



**Kauno technologijos universitetas**

Cheminės technologijos fakultetas

# **Ankštinių augalų baltymų funkcinių savybių modifikavimas biotechnologiniais metodais**

Baigiamasis magistro projektas

---

**Agnė Zemblytė**

Projekto autorė

**Doc. dr. Jonas Damašius**

Vadovas

---

**Kaunas, 2020**



**Kauno technologijos universitetas**

Cheminės technologijos fakultetas

# **Ankštinių augalų baltymų funkcinių savybių modifikavimas biotechnologiniais metodais**

Baigiamasis magistro projektas

Pramoninė biotechnologija (6211FX010)

---

**Agnė Zemblytė**

Projekto autorė

**Doc. dr. Jonas Damašius**

Vadovas

**Doc. dr. Dalia Čižeikienė**

Recenzentė

---

**Kaunas, 2020**



**Kauno technologijos universitetas**

Cheminės technologijos fakultetas

Agnė Zemblytė

## **Ankštinių augalų baltymų funkcinių savybių modifikavimas biotechnologiniais metodais**

Akademinio sąžiningumo deklaracija

Patvirtinu, kad mano, Agnės Zemblytės, baigiamasis projektas tema „Ankštinių augalų baltymų funkcinių savybių modifikavimas biotechnologiniais metodais“ 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.

Agnė Zemblytė

(vardą ir pavardę įrašyti ranka)

(parašas)

Zemblytė, Agnė. Ankštinių augalų baltymų funkcinių savybių modifikavimas biotechnologiniais metodais. Magistro baigiamasis projektas / vadovas doc. dr. Jonas Damašius; Kauno technologijos universitetas, Cheminės technologijos fakultetas.

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

Reikšminiai žodžiai: biotechnologija, fermentacija, modifikavimas, baltymai, ankštiniai augalai, žirniai.

Kaunas, 2020. 58 p.

### **Santrauka**

Ankštinių augalų baltymai yra ne tik svarbi bet kurios subalansuotos mitybos dalis, bet ir funkcinis priedas kituose maisto sistemose. Šios savybės daro didelę įtaką pramonės ir vartotojų poreikiams. Šiame darbe, laboratorinėmis sąlygomis, buvo palygintos sojos baltymų izoliato ir žirnių baltymų izoliato funkcinės, antioksidacinės ir juslinės savybės prieš ir po biotechnologinio modifikavimo. Buvo ištirta ir įvertinta skirtingų startinių kultūrų įtaka sojos ir žirnių baltymų izoliatų tirpumui, vandens ir aliejaus sulaikymui, emulsijų, putų, gelių sudarymui ir stabilumui bei antioksidaciniam aktyvumui. Remiantis juslinio vertinimo rezultatais, nustatytas vartotojams priimtinausias baltymų izoliato modifikavimo būdas. Įvertinus ankštinių augalų baltymų funkcinių, antioksidacinių ir juslinių savybių visumą, pateikta rekomenduojama žirnių baltymų izoliato aparatūrinė gamybos technologija su tinkamiausiu fermentavimo būdu. Apibendrinant, žirnių baltymai gali tapti puikiu aminorūgščių, antioksidantų šaltiniu ir funkciniu priedu, kuris pakeis sojos baltymus, pasitelkiant biotechnologinį modifikavimą ir parenkant tinkamus mikroorganizmus jų apdorojimui.

Zemblytė, Agnė. Biotechnological Methods for Modifying Functional Legume Protein Properties. Master's Final Degree Project / supervisor assoc. prof. dr. Jonas Damašius; The Faculty of Chemical Technology, Kaunas University of Technology.

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

Keywords: biotechnology, fermentation, modification, protein, pea.

Kaunas, 2020. 58 p.

### **Summary**

Proteins of leguminous plants are not only an important part of any balanced diet, but also a functional additive to other food systems, these properties are very influential industry and consumer demand. This master's thesis serves to compare soy protein isolate and pea protein isolate, their antioxidant and sensory properties before and after biotechnical modification under strict laboratory conditions, examine and evaluate the influence of different starter culture on the solubility, water retention and oil retention of pea and soy isolates, the formation of emulsions, foams, gels and their respective stability and antioxidant activity. A sensory appraisal was carried out by way of a tasting session of the fermented pea and soy proteins, according to the results, the most suitable sample for customer consumption was determined. After a full assessment of the functional, antioxidant and sensory properties of the legume proteins, the recommended hardware and production process was selected along with the most suitable fermentation method. In summary, pea protein is an excellent source of amino acids and antioxidants that will soon replace soy protein through biotechnical modification and the selection of suitable microorganisms for their processing.

## Turinys

<b>Santrumpų ir terminų sąrašas .....</b>	<b>8</b>
<b>Įvadas.....</b>	<b>9</b>
<b>1. Literatūros apžvalga .....</b>	<b>10</b>
1.1. Morfologija.....	10
1.1.1. Sojos (lot. <i>Glycine</i> ) morfologinis apibūdinimas.....	10
1.1.2. Sėjamojo žirnio (lot. <i>Pisum sativum</i> ) morfologinis apibūdinimas .....	11
1.2. Ankštiniai augalų cheminė sudėtis ir savybės .....	11
1.3. Ankštinių augalų baltymai.....	13
1.3.1. Sojos baltymai .....	13
1.3.2. Žirnių baltymai .....	16
1.4. Ankštinių augalų baltymų funkcinės savybės .....	19
1.5. Ankštinių augalų baltymų taikymas maisto produktų praturtinimui.....	20
1.6. Biotechnologiniai sprendimai, taikomi augalinių baltymų modifikavime .....	22
1.7. Literatūros apžvalgos apibendrinimas .....	25
<b>2. Medžiagos ir tyrimų metodai .....</b>	<b>26</b>
2.1. Tyrimo objektai .....	26
2.2. Naudotos medžegos.....	27
2.3. Mėginių paruošimas .....	28
2.3.1. Fermentinė hidrolizė chimozinu.....	28
2.3.2. Fermentacija termofilinėmis pienarūgštėmis bakterijomis .....	29
2.3.3. Baltymų modifikavimas mezofilinėmis pienarūgštėmis bakterijomis .....	29
2.3.4. Baltymų modifikavimas sausomis mielėmis .....	29
2.4. Ankštinių augalų baltymų izoliatų funkcinių savybių nustatymas.....	29
2.4.1. Baltymų tirpumas .....	29
2.4.2. Vandens sulaikymas ir aliejaus sulaikymo talpa .....	30
2.4.3. Baltymų putojimas.....	30
2.4.4. Emulsijų sudarymas.....	31
2.4.5. Gelių sudarymas .....	32
2.5. Ankštinių augalų antioksidacinės savybės .....	32
2.5.1. Antioksidacinis aktyvumas DPPH metodu .....	32
2.5.2. Redukcinių savybių nustatymas .....	33
2.6. Juslinis vertinimas .....	33
<b>3. Tyrimų rezultatai ir jų aptarimas.....</b>	<b>35</b>
3.1. Ankštinių augalų baltymų izoliatų pH vertinimas prieš ir po biotechnologinio modifikavimo.....	35
3.2. Ankštinių augalų baltymų izoliatų funkcinės savybės .....	36
3.2.1. Baltymų tirpumas .....	36
3.2.2. Vandens ir aliejaus sulaikymo geba .....	36
3.2.3. Patojimas ir putų stabilumas.....	38
3.2.4. Emulsijų sudarymas ir stabilumas .....	40
3.2.5. Gelių sudarymas .....	42
3.3. Antioksidacinės savybės.....	44
3.3.1. Antioksidacinio aktyvumo nustatymas DPPH metodu ankštinių augalų baltymų izoliatuose po biotechnologinio modifikavimo .....	44

3.3.2. Redukcinių savybių aktyvumo nustatymas ankštinių augalų baltymų izoliatuose po biotechnologinio modifikavimo .....	45
3.4. Modifikuotų ankštinių baltymų izoliatų juslinis vertinimas.....	45
<b>4. Rekomendacijų dalis .....</b>	<b>49</b>
<b>Išvados .....</b>	<b>51</b>
<b>Literatūros sąrašas .....</b>	<b>52</b>
<b>Priedai.....</b>	<b>57</b>
1 priedas. Baltymų tirpumo standartinė kreivė, naudojama nustatyti baltymų tirpumui ankštinių augalų baltymų izoliatų mėginiuose po biotechnologinio modifikavimo .....	57
2 priedas. Juslinio vertinimo anketa .....	58

## Santrumpų ir terminų sąrašas

### Santrumpos:

SBI-K – sojos baltymų izoliato kontrolinis mėginys;  
SBI-ch15 – sojos baltymų izoliatas su chimozinu 15 min.;  
SBI-ch30 – sojos baltymų izoliatas su chimozinu 30 min.;  
SBI-ch60 – sojos baltymų izoliatas su chimozinu 60 min.;  
SBI-MAK – sojos baltymų izoliatas su mezofilinėmis aromato bakterijomis;  
SBI-TJK – sojos baltymų izoliatas su termofilinėmis jogurto bakterijomis;  
SBI- M – sojos baltymų izoliatas su mielėmis;  
ŽBI-K – žirnių baltymų izoliato kontrolinis mėginys;  
ŽBI-ch15 – žirnių baltymų izoliatas su chimozinu 15 min.;  
ŽBI-ch30 – žirnių baltymų izoliatas su chimozinu 30 min.;  
ŽBI-ch60 – žirnių baltymų izoliatas su chimozinu 60 min.;  
ŽBI-MAK – žirnių baltymų izoliatas su mezofilinėmis aromato bakterijomis;  
ŽBI-TJK – žirnių baltymų izoliatas su termofilinėmis jogurto bakterijomis;  
ŽBI- M – žirnių baltymų izoliatas su mielėmis;  
o.v. – optiniai vienetai;  
VST – vandens sulaikymo talpa;  
AST – aliejaus sulaikymo talpa;  
ES – emulsijų stabilumas;  
EA – emulsijų aktyvumas;  
PG – putojimo geba;  
PS – putų stabilumas;  
MGK – mažiausia gelio koncentracija.



## Įvadas

Baltymai – tai stambios biomolekulės arba makromolekulės, susidedančios iš vienos ar kelių ilgų aminorūgščių liekanų grandinių. Kiekvienos rūšies maisto baltymai turi unikalią molekulinę struktūrą, kuri lemia jų funkcines savybes.

Žmonių mitybos racione yra daug įvairių baltymų iš skirtingų šaltinių. Visuotinai pripažįstama, kad santykinė dietinių nepakeičiamųjų aminorūgščių koncentracija yra pagrindinis veiksnys, lemiantis maisto baltymų maistinę vertę. Ankštinių augalų baltymai dažnai turi didžiąją dalį nepakeičiamų aminorūgščių, todėl yra svarbius objektus maisto pramonėje [1–3].

Baltymų milteliai kadaise turėjo dvi aiškiai apibrėžtas tikslines grupes: sveikstantys žmonės ir profesionalūs sportininkai. Pastaraisiais metais, augaliniai baltymų miltelių produktai išpopuliarėjo ir tapo aktualūs naujoms tikslinėms grupėms, apsprendžia daug platesnią naudą sveikatai ir vartotojų poreikius nei bet kada anksčiau.

Atsižvelgdama į kylančias vartotojų tendencijas, maisto pramonė nuolat ieško pigesnių ir sveikesnių baltymų ingredientų, kurie pakeistų tuos, kurie gaunami iš gyvūninių šaltinių (pvz., išrūgos, kazeinas, želatina ir ovalbuminas), baltymus iš glitimo (pvz., kviečius) ir sojos. Sojos baltymai ilgą laiką buvo nepakeičiamas augalinių baltymų šaltinis, tačiau sojos baltymai praranda vartotojų pasitikėjimą, dėl genetiškai modifikuotų organizmų ir dažnai pasireiškiančių alergijų. Žirnių (*Pisum sativum*) baltymai žada užpildyti šią nišą, nes jie yra be genetiškai nemodifikuotų organizmų (GMO), be glitimo, aukštos maistinės vertės, prieinami ir pigūs bei mažo alergiskumo [4, 5].

Vis dėlto, kaip ir kiti augaliniai baltymai, žirnių baltymai kaip maisto ingredientas yra iššūkis, susijęs su funkcionalumu, skoniu ir spalvos problemomis.

Dabartinėje literatūroje nėra daug duomenų apie tam tikrų fermentų ar mikroorganizmų poveikį žirnių baltymų izoliatų funkcinėms savybėms. Pasitelkiant biotechnologinius modifikavimo būdus, būtų galima pagerinti šių baltymų funkcines savybes, tokias kaip žirnių baltymų izoliatų tirpumas, emulsijų, putų ir gelių sudarymas, suteikti platesnias pritaikymo galimybes, skonį ir priimtinumą. Tokiu būdu, būtų galima gauti palyginti nebrangius, aukštos kokybės ir pridėtinės vertės funkcinius maisto produktus. Todėl šio **baigiamojo magistro projekto tikslas** – panaudoti biotechnologinius sprendinius, skirtus modifikuoti ankštinių augalų baltymų savybes, taikant maisto produktų praturtinimui.

### Darbo uždaviniai:

1. Apžvelgti ir įvertinti galimus biotechnologinius metodus ankštinių augalų baltymų modifikavimui
2. Modifikuoti ankštinių augalų baltymus, skirtingais mikroorganizmais (mielėmis, fermentais ir bakterijų startines kultūras).
3. Įvertinti ankštinių augalų (sojos ir žirnių) baltymų funkcines savybes prieš ir po modifikavimo.
4. Palyginti ankštinių augalų (sojos ir žirnio) baltymų antioksidacines savybes prieš ir po modifikavimo.
5. Įvertinti modifikuotų ankštinių augalų baltymų juslinių savybių priimtinumą, taikant maisto produktų praturtinimui.
6. Pateikti ankštinių augalų baltymų modifikavimo technologijos aparatūrinę schemą.

## 1. Literatūros apžvalga

### 1.1. Morfologija

Augalų fizikinių ypatybių (išorinės struktūros) tyrimas yra vadinamas morfologija. Ankštinių augalų morfologija nėra tik biologinis tyrinėjimas, morfologinės savybės taip pat yra svarbu norit geriau iširti ir pritaityti ankštinius augalus maisto pramonės sprendimuose. Ankštiniai augalai – vienmečiai, dvejų metų ar daugiamečiai augalai, turintys ankščių (turinčių nuo vienos iki daugybės sėklų), kurios nudžiūsta ir dalijasi atvirai, išilgai nugarinės ir vidurinės siūlės.

Kiekvienas ankštinis augalas turi savo aplinkos savybių sąrašą: atsparumas žiemai, atsparumas sausroms, druskingumas, dirvos pH tolerancija, produktyvumas ir tinkamumas vartoti maistui. Todėl renkantis ankštinių augalų rūšį maisto ruošimui būtina į tai atsižvelgti.

Skirtingi ankštiniai augalai turi skirtingą skonį, virškinamumą ir kartais daro žalingą poveikį.

Ankštinių augalų morfologijos ir fizinių savybių supratimas gali padėti juos plačiai pritaikyti maisto pramonėje [1].

#### 1.1.1. Sojos (lot. *Glycine*) morfologinis apibūdinimas

Viena iš populiariausių pasaulyje ankštinių augalų veislių yra sojos pupelės. Soja (lot. *Glycine*) – pupinių (*Fabaceae*) šeimos *Faboideae* pošeimio augalų gentis. Vienmetis žolinis augalas, panašus į pupelę. Ant šaknų yra gumbelių, kuriuose būna oro azotą įsisavinančių bakterijų [2]. Stiebas status, tvirtas, aiškiai briaunuotas, šakotas, 30 – 50 cm aukščio. Lapai ilgakočiai, sudėtiniai, dažniausiai triskilčiai, prie pagrindo turi siaurus prielapius. Vainikėlis baltas arba violetinis. Žiedai apsivaisina savo žiedadulkėmis. Ankštis plokščia, plaukuota, su persmaugimais tarp sėklų, šiaudų arba rudos spalvos. Vaisiaus ankštyje būna 1 – 4 sėklos. Bręstant sėkloms, daugumos sojos veislių lapai pagelsta ir nukrinta, lieka tik stiebas su ankštimis. Dauguma rūšių yra endeminės. Sojos šaknų sistema stipri, ji gerai auga puveningoje ir pakankamai drėgnoje dirvoje. Derlius nuimamas, kai lapai nudžiūvę, o apatinės ankštys visiškai prinokusios.

Manoma, kad soja kilo iš Pietryčių Azijos. Šiomis dienomis didžiuliai sojos plotai auginami Kinijoje, Indijoje, Korėjoje, Japonijoje ir kt. Kadangi soja šiltų kraštų augalas, Lietuvoje dera sunkiai [3].



1.1 pav. Sojos augalas ir sojos pupelės

### 1.1.2. Sėjamojo žirnio (lot. *Pisum sativum*) morfologinis apibūdinimas

Remiantis dabartinėmis ankštinių augalų auginimo ir populiarumo tendencijomis, antras po sojos pupelių ankštinis augalas yra žirnis. Sėjamasis žirnis (lot. *Pisum sativum*) – pupinių (*Fabaceae*) šeimos žirnių (*Pisum*) genties augalų rūšis [4].

Žirnis dažniausiai yra maža rutulinė sėkla arba ankštinių vaisių *Pisum sativum* sėklų ankštys. Kiekvienoje ankštyje yra keli žirniai, kurie gali būti žali arba geltoni. Botaniškai žirnių ankštys yra vaisiai, nes juose yra sėklų ir jie išsivysto iš (žirnio) žiedo kiaušidžių.

*P. sativum* yra vienmetis augalas, kurio gyvenimo ciklas yra vieneri metai. Tai vėsiaus sezono pasėliai, auginami daugelyje pasaulio vietų, ypač plačiai paplitę, auginami ir vartojami visoje Europoje. Augalo aukštis gali siekti iki 1,5 metro aukščio. Pat pat žirnių augalai gali savarankiškai apsidulkinti. Daugelis veislių subręsta praėjus maždaug 60 dienų po pasodinimo [5]. Vidutinis žirnio svoris yra nuo 0,1 iki 0,36 gramo.



1.2 pav. Sėjamasis žirnis

## 1.2. Ankštiniai augalų cheminė sudėtis ir savybės

Priklausomai nuo veislės, brandos, derliaus nuėmimo ir augimo sąlygų, ankštiniuose augaluose yra baltymų, riebalų ir nedidelių sudedamųjų dalių, tokių kaip vitaminai, mineralai, bioaktyvūs junginiai: žirniuose – fitino rūgštis, polifenoliai, saponinai ir oksalatai, sojoje – izoflavonai, polisacharidai, fitosteroliai, saponinai ir fitatai [6]. Angliavandenių kiekis daugiausia sudarytas iš krakmolo ir maistinių skaidulų, taip pat įeina – krakmolo angliavandeniai, tokie kaip sacharozė, oligosacharidai ir celiuliozė [7]. Cheminė sudėtis pateikta 1.1 lentelėje.

1.1 lentelė. Ankštinių augalų (sojos pupelių ir žirnių) cheminė sudėtis

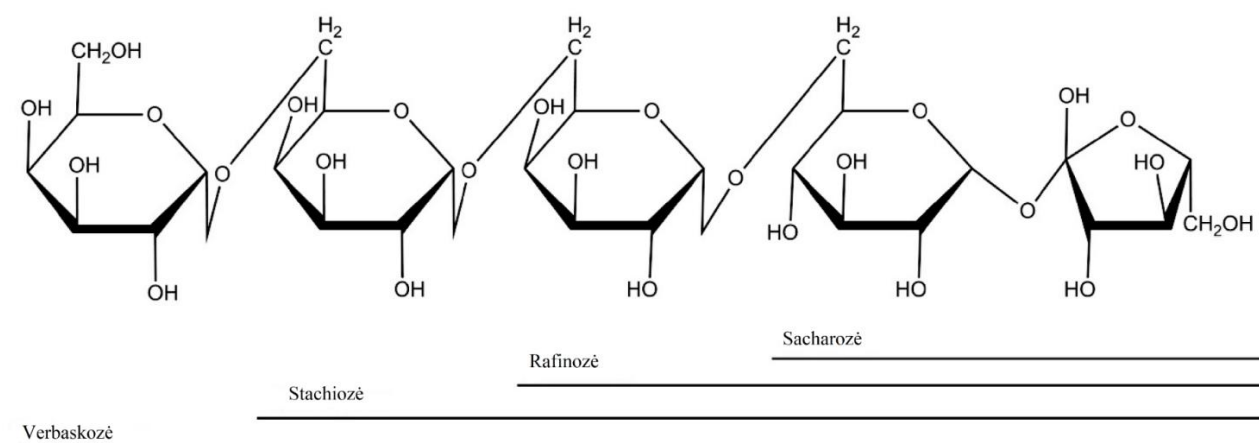
Maistinė medžiaga	Kiekis %	
	Soja ( <i>Glycine</i> )	Žirnis ( <i>Pisum sativum</i> )
Baltymai	24 – 43	23,1 – 30,9
Riebalai	13 – 20	1,5 – 2,0
Angliavandeniai	36	46 – 58
Skaidulinės medžiagos. <i>Iš kurių netirpios</i>	12	12 – 24
	7	10 – 15
Mineralinės medžiagos	5	4 – 4,5

Žirniai yra krakmolingesni nei sojos pupelės, tačiau turi daug skaidulų, baltymų, vitamino A, vitamino B6, vitamino C, vitamino K, fosforo, magnio, vario, geležies, cinko ir liuteino. Sausoje masėje yra apie ketvirtadalis baltymų (žr. 1.1 lentelė). Žirnių sėklų peptidų frakcijos turi galimybę atsikratyti laisvųjų radikalų dėl antioksidantų kiekio ir chelatuoti (surišti) metalus bei slopinti linolo rūgšties oksidaciją [8]. Ankštiniai augalai pasižymi maistingumu, geru sočiųjų riebalų ir nesočiųjų riebalų santykiu (žr. 1.2 lentelė).

**1.2 lentelė.** Riebalų rūgščių profilis ankštiniuose augaluose [8, 9]

Riebalų rūgščių apibūdinimas	Kiekis %	
	Soja ( <i>Glycine</i> )	Žirnis ( <i>Pisum sativum</i> )
Σ Sočiosios riebalų rūgštys	16,2	22,4
Σ Mononesočiosios riebalų rūgštys	34,7	26,7
Σ Polinesočiosios riebiosios rūgštys	49,1	50,9

Sojos pupelėse yra maždaug 40 – 45 % angliavandenių sausoje masėje. Juos sudaro mažos molekulinės masės cukrūs, ir ši vertė padidėja iki 50 %, kai sojos pupelės yra perdirbamos į sojos miltus. Sojų pupelių oligosacharidai (stachiozė, rafinozė ir verbaskozė) yra galaktooligosacharidai (GOS), juos sudaro galinė sacharozė, prie kurios yra prijungtas 1 (rafinozė), 2 (stachiozė) arba 3 (verbaskozė) galaktozės monomeras (žr. 1.3 pav.). Galaktozės vienetai yra sujungti  $\alpha$ -1,6, o ryšys tarp galaktozės ir galinės sacharozės yra  $\alpha$ -1,3.



**1.3 pav.** Sojos oligosacharidų, rafinozės, stachiozės ir verbaskozės struktūra

Žirnių sėklose yra 60 – 65 % angliavandenių, daugiausia sudarytų iš monosacharidų, disacharidų, oligosacharidų ir polisacharidų. Pagrindinė žirnių angliavandenių frakcija yra krakmolai. Krakmolą sudaro amilozė (25 – 45 %) ir amilopektinas (55 – 75 %), priklausomai nuo veislės ir aplinkos.

**1.3 lentelė.** Agnliavandenių profilis ankštiniuose augaluose [8, 9]

Angliavandeniai	Kiekis %	
	Soja ( <i>Glycine</i> )	Žirnis ( <i>Pisum sativum</i> )
∑ Oligo- ir monosacharidai	17,6	10,8
Sacharozė	9,5	2,6
Stachiozė	6,4	3,2
Rafinozė	1,4	1,0
Verbaskozė	0,3	4,0
∑ Nėkrakmolingi polisacharidai	22,2	-
Krėkmolas	1,2	2

Ankštinių auhgalų sėklos yra mineralų ir vitaminų šaltinis. Palyginti su kviečiais ir kitais grūdais, juose yra didesnis kalcio, magnio, fosforo, geležies, cinko ir vario kiekis (žr. 1.4 lentelė).

**1.4 lentelė.** Mineralinės medžiagos ankštiniuose augaluose [8, 9]

Mineralinės medžiagos	Kiekis (mg / 100 g)	
	Soja ( <i>Glycine</i> )	Žirnis ( <i>Pisum sativum</i> )
Kalcis	268,75	85,53
Magnis	261	145
Fosforas	695,2	550
Geležis	16,4	6,0
Cinkas	3,75	4,3
Varis	1,2	0,7
Siera	10,73	145,2
Kalis	1181	757,94

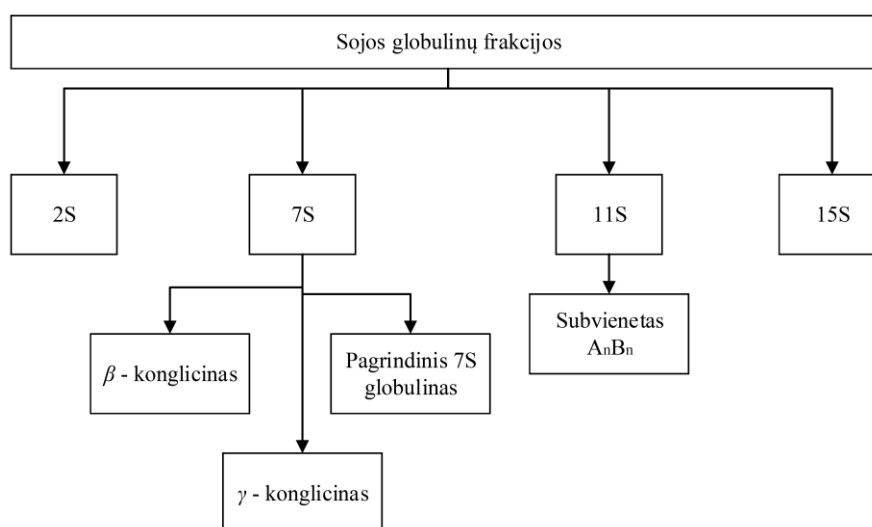
**1.3. Ankštinių augalų baltymai****1.3.1. Sojos baltymai**

Sojų pupelės (*Glycine*) yra vienas turtingiausių baltymų šaltinių ir vieni labiausiai paplitusių visame pasaulyje, turinčių maždaug 40 % sauso svorio. Didžioji dalis sojos pupelių baltymų yra kaupiamieji baltymai skilčialapių daigų tarplastelinėse dalelėse, vadinamuose „baltymų kūneliais“. Vystant sėklos brendimui sojoje, sintetinamas didelis kaupiamųjų baltymų kiekis [9]. Šie baltymai naudojami vėliau daiginimo metu, kur jie suardomi, o aminorūgštys naudojamos augimui ir vystymuisi [10]. Sojų pupelių baltymai daugiausia susideda iš globulinių, kurie klasifikuojami pagal jų sedimentacijos koeficientą. Tarp 4 pagrindinių tipų: 2S, 7S, 11S ir 15S globulinai, 7S ir 11S sudaro didžiąją dalį. Šių keturių globulinių jonų stipris yra 0,5 M. Esant 0,1 M jonų stiprumui, vieno tipo 7S frakcijų agregatai sudaro skirtingai nusodinantį kompleksą, kurio nusėdimo koeficientas yra 9S [11]. 11S frakcija susideda tik iš glicinino, o 7S frakcija daugiausia susideda iš  $\beta$ -konglicino, nedidelio kiekio  $\gamma$ -konglicino ir bazinio 7S globulino (Bg7S). Glicinas egzistuoja kaip heksameras, o  $\beta$ -konglicinas – kaip trimeras, Bg7S – kaip tetrameras. Glicino subvienetai yra koduojami 5 šeimos genų, o  $\beta$ -konglicino subvienetų yra apie 15 genų. Bg7S geno yra keturiuose kopijose sojos pupelių genome. Visų baltymų sintezė vyksta kaip viena poli-peptido grandinė, kuri suskaidoma po sulankstymo, kad

būtų gaunamos skirtingos grandinės ar subvienetai. Glicinas ir  $\beta$ -konglicinas yra pagaminti kaupimo tikslais, Bg7S turi potencialų ksilanazės slopinimo ir baltymų kinazės aktyvumą [9 – 11].

Apie 70 – 80 % kaupiamųjų baltymų sudaro 2 baltymų frakcijos: glicinas ir  $\beta$ -konglicinas [12]. Šių dviejų baltymų kiekis yra atvirkščiai proporcingas vienas kitam [13]. Glicino sedimentacijos koeficientas yra 11S, o  $\beta$ -konglicino sedimentacijos koeficientas yra 7S [9].  $\beta$ -konglicininas, palyginti su glicininu, turi mažai sieros turinčių aminorūgščių, todėl maistiniu požiūriu jis yra mažai vertingas [13]. Glicinas ir  $\beta$ -konglicinas atitinka baltymus, panašius į viciliną ir leguminą, esančius ankštinių augalų šeimoje. Pagrindinis skirtumas yra tas, kad 7S frakcijos yra glikoproteinai, kurių sudėtyje yra manozės ir gliukozamino, o santykis yra 3: 1 manozės ir N-acetilgliukozamino atžvilgiu.

Nors sojos pupelių 7S globulino frakcijose pagrindinis baltymas yra  $\beta$ -konglicinas, buvo nustatytos dar dvi frakcijos: bazinis 7S globulinas (Bg7S) ir  $\gamma$ -konglicininas, kurie kartu sudaro tik nedidelę 7S globulino dalį. Bg7S yra glikoproteinas, turintis daug cisteino liekanų. Buvo nustatyta, kad labai panašūs baltymai yra plačiai paplitę tarp ankštinių augalų [14]. Bg7S iš sojų sėklų išsiskiria dideliu kiekiu mirkant vandenyje 50 – 60 °C temperatūroje [15]. Globulino baltymų klasifikacija parodyta 1.4 paveiksle.



**1.4 pav.** Globulinių frakcijų klasifikacija sojos baltymuose

11S globulino frakcija randama tik kaupimo tikslais ir neturi fiziologinio aktyvumo. Didelė dalis Bg7S ir  $\beta$ -konglicino frakcijos taip pat randama kaupimo tikslais. Abu šie baltymai yra sintetinami dideliais kiekiais sėklos vystymosi metu ir naudojami daiginant, kai augimui naudojami proteolizės produktai. Taip pat, nustatyta, kad Bg7S yra susijęs su biologiniu aktyvumu [10 – 15].

11S globulino – glicino molekulinė masė yra apie 320 kDa. Heksamerinę glicino struktūrą sudaro šeši monomerai, kur kiekvienas subvienetas yra sudarytas iš rūgštinės grandinės (A) ir bazinės grandinės (B), sujungtos disulfidiniais ryšiais. 12 laisvų N galų, rodančių, kad yra 12 grandinių. Buvo rasti 6 skirtingi rūgštiniai polipeptidai (A1a, A1b, A2, A3, A4 ir A5, A6) ir penki baziniai (B1a, B1b, B2, B3 ir B4) polipeptidai, kurių seka yra homologiška [16].

5 identifikuoti glicino subvienetai yra padalijami į dvi grupes remiantis homologija. 1 grupė: A1aB1b (53,6 kDa), A2B1a (52,4 kDa), A1bB2 (52,2 kDa) ir 2 grupė: A5A4B3 (61,2 kDa) ir A3B4 (55,4 kDa) arba dar vadinami atitinkamai glicino G1, G2, G3, G4 ir G5 subvienetais [16, 17].

Glicino subvienetai pakaitomis yra išdėstyti į du vienodus šešiakampius žiedus, sukrautus vienas ant kito, kad būtų tuščiaviduris cilindras [18]. Esant mažam jonų stiprumui, ypač mažesniai nei 0,1 M arba esant mažam glicinino kiekiui, grįžtamai jungiasi tikrai kartu su  $\beta$ -konglicininu į sunkesnes nuosėdų formas, kurių sedimentacijos koeficientas yra 15S [9, 11, 18].

Kaip jau buvo minėta, sojos baltymai buvo svarbiausi augalinės kilmės baltymai, naudojami sporto mitybos rinkoje. Taip yra todėl, kad be labai pigių šaltinių, soja yra viena iš nedaugelio augalų baltymų, kurie laikomi „visaverčiais“, tai reiškia, kad juose yra visos devynios nepakeičiamos aminorūgštys, kurių organizmas nesugeba susintetinti ir kurias reikia įsisavinti laikantis dietos. Visas sojos aminorūgščių profilis ir jų kiekis pateiktas 1.5 lentelėje.

**1.5 lentelė.** Sojos (*Glycine*) aminorūgščių profilis ir kiekis ( g/100 g baltymų) [16]

Aminorūgštys	Kiekis g/100 g
<b>Nepakeičiamos aminorūgštys</b>	
Argininas	2,3084
Histidinas	0,8054
Izoleucinas	1,3724
Leucinas	2,4617
Lizinas	1,9632
Metioninas	0,4039
Fenilalaninas	1,5875
Treoninas	1,1797
Valinas	1,5661
<b>Pakeičiamos aminorūgštys</b>	
Alaninas	1,3626
Asparto rūgštis	3,7242
Cistinas	0,2198
Glutamo rūgštis	6,1664
Glicinas	1,3288
Prolinas	1,5032
Serinas	1,5731
Tirozinas	1,0322
Iš viso	30,5586

Tačiau dėl trijų pagrindinių priežasčių soja praranda populiarumą pasaulio augalinių baltymų rinkoje:

- Tai gali sukelti hormonų pusiausvyros sutrikimą: sojoje natūraliai gausu fitoestrogenų (augalinių junginių, kurie gali elgtis kaip hormonas estrogenas). Keletas tyrimų rodo, kad didelis sojų vartojimas gali sukelti testosterono sumažėjimą vyrams ir padidinti kūno riebalus raumenų sąskaita.
- Alergiškumas: soja yra vienas iš aštuonių alergeniskiausių maisto produktų.
- Prasta reputacija tvarumo prasme: soja plačiai laikoma GM pasėliu, naikinančiu atogrąžų miškus.

Kadangi soja netenkina nei rimtų atletų, nei pagrindinių vartotojų, jos vietą užima kiti augaliniai baltymai.

### 1.3.2. Žirnių baltymai

Žirnių baltymai yra svarbiausias sojos baltymų varžovas augalinių baltymų rinkoje [19]. Tyrimai rodo, kad JAV, kur 22 % baltymų miltelių yra augalų pagrindu, žirnių baltymų yra 80 % jų, palyginti su tik 12 % sojos.

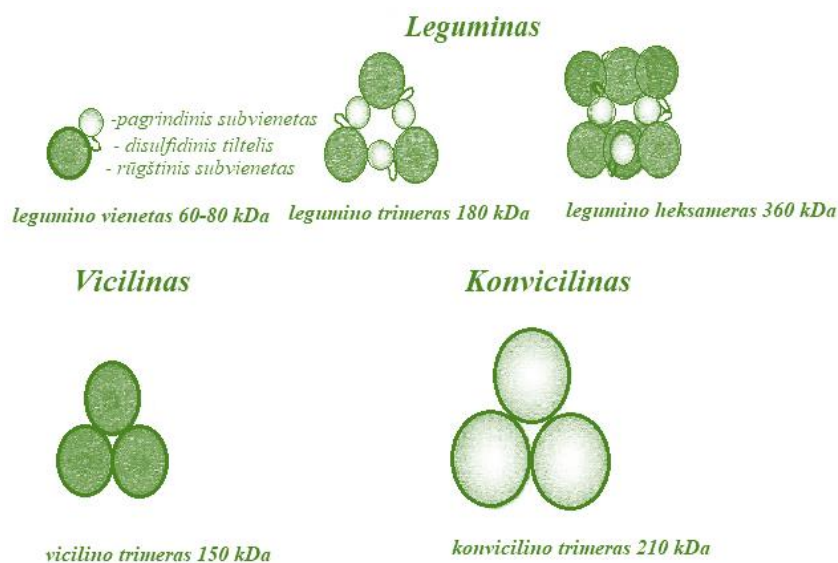
Žirnių baltymuose dominuoja dvi baltymų klasės, albuminai ir globulinai, kurie sudaro atitinkamai 10–20% ir 70–80% viso randamo baltymo. Albuminai yra laikomi vandenyje tirpiaisiais metaboliniais baltymais, kurie žirnyje, palyginti su globulinais, turi didesnę pagrindinių amino rūgščių triptofano, lizino, treonino ir metionino koncentraciją. Globulinai yra laikomi druskoje tirpiaisiais rezerviniais baltymais, kurie naudojami kaip azoto šaltinis naujiems embrionams sudyngus ir gali būti toliau dalijami į daugiausia legumino ir vicilino baltymus, su nedideliais kiekiais trečiojo tipo, vadinamo konvicilinu [20]. Visuotinai pripažįstama, kad santykinė dietinių nepakeičiamųjų aminorūgščių koncentracija yra pagrindinis veiksnys, lemiantis maisto baltymų maistinę vertę. Aminorūgščių profilis pateiktas 1.6 lentelėje.

**1.6 lentelė.** Žirnių baltymų frakcijų aminorūgščių profilis (g / 100 g baltymų) [20]

	Visas žirnis	Albuminai	Globulinai	Netirpūs baltymai	Ne baltyminės medžiagos
<b>Nepakeičiamos aminorūgštys</b>					
Argininas	6,84	4,09	8,08	6,74	1,34
Histidinas	2,52	2,87	2,23	2,36	0,69
Izoleucinas	3,33	4,43	4,74	5,28	0,92
Leucinas	6,58	5,22	8,94	8,57	1,58
Lizinas	6,84	10,33	7,01	7,65	2,78
Metioninas	1,03	0,97	0,61	1,20	0,26
Fenilalaninas	4,19	4,55	5,49	5,64	1,09
Treoninas	3,59	4,52	3,24	4,73	0,94
Triptofanas	0,94	1,23	0,97	1,08	0
Valinas	3,89	5,21	4,86	5,83	1,29
<b>Pakeičiamos aminorūgštys</b>					
Alaninas	4,27	5,19	4,00	5,46	1,83
Asparto rūgštis	10,68	11,40	11,96	10,85	4,62
Cistinas	1,55	3,13	1,18	1,33	0,70
Glutamo rūgštis	16,92	16,61	16,94	13,67	8,51
Glicinas	4,32	6,41	3,84	4,92	2,57
Prolinas	3,76	5,38	4,47	5,28	1,72
Serinas	4,79	4,11	4,87	4,92	1,16
Tirozinas	3,16	4,32	3,40	4,19	1,00
Iš viso	89,20	99,97	96,83	99,70	33,00



Pagrindiniai žirnių kaupiamieji baltymai: leguminas, vicilinas ir konvicilinas yra globulinai ir sudaro 65–85 % visų baltymų [21]. Pagal sedimentacijos savybes šie baltymai yra suskirstyti į dvi frakcijas: 7S (vicilinas, konvicilinas) ir 11S frakcija (leguminas). Trijų pagrindinių baltymų molekulinės formos pateiktos 1.5 paveiksle.



**1.5 pav.** Molekulinės legumino, vicilino ir konvicilino formos [21]

Leguminas – globulinų grupės rezervinis baltymas, kuris sintetinamas ankštiniuose augaluose. Baltymo kompaktiška ketvirtinė struktūra yra stabilizuota disulfidinio tiltelio, elektrostatinės ir hidrofobinės sąveikos būdu. Tai heksameras, kurio molekulinė masė (Mw) yra nuo 320 iki 380 kDa ir turinti turtingą  $\beta$ -klosčių struktūrą [22]. Subrendę baltymai susideda iš šešių subvienetų porų, kurios sąveikauja nekovalentiškai. Kiekvieną iš šių subvienetų porų sudaro rūgštinis ~ 40 kDa subvienetas ir ~ 20 kDa šarminis subvienetas, sujungtas viena disulfido jungtimi [23]. Kadangi yra keletas legumino pirmtakų, kilusių iš kelių genų šeimų, buvo nustatyti skirtingi legumino polipeptidai, pvz., 4 – 5 rūgštiniai ( $\alpha$ ) ir 5–6 baziniai ( $\beta$ ) polipeptidai. Šių polipeptidų dydžiai svyruoja nuo 38 iki 40 kDa rūgštinių polipeptidų su izoelektriniu tašku (pI) 4,5–5,8 ir nuo 19 iki 22 kDa bazinių polipeptidų, kurių pI yra iki 8,8 [24]. Legumino molekulės viduje yra daugiau hidrofobinių bazinių polipeptidų, tuo tarpu rūgštiniai polipeptidai yra nukreipti į molekulės išorę.

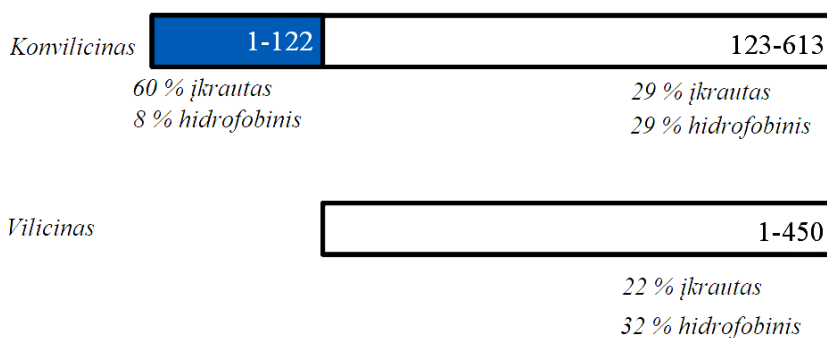
Dėl kompaktiškos ketvirtinės struktūros leguminas yra šilumoje stabilus baltymas. Baltymo legumino šiluminis perėjimo taškas yra didesnis nei 90 °C. Kita vertus, legumino ketvirtinė struktūra yra jautresnė pH ir druskos koncentracijai. Žirnių leguminas yra heksameras, kurio pH 7,0 ir aukštas jonų stipris (0,1 M), bet disocijuojasi į trimerų, dimerų ir monomerų mišinį esant, pvz., pH 3,35 ir 10,0, ir, priklausomai nuo jonų stiprumo. Rūgštinės sąlygos atrodo drastiškesnės nei šarminės, todėl natūralus leguminas yra visiškai atsiskiriamas nuo monomerų, kai pH 2,4. Kaip maisto baltymas, leguminas yra žinomas dėl savo sieros turinčių aminorūgščių liekanų. Kiekviename 60 kDa subviene yra maždaug du cisteino ir trys metionino likučiai.

Vicilinas yra 150–170 kDa trimeras baltymas, kuriame nėra cisteino liekanų ir todėl jis negali sudaryti disulfidinių jungčių [25].

Vicilino subvienetų sudėtis dažniausiai skiriasi dėl transliacijos proceso. Dažniausiai viciliną sudaro ~ 47 kDa, ~ 50 kDa, ~ 34 kDa ir ~ 30 kDa subvienetai. Žirnių vicilino heterogeniškumas yra

sudėtingesnis nei žirnių legumino heterogeniškumas. Jo heterogeniškumą lemia veiksnų derinys, įskaitant vicilino polipeptidų gamybą iš kelių mažų genų šeimų, koduojančių skirtingas pirmines sekas, diferencinį proteolitinį apdorojimą ir diferencinį glikozilinimą [26]. Vicilino šiluminės denatūracijos temperatūra priklauso nuo joninio stiprio sąlygų. Esant mažam jonų stiprumui ( $\mu = 0,08$ ), šiluminės denatūracijos temperatūra yra 71,7, o aukštesnėje ( $\mu = 0,5$ ) - 82,7 °C.

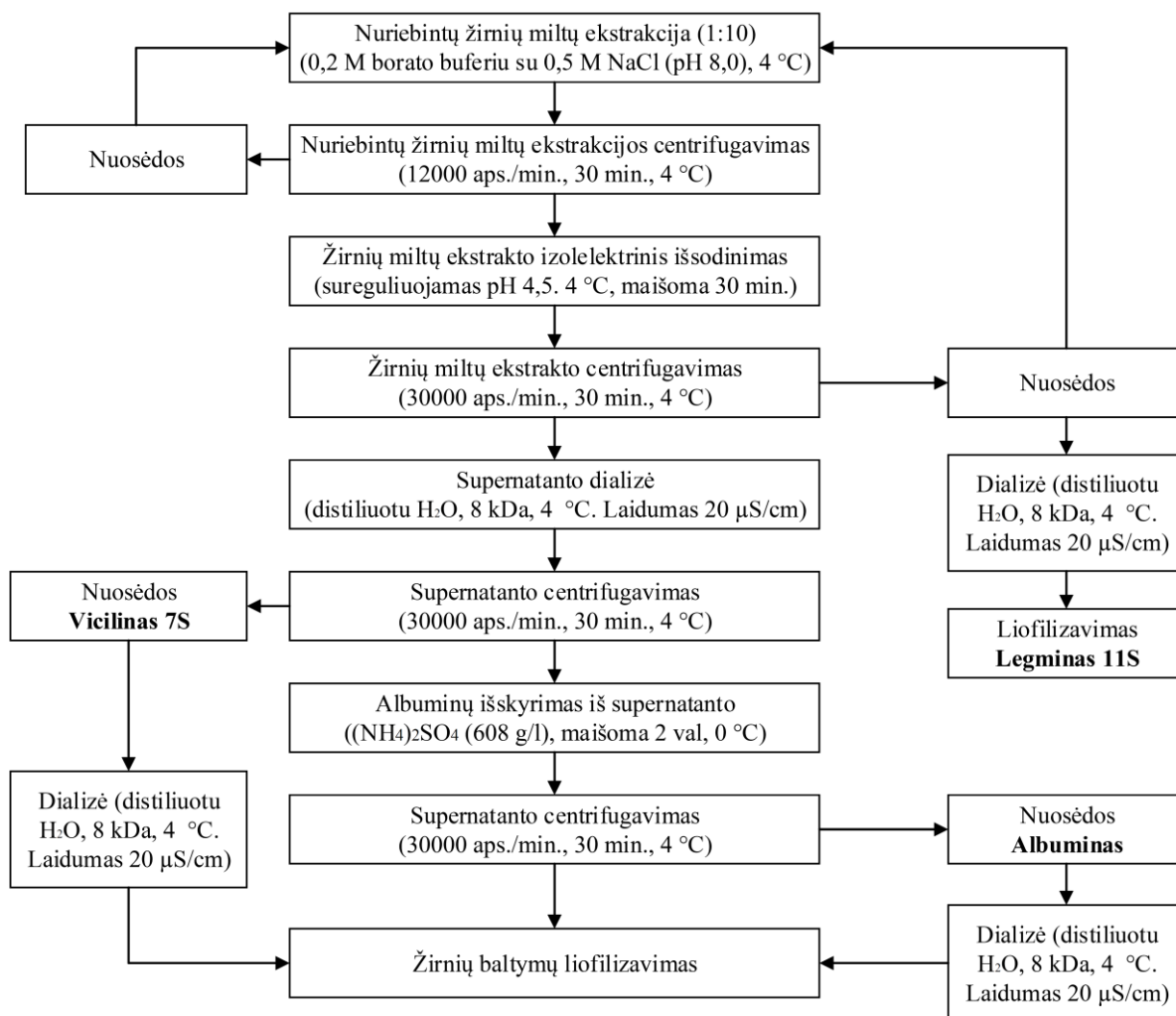
Trečiasis pagrindinis baltymas, besiskiriantis nuo legumino ir vicilino, yra konvicilinas. Šis baltymas pasižymi skirtingu aminorūgščių profiliu ir, skirtingai nei 7S vicilinas, turi labai mažai angliavandenių ir jo subvieneto molekulinė masė yra 71 000 Da. Natūralios formos molekulinė masė yra 290 000 Da, įskaitant N-galo prailginimą [26]. Nėra žinoma, kad konvicilinas atliktų bet kokius post- / ko-transliacijos pakeitimus, išskyrus signalo peptido pašalinimą, ir jis nėra glikozilintas [27]. Priešingai nei vicilinas, sieros aminorūgščių liekanos yra pirminėje konvicilino struktūroje. Tačiau kai kurie autoriai šį baltymą žymėjo kaip vicilino  $\alpha$ -subvienetus. Anot šių autorių, konvicilinas turi plačią homologiją su vicilinu išilgai savo baltymo šerdies, tačiau jis išsiskiria tuo, kad turi labai įkrautą hidrofilinę N-galo išplėtimo sritį, susidedančią iš 122 arba 166 liekanų. Konvicilino ir vicilino homologijos schematiškai parodytos 1.6 paveiksle.



**1.6 pav.** Labai įkrauto N-galo išplėtimo srities (liekanos 1–122), esančios konvicilino molekulėse, schema. Kaip parodyta įkrautų ir hidrofobinių liekanų procentine dalimi, konvicilino šerdis (liekanos 123-542) yra labai homologiškas vicilinui [25]

Žirnių baltymų kiekis ir sudėtis genotipuose skiriasi. Dėl genotipo ir aplinkos sukeltų pokyčių vicilino ir legumino santykis kinta ir gali svyruoti nuo 0,5 iki 1,7 (vid 1,1).

Tarp vicilino ir legumino turinio, sudėties ir struktūros skirtumų išryškėja tiek maistinės, tiek funkcinės savybės. Legumine yra daugiau sieros turinčių aminorūgščių nei viciline, ir tai daugiau prieinama frakcija iš mitybos taško. Žirnių baltymų frakcijų išskyrimas iš žirnių sėklų yra pateiktas 1.7 paveiksle.



1.7 pav. Žirnių baltymų ekstraktija druskos ekstrahavimo-dializės būdu [27]

#### 1.4. Ankštinių augalų baltymų funkcinės savybės

Kiekvienos rūšies maisto baltymai turi unikalią molekulinę struktūrą, kuri lemia jų funkcines savybes. Funkcionalumas apibūdinamas kaip „bet kokia maisto produkto ar jo ingrediento savybė, išskyrus maistines, turinti įtakos jo naudojimui“ [28]. Baltymų funkcionalumas paprastai suskirstomas į tris pagrindines grupes [29]: a) su hidratacija susijusios savybės, tokios kaip baltymų tirpumas, lipidų / vandens absorbcija; b) savybes, susijusias su baltymų struktūra ir reologinėmis savybėmis, tokiomis kaip klampumas, elastingumas, lipnumas, sancaupa ir želatinizacija; ir c) savybes, susijusias su baltymo paviršiaus savybėmis, tokiomis kaip putų sudarymo geba, putų stabilumas, emulsuojančias savybes (emulsijos aktyvumo indeksas (EA) ir emulsijos stabilumo indeksas (ES)).

Tirpumas yra bene svarbiausia baltymų funkcinė savybė. Tirpumas turi įtakos daugeliui kitų funkcinių savybių, tokių kaip emulsinimas ir putojimas, todėl jis yra puikus baltymų produktų funkcionalumo ir jo panaudojimo galimybių (ar apribojimų) rodiklis. Hidrofobinė ir joninė sąveika yra pagrindiniai veiksniai, turintys įtakos baltymų tirpumo savybėms. Hidrofobinės sąveikos skatina baltymų tarpusavio sąveiką ir sumažina tirpumą, tuo tarpu joninės sąveikos skatina baltymų ir vandens sąveiką ir padidina tirpumą. Joninės liekanos peptidų ir baltymų paviršiuje sukelia elektrostatinę replikaciją tarp baltymų molekulių ir replikaciją tarp hidratacijos apvalkalų, esančių aplink jonų grupes, kurios yra pagrindinės padidėjusio baltymų tirpumo priežastys [30].

Vandens sulaikymo pajėgumas reiškia baltymo sugebėjimą absorbuoti vandenį ir išlaikyti jį prieš gravitacinę jėgą baltymų matricoje. Baltymų, pridėtų prie raumeninio audinio, vandens sulaikymo gebėjimas turi didelę reikšmę maisto pramonei, nes vandens sulaikymas maisto sistemoje dažnai pagerina tekstūrą. Funkcinės baltymų savybės maisto sistemoje iš dalies priklauso nuo vandens ir baltymų sąveikos, o galutinis rezultatas labai priklauso nuo to, kaip gerai baltymai jungiasi ir sulaiko vandenį maisto sistemoje [31].

Emulsinės baltymų izoliatų savybės yra tiesiogiai susijusios su jų paviršiaus savybėmis, arba tuo, kaip efektyviai hidrolizatas mažina paviršiaus įtempimą tarp hidrofobinių ir hidrofilinių komponentų maiste. Baltymai homogenizacijos metu absorbuojasi į šviežiai suformuotų aliejaus lašelių paviršių ir sudaro apsauginę membraną, kuri neleidžia lašeliams susiliesti. Izoliatai yra paviršiaus aktyviosios medžiagos ir skatina aliejus - vanduo emulsijas, nes jie turi hidrofilines ir hidrofobines funkcines grupes ir yra dalinai tirpūs vandenyje. Yra daugybė skirtingų veiksnių, kurie lemia skirtumą tarp izoliatų, susijusių tiek su emulsijos formavimu, tiek dėl emulsijos stabilumu. Peptidų molekulinės savybės ir peptidų grandinės ilgis yra pagrindinės skirtingos izoliatų emulsijos savybės. Aplinkos sąlygos, tokios kaip pH, jonų stiprumas, temperatūra ir kt., taip pat turi įtakos emulsinimo savybėms. Baltymai yra ideali priemonė pagerinti emulsijos stabilumą dėl jų amfifilinės prigimties (t.y. turinčių ir hidrofilinių, ir hidrofobinių dalių), leidžiančius jiems sulgyinti arba atsiskleisti aliejaus ir vandens sąsajoje, kad būtų sumažintas paviršiaus įtempis ir suformuota vientisa viskoelastinė danga / plėvelė aplink lašelius [32].

Chemija, kuria grindžiamos baltymų ir baltymų izoliatų putojimo savybės, turi daug bendro su emulsiklinėmis savybėmis. Abu priklauso nuo baltymo paviršiaus savybių. Maisto putos susideda iš oro lašelių, išsklaidytų ir apgaubtų skysčiu, kuriame yra tirpios paviršiaus aktyviosios medžiagos, mažinančios skysčio paviršių ir paviršiaus įtempimą. Tai leidžiama padaryti dėl baltymų amfifiliškumo, hidrofobinė baltymo dalis driekiasi į orą, o hidrofilinė – į vandeninę fazę [33]. Bendras hidrofobiškumas arba atvirų ar sulankstytų baltymų hidrofobiškumas turi reikšmingą koreliaciją su putų susidarymu.

Gelių sudarymas taip pat viena iš ankštinių augalų funkcinių savybių. Ši savybė labiausiai priklauso nuo pH ir šiluminio apdorojimo. Dažnai mokslininkų atlikti tyrimai rodo, kad denaturuojant ankštinių augalų baltymus, tokius kaip žirnių ar sojos, naudojama aukšta temperatūra (90 °C) [34, 35]. Norint sudaryti tvirtus gelius, temperatūrą patartina kelti lėtai, o po denaturacijos mėginčius aušinti lėtai ir palaipsniui [36]. Tokiu būdu gauti baltymų geliai bus stabilesni ir tvirtesni. Žirnių baltymai gali sudaryti gelius ir ne tokioje aukštoje temperatūroje, dažnai pakanka ir 60 °C geliui susidaryti, tačiau tai labai priklauso nuo baltymų sudėties. Nors tiek leguminas, tiek vicilinas gali sudaryti gelius, vicilinas pasižymi geresne šilumos indukuota geliacija nei leguminas. Žirnių baltymų izoliatai turintys didesnę vicilino ir legumino santykį, galėtų būti tinkamesni gelio formavimui [36].

### **1.5. Ankštinių augalų baltymų taikymas maisto produktų praturtinimui**

Dėl aukštos maistinės kokybės, gerų funkcinių savybių ir kainos, ankštinių augalų baltymų produktai tampa tinkamiausia alternatyva gyvūninės kilmės baltyminiams produktams. Maisto pramonėje šie produktai paprastai naudojami kaip funkciniai priedai, kurie suteikia specifines galutinių maisto produktų savybes. Ankštinių augalų baltymai dažniausiai naudojami kaip miltai, koncentratai ir izoliatai. Labiausiai pramoniniu mastu naudojami sojos baltymai, o mažesniu mastu – per

pastaruosius 20 metų žirnių baltymai. Kuklus žirnių baltymų vartojimas iš dalies yra dėl nepakankamos informacijos apie jų funkcines savybes [37].

Žirniuose baltymų daugiau nei kitose daržovėse ir nemažiau negu mėsoje. Žirnių baltymus sudaro labai svarbios aminorūgštys (cistinas, lizinas, triptofanas, argininas, metioninas) (žr. 1.4 lentelė), kurias sintetina tik augalai. Jos gyvybiškai svarbios tiek žmonėms, tiek gyvuliams. Žalieji žirnėliai yra 1,5 – 2 kartus kaloringesni už kitas daržoves ir bulves [38].

Sojos pupelės daugiausia gaminamos sojų aliejaus augaliniam aliejui gaminti. Sėklos aprūpina maždaug 60 % viso pasaulio augalinių baltymų pasiūlos ir yra laikomos geru gyvulinių baltymų pakaitalu [42]. Be to, sojos pupelės perdirbamos į daugelį nefermentuotų (sojos pienas, tofu, sojos pyragas) ir fermentuotų (sojos padažas, natto, tempeh) maisto produktų rūšių.

Maisto pramonė nepakankamai naudoja augalinius baltymus kaip emulsiklius dėl nepakankamos fizikinės ir cheminės informacijos, susijusios su jų struktūra ir jų funkcionalumu maisto matricose [39]. Nors soja yra dabartinis augalinių baltymų rinkos standartas, keli ankštinių augalų baltymai tampa svarbūs kaip ingredientai dėl savo maistinės vertės, atnaujinamumo, prieinamumo, mažų kainų ir funkcionalumo.

Apskritai, funkcinėms baltymo savybėms turi įtakos daugybė veiksnių, kuriuos galima suskirstyti į dvi grupes: vidinius ir išorinius. Pagrindiniai veiksniai yra šie: aminorūgščių sudėtis ir seka, forma, dydis, hidrofobiškumo / hidrofiliškumo, konformacijos ir reaktyvumo santykis. Išoriniai veiksniai, kurie gali turėti įtakos grynųjų baltymų funkcinėms savybėms, yra pH, jonų stiprumas, temperatūra, konformacija, hidrofobiškumo / hidrofiliškumo santykis, ekstrahavimo metodas. Be šių veiksnių, kalbant apie baltymų produktus, tokius kaip miltai, koncentratas ir izoliatas, keli papildomi veiksniai, įskaitant pagrindinių baltymų santykį ir perdirbimo sąlygas, gali turėti lemiamos įtakos jų funkcinėms savybėms ir atitinkamai jų pritaikomumui maisto sistemose. Plačiausiai taikomos funkcinės savybės maisto sistemose yra pateikiamos 1.7 lentelėje.

**1.7 lentelė.** Funkcinės savybės, kurias atlieka funkciniai baltymai maisto sistemose [41]

<b>Funkcinė savybė</b>	<b>Veikimo būdas</b>	<b>Maisto sistema</b>
Tirpumas	Baltymų tirpinimas	Gėrimai
Vandens absorbcija ir sulaikymas	Vandeninis ryšys; vandens užrakinimas (be lašelių)	Mėsa, dešros, duonos gaminiai, tortai.
Klumpumas	Tirštinimas, vandens surišimas	Sriubos, padažai
Gelių sudarymas	Baltymų matricos susidarymas ir nustatymas	Mėsa, varškė, sūris
Kohezija-athezija	Baltymai veikia kaip lipni medžiaga	Mėsa, dešros, kepiniai, makaronai
Elastingumas	Hidrofobinis rišimasis su glitimu; disulfido jungtys geluose	Mėsa, duonos gaminiai
Emulsinės savybės	Riebalų emulsijų susidarymas ir stabilizavimas	Dešros, sriubos, tortai, padažai
Riebalų absorbcija	Laisvųjų riebalų surišimas	Mėsa, dešros, spurgos
Skonio surišimas	Absorbcija, užrakinimas, išleidimas	Imituota mėsa, duonos kepiniai
Putojimas	Stabilios plėvelė suformavimas, kad išsiskverbų dujos	Plakti įdarai, šifono desertai, „angelų“ pyragai

Baltyminiam produktui reikalingos funkcinės savybės skiriasi dėl to, kad jis yra specifiskai naudojamas maiste ir maisto sistemose (žr. 1.7 lentelė). Apskritai, geras baltymų produktas turi turėti keletą funkcijų, kad gerai veiktų maisto sistemose. Svarbiausios baltymų produktų funkcinės savybės yra tirpumas, emulsijų sudarymas, putojimas ir geliacija.

## **1.6. Biotechnologiniai sprendimai, taikomi augalinių baltymų modifikavime**

Šiuo metu pramonėje vis daugiau naudojami biotechnologiniai procesai, kurie dažniausiai priklauso nuo mikroorganizmų. Šie procesai naudojami ne tik retų vaistų, pramoninių chemikalų, bioproduktų, kuro, bet ir maisto gamybai. Nors biotechnologiniai procesai apima visų gyvų organizmų formų veiklą, šios pramonės šakos vystyme dažniausiai naudojami mikroorganizmai dėl jų greito ir paprasto biomasės auginimo, kurį galima užtikrinti naudojant pigias žaliavas (pramonines atliekas) ir didelio metabolizmo įvairumo. Visos šios charakteristikos suteikia platų gaminamų produktų pasirinkimą. Priešdėlis „bio“ žodyje biotechnologija reiškia gyvybę ir nurodo, kad procesas apima gyvas ląsteles, įskaitant mikroorganizmus ir gyvūnų bei augalų ląstelių kultūras. „Technologija“ apima ląstelių auginimą bioreaktoriuose, sudarant optimalias augimo ir norimo produkto gamybos sąlygas, kad galutiniame rezultate gautumėme komercinį produktą [44].

Maisto biotechnologija, tai šiuolaikinių biotechnologijos principų taikymai maisto produktų gamybai [43]. Į tai galima įtraukti fermentaciją, seniausią žinomą biotechnologinį procesą, o taip pat augalinių ir gyvūninių ląstelių auginimą bei maisto priedų gamybą. Biotechnologija daro įtaką žaliavų gamybai ir konservavimui bei produktų maistingų ir funkcinių savybių pokyčiui. Tai taip pat gamybos procesų kitimas, pagerinantis žaliavų panaudojimą ir produktų išėigas bei turintis įtakos procesų rentabilumui. Tokios technologijos, kaip fermentų, ar ląstelių įmobilizavimas ir genų inžinerija jau dabar turi didelės įtakos maisto žaliavų perdirbimui. Technologija turi būti efektyvi ekonomiškai, bet tuo pačiu ir atitikti kintančius vartotojų poreikius, nepanaikinant tradicinių bei nacionalinių maisto ruošimo ypatumų [43].

Baltymų apdirbimui yra naudojami biotechnologiniai procesai tokie kaip: fermentinė hidrolizė, proteolizė (hidrolizinis baltymų skaidymas iki aminorūgščių), fermentacija (rauginimas).

Fermentinė hidrolizė ilgą laiką buvo pripažinta kaip gana paprasta ir naudinga priemonė gerinant sensorines ir maistines augalų baltymų vertes. Ribota fermentinė hidrolizė taip pat yra saugiausias būdas gauti norimas funkcines savybes, tokias kaip augalų baltymų produktų gelių sadarymas, putojimas ir emulsinimas. Taip pat naujausi tyrimai [44 – 46] parodė, kad proteazėmis apdoroti augaliniai baltymai pasižymi geru antioksidaciniu aktyvumu.

Įvairių augalų šaltiniai buvo ribotos fermentinės hidrolizės objektas. Buvo naudojami įvairūs fermentai, įskaitant chimosiną, tripsiną [14, 15] papainą [16–18], pepsiną [4, 19, 20] ir keletą komercinių proteazių, turinčių skirtingą aktyvumą [11, 21–23]. Fermentinės hidrolizės poveikis priklauso nuo daugelio veiksnių, tokių kaip fermento tipas [24, 25] ir apdorojimo sąlygos (fermento ir substrato santykis, reakcijos temperatūra, fermento veikimo laikas, substrato savybės) [21]. Norint pasiekti optimalių rezultatų, hidrolizė turi būti atliekama griežtai apibrėžtomis ir kontroliuojamomis sąlygomis.

Paprastai augalinius baltymų hidrolizatus galima suskirstyti į dvi grupes, iš dalies hidrolizuojamas (hidrolizės laipsnis (DH) <10 %) ir intensyviai hidrolizuojamas (DH > 10 %) [26]. Hidrolizė iki maždaug 10 % DH prisidėjo prie geresnio tirpumo, emulsinimo, putojimo ir kitų funkcinių savybių.

Priešingai, intensyviai hidrolizuotiems augalų baltymams būdingos blogos funkcinės savybės, tačiau geros maistinės vertės.

Biotechnologiniu požiūriu mikroorganizmų panaudojimas yra svarbus maisto ir kitų vartojimo prekių gamyboje. Dauguma organizmų turi panašią struktūrą, sudarytą iš ląstelių, turinčių panašią cheminę sudėtį [42].

Mikroorganizmų augimas vyksta pagal tokią schemą: inertinė fazė; augimo fazė; stacionari fazė; žuvimo fazė [43]. Biotechnologijai labai svarbios visos šios fazės. Norint pasiekti geras produkto išeigas būtina kiek įmanoma sutrumpinti inertinę fazę ir padidinti mikroorganizmų augimo greitį augimo fazėje bei prailginti šios fazės trukmę. Tai daroma norint gauti kuo didesnę mikroorganizmų tankį proceso pabaigoje [44].

Mielės yra vienaląsčiai organizmai, priskiriami grybams. Gamtoje jos randamos ant kai kurių augalų vaisių. Šiuo metu yra žinoma apie 50000 grybų rūšių, tačiau tik apie 350 rūšių priskiriamos mielėms. Mielės skirstomos į aktyvias ir neaktyvias. Aktyviosios naudojamos fermentacijai, o neaktyviomis vadinamos džiovintos, kurios naudojamos kaip maisto papildai ar skonio ir aromato komponentai [44].

Pienarūgštės bakterijos glaudžiai susiję su maistu, mityba ir sveikata. Dėl šios priežasties jos laikomos vienu iš pagrindinių šiuolaikinės biotechnologijos tyrimų objektų. Pienarūgštės bakterijos produktui suteikia charakteringą skonį ir kvapą bei tekstūrą. Šioms bakterijoms priklauso kelios rūšys mikroorganizmų, tai *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc* ir *Pediococcus* genčių bakterijos, kurios yra gram teigiamos, ir sporų neformuojančios [45]. Pastaruoju metu pienarūgštėms priskiriamos ir bifidobakterijos, kadangi jos naudojamos jogurtų gamyboje. Pienarūgštės bakterijos gali būti lengvai auginamos ant nebrangių terpių ir gali gaminti antrinius metabolitus, tokius kaip bakteriocinus, niziną, fermentus, biomasę, organines rūgštis ir vitaminus. Keletas *Lactobacillus* rūšių (*amylovorus* ir *amylophilus*) gamina amilazes ir gliukoamilazes. Rūgštis susidaro pagrinde dėl *Streptococcus thermophilus* veiklos, o *Lactobacillus bulgaricus* suformuoja jogurtui charakteringą aromatą [46]. Pagrindinės ir dažniausiai vartojamos pienarūgštės bakterijos ir jų savybės pateiktos 1.8 lentelėje.

**1.8 lentelė. Pienarūgštės bakterijos ir joms būdingos savybės**

Savybės/Rūšis	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> biovar. <i>diacetylactis</i>	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i>	<i>Streptococcus</i> <i>thermophilus</i>	<i>Lactobacillus delbrückii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	<i>Leuconostoc lactis</i>
Kamieno tipas	ATCC 19435	NCDO 176	ATCC 19257	ATCC 19258	ATCC 11842	ATCC 19256
Aplinka	Pieno gaminiai, sausi produktai, augalai	Pieno gaminiai	Pieno gaminiai	Pieno gaminiai	Pieno gaminiai	Pieno gaminiai, daržovės
Morfologija	Apvalios ląstelės, išsidėsčiusios grandinėlių pavidalu	Apvalios ląstelės poromis, išsidėsčiusios grandinėlių	Apvalios ląstelės poromis, išsidėsčiusios grandinėlių	Sferinės ląstelės poromis, ilgomis grandinėlių	Lazdelės apvalintais galais, skirtingos pagal amžių, pavienės, trumpomis grandinėlių	Sferinės, ištemptos ląstelės poromis, grandinėlių
Augimo temp.	40 °C	40 °C	40 °C	45 °C	45 °C	37 °C
Pieno r. izomeras	L (+)	L (+)	L (+)	L (+)	D (-)	D(-)
Organinių rūgščių gamyba	Obligatiniai homofermentiniai ir citratneigiami; pieno rūgštis	Obligatiniai homofermentiniai ir citratneigiami; pieno rūgštis	Obligatiniai homofermentiniai ir citratneigiami; pieno rūgštis	Obligatiniai homofermentiniai ir citratneigiami; pieno rūgštis	Obligatiniai homofermentiniai ir citratneigiami; pieno rūgštis	Obligatiniai homofermentiniai ir citratneigiami; pieno rūgštis
Proteolitinis aktyvumas	+	+	+	Silpnas	Laisvos amino rūgštys	Silpnas
Lipolitinis aktyvumas	+	Silpnas	Silpnas	Silpnas	Silpnas	Silpnas
Aromato (skonio) gamyba	Acetaldehidas, acetonas, diacetilas	Acetaldehidas, acetonas, diacetilas, acetoinas	Acetaldehidas, acetonas, diacetilas	Acetaldehidas	Acetaldehidas, acetonas, diacetilas, acetoinas	Diacetilas, acetoinas
Dujų gamyba	-	CO <sub>2</sub>	-	-	-	-
Polisacharidų gamyba	Lėtai gamina	+	+	Silpna	Stipri, kintanti	-
Alkoholio gamyba	Etanolis	Etanolis	Etanolis	Etanolis	Etanolis	Etanolis
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> gamyba	+	+	+	+	+	Silpna
Vitaminų gamyba	Nežinoma	Nežinoma	Nežinoma	Nežinoma	Niacinas, folio r. B <sub>6</sub> , B <sub>12</sub>	Nežinoma



Fermentacija vykdoma ne tik įvedant mieles ar bakterijas. Dar vienas populiarus būdas naudoti fermentus. Chimozinas, plačiai žinomas kaip reninas, yra pagrindinis pieno koaguliacijos fermentas, kurį sudaro 323 aminorūgščių polipeptidų grandinės su intramolekulinėmis disulfidinėmis jungtimis. Veršelio fermento preparatai yra dviejų chimozinų A ir B. Vienintelis skirtumas tarp chimozinų A ir B yra viena polipeptidų grandinėje esanti aminorūgštis; chimozinas A turi asparto rūgšties likučius 286 padėtyje, o chimozinas B turi glicino likučius toje pačioje padėtyje [47].

Kaip ir kiti rūgštiniai protezai iš skrandžio sulčių, chimozinas išskiriamas kaip neaktyvus pirmtakas prochimozinas. Pirmtakas yra stabilus esant silpnai šarminiam pH, tuo tarpu, aktyvus fermentas greitai denatūruojamas esant didesniai nei 7 pH. Žemesniame nei 5 pH, prochimozinas paverčiamas chimozinu ribotai proteolizei, per kurį peptido segmentas yra suskaidomas iš N-galo. Chimozino proteolitinis aktyvumas optimaliai pH yra nuo 3 – 5 pH.

Kietojo kūno fermentacija (KKF) yra įprastas biotechnologinis būdas padidinti javų maistinę vertę ir funkcines savybes. Biologinį ankštinių augalų aktyvumą gali pagerinti KKF, nes mikrobu proteazės skatina baltymų skaidymąsi ir generuoja bioaktyvius peptidus fermentacijos metu. Tyrėjai įrodė, kad KKF gali pagerinti sojos baltymų antioksidacines savybes padidindamas bioaktyvių komponentų, pavyzdžiui, laisvųjų aminorūgščių ir mažo dydžio peptidų, koncentraciją. Be to, KKF taip pat buvo naudojamas ankštinių augalų maistui gaminti su angiotenziną I konvertuojančio fermento (AKF) slopinančiu aktyvumu, skirtu hipertenzijos prevencijai ir gydymui [48]. Biotechnologiniai sprendiniai suteikia galimybę pagerinti funkcines savybes, naudoti šalutinius produktus ir juos plėtoti į naujus funkcinis maisto produktus. Be to, fermentacija buvo efektyvus būdas gaminti kai kuriuos bioaktyvius junginius [49].

### **1.7. Literatūros apžvalgos apibendrinimas**

Sojos baltymai buvo svarbiausi augalinės kilmės baltymai, naudojami sporto mitybos rinkoje. Taip yra todėl, kad be labai pigių šaltinių, jis yra vienas iš nedaugelio augalų baltymų, kurie laikomi „visaverčiais“, tai reiškia, kad juose yra visos devynios nepakeičiamos aminorūgštys, kurių organizmas nesugeba susintetinti ir kurias reikia įsisavinti laikantis dietos. Tačiau dėl trijų pagrindinių priežasčių soja praranda paklausą:

- Tai gali sukelti hormonų pusiausvyros sutrikimą: Sojoje natūraliai gausu fitoestrogenų (augalinių junginių, kurie gali elgtis kaip hormonas estrogenas). Keletas tyrimų rodo, kad didelis sojų vartojimas gali sukelti testosterono sumažėjimą vyrams ir padidinti kūno riebalus raumenų sąskaita [4].
- Alergiškumas: Soja yra vienas iš aštuonių alergiškiausių maisto produktų [4, 6].
- Prasta reputacija tvarumo prasme: Soja plačiai laikoma GM pasėliu, naikinančiu atogrąžų miškus [6].



Kadangi soja netenkina nei profesionalių atletų, nei pagrindinių vartotojų, jos vietą užima kiti augaliniai baltymai. Žirnių baltymai yra svarbiausias varžovas rinkoje [4]. Jie pasižymi maistingumu, dideliu skaidulinių medžiagų kiekiu bei antioksidaciniu aktyvumu, todėl pigi, lengvai prieinama žaliava gali pakeisti sojos baltymus. Tačiau dėl kai kurių funkcinių savybių trūkumų, žirnių baltymų izoliatas netenkina vartotojų. Taigi, yra prasminga atlikti tyrimus ir rasti priimtina, tvarų modifikavimo metodą, norint sukurti didelės pridėtinės vertės funkcinį maisto priedą ir jį plačiai pritaikyti maisto pramonei bei vartotojams.

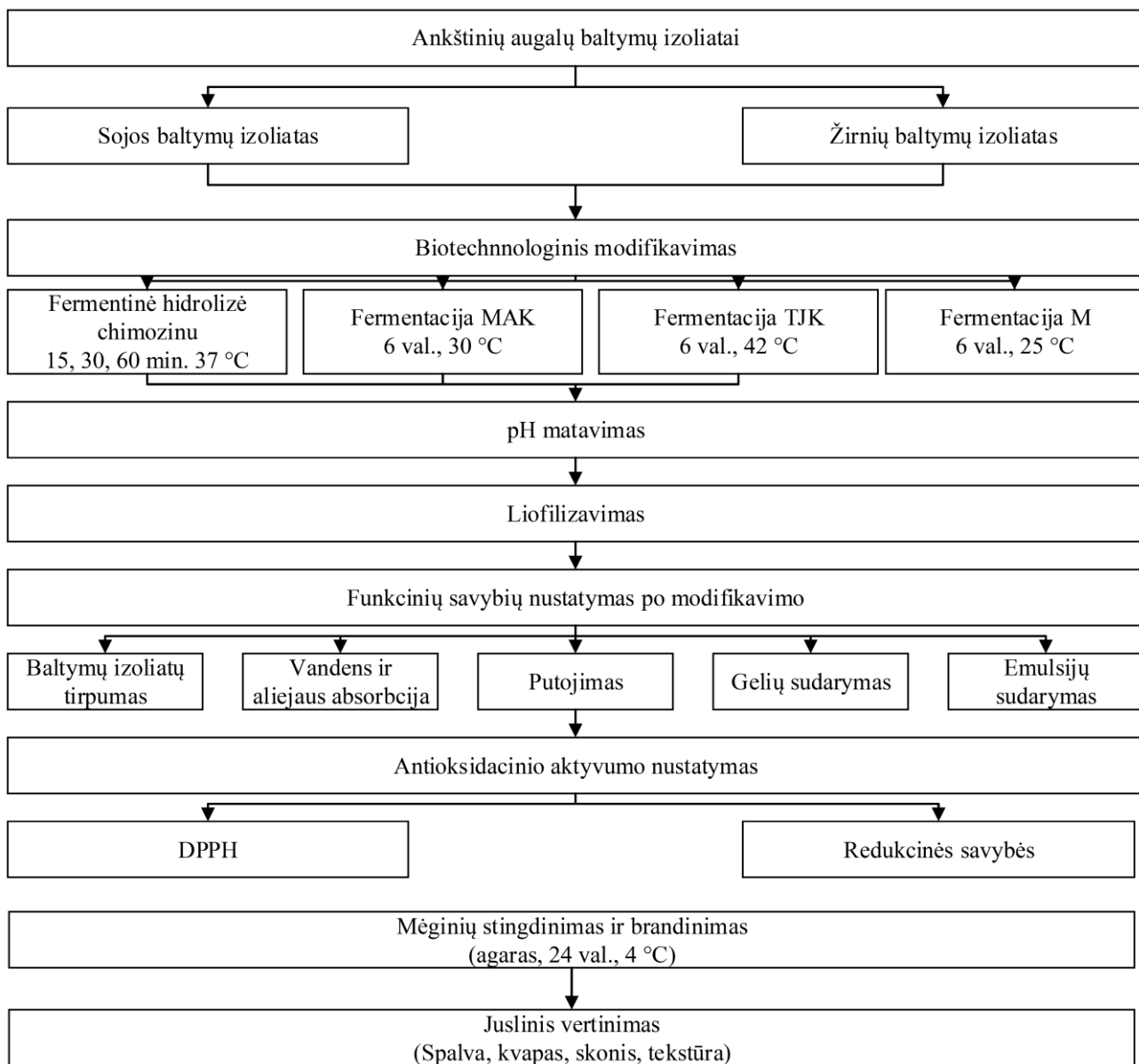
## 2. Medžiagos ir tyrimų metodai

### 2.1. Tyrimo objektai

Šiame tiriamajame darbe naudojami komerciniai 100 % sojos baltymų ir 100 % žirnių baltymų izoliatai įsigyti iš „myprotein.lt“. Pagrindinis tyrimų objektas yra mėginiai po biotechnologinio baltymų modifikavimo ir jų palyginimas su mėginiais be biotechnologinio apdorojimo. Pagrindinė informacija apie produktų sudėtį yra pateikiama gamintojų ir nurodoma ant izoliatų pakuočių (žr. 2.1 lentelė)

2.1 lentelė. Tyrime naudotų komercinių žaliavų etikečių informacija

Eil. Nr.	Produktas	Pakuotės informacija																								
1.		<table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>100g</th> <th>1 porcijoje</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td><b>Energijos</b></td> <td>1642 kJ/387 kcal</td> <td>493 kJ/116 kcal</td> </tr> <tr> <td><b>Riebalų</b></td> <td>0.5 g</td> <td>0.2 g</td> </tr> <tr> <td>    iš jų sočiųjų riebalų rūgščių</td> <td>0.1 g</td> <td>0 g</td> </tr> <tr> <td><b>Angliavandenių</b></td> <td>5 g</td> <td>1.5 g</td> </tr> <tr> <td>    iš jų cukraus</td> <td>0.1 g</td> <td>0 g</td> </tr> <tr> <td><b>Baltymų</b></td> <td>90 g</td> <td>27 g</td> </tr> <tr> <td><b>Druskos</b></td> <td>3.8 g</td> <td>1.1 g</td> </tr> </tbody> </table>		100g	1 porcijoje	<b>Energijos</b>	1642 kJ/387 kcal	493 kJ/116 kcal	<b>Riebalų</b>	0.5 g	0.2 g	iš jų sočiųjų riebalų rūgščių	0.1 g	0 g	<b>Angliavandenių</b>	5 g	1.5 g	iš jų cukraus	0.1 g	0 g	<b>Baltymų</b>	90 g	27 g	<b>Druskos</b>	3.8 g	1.1 g
	100g	1 porcijoje																								
<b>Energijos</b>	1642 kJ/387 kcal	493 kJ/116 kcal																								
<b>Riebalų</b>	0.5 g	0.2 g																								
iš jų sočiųjų riebalų rūgščių	0.1 g	0 g																								
<b>Angliavandenių</b>	5 g	1.5 g																								
iš jų cukraus	0.1 g	0 g																								
<b>Baltymų</b>	90 g	27 g																								
<b>Druskos</b>	3.8 g	1.1 g																								
2.		<table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>100g</th> <th>1 porcijoje</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td><b>Energetinė vertė</b></td> <td>1511 kJ/357 kcal</td> <td>453 kJ/107 kcal</td> </tr> <tr> <td><b>Riebalai</b></td> <td>5.0 g</td> <td>1.5 g</td> </tr> <tr> <td>    iš kurių sočiųjų rūgščių</td> <td>1.9 g</td> <td>0.6 g</td> </tr> <tr> <td><b>Angliavandeniai</b></td> <td>3.0 g</td> <td>0.9 g</td> </tr> <tr> <td>    iš kurių cukrų</td> <td>0 g</td> <td>0 g</td> </tr> <tr> <td><b>Baltymai</b></td> <td>75 g</td> <td>23 g</td> </tr> <tr> <td><b>Druska</b></td> <td>2.5 g</td> <td>0.75 g</td> </tr> </tbody> </table>		100g	1 porcijoje	<b>Energetinė vertė</b>	1511 kJ/357 kcal	453 kJ/107 kcal	<b>Riebalai</b>	5.0 g	1.5 g	iš kurių sočiųjų rūgščių	1.9 g	0.6 g	<b>Angliavandeniai</b>	3.0 g	0.9 g	iš kurių cukrų	0 g	0 g	<b>Baltymai</b>	75 g	23 g	<b>Druska</b>	2.5 g	0.75 g
	100g	1 porcijoje																								
<b>Energetinė vertė</b>	1511 kJ/357 kcal	453 kJ/107 kcal																								
<b>Riebalai</b>	5.0 g	1.5 g																								
iš kurių sočiųjų rūgščių	1.9 g	0.6 g																								
<b>Angliavandeniai</b>	3.0 g	0.9 g																								
iš kurių cukrų	0 g	0 g																								
<b>Baltymai</b>	75 g	23 g																								
<b>Druska</b>	2.5 g	0.75 g																								



2.1 pav. Vykdytų eksperimentų tyrimų schema

## 2.2. Naudotos medžiagos

Darbe naudotos medžiagos ir reagentai pateikti 2.2 lentelėje.

## 2.2 lentelė. Naudotos medžiagos ir reagentai

Eil. Nr.	Pavadinimas	Cheminė medžiaga
1	Žirnių baltymų izoliatas	myprotein.lt
2	Sojos baltymų izoliatas	myprotein.lt
3	Saulėgrąžų aliejus	-
4	Cukrus	-
5	Distiliuotas vanduo	H <sub>2</sub> O
6	Kalio geležies cianidas	K <sub>3</sub> [Fe(CN) <sub>6</sub> ]
7	2,2-difenil-1-pikrilhidrazilas	DPPH
8	Druskos rūgštis	HCl
9	Natrio šarmas	NaOH
10	Chimozino fermentas	CHR. HANSEN
11	Sausos mielės	„Alvo“
12	Termofilinės jogurto bakterijos	CHR. HANSEN
13	Mezofilinės aromato bakterijos	CHR. HANSEN
14	Etanolis	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH, 96 %
15	Metanolis	CH <sub>3</sub> OH
16	Fosfatinis buferis	-
17	Bratfordo reagentas	-
18	Geležies (III) chloridas	FeCl <sub>3</sub>
19	Trichloracto rūgštis	CHCOOCl <sub>3</sub>

## 2.3. Mėginių paruošimas

### 2.3.1. Fermentinė hidrolizė chimozinu

Pradinės ankštinių augalų baltymų izoliatų suspensijos buvo gaminamos remiantis ankstesniu metodu [17] su nežymiais pakeitimais. Disperguojant 20 g izoliato 400 ml distiliuoto vandens ir maišant 15 min., buvo pagaminta po tris vienodus mėginius su kiekvienu iš baltymų izoliatų. Siekiant išvengti dominuojančių žirnių baltymų izoelektrinio nusodinimo, kai pH yra 5,0 (tai yra optimali chimozino aktyvumo pH vertė), izoliatai buvo modifikuoti esant 6,8 pH, kuris atitinka žalio pieno pH. Esant tokioms pH vertėms, baltymai pasižymi geru tirpumu ir prieinamumu fermentams. Gautų suspensijų pH buvo sureguliuotas iki 6,8 su 1 M HCl ir inkubuojamas 30 minučių 37 °C temperatūroje. Dispersijos buvo atskirai hidrolizuojamos su 0,1 g chimozino fermentu 15 arba 30, arba 60 minučių, nuolat maišant. Fermento ir substrato santykis buvo 1: 200. Hidrolizės metu reakcijų mišinių pH buvo periodiškai (kas 5 min.) sureguliuojamas iki pH 6,8. Gautų hidrolizatų pH sureguliuojamas iki 7,0, tada mėginiai 3 minutes kaitinami 60 °C temperatūroje, kad būtų inaktyvuotas fermentas, ir nedelsiant atšaldomi ledo vonioje. Gauti modifikuoti izoliatai užšaldomi, liofilizuojami, sumalami ir laikomi – 18 °C. Eksperimentas atliktas su sojos baltymų izoliatu ir su žirnių baltymų izoliatu. Kaip kontrolė, abu izoliatų tipai taip pat buvo paruošiami analogiškai, tik be pridėto fermento.

### **2.3.2. Fermentacija termofilinėmis pienarūgštėmis bakterijomis**

Į laboratorines stiklainaites pasveriami 20 g baltymų izoliatų, užpilama 100 ml distiliuoto vandens, pridedama 0,001 % (m. d.) cukraus. Remiantis ankstesniais moksliniais tyrimais [16], pridedant minimalų kiekį cukraus į fermentacijos mišinį, padidėja baltymų tirpumas bei pagreiteja fermentacijos procesas, nepakeičiant galutinio produkto kokybės ar sudėties. Masė maišoma 15 min. Pamatuojamos mėginių pH vertės prieš eksperimentą. Kadangi pH daro įtaką baltymų izoliatų funkcinėms savybėms, labai svarbu nustatyti šį parametą prieš modifikavimą biotechnologiniais metodais ir po jo. Pasveriami 0,0058 g termofilinės startinės kultūros (*Thermophilic Yoghurt Culture*). Ji ištirpinama 1 ml distiliuoto vandens ir įmaišoma į mėginį. Mišinys maišomas tris minutes. Mėginiai dedami į termostatą, fermentacija vykdoma 6 val., 41 °C temperatūroje. Pasibaigus fermentacijai, vėl pamatuojama mėginių pH. Mėginiai užšaldomi, liofilizuojami, sumalami ir laikomi – 18 °C iki tolimensių eksperimentų. Eksperimentas atliktas su sojos baltymų izoliatu ir su žirnių baltymų izoliatu. Kaip kontrolė, abu izoliatų tipai taip pat buvo paruošiami analogiškai, tik be pridėtos startinės kultūros.

### **2.3.3. Baltymų modifikavimas mezofilinėmis pienarūgštėmis bakterijomis**

20 g baltymų izoliatų užpilama 100 ml distiliuoto vandens. Pridedama 0,001 % (m. d.) cukraus. Masė maišoma 15 min. Pamatuojamas mėginių pH vertės prieš eksperimentą. Pasveriami 0,0018 g mezofilinės startinės kultūros (*Mesophilic Aromatic Culture*). Ji ištirpinama 1 ml distiliuoto vandens ir įmaišoma į mėginį. Mišinys maišomas tris minutes. Mėginiai dedami į termostatą, fermentacija vykdoma 6 val., 30 °C temperatūroje. Pasibaigus fermentacijai, pamatuojama mėginių pH. Mėginiai užšaldomi, liofilizuojami, sumalami ir laikomi – 18 °C iki tolimensių eksperimentų. Eksperimentas atliktas su sojos baltymų izoliatu ir su žirnių baltymų izoliatu. Kaip kontrolė, abu izoliatų tipai taip pat buvo paruošiami analogiškai, tik be pridėtos startinės kultūros.

### **2.3.4. Baltymų modifikavimas sausomis mielėmis**

Pasveriami 20 g baltymų izoliatų, užpilama 100 ml distiliuoto vandens. Pridedama 0,001 % (m. d.) cukraus. Masė maišoma 15 min. Pamatuojamas mėginių pH prieš eksperimentą. Pasveriami 1,32 g sausų mielių kultūros (*Sacromises cerevisiae*). Mielės sumaišomos su 1 ml distiliuoto vandens ir įmaišomos į mėginį. Mišinys maišomas tris minutes. Mėginiai patalpinami į termostatą, fermentacija vykdoma 6 val., 25 °C temperatūroje. Pasibaigus fermentacijai, pamatuojama mėginių pH. Eksperimentas atliktas su sojos baltymų izoliatu ir su žirnių baltymų izoliatu. Kaip kontrolė, abu izoliatų tipai taip pat buvo paruošiami analogiškai, tik be pridėtos startinės kultūros. Mėginiai užšaldomi, liofilizuojami, sumalami ir laikomi –18 °C iki tolimensių eksperimentų.

## **2.4. Ankštinių augalų baltymų izoliatų funkcinių savybių nustatymas**

### **2.4.1. Baltymų tirpumas**

Norint užtikrinti optimalų funkcionalumą maisto perdirbimo srityje, reikalingas geras baltymų tirpumas[6]. Gerai žinoma, kad kitos funkcinės savybės, tokios kaip emulsijų, gelių sudarymas ir putojimas, priklauso nuo baltymų tirpumo. Baltymų tirpumas yra įvairus ir tam įtakos turi polinių ir nepolinių grupių skaičius bei jų išdėstymas aplink molekulę [42]. Baltymų tirpumas priklauso nuo pH ir jonų stiprumo[6, 15, 44].

Pagrindiniai ankštinių augalų baltymai yra globulinai, kurių mažiausias tirpumas arti izoelektrinio taško (pI 4.5), didelis tirpumas aukščiau ir vidutiniškai žemiau izoelektrinio taško.

Baltymų tirpumo tyrimas buvo pagrįstas ankstesniu metodu [18] su nežymiais pakeitimais. 20 mg kiekvieno mėginio buvo ištirpinta 20 ml distiliuoto vandens ir maišoma, kol susidarė vienodos dispersijos (30 min.). Po to kiekvienos suspensijos pH buvo sureguliuotas iki norimos vertės, naudojant 1 M NaOH arba 1 M HCl. Vėliau suspensijos maišomos 1 valandą. Po to centrifuguojamos 4000 aps. / min. 15 min. Supernatante buvo matuojamas baltymų kiekis, naudojant Bradfordo metodą [47].

Baltymų kiekis buvo nustatytas Bradfordo metodu. 10 µg baltymų buvo pasvertas ir ištirpintas 0,1 N NaOH. Į šulinėlio plokštelę buvo įpilta 5 µl mėginio ir 250 ml Bradfordo reagento, maišoma purtiklyje ~ 30 s. Mėginiai buvo inkubuojami kambario temperatūroje 45 minutes. Mėginių absorbcija matuojama esant 595 nm spektrometru. Tada baltymų tirpumas buvo apskaičiuotas pagal šią lygtį:

$$\text{Tirpumas (\%)} = \text{baltymų kiekis supernatante} / \text{bendras baltymų kiekis} \times 100. \quad (2.1)$$

Eksperimentas atliktas su sojos baltymų izoliatais, kurie buvo modifikuoti su fermentu, termofilinėmis, mezofilinėmis pienarūgštėmis bakterijomis bei mielėmis ir su visais modifikuotais žirnių baltymų izoliatais bei abiejų izoliatų tipų kontroliniais mėginiais.

#### **2.4.2. Vandens sulaikymas ir aliejaus sulaikymo talpa**

Vandens sulaikymo talpa (VST) ir aliejaus sulaikymo talpa (AST) buvo analizuojami pagal ankščiau aprašytus metodus [26] su nežymiais pakeitimais. VST analizei atlikti, 1 g mėginio 24 val. buvo maišomas su 10 ml distiliuoto vandens. Po to centrifuguojamas 2750 aps./min., 30 min., 4 °C. Išmatuotas supernatanto tūris graduotame cilindre.

Norint nustatyti AST, 1 g mėginio buvo maišomas 30 minučių su 10 ml augalinio aliejaus. Mėginiai centrifuguojami 2750 aps./min., 30 min., 4 °C ir išmatuojamas supernatanto tūris. Rezultatai buvo išreikšti vandens ar aliejaus mililitrais, sulaikomais viename grame mėginio.

Eksperimentas atliktas su sojos baltymų izoliatais, kurie buvo modifikuoti su fermentu, termofilinėmis, mezofilinėmis pienarūgštėmis bakterijomis bei mielėmis ir su visais modifikuotais žirnių baltymų izoliatais bei abiejų izoliatų tipų kontroliniais mėginiais.

#### **2.4.3. Baltymų putojimas**

Maisto sistemose, tokiose kaip kepiniai, saldainiai ir desertai, baltymai veikia kaip putas formuojantys bei putas stabilizuojantys komponentai. Skirtingi baltymai turi skirtingas galimybes formuoti ir stabilizuoti putas. Tai susiję su skirtingomis baltymų fizikinėmis ir cheminėmis savybėmis. [6, 15, 55]. Idealiai putų susidarymo ir putų stabilizavimo baltymui būdinga maža molekulinė masė, didelis paviršiaus hidrofobiškumas, geras tirpumas, nedidelė pH vertė ir lengvas denatūravimas [42]. Baltymų putojimo savybės paprastai apibūdinamos kaip putojimo geba (PG) ir putojimo stabilumas (PS). Išmatuotas PG tūris (%) plakant parodo putų sudarymo galimybes, o putų tūris laikui bėgant (paprastai 0–30 min.) suteikia informacijos apie baltymo putų stabilumą [8].

Putojimo savybės buvo išreikštos kaip putojimo geba (PG) ir putų stabilumas (PS), kaip aprašyta ankstesniuose tyrimuose [29]. Putojimas buvo pasiektas per 15 sekundžių intensyviai plakant

elektriniu plakikliu. Mėginiai buvo įdėti į 250 ml graduotas stiklinėles, kuriose yra 30 ml 0,1 % baltymo tirpalo vandenyje. Bendras tūris buvo imamas po 0 min., nustatant putojimo gebą, ir po 3 min., kad būtų nustatytas susidariusių putų išlaikymo stabilumas. Putų savybės buvo išreikštos taip:

$$PG (\%) = (\text{tūris po plakimo} - \text{tūris prieš plakimą}) / \text{tūris prieš plakimą} \times 100, \quad (2.2)$$

$$PS (\%) = \text{likutinis tūris po 3 min.} / \text{bendras putų tūris} \times 100. \quad (2.3)$$

Eksperimentas atliktas su sojos baltymų izoliatais, kurie buvo modifikuoti su fermentu, termofilinėmis, mezofilinėmis pienarūgštėmis bakterijomis bei mielėmis ir su visais modifikuotais žirnių baltymų izoliatais bei abiejų izoliatų tipų kontroliniais mėginiais.

#### 2.4.4. Emulsijų sudarymas

Emulsijos yra nesimaišančių skysčių dispersinės sistemos, kurias stabilizuoja emulsikliai – junginiai, kurie sudaro sąsajos plėveles ir tokiu būdu neleidžia dispersinėms fazėms tekėti kartu. Baltymai, kaip paviršinio aktyvumo ir amfifiliniai junginiai, gali būti naudojami kaip emulsikliai plačiu mastu gaminant maisto sistemas. Baltymų emulsinės savybės paprastai apibūdinamos kaip gebėjimas emulguoti ir emulsijos stabilumas. Emulsijos stabilumas yra emulsijos stabilumo per tam tikrą laiką matas, o emulsijos aktyvumas – tai matuojamas, kiek aliejaus baltymas gali emulguoti baltymo vienetai [7].

Emulsijoms sudaryti buvo paruošti trys žirnių baltymų tirpalai, kurių pastovi baltymų koncentracija buvo 1,0 % (m / t) ir maišomi naudojant magnetinį maišiklį 2 valandas kambario temperatūroje, po to laikomi per naktį 4 °C temperatūroje, kad būtų galima visiškai hidratuoti. Kiekvienas baltymų tirpalas arba dispersija buvo sumaišytas su saulėgrąžų aliejumi. Tada dispersijos homogenizuotos naudojant 40 MPa slėgį. Po to 10 ml emulsijos alikvotinė dalis buvo supilama į du 15 ml centrifugos mėgintuvėlius ir 5 minutes buvo centrifuguota esant 1300 aps./min. Emulsinis aktyvumas buvo nustatytas taip:

$$EA = h_0/h_1 \cdot 100 \%, \quad (2.4)$$

čia  $h_0$  yra bendras emulsijos sluoksnio aukštis prieš centrifugavimą, o  $h_1$  yra visas emulsijos sluoksnio aukštis po centrifugavimo.

Įvairių emulsijų stabilumo indeksas (%) buvo nustatytas kaip aprašyta ankstesniuose tyrimuose [32], su kai kuriomis modifikacijomis. Kiekviena emulsija (10 ml) buvo įpilama į stiklinį mėgintuvėlį (1,5 cm vidinio skersmens 12 cm aukščio) ir laikoma kambario temperatūroje (statmenoje padėtyje). Serumo aukštis ( $H_s$ ) ir bendras emulsijos aukštis ( $H_t$ ) buvo užrašyti po išlaikymo iki 7 dienų kambario temperatūroje. Buvo gauti trijų pakartojimų vidutiniai ir standartiniai nuokrypiai. Stabilumo indekso procentas buvo nurodytas kaip:

$$(H_s / H_t) \cdot 100 \%. \quad (2.5)$$

Eksperimentas atliktas su sojos baltymų izoliatais, kurie buvo modifikuoti su fermentu, termofilinėmis, mezofilinėmis pienarūgštėmis bakterijomis bei mielėmis ir su visais modifikuotais žirnių baltymų izoliatais bei abiejų izoliatų tipų kontroliniais mėginiais.

## 2.4.5. Gelių sadarymas

Gelis yra dispersinė sistema, susidedanti iš mažiausiai dviejų komponentų, kurioje dispergentas sudaro vientisą tinklą. Jis pasižymi skysčio ir elastingumo deformacijos trūkumu. Globuliniai baltymai, tokie kaip ankštinių augalų baltymai, esant tam tikroms sąlygoms (po kaitinimo ir denatūravimo) gali sudaryti gelį. Paprastai šio tipo gelis apibūdinamas kaip agreguota dispersija [42]. Būtent, po denatūracijos ir tolesnio kaitinimo, baltymai kaupiasi ir sąveikauja su kitais baltymais sudarydami gelį arba krešulius. Kuris tipas bus formuojamas, priklauso nuo tokių sąlygų kaip molekulinė masė, kaitinimo laikas ir baltymų koncentracija [58]. Gelio formavimas yra sudėtingas ir tam įtakos turi baltymų koncentracija, vandens kiekis, jonų stiprumas, laikas ir temperatūra, taip pat pH ir sąveika su kitais maisto sistemos komponentais [58]. Šiomis proceso sąlygomis galima reguliuoti gelio formavimąsi. Baltymų ir angliavandenių kiekis, taip pat kitų junginių, tokių kaip skaidulos ar riebalai, esantys izoliatuose, gali paveikti jų funkcines savybes, daugiausia šilumos sukeltą geliaciją, kurioje gelio tvirtumas padidėja dėl krakmolo kiekio izoliatuose.

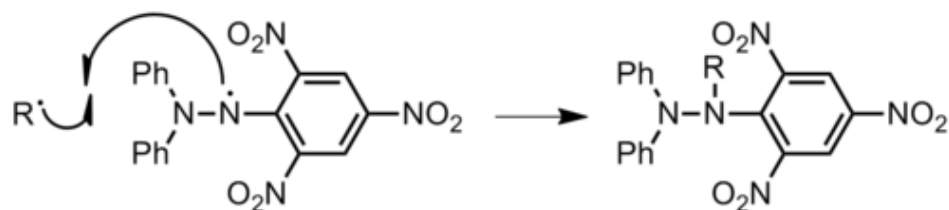
Mažiausia geliacijos koncentracija (MGK) buvo nustatyta ankstesniu metodu [42]. Paruoštos nuo 1 iki 20 % (m / t) žirnių baltymų izoliatų suspensijos ir 5 ml distiliuoto vandens. Suspensijos buvo kaitinamos 60 minučių vonioje 100 °C temperatūroje, po to 60 minučių aušinamos ledo vonioje. MGK buvo nustatyta kaip mažiausia koncentracija, kuri nenukrito ir neslydo apvertus mėgintuvėlių.

Eksperimentas atliktas su sojos baltymų izoliatais, kurie buvo modifikuoti su fermentu, termofilinėmis, mezofilinėmis pienarūgštėmis bakterijomis bei mielėmis ir su visais modifikuotais žirnių baltymų izoliatais bei abiejų izoliatų tipų kontroliniais mėginiais.

## 2.5. Ankštinių augalų antioksidacinės savybės

### 2.5.1. Antioksidacinis aktyvumas DPPH metodu

Fenoliniams junginiams yra būdingas antioksidacinis aktyvumas dėl jų gebėjimo slopinti laisvuosius radikalus. DPPH • nėra biologiškai svarbus radikalas, tačiau jis plačiai naudojamas natūralių junginių antioksidaciniam aktyvumui įvertinti [15, 20]. Vykstant reakcijai, antioksidantas atiduoda vandenilio atomą ir laisvieji radikalai įgauna stabilumą DPPH-H tipo junginiais (žr. 2.2 pav.).



2.2 pav. Radikalo DPPH• redukcijos reakcija su antioksidantu [31]

0,077 ml paruošto modifikuotų baltymų etanolinio ekstrakto buvo sumaišyta su 3 ml DPPH etanolinio tirpalo. DPPH etanolinis tirpalas gautas tirpinant 0,0024 g DPPH radikalo 100 ml metanolio. Mišinys laikomas 15 min. tamsoje, kambario temperatūroje. Po 15 min. išmatuojamas mėginių optinis tankis, naudojant spektrofotometrą. Bangos ilgis 515 nm. Palyginamajam tirpalui paruošti reikės 0,077 ml metanolio, 3 ml DPPH etanolinio tirpalo.

Procentinis antioksidacinis aktyvumas apskaičiuojamas pagal 2.6 formulę.



$$\text{Slopinimas (\%)} = \frac{A_b - A_a}{A_b} \cdot 100\%, \quad (2.6)$$

čia  $A_b$  – palyginamojo tirpalo šviesos sugertis;

$A_a$  – tiriamojo mėginio šviesos sugertis.

Eksperimentas atliktas su sojos baltymų izoliatais, kurie buvo modifikuoti su fermentu, termofilinėmis, mezofilinėmis pienarūgštėmis bakterijomis bei mielėmis ir su visais modifikuotais žirnių baltymų izoliatais bei abiejų izoliatų tipų kontroliniais mėginiais.

### 2.5.2. Redukcinių savybių nustatymas

Medžiagos redukcinės savybės nusako antioksidacinį aktyvumą. Kuo didesnė mėginio šviesos sugertis, tuo geresnės redukcines savybes ir antioksidacinis aktyvumas.

1 ml nucentrifuguoto etanolinio modifikuotų baltymų izoliato ekstrakto, sumaišomas su 1,25 ml 0,2 M fosfatinio buferio bei 1,25 ml  $K_3[Fe(CN)_6]$ . Mišinys inkubuojamas 20 min., 50 °C vandens vonelėje. Po to, pridedama 1,25 ml, 10 % trichloracto rūgšties. Centrifuguojama 10 min., 9000 aps./min.

1,25 ml nucentrifuguotas tirpalas praskiedžiamas su 1,25 ml distiliuotu vandeniu ir 0,25 ml, 0,1 %  $FeCl_3$ . Naudojant spektrofotometrą, išmatuojama mėginių šviesos sugertis, esant 700 nm bangos ilgiui. Palyginamasis (nulinis) tirpalas yra  $K_3[Fe(CN)_6]$ .

Eksperimentas atliktas su sojos baltymų izoliatais, kurie buvo modifikuoti su fermentu, termofilinėmis, mezofilinėmis pienarūgštėmis bakterijomis bei mielėmis ir su visais modifikuotais žirnių baltymų izoliatais bei abiejų izoliatų tipų kontroliniais mėginiais.

## 2.6. Juslinis vertinimas

Jusline analize vadinamas maisto ir kitų gaminių juslinių savybių (išvaizdos, kvapo, skonio) tyrimas žmogaus jutimo (regos, skonio, lietimo, uoslės ir klausos) organais. Greta fizikinių, cheminių ir mikrobiologinių metodų, jusliniai metodai plačiai taikomi gaminio kokybei nustatyti, nes ir moderniausiais instrumentiniais metodais negalima tiksliai įvertinti gaminio savybių visumos. Vertinant biotechnologinius sprendinius modifikuotų ankštinių augalų baltymų izoliatų gaminių kokybę buvo tiriamos šios juslinės savybės: spalva, kvapas ir skonis [57].

- Spalva – gaminio savybė sukelti spalvos pojūtį, atitinkantį jo sugeriamos ir atspindimos arba praleidžiamos šviesos spektrinę sudėtį ir intensyvumą.
- Kvapas – juslinė savybė, pajuntama nosimi uostant lakiąsias medžiagas ir sužadinus uoslės receptorius.
- Tekstūra – tai visos produkto mechaninės, geometrinės ir paviršiaus savybės, pajuntamos mechaniniais, lytėjimo ir, jeigu įmanoma, regos ir klausos receptoriais.
- Skonis – suprantamas kaip pojūčiai, suvokiami tam tikromis tirpiosiomis medžiagomis dirginant skonio receptorius, išsidėsčiusius liežuvyje, o taip pat burnos, gomurio, ryklės, gerklų gleivinėse [58].

Jusliniai rodikliai nustatomi pagal 2006 m. balandžio 17 d. LR žemės ūkio ministro įsakymu Nr. 3D-165 [59] patvirtintą juslinio vertinimo metodiką.

Paruošti 14 modifikuotų ankštinių augalų gaminiai ir pateikti jusliniam vertinimui. Pateikti po tris sojos ir žirnių baltymų izoliatų mėginiai po fermentacijos chimozinu (po 15 min., 30 min. ir 60 min.). Pateikiami dar po tris sojos ir žirnių baltymų izoliatų mėginiai, kurie buvo fermentuoti termofilinėmis, mezofilinėmis pienarūgštėmis bakterijomis ir mielėmis. Taip pat pakeikiamos jusliniam vertinimui abiejų ankštinių augalų baltymų izoliatų kontrolės. Iš 14 mėginių pagal visus kriterijus buvo išrinkti du izoliatų produktų mėginiai, kurie pasižymėjo geriausiomis juslinėmis savybėmis. Vertintojai, taikydami bendrojo skirtumo testus, įvertina izoliatų gaminių skonio kvapo ir spalvos intensyvumą kiekvienam mėginiui pagal sudarytą vertinimo skalę, kuri yra pateikta 1 priede.

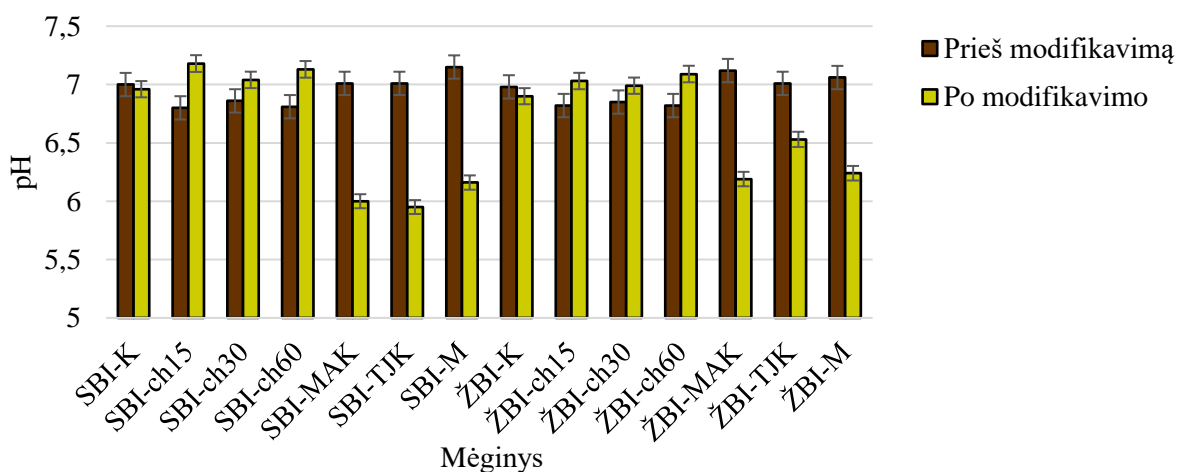
### 3. Tyrimų rezultatai ir jų aptarimas

#### 3.1. Ankštinių augalų baltymų izoliatų pH vertinimas prieš ir po biotechnologinio modifikavimo

Ankščiau apžvelgtoje literatūroje aptarta pH reikšmė baltymų tirpumui. Fermentacijos proceso metu vyksta pH sumažėjimas ir pasislinkimas į rūgštinę pusę. Rezultatai gauti po modifikavimo pateikti 3.1 lentelėje.

3.1 lentelė. Ankštinių augalų baltymų izoliatų pH kitimas

Eil. Nr.	Mėginys	pH prieš modifikavimą	pH po modifikavimo
1	SBI-ch15	6,80 ± 0,02	7,18 ± 0,01
2	SBI-ch30	6,86 ± 0,05	7,04 ± 0,04
3	SBI-ch60	6,81 ± 0,01	7,13 ± 0,01
4	SBI-MAK	7,01 ± 0,03	6,00 ± 0,07
5	SBI-TJK	7,01 ± 0,04	5,95 ± 0,02
6	SBI-M	7,15 ± 0,11	6,16 ± 0,04
7	SBI-K	7,00 ± 0,01	6,96 ± 0,01
8	ŽBI-ch15	6,82 ± 0,06	7,03 ± 0,01
9	ŽBI-ch30	6,85 ± 0,09	6,99 ± 0,03
10	ŽBI-ch60	6,82 ± 0,02	7,09 ± 0,05
11	ŽBI-MAK	7,12 ± 0,02	6,19 ± 0,01
12	ŽBI-TJK	7,01 ± 0,04	6,53 ± 0,09
13	ŽBI-M	7,06 ± 0,01	6,24 ± 0,12
14	ŽBI-K	6,98 ± 0,01	6,90 ± 0,01



SBI-K – sojos baltymų izoliato kontrolinis mėginys; SBI-ch15 – sojos baltymų izoliatas su chimozinu 15 min.; SBI-ch30 – sojos baltymų izoliatas su chimozinu 30 min.; SBI-ch60 – sojos baltymų izoliatas su chimozinu 60 min.; SBI-MAK – sojos baltymų izoliatas su mezofilinėmis aromato bakterijomis; SBI-TJK – sojos baltymų izoliatas su termofilinėmis jogurto bakterijomis; SBI-M – sojos baltymų izoliatas su mielėmis; ŽBI-K – žirnių baltymų izoliato kontrolinis mėginys; ŽBI-ch15 – žirnių baltymų izoliatas su chimozinu 15 min.; ŽBI-ch30 – žirnių baltymų izoliatas su chimozinu 30 min.; ŽBI-ch60 – žirnių baltymų izoliatas su chimozinu 60 min.; ŽBI-MAK – žirnių baltymų izoliatas su mezofilinėmis aromato bakterijomis; ŽBI-TJK – žirnių baltymų izoliatas su termofilinėmis jogurto bakterijomis; ŽBI-M – žirnių baltymų izoliatas su mielėmis.

3.1 pav. Ankštinių augalų baltymų izoliatų pH kitimo grafikas

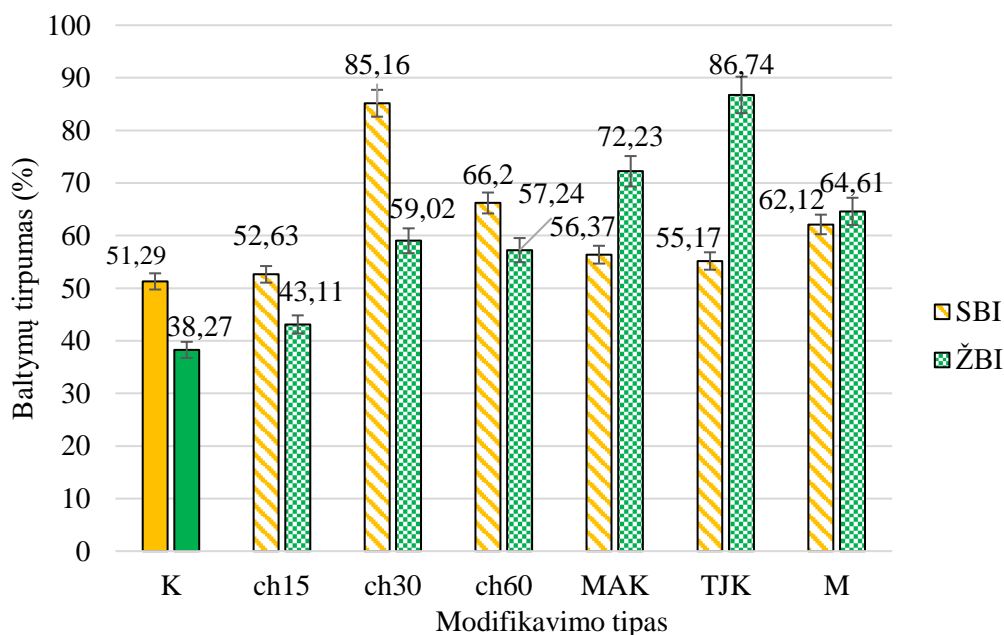
Kaip matyti iš pateiktų duomenų, kuo ilgesnis fermentacijos laikas, tuo pH vertė labiau pasislenka į rūgštinę pusę.

## 3.2. Ankštinių augalų baltymų izoliatų funkcinės savybės

### 3.2.1. Baltymų tirpumas

Tirpumas yra viena iš svarbiausių baltymų funkcinų savybių, nes kitos baltymų funkcinės savybės, tokios kaip emulsijų ir gelių sudarymas, putų formavimas yra tiesiogiai su tuo susiję [11 – 13].

Norint nustatyti biotechnologinio modifikavimo įtaką baltymų izoliatų tirpumui, visų mėginių pH buvo sureguliuotas iki 7,0. Išmatuotas jų tirpumas ir palyginamas sojos ir žirnių baltymų izoliatų tirpumas. Taip pat, rezultatai lyginami su kontroliniais baltymų izoliatų mėginiais ir pateikiami 3.2 paveiksle.



**SBI-K** – sojos baltymų izoliato kontrolinis mėginys; **SBI-ch15** – sojos baltymų izoliatas su chimozinu 15 min.; **SBI-ch30** – sojos baltymų izoliatas su chimozinu 30 min.; **SBI-ch60** – sojos baltymų izoliatas su chimozinu 60 min.; **SBI-MAK** – sojos baltymų izoliatas su mezofilinėmis aromato bakterijomis; **SBI-TJK** – sojos baltymų izoliatas su termofilinėmis jogurto bakterijomis; **SBI-M** – sojos baltymų izoliatas su mielėmis; **ŽBI-K** – žirnių baltymų izoliato kontrolinis mėginys; **ŽBI-ch15** – žirnių baltymų izoliatas su chimozinu 15 min.; **ŽBI-ch30** – žirnių baltymų izoliatas su chimozinu 30 min.; **ŽBI-ch60** – žirnių baltymų izoliatas su chimozinu 60 min.; **ŽBI-MAK** – žirnių baltymų izoliatas su mezofilinėmis aromato bakterijomis; **ŽBI-TJK** – žirnių baltymų izoliatas su termofilinėmis jogurto bakterijomis; **ŽBI-M** – žirnių baltymų izoliatas su mielėmis.

**3.2 pav.** Ankštinių augalų baltymų izoliatų tirpumo palyginimas po modifikavimo

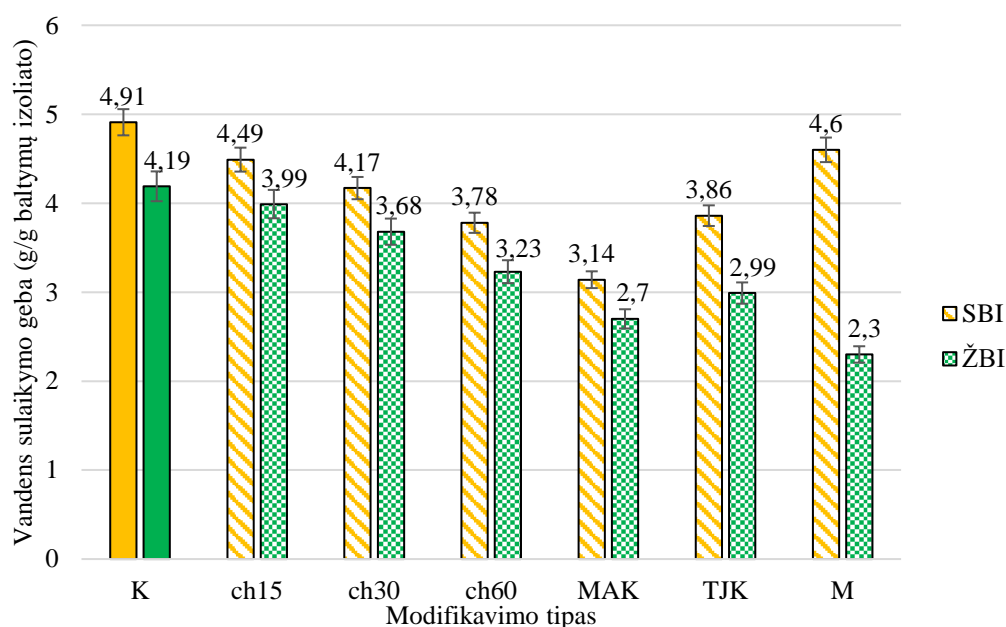
Modifikuojant baltymų izoliatus, jų tirpumas padidėja. Tam turi įtakos ir hidrofobinių savybių pasikeitimas po modifikavimo. Panašius rezultatus gavo mokslininkai iš Kinijos 2017 m. [9]. Mokslininkų grupė tyrė sojos baltymų izoliato tirpumą po fermentacijos skirtingomis mielėmis ir grybais. Jų pateikti rezultatai rodo, kad fermentacija didina sojos baltymų tirpumą. Šiame tyrime žirnių baltymų izoliato, modifikuoto termofilinėmis jogurto bakterijomis, tirpumas pagerėjo beveik dvigubai, lyginant su kontroliniu žirnių baltymų mėginiu.

### 3.2.2. Vandens ir aliejaus sulaikymo geba

Baltymų vandens sulaikymo geba yra funkcinė savybė, kuriai turi įtakos daug kitų parametru, įskaitant baltymų monomerų dydį, formą, sterinius veiksnius, konformacines charakteristikas, hidrofilinį – hidrofobinį aminorūgščių balansą baltymų molekulėse, taip pat lipidus, angliavandenius ir taninus, susijusius su baltymais. Sistemos termodinaminės savybės, fizikinė ir cheminė aplinka (pH, jonų stipris, garų slėgis, temperatūra, aktyviųjų paviršiaus medžiagų buvimas ar nebuvimas) ir

baltymų molekulių tirpumas yra vieni pagrindinių veiksnių, lemiančių vandens sulaikymo gebėjimą baltymų izoliatuose [41]. Tačiau baltymų molekulių polinės amino grupės yra pagrindinės baltymo ir vandens sąveikos vietos. Katijoninės, anijoninės ir nejoninės vietos suriša skirtingą vandens kiekį [44]. Baltymų izoliatų VSG skirtumai gali atsirasti dėl baltymų koncentracijos ir galbūt jų konformacinių savybių. Kanados mokslininkų atlikti tyrimai (2001 m.) rodo, kad šaltyje džiovintų žirnių baltymų izoliatų vandens sulaikymo geba yra mažesnė nei izoliatų, gautų purškiant purkštuvine džiovykle.

Atliekant modifikavimą biotechnologiniais procesais, ankštinių augalų baltymų izoliatų vandens sulaikymo geba sumažėjo (žr. 3.3 paveikslas). ŽBI vandens sulaikymas po modifikavimo sumažėjo nuo 0,2 iki 1,89 gramų vandens/grame baltymų izoliato, tuo tarpu SBI, nuo 0,31 iki 1,77 g/g baltymų izoliato. Didesnės sojos vandens absorbcijos galimybės, palyginti su žirnių baltymų izoliatu, atsirado dėl geresnių sojos baltymų hidratacijos savybių, taip pat gali atsirasti dėl netirpių angliavandenių, esančių komerciniuose sojos izoliatuose.

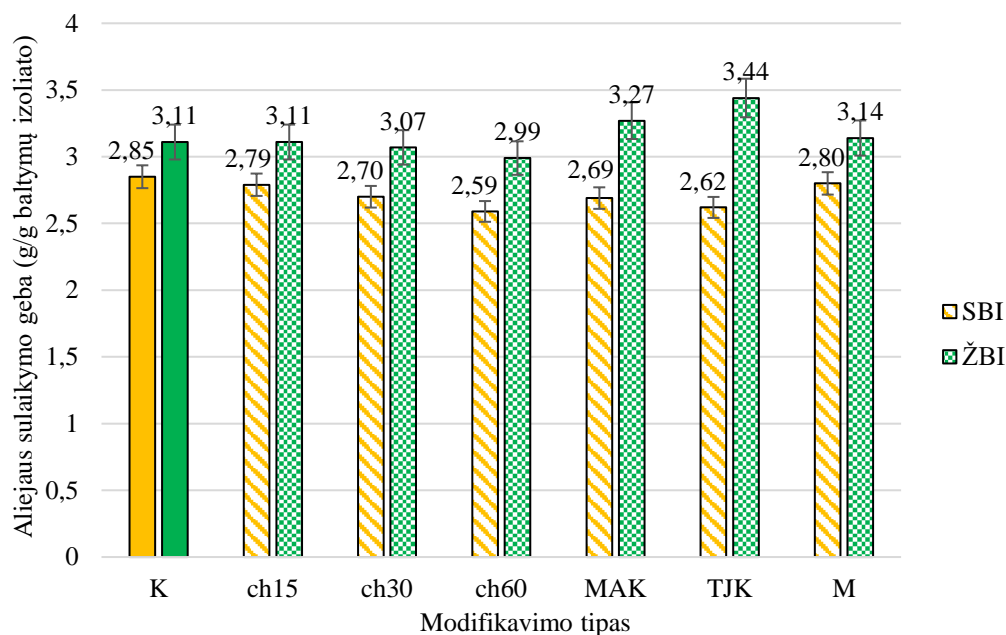


**SBI-K** – sojos baltymų izoliato kontrolinis mėginys; **SBI-ch15** – sojos baltymų izoliatas su chimozinu 15 min.; **SBI-ch30** – sojos baltymų izoliatas su chimozinu 30 min.; **SBI-ch60** – sojos baltymų izoliatas su chimozinu 60 min.; **SBI-MAK** – sojos baltymų izoliatas su mezofilinėmis aromato bakterijomis; **SBI-TJK** – sojos baltymų izoliatas su termofilinėmis jogurto bakterijomis; **SBI-M** – sojos baltymų izoliatas su mielėmis; **ŽBI-K** – žirnių baltymų izoliato kontrolinis mėginys; **ŽBI-ch15** – žirnių baltymų izoliatas su chimozinu 15 min.; **ŽBI-ch30** – žirnių baltymų izoliatas su chimozinu 30 min.; **ŽBI-ch60** – žirnių baltymų izoliatas su chimozinu 60 min.; **ŽBI-MAK** – žirnių baltymų izoliatas su mezofilinėmis aromato bakterijomis; **ŽBI-TJK** – žirnių baltymų izoliatas su termofilinėmis jogurto bakterijomis; **ŽBI-M** – žirnių baltymų izoliatas su mielėmis.

### 3.3 pav. Vandens sulaikymo geba baltymų izoliatuose po modifikavimo

Aliejaus sulaikymo gebai (ASG) fermentacijos laikas turėjo reikšmingą poveikį. ASG padidėjo visuose mėginiuose. ŽBI padidėjo nuo 3,01 g/g (kontrolinis mėginys) iki 3,44 g/g (ŽBI-TJK). Tai reiškia, fermentacijos proceso metu aliejaus absorbcija žirnių baltymų izoliatuose, modifikuotame termofilinėmis jogurto bakterijomis, padidėjo 0,43 gramais (žr. 3.4 paveikslas). Tai galėjo lemti pH pokyčiai vykstant fermentacijai. Sumažėjus pH, sumažėjo baltymo paviršiaus krūvis ir tirpumas, taip pat padidėjo hidrofobiškumas, dėl to galimai padidėjo baltymų sąveika su aliejumi. Fermentacijos metu baltymai iš dalies išsivynioja, kad atsirastų jų struktūroje paslėptos hidrofobinės grupės, galinčios surišti aliejų. Fermentacija taip pat padidino bakterijų biomasę, o tai, šiuo atveju, teigiamai pakeitė ASG. Šie gauti tyrimų rezultatai turi panašumų su ankščiau atliktais moksliniais tyrimais. Mokslininkai iš Australijos 2016 [55] metais atliko tyrimus su fermentuotais avinžirniais ir

pupelėmis, kurių ASG taip pat padidėjo po fermentacijos mikroorganizmais. Dar vieni Kanados mokslininkų atlikti tyrimai 2017 m. pranešė apie panašų ASG padidėjimą, padidėjus žirnių miltų hidrolizės laipsniui (fermentiniu būdu) [56].



**SBI-K** – sojos baltymų izoliato kontrolinis mėginys; **SBI-ch15** – sojos baltymų izoliatas su chimozinu 15 min.; **SBI-ch30** – sojos baltymų izoliatas su chimozinu 30 min.; **SBI-ch60** – sojos baltymų izoliatas su chimozinu 60 min.; **SBI-MAK** – sojos baltymų izoliatas su mezofilinėmis aromato bakterijomis; **SBI-TJK** – sojos baltymų izoliatas su termofilinėmis jogurto bakterijomis; **SBI-M** – sojos baltymų izoliatas su mielėmis; **ŽBI-K** – žirnių baltymų izoliato kontrolinis mėginys; **ŽBI-ch15** – žirnių baltymų izoliatas su chimozinu 15 min.; **ŽBI-ch30** – žirnių baltymų izoliatas su chimozinu 30 min.; **ŽBI-ch60** – žirnių baltymų izoliatas su chimozinu 60 min.; **ŽBI-MAK** – žirnių baltymų izoliatas su mezofilinėmis aromato bakterijomis; **ŽBI-TJK** – žirnių baltymų izoliatas su termofilinėmis jogurto bakterijomis; **ŽBI-M** – žirnių baltymų izoliatas su mielėmis.

### 3.4 pav. Aliejaus sulaikymo geba baltymų izoliatuose po modifikavimo

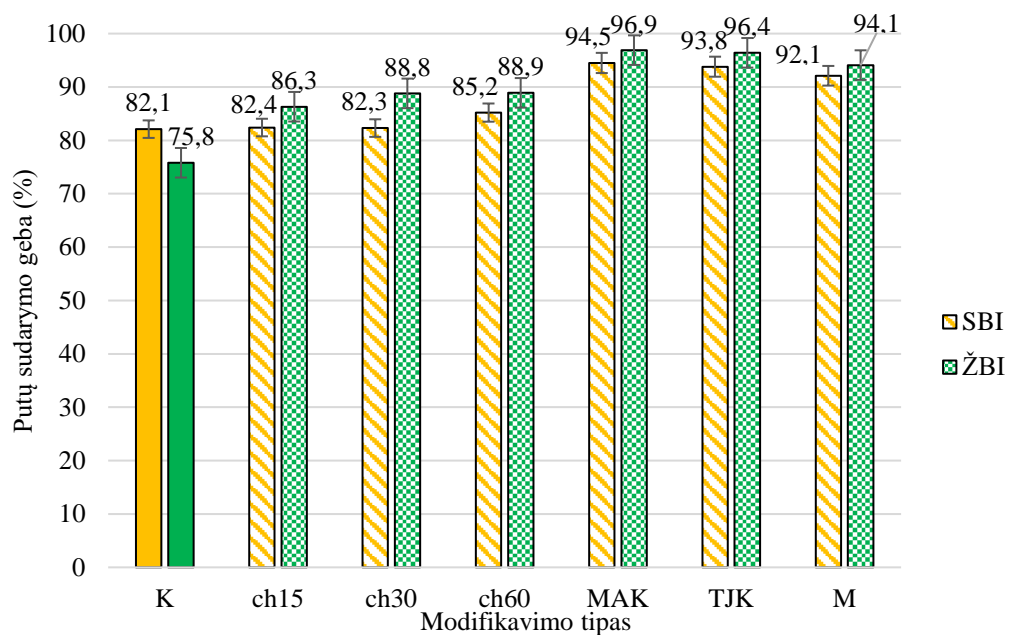
Mažesnis sojos baltymų izoliato riebalų surišimo pajėgumas rodo, kad baltymų molekulių paviršiuje yra didesnė hidrofiliųjų, palyginti su hidrofobinėmis grupėmis, dalis [57].

Didesnės žirnių baltymų izoliato aliejaus absorbcijos galimybės rodo, kad šie baltymai turi daugiau lipofilinių centrų nei sojos baltymų izoliatas. Baltymų jungimosi su riebalais mechanizmas turi įtakos lipidų ir baltymų kompleksai ir baltymų kiekis [58]. Taip pat negalima atmeti naudojamo izoliatų džiovavimo metodo poveikio.

### 3.2.3. Patojimas ir putų stabilumas

Baltymų izoliatų putojimo savybės apibendrintos 3.5 paveiksle. Šios vertės parodo tūrio procentų padidėjimą, plakant 1 % baltymų izoliatų 100 ml vandens, o putų stabilumas (PS) yra putų tūris (žr. 3.6 pav.), likęs po nustatyto laiko, kaip pradinio putų tūrio procentinė dalis.

Ankštinių augalų baltymų izoliatų putų sudarymo geba (PG) ir putų stabilumas (PS) yra pateikti atitinkamai 3.5 ir 3.6 paveiksluose. Fermentacijos laikas, pH ir su jais susijusi sąveika turėjo labai didelę įtaką putų sudarymo gebai ir putų stabilumui. Panašiai kaip emulsijos, baltymo putų formavimo savybės priklauso nuo jo sugebėjimo migruoti į oro-vandens sąsają, kad būtų mažesnis paviršiaus įtempis, o vėliau hidrofobines grupes priderinti prie apoliarinės fazės, o hidrofobines grupes – prie polinės fazės. Kai pH = 7, fermentacijos laikotarpiu buvo akivaizdus tam tikras kintamumas, tačiau PG reikšmės išliko gana pastovios, apytiksliai 95 % (žr. 3.5 pav.). Tai greičiausiai lėmė santykinai pastovios paviršiaus savybės esant šiam pH.



**SBI-K** – sojos baltymų izoliato kontrolinis mėginys; **SBI-ch15** – sojos baltymų izoliatas su chimozinu 15 min.; **SBI-ch30** – sojos baltymų izoliatas su chimozinu 30 min.; **SBI-ch60** – sojos baltymų izoliatas su chimozinu 60 min.; **SBI-MAK** – sojos baltymų izoliatas su mezofilinėmis aromato bakterijomis; **SBI-TJK** – sojos baltymų izoliatas su termofilinėmis jogurto bakterijomis; **SBI-M** – sojos baltymų izoliatas su mielėmis; **ŽBI-K** – žirnių baltymų izoliato kontrolinis mėginys; **ŽBI-ch15** – žirnių baltymų izoliatas su chimozinu 15 min.; **ŽBI-ch30** – žirnių baltymų izoliatas su chimozinu 30 min.; **ŽBI-ch60** – žirnių baltymų izoliatas su chimozinu 60 min.; **ŽBI-MAK** – žirnių baltymų izoliatas su mezofilinėmis aromato bakterijomis; **ŽBI-TJK** – žirnių baltymų izoliatas su termofilinėmis jogurto bakterijomis; **ŽBI-M** – žirnių baltymų izoliatas su mielėmis.

### 3.5 pav. Ankštinių augalų baltymų izoliatų putų sudarymo gebos palyginimas po modifikavimo

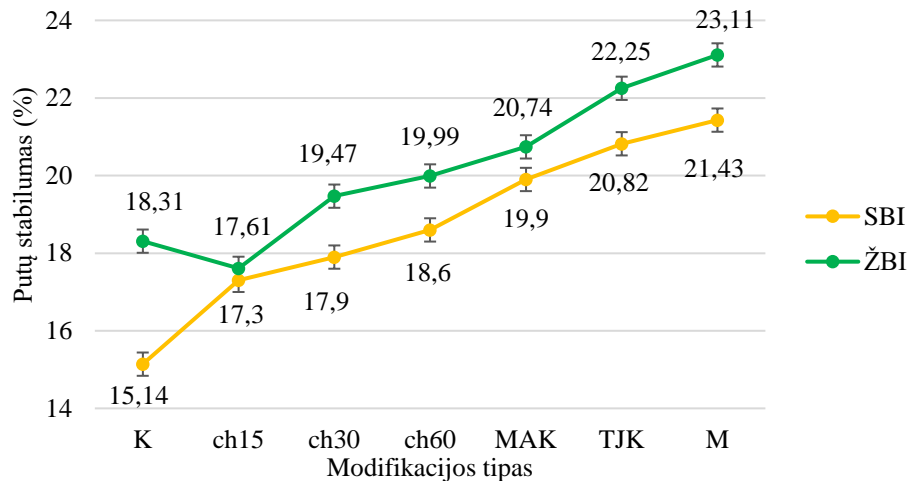
Lyginant ŽBI ir SBI kontrolinius mėginius be biotechnologinio modifikavimo, matyti, kad putų sudarymo geba labiau pasižymi sojos baltymų izoliatas (atitinkamai 75,8 % ir 82,1 %). Mažesnė ŽBI putų sudarymo geba gali atsirasti dėl elektrostatiinių atstūmimų [57]. Tačiau po fermentacijos, ši baltymų funkcinė putų sudarymo savybė pasikeitė. ŽBI po modifikacijos sudaro putas geriau nei SBI ir putos išlieka ilgiau stabilios (žr. 3.5 pav). Kai kurių baltymų izoliatų putų išsiplėtimas gali padidėti dėl padidėjusio tirpumo po modifikavimo, greito išsiskyrimo oro ir vandens sąsajoje, ribotos baltymų paviršiaus aktyviųjų medžiagų molekulių tarpmolekulinės sanglaudos ir lankstumo.

Chimozinas pagerino PG visuose mėginiuose, lyginant su kontroliniais mėginiais. Remiantis rezultatais, 60 minučių chimozino poveikis padidino ŽBI putų sudarymo gebą iki 86,3 % ir SBI iki 82,4 %. Tam galėjo turėti įtakos hidrolizės trukmė ir hidrolizės laipsnis. Tuo tarpu, po 15 min., mažiausiai apdorotų izoliatų mėginių putų sudarymas padidėjo nežymiai, bet šiek tiek geriau nei pradiniai mėginiai be modifikavimo.

Keli autoriai ištyrė ankštinių augalų baltymų izoliatų putojimo savybes [6, 11]. Remiantis šiais tyrimais, izoliatų putojimo savybės priklauso nuo pH ir koncentracijos. Be to, pradinės sėklos baltymų lygis ir baltymų sudėtis, jų gamybai naudojamas perdirbimo būdas turi įtakos ankštinių augalų baltymų produktų putojimo savybėms [7, 8, 20, 47, 55].

Putų stabilumas (PS) buvo santykinai pastovus apytiksliai 20 %. Buvo iškelta hipotezė, kad ilgesnis fermentacijos laikas lemia didesnę hidrofobiškumą, kuris galėjo užkirsti kelią baltymų migracijai į oro – vandens sąsają, kur putų burbulai nuolat lūžinėjo ir formavosi.

Putų stabilumas (PS) po biotechnologinio modifikavimo buvo pagerintas. Pavyzdžiui, 60 minučių apdorotų ŽBI mėginių stabilumas buvo maždaug 1,68 % didesnis nei pradinio izoliato. Laikui bėgant, putų tūris mažėjo.



**SBI-K** – sojos baltymų izoliato kontrolinis mėginys; **SBI-ch15** – sojos baltymų izoliatas su chimozinu 15 min.; **SBI-ch30** – sojos baltymų izoliatas su chimozinu 30 min.; **SBI-ch60** – sojos baltymų izoliatas su chimozinu 60 min.; **SBI-MAK** – sojos baltymų izoliatas su mezofilinėmis aromato bakterijomis; **SBI-TJK** – sojos baltymų izoliatas su termofilinėmis jogurto bakterijomis; **SBI-M** – sojos baltymų izoliatas su mielėmis; **ŽBI-K** – žirnių baltymų izoliato kontrolinis mėginys; **ŽBI-ch15** – žirnių baltymų izoliatas su chimozinu 15 min.; **ŽBI-ch30** – žirnių baltymų izoliatas su chimozinu 30 min.; **ŽBI-ch60** – žirnių baltymų izoliatas su chimozinu 60 min.; **ŽBI-MAK** – žirnių baltymų izoliatas su mezofilinėmis aromato bakterijomis; **ŽBI-TJK** – žirnių baltymų izoliatas su termofilinėmis jogurto bakterijomis; **ŽBI-M** – žirnių baltymų izoliatas su mielėmis.

### 3.6 pav. Ankštinių augalų baltymų izoliatų putų stabilumo palyginimas po modifikavimo

Įvairūs veiksniai galėjo prisidėti prie greitesnio putų susidarymo kartu su jų stabilumu modifikuotuose mėginiuose. Yra žinoma, kad padidėjęs baltymo difuzijos greitis iki sąsajos ir denatūracijos greitis sąsajoje padidina mėginio gebėjimą formuoti putas. Šios vertės savo ruožtu priklauso nuo molekulinės masės, paviršiaus hidrofobiškumo ir konformacijos stabilumo. Pagrindinių baltymų hidrolizės produktų molekulinės masės skirtumą galima paaiškinti jų savybių skirtumais, tokiais kaip: polinkis į disociaciją, lankstumas ir hidrofiliųjų bei hidrofobinių parametrų santykis. Putų stabilumas priklauso nuo baltyminės plėvelės stiprumo ir jos pralaidumo dujoms [60]. Aiškus putų nestabilumas ŽBI kontroliniuose mėginiuose esant aukštesnei pH vertei greičiausiai yra susijęs su tuo, kad esant šiam pH, tiek vicilinas, tiek konvicilinas yra savo trimerinės formos, o leguminas – heksamero pavidalu. Dėl didelių molekulinė masių šie baltymai negali sudaryti stiprių ryšių oro ir vandens sąsajoje, todėl jie patiria daug daugiau gravitacinės traukos nei modifikuoti izoliatai [11].

Lenkijos mokslininkai 2007 metais [45, 61] palygintos sojos ir žirnių baltymų izoliatų putojimo savybės. Jie parodė, kad žirnių baltymų izoliatai yra putų sudarymo agentai, pasižymintys lankstesne polipeptido konformacija esant pH 3,0 ir 7,0, palyginti su sojos baltymų izoliatu. Kita mokslininkų grupė iš Vengrijos 2001 metais [46, 62] parodė prastesnę žirnių baltymų izoliato putojimą, palyginti su sojos baltymų izoliatu. Priešingus šių tyrimų rezultatus galima priskirti daugybei veiksnių, įskaitant perdirbimo sąlygas ir skirtingą tiriamų izoliatų baltymų sudėtį.

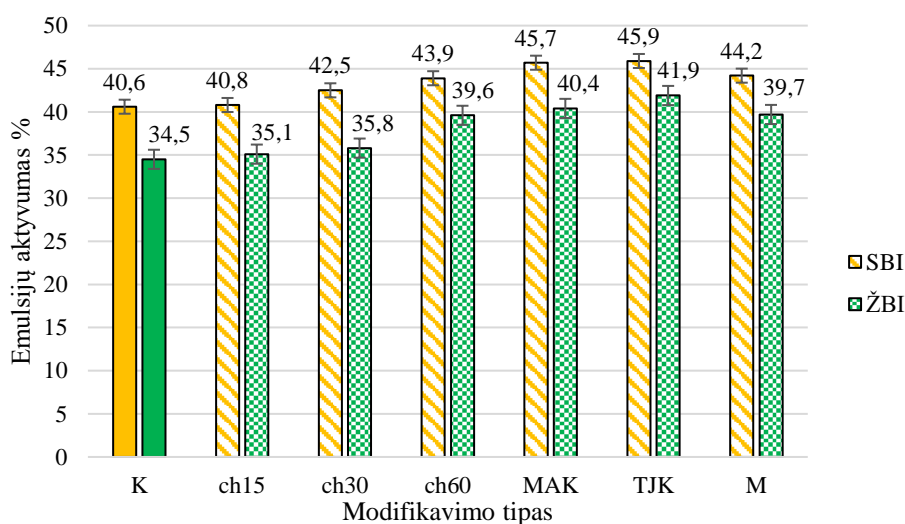
#### 3.2.4. Emulsijų sudarymas ir stabilumas

Fermentuoto baltymų izoliato emulsinis aktyvumas (EA) ir emulsijos stabilumas (ES) yra pateikti 3.7 ir 3.8 paveiksluose. Fermentacijos laikas, pH ir su jais susijusi sąveika daro labai didelę įtaką tiek EA, tiek ES. EA atspindi baltymų sugebėjimą skatinti naujai susidariusių dispersinių dalelių susidarymą emulsijose, o ES vertė atspindi jų stabilumą.



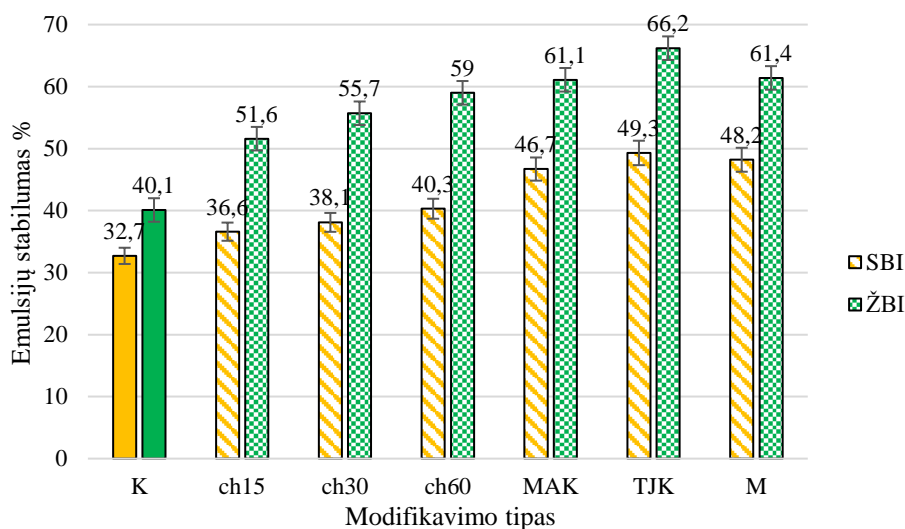
Geros sojų baltymų izoliato emulsinės savybės yra susijusios ne tik su dideliu baltymų kiekiu, bet ir su didesniu tirpumu. Sferinės formos užpildai, kurių dauguma hidrofiliųjų grupių yra paviršiuje, lengvai hidratuojami [9]. Dėl to jie gali sudaryti geras emulsijas, nes tirpūs baltymai riebalų lašelius supa plona stabilizuojančia plėvele, kuri palengvina emulsijos susidarymą. Biotechnologinis modifikavimas padidino baltymų tirpumą vandenyje (žr. 3.2 lentelė). Taigi šių izoliatų emulsinės savybės pasireiškia geriau nei žirnių baltymų izoliato, ką patvirtino ir daugelis kitų autorių [9, 60].

Emulsijos aktyvumas (EA) sojos baltymų izoliato prieš apdorojimą ir apdorojus 15 min. chimozino fermentu, buvo apie 40 %. Padidėjęs hidrofobiškumas galėjo paveikti baltymo sugebėjimą migruoti į aliejaus-vandens sąsają, kad sumažėtų paviršiaus įtempimas ir palengvėtų emulsijos formavimasis ir galbūt būtų galima skatinti išsiskyrusių peptidų ir nehidrolizuotų baltymų kaupimąsi [35]. ŽBI emulsijos susidarymas prieš fermentaciją buvo mažesnis (EA 34,5 %). Vicilino ir legumino santykis turi didelę įtaką emulsinėms savybėms žirnių baltymų izoliatuose. Kelių tyrėjų [30, 36, 37, 50] rezultatai parodė, kad prigimtinė vicilino forma turėjo geresnes emulsines savybes nei leguminas. Tai galima priskirti prie mažiau kompaktiškos ir nelanksčios prigimtinės vicilino struktūros.



**SBI-K** – sojos baltymų izoliato kontrolinis mėginys; **SBI-ch15** – sojos baltymų izoliatas su chimoziniu 15 min.; **SBI-ch30** – sojos baltymų izoliatas su chimoziniu 30 min.; **SBI-ch60** – sojos baltymų izoliatas su chimoziniu 60 min.; **SBI-MAK** – sojos baltymų izoliatas su mezofilinėmis aromato bakterijomis; **SBI-TJK** – sojos baltymų izoliatas su termofilinėmis jogurto bakterijomis; **SBI-M** – sojos baltymų izoliatas su mielėmis; **ŽBI-K** – žirnių baltymų izoliato kontrolinis mėginys; **ŽBI-ch15** – žirnių baltymų izoliatas su chimoziniu 15 min.; **ŽBI-ch30** – žirnių baltymų izoliatas su chimoziniu 30 min.; **ŽBI-ch60** – žirnių baltymų izoliatas su chimoziniu 60 min.; **ŽBI-MAK** – žirnių baltymų izoliatas su mezofilinėmis aromato bakterijomis; **ŽBI-TJK** – žirnių baltymų izoliatas su termofilinėmis jogurto bakterijomis; **ŽBI-M** – žirnių baltymų izoliatas su mielėmis.

**3.7 pav.** Ankštinių augalų baltymų izoliatų emulsijų sudarymo aktyvumo palyginimas po modifikavimo



**SBI-K** – sojos baltymų izoliato kontrolinis mėginys; **SBI-ch15** – sojos baltymų izoliatas su chimozinu 15 min.; **SBI-ch30** – sojos baltymų izoliatas su chimozinu 30 min.; **SBI-ch60** – sojos baltymų izoliatas su chimozinu 60 min.; **SBI-MAK** – sojos baltymų izoliatas su mezofilinėmis aromato bakterijomis; **SBI-TJK** – sojos baltymų izoliatas su termofilinėmis jogurto bakterijomis; **SBI-M** – sojos baltymų izoliatas su mielėmis; **ŽBI-K** – žirnių baltymų izoliato kontrolinis mėginys; **ŽBI-ch15** – žirnių baltymų izoliatas su chimozinu 15 min.; **ŽBI-ch30** – žirnių baltymų izoliatas su chimozinu 30 min.; **ŽBI-ch60** – žirnių baltymų izoliatas su chimozinu 60 min.; **ŽBI-MAK** – žirnių baltymų izoliatas su mezofilinėmis aromato bakterijomis; **ŽBI-TJK** – žirnių baltymų izoliatas su termofilinėmis jogurto bakterijomis; **ŽBI-M** – žirnių baltymų izoliatas su mielėmis.

### 3.8 pav. Ankštinių augalų baltymų izoliatų emulsijų stabilumo palyginimas po modifikavimo

Žirnių baltymais stabilizuotos emulsijos yra stabilesnės, nei SBI mėginių, ir jų dalelių dydžio pasiskirstymas šiomis sąlygomis yra homogeniškesnis. ŽBI emulsijų stabilumas 20 % didesnis nei SBI (žr. 3.8 pav.)

Keli tyrėjai palygino žirnių ir sojos baltymų izoliatų emulsines savybes ir buvo gauti priešingi rezultatai. Ankstesni amerikiečių mokslininkų darbai [52, 69] darbai parodė, kad žirnių baltymų emulsinės savybės yra geresnės, palyginti su sojos baltymais. Vengrijos moklinės grupės atlikti darbai [61] pranešė, kad žirnių izoliatas turėjo panašias ar geresnes emulsines savybes nei sojos baltymų izoliatai. Taip pat nustatyta, kad žirnių izoliatai, palyginti su sojos baltymų izoliatu, turi gana gerą emulsijos stabilumą, tačiau yra mažiau aktyvūs.

#### 3.2.5. Gelių sudarymas

MGK nustato mažiausią baltymų kiekį, galintį sukurti tvirtą gelio tinklą, todėl mažesnė MGK vertė rodo didesnę gelinimo sugebėjimą (žr. 3.2 lentelė).

Deja, šiame tyrime nepavyko pasiekti aiškaus mechanizmo, pabrėžiančio modifikavimo procesą gelių sudaryme. Tai galėjo lemti keletas neaiškių padarinių, susijusių su paviršiaus savybių ir tirpumo pokyčiais fermentacijos metu, pH, bei kitų veiksnių, neišmatuotų kaip šio tyrimo dalis (tokių kaip dalelių dydžio, plėvelės, susidariusios baltymo ir vandens sąsajoje, koncentracija ir viskoelastingumas).

Atlikus gelių sudarymo tyrimą, matyti, kad sojos baltymų izoliato sudaryti geliai yra vientisesni ir stabilesni, nei žirnių. ŽBI sudaro silpnus, šilumos sukeltus gelius. Šiame darbe tirtų ankštinių augalų baltymų izoliatų geliacija priklauso nuo temperatūros, taip pat turi įtakos baltymų denatūracijos laipsnis. Jei denatūracijos laipsnis yra mažesnis, susidaro stipresnis gelis [62]. Baltymų koncentracija taip pat yra svarbus veiksnys geliacijos savybėse. Didesnės koncentracijos paprastai sukuria stipresnius gelius.

Šildymo ir aušinimo greitis yra svarbūs veiksniai, turintys įtakos žirnių baltymų geliacijos savybėms. Kaitinimo greitis paveikė gelių sudarymą, dėl didesnio kaitinimo greičio sulėtėjo geliacijos procesas. Didesnis šildymo ir aušinimo greitis silpnino gelio elastingumą.

Mokslininkai iš Austrijos (2010) [63] pranešė, kad druskos ekstrakcijos būdu gauti žirnių baltymų izoliatai leido atlikti želatinizaciją net 5,5 % MGK, kuris buvo laikomas dideliu gėlinimo gebėjimu. Žirnių baltymų MGK šiame tyrime, šilumos poreikio sukeltas gelio susidarymas esant neutraliam pH 7,1 buvo lygus 14 % (žr. 3.2 lentelė). Tai buvo labai artima Aleskoje atliktiems tyrimams (2005) ataskaitoms [64], kur žirnių baltymų izoliatams MGK buvo lygi 16 %. Hidrofobinė sąveika yra lemiamas veiksnys formuojant baltymų gelio tinklus.

**3.2 lentelė.** Ankštinių augalų baltymų izoliatų gelių sudarymas priklausomai nuo baltymų koncentracijos

Mėginiai	Koncentracija %																			
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
SBI-K	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
SBI-ch15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
SBI-ch30	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
SBI-ch60	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
SBI-MAK	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
SBI-TJK	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
SBI-M	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
ŽBI-K	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
ŽBI-ch15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
ŽBI-ch30	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
ŽBI-ch60	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
ŽBI-MAK	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
ŽBI-TJK	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
ŽBI-M	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+

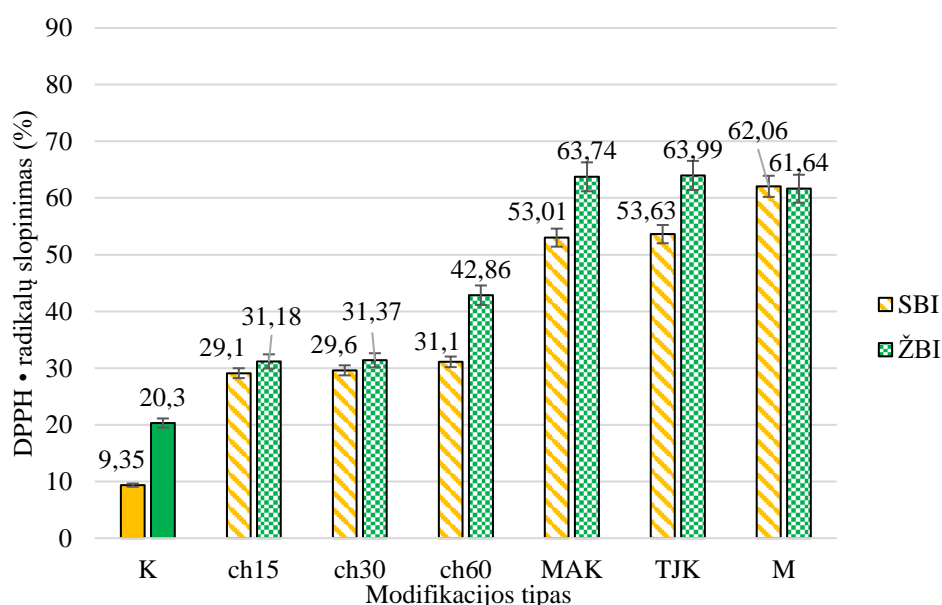
Ankščiau atlikti mokslininkų tyrimai [59, 61] palygintos žirnių ir sojos baltymų izoliatų gėlinės savybės. Abi autorių grupės padarė išvadą, kad žirnių baltymų izoliatai sudarė labiau nestruktūrizuotą gelį nei sojos baltymų izoliatai, todėl jų gėlinės savybės nėra tokios geros kaip sojos. Pavyzdžiui, tyrimai atlikti Baltarusijoje [66] parodė, kad optimalios sąlygos stipriems šilumos sukeltiems geliams susidaryti iš žirnio izoliato buvo 19,6% (m / m) baltymų, pH 7,1, 2,0 % (m / m) NaCl ir kaitinimas 93 °C temperatūroje. Geliai, paruošti su sojos baltymų izoliatais tomis pačiomis sąlygomis, buvo stipresni ir elastingesni nei tie, kurie buvo paruošti su žirnių baltymų izoliatais. Tačiau mokslininkai iš JAV [64], tyrė žirnių baltymus kaip pieno ir kiaušinių baltymų pakaitalą geliuotame augaliniame deserte, paaiškėjo, kad žirnių baltymai gamino gerus gelius, kurie buvo labai tinkami naudoti kaip maisto produktas.

### 3.3. Antioksidacinės savybės

#### 3.3.1. Antioksidacinio aktyvumo nustatymas DPPH metodu ankštinių augalų baltymų izoliatuose po biotechnologinio modifikavimo

DPPH nėra biologiškai svarbus radikalas, tačiau jis plačiai naudojamas natūralių junginių antioksidaciniam aktyvumui įvertinti [15, 20]. DPPH šalinamasis aktyvumas rodo antioksidanto junginio sugebėjimą atiduoti elektronus arba vandenilį, tokiu būdu paverčiant radikalą stabilesne molekule [21]. Kaip parodyta 3.9 paveiksle, žirnių baltymų izoliatas (ŽBI), kuris buvo modifikuotas termofilinėmis jogurto bakterijomis, pasižymėjo stipriausiu DPPH šalinimo aktyvumu, tuo tarpu, SBI modifikuotas tokiu pat metodu turėjo 13,36 % mažiau aktyvumo. Taigi, ŽBI -MAK, ŽBI-TJK ir ŽBI-M parodė stipriausią aktyvumą, palyginti su mėginiais fermentuotais chimozinu. Modifikuojant pienarūgštėmis bakterijomis (MAK, TJK) ar mielėmis (M) radikalų šalinimo aktyvumas yra beveik dvigubai didesnis nei modifikuojant chimozinu (žr. 3.9 paveikslas). ŽBI antioksidacinis DPPH aktyvumas didesnis dėl jo amino rūgščių profilio. Glutacionas yra pripažintas kaip stiprus antioksidantas [31], o aktyvumas priskiriamas cisteino sulfhidrilo grupei, todėl cisteino turintys peptidai galėtų būti laikomi veiksmingais DPPH radikalų šalintojais. Taip pat antioksidacinis aktyvumas priklauso nuo tokių aminorūgščių kaip leucinas, fenilalaninas, valinas ir triptofanas, kiekio izoliatuose ir jos visos pasižymi hidrofobinėmis savybėmis.

Panašius tyrimus atliko Li ir kt. [8]. Šių mokslininkų rezultatai parodė, kad mažos molekulinės masės avinžirnių baltymų hidrolizato frakcija turėjo stiprų DPPH aktyvumą (68 %) esant 1 mg/ml koncentracijai, be to, joje buvo didelė hidrofobinių aminorūgščių koncentracija [8].

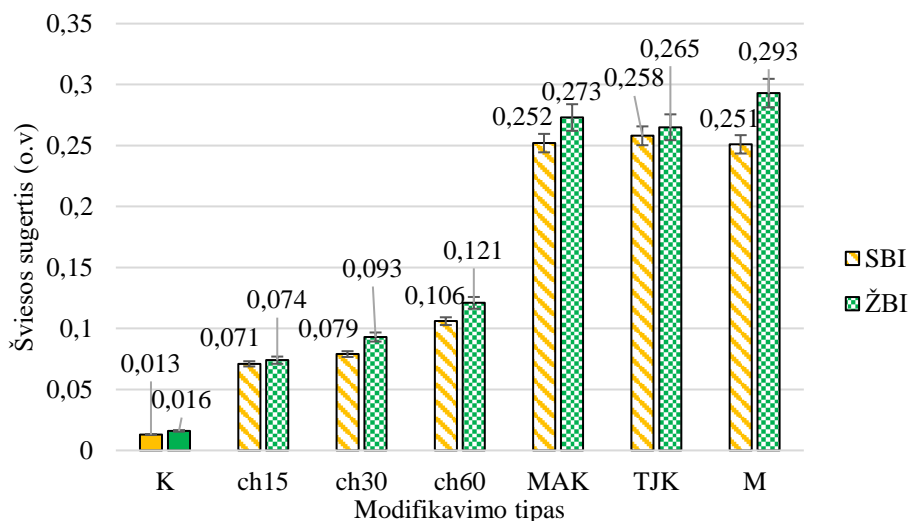


SBI-K – sojos baltymų izoliato kontrolinis mėginys; SBI-ch15 – sojos baltymų izoliatas su chimozinu 15 min.; SBI-ch30 – sojos baltymų izoliatas su chimozinu 30 min.; SBI-ch60 – sojos baltymų izoliatas su chimozinu 60 min.; SBI-MAK – sojos baltymų izoliatas su mezofilinėmis aromato bakterijomis; SBI-TJK – sojos baltymų izoliatas su termofilinėmis jogurto bakterijomis; SBI-M – sojos baltymų izoliatas su mielėmis; ŽBI-K – žirnių baltymų izoliato kontrolinis mėginys; ŽBI-ch15 – žirnių baltymų izoliatas su chimozinu 15 min.; ŽBI-ch30 – žirnių baltymų izoliatas su chimozinu 30 min.; ŽBI-ch60 – žirnių baltymų izoliatas su chimozinu 60 min.; ŽBI-MAK – žirnių baltymų izoliatas su mezofilinėmis aromato bakterijomis; ŽBI-TJK – žirnių baltymų izoliatas su termofilinėmis jogurto bakterijomis; ŽBI-M – žirnių baltymų izoliatas su mielėmis.

3.9 pav. Ankštinių augalų baltymų izoliatų antioksidacinių savybių palyginimas DPPH metodu po modifikavimo

### 3.3.2. Redukcinių savybių aktyvumo nustatymas ankštinių augalų baltymų izoliatuose po biotechnologinio modifikavimo

Medžiagos redukcinės savybės taip pat nusako antioksidacinį aktyvumą. Kuo didesnė mėginio šviesos sugertis, matuojant spektrofotometru, esant 700 nm., tuo geriasnės redukcines savybes ir antioksidacinis aktyvumas.



**SBI-K** – sojos baltymų izoliato kontrolinis mėginys; **SBI-ch15** – sojos baltymų izoliatas su chimozinu 15 min.; **SBI-ch30** – sojos baltymų izoliatas su chimozinu 30 min.; **SBI-ch60** – sojos baltymų izoliatas su chimozinu 60 min.; **SBI-MAK** – sojos baltymų izoliatas su mezofilinėmis aromato bakterijomis; **SBI-TJK** – sojos baltymų izoliatas su termofilinėmis jogurto bakterijomis; **SBI-M** – sojos baltymų izoliatas su mielėmis; **ŽBI-K** – žirnių baltymų izoliato kontrolinis mėginys; **ŽBI-ch15** – žirnių baltymų izoliatas su chimozinu 15 min.; **ŽBI-ch30** – žirnių baltymų izoliatas su chimozinu 30 min.; **ŽBI-ch60** – žirnių baltymų izoliatas su chimozinu 60 min.; **ŽBI-MAK** – žirnių baltymų izoliatas su mezofilinėmis aromato bakterijomis; **ŽBI-TJK** – žirnių baltymų izoliatas su termofilinėmis jogurto bakterijomis; **ŽBI-M** – žirnių baltymų izoliatas su mielėmis.

#### 3.10 pav. Ankštinių augalų baltymų izoliatų redukcinių savybių palyginimas po modifikavimo

Peptidų gebėjimas veikti kaip reduktoriai, pernešant elektronus į daugiau stabilius produktus, buvo matuojamas redukcinės galios metodu. Šis metodas išmatuoja peptidų sugebėjimą redukuoti  $Fe^{3+}$  fericianido kompleksą į stabilesnę geležies formą ( $Fe^{2+}$ ) [20].

Panašiai kaip ir dabartiniuose rezultatuose, rapsų frakcijose, turinčiose stipriausią redukcinę galią, taip pat buvo didesnis hidrofobinių aminorūgščių kiekis, kurios, kaip buvo manoma, buvo atsakingos už šių peptidų redukcinės galios padidinimą [13, 34].

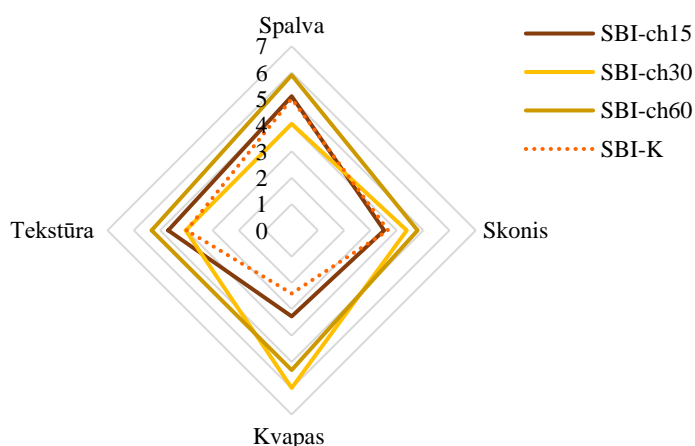
Žirnių baltymų izoliate buvo gausu cisteino, metionino, tirozino, histidino ir triptofano, todėl manoma, kad antioksidacinį aktyvumą lėmė peptidai turintys histidino, tirozino, metionino ir cisteino kiekiai [17]. ŽBI-K pasižymėjo nedideliu redukciniu aktyvumu, kuris siekė 0,016 %. Jordanijos mokslininkai [65] pastebėjo, kad medetkų peptidai, hidrolizuoti papainu, turėjo stiprią redukcinę galią ir, kad hidrolizato sudėtyje yra tirozino, metionino, histidino, lizino ir triptofano. Autoriai taip pat pasiūlė, kad redukuojančią peptidų galią galima priskirti specifinei aminorūgšties ir peptido kompozicijai. Šiame tyrime ŽBI-M pasižymėjo labai stipria redukuojamąja galia, kuri buvo 18 kartų didesnė nei kontrolė.

### 3.4. Modifikuotų ankštinių baltymų izoliatų juslinis vertinimas

Ankštinių augalų baltymų izoliatai pasižymi specifinėmis juslinėmis savybėmis, kurios dažnai vartotojams nėra tokios priimtinos dėl augaliniams baltymams būdingo žolės skonio ir kvapo. Pasitelkę biotechnologinius procesus, šiame tyrime bandyta pagerinti juslines savybes, naudojant chimozino

fermentą, mezofilines aromato bei termofilines jogurto startines kultūras ir sausas kepimo mieles. Siekiant įvertinti modifikavimo įtaką juslinėms savybėms, buvo atliktas juslinis vertinimas ir palyginti gauti rezultatai, kurių apibendrinti duomenys pavaizduoti žemiau esančiuose diagramose (žr. 3.11; 3.12; 3.13; 3.14; 3.15 pav.).

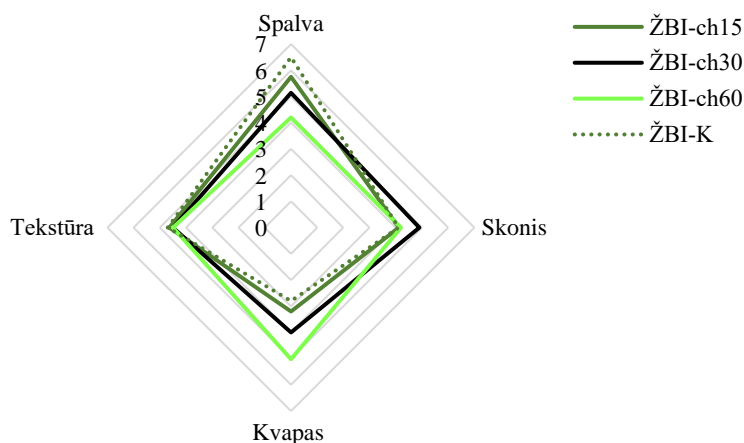
Iš pradžių, vertinimui buvo pateikta mėginių grupė, kurią sudarė keturi mėginiai: trys iš jų buvo modifikuoti chimozino fermentu, skirtingais laiko periodais, o ketvirtas mėginys – kontrolė. Iš šių mėginių savo juslinėmis savybėmis išsiskyrė SBI–ch60. Sojos baltymų izoliatas, modifikuotas chimozino fermentu 60 minučių, vertintojų nuomone, atitiko priimtinausias spalvos, kvapo, skonio ir tekstūros juslines savybes (žr. 3.11 pav.). Tuo tarpu, prasčiausiomis savybėmis pasižymėjo kontrolinis mėginys (SBI–K), kuris nebuvo modifikuotas.



**SBI-ch15** – sojos baltymų izoliatas su chimoziniu 15 min.; **SBI-ch30** – sojos baltymų izoliatas su chimoziniu 30 min.; **SBI-ch60** – sojos baltymų izoliatas su chimoziniu 60 min.; **SBI-K** – sojos baltymų izoliato kontrolinis mėginys.

**3.11 pav.** Sojos baltymų izoliato, modifikuotas chimozino fermentu, juslinio vertinimo diagrama

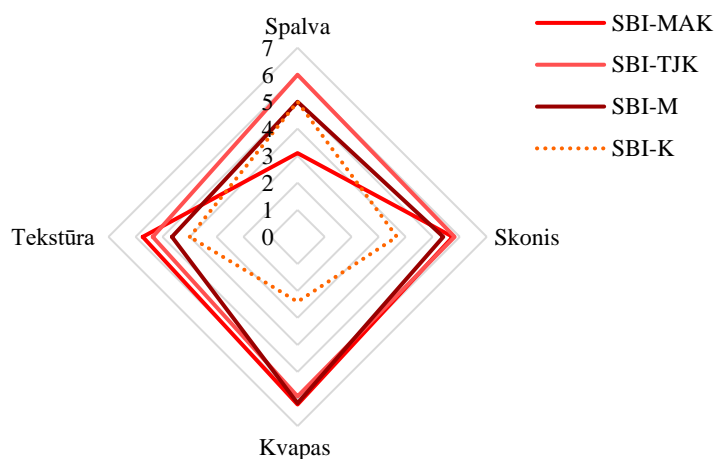
Antrąją mėginių grupę sudarė žirnių baltymų izoliatas modifikuotas chimoziniu skirtingais laiko periodais. Šiuo atveju, vertinimų rezultatai pasiskirstė vienodžiau, tačiau būtų galima išskirti mėginį ŽBI -ch30. Šio mėginio juslinių savybių visuma buvo įvertinta priimtinausiai (žr. 3.12 pav.). Prasčiausiomis kvapo savybėmis pasižymėjo kontrolinis mėginys (ŽBI-K), tačiau šio mėginio spalva atrodė priimtinausia.



**ŽBI-ch15** – žirnių baltymų izoliatas su chimoziniu 15 min.; **ŽBI-ch30** – žirnių baltymų izoliatas su chimoziniu 30 min.; **ŽBI-ch60** – žirnių baltymų izoliatas su chimoziniu 60 min.; **ŽBI-K** – žirnių baltymų izoliato kontrolinis mėginys.

**3.12 pav.** Žirnių baltymų izoliato, modifikuotas chimozino fermentu, juslinio vertinimo diagrama

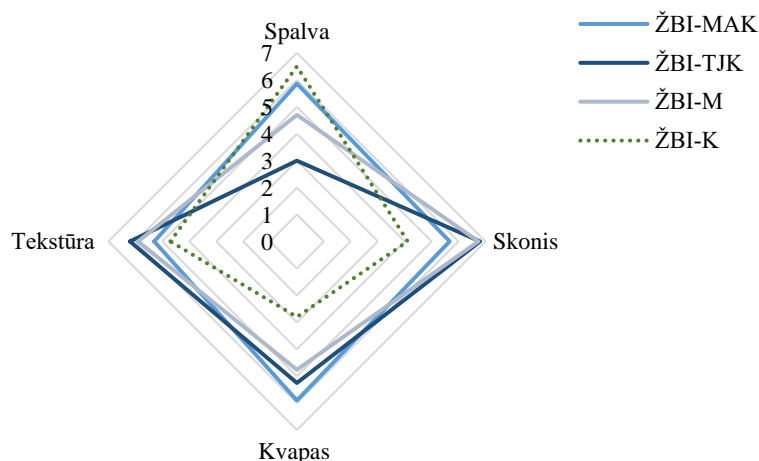
Trečioji mėginių grupė buvo pateikta vertinimui, kurią sudarė sojos baltymų izoliatas modifikuotas skirtingomis startinėmis kultūromis: mezofilinėmis ir termofilinėmis pienarūgštimis bakterijomis bei *Saccharomyces* mielėmis fermentuoti mėginiai. Iš šių mėginių grupės palankiausiai įvertintas SBI-TJK mėginys. Šis sojos baltymų izoliato mėginys buvo fermentuotas, naudojant termofilinę jogurto bakterijų kultūrą. SBI-TJK pasižymėjo patrauklia spalva ir kvapu bei priimtinu skoniu. Blogiausiomis juslinėmis savybėmis pasižymėjo SBI-K mėginys be jokio modifikavimo (žr. 3.13 pav.).



**SBI-MAK** – sojos baltymų izoliatas su mezofilinėmis aromato bakterijomis; **SBI-TJK** – sojos baltymų izoliatas su termofilinėmis jogurto bakterijomis; **SBI-M** – sojos baltymų izoliatas su mielėmis; **SBI-K** – sojos baltymų izoliato kontrolinis mėginys.

**3.13 pav.** Sojos baltymų izoliato, modifikuoto pierarūgštimis bakterijomis, juslinio vertinimo diagrama

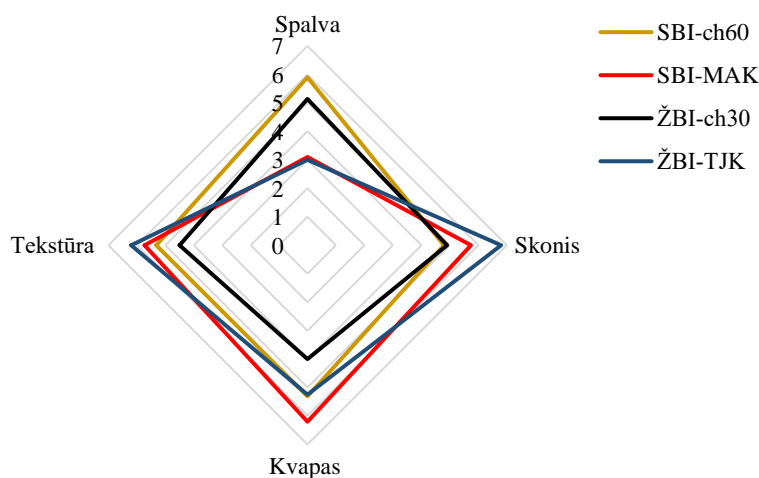
Ketvirtąją mėginių grupę sudarė žirnių baltymų izoliatai po modifikacijos skirtingomis startinėmis kultūromis. Šiuo atveju, visų juslinių savybių visuma išsiskyrė ŽBI-MAK. Geriausiai buvo įvertintas aromatas, gana priimtinas skonis, spalva ir tekstūra (žr. 3.14 pav.). Prasčiausiomis juslinėmis savybėmis pasižymėjo kontrolės mėginys. Mėginiai, kurie buvo modifikuoti termofilinėmis bakterijomis bei mielėmis, taip pat buvo vertinami gana gerai ir priimtinais vertintojų nuomone.



**ŽBI-MAK** – žirnių baltymų izoliatas su mezofilinėmis aromato bakterijomis; **ŽBI-TJK** – žirnių baltymų izoliatas su termofilinėmis jogurto bakterijomis; **ŽBI-M** – žirnių baltymų izoliatas su mielėmis; **ŽBI-K** – žirnių baltymų izoliato kontrolinis mėginys.

**3.14 pav.** Žirnių baltymų izoliato modifikuoto pierarūgštimis bakterijomis juslinio vertinimo diagrama

Iš visų mėginių grupių buvo išrinkti geriausiais juslinėmis savybėmis pasižymėję mėginiai ir palyginti tarpusavyje atliekant juslinį vertinimą.



**SBI-ch60** – sojos baltymų izoliatas su chimozinu 60 min.; **SBI-MAK** – sojos baltymų izoliatas su mezofilinėmis aromato bakterijomis; **ŽBI-ch30** – žirnių baltymų izoliatas su chimozinu 30 min.; **ŽBI-TJK** – žirnių baltymų izoliatas su termofilinėmis jogurto bakterijomis;

**3.15 pav.** Geriausiai įvertintų mėginių pakartotinio juslinio palyginimo diagrama

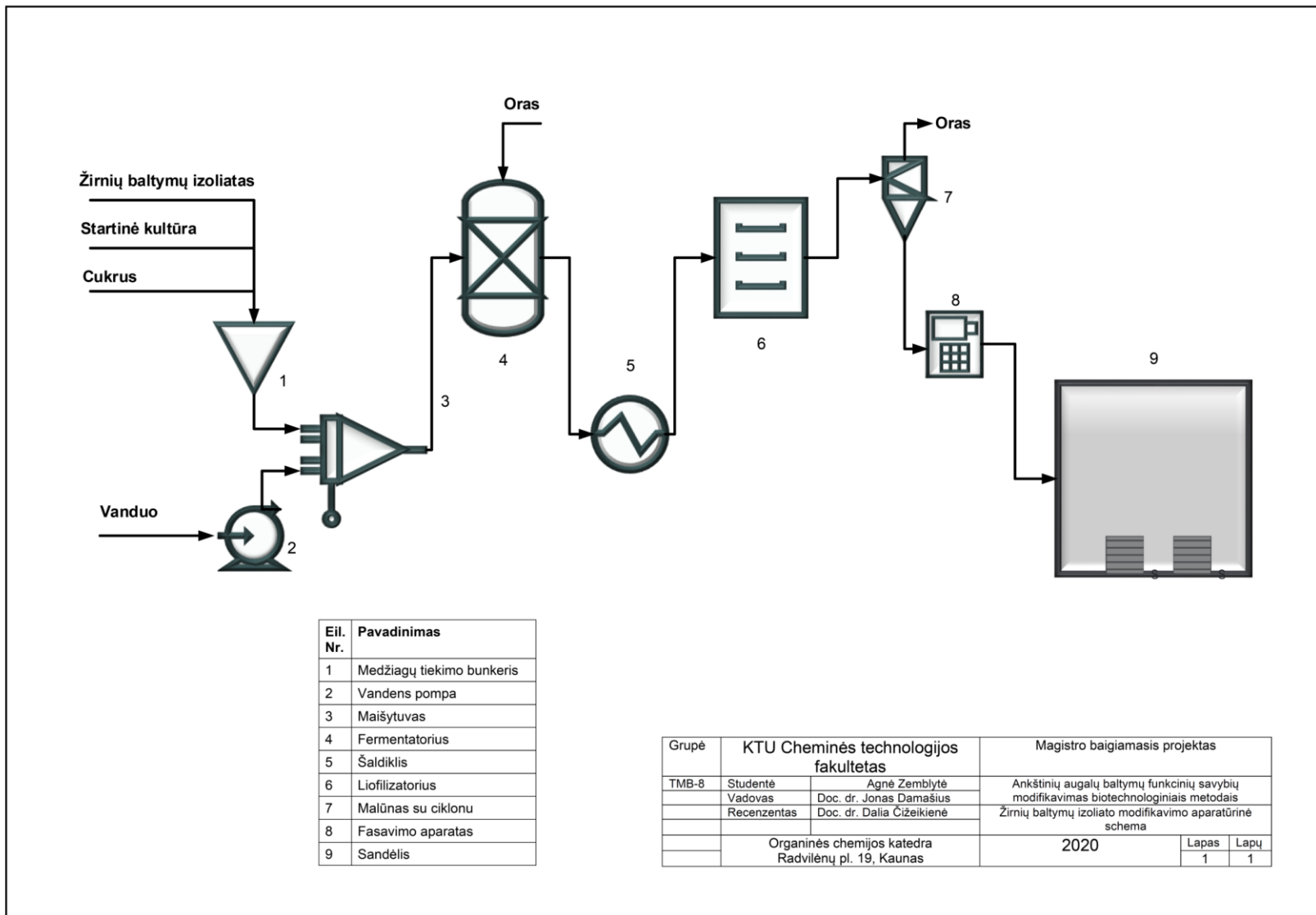
Čia išsiskiria žirnių ir sojos baltymų izoliatų vertinimas. Palankiausiomis skonio ir tekstūros savybėmis buvo įvertintas žirnių baltymų izoliatas (žr. 3.15 paveikslas), modifikuotas termofilinėmis pienarūgštėmis bakterijomis. Šiek tiek prasčiau įvertintas sojos baltymų izoliatas, modifikuotas mezofilinėmis pienarūgštėmis bakterijomis. Iš šių rezultatų galime daryti išvadą, kad modifikavimas pienarūgštėmis bakterijomis turi teigiamą poveikį ankštinių augalų baltymų skonio ir tekstūros savybėms. Geriausiomis kvapo savybėmis pasižymėjo SBI-MAK bandinys. Mezofilinė aromato bakterijų kultūra turėjo teigiamą poveikį kvapo jusliniam vertinimui. Labiau teigiamu spalvos vertinimu pasižymėjo bandiniai, kurie buvo modifikuoti chimozino fermentu. Vertintojai spalvą apibūdina kaip priimtinesnę, nei po fermentacijos pienarūgštėmis bakterijomis ar mielėmis.



#### 4. Rekomendacijų dalis

Alikus mokslinės literatūros analizę, laboratorinius tyrimus bei nustačius vartotojams priimtinausią fermentacijos būdą, buvo suprojektuota aparatūrinė proceso schema, kuri pateikta 4.1 paveiksle. Atlikus daugiau tyrimų ir išbandžius šią gamybos technologiją pilotiniais įrenginiais, ateityje būtų galimybė pritaikyti šią modifikuotų baltymų izoliatų gamybos schema ir pramoniniu mastu.

Modifikuotų žirnių baltymų izoliatų gamybai yra naudojami 100 % žirnių baltymų izoliatai, kurie yra išsigijami iš komercinių tiekėjų. Izoliatas tiekiamas į medžiagų tiekimo bunkerį (1). Jame pasveriamas reikamas kiekis. Į tą patį bunkerį įdedama pasverta startinė kultūra bei atitinkamas kiekis cukraus (0,001 %). Vandens pompa (2) tiekiamas vanduo. Medžiagų ir vandens srautas yra maišomi maišyklėje (3) ir tiekiami į bioreaktorių (4). Bioreaktoriuje yra tiekiamas deguonis, kad būtų užtikrintos geros aerobinės sąlygos, kurios yra būtinos šiame procese. Po fermentacijos, modifikuotas baltymų izoliatas yra užšaldomas šaldiklyje (5), - 18 °C ir laikomas 24 val. Užšaldytas žirnių baltymų izoliatas sudedamas į liofilizatorių (6). Liofilizuojama 12 val., kol modifikuotas izoliatas pilnai išdžiūsta. Sausas, modifikuotas žirnių baltymų izoliatas yra sumsalamas malūne su ciklonu (7) į norimo diametro miltelius, kurie vėliau sveriami ir pakuojami fasavimo aparatais (8). Sufasuoti modifikuoti žirnių baltymų izoliatai yra gabenami į sandėlį (9).



4.1 pav. Modifikuotų žirnių baltymų izoliato aparatūrinė gamybos schema

## Išvados

1. Apžvelgti ir įvertinti galimi biotechnologiniai metodai ankštinių augalų baltymų modifikavimui. Atlikus mokslinės literatūros analizę buvo parinktos startinės kultūros ankštinių augalų baltymų biotechnologiniam modifikavimui atlikti. Tirti mėginiai buvo modifikuoti naudojant šiuos metodus: fermentinę hidrolizę chimozinu, fermentaciją pienarūgštėmis bakterijomis ir fermentaciją sausomis mielėmis.
2. Modifikuoti ankštinių augalų baltymai, skirtingais mikroorganizmais, tokiais kaip chimozino fermentas, mezofilinės aromato bakterijos (*Mesophilic Aromatic Culture*), termofilinės jogurto bakterijos (*Thermophilic Yoghurt Culture*), sausos mielės (*Sacromises cerevisiae*).
3. Įvertintos ankštinių augalų (sojos ir žirnių) baltymų funkcinės savybės prieš ir po modifikavimo.
  - 3.1. Nustatyta, kad sojos baltymai pasižymėjo didesniu tirpumu nei žirnio baltymų izoliatas, tačiau atlikus fermentaciją galima pagerinti baltymų tirpumą. Geriausias tirpumo rezultatas pasiektas žirnių baltymus modifikuojant termofilinėmis jogurto bakterijomis. Žirnių baltymų tirpumas buvo lygus 86,74 %.
  - 3.2. Baltymų vandens sulaikymo geba po modifikavimo sumažėjo. Sojos baltymų izoliatas vandenį sulaiko geriau nei žirnių baltymų izoliatas.
  - 3.3. Aliejaus sulaikymo geba po fermentacijos parodė priešingus rezultatus. Žirnių baltymai aliejų sulaikė geriau nei sojos baltymai. Aliejaus sulaikymo geba išaugo. Naudojant termofilines jogurto bakterijas siekė 3,44 g aliejaus/ 1 g baltymų.
  - 3.4. Iš atliktų tyrimų, matyti, kad žirnių baltymų izoliatas pasižymėjo šiek tiek didesne putų sudarymo geba ir putų stabilumu, nei sojos baltymų izoliatas. Geriašią poveikį putų savybėms turėjo mezofilinės aromato bakterijos.
  - 3.5. Sojos baltymai turėjo pranašumą sudarant emulsijas, tačiau stabilesnėmis emulsijomis pasižymėjo žirnių baltymai. Panaudojus biotechnologinį modifikavimą dėka, žirniai sudarė stabiliausias emulsijas (66,2 %), naudojant termofilines jogurto bakterijas.
  - 3.6. Taip pat šiame darbe nustatyta mažiausia gelių sudarymo koncentracija. Sojos baltymų izoliatų mažiausia gelių sudarymo koncentracija buvo lygi 13 %, o žirnių baltymų izoliatų, lygi 15 %. Po modifikavimo ryškaus šių koncentracijų kitimo nematyti.
4. Palygintos ankštinių augalų (sojos ir žirnių) baltymų antioksidacinės savybės prieš ir po modifikavimo. Abi ankštinių augalų rūšys pasižymėjo antioksidaciniu aktyvumu, tačiau po modifikavimo antioksidacinis aktyvumas buvo žymiai didesnis. Modifikavimas teigiamai veikė antioksidacines baltymų savybes. Didžiausiu DPPH aktyvumu pasižymėjo žirnių baltymų izoliatas, modifikuotas termofilinėmis jogurto bakterijomis, kuris lygus 63,99 %. Geriausiomis redukcinėmis savybėmis pasižymėjo mėginys su žirnių baltymų izoliatu, modifikuotu sausomis mielėmis (0,293 %).
5. Įvertintas modifikuotų ankštinių augalų baltymų juslinių savybių priimtumas, taikant maisto produktų praturtinimui. Įvertinta juslinių savybių visuma ir nustatyta, kad priimtinausias pagal visas juslines savybes buvo mėginys su žirnių baltymų izoliatu, modifikuotu termofilinėmis jogurto bakterijomis.
6. Pateikta ankštinių augalų baltymų modifikavimo technologijos aparatūrinė schema ir apibūdinti technologiniai procesai.

## Literatūros sąrašas

1. BASTIANELLI D., GROSJEAN F., PEYRONNET C, DUPARQUE M., RÉGNIER J. M. Feeding value of pea ( *Pisum sativum*, L.) 1. Chemical composition of different categories of pea. *Animal Science*. 1998, 67, 609-619. ISSN 1357-7298.
2. ETIOSA O. R., CHIKA N. B., 2 AND ANUGE B. Mineral and proximate composition of soya bean. *Asian Journal of Physical and Chemical Sciences*. 2017, 4, 1-6. ISSN: 2456-7779.
3. KHALID A. IBRAHIM, ELSIDDIG A.E. ELSHEIKH AND ELFADIL E. BABIKER. Minerals Composition of Soybean ( *Glycine max* L.) Seeds as Influenced by Bradyrhizobium Inoculation and Chicken Manure or Sulphur Fertilization. *Pakistan Journal of Nutrition*. 2008, 7, 793-800. ISSN 1680-5194.
4. MIDDELBOSS I. S. AND FAHEY G. C. Soybean Carbohydrates. *Animal Sciences*. 2008, 9, 269-296. ISSN 61801. Prieiga per: [doi:10.1016/b978-1-893997-64-6.50012-3](https://doi.org/10.1016/b978-1-893997-64-6.50012-3)
5. ABIODUN A. A., BABATUNDE A. O. AND ADESOLA J. A. Effect of pigeon pea or soybean substitution for maize on nutritional and sensory attributes of Kokoro. *Science and Biotechnology*. 2011, 2, 61-66.
6. HARMANKAYA M., ÖZCAN M. M., KARADAŞ S., CEYHAN E. Protein and mineral contents of pea (*pisum sativum l.*) genotypes grown in central anatolian region of turkey. *South Western Journal Horticulture, Biology and Environment*. 2010, 1, 159-165. ISSN 2067-9874.
7. TULBEK M.C., LAM R.S.H., WANG Y.T., ASAVAJARU P. Pea: A Sustainable Vegetable Protein Crop. *AGT Foods*. 2017, 9, 145-164. Prieiga per: [doi.org/10.1016/B978-0-12-802778-3.00009-3](https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802778-3.00009-3)
8. KIOSSEOGLU V, PARASKEVOPOULOU A. Functional and physicochemical properties of pulse proteins. *Pulse foods: Processing, quality and nutraceutical applications*. 2011, 57–90. Prieiga per: [doi.org/10.1016/B978-0-12-382018-1.00003-4](https://doi.org/10.1016/B978-0-12-382018-1.00003-4)
9. YING GUAN, JINPENG WANG, JUNJUN WU, LIXIA WANG, XIN RUI, GUANGLIANG XING & MINGSHENG DONG. Enhancing the functional properties of soymilk residues (okara) by solid-state fermentation with *Actinomucor elegans*. *CyTA - Journal of Food*. 2017, 15:1, 155-163. ISSN: 1947-6337. Prieiga per: [doi.org/10.1080/19476337.2016.1226955](https://doi.org/10.1080/19476337.2016.1226955)
10. RASHAD, M.M., MAHMOUD, A.E., ABDOU, H.M., & NOOMAN, M.U. Improvement of nutritional quality and antioxidant activities of yeast fermented soybean curd residue. *African Journal of Biotechnology*, 2011, 10(28), 5504–5513.
11. RUI, X., WEN, D., LI, W., CHEN, X., JIANG, M., & DONG, M. Enrichment of ACE inhibitory peptides in navy bean (*Phaseolus vulgaris*) using lactic acid bacteria. *Food & Function*. 2015, 6(2), 622–629. Prieiga per: [doi:10.1039/C4FO00730A](https://doi.org/10.1039/C4FO00730A)
12. MUHIALDIN, B.J., HASSAN, Z., BAKAR, F.A., & SAARI, N. Identification of Antifungal Peptides Produced by *Lactobacillus plantarum* IS10 grown in the MRS broth. *Food Control*. 2016, 59, 27–30. Prieiga per: [doi:10.1016/j.foodcont.2015.05.022](https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.05.022)
13. FERNANDEZ-OROZCO R, FRIAS J, MUÑOZ R, ZIELINSKI H, PISKULA MK, KOZLOWSKA H, VIDAL-VALVERDE C. Fermentation as a bio-process to obtain functional soybean flours. *Agricultural and Food Chemistry*. 2007, 55, 8972–9. Prieiga per: [doi.org/10.1021/jf071823b](https://doi.org/10.1021/jf071823b)
14. MENG CHENG, JUN-RU QI\*, JI-LU FENG, JING CAO, JIN-MEI WANG, XIAO-QUAN YANG. Pea soluble polysaccharides obtained from two enzyme assisted extraction methods and

- their application as acidified milk drinks stabilizers. *Food Research International*. 2018, 109, 544–551. Prieiga per: [doi.org/10.1016/j.foodres.2018.04.056](https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.04.056)
15. GARBA U., KAUR S. Protein isolates : production, functional properties and application. *Food Technology and Nutrition*. 2014, 6, 35- 46.
  16. FRANCESCA E. O’KANE, RANDOLPH P. HAPPE, JOHAN M. VEREIJKEN, HARRY GRUPPEN, AND MARTINUS A. J. S. VAN BOEKEL. Heat-Induced Gelation of Pea Legumin: Comparison with Soybean Glycinin. *Agricultural Food Chemistry*. 2004, 52, 5071-5078.
  17. MIROLJUB BARAC M., ČABRILO S., PEŠIĆ M., STANOJEVIĆ S., PAVLIĆEVIĆ M., MAĆEJ O., NIKOLA RISTIĆ N. Functional Properties of Pea (*Pisum sativum*, L.) Protein Isolates Modified with Chymosin. *International Journal of Molecular Sciences*. 2011, 12, 8372-8387. ISSN 1422-0067. Prieiga per: [doi:10.3390/ijms12128372](https://doi.org/10.3390/ijms12128372)
  18. BARAC M. B., PEŠIĆ M. B., STANOJEVIĆ S. P., KOSTIĆ A. Ž. AND ČABRILO S. B. Techno-functional properties of pea (*pisum sativum*) protein isolates- a review. *Faculty of Agriculture*. Serbia. 2015, 46, 1-269. BIBLID: 1450-7188.
  19. SUN, X.D.; ARNTFIELD, S.D. Gelation properties of salt-extracted pea protein induced by heat treatment. *Food Research International*. 2010, 43, 509-515. ISSN 0963-9969. Prieiga per: [doi:10.1016/j.foodres.2009.09.039](https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.09.039)
  20. LETERME P, MONMART T, BAUDART E. Amino acid composition of pea (*Pisum sativum*) proteins and protein profile of pea flour. *Sci Food Agric*. 1990, 53,107–10. Prieiga per: [doi.org/10.1002/jsfa.2740530112](https://doi.org/10.1002/jsfa.2740530112)
  21. CHANDRA-HIOE MV, WONG CHM, ARCOT J. The potential use of fermented chickpea and faba bean flour as food ingredients. *Plant Foods Human Nutrition*. 2016, 71(1), 90–5. Prieiga per: [doi.org/10.1007/s11130-016-0532-y](https://doi.org/10.1007/s11130-016-0532-y)
  22. BARAC, M.B.; PESIC, M.B.; STANOJEVIC, S.P.; KOSTIC, A.Z.; BIVOLAREVIC, V. Comparative study of the functional properties of three legume seed isolates: adzuki, pea and soy bean. *Food Science and Technoly*. 2014, Prieiga per: [doi:10.1007/s13197-014-1298-6](https://doi.org/10.1007/s13197-014-1298-6)
  23. ALUKO, R.E.; MOFOLASAYO, O.A.; WATTS, B.M. Emulsifying and foaming properties of commercial yellow pea (*Pisum sativum* L.) seed flours. *Agricultural and Food Chemistry*. 2009, 57, 9793-9800.
  24. O’KANE, F. E.; VEREIJKEN, J. M.; GRUPPEN, H.; VAN BOEKEL M. A. J. S. Gelation behavior of protein isolates extracted from 5 cultivars of *Pisum sativum* L. *Food Science*. 2005, 70, 132-137.
  25. KLOSTA M., DRUSCHA S. Structure formation and rheological properties of pea protein-based gels. *Food Hydrocolloids*. 2019, 94, 622–630. Prieiga per: [doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.03.030](https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.03.030)
  26. HINDERINKA E. B. A., MÜNCHB K., SAGISC L., SCHROËNB K., BERTON-CARABINB C. Synergistic stabilisation of emulsions by blends of dairy and soluble pea proteins: Contribution of the interfacial composition. *Food Hydrocolloids*. 2019, 97, 1-11. ISBN 105206
  27. YAN ZHU, ZIMENG WANG, LI ZHANG. Optimization of lactic acid fermentation conditions for fermented tofu whey beverage with high-isoflavone aglycones. *LWT - Food Science and Technology*. 2019, 111, 211–217.
  28. JOSHI, B. ADHIKARI P. ALDRED J.F. PANOZZO S. KASAPIS C.J. BARROW. Interfacial and emulsifying properties of lentil protein isolate. *Food Chemistry*. 2012, 134, 1343–1353.

29. SALMA BEN-HARB S., SAINT-EVE A. , PANOUILLE M., SOUCHON I., BONNARME P. Design of microbial consortia for the fermentation of pea-protein-enriched emulsions. *International Journal of Food Microbiology*. 2019, 293, 124–136. ISSN 0168-1605
30. AZARNIA, S., BOYE, J.I., WARKENTIN, T., MALCOLMSON, L., SABIK, H., BELLIDO, A.S. Volatile flavour profile changes in selected field pea cultivars as affected by crop year and processing. *Food Chemistry*. 2011,124, 326–335. Prieiga per: [doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.06.041](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.06.041)
31. AIKING, H. Future protein supply. *Trends Food Science and Technology*. 2011, 22, 112–120. Prieiga per: [doi.org/10.1016/j.tifs.2010.04.005](https://doi.org/10.1016/j.tifs.2010.04.005)
32. BOYE, J., ZARE, F., PLETCH, A. Pulse proteins: processing, characterization, functional properties and applications in food and feed. *Food research international*. 2010, 43, 414–431. Prieiga per: [doi.org/10.1016/j.foodres.2009.09.003](https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.09.003)
33. CHEN, K.-I., ERH, M.-H., SU, N.-W., LIU, W.-H., CHOU, C.-C., CHENG, K.-C. Soyfoods and soybean products: from traditional use to modern applications. *Applied Microbiology Biotechnology*. 2012, 96, 9–22. Prieiga per: [doi.org/10.1007/s00253-012-4330-7](https://doi.org/10.1007/s00253-012-4330-7)
34. CHETTRI, R., TAMANG, J.P. Bacillus species isolated from tungrymbai and be kang, naturally fermented soybean foods of India. *Int. J. Food Microbiology*. 2015, 197, 72–76. Prieiga per: [doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2014.12.021](https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2014.12.021)
35. DEMARIGNY, Y. Fermented food products made with vegetable materials from tropical and warm countries: microbial and technological considerations: fermented plant products from warm countries. *Int. J. Food Science and Technology*. 2012, 47, 2469–2476. Prieiga per: [doi.org/10.1111/j.1365-2621.2012.03087.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2012.03087.x)
36. SCHINDLER, S., ZELENKA, K., KRINGS, U., BEZ, J., EISNER, P., BERGER, R.G. Improvement of the aroma of pea (*Pisum sativum*) protein extracts by lactic acid fermentation. *Food Biotechnology*. 2012, 26, 58–74. Prieiga per: [doi.org/10.1080/08905436.2011.645939](https://doi.org/10.1080/08905436.2011.645939)
37. FLOOR K.G. SCHREUDERS B. L. DEKKERS I. B., REMKO P. E. M., JAN VAN DER GOOTA A. Comparing structuring potential of pea and soy protein with gluten for meat analogue preparation. *Journal of Food Engineering*. 2019, 261, 32–39. ISSN 0260-8774.
38. ADEBOWALEA K. O., LAWALB O. S. Foaming, gelation and electrophoretic characteristics of mucuna bean (*Mucuna pruriens*) protein concentrates. *Food Chemistry*. 2003, 83, 237–246. ISSN 0308-8146. Prieiga per: [doi:10.1016/S0308-8146\(03\)00086-4](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(03)00086-4)
39. SHAND P.J., YA H., PIETRASIK Z., WANASUNDARA P.K.J.P.D. Physicochemical and textural properties of heat-induced pea protein isolate gels. *Food Chemistry*. 2007, 102, 1119–1130. ISSN 0308-8146. Prieiga per: [doi:10.1016/j.foodchem.2006.06.060](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.06.060)
40. WEEA M.S.M., LOUDB D.E., TANA V.W.K., FORDE C.G. Physical and sensory characterisation of noodles with added native and denatured pea protein isolate. *Food Chemistry*. 2019, 294, 152–159. ISSN 0308-8146. Prieiga per: [doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.05.042](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.05.042)
41. SOZER N, HOLOPAINEN-MANTILA U, POUTANEN K. Traditional and new food uses of pulses. *Cereal Chemistry*. 2017, 94, 66–73. Prieiga per: [doi.org/10.1094/CCHEM-04-16-0082-FI](https://doi.org/10.1094/CCHEM-04-16-0082-FI)
42. Batista A. P., Portugal C. A. M., Sousa I. Accessing gelling ability of vegetable proteins using rheological and fluorescence techniques. *Biological Macromolecules*. 2005, 36, 135–143. Prieiga per: [doi:10.1016/j.ijbiomac.2005.04.003](https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2005.04.003)
43. MEINLSCHMIDT, PIA, UEBERHAM, E., LEHMANN, J., SCHWEIGGERT-WEISZ, U., EISNER, P. Immunoreactivity, sensory and physicochemical properties of fermented soy protein

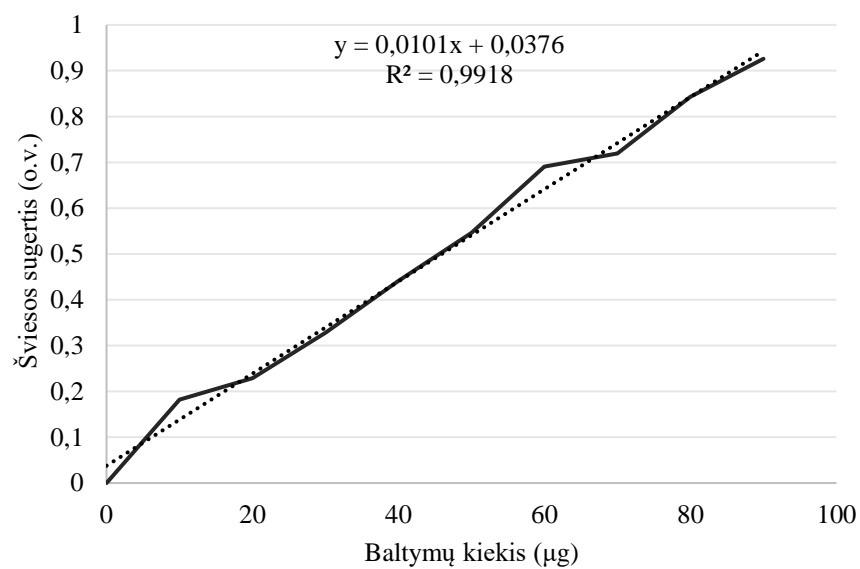
- isolate. *Food Chemistry*. 2016, 205, 229–238. Prieiga per: [doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.03.016](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.03.016)
44. TAVANO OL. Protein hydrolysis using proteases: An important tool for food biotechnology. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*. 2013, 90, 1–11. Prieiga per: [doi.org/10.1016/j.molcatb.2013.01.011](https://doi.org/10.1016/j.molcatb.2013.01.011)
  45. FERNANDEZ-OROZCO R., FRIAS J., MUÑOZ R., ZIELINSKI H., PISKULA M. K., KOZLOWSKA H., AND VIDAL-VALVERDE C. Fermentation as a Bio-Process To Obtain Functional Soybean Flour. *Agricultural and Food Chemistry*. 2007, 55, 8972–8979. Prieiga per: [doi.org/10.1021/jf071823b](https://doi.org/10.1021/jf071823b)
  46. S. TÖMÖSKÖZI R. LÁSZTITY R. HARASZI O. BATICZ. Isolation and study of the functional properties of pea proteins. *Nahrung/Food*. 2001, 45, 399–401. Prieiga per: [doi.org/10.1002/1521-3803\(20011001\)45:6<399::AID-FOOD399>3.0.CO;2-0](https://doi.org/10.1002/1521-3803(20011001)45:6<399::AID-FOOD399>3.0.CO;2-0)
  47. MARION M. BRADFORD. A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. *Analytical Biochemistry*. 1976, 72, 248–254.
  48. CAN KARACA A, LOW N, NICKERSON M. Emulsifying properties of chickpea, faba bean, lentil and pea proteins produced by isoelectric precipitation and salt extraction. *Food Research International*. 2011, 44(9), 2742–50. Prieiga per: [doi.org/10.1016/j.foodres.2011.06.012](https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.06.012)
  49. WANGA Y., LIUB C., MAA T., ZHAO J. Physicochemical and functional properties of  $\gamma$  aminobutyric acid-treated soy proteins. *Food Chemistry* 2019, 295, 267–273. ISSN 0308-8146. Prieiga per: [doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.05.128](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.05.128)
  50. MILLARA K.A., GALLAGHERB E., BURKEC R., MCCARTHYD S., BARRY-RYAN C. Proximate composition and anti-nutritional factors of fava-bean (*Vicia faba*), green-pea and yellow-pea (*Pisum sativum*) flour. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2019, 82, 1–8. ISSN 103233
  51. TSOUKALA A., PAPALAMPROU E., MAKRI E., DOXASTAKIS G., BRAUDO E.E. Adsorption at the air–water interface and emulsification properties of grain legume protein derivatives from pea and broad bean. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2006, 53, 203–208. ISSN 0927-7765
  52. BARAC M. B., STANOJEVIC S. Techno-functional properties of pea (*Pisum sativum*) protein isolates: A review. *Acta periodica technologica*. 2015, 46, 1–18. BIBLID: 1450-7188.
  53. KLUPŠAITĖ D., JUODEIKIENĖ G. Legume: composition, protein extraction and functional properties. A review. *Cheminė technologija*. 2015. Nr. 1 (66). ISSN 1392 – 1231. Prieiga per: [doi.org/10.5755/j01.ct.66.1.12355](https://doi.org/10.5755/j01.ct.66.1.12355)
  54. BOUKIDA F., ZANNINIB E., CARINIA E., VITTADINIC E. Pulses for bread fortification: A necessity or a choice? *Trends in Food Science & Technology*. 2019, 88, 416–428. ISSN 0924-2244. Prieiga per: [doi.org/10.1016/j.tifs.2019.04.007](https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.04.007)
  55. CHANDRA-HIOE M. V., WONG C. H. M., ARCOT J. The Potential Use of Fermented Chickpea and Faba Bean Flour as Food Ingredients. *Plant Foods Human Nutrition*. 2016, 71, 90–95. Prieiga per: [doi.org/10.1007/s11130-016-0532-y](https://doi.org/10.1007/s11130-016-0532-y)
  56. ÇABUK B., STONE A. K., KORBER D. R., TANAKA T. AND NICKERSON M. T. Effect of *Lactobacillus plantarum* Fermentation on the Surface and Functional Properties of Pea Protein-Enriched Flour. *Food Technology and Biotechnology*. 2018, 56, 411–420. ISSN 1330-9862. Prieiga per: [doi: 10.17113/ftb.56.03.18.5449](https://doi.org/10.17113/ftb.56.03.18.5449)

57. BAŠINSKIENĖ L. *Juslinis gaminių vertinimas*. Kauno technologijos universitetas. Kaunas, 2011. ISBN 978-609-02-0161-9
58. BAŠINSKIENĖ L., GUDONIS A. Pieno gaminių juslinis vertinimas. Utena. Utenos Indra, 2016. ISBN 9786094552922.
59. LST ISO 6658:2006. Juslinė analizė. Metodika. Bendrieji nurodymai (tapatus ISO 6658:2005). Vilnius: Lietuvos standartizacijos departamentas, 2006. 20 p.
60. JOHNSTON S. P., NICKERSON M. T., LOW. N. H. The physicochemical properties of legume protein isolates and their ability to stabilize oil-in-water emulsions with and without genipin. *J Food Science and Technology*. 2015, 52(7), 4135–4145 Prieiga per: [doi 10.1007/s13197-014-1523-3](https://doi.org/10.1007/s13197-014-1523-3)
61. SONAL S. D. BLUMENTHAL, GREGORY B. CLARK STANLEY J. ROUX. Biochemical and immunological characterization of pea nuclear intermediate filament proteins. *Planta*. 2004, 218: 965–975. Prieiga per: [doi 10.1007/s00425-003-1182-5](https://doi.org/10.1007/s00425-003-1182-5)
62. GUILLON F. AND CHAMP M.M J. Carbohydrate fractions of legumes: uses in human nutrition and potential for health. *British Journal of Nutrition*. 2002, 88, 3, ISSN S293–S306
63. DRAKE M.A., CHEN X.Q., TAMARAPU S., AND LEENANON B. Soy Protein Fortification Affects Sensory, Chemical, and Microbiological Properties of Dairy Yogurts. *Sensory and Nutritive Qualities of Food*. 2000, 65, 1244- 1247.
64. CHAMPAGNE C. P., TOMPKINS T. A., BUCKLEY N. D., GREEN-JOHNSON J.M. Effect of fermentation by pure and mixed cultures of *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus helveticus* on isoflavone and B vitamin content of a fermented soy beverage. *Food Microbiology*. 2010, 27, 968-972. ISSN 0740-0020. Prieiga per: [doi:10.1016/j.fm.2010.06.003](https://doi.org/10.1016/j.fm.2010.06.003)
65. BOYE J., ZARE F., PLETCH A. Pulse proteins: Processing, characterization, functional properties and applications in food and feed. *Food Research International*. 2010, 43, 414–431. ISSN 0963-9969. Prieiga per: [doi:10.1016/j.foodres.2009.09.003](https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.09.003)
66. CAI R., KLAMCZYNSKA B., BAIK B.-K. Preparation of Bean Curds from Protein Fractions of Six Legumes. *J. Agricultural Food Chemistry*. 2001, 49, 3068-3073.
67. LADJAL-ETTOUMI Y., BOUDRIES H., CHIBANE M., ROMERO A. Pea, Chickpea and Lentil Protein Isolates: Physicochemical Characterization and Emulsifying Properties. *Food Biophysics*. 2016, 11, 43–51. Prieiga per: [doi 10.1007/s11483-015-9411-6](https://doi.org/10.1007/s11483-015-9411-6)
68. GARBA U., KAUR S. Protein isolates : production, functional properties and application. *Food Technology and Nutrition*. 2014, 6, 35-45.
69. STONE A. K., KARALASH A., TYLER R. T., WARKENTIN T. D., NICKERSON M. T. Functional attributes of pea protein isolates prepared using different extraction methods and cultivars. *Food Research International*. 2015, 76, 31–38. ISSN 0963-9969. Prieiga per: [doi.org/10.1016/j.foodres.2014.11.017](https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.11.017)



## Priedai

### 1 priedas. Baltymų tirpumo standartinė kreivė, naudojama nustatyti baltymų tirpumui ankštinių augalų baltymų izoliatų mėginiuose po biotechnologinio modifikavimo



## 2 priedas. Juslinio vertinimo anketa

Gaminys:.....

**Vertinimas:** paragaukite pateiktą gaminį ir įvertinkite juslinių savybių intensyvumą bei išrinkite Jums priimtinausią.

**1. Spalva:** kaip įvardintumėte gaminio spalvą (pvz.: gelsva, pilka, balta).....

1	2	3	4	5	6	7
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Visiškai nepatraukli						Patraukli

**2. Kvapas**

1	2	3	4	5	6	7
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Nemalonus						Malonus

**3. Tekstūra**

1	2	3	4	5	6	7
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Nevientisa						Vientisa

1	2	3	4	5	6	7
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Skysta						Klampi

**4. Skonis**

1	2	3	4	5	6	7
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Visiškai nepriimtinas						Priimtinas

Labiausiai priimtinas gaminys:.....