 W/cm² intensyvumas), laike 30 min, 30 °C, 40 °C ir 50 °C temperatūroje.

Tirpiųjų baltymų kiekio nustatymui pasveriami svarstyklėmis 3 g linų sėmenų smulkiausio pagal vyraujančių jame dalelių dydį frakcijų mišinio ($d \leq 0,315$ mm ir $0,315 < d \leq 0,500$ mm) ir užpilama 27 ml vandens. Mišinys sumaišomas ir 15 min paliekamas stovėti. Po 15 min, mėginys centrifuguojamas „*Velocity 18R (Dynamica)*“ centrifuga 30 min, 8000 rpm greičiu. Eksperimento pradžioje susidaręs skystis nupilamas ir ant likusių linų sėmenų baltyminės frakcijos užpilama 27 ml 0,9 N NaCl. Mėginys suplakamas, sumaišomas ir paliekamas stovėti 1 valandą. Po to centrifuguojama centrifuga 30 min, 8000 rpm greičiu. Gautas skystis nupilamas ir naudojamas tolimesnei analizei.

Analizei naudojama 10 g tirpiųjų baltymų. Siekiant įvertinti ultragarso poveikį tirpiesiems linų sėmenų baltymams, prieš analizę paruošiama 3 papildomus mėginius ir apdorojama 850 kHz ultragarso dažniu, 0,9 W/cm²; 1,3 W/cm² ir 2 W/cm² intensyvumu, 30 min, 50 °C temperatūroje.

Tirpiųjų baltymų kiekis mėginiuose apskaičiuojamas pagal tyrimui paimtą kiekį ir praskiedimo tūrį [73]:

$$B_{pr} = \frac{B_f \times G}{g}$$

- g – analizei paimto produkto kiekis;
- G – filtrato kiekis, kuriame yra tirpūs baltymai;
- B_f – baltymų kiekis filtrate.

Albuminų ir globulinų analizė SDS-PAGE elektroforezės metodu. Šiame tyrime 2 g linų sėmenų užpilama 40 ml distiliuoto vandens ir homogenizuojama 2 min su „*IKA T25 digital*“ (Vokietija) homogenizatoriumi. Po to centrifuguojama 15 min, 45000 rpm greičiu. Centrifugatas, kuriame ištirpę albuminai, supilamas į mėgintuvėlius ir globulinų nusodinimui pilama 40 ml 0,5 M NaCl. Centrifuguojama papildomai 15 min, 4500 rpm greičiu. Gautas centrifugatas, kuriame ištirpę globulinai, supilamas į atskirus mėgintuvėlius ir vykdomas jų nuskaidrinimas. Tam centrifugatai (su albuminiais ir globuliniais) po centrifugavimo supilami į mėgintuvėlius su filtrais („*Ultra- 15, MWCO 10 kDa*“) ir centrifuguojami 20 min, 6000 rpm greičiu, 8 °C temperatūroje. Po centrifugavimo užpilama ant nuosėdų 5 ml H₂O ir vėl tęsiamas centrifugavimas. Gauti baltymai supilami į naujus mėgintuvėlius ir paruošiami analizei „*CS-300 Cleaver Scientific*“ SDS-PAGE elektroforezės sistema.

Elektroforezės analizei naudoti tirpalai ir jų paruošimas:

1. 30 % akrilamido/0,8 % N,N'-metilenbisakrilamido tirpalas. Ištirpinama 30 g akrilamido ir 0,8 g N,N'-metilenbisakrilamido ir pripilama H₂O iki 100 ml.
2. 4 × TRIS·HCl/NDS buferinis tirpalas, kai pH 8,8. 36,4 g TRIS ištirpinama 110 ml vandens. Į gautą tirpalą įpilama 8 ml 10 % NDS tirpalo. Sureguliuojamas tirpalo pH iki 8,8 su 1N HCl.
3. 4 × TRIS·HCl/NDS buferinis tirpalas, kai pH 6,8. 12,12 g TRIS ištirpinama 110 ml vandens. Į gautą tirpalą įpilama 8 ml 10 % NDS tirpalo. Sureguliuojamas tirpalo pH iki 6,8 su 1N HCl.
4. Elektroforezės TRIS-glicino buferinis tirpalas. 3,02 g TRIS, 14,4 g glicino, 1g NDS ir pripilama iki 1000 ml vandens.
5. 10 % amonio persulfato [(NH₄)₂S₂O₈] tirpalas. 0,1 g amonio persulfato ištirpinama 1 ml vandens. Tirpalas ruošiamas prieš pat naudojimą.
6. Tetrametiledilendiaminas (TEMED).
7. 2 × baltymo denatūravimo (pavyzdžio) buferinis tirpalas: 5 ml 4 × TRIS·HCl/NDS buferinis tirpalas, kai pH 6,8, 4 ml glicerolio, 1,2 g NDS, 2 ml 2-merkptoetanolio, 1 mg mėlynojo bromfenolio ir pripilama iki 100 ml vandens. Laikoma -70 °C temperatūroje.
8. Standartinis baltymų mišinys: SIGMA colorburst „Electrophoresis marker“.
9. Tiriamųjų baltymų standartiniai tirpalai.
10. Dažo Coomassie mėlio tirpalas: 10 % acto rūgšties, 0,006 % Coomassie mėlio G-250, 90 % vandens.

Įkrautos baltyminių medžiagų molekulės elektroforezės metu juda elektriniame lauke. Molekulių judrumas elektriniame lauke priklauso nuo jų cheminės prigimties, dydžio ir formos krūvio.

Elektroforezės metu naudojami 2 geliai: *skiriamasis* ir *koncentruojamasis*.

Skiriamąjo gelio paruošimas. 4 ml akrilamido tirpalo, 2,5 ml 4 x TRIS·HCl/NDS buferinis tirpalas (pH 8,8), 3,4 ml distiliuoto vandens, 100 µl 10 % amonio persulfato tirpalas ir 4 µl TEMED. Skiriamasis gelis pilamas tarp elektroforezės prietaiso stiklo plokštelių ir paliekamas 30–40 min, kol sustings.

Koncentruojamojo gelio paruošimas. 1,7 ml akrilamido tirpalo, 2,5 ml 4 x TRIS·HCl/NDS buferinis tirpalas (pH 6,8), 5,7 ml distiliuoto vandens, 100 µl 10 % amonio persulfato tirpalas, 10 µl TEMED.

Tiriamąjo baltymo paruošimas elektroforezei: tiriamasis baltymo tirpalas santykiu 1:1 skiedžiamas su 2 × baltymo denatūravimo buferiniu tirpalu ir kaitinamas 5 min verdančio vandens vonioje. Analizei naudojama 20 µl paruošto baltymo mėginio.

Į gelyje esančius tarpus įpilami mėginiai. Elektroforezės prietaisas prijungiamas prie elektros srovės šaltinio. Geliams nustatoma 40 mA stipruvo srovė ir 220 V įtampa. Kai gelyje judantis mėlynasis bromfenolis pasiekia skiriamąjo gelio apačią, elektros srovė išjungiamas.

Gelyje esančių baltymų dažymas po elektroforezės. Po elektroforezės poliakrilamido gelis atsargiai atskiriamas nuo stiklo plokštelių, įdedamas į plastikinę vonelę ir užpilamas baltymų tvirtinimo tirpalu tiek, kad apsemtų. Vonelė lėtai purtoma „KS 130 basic (IKA)“ purtykle kambario temperatūroje 60 min. Po 60 min nupilamas baltymo tvirtinimo tirpalas ir užpilamas Coomassie mėlio dažo tirpalas. Dažoma,

kol baltymo juostelės nusidažo norimo ryškumo spalva (1–2 val.). Baigus dažyti, dažai nupilami ir užpilama 10 % acto rūgšties. Vonelė purtoma kambario temperatūroje, kol iš gelio išsiplauna nesusirišę su baltymais dažai (2 val.). Gelis laikomas distiliuotame vandenyje 4 °C temperatūroje [78].

BLSF baltyminių medžiagų funkcinės savybės.

Emulsijų susidarymas ir jų stabilumas. Emulsijos sudarymo pajėgumui nustatyti ruošiamos 1 % baltymų ir vandens suspensijos. 0,3 g linų sėmenų baltyminių medžiagų sumaišoma su 10 ml vandens ir 5 ml „Floriol“ rapsų aliejumi. Gautas mišinys maišomas 2 min su „Vibrofix VF1 (IKA)“ vorteksu, vėliau centrifuguojama su „Microcen 23 (Orto alresa)“ 5000 rpm greičiu, 20 min, 25 °C temperatūroje. Linų sėmenų baltymų emulsijos sudarymo pajėgumas nustatomas esant skirtingiems terpės pH – 3, 7, 9. Suspensijos pH reguliuojamas su 0,1 N NaOH ir 0,1 N HCl tirpalais. Emulsijos sudarymo pajėgumas apskaičiuojamas pagal formulę [79]:

$$\text{Emulsijos sluoksnis (\%)} = \frac{\text{Emulsijos sluoksnio tūris (ml)}}{\text{Bendras suspensijos tūris (ml)}} \times 100$$

Emulsijos stabilumo nustatymas. Šiam tyrimui mėginiai ruošiami taip pat, kaip ir emulsijos susidarymo pajėgumui nustatyti. Skirtumas tas, jog prieš centrifugavimą mėginiai maišomi 1 min su „Vibrofix VF1 (IKA)“ purtikliu ir išlaikomi 80 °C temperatūroje 30 min, po to atvėsunami iki kambario temperatūros (20±2 °C), 4 min laikant mėgintuvėlius šaltame vandenyje. Atvėsinti mėginiai centrifuguojami „Microcen 23 (Orto alresa)“ centrifuga 20 min, 5000 rpm greičiu. Emulsijos stabilumas apskaičiuojamas pagal formulę [79]:

$$\text{Emulsijos sluoksnis (\%)} = \frac{\text{Emulsijos sluoksnio tūris (ml)}}{\text{Bendras suspensijos tūris (ml)}} \times 100$$

Putų sudarymo pajėgumas ir jų stabilumas. Šiam tyrimui ruošiamos 1 % baltymų suspensijos (pagal 2.3.2. skyriuje aprašytą baltyminių medžiagų išskyrimo analizės metodiką): 0,3 g baltymų sumaišoma su 10 ml vandens. Siekiant sureguliuoti pH iki 3, 7 ir 9, į suspensiją įlašinami 0,1 N NaOH arba 0,1 N HCl tirpalai. Gauta suspensija supilama į skirtingas matavimo kolbas, nupilama 10 ml ir homogenizuojama 5 min su „IKA T25 digital“ (Vokietija) plakikliu. Putų sudarymo pajėgumas (PP) apskaičiuojamas pagal formulę [79]:

$$\text{Putų susidarymo pajėgumas (\%)} = \frac{\text{Putų tūris (ml)}}{\text{Bendras suspensijos tūris (ml)}} \times 100$$

2.3.3. BLSF panaudojimo galimybių tyrimai PRB fermentacijos procesuose ir gelių gamybai

Fermentacijos procesas vertintas pagal išaugusių PRB skaičių. BLSF ($d \leq 0,315$ mm ir $0,315 < d \leq 0,500$ mm) (3 g) buvo atsverta svarstyklėmis ir praskiesta 54 ml vandeniui. Fermentacijai naudota 2 % PRB nuo linų sėmenų išspaudų masės. Mišiniai homogenizuoti „IKA T25 digital“ homogenizatoriumi ir apdoroti 850 kHz ultragarso dažnyje, 0,9 W/cm² intensyvumu, laike 30 min, 50 °C temperatūroje. PRB užsėtos ant 15 ml MRS terpės. Fermentuoti BLSF mėginiai analizei imti po 0, 6, 22 ir 30 val. ir tirti naudojant įvairius skiedimus (10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6}). PRB augintos 30 °C temperatūroje, 30 valandų. Pasibaigus

inkubavimo laikui, kolonijos suskaičiuotos ir apskaičiuotas jų kiekis 1 g tiriamojo mėginio. Skaičiavimui atrenkamos lėkštelės, kuriose išaugo mažiausiai 15 ir ne daugiau kaip 300 kolonijų [77].

Gelių susidarymo pajėgumas vertintas akustiniu klamos analizatoriumi, kuris išmatuoja plunžerio nusileidimo iki mėginio paviršiaus greitį bei apima akustinį ultragarso bangos sklidimą per orą ir naudojamas bekontaktis matavimas. Veikimo principas – tai žemės svoris (pastovi jėga) ir stūmoklio nusileidimo greičio į tiriamąją medžiagą matavimas. Kuo didesnės atstumo (h, mm) vertės, tuo didesnis laisvojo kritimo greitis ir mažesnė gelio klampa.

Akustinio klamos matuoklio techniniai parametrai – matavimo paklaida $\pm 5 \mu\text{m}$, laisvas kritimo atstumas – 20 mm, ultragarso veikimo dažnis – 800 kHz ir matavimo impulsų dažnis – 1 kHz. Du kiekvieno mėginio matavimai buvo atlikti milisekundžių (ms) tikslumu per 300 ms [80].

Spalvos pokyčiai (šviesumas, raudonumas bei geltonumas atitinkamai L^* , a^* , b^*) gelių ruošimo metu vertinti *Konica Minolta CR-410* tipo prietaisu.

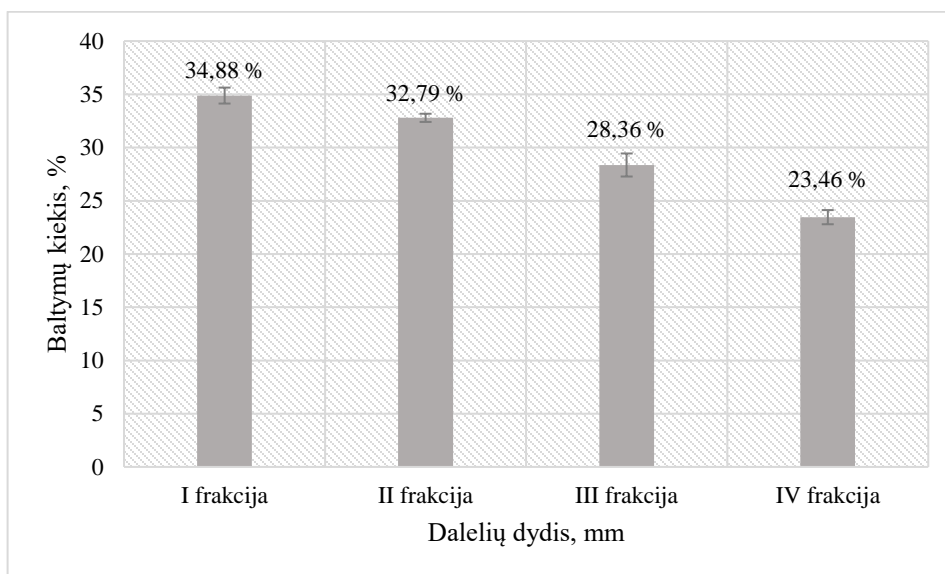
2.4. Matematinė statistinė duomenų analizė

Eksperimentai kartoti mažiausiai du kartus. Gauti rezultatų vidurkiai ir standartiniai nuokrypiai apskaičiuoti su Microsoft Excel programine įranga. Statistiškai reikšmingi skirtumai tarp mėginių buvo laikomi, kai reikšmingumo lygis $p < 0,05$.

3. REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS

3.1. Sausojo separavimo taikymas BLSF išgavimui iš linų sėmenų išspaudų ir jų charakteristika

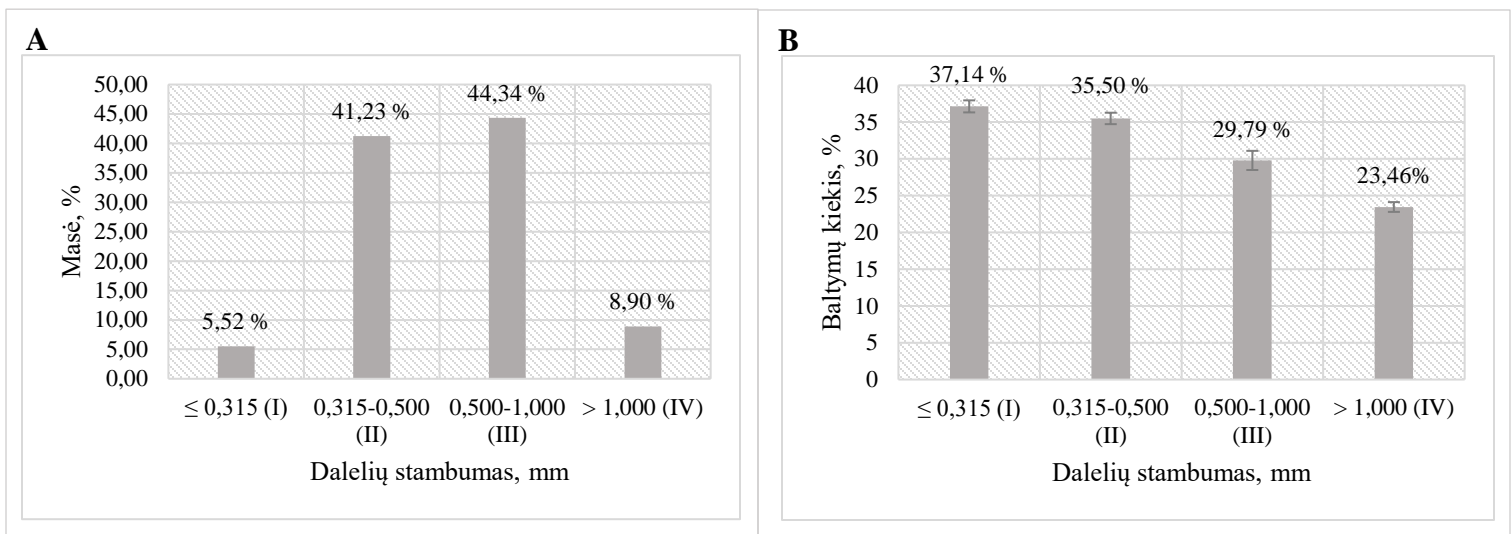
Pradiniame darbo etape baltymais praturtintų linų sėmenų frakcijų (BLSF) iš išspaudų išgavimui taikyti du sausojo separavimo etapai: (i) kombinuotas separavimas (aerodinaminis separavimas derinyje su frakcionavimu sietais) ir (ii) separavimas pagal geometrinius požymius. Kiekvienu atveju tirtas gautų frakcijų baltymų kiekis. Naudojant antrą separavimo būdą, papildomai vertinta frakcijų granulimetrinė sudėtis. Tyrimo rezultatai, gauti aerodinaminio separavimo būdu, pateikti 3.1 pav.



3.1 pav. Bendras baltymų kiekis atskirose linų sėmenų išspaudų frakcijose, gautose kombinuoto separavimo būdu

Nustatyta, kad I linų sėmenų išspaudų frakcijoje, kurioje dalelės vizualiai buvo smulkiausios, baltymų kiekis sudarė 34,88 %, II frakcijoje baltymų kiekis nustatytas 2 % mažesnis nei I frakcijoje (32,79 %). Iš gamybinės bazės gautos III ir IV linų sėmenų frakcijos, didėjant dalelių stambumui nuo $0,500 < d \leq 1,000$ mm iki $d > 1,000$ mm, baltymų kiekis frakcijose mažėjo ir sudarė 28,36 % ir 23,46 % atitinkamai.

Tolesniam frakcionavimui sietų sistema (0,315 mm; 0,500 mm; 1,000 mm) pasirinkta I frakcija, pasižyminti didžiausiu baltymų kiekiu (34,88 %). Šio apdorojimo metu gautos keturios frakcijos, kurių granulimetrinės sudėties ir baltymų tyrimų rezultatai pateikti 3.2 pav.



3.2 pav. Linų sėmenų išspaudų separavimo pagal geometrinius požymius įtaka gautų I–IV frakcijų A – granulimetrinei sudėčiai ir išeigoms, B – baltymų kiekiui

Nustatyta, kad gautoje I frakcijoje (smulčiausioje), vyraujantis dalelių dydis sudarė $d \leq 0,315$ mm ir šios frakcijos išeiga buvo mažiausia (5,52 %). Didžiausios išeigos gautos II ir III frakcijų (atitinkamai 41,23 % ir 44,34 %), kuriose vyravo $0,315 < d \leq 0,500$ mm ir $0,500 < d \leq 1,000$ mm dydžio dalelės. IV frakcijos (stambiausios) vyraujančių dalelių dydis nustatytas $d > 1,000$ mm, išeiga – 8,90 %.

Tolesniame tyrimo etape analizuotas frakcijų drėgnis ir bendras baltymų kiekis, tikslu atrinkti baltymais praturtintas linų sėmenų išspaudų frakcijas (BLSF). Nustatyta, kad BLSF drėgnis sudarė vidutiniškai 8,45 % ir pagal šį kriterijų frakcijos tarpusavyje reikšmingai nesiskyrė. Iš bendro baltymų kiekio tyrimų rezultatų (žr. 3.2 B pav.) matyti, kad didžiausiu baltymų kiekiu (37,14 % ir 35,50 %) pasižymėjo smulčiausios linų sėmenų išspaudų frakcijos ($d \leq 0,315$ mm ir $0,315 < d \leq 0,500$ mm).

Didėjant dalelių dydžiui frakcijose nuo $d \leq 0,315$ mm iki $d > 1,000$ mm, buvo stebima baltymų kiekio mažėjimo tendencija nuo 37,14 % iki 23,46 %. Mažiausias baltymų kiekis nustatytas IV frakcijoje (23,46 %). Tarpinėse pagal stambumą frakcijose (II ir III) bendras baltymų kiekis nustatytas atitinkamai 35,50 % ir 29,79 %.

Efektyviausias ir leidžiantis vidutiniškai iki 35 % praturtinti baltymais separuojamus produktus yra kombinuotas separavimas, taikytas UAB „Ustukių malūnas“ gamybinėje bazėje. Papildomas smulčiausios frakcijos separavimas pagal geometrinius požymius laboratorinėmis sąlygomis leido baltymų kiekį padidinti vidutiniškai 2 %. Tokiu būdu, atliktas linų sėmenų išspaudų pakopinis fracionavimas, atrenkant smulkiąsias frakcijas, leidžia padidinti jose baltymų kiekį vidutiniškai 5 %.

Gautas smulčiausias pagal vyraujančių dalelių dydį linų sėmenų išspaudų frakcijų mišinys ($d \leq 0,315$ mm ir $0,315 < d \leq 0,500$ mm), pasižymintis didžiausiu baltymų kiekiu, naudotas tolimesniuose tyrimuose.

Baltymų iš augalinių produktų išgavimas ir jų panaudojimas maisto sudėties pagerinimui yra aktuali tyrimų kryptis [19]. Linų sėmenys yra labai vertingas maistinių medžiagų šaltinis, įskaitant baltymus,

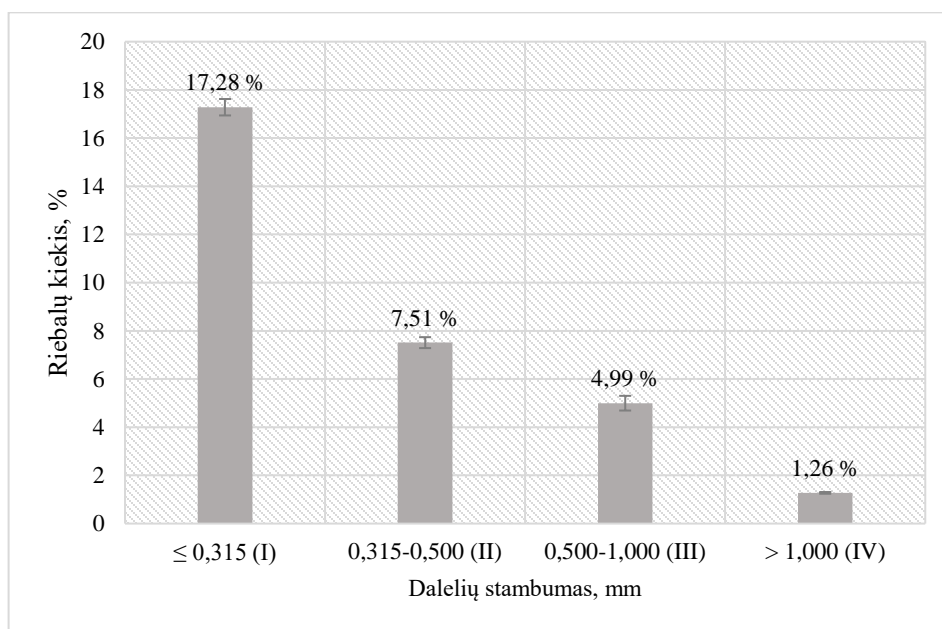
kurių kiekis juose svyruoja nuo 20 % iki 35 %. Pagal baltymų kiekį linų sėmenys prilygsta ankštinių augalų sėkloms (18 % – 25 %) [81].

Baltymų išgavimui iš linų sėmenų naudojamas tiek tradicinis būdas, pagrįstas baltymų nusodinimu izoelektriniame taške, tiek ir vystomos naujos strategijos, pvz., sausasis separavimas. Nauji būdai, tokie kaip ekstrakcija ultragarsu, elektroninės aktyvacijos technologija ir impulsinio elektrinio lauko apdorojimo technologija turi būti optimizuoti, siekiant pagerinti jų realizavimo sąlygas ir sumažinti gamybos kaštus [19].

3.1.1. Baltymais praturtintų linų sėmenų produktų sudėties komponentai

Linų sėklų perdirbimo metu į galutinius produktus (visų sėklos dalių produktus, linų sėmenų aliejų, pilnai nuriebintus miltus, dalinai nuriebintus miltus, linų sėklų skaidulines medžiagas ir kt.) gali patekti riebalinė frakcija. Aliejų sudėtyje yra vertingų nesočiųjų riebalų rūgščių (omega-3 ir α -linoleno). Kita vertus, likę po spaudimo linų sėmenų išspaudose riebalai gali apsunkinti baltyminių medžiagų išskyrimą.

Šiame darbe vertintas riebalų pasiskirstymas įvairiose linų sėmenų išspaudų frakcijose, gautose sausojo separavimo metu (žr. 3.3 pav.).



3.3 pav. Riebalų kiekis (%) baltymais praturtintose linų sėmenų išspaudų frakcijose

Analizuojant gautus tyrimų rezultatus, pastebėtas dėsningumas: riebalų kiekis mažėja, didėjant frakcijose vyraujančių dalelių dydžiui (atitinkamai $d \leq 0,315$ mm – 17,28 %; $0,315 < d \leq 0,500$ mm – 7,51 %; $0,500 < d \leq 1,000$ mm – 4,99 % ir $d > 1,000$ mm – 1,26 %). Daugiausiai riebalų aptikta smulkiausioje frakcijoje (17,28 %) ir didžiausias šio komponento verčių skirtumas (sumažėjimas), didėjant vidutiniam dalelių dydžiui nuo $d \leq 0,315$ mm iki $0,315 < d \leq 0,500$ mm, stebimas tarp I ir II frakcijų (10 %). Analizuojant kitas išspaudų frakcijas (II ir III), stebimi tarp frakcijų mažesni riebalų kiekio skirtumai (~ 2 kartus). Stambiausioje išspaudų frakcijoje (IV), lyginant su II–III frakcijomis, fiksuotas vidutiniškai 5 % mažesnis riebalų kiekis (1,26 %).

Pagal Y.Y. Shim'ą ir kt. linų sėmenyse riebalų kiekis kinta priklausomai nuo genotipo ir aplinkos sąlygų ribose nuo 38 % iki 44 %. Augalinis aliejus linų sėklose daugiausiai koncentruojasi mikroskopinėse membranose (citoledonuose) (75 %), o likusi dalis (22 %) aptinkama sėklų luobelėse ir endosperme [4].

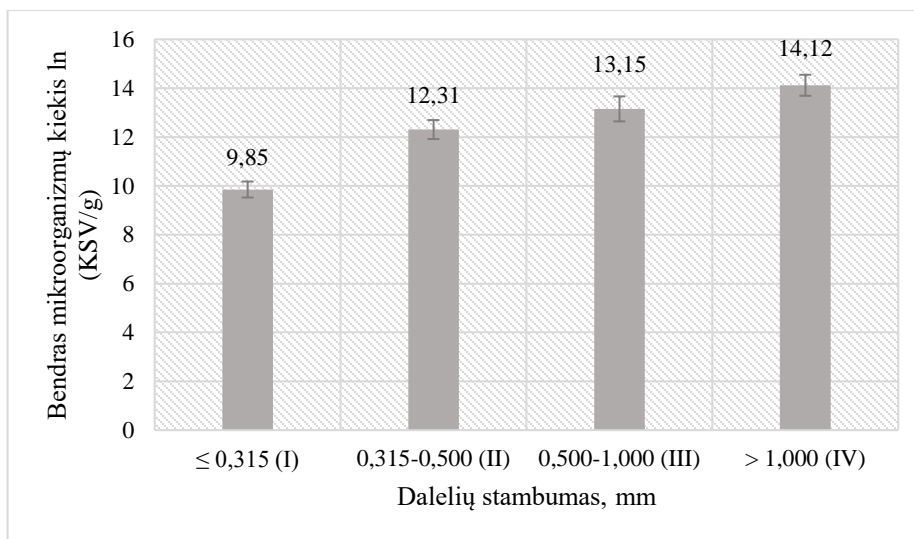
Gauti tyrimų rezultatai rodo, kad į linų sėmenų išspaudas patenka iš linų sėmenų sėklų ~ 7,76 % riebalų.

Trans-riebalų koncentracijos tirtuose mėginiuose kito ribose nuo 0,05 % iki 0,14 % ir tokios koncentracijos neturėtų sudaryti rizikos maisto produktų saugai.

3.1.2. Mikrobinė tarša linų sėmenų perdirbimo produktuose

BLSF maistiniu požiūriu yra vertingi produktai, tačiau jų platesnis panaudojimas, pvz., fermentacijos procesuose, glaudžiai susijęs su substrato mikrobinės taršos lygiu, nuo kurio priklauso procesų stabilumas ir metabolizmo produktų susidarymas. Ši problema maisto pramonėje dažniausiai sprendžiama taikant terminius apdorojimo būdus. Perdirbant augalinę žaliavą, aktuali naujų technologinių sprendimų paieška, leidžianti paruošti fermentacijos terpę žemose temperatūrose.

Šiame darbo etape analizuota linų sėmenų išspaudų frakcijų mikrobinė tarša pagal BMS analizės rezultatus (žr. 3.4 pav.).



3.4 pav. Bendras mikroorganizmų skaičius baltymais praturtintose linų sėmenų išspaudų frakcijose

Didžiausias bendras mikroorganizmų skaičius buvo fiksuojamas frakcijose (atitinkamai 13,15 ln (KSV/g) ir 14,12 ln (KSV/g)), kuriose vyrauja stambiausios dalelės $0,500 < d \leq 1,000$ mm ir $d > 1,000$ mm. Tuo tarpu smulkiausioje frakcijoje (9,85 ln (KSV/g)) nustatytas reikšmingai mažesnis BMS nei stambesnėse (III ir IV).

Didesnei BLSF mikrobinei taršai, kur vyrauja stambesnės dalelės, galėjo turėti įtakos patekę į jas sėmenų sėklų paviršiniai sluoksniai.

Kitų autorių darbuose atkreiptas dėmesys į mikrobinę taršą grūdų produktuose su padidintu luobelinių kiekiu. Bendras mikroorganizmų skaičius tirtas antriniuose kukurūzų perdirbimo produktuose [82], viso grūdo dalių kvietiniuose ir ruginiuose miltuose [83].

Tiriant kukurūzų perdirbimo produktus padidintas BMS aptiktas frakcijose, kuriose vyravo stambesnės dalelės ir didesnis šių frakcijų drėgnis. Gauti šiame eksperimente tyrimų duomenys patvirtina, kad luobeliniai produktai didina galutinių produktų taršą. Tačiau drėgmės faktorius, skirtingai nuo ankstesnių kukurūzų perdirbimo antrinių produktų tyrimų, neturėjo reikšmingos įtakos BMS [82].

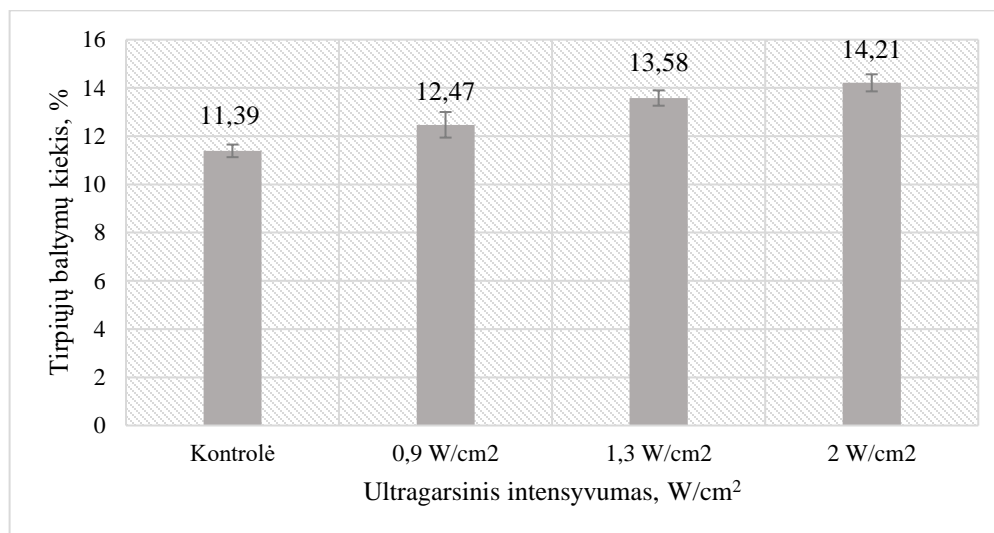
Tiriant viso grūdo dalių miltus, analizuojami aerobiniai mezofilai, kolibakterijos ir mikroskopiniai grybai. Viso grūdo dalių ruginiuose miltuose, lyginant su sijotais miltais (pasižyminčiais mažesniu mineralinių medžiagų kiekiu), aptiktas didžiausias BMS. Kvietiniuose 550 tipo miltuose BMS buvo panašus į viso grūdo dalių kvietinius miltus (atitinkamai $4,20 \log_{10}$ KSV/g ir $4,33 \log_{10}$ KSV/g). Tačiau šiame produkte aptikti mikroskopiniai grybai, kurie didino BMS galutiniame produkte [83].

Tyrimai rodo, kad frakcionavimas ir luobelinių produktų atskyrimas iš sėmenų išspaudų, leidžia pagerinti tiek jų sudėtį, tiek ir saugos kriterijus.

3.2. Ultragarinio apdorojimo įtaka linų sėmenų baltyminių medžiagų pokyčiams

3.2.1. BLSF tirpiųjų baltymų pokyčiai

Šiame darbo etape pateikti BLSF ($d \leq 0,315$ mm ir $0,315 < d \leq 0,500$ mm) tirpiųjų baltymų kiekio pokyčiai, gauti apdorojant iš jų paruoštas vandenines suspensijas (11 % koncentracijos, žr. 2.3.2. skyriaus metodiką) ultragarsu (850 kHz, keičiant intensyvumus: $0,9 \text{ W/cm}^2$; $1,3 \text{ W/cm}^2$; 2 W/cm^2), $50 \text{ }^\circ\text{C}$ temperatūroje (trukmė – 30 min). Tyrimo rezultatai pateikti 3.5 pav.



3.5 pav. Tirpiųjų baltymų kiekio pokyčiai, apdorojus iš jų paruoštas vandenines suspensijas (11 % koncentracijos) ultragarsu (850 kHz, keičiant intensyvumus: $0,9 \text{ W/cm}^2$; $1,3 \text{ W/cm}^2$; 2 W/cm^2), $50 \text{ }^\circ\text{C}$ temperatūroje (trukmė – 30 min)

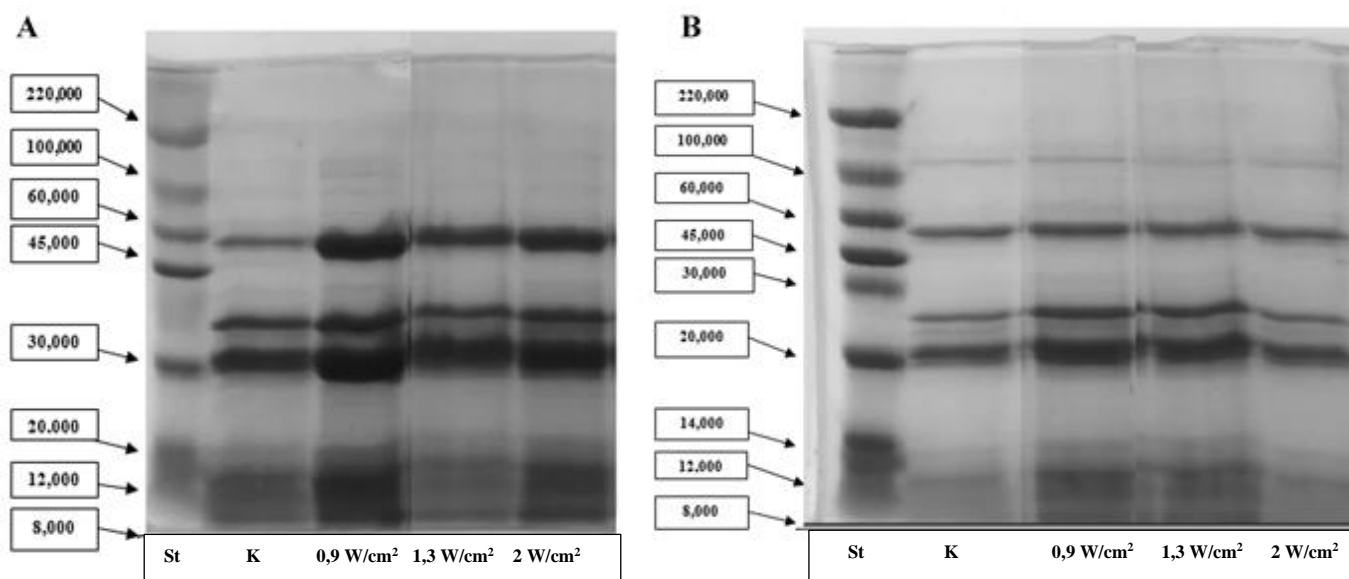
Iš gautų rezultatų matyti, kad apdorojant linų sėmenų baltymus ultragarsu (850 kHz) ir didinant jo intensyvumą ($0,9 \text{ W/cm}^2$; $1,3 \text{ W/cm}^2$ ir 2 W/cm^2), tirpiųjų baltymų kiekis didėjo nuo 11,39 % (kontrolė

be apdorojimo) iki 14,21 %. Daugiausia tirpiųjų baltymų nustatyta tiriamuosiuose BLSF mėginiuose, kurie buvo veikti 2 W/cm² intensyvumu (14,21 %) ir šio parametro vertės, lyginant su kontrole (be apdorojimo), padidėjo 2,80 %. Naudojant tarpinius intensyvumus (0,9 W/cm² ir 1,3 W/cm²), baltymų tirpumas, lyginant su kontrole, padidėjo atitinkamai iki 12,47 % ir 13,58 %.

J. O'Sullivan'as ir kt. tyrė ultragarsinio poveikio įtaką gyvūnų ir augalų baltymų struktūriniams, fiziniams pokyčiams, ypatingą dėmesį skiriant jų tirpumui ir emulsijų susidarymo pajėgumui. Apdorojimas ultragarsu gali pagerinti augalinių baltymų (žirnių ir sojos) tirpumą ir gyvūninės kilmės baltymų (kiaušinio, želatinos) savybę sudaryti emulsijas [84]. A.R. Jambrak'as ir kt. [50] vertino ultragarsinio apdorojimo įtaką skirtingos kilmės baltymų (sojos ir išrūgų) savybių pokyčiams, pvz., tirpumui ir bendro paviršiaus ploto padidėjimui, emulsijų susidarymui. Pagal G. Krešič'ą ir kt. apdorojus išrūgų baltymus ultragarsu, gerokai padidėjo jų tirpumas ir vizualiai buvo stebimas klampumo padidėjimas. Išrūgų baltymų ir α -laktoalbumino tirpumo padidėjimas, apdorojus juos aukšto intensyvumo ultragarsu, siejamas su geresniu putų susidarymo pajėgumu [49]. Be to, ultragarsinio poveikio metu buvo stebimas ir komercinių sojos baltymų tirpumo padidėjimas bei gelių susidarymo pajėgumo pagerėjimas [42].

3.2.2. BLSF albuminų ir globulinų kokybinės sudėties charakteristika

Šiame darbo etape pateikti tyrimų rezultatai, gauti vertinant ultragarsinio poveikio įtaką linų sėmenų baltyminių medžiagų frakcijoms (albuminų ir globulinų) SDS-PAGE elektroforezės metodu [85]. BLSF vandeninė suspensija (5 %) apdorota ultragarsu (850 kHz), naudojant įvairius intensyvumus: 0,9 W/cm², 1,3 W/cm² ir 2 W/cm², poveikio trukmė – 30 min. SDS-PAGE albuminų ir globulinų tyrimų rezultatai pateikti 3.6 pav.



3.6 pav. Ultragarsinio poveikio įtaka linų sėmenų baltyminių medžiagų (A – albuminų, B – globulinų) frakcijoms, apdorojus BLSF vandenines suspensijas (5 % koncentracijas) ultragarsu (850 kHz, keičiant intensyvumus: 0,9 W/cm²; 1,3 W/cm²; 2 W/cm²), 50 °C temperatūroje (trukmė – 30 min), *St* – baltymo standartas SIGMA colorburst „Electrophoresis marker“

Atlikta albuminų ir globulinų analizė (žr. 3.6 pav.), taikant SDS-PAGE elektroforezę nuo 8,000 Da iki 220,000 Da standartų diapazone, patvirtino reikšmingą ultragarsinio apdorojimo įtaką baltyminių medžiagų kokybiniams pokyčiams. Visais atvejais, didesnė ultragarsinio poveikio įtaka buvo stebima albuminų frakcijose nei globulinų, inicijuojant (850 kHz, intensyvumams – 0,9 W/cm²; 1,3 W/cm² ir 2 W/cm²) nuo 60,000 Da iki 30,000 Da ir ypač mažesnės molekulinės masės (< 12,000 Da) baltyminių frakcijų susidarymą. Globulinų frakcijų tyrimų metu, skirtingai nei albuminų, apdorojimas ultragarsu esant 0,9 W/cm² ir 1,3 W/cm² intensyvumams buvo veiksmingas ir padidino juose mažesnės molekulinės masės (20,000 Da ir 12,000 Da) frakcijų susidarymą.

Literatūroje daugiausia tyrimų yra skirti sojos baltymų struktūriniais pokyčiams, apdorojus juos žemo dažnio (20 kHz) ir didelio intensyvumo ultragarsu bei jų įtakos vertinimui baltymų funkcinėms savybėms. Sojų baltymų izoliatas yra komercinis sojos baltymų produktas (> 90 % baltymų), kuris maisto pramonėje yra plačiai naudojamas kaip svarbus ingredientas, maisto produktų kokybės pagerinimui [48]. H. Hu ir kt. tyrimai skirti didelio intensyvumo (200–600 W) ultragarsinio poveikio įtakos nustatymui sojos baltymų izoliatų baltyminių medžiagų struktūrai ir funkcinėms savybėms, keičiant apdorojimo trukmę nuo 15 min iki 30 min [46]. Įrodyta, kad ultragarsinis sojos baltymų izoliatų apdorojimas reikšmingai padidino masių klampumą. Be to, apdorojant mėginius ultragarsu buvo stebimas baltyminių medžiagų tirpumo padidėjimas ir nekovalentinių ryšių sumažėjimas. Didinant ultragarso intensyvumą ir ilgėjant apdorojimo trukmei, didėjo tiolo grupių kiekis ir baltymų hidrofobiškumas.

Tiriant galvijų serumo albuminų struktūrinius pokyčius po apdorojimo ultragarsu, nustatyta, kad padidėja molekulinis baltymų judrumas, paviršiaus aktyvumas ir fiksuojamas tiolo grupių atsiradimas. Be to, keičiasi baltyminių medžiagų frakcijų dydžiai, paviršiaus hidrofobiškumas ir stebimi pokyčiai antrinėje baltymų struktūroje [86]. Skirtingai nei prieš tai pateikti rezultatai, G. Krešič'as ir kt. [49] neaptiko išrūgų baltymuose ultragarsinio apdorojimo metu reikšmingų tiolo grupių pokyčių ir įtakos antrinei baltymų struktūrai ir jų hidrofobiškumui.

Gauti tyrimų rezultatai rodo, kad ultragarsinis BLSF apdorojimas keičia baltyminių medžiagų struktūrą ir tai gali turėti įtakos funkcinėms baltymų savybėms. Šiame darbe, skirtingai nei ankstesniuose tyrimuose, vertinamas aukšto dažnio ir žemo intensyvumo ultragarsinio apdorojimo poveikis linų sėmenų albuminų ir globulinų funkcinėms savybėms.

3.3. Baltymų funkcinių savybių pokyčiai aukšto dažnio ultragarsinio apdorojimo metu

3.3.1. Baltymingų gelių susidarymo galimybių tyrimas ultragarso poveikyje žemose temperatūrose

Baltymai pasižymi unikaliomis savybėmis formuoti gelius, leidžiančius imobilizuoti į jų struktūras antimikrobinius mikroorganizmus ir/ar biologiškai aktyvias medžiagas. Baltymingų gelių susidarymas daugiausiai vykdomas aukštose temperatūrose (80 °C), galinčiose sukelti baltymų denatūravimą ir sumažinti jų biologinį pasisavinimą.

Pradiniame šio eksperimento etape išbandyti gelių susidarymui žemose temperatūrose (< 50 °C) du skirtingo dažnio ultragarsiniai prietaisai (37 kHz ir 850 kHz), stebint vizualiai susidariusių gelių

konsistencijos pokyčius ir vertinant klamos pokyčius akustiniu tekstūros analizatoriumi (žr. 3.7 ir 3.8 pav. atitinkamai).

Eksperimentui ruošti iš BLSF įvairių koncentracijų (3 %; 6 %; 9 %; 12%; 15 %) mėginiai, kurie veikti įvairaus dažnio ir intensyvumo ultragarsu (37 kHz, 2 W/cm² ir 850 kHz 0,9 W/cm²) skirtingą laiko trukmę (10 min; 20 min ir 30 min). Mėginių konsistencijų pokyčiai fiksuoti vizualiai (žr. 3.1 lentelę) iškart po apdorojimo (0 val.) ir po 24 val. laikymo (6 °C temperatūroje).

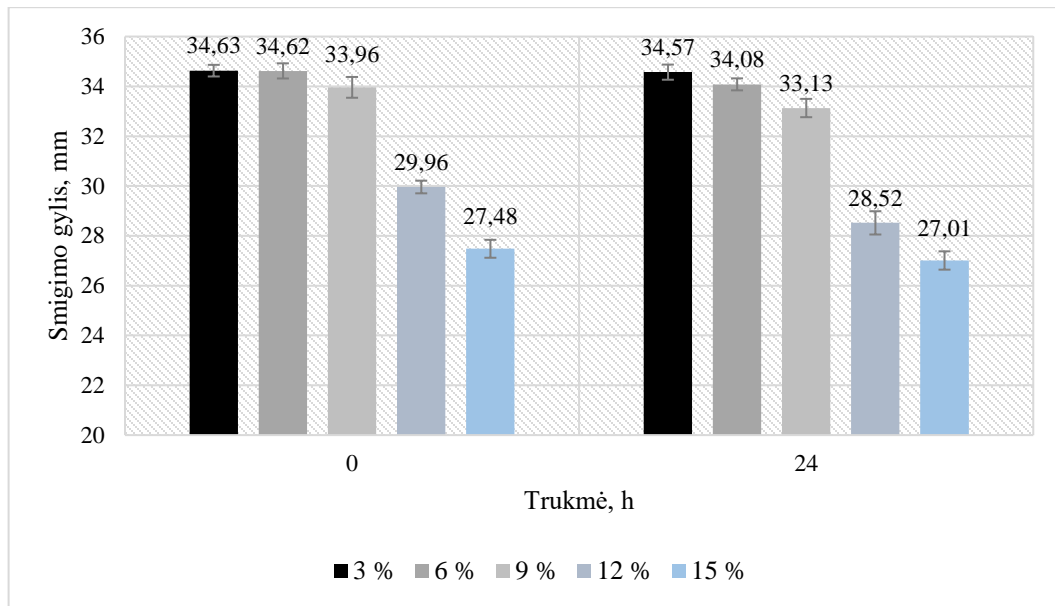
3.1 lentelė. BLSF ultragarsinio apdorojimo įtaka gelių susidarymo pajėgumui

BLSF suspensijos koncentracija, %	Pradiniame etape (0 h)				Po 24 h			
	37 kHz, 2 W/cm ²		850 kHz, 0,9 W/cm ²		37 kHz, 2 W/cm ²		850 kHz, 0,9 W/cm ²	
	Gelio formavimasis	Konsistencija	Gelio formavimasis	Konsistencija	Gelio formavimasis	Konsistencija	Gelio formavimasis	Konsistencija
Apdorojimo trukmė: 10 min								
3 %	-	skysta	-	skysta	-	skysta	-	skysta
6 %	-	skysta	-	skysta	-	skysta	-	skysta
9 %	-	skysta	-	skysta	-	skysta	-	skysta
12 %	-	skysta	-	skysta	-	skysta	+/-	klampi
15 %	-	skysta	-	skysta	-	skysta	+/-	klampi
Apdorojimo trukmė: 20 min								
3 %	-	skysta	-	skysta	-	skysta	-	skysta
6 %	-	skysta	-	skysta	-	skysta	-	skysta
9 %	-	skysta	-	skysta	-	skysta	-	skysta
12 %	-	skysta	-	skysta	-	skysta	+/-	klampi
15 %	+/-	klampi	+/-	klampi	+/-	klampi	+	gelis
Apdorojimo trukmė: 30 min								
3 %	-	skysta	-	skysta	-	skysta	-	skysta
6 %	-	skysta	-	skysta	-	skysta	-	skysta
9 %	-	skysta	-	skysta	-	skysta	+/-	klampi
12 %	+/-	klampi	+/-	klampi	+/-	klampi	+	gelis
15 %	+/-	klampi	+/-	klampi	+	gelis	+	gelis

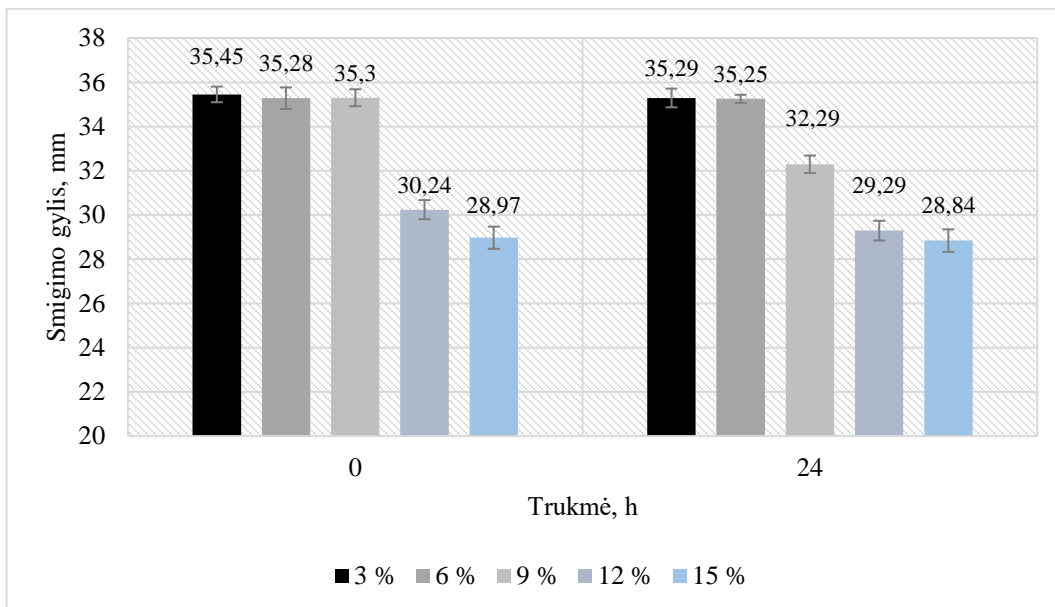
Atlikus gelių klamos vertinimą (žr. 3.1 lentelę), pastebėta, kad gelių susidarymui reikšmingą įtaką turi naudotos jų ruošimui BLSF suspensijų koncentracijos. Kiti reikšmingi faktoriai, sąlygoję gelių susidarymą, buvo ultragarsinio apdorojimo būdas ir poveikio trukmė.

Nustatyta, kad gelio susidarymui reikia naudoti 15 % koncentracijos BLSF suspensijas ir jas apdoroti ultragarsu (850 kHz, 0,9 W/cm²), laike 30 min (žr. 3.1 lentelę). Esant žemesnėms nei 15 % koncentracijoms ir mažesnei apdorojimo trukmei (10 min ir 20 min), tiriami mėginiai buvo klampūs ir neformavo gelių.

Papildomai gelių klampa vertinta akustiniu tekstūros analizatoriumi (3.7 pav. ir 3.8 pav.).



3.7 pav. Žemo dažnio ultragarsinio apdorojimo (37 kHz, 2 W/cm²) įtaka BLSF gelių klampai



3.8 pav. Aukšto dažnio ultragarsinio apdorojimo (850 kHz, 0,9 W/cm²) įtaka BLSF gelių klampai

Iš gautų rezultatų (žr. 3.7 pav. ir 3.8 pav.) matoma, kad gelių susidarymui svarbią įtaką turi BLSF koncentracija, naudota gelių ruošimui. Šis faktorius reikšmingas abiem ultragarsinio apdorojimo atvejais (37 kHz ir 850 kHz), leidęs sumažinti vertinamas smigimo gylio vertes ir padidinti klampą tiek pradinio momentu, tiek ir po 24 val. mėginių laikymo. Geriausia gelių konsistencija (28,97 mm) fiksuota, apdorojant 15 % koncentracijos BLSF mėginius 37 kHz ultragarsine įranga. Po 24 val. šių mėginių laikymo, fiksuotos taip pat mažiausios smigimo gylio vertės ir tuo pačiu didžiausia jų klampa. Ultragarsinis BLSF suspensijų apdorojimas, naudojant aukštą dažnį (850 kHz), sąlygojo intensyvesnį gelių susidarymą ir didesnę klampą nei mažesnio dažnio atveju: 15 % koncentracijos mėginių smigimo gylis fiksuotas reikšmingai mažesnis nei naudojant žemą dažnį (37 kHz). Be to, pastebėta, kad optimaliai

gelių konsistencijai susiformuoti prie aukštesnio dažnio buvo galima naudoti mažesnės koncentracijos BLSF suspensijos mėginius (12 %).

Kitame tyrimo etape atliktas tirtų mėginių (apdorotų ultragarsine technika) vizualus spalvos vertinimas ir matavimai *Konica Minolta CR-410* prietaisu. Tyrimų rezultatai pateikti 3.9 pav. ir 3.10 pav.



3.9 pav. BLSF geliai (3 %; 6 %; 9 %; 12 %; 15 %), gauti apdorojus mėginius 37 kHz ultragarsinėje įrangoje, 2 W/cm² intensyvumu, laike 30 min



3.10 pav. BLSF geliai (3 %; 6 %; 9 %; 12 %; 15 %), gauti apdorojus mėginius 850 kHz ultragarsinėje įrangoje, 0,9 W/cm² intensyvumu, laike 30 min

Didėjant BLSF suspensijų koncentracijai (nuo 3 % iki 15 %), mėginių spalva tamsėjo ir tokia tendencija buvo stebima, apdorojant mėginius tiek 37 kHz dažnio ultragarsine įranga (žr. 3.9 pav.), tiek ir prie aukštesnio dažnio – 850 kHz (žr. 3.10 pav.). Tačiau intensyvesnės spalvos buvo stebimos, naudojant tyrimui 15 % koncentracijos suspensijas ir apdorojant aukšto dažnio ultragarsu (850 kHz, 0,9 W/cm²) nei žemame dažnyje (37 kHz, 2 W/cm²). Manoma, kad tai galėtų būti susiję su Majaro reakcija, kuri intensyvesnė prie aukštesnių ultragarsinio apdoravimo dažnių. Tokią prielaidą patvirtina ir nustatytas ultragarsinio apdoravimo metu didesnis tirpiųjų baltymų susidarymas (žr. 3.2.1. skyrių), galintis intensyvinti melanoidinų susidarymą.

Papildomai BLSF gelių spalvos intensyvumas (žr. 3.2 lentelę) vertintas instrumentiniu būdu, naudojant gelių ruošimui skirtingus ultragarso dažnius (37 kHz ir 850 kHz).

3.2 lentelė. Baltyminės frakcijos spalvos nustatymas po apdorojimo 37 kHz (2 W/cm² intensyvumas) ir 850 kHz dažniu (0,9 W/cm² intensyvumas), laike 30 min, L* – šviesumas; a* – raudonumas; b* – geltonumas

Koncentracijos	Spalvos rodikliai					
	L*	a*	b*	L*	a*	b*
	37 kHz, 2 W/cm ²			850 kHz, 0,9 W/cm ²		
3%	50,62	4,58	6,68	51,05	5,9	8,34
6%	49,08	7,41	11,1	49,29	7,3	10,47
9%	48,87	7,41	11,74	48,58	7,45	11,67
12%	47,46	7,48	11,92	44,76	7,32	11,67
15%	47,65	7,58	12	43,73	7,46	12,28

Didėjant linų sėmenų baltyminių medžiagų koncentracijai, mėginių spalvos tamsėjo bei didėjo raudonumo ir geltonumo atspalvių vertės. Be to, išryškėjo BLSF suspensijų ultragarsinio apdorojimo įtaka gelių spalvai.

Žemesniame ultragarso dažnyje (37 kHz), kintant suspensijų koncentracijoms nuo 3 % iki 15 %, L* šviesumas kito ribose nuo 50,62 iki 47,65. Didžiausias šviesumas (L*) fiksuotas, analizuojant 3 % koncentracijos suspensijas – 50,62. Atlikus raudonumo (a*) matavimus, didėjant koncentracijai, a* vertės taip pat didėjo nuo 4,58 iki 7,58. Esant suspensijų koncentracijoms (6 % – 15 %), a* raudonumo vertės išliko panašios (atitinkamai 7,41 ir 7,58). Stipriausias geltonumo atspalvis nustatytas 15 % koncentracijos mėginiuose – 12, o silpniausias geltonumas b* buvo stebimas 3 % koncentracijos mėginiuose – 6,68.

Aukštame ultragarso (850 kHz) dažnyje, BLSF šviesumas L* kito ribose 51,05 iki 43,73. Gelių, ruoštų iš 3 % koncentracijos suspensijos, nustatytas didžiausias šviesumas L* – 51,05, o 15 % koncentracijos mėginių fiksuotas mažiausias gelio šviesumas – 43,73. Didžiausia raudonumo vertė (7,46) nustatyta gelio, ruošto naudojant 15 % koncentracijos suspensiją. Didinant BLSF suspensijų koncentracijas (6 %, 9 %, 12% ir 15 %) gelių ruošimo metu, geltonumo verčių pokytis nebuvo reikšmingas (atitinkamai 10,47, 11,67, 11,67 ir 12,28).

Kitų autorių darbai rodo [87], kad gelių iš linų sėmenų susidarymui yra svarbus temperatūrinis režimas, naudojamas jų ruošimo metu. Naudojant žemesnes nei 40 °C temperatūras, linų sėmenų geliai pasižymėjo silpnomis savybėmis ir jų formavimosi efektyvumui padidinti buvo didinama temperatūra nuo 45 °C iki 80 °C. Aukštesnė temperatūra sudaro geresnes sąlygas hidratacijai ir polimerų pokyčiams, turėjusiems įtakos greitesniam ir geresnėmis savybėmis pasižyminčių gelių susidarymui. Be to, autoriai nustatė, kad linų sėmenų gelių stiprumas ir jų mikrostruktūra priklausė nuo suspensijų koncentracijos. Didinant linų sėmenų kiekį suspensijose, gelio susidarymo pajėgumas didėjo. Pagal Y. Wang'ą ir kt. geriausiomis savybėmis pasižymėjo linų sėmenų geliai, ruošti naudojant 14,40 % koncentracijų suspensijas. Linų sėmenų savybė sudaryti gelius daugiausiai siejama su jų sudėtyje esančiais polisacharidais [88].

Gauti šiame tyrime rezultatai rodo, kad ultragarsinis mėginių apdorojimas leidžia intensyvinti gelių susidarymą ir jų tekstūrą. Toks efektas pasiekiamas, naudojant gelių ruošimui ultragarsinį apdorojimą (< 50 °C temperatūrose). Geriausia gelių tekstūra gaunama naudojant jų ruošimui BLSF suspensijas, 15 %

koncentracijos. Manoma, kad ultragarsas intensyvina hidratacijos procesus ir modifikuoja linų sėmenų sudėtinius komponentus, pvz., baltymines medžiagas.

Linų sėmenų priedų įtaka daugiausiai analizuota, tiriant šios augalinės žaliavos įtaką duonos kokybei, įskaitant ir spalvos pokyčius [89; 90]. Pagal M. Pourabedin'ą, A. Aarabi'į ir S. Rahbaran'ą [89] ir S. Mercier'ą ir kt. [90] šviesiausias (pagal L^* kriterijų) buvo kontrolinis kepinys, ruoštas be linų sėmenų priedų ir tamsiausias buvo kepinys, ruoštas su 30 % nuo miltų masės linų sėmenų miltų priedu.

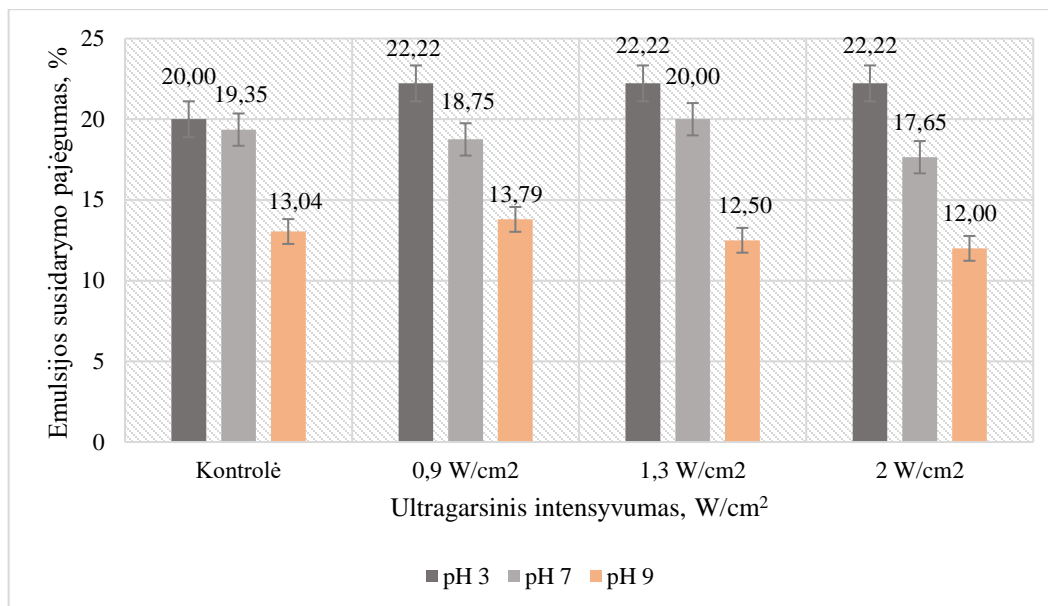
Lyginant mėginius pagal raudonumo (a^*) kriterijų, kontrolinio mėginio a^* vertės buvo mažiausios, o didėjant linų sėmenų priedų kiekiui (0 %; 10 %; 20 % ir 30 % nuo kvietinių miltų), didėjo raudonumo (a^*) vertės ir kepiniai tamsėjo. A.F. Koca ir M. Anil'as tyrė linų sėmenų miltų priedų įtaką kepinų plutos spalvos pokyčiams. Nustatyta, kad 5 % ir 20 % linų sėmenų priedas tamsina plutos spalvą (atitinkamai $L^* = 42,67$ % ir $L^* = 32,23$ %). Tokiu būdu, linų sėmenų priedai tamsina produktus priklausomai nuo jų ruošimui naudoto priedo kiekio [91].

Šiame darbe ultragarsinis poveikis (ypač aukšto dažnio) gelių iš linų sėmenų ruošimo metu intensyvino jų spalvą ir raudonas atspalvis ryškėjo, didinant linų sėmenų suspensijų koncentracijas. Tai rodo, kad linų sėmenų gelių priimtimumo didinimui tikslinga būtų naudoti priedus, skirtus vystomų produktų spalvos pagerinimui.

3.3.2. Emulsijų ir putų susidarymas ir jų stabilumas

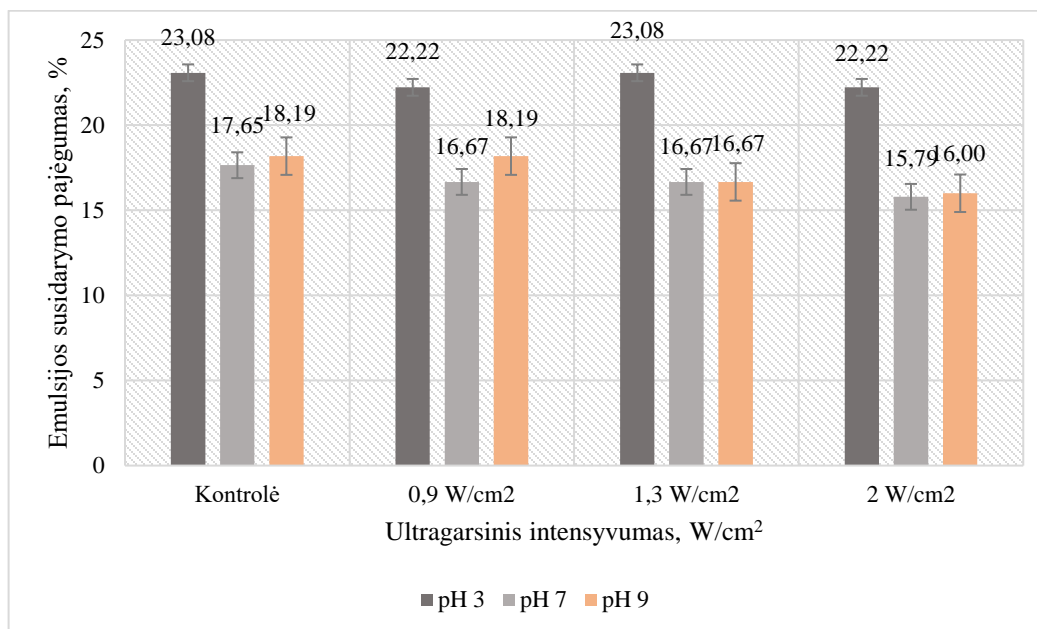
Šiame skyriuje pateikti sėmenų pagrindinių frakcijų (albuminų ir globulinų) funkcinių savybių tyrimo rezultatai, kurie gauti analizuojant ultragarsinio poveikio įtaką, keičiant terpės pH (pH 3, pH 7, pH 9), emulsijų ir putų susidarymui bei jų stabilumui. Tyrimui mėginiai buvo paruošti pagal 2.3.2. skyriuje pateiktą metodiką ir baltyminių medžiagų analizė atlikta SDS-PAGE elektroforezės metodu.

Linų sėmenų albuminų ir globulinų emulsijų susidarymo pajėgumo ir stabilumo tyrimų rezultatai pateikti atitinkamai 3.11, 3.12, 3.13 ir 3.14 pav.



3.11 pav. Ultragarsinio apdorojimo (esant 850 kHz dažniui ir 0,9 W/cm²; 1,3 W/cm²; 2 W/cm² intensyvumams) įtaka BLSF albuminų emulsijos susidarymo pajėgumui

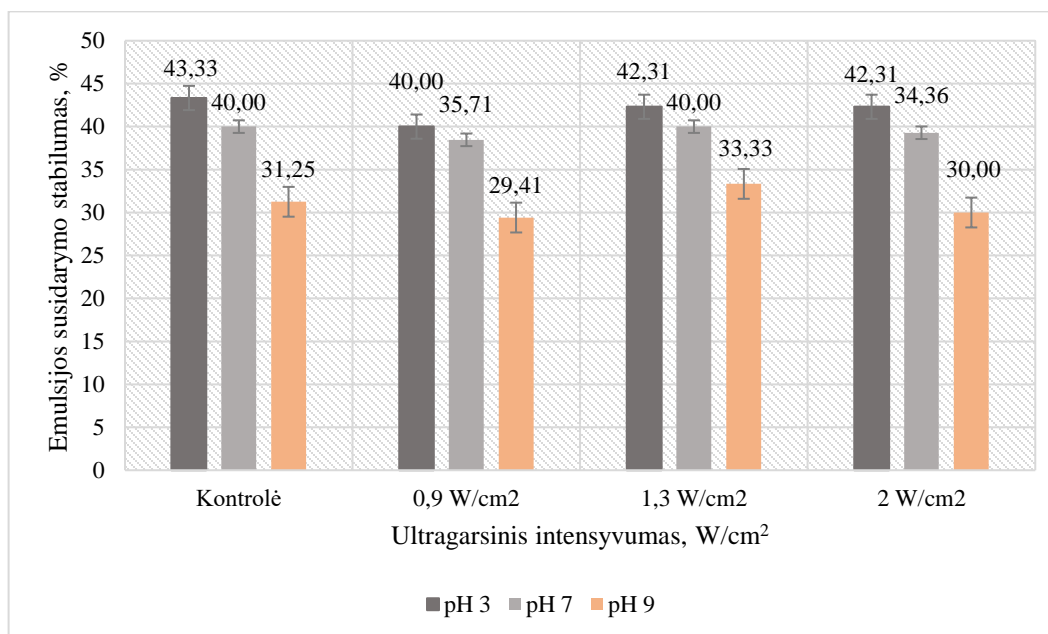
Iš gautų rezultatų matyti (žr. 3.11 pav.), kad emulsijos susidarymo pajėgumas albuminų frakcijoje priklausė nuo pH verčių: stabiliausios vertės nustatytos esant rūgštinei terpei (pH 3); esant pH 7, emulsijos susidarymo pajėgumo vertės kito ribose nuo 17,65 % iki 19,35 %. Mėginius paveikus 2 W/cm² ultragarso intensyvumu (850 kHz), esant pH 7 ir pH 9, fiksuotas mažiausias emulsijos susidarymo pajėgumas (pH 7 – 17,65 %; pH 9 – 12,00 %).



3.12 pav. Ultragarsinio apdorojimo (esant 850 kHz dažniui ir 0,9 W/cm²; 1,3 W/cm²; 2 W/cm² intensyvumams) įtaka BLSF globulinų emulsijos susidarymo pajėgumui

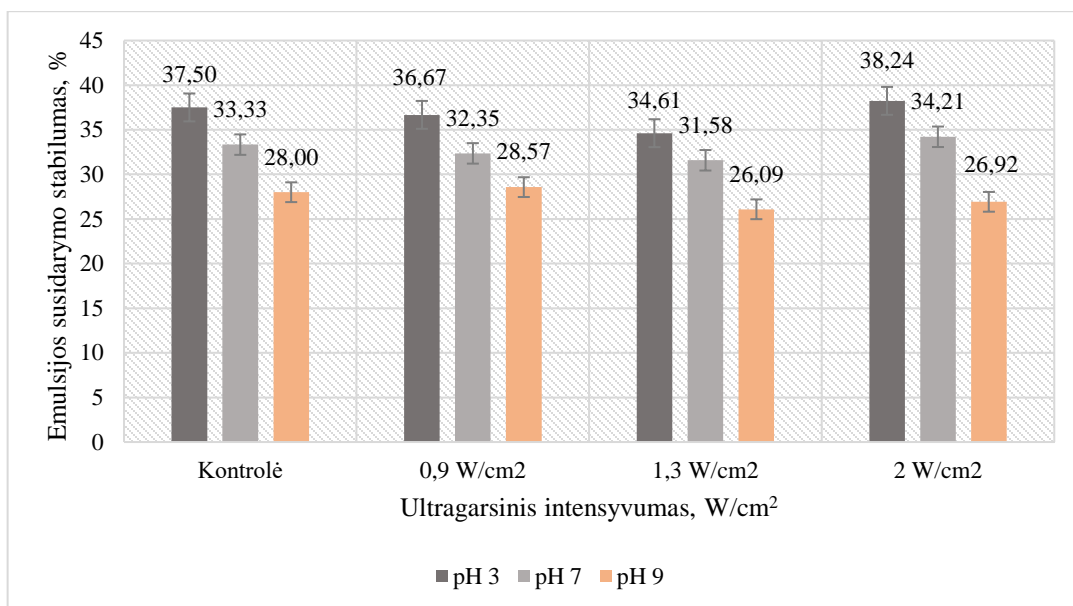
Tiriant ultragarso poveikį globulinų baltyminėms medžiagoms (žr. 3.12 pav.) prie mažesnių intensyvumų ($0,9 \text{ W/cm}^2$ ir $1,3 \text{ W/cm}^2$), emulsijų susidarymo pajėgumas nesiskyrė reikšmingai nuo kontrolės. Reikšmingas emulsijų susidarymo pajėgumo sumažėjimas, lyginant su kontrole, nustatytas tik esant didžiausiam ultragarsinio poveikio intensyvumui (2 W/cm^2) esant pH 7 ir pH 9. Paveikus mėginius $0,9 \text{ W/cm}^2$ ir $1,3 \text{ W/cm}^2$ intensyvumu (850 kHz), lyginant su kontrole, gautos tokios analogiškos vertės – 22,22 % (pH 3) ir 16,67 % (pH 7). Mažiausios emulsijos susidarymo pajėgumas gautas paveikus mėginius 2 W/cm^2 ultragarso intensyvumu (esant pH 7 – 15,79 %, o pH 9 – 16,00 %).

Toliau pateikiami iš linų sėmenų baltyminių medžiagų išskirtų baltymų (albuminų ir globulinų) **emulsijos susidarymo stabilumo** tyrimo rezultatai (3.13 ir 3.14 pav.).



3.13 pav. Ultragarsinio apdorojimo (esant 850 kHz dažniui ir $0,9 \text{ W/cm}^2$; $1,3 \text{ W/cm}^2$; 2 W/cm^2 intensyvumams) įtaka BLSF albuminų emulsijos susidarymo stabilumui

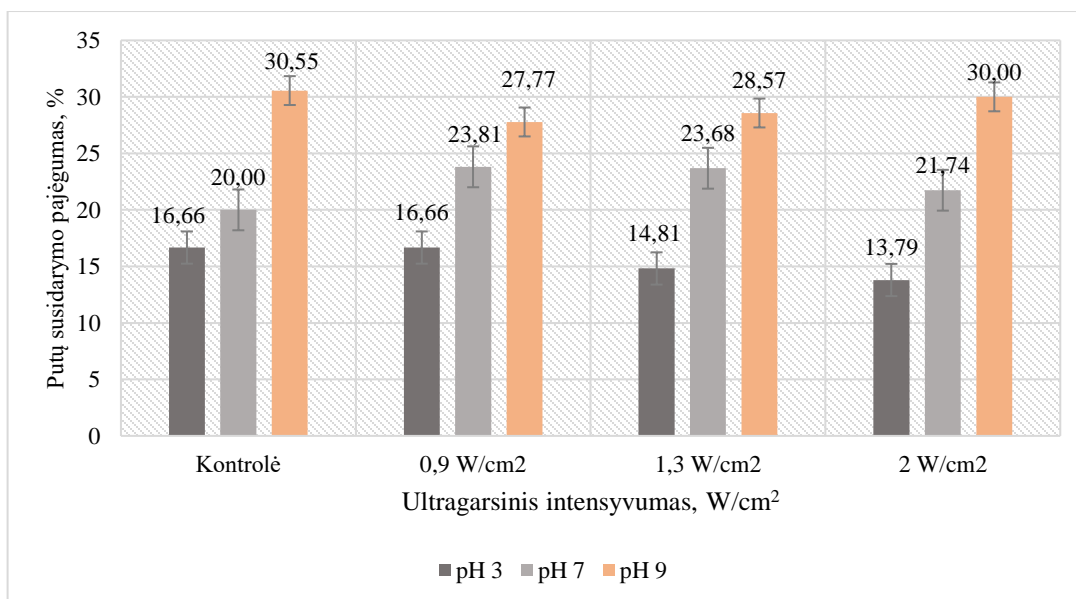
Emulsijų stabilumas kito nevienareikšmiškai nuo ultragarsinio poveikio tiek BLSF albuminų (žr. 3.13 pav.), tiek globulinų frakcijose. Veikiant mėginius $0,9 \text{ W/cm}^2$ intensyvumu, albuminų frakcijoje, lyginant su kontrole, buvo fiksuotas emulsijų susidarymo stabilumo reikšmingas mažėjimas 40,00 % (pH 3); 35,71 % (pH 7) ir 29,41 % (pH 9). Didinant ultragarsinį intensyvumą iki $1,3 \text{ W/cm}^2$, emulsijų susidarymo stabilumas albuminų frakcijoje, lyginant su kontrole, reikšmingai padidėjo ir tai buvo stebimas prie visų pH verčių (atitinkamai 42,31 %; 40,00 % ir 33,33 %). Esant maksimaliai intensyvumo vertei, emulsijų stabilumas albuminų frakcijoje nekito ir nustatytas 42,31 % (esant pH 3) arba mažėjo (atitinkamai 34,36 % ir 30,00 %) ir tai pasireiškė prie pH 7 ir pH 9.



3.14 pav. Ultragarsinio apdorojimo (esant 850 kHz dažniui ir 0,9 W/cm²; 1,3 W/cm²; 2 W/cm² intensyvumams) įtaka BLSF globulinę emulsijos susidarymo stabilumui

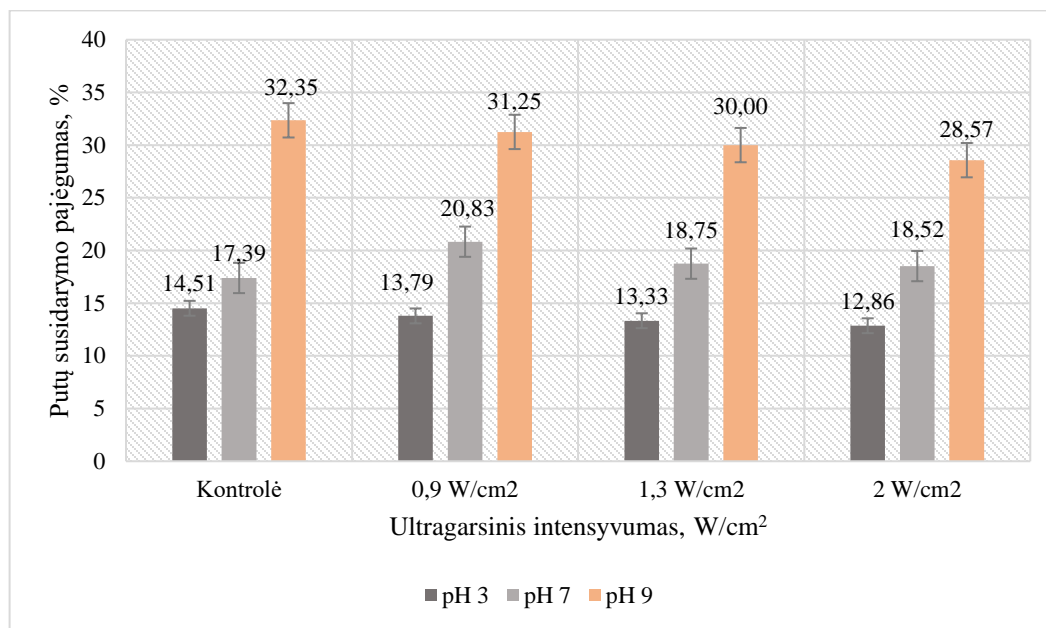
Atlikus emulsijos susidarymo stabilumo tyrimą, iš gautų rezultatų matyti (žr. 3.14 pav.), kad globulinę frakcijų tyrimo metu ultragarsinis apdorojimas naudojant mažesnius intensyvumus (0,9 W/cm² ir 1,3 W/cm²) neturėjo reikšmingos įtakos emulsijų susidarymo stabilumui (prie visų pH verčių). Tuo tarpu, prie didžiausio intensyvumo (2 W/cm²) fiksuotas emulsijos stabilumo padidėjimas 38,24 % (pH 3) ir 34,21 % (pH 7), išskyrus atvejį esant pH 9.

Kitame eksperimento etape buvo analizuotas **putų susidarymo pajėgumas** linų sėmenų albuminų ir globulinę frakcijose (3.15 ir 3.16 pav.).



3.15 pav. Ultragarsinio apdorojimo (esant 850 kHz dažniui ir 0,9 W/cm²; 1,3 W/cm²; 2 W/cm² intensyvumams) įtaka BLSF albuminų putų susidarymo pajėgumui

Sprendžiant iš albuminų tyrimų rezultatų (žr. 3.15 pav.), ultragarsinis apdorojimas prie 0,9 W/cm² ir 1,3 W/cm² intensyvumų reikšmingai padidino putų susidarymo pajėgumą (atitinkamai 23,81 % ir 23,68 %) ir toks teigiamas efektas fiksuotas esant pH 7. Tuo tarpu, esant didesniai intensyvumui ir prie šio pH buvo stebimas putų susidarymo mažėjimas (21,74 %). Pažymėtina, kad didinant ultragarsinio apdorojimo intensyvumą (pH 3), buvo stebimas putų susidarymo mažėjimas vidutiniškai 14,81 % ir 13,79 % (išskyrus atveją, kai mėginiai buvo veikiami 0,9 W/cm² intensyvumu, esant pH 3 – 16,66 %). Stabiliausios vertės tirtuose mėginiuose nustatytos neutralioje terpėje (pH 7), nes putų susidarymo pajėgumo vertės didinant intensyvumą kito nuo 23,81 % iki 21,74 %.



3.16 pav. Ultragarsinio apdorojimo (esant 850 kHz dažniui ir 0,9 W/cm²; 1,3 W/cm²; 2 W/cm² intensyvumams) įtaka BLSF globulinų putų susidarymo pajėgumui

Tiriant ultragarso poveikį globulinų frakcijos (žr. 3.16 pav.) putų susidarymui, teigiamas ultragarso poveikis ir reikšmingas putų susidarymo pajėgumo padidėjimas nustatytas naudojant mažiausią intensyvumą (0,9 W/cm²) ir esant pH 7. Tuo tarpu, didinant ultragarsinio apdorojimo intensyvumą prie šio pH, buvo stebimas 18,75 % (1,3 W/cm²) ir 18,52 % (2 W/cm²) mažesnis putų susidarymo pajėgumas. Ultragarsinio intensyvumo (0,9 W/cm² ir 1,3 W/cm²) poveikis, esant pH 3 ir pH 9, nenustatytas putų susidarymui ir šio parametro vertės prilygo kontrolei. Veikiant aukščiausiu ultragarso intensyvumu (2 W/cm²), lyginant su kontrole, buvo stebimas reikšmingas putų susidarymo sumažėjimas (12,86 % ir 28,57 % atitinkamai). Stabiliausios šio parametro vertės nustatytos visuose mėginiuose globulinų frakcijoje, esant pH 9 ir jos tolygiai mažėjo, nuo 32,35 % iki 28,57 %, didinant ultragarsinį intensyvumą.

Literatūroje aprašoma žemo dažnio (20 kHz) ir didelio intensyvumo (18,4; 29,58; 73,95 W/cm²) ultragarsinio apdorojimo įtaka avinžirnių baltyminių medžiagų funkcinėms savybėms, keičiant apdorojimo trukmę (5; 12,5; 20 min). Nustatyta, kad apdorojimas ultragarsu visais atvejais reikšmingai ($p < 0,05$) padidino avinžirnių baltymų tirpumą ($65,8 \pm 0,6$ %). Ultragarsinis apdorojimas taip pat turėjo reikšmingos įtakos putų susidarymo pajėgumui. Putų ir emulsijų susidarymo pajėgumas didėjo, ilginant ultragarsinio apdorojimo trukmę iki 12,5 min (73,95 W/cm²). Prailginus apdorojimo ultragarsu trukmę

iki 20 min ($73,95 \text{ W/cm}^2$), fiksuotas agregatų susidarymas, turėjęs įtakos emulsijų stabilumui. SDS-PAGE analizės rezultatais įrodytas ryšys tarp avinžirnių baltymų antrinės struktūros ir baltymų molekulinės masės pokyčių, siejant juos su kavitacijos reiškiniu. Po apdorojimo ultragarsu, nustatytas laisvų aminorūgščių kiekio padidėjimas. Taigi, apdorojimas ultragarsu gali modifikuoti baltymus ir pagerinti avinžirnių (potencialaus ingrediento įvairių maisto produktų gamyboje) baltymų funkcines savybes [92].

Kai kurių augalinių baltymų produktų putų susidarymo pajėgumui įtakos gali turėti padidėjęs baltymų tirpumas, greitas putų išsiskyrimas oro–vandens sąsajoje, nepakankamas molekulinis sukibimas ir baltymų paviršinių medžiagų aktyvumas [85].

J. O'Sullivan'as ir kt. ištyrė, kad ultragarsinis apdorojimas (20 kHz , 34 W/cm^2 , 2 min) reikšmingai sumažino pieno baltymų ir žirnių baltymų izoliatų agregatų dydį ($p < 0,05$), o pieno baltymų izoliatuose buvo pastebėti struktūros pokyčiai. Baltymų agregatų mažinimas veikiant ultragarsu yra priskiriamas hidrodinaminėms šlyties jėgoms, kurios susijusios su ultragarsine kavitacija bei hidrofobinių ir elektrostatiinių sąveikų pokyčiais. Apdorojimas ultragarsu padidino emulsijos stabilumą žirnių baltymų izoliatuose. Šie rezultatai rodo, kad apdorodojimas ultragarsu gali pagerinti baltymų emulgavimosi savybes. Taip pat, emulsijų susidarymas priklauso nuo ultragarsinio apdorojimo, t.y., ar vyksta prieš ar po emulgavimo proceso bei kokie yra naudojami baltymų šaltiniai [93].

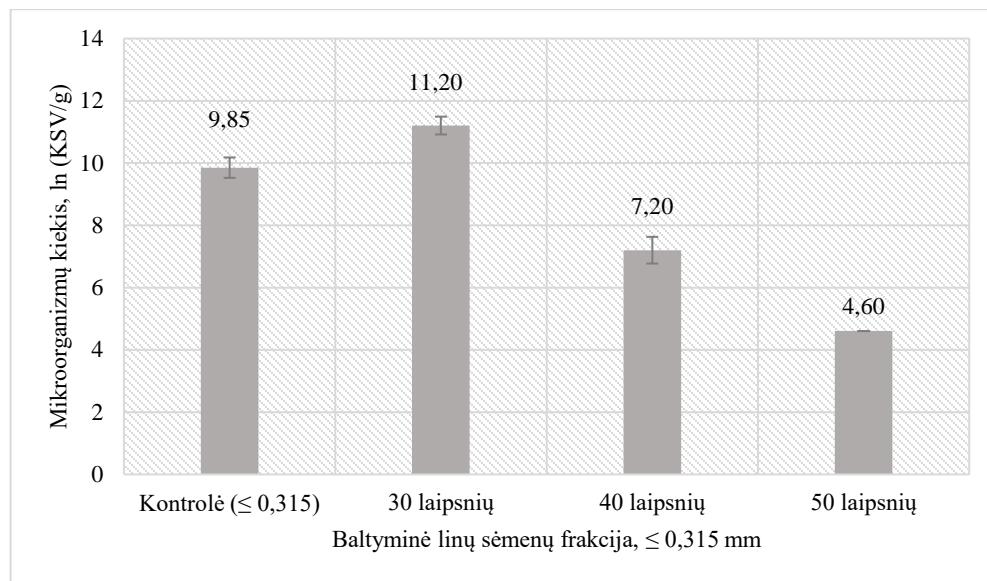
S. Jiang'as ir kt. nustatė, kad pH keitimas ir apdorojimas ultragarsu buvo veiksmingas faktorius, modifikuojant žirnių baltymų savybes. Esant pH 12, žirnių baltymų tirpumas pagerėjo ir sumažėjo tirpiųjų baltymų agregatai. Taip pat tyrime nustatyta, kad apdorojimas ultragarsu žirnių baltymus, gali būti veiksminga priemonė baltymų funkcinių savybių pagerinimui [94].

3.4. BLSF panaudojimas fermentacijos procesuose

3.4.1. BLSF ultragarsinio apdorojimo įtaka mikrobinės taršos mažinimui

Augalinės žaliavos apdorojimas ultragarsu sulaukė didelio susidomėjimo, nes vykdomi tyrimai apie šios technologinės priemonės teigiamą poveikį nepageidaujamos mikrofloros mažinimui [95]. Iki šiol daugiausiai buvo eksperimentuojama, taikant žemo dažnio (20 kHz) ultragarsinę įrangą maisto saugos didinimui. Ultragarsas yra priskiriamas fiziniam procesui, kuris dar vadinamas akustine kavitacija. Kavitacija – tai dujų burbuliukų susidarymas ir sprogimas skystoje terpėje. Pagrindinis žemo dažnio ir aukšto intensyvumo ultragarso sukeliama poveikio mikroorganizmams mechanizmas yra susijęs su mikroorganizmų ląstelių sienelių ir membranų suardymu bei jų žūtimi [96].

Šiame eksperimento etape vertinta ultragarso apdorojimo įtaka BLSF mikrobinės taršos mažinimui, naudojant 37 kHz ultragarsinę įrangą. Papildomai buvo išbandytos įvairios temperatūros ($40 \text{ }^\circ\text{C}$ ir $50 \text{ }^\circ\text{C}$) BLSF ultragarsinio apdorojimo metu, neviršijant $50 \text{ }^\circ\text{C}$ temperatūros. Apie ultragarsinio apdorojimo įtaką BLSF mikrobinei taršai buvo sprendžiama pagal BMS tyrimo rezultatus. Ultragarsinio poveikio įtaka, keičiant temperatūrą nuo $30 \text{ }^\circ\text{C}$ iki $50 \text{ }^\circ\text{C}$ (kas $10 \text{ }^\circ\text{C}$), BMS vertėms pateikta 3.17 pav.



3.17 pav. BLSF ultragarsinio apdorojimo įtaka BMS temperatūrų intervale nuo 30 °C iki 50 °C

Iš gautų rezultatų matyti (žr. 3.17 pav.), kad didžiausią įtaką BMS sumažėjimui turėjo temperatūrinis faktorius, leidęs prie aukštesnių temperatūrų (40 °C ir 50 °C temperatūros), lyginant su kontrole, BMS sumažinti 26 % ir 53 % atitinkamai. Eksperimento metu neišryškėjo teigiama ultragarsinio poveikio įtaka BLSF taršos mažinimui. Priešingai, esant 30 °C temperatūrai, fiksuotas tirtuose mėginiuose BMS padidėjimas (11,20 ln (KSV/g)).

J.T. Guimaraes'as ir kt. tyrė mikroorganizmų pokyčius pieno išrūgose, naudojant 19 kHz dažnį ir aukšto intensyvumo ultragarsinį apdorojimą esant 53 °C ± 3 °C temperatūrai. Tyrimų rezultate nustatytas pelėsių ir mielių reikšmingas sumažėjimas atitinkamai iki 3,9 log₁₀ KSV/g ir 1,4 log₁₀ KSV/g, gauti produktai atitiko Europos teisės aktus [97].

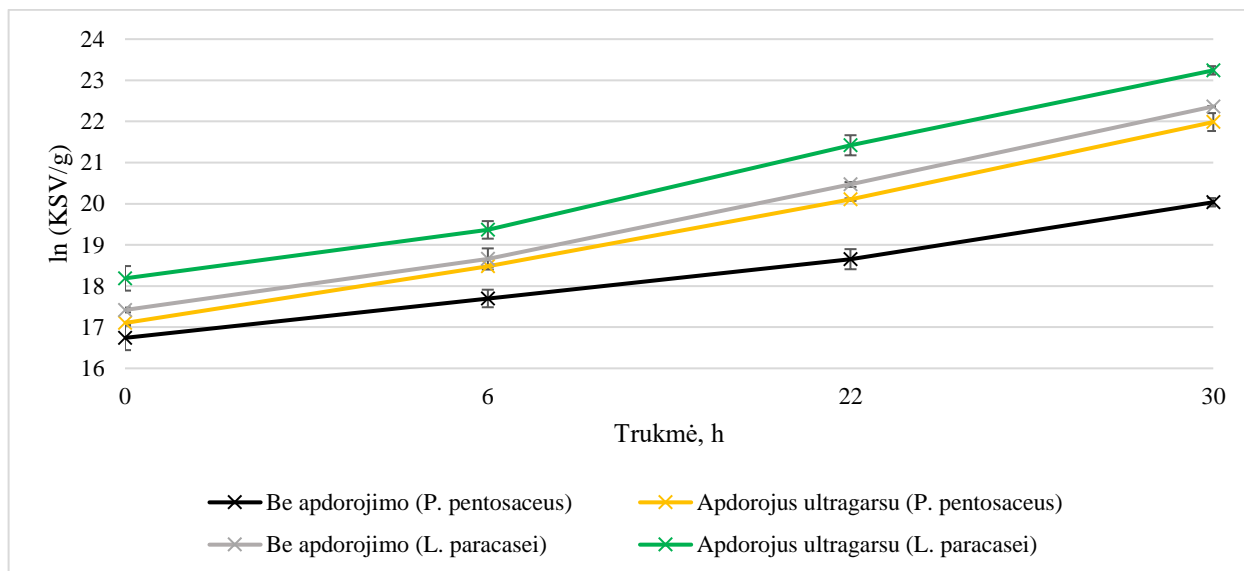
Manoma, kad reikėtų stengtis pritaikyti maisto gamyboje naujas ir veiksmingas ultragarsines sistemas, kurios padėtų užtikrinti mikrobiologiškai saugių ir aukštos kokybės maisto produktų gamybą. Siekiant skatinti ultragarso taikymą maisto pramonėje, būtina iširti kompleksiskai ultragarsinio poveikio įtaką maisto kokybei [96].

Galima pažymėti, kad vykdytą eksperimentą tikslinga būtų tęsti, didinant analizuojamų mėginių apimtį ir išbandant aukšto dažnio ultragarsinę įrangą.

3.4.2. BLSF panaudojimo galimybių tyrimai PRB kultivavimui

Vertinant BLSF tinkamumą PRB fermentacijai, eksperimentui pasirinktos dvi PRB padermės (*P. pentosaceus* KTU 05–9 ir *L. paracasei* LUHS244). Eksperimento metu analizuotas šių PRB dauginimasis BLSF mėginiuose ($d \leq 0,315$ mm ir $0,315 < d \leq 0,500$ mm), ruoštuose be ultragarsinio apdorojimo (kontrolė) ir apdorojus aukšto dažnio (850 kHz) ultragarsu, naudotas intensyvumas – 0,9 W/cm². Abiem atvejais mėginiai buvo išlaikyti 50 °C temperatūroje, 30 min. Prieš fermentaciją mėginiai ataušinti iki PRB kultivavimui optimalios temperatūros (30 °C).

Toks BLSF ultragarsinio apdorojimo režimas pasirinktas pagal 3.2.1. skyriaus rezultatus, sąlygojęs didžiausią tirpiųjų baltymų susidarymą. BLSF mėginiai PRB skaičiaus analizei imti po 0, 6, 22, 30 valandų PRB fermentacijos (3.18 pav.).



3.18 pav. PRB (*P. pentosaceus* KTU 05–9 ir *L. paracasei* LUHS244) dauginimasis BLSF mėginiuose ($d < 0,315$ mm) be apdorojimo ir apdorojus 850 kHz ultragarso dažniu, intensyvumas – $0,9 \text{ W/cm}^2$, kontroliniai ir tiriamieji mėginiai išlaikyti 30 min, $50 \text{ }^\circ\text{C}$ temperatūroje

Gauti rezultatai parodė (žr. 3.18 pav.), kad visais atvejais PRB geriau dauginosi mėginiuose, apdorotuose ultragarsu, sąlygojant 5 % didesnę PRB skaičiaus padidėjimą po 30 val. fermentacijos. Ilgėjant fermentacijos trukmei, PRB skaičius didėjo ir ši tendencija priklausė nuo PRB padermės. BLSF visais fermentacijos tarpsniais (6, 22, 30 val.) buvo palankesnė terpė *L. paracasei* kultivavimui nei *P. pentosaceus* (KTU 05–9).

S. Li'is ir kt. tyrė ultragarsinio poveikio įtaką ryžių baltymų pokyčiams ir gautų substratų įtaką fermentų kinetikai. Analizuojant ryžių baltymų savybes po apdorojimo ultragarsu, pastebėti, lyginant su kontrole, funkcinų grupių pokyčiai ir padidintas fermentinės hidrolizės aktyvumas. Rezultatai parodė, kad po ultragarsinio apdorojimo buvo stebimi baltymų struktūros pokyčiai, kurie galėjo intensyvinti fermentacijos procesus [98].

Fermentacijos procesai yra kompleksiniai, kuriuose dalyvauja organinės kilmės katalizatoriai ir įvairūs mikroorganizmai, sąlygodami cheminius medžiagų pokyčius. Nustatyta, kad žemo dažnio ultragarsas (20–50 kHz) gali turėti įtakos fermentacijos procesų eigai, gerinant ląstelių pralaidumą, todėl pagerėja ir fermentacijos procesų intensyvumas [99].

3.5. BLSF derinyje su aviečių išspaudomis panaudojimas gelių gamybai

Šiame eksperimento etape išbandyti BLSF, taip pat derinyje su liofilizuotomis aviečių išspaudomis gelių gamybai. BLSF mėginiai apdoroti 850 kHz ultragarsinėje įrangoje, naudojant įvairius intensyvumus (0,9

W/cm² ir 1,3 W/cm²). Gelių tekstūra vertinta po 24 val. laikymo (6 °C temperatūroje), išskirtinį dėmesį skiriant liofilizuotų aviečių išspaudų priedų įtakai, tiriamųjų mėginių kokybei (žr. 3.19; 3.20 ir 3.21 pav.).

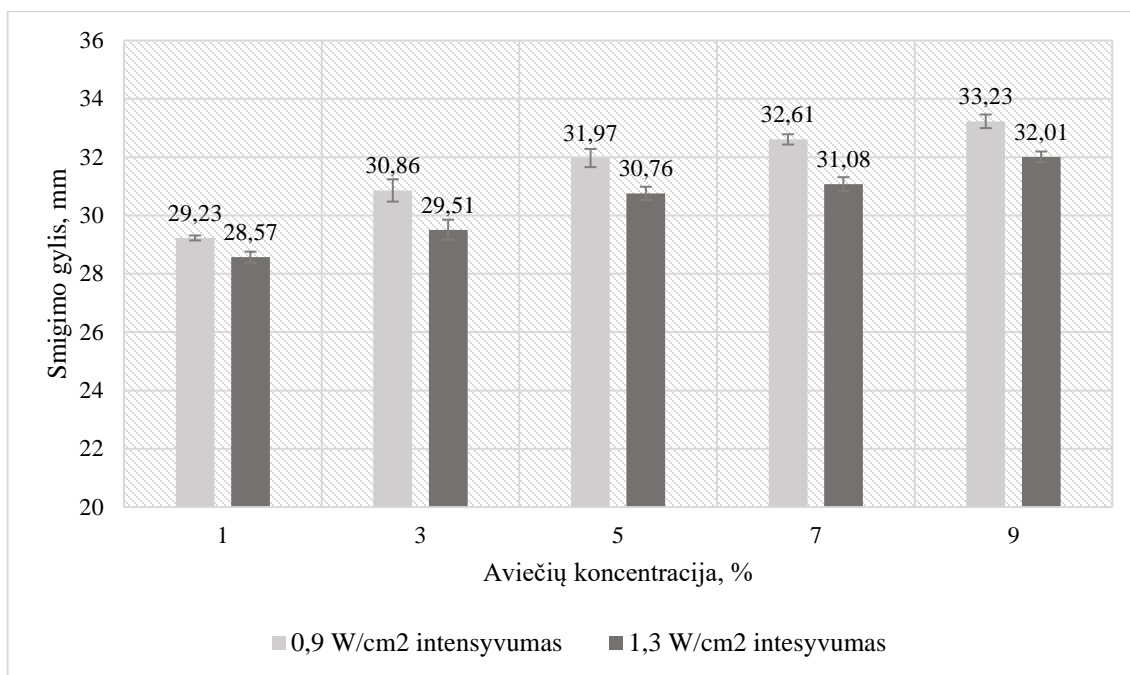


3.19 pav. BLSF frakcija (15 %), apdorota 850 kHz, 0,9 W/cm² intensyvumo ultragarsu ir po to pridėjus skirtingą kiekį liofilizuotų aviečių išspaudų (1 %; 3 %; 5 %; 7 %; 9 %)



3.20 pav. BLSF frakcija (15 %), apdorota 850 kHz, 1,3 W/cm² intensyvumo ultragarsu ir po to pridėjus skirtingą kiekį liofilizuotų aviečių išspaudų (1 %; 3 %; 5 %; 7 %; 9 %)

Mėginiuose, kuriuose BLSF ir aviečių išspaudų kiekis buvo vienodas, spalvos pokyčiai buvo ryškiausi, nepriklausomai nuo naudoto ultragarsinio apdorojimo intensyvumo. Pažymėtina, kad gelių konsistencija buvo stebima vienalytiškesnė, naudojant didesnę ultragarso intensyvumą (1,3 W/cm²). Ruošiant gelius su mažesniu aviečių išspaudų kiekiu (< 5 %), nebuvo pasiektas norimas priedo efektas.



3.21 pav. BLSF ir liofilizuotų aviečių suspensijos gelių klampa, apdorojus 0,9 W/cm² ir 1,3 W/cm² intensyvumu, esant aviečių išspaudų priedo kiekiui mėginiuose (1 %; 3 %; 5 %; 7 %; 9 %)

Iš rezultatų, pateiktų 3.21 pav., matoma, kad didėjant aviečių išspaudų kiekiui, gelių klampa mažėjo ir esant 9 % aviečių koncentracijai, mėginys sudarė klampią masę (0,9 W/cm² – 33,23 mm). Standžiausi geliai susiformavo, kai mėginyje aviečių išspaudų priedų kiekis buvo 1 % – 29,23 mm ir 3 % – 30,86 mm.

Apdorojus BLSF mėginius 850 kHz ultragarsinėje įrangoje (intensyvumas – 0,9 W/cm²), geliai pradėjo formotis esant 3 % liofilizuotų aviečių išspaudų kiekiui. Mėginius apdorojus aukštesniu intensyvumu (1,3 W/cm²), geliai pradėjo formotis greičiau ir esant didesniai liofilizuotų aviečių išspaudų kiekiui (5 % – 30,76 mm).

Tokiu būdu, naudojant gelių ruošimui ultragarsinį apdorojimą, galima pridėti į receptūras didesnius aviečių išspaudų kiekius ir pasiekti geresnį spalvos efektą.

IŠVADOS

1. Taikant kombinuotą separavimą (aerodinaminį ir pagal geometrinius požymius) linų sėmenų išspaudų fracionavimui, nustatyti gautose frakcijose tokie cheminės sudėties ir mikrobinės taršos pokyčiai:
 - 1.1. Didžiausiu baltymų kiekiu (37,14 % ir 35,50 %) pasižymėjo smulčiausios linų sėmenų išspaudų frakcijos ($d \leq 0,315$ mm ir $0,315 < d \leq 0,500$ mm), didėjant vyraujančių dalelių stambumui nuo $0,500 < d \leq 1,000$ mm iki $d > 1,000$ mm, baltymų kiekis frakcijose mažėjo.
 - 1.2. Riebalų kiekis mažėjo, didėjant frakcijose vyraujančių dalelių dydžiui (atitinkamai $d \leq 0,315$ mm – 17,28 %; $0,315 < d \leq 0,500$ mm – 7,51 %; $0,500 < d \leq 1,000$ mm – 4,99 % ir $d > 1,000$ mm – 1,26 %).
 - 1.3. Didžiausias BMS buvo fiksuojamas frakcijose (atitinkamai 13,15 ln (KSV/g) ir 14,12 ln (KSV/g)), kuriose vyrauja stambiausios dalelės $0,500 < d \leq 1,000$ mm ir $d > 1,000$ mm. Tuo tarpu smulčiausioje frakcijoje (9,85 ln (KSV/g)) nustatytas reikšmingai mažesnis BMS nei stambesnėse (III ir IV).
2. Atlikus BLSF albuminų ir globulinų analizę SDS-PAGE elektroforezės metodu, standartų diapazone nuo 8,000 Da iki 220,000 Da, fiksuota reikšminga ultragarsinio apdorojimo įtaka baltyminių medžiagų kokybiniams pokyčiams. Albuminų frakcijoje stebima didesnė ultragarsinio poveikio įtaka nei globulinų baltyminėse medžiagose, inicijuojant (850 kHz, intensyvumams – $0,9$ W/cm²; $1,3$ W/cm² ir 2 W/cm²) nuo 60,000 Da iki 30,000 Da ir ypač mažesnės molekulinės masės (< 12,000 Da) baltyminių frakcijų susidarymą.
3. Įvertinus ultragarsinio apdorojimo įtaką BLSF funkcinėms savybėms, nustatyta:
 - 3.1. Baltymų tirpumas, apdorojant BLSF ultragarsu (850 kHz, intensyvumas – $0,9$ W/cm²; $1,3$ W/cm² ir 2 W/cm²), didėjo priklausomai nuo naudoto intensyvumo ir maksimalią vertę (14,21 %) pasiekė taikant didžiausią intensyvumą.
 - 3.2. BLSF geliai efektyviau formavosi ir buvo intensyvesnės spalvos, naudojant jų ruošimui 15 % koncentracijos BLSF suspensijas ir apdorojant jas aukšto dažnio ultragarsu (850 kHz, $0,9$ W/cm² ir $1,3$ W/cm²) nei žemame dažnyje (37 kHz, 2 W/cm²).
 - 3.3. Emulsijos susidarymo pajėgumas priklausė nuo pH verčių: stabiliausios vertės albuminų frakcijoje nustatytos esant rūgštinei terpei (pH 3). Naudojant mėginių apdorojimui didžiausią ultragarsinį intensyvumą (2 W/cm², esant 850 kHz dažniui), fiksuotas mažesnis emulsijų susidarymo pajėgumas albuminų frakcijoje nei prie mažesnių intensyvumų ($0,9$ W/cm² ir $1,3$ W/cm²).
 - 3.4. Globulinų frakcijoje teigiamas ultragarso poveikis ir reikšmingas putų susidarymo pajėgumo padidėjimas nustatytas naudojant mažiausią intensyvumą ($0,9$ W/cm²) ir esant pH 7.
4. BLSF apdorojimas ultragarsu (850 kHz, intensyvumas – $0,9$ W/cm²) pagerino PRB dauginimąsi tiriamuose mėginiuose, padidinant vidutiniškai 5 % PRB skaičių po 30 val. fermentacijos. BLSF visais fermentacijos tarpsniais (po 6, 22, 30 val. fermentacijos) buvo palankesnė terpė *L. paracasei* kultivavimui nei *P. pentosaceus* (KTU 05–9).
5. Liofilizuotų aviečių išspaudų priedas (< 5 %) turėjo neigiamos įtakos gelių susidarymui. Pritaikius BLSF suspensijoms apdorojimą ultragarsu (trukmė – 30 min), buvo galima panaudoti

gelių ruošimui didesnę liofilizuotų aviečių priedo kiekį (5 %) ir taip pasiekti geresnę jo poveikį gelių kokybei.

LITERATŪROS SĄRAŠAS

1. RUBILAR, M., et al. Flaxseed as a source of functional ingredients. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*. 2010, 10(3), p. 373-377.
2. MADHUSUDHAN, B. Potential benefits of flaxseed in health and disease – a perspective. *Agriculturae Conspectus Scientificus*. 2009, 74, p. 67-72.
3. COSKUNER, Y., and E. KARABABA. Some physical properties of flaxseed (*Linum usitatissimum* L.). *Journal of Food Engineering*. 2007, 78(3), p. 1067-1073.
4. SHIM, Y.Y., et al. Flaxseed (*Linum usitatissimum* L.) bioactive compounds and peptide nomenclature: A review. *Trends in Food Science and Technology*. 2014, 38, p. 5-20.
5. RABETAFIKA, H.N., et al. Flaxseed proteins: food uses and health benefits. *International Journal of Food Science and Technology*. 2011, 46(2), p. 221-228.
6. GUTTE, K.B., A.K. SAHOO, and R.C. RANVEER. Bioactive Components of Flaxseed and its Health Benefits. *Article in International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*. 2015, 31(1), No. 09, p. 42-51.
7. MARPALLE, P., S. ARYA, and S.K. SONAWANE. Effect of flaxseed flour addition on physicochemical and sensory properties of functional bread. *LWT – Food Science and Technology*. 2014, 58(2), p. 614-619.
8. Thompson, L.U., and C. Cunnane, eds. *Flaxseed in Human Nutrition*. Second Edition, AOCS press, 2003. ISBN–13: 978-1893997387, ISBN–10: 1893997383.
9. BEKHIT, A.A., et al. Flaxseed: Composition, detoxification, utilization and opportunities. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 2018, 13, p. 129-152.
10. WANG, B., et al. Effect of concentrated flaxseed protein on the stability and rheological properties of soybean oil-in-water emulsions. *Journal of Food Engineering*. 2010, 96(4), p. 555-561.
11. KAJLA, P., A. SHARMA, and D.R. SOOD. Flaxseed – a potential functional food source. *Journal of Food Science and Technology*. 2015, 52(4), p. 1857-1871.
12. BERNACCHIA, R., R. PRETI, and G. VINCI. Chemical composition and health benefits of flaxseed. *Austin Journal of Nutrition and Food Science*. 2014, 2, p. 10-45.
13. MARTINCHIK, A.N., et al. Nutritional value and functional properties of flaxseed. *Voprosy Pitaniia*. 2012, 81(3), p. 4-10.

14. CHUNG, M.W.Y., B. LEI, and E.C.Y. CHAN. Isolation and structural characterization of the major protein fraction from NorMan flaxseed (*Linum usitatissimum* L.). *Food Chemistry*. 2005, 90(1-2), p. 271-279.
15. DAUN, J., et al. Structure, Composition and Variety Development of Flaxseed. *Flaxseed in Human Nutrition*, Second Edition [interaktyvus]. AOCS Publishing. 2003 [žiūrėta 2019-04-12]. Prieiga per internetą: doi: 10.1201/9781439831915.ch1.
16. PANAITÉ, T., et al. Flaxseeds: Nutritional Potencial and Bioactive Compounds. *Bulletin UASVM Food Science and Technology*. 2017, 74(1), p. 65-73.
17. OOMAH, B.D. Flaxseed as a functional food source. *Science of Food and Agriculture*. 2001, 81(9), p. 889-894.
18. BHATHENA, S.J., et al. Dietary flaxseed meal is more protective than soy protein concentrate against hypertriglyceridemia and steatosis of the liver in an animal model of obesity. *Journal of the American College of Nutrition*. 2003, 22, p. 157-164.
19. DZUVOR, C.K.O., et al. Bioprocessing of Functional Ingredients from Flaxseed. *Molecules*. 2018, 23, p. 1-18.
20. MIJALJEV, Ž., et al. Comparison of the Kjeldahl method, Dumas method and NIR method for total nitrogen determination in meat and meat products. *Journal of Agroalimentary Processes and Technologies*. 2015, 21(4), p. 365-370.
21. MALOMO, S.A., and R.E. ALUKO. A comparative study of the structural and functional properties of isolated hemp seed (*Cannabis sativa* L.) albumin and globulin fractions. *Food Hydrocolloids*. 2015, 43, p. 743-752.
22. ROMMI, K., et al. Effect of enzyme-aided cell wall disintegration on protein extractability from intact and dehulled rapeseed (*Brassica rapa* L. and *Brassica napus* L.) press cakes. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 2014, 62, p. 7989-7997.
23. TEHRANI, M.H.H., R. BATAL, and M. KAMALINEJAD. Extraction and purification of flaxseed proteins and studying their antibacterial activities. *Journal of Plant Sciences*. 2014, 2(1), p. 70-76.
24. HADNADJEV, M., et al. Progress in vegetable proteins isolation techniques: A review. *Food and Feed Research*. 2017, 44, p. 11-21.
25. GUTIERREZ, C., et al. Flaxseed and Flaxseed cake as a source of compounds for food industry. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*. 2010, 10, p. 454-463.

26. CASTEL, V., et al. Composition between isoelectric precipitation and ultrafiltration processes to obtain amaranth mantegazzianus protein concentrates at pilot plant scale. *Journal of Food Engineering*. 2012, 112, p. 288-295.
27. AVRAMENKO, N.A., et al. Encapsulation of flaxseed oil within native and modified lentil protein-based microcapsules. *Food Research International*. 2016, 81, p. 17-24.
28. KARAMAC, M., A. KOSINSKA-CAGNAZZO, and A. KULCZYK. Use of different proteases to obtain flaxseed protein hydrolysates with antioxidant activity. *International Journal of Molecules Science*. 2016, 17, p. 10-27.
29. BAJAJ, P.R., et al. Improving functional properties of pea protein isolate for microencapsulation of flaxseed oil. *Journal of Microencapsulation*. 2017, 34, p. 218-230.
30. BURGESS, R.R. Protein Precipitation Techniques. *Methods in enzymology*. 2009, 463, p. 331-342.
31. KRAUSE, J.P., M. SCHULTZ, and S. DUDEK. Effect of extraction conditions on composition, surface activity and rheological properties of protein isolates from flaxseed (*Linum usitatissimum* L.). *Journal of Science and Food Agriculture*. 2002, 82, p. 970-976.
32. MARAMBE, H.K., and J.P.D. WANASUNDARA. Chapter 8 – protein from flaxseed (*Linum usitatissimum* L.) *Sustainable Protein Sources*. [interaktyvus] Eds., Academic Press: San Diego, CA, USA. 2017, [žiūrėta 2019-03-02] p. 133-144. Prieiga per internetą: doi: 10.1016/B978-0-12-802778-3.00008-1.
33. WARAHO, T., D.J. MCCLEMENTS, and E.A. DECKER. Mechanisms of lipid oxidation in food dispersions. *Trends in Food Science & Technology*. 2011, 22(1), p. 3-13.
34. GUZEY, D., and D.J. MCCLEMENTS. Formation, stability and properties of multilayer emulsions for application in the food industry. *Advances in Colloid and Interface Science*. 2006, 128-130, p. 227-248.
35. MCCLEMENTS, D.J. Protein-stabilized emulsions. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*. 2004, 9(5), p. 305-313.
36. WANG, B., et al. Effect of gum Arabic on stability of oil-in-water emulsion stabilized by flaxseed and soybean protein. *Carbohydrate Polymers*. 2011, 86(1), p. 343-351.
37. KUHN, K.R., et al. Assessing the potential of flaxseed protein as an emulsifier combined with whey protein isolate. *Food Research International*. 2014, 59, p. 89-97.
38. KINSELLA, J.E., and N. MELACHOURIS. Functional properties of proteins in foods: A survey. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2009, 7(3), p. 219-280.

39. ZHAO, W., et al. Comparison of functional and structural properties of native and industrial process-modified proteins from long-grain indica rice. *Journal of Cereal Science*. 2012, 56(3), p. 568-575.
40. YU, D., et al. Effect of electrochemical modification on the structural characteristics and emulsion storage stability of soy protein isolate. *Process Biochemistry*. 2018, 75, p. 166-172.
41. CHEN, W., et al. Impact of soy proteins, hydrolysates and monoglycerides at the oil/water interface in emulsions on interfacial properties and emulsion stability. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2019, p. 1-27.
42. WANG, Y., et al. Effects of drying methods on rheological properties of flaxseed gum. *Carbohydrate Polymers*. 2009, 79, p. 213-219.
43. BANERJEE, S., and S. BHATTACHARYA. Food Gels: Gelling Process and New Applications. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2012, 52(4), p. 334-346.
44. SODERBERG, J. Functional properties of legume proteins compared to egg proteins and their potential as egg replacers in vegan food. *Faculty of Natural Resources and Agricultural Sciences Department of Food Science*. 2013, p. 43.
45. SORIA, A., and M. VILLAMIEL. Effect of ultrasound on the technological properties and bioactivity of food: a review. *Trends in Food Science & Technology*. 2010, 21(7), p. 323-331.
46. HU, H., et al. Effects of ultrasound on structural and physical properties of soy protein isolate (SPI) dispersions. *Food Hydrocolloids*. 2013, 30(2), p. 647-655.
47. MU, L., et al. Effect of ultrasonic treatment on the graft reaction between soy protein isolate and gum acacia and on the physicochemical properties of conjugates. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2010, 58(7), p. 4494-4499.
48. CHEN, L., et al. Effect of ultrasound pretreatment on the enzymatic hydrolysis of soy protein isolates and on the emulsifying properties of hydrolysates. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2011, 59(6), p. 2600-2609.
49. KREŠIČ, G., et al. Influence of novel food processing technologies on the rheological and thermophysical properties of whey proteins. *Journal of Food Engineering*. 2008, 87(1), p. 67-73.
50. JAMBRAK, A.R., et al. Physical properties of ultrasound treated soy proteins. *Journal of Food Engineering*. 2009, 93(4), p. 386-393.
51. CHANDRAPALA, J., et al. Ultrasonics in food processing – Food quality assurance and food safety. *Trends in Food Science & Technology*. 2012, 26, p. 88-98.

52. PINGRET, D., A.S.F. TIXIER, and F. CHEMAT. Degradation during application of ultrasound in food processing: A review. *Food Control*. 2013, 31, p. 593-606.
53. CHEMAT, F., Z. HUMA, and M.K. KHAN. Applications of ultrasound in food technology: Processing, preservation and extraction. *Ultrasonics Sonochemistry*. 2011, 18(4), p. 813-835.
54. PATIST, A., and D. BATES. Ultrasonic innovations in the food industry: From the laboratory to commercial production. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 2008, 8, p. 147-154.
55. KNORR, D., et al. Applications and potential of ultrasonics in food processing. *Trends in Food Science & Technology*. 2004, 15(5), p. 261-266.
56. AYELIGN, A., and T. ALEMU. The functional nutrients of flaxseed and their effect on human health: a review. *European Journal of Nutrition and Food Safety*. 2016, 6(2), p. 83-92.
57. XU, Y., C. HALL, and W.C. HALL. Antifungal activity stability of Flaxseed protein extract using response surface methodology. *Journal of Food Science*. 2008, 73(1), p. 9-14.
58. UDENIGWE, C.C., et al. Low molecular weight flaxseed protein-derived arginine-containing peptides reduced blood pressure of spontaneously hypertensive rats faster than amino acid form of arginine and native flaxseed protein. *Food Chemistry*. 2012, 132, p. 468-475.
59. MARAMBE, H.K., P.J. SHAND, and J.P.D. WANASUNDARA. Release of angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides from flaxseed (*Linum usitatissimum* L.) protein under simulated gastrointestinal digestion. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2011, 59, p. 9596-9604.
60. MARAMBE, H.K., P.J. SHAND, and J.P.D. WANASUNDARA. *In vitro* digestibility of flaxseed (*Linum usitatissimum* L.) protein: Effect of seed mucilage, oil and thermal processing. *International Journal of Food Science and Technology*. 2012, 48, p. 628-635.
61. SINGH, K.K., et al. Flaxseed: A potential source of food, feed and fiber. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2011, 51(3), p. 210-222.
62. PARK, J.B., and M.T. VELASQUEZ. Potential effects of lignan-enriched flaxseed powder on bodyweight, visceral fat, lipid profile, and blood pressure in rats. *Fitoterapia*. 2012, 83(5), p. 941-946.
63. DODIN, S., et al. Flaxseed on cardiovascular disease markers in healthy menopausal women: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Nutrition*. 2008, 24(1), p. 23-30.

64. JUODEIKIENĖ, G., et al. *Fermentation Processes Using Lactic Acid Bacteria Producing Bacteriocins for Preservation and Improving Functional Properties of Food Products of Food Products*, 2012, p. 65.
65. BURGAIN, J., et al. Lactic acid bacteria in dairy food: Surface characterization and interactions with food matrix components. *Advances in Colloid and Interface Science*. 2014, 213, p. 21-35.
66. KANT, R., et al. Comparative genomics of *Lactobacillus*. *Microbial Biotechnology*. 2011, 4(3), p. 323-333.
67. FILHO, E.G.A., et al. Chemometric evaluation of the volatile profile of probiotic milk and probiotic cashew juice. *Food Research International*. 2017, 99(1), p. 461-468.
68. PAPAGIANNI, M., and S. ANASTASIADOU. Pediocins: The bacteriocins of *Pediococcus*. Sources production, properties and applications. *Microbial Cell Factories*. 2009, 8(3), p. 1-16.
69. VINUSHA, K.SRI., et al. Proteomic studies on lactic acid bacteria: A review. *Biochemistry and Biophysics Reports*. 2018, 14, p. 140-148.
70. SAKALAUSKAS, A. *Daugiamečių žolių ir netradicinių žolinių augalų (drambliažolės, sidos, legestų, nendrinė žolė) bei jų mišinių panaudojimas presuoto biokuro gamybai*. 2014, p. 25-26.
71. *LST EN ISO 712:2010. Grūdai ir jų produktai. Drėgmės kiekio nustatymas. Pamatinis metodas (ISO 712:2009) : Cereals and cereal products. Determination of moisture content. Reference method : Europos standartas EN ISO 712:2009 Turi Lietuvos Standarto Statusą*. Vilnius: Lietuvos standartizacijos departamentas, 2010.
72. *LST EN ISO 24333:2010. Grūdai ir jų produktai. Ėminių ėmimas (ISO 24333:2009) : Cereals and cereal products. Sampling : Europos standartas ISO Turi Lietuvos Standarto ISO 24333:2009 Statusą*. Vilnius: Lietuvos standartizacijos departamentas, 2010.
73. *LST EN ISO 20483:2013. Varpinių ir ankštinių javų grūdai. Azoto kiekio nustatymas ir žaliųjų baltymų kiekio skaičiavimas. Kjeldalio metodas (ISO 20483:2013)*. Vilnius: Lietuvos standartizacijos departamentas, 2014.
74. PAULAUSKĖ, Aurelija. *Maisto chemija: laboratorinių darbų aprašas*. Akademija, 2012, p. 1-41.
75. VIROT, M., et al. New microwave-integrated Soxhlet extraction: An advantageous tool for the extraction of lipids from food products. *Journal of Chromatography A*. 2007, 1174(1-2), p. 138-144.
76. *LST EN ISO 12966-2:2011. Gyvūniniai ir augaliniai riebalai ir aliejus. Riebalų rūgščių metil esterų dujų chromatografija. D. 2, Riebalų rūgščių metil esterų paruošimas, (ISO 12966-*

- 2:2011) : *Animal and vegetable fats and oils. Gas chromatography of fatty acid methyl esters. Pt. 2, Preparation of methyl esters of fatty acids : Europos Standartas EN ISO12966-2:2011 Turi Lietuvos Standarto Statusą*. Vilnius: Lietuvos standartizacijos departamentas, 2013.
77. LST EN ISO 4833-1:2013. *Maisto grandinės biotechnologija. Bendras mikroorganizmų skaičiavimo metodas. 1 dalis. Kolonijų skaičiavimas 30 °C temperatūroje, taikant lėkštelių užpylimo būdą*. Vilnius: Lietuvos standartizacijos departamentas, 2013.
78. VIDMANTIENĖ D., and G. JUODEIKIENĖ. „Kai kurie biologiniai grūdinės žaliavos fermentacijos procesų inhibitoriai ir jų vertinimo aspektai“. *Baltymų elektroforezė*, 2012, p. 97-104.
79. NWACHIKWU, I.D., and R.E. ALUKO. Physicochemical and emulsification properties of flaxseed (*Linum usitatissimum*) albumin and globulin fractions. *Food Chemistry*. 2018, 255, p. 216-225.
80. ŽADEIKĖ D., et al. Comparative study of ciabatta crust crispness through acoustic and mechanical methods: Effects of wheat malt and protease on dough rheology and crust crispness retention during storage. *LWT*. 2018, 89, p. 110-116.
81. HERCHI, W., et al. Changes in phospholipid composition, protein content and chemical properties of flaxseed oil during development. *Plant Physiology and Biotechnology*. 2012, 54, p. 1-5.
82. JUODEIKIENĖ, G., et al. Effect of heating method on the microbial levels and acrylamide in corn frits and subsequent use as functional ingredient for bread making. *Food and Bioprocess Technology*. 2018, 112, p. 22-30.
83. CARDOSO, R.V.C., et al. Physicochemical characterization and microbiology of wheat and rye flours. *Food Chemistry*. 2019, 280, p. 123-129.
84. O'SULLIVAN, J., et al. The effect of ultrasound treatment on the structural, physical and emulsifying properties of animal and vegetable proteins. *Food Hydrocolloids*. 2016, 53, p. 141-154.
85. AJIBOLA, C.F., et al. Polypeptide composition and functional properties of African yam bean seed (*Sphenostylis stenocarpa*) albumin, globulin and protein concentrate. *Food Hydrocolloids*. 2016, 56, p. 189-200.
86. GULSEREN, I., et al. Structural and functional changes in ultrasonicated bovine serum albumin solutions. *Ultrasonics Sonochemistry*. 2007, 14(2), p. 173-183.

87. CHEN, H.H., S.Y. XU, and Z. WANG. Gelation properties of flaxseed gum. *Journal of Food Engineering*. 2006, 77(2), p. 295-303.
88. WANG, Y., et al. The effect of addition of flaxseed gum on the emulsion properties of soybean protein isolate (SPI). *Journal of Food Engineering*. 2011, 104(1), p. 56-62.
89. POURABEDIN, M., A. AARABI, and S. RAHBARAN. Effect of flaxseed flour in rheological properties, staling and total phenol of Iranian toast. *Journal of Cereal Science*. 2017, 76, p. 173-178.
90. MERCIER, S., et al. Flaxseed-Enriched Cereal-Based Products: A Review of the Impact of Processing Conditions. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2014, 13, p. 400-412.
91. KOCA, A.F., and M. ANIL. Effect of flaxseed and wheat flour blends on dough rheology and bread quality. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2007, 87(6), p. 1172-1175.
92. NAZARI, B., et al. Effect of ultrasound treatments on functional properties and structure of millet protein concentrate. *Ultrasonics Sonochemistry*. 2018, 41, p. 382-388.
93. O'SULLIVAN, J., et al. Comparative assessment of the effect of ultrasound treatment on protein functionality pre- and post-emulsification. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 2015, 484, p. 89-98.
94. JIANG, S., et al. Modifying the physicochemical properties of pea protein by pH-shift and ultrasound combined treatments. *Ultrasonics Sonochemistry*. 2017, 38, p. 835-842.
95. PIYASENA, P., E. MOHAREB, and R.C. MCKELLAR. Inactivation of microbes using ultrasound: a review. *International Journal of Food Microbiology*. 2003, 87(3), p. 207-216.
96. CHEN, Z. Microbial Inactivation on Foods by Ultrasound. *Journal of Food: Microbiology, Safety & Hygiene*. 2017, 2(1), p. 1-2.
97. GUIMARAES, J.T., et al. Physicochemical changes and microbial inactivation after high-intensity ultrasound processing of prebiotic whey beverage applying different ultrasonic power levels. *Ultrasonics Sonochemistry*. 2018, 44, p. 251-260.
98. LI, S., et al. Effects of ultrasound and ultrasound assisted alkaline pretreatments on the enzymolysis and structural characteristics of rice protein. *Ultrasonics Sonochemistry*. 2016, 31, p. 20-2.
99. OJHA, K.S., et al. Ultrasound technology for food fermentation applications. *Ultrasonics Sonochemistry*. 2017, 34, p. 410-417.