



**Kauno technologijos universitetas**

Cheminės technologijos fakultetas

**Žirnių perdirbimo modernizavimas: technologinių sprendimų  
parinkimas antrinių produktų apdorojimui**

Baigiamasis magistro projektas

---

**Paulina Karklytė**

Projekto autorė

**Prof. habil. dr. Gražina Juodeikienė**

Vadovė

---

**Kaunas, 2021**



**Kauno technologijos universitetas**  
Cheminės technologijos fakultetas

# **Žirnių perdirbimo modernizavimas: technologinių sprendimų parinkimas antrinių produktų apdorojimui**

Baigiamasis magistro projektas

Maisto mokslas ir sauga (6211FX011)

---

**Paulina Karklytė**

Projekto autorė

**Prof. habil. dr. Gražina Juodeikienė**

Vadovė

**Doc. dr. Aušra Šipailienė**

Recenzentė

---

**Kaunas, 2021**



**Kauno technologijos universitetas**

Cheminės technologijos fakultetas

Paulina Karklytė

## **Žirnių perdirbimo modernizavimas: technologinių sprendimų parinkimas antrinių produktų apdorojimui**

Akademinio sąžiningumo deklaracija

Patvirtinu, kad:

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

Paulina Karklytė

*Patvirtinta elektroniniu būdu*

Karklytė, Paulina. Žirnių Perdirbimo Modernizavimas: Technologinių Sprendimų Parinkimas Antrinių Produktų Apdorojimui. Magistro baigiamasis projektas / vadovė Prof. habil. dr. Gražina Juodeikienė; Kauno Technologijos Universitetas, Cheminės Technologijos Fakultetas.

Studijų kryptis ir sritis (studijų krypčių grupė): Technologijos mokslais, Maisto mokslas ir saugas

Reikšminiai žodžiai: žirnių perdirbimo antriniai produktai, ultragarsinis apdorojimas, fermentacija, ekstruzijos procesas, pieno rūgšties bakterijos.

Kaunas, 2021. 70 p.

## Santrauka

Darbas skirtas žirnių (*Pisum sativum*) perdirbimo proceso modernizavimui, parenkant technologinius sprendimus antrinių produktų apdorojimui. Technologinis eksperimentas vykdytas gamybinėmis sąlygomis dviem kryptimis: pirma – žirnių malinių frakcionavimas ir antrinių produktų atskyrimas sausuoju separavimu, kitas sprendimas – gaminti viso grūdo žirnių dalių miltus (VGŽD). Žirnių perdirbimo antrinių produktų ir viso grūdo dalių žirnių miltų apdorojimui tirtos žematemperatūrinio ekstruzijos proceso, kietafazės fermentacijos pieno rūgšties bakterijos (PRB) (*L. uvarum*, *L. brevis* ir *L. paracasei*) ir ultragarso (850 kHz) panaudojimo galimybės. Apie technologinių faktorių įtaką žirnių perdirbimo produktams (ŽPP) kokybei buvo sprendžiama pagal baltyminių medžiagų, funkcinę savybę ir antimitybinių faktorių pokyčius. Taikant sausąjį frakcionavimą, gautuose žirnių perdirbimo antriniuose produktuose (ŽPAP), atskyrus žirnių miltų kontrolę (ŽMK), lieka pakankamai didelis bendras baltymų kiekis (22,9 g/100 g s.m.), tuo tarpu žirnių produktuose luobelėse (ŽPL) – iki 5,3 g/100 g s.m. Žirnių perdirbimas į VGŽD galėtų būti technologinė alternatyva, leidžianti organizuoti žirnių perdirbimą tvariu principu ir pagaminti 22,0 g/100 g s.m. baltymų turintį produktą. Didžiausias tirpiųjų baltymų kiekis aptiktas ŽMK ir VGŽD. Žirnių perdirbimo produktai (ŽPAP ir ŽPL), kuriuose vyrauja stambesnės dalelės (64,0 % ir 58,7 %, atitinkamai) pasižymėjo didesniu vandens ir riebalų įgėrimo indeksu. Didžiausias tripsino inhibitorių kiekis ir mažesnis *in vitro* virškinamumas aptiktas ŽMK ir VGŽD produktuose. Vertinant ekstruzijos proceso įtaką ŽPP sudėčiai, nustatytas baltyminių medžiagų kiekio sumažėjimas. Šio proceso įtaka funkcinėms savybėms priklauso nuo ŽPP rūšies: analizuojant produktus (ŽPL–E3 ir VGŽD–E4–E5) nustatytas 1,2 kartais didesnis vandens įgėrimas nei kontrolinio mėginio. Ekstruzijos procesui, taikant žematemperatūrį režimą, nustatyta jog jis nesumažina žirnių perdirbimo produktuose esančių proteazių inhibitorių aktyvumo. Fermentuotuose žirnių perdirbimo produktuose nustatytas baltyminių medžiagų sumažėjimas (vidutiniškai 2,7 %). Fermentacija turėjo neigiamos įtakos ŽPP funkcinėms savybėms: didesniu laipsniu sumažėjo fermentuotų ŽPP vandens absorbcijos pajėgumas nei savybė įgerti riebalus. Fermentacijos teigiama įtaka išryškėjo (nepriklausomai nuo PRB padermės) baltymų pasisavinamumui: sumažinant tripsino inhibitorių aktyvumą (vidutiniškai 50,4 %) ir proteazių aktyvumą (68,2 %), o padidinant baltymų *in vitro* virškinamumą (0,8 %). Ultragarsinis ŽPP apdorojimas padidino vandens įgėrimo indeksą (vidutiniškai 7,8 %). Be to, ultragarso įtaka ŽPP priklausė nuo naudoto intensyvumo: prie mažesnių intensyvumų (0,9 ir 1,3 W/cm<sup>3</sup>) stebimas proteazinio aktyvumo padidėjimas, atitinkamai 1,7 bei 1,4 karto, tuo tarpu prie didžiausio intensyvumo (2 W/cm<sup>3</sup>) fiksuotas proteazinio aktyvumo sumažėjimas (vidutiniškai 1,5 karto). Didžiausias baltyminių medžiagų kiekio pokytis ir tripsino inhibitorių sumažėjimas nustatytas prie mažiausio intensyvumo (0,9 W/cm<sup>3</sup>).

Karklytė, Paulina. Modernization of Pea Processing: Selection of Technological Solutions for Processing of By-products. Master's Final Degree Project / supervisor Prof. habil. dr, Gražina Juodeikienė; The Faculty of Chemical Technology, Kaunas University of Technology.

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

Keywords: pea processing by-products, ultrasonic treatment, fermentation, extrusion process, lactic acid bacteria.

Kaunas, 2021. 70.

### Summary

The aim of the project is to modernize the process of pea (*Pisum sativum*) processing by selecting technological solutions for the processing of by-products that are made during pea processing. The technological experiment was carried out under production conditions in two directions: fractionation of pea mills and the separation of by-products by using the dry separation process, secondly – production of whole grain pea flour (WGF). Possibilities of using low-temperature extrusion, solid-phase fermentation LAB (*L. uvarum*, *L. brevis* and *L. paracasei*) and ultrasound (850 kHz) for processing by-products of pea processing and whole-grain pea flour were examined. The effect that technological factors had on the quality of pea processing products (PPP) was examined based on the changes in proteinaceous substances, functional properties and anti-nutritional factors. The use of the dry fractionation process results in a high total protein content (22,9 g/100 g d.b.) in the by-products after the separation process of the control pea flour (CPF), while the protein content in pea shell products (PSP) were only up to 5,3 g/100 g d.b. Processing peas into WGF could be a technological alternative, which would allow the processing of peas on a sustainable basis and produce 22,0 g/100 g d.b. protein content products. The highest amount of soluble proteins was detected in ŽMK and WGF products. Pea processing by-products (PPBP) and PSP, which mainly consist of larger particles (64% and 58,7%, respectively), had a higher water and fat absorption index. The highest levels of trypsin inhibitors and lower levels of digestibility at the in vitro stage were found in CPF and WGF products. A decrease in the amount of protein substances was detected while evaluating the effect that the extrusion process has on the composition of PPP. The effect that this process has on functional properties depends on the type of PPP: the analysis of the products (PSP-E3 and VGŽD-E4-E5) revealed 1,2 times higher water absorption than the control sample. The low-temperature extrusion process was determined to not reduce the activity of protease inhibitors in pea processing products. A decrease in protein content was detected in fermented pea processing products (2,7% on average). The process of fermentation had a negative effect on the functional properties of ŽPP: the water absorption capacity of fermented PPP had a lower level than the ability to absorb fat. The positive effect of fermentation was noticeable (regardless of the LAB strain) on protein uptake: by decreasing trypsin inhibitor activity (mean 50,4%) together with protease activity (68,2%) and increasing protein in vitro environment digestibility (0,8%). The ultrasound treatment of PPP increased the water uptake index (7,8% on average). In addition, the effect that the ultrasound process had on PPP correlated on the intensity at which it was used: at lower intensities (0,9 W and 1,3 W/cm<sup>3</sup>) an increase in protease activity was observed (1,7 and 1,4 times lower, respectively), while at the highest intensity (2 W/cm<sup>3</sup>) a decrease in protease activity (average 1,5 times) was noticeable. The largest change in protein content and a decrease in trypsin inhibitors were detected at the lowest intensity (0,9 W/cm<sup>3</sup>).

## TURINYS

<b>PAVEIKSLŲ SĄRAŠAS.....</b>	<b>7</b>
<b>SANTRUMPŲ IR TERMINŲ SĄRAŠAS.....</b>	<b>10</b>
<b>ĮVADAS.....</b>	<b>11</b>
<b>1. LITERATŪROS APŽVALGA.....</b>	<b>13</b>
1.1. Žirnių gamyba: pirminis perdirbimas ir įtaka produktų kokybei .....	13
1.2. Žirnių perdirbimas: pirminiai ir antriniai produktai, jų pridėtinės vertės didinimas .....	14
1.3. Ankštinių pridėtinės vertės produktų nauda sveikatai ir funkcinės savybės .....	15
1.4. Ankštinių kultūrų baltymų virškinamumas ir jo gerinimo galimybės .....	16
1.4.1. Ankštinių kultūrų baltymų kokybė .....	16
1.4.2. Antimonybinių veiksnių ankštinėse kultūrose eliminavimo būdai .....	17
1.5. Ekstruzijos technologijos taikymas ankštinių kultūrų sėklų apdorojimui .....	19
1.6. Fermentacija ankštinių kultūrų baltymų apdorojimui .....	20
1.7. Ultragarsinis baltyminių medžiagų apdorojimas.....	21
<b>2. TYRIMO OBJEKTAI IR METODAI.....</b>	<b>24</b>
2.1. Tyrimo kryptys .....	24
2.2. Tyrimo objektai .....	24
2.3. Tyrimų metodai .....	27
2.3.1. Baltyminių medžiagų analizės metodai .....	27
2.3.2. Žirnių perdirbimo produktų funkcinių savybių vertinimas .....	30
2.3.3. Fermentacijos proceso vertinimas .....	31
2.3.5. Antimonybinių faktorių nustatymo metodai .....	31
2.3.7. Matematinė statistinė duomenų analizė.....	32
<b>3. REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS .....</b>	<b>33</b>
3.1. Sausuoju būdu frakcionuotų žirnių perdirbimo produktų charakteristika .....	33
3.1.1. Žirnių perdirbimo produktų sudėtis .....	33
3.1.2. Žirnių perdirbimo produktų funkcinės savybės.....	34

3.1.3	Proteazinio aktyvuvo, proteazių inhibitorių aktyvumo ir virškinamumo pokyčiai .....	35
3.2	Ekstruzijos proceso įtaka žirnių perdirbimo produktų kokybei .....	37
3.2.1.	Ekstruduotų žirnių perdirbimo produktų sudėtis .....	37
3.2.2.	Ekstruduotų žirnių perdirbimo produktų funkcinės savybės .....	38
3.2.3	Ekstruzijos proceso įtaka žirnių perdirbimo produktų antimonybiniam faktoriams ir <i>in vitro</i> virškinamumui .....	40
3.3	PRB fermentacijos panaudojimo galimybių tyrimai žirnių perdirbimo produktų kokybės gerinimui.....	42
3.3.1.	Žirnių perdirbimo produktų fermentacijos proceso vertinimas .....	42
3.3.2.	Baltyminių medžiagų pokyčiai .....	43
3.3.3	Funkcinių savybių pokyčiai.....	45
3.3.4.	Proteazinio aktyvumo, proteazių inhibitorių aktyvumo bei virškinamumo pokyčiai .....	47
3.4.	Ultragarsinio apdorojimo įtaka žirnių perdirbimo produktų kokybei .....	51
3.4.1.	Baltyminių medžiagų pokyčiai .....	51
3.4.2.	Funkcinių savybių pokytis žirnių perdirbo produktuose po ultragarsinio apdorojimo .....	52
3.4.3.	Proteazinio aktyvumo, proteazių inhibitorių aktyvumo ir <i>in vitro</i> virškinamumo .....	52
3.4.4.	Ultragarsinio apdorojimo įtaką dalelių dydžio pasiskirstymui žirnių baltymų izoliato ir avižinių išspaudų vandeninėse suspensijose .....	54
	<b>IŠVADOS .....</b>	<b>57</b>
	<b>LITERATŪROS SĄRAŠAS.....</b>	<b>58</b>
	<b>PRIEDAI .....</b>	<b>69</b>
1	priedas. Tirpiųjų baltymų kiekio nustatymo standartinių mėginių paruošimo lentelė ir kalibracinė kreivė .....	69
2	priedas. Proteazinio aktyvumo nustatymo kalibracinė kreivė .....	70

## PAVEIKSLŲ SĄRAŠAS

1 pav. Žirnių perdirbimas į kruopas ir pridėtinės vertės produktus.....	14
2 pav. Proteazių inhibitorių eliminavimo būdai .....	17
3 pav. Tyrimo kryptys .....	24
4 pav. Žirnių genotipo Jūra DS vaizdai lauke (A) ir po derliaus nuėmimo (B) .....	25
5 pav. Žirnių perdirbimo technologinė schema, naudojant ekstruzijos technologiją ŽPAP, ŽPL ir VGŽD apdorojimui .....	25
6 pav. Žirnių perdirbimo produktų palyginamasis įvertinimas pagal bendras baltymų (A) ir tirpiųjų baltymų kiekį (B).....	33
7 pav. SDS–PAGE albuminų ŽMK, ŽPAP ir VGŽD produktų tyrimų rezultatai .....	34
8 pav. Žirnių perdirbimo produktų (ŽMK; ŽPAP, ŽPL ir VGŽD) palyginamas pagal granulimetrinę sudėtį.....	34
9 pav. Žirnių perdirbimo produktų (ŽMK; ŽPAP, ŽPL ir VGŽD) palyginamas pagal vandens įgėrimo indeksą (A) ir riebalų įgėrimo indeksą (B).....	35
10 pav. Žirnių perdirbimo produktų (ŽMK; ŽPAP, ŽPL ir VGŽD) palyginamas pagal proteazių aktyvumą (A), proteazių inhibitorių aktyvumą (B) ir in vitro virškinamumą (C).....	36
11 pav. Ekstruduotų žirnių perdirbimo produktų baltyminių medžiagų tyrimų rezultatai: A – bendro baltymų kiekio ir B – tirpiųjų baltymų kiekio .....	37
12 pav. Ekstruzijos proceso įtaka žirnių perdirbimo produktų vandens ir riebalų įgėrimui: A – vandens įgėrimo indeksui ir B – riebalų įgėrimo indeksui .....	38
13 pav. Ekstruduotų žirnių perdirbimo produktų palyginimas pagal tankį (kg/m <sup>3</sup> ).....	39
14 pav. Ekstruduoti žirnių perdirbimo produktai: (A–ŽPAP–E1; B–ŽPAP–E2; C–ŽPL–E3; D–VGŽD–E4; E–VGŽD–E5) .....	39
15 pav. Ekstruzijos proceso įtaka proteaziniam (A) ir proteazių inhibitorių aktyvumui (B) .....	40
16 pav. Ekstruzijos įtaka žirnių perdirbimo produktų baltymų <i>in vitro</i> virškinamumui .....	40
17 pav. pH pokyčiai žirnių perdirbimo produktų fermentacijos metu naudojant skirtingas PRB padermes: <i>L. uvarum</i> (A) <i>L. brevis</i> (B) ir <i>L. paracasei</i> (C).....	42
18 pav. PRB dauginimosi pokyčiai žirnių perdirbimo produktų fermentacijos metu, naudojant skirtingas PRB padermes: <i>L. uvarum</i> (A) <i>L. brevis</i> (B) ir <i>L. paracasei</i> (C) .....	43
19 pav. Bendro baltymų kiekio pokyčiai žirnių perdirbimo produktų fermentacijos metu, naudojant skirtingas PRB padermes: <i>L. uvarum</i> (A); <i>L. brevis</i> (B); <i>L. paracasei</i> (C).....	44

20 pav. Tirpiųjų baltymų kiekio pokyčiai žirnių perdirbimo produktų fermentacijos metu, naudojant skirtingas PRB padermes: <i>L. uvarum</i> (A); <i>L. brevis</i> (B); <i>L. paracasei</i> (C).....	45
21 pav. Fermentuotų (24 h ir 48 h) skirtingomis PRB padermėmis ( <i>L. uvarum</i> – A; <i>L. brevis</i> – B ir <i>L. paracasei</i> – C, žirnių perdirbimo produktų vandens įgėrimo indekso pokyčiai .....	46
22 pav. Fermentuotų (24 h ir 48 h) skirtingomis PRB padermėmis ( <i>L. uvarum</i> – A; <i>L. brevis</i> – B ir <i>L. paracasei</i> – C), žirnių perdirbimo produktų riebalų įgėrimo indekso pokyčiai .....	47
23 pav. Proteazinio aktyvumo pokyčiai fermentuotuose (24 h ir 48 h) žirnių perdirbimo produktuose, naudojant įvairias PRB padermes: <i>L. uvarum</i> (A); <i>L. brevis</i> (B) ir <i>L. paracasei</i> (C) .....	48
24 pav. Proteazių inhibitorių pokyčiai fermentuotuose (24 h ir 48 h) žirnių perdirbimo produktuose, naudojant įvairias PRB padermes: <i>L. uvarum</i> (A); <i>L. brevis</i> (B); <i>L. paracasei</i> (C) .....	49
25 pav. <i>In vitro</i> virškinamumo pokyčiai fermentuotuose (24 h ir 48 h) žirnių perdirbimo produktuose, naudojant įvairias PRB padermes: <i>L. uvarum</i> (A); <i>L. brevis</i> (B) ir <i>L. paracasei</i> (C). .....	50
26 pav. A, B. Bendro baltymų kiekio (A) ir tirpiųjų baltymų kiekio (B) žirnių perdirbimo produktuose, taikant skirtingo intensyvumo ultragarsinį apdorojimą (0,9, 1,3 ir 2,0 W/cm <sup>3</sup> ).....	51
27 pav. A,B. Žirnių perdirbimo produktų, apdorotų skirtingo intensyvumo (0,9, 1,3 ir 2,0 W/cm <sup>3</sup> ) ultragarsu, vandens įgėrimo indekso (A) ir riebalų įgėrimo indekso (B) pokyčiai .....	52
28 pav. A, B, C. Proteazių aktyvumo (A), proteazių inhibitorių aktyvumo (B) bei <i>in vitro</i> virškinamumo (C) pokyčiai ultragarsu (1,3 W/cm <sup>3</sup> ir 2 W/cm <sup>3</sup> ) apdorotų žirnių perdirbimo produktų .....	53
29 pav. Dalelių dydžio pasiskirstymas suspensijose esant pH 3 prieš apdorojimą ultragarsu (A) ir po ultragarsinio apdorojimo (B) .....	54
30 pav. Dalelių dydžio pasiskirstymas suspensijose esant pH 7 prieš apdorojimą ultragarsu (A) ir po ultragarsinio apdorojimo (B) .....	54
31 pav. Dalelių dydžio pasiskirstymas suspensijose esant pH 9 prieš apdorojimą ultragarsu (A) ir po ultragarsinio apdorojimo (B) .....	55

## SANTRUMPŲ IR TERMINŲ SĄRAŠAS

KSV – kolonijas sudarantys vienetai;

PRB – pieno rūgšties bakterijos;

ŽMK – žirnių miltai komerciniai;

ŽPAP – žirnių perdirbimo antriniai produktai;

ŽPL – žirnių produktai luobelės;

VGŽD – viso grūdo žirnių dalys;

ŽPP – žirnių perdirbimo produktai;

ŽBI – žirnių baltymų izoliatas;

AVI – avižų išspaudos;

s.m. – sausosios medžiagos;

FU – fermentacija (lot. *Lactobacillus uvarum*) LUHS245;

FB – fermentacija (lot. *Lactobacillus brevis*) LUHS140;

FP – fermentacija (lot. *Lactobacillus paracasei*) LUHS244;

SDS–PAGE – natrio dodecilsulfato poliakrilamidinio gelio elektroforezė;

TEMED – tetra–metil–etilen di–aminas;

UG – apdorojimas ultragarsu;

PV – proteazinio aktyvumo vienetai;

E1, E2, E3, E4, E5 – ekstruduoti mėginiai.

## ĮVADAS

Žirniai (*Pisum sativum*) yra viena iš labiausiai paplitusių Europos sąjungoje (ES) ankštinių kultūrų, kuri galėtų būti naudojama tvarių baltymų gamybai. Augalinės kilmės alternatyvių baltymų gamyba turi daug teigiamų aspektų, įskaitant draugiškumą aplinkai, palankumą gyventojų mitybai ir apsirūpinimą maistu ir atitikimą naujoms vartotojų mitybos tendencijoms.

Ankštinių kultūrų perdirbimo metu ieškoma technologinių sprendimų gamybos efektyvumo didinimui, parenkant jų perdirbimui schemas, leidžiančias išgauti didesnio baltymingumo ir vertingesnes frakcijas. Kartu vertinama kiekvieno iš gautų produktų baltymų biologinė vertė, funkcinės savybės, jų nauda vartotojui ir ieškoma naujų taikomumo sričių. Pasaulinėje praktikoje didžiausia patirtis sukaupta sojos pupelių perdirbimo srityje. Tarp vartotojų paklausos paplitusios sojos pupelės, iš kurių gaminami įvairūs fermentuoti ir ekstruduoti produktai, tokie kaip tofu, tempe, sojų pienas ir kt. Vietinėse sąlygose gaminamos ankštinės kultūros iki šiol panaudojamos neefektyviai, perdirbimo metu susidaro daug atliekų, kurios daugiausiai naudojamos pašarų gamybai.

Keičiantis vartotojų mitybai ir vykstant intensyvioms diskusijoms dėl tvarios planetos, aktualu surasti technologinius sprendimus, leidžiančius žirnių perdirbimo metu susidarancius antrinius produktus pritaikyti maisto gamybai. Tokiu būdu, maisto pramonei keliamas kompleksinis uždavinys, žirnių ir jų perdirbimo produktų baltymų kokybės gerinimui. Žirnių perdirbant tvariu principu, spręstinos tokios problemos: efektyvių baltymų išgavimo technologijų paieška ir antimitybinių faktorių, susijusių su nevirškinamų polisacharidų bei fermentų inhibitoriais buvimu, eliminavimas.

Antimitybinių faktorių šalinimui ir baltymų funkcinių savybių gerinimui naudojama fermentacija. Papildomai ieškoma sprendimų ankštinių kultūrų baltyminių medžiagų juslinių savybių gerinimui. Dėl fermentacijos sojos pupelės įgauna didesnę maistinę vertę, atsiranda specifinis kvapas ir pasikeičia konsistencija. Fermentaciją atrinktomis pieno rūgšties bakterijomis tikslinga būtų išbandyti žirnių produktams apdoroti ir jų kokybei gerinti.

Iš fizikinių sprendimų gamybinėje praktikoje dažniausiai naudojami terminio apdorojimo būdai, o taip pat ekstruzijos technologija. Taikant ekstruzijos procesą, svarbu parinkti technologinius parametrus, leidžiančius eliminuoti antimitybinius veiksnius ir naudojant žemas temperatūras kartu išsaugoti baltyminių medžiagų kokybę. Pastaruoju metu maisto pramonėje vis plačiau pradėtas taikyti ultragarsas. Daugiausiai informacijos yra sukaupta apie žemo dažnio ir didelio intensyvumo ultragarsinės technikos taikymą ir jos poveikį sojos pupelių baltyminių medžiagų pokyčiams. Aukšto dažnio ir mažo intensyvumo ultragarsas išbandytas apdorojant linų sėmenis, baltymus bei skaidulines medžiagas jų sudėties pokyčiams nustatyti. Tačiau nėra pakankamai duomenų apie šio fizinio apdorojimo įtaką ankštinių kultūrų baltyminėms medžiagoms, funkcinių savybių pokyčiams ir antimitybiniams faktoriams. Ultragarsinis apdorojimas yra perspektyvus procesas, taikytinas kombinacijoje su fermentiniu apdorojimu ir esant įvairiems terpės pH.

Sumažinus žirniuose tripsino inhibitorių kiekį ir pagerinus jų funkcines bei juslines savybes, šių ankštinių javų pritaikymo spektras gerokai padidėtų. Žirnių panaudojimas mėsos analogų kūrimui bei kitų produktų gamybai ar praturtinimui yra vis dar tobulėjanti ir besiplečianti sritis maisto pramonėje. Be to, žirnių baltymus ar žirnių perdirbimo antrinius produktus galima pritaikyti, kaip priedus, kepinių maistinei vertei pagerinti, taip pat kepinių be glitimo gamybai, konditerijos pramonėje ir gėrimų gamyboje.

**Darbo tikslas** – žirnių (*Pisum sativum*) perdirbimo proceso modernizavimas, pritaikant šiuolaikinius apdorojimo metodus (ekstruzijos, fermentacijos ir ultragarsinio apdorojimo) žirnių perdirbimo antrinių produktų funkcinių savybių pagerinimui ir fermentų inhibitorių mažinimui.

Tikslui pasiekti darbe buvo sprendžiami šie uždaviniai:

1. Nustatyti žirnių perdirbimo antrinių produktų sudėtį, funkcines savybes ir baltymų antimonybinius faktorius;
2. Apibūdinti viso grūdo dalių žirnių produktus: sudėtį, funkcines savybes ir baltymų pasisavinamumą;
3. Įvertinti žematemperatūrinio ekstruzijos proceso įtaką žirnių perdirbimo antrinių produktų ir viso grūdo dalių žirnių produktų kokybei;
4. Palyginti fermentuotų įvairiomis pieno rūgšties bakterijomis (lot. *L. uvarum*, *L. brevis* ir *L. paracasei*) žirnių perdirbimo produktų kokybę;
5. Nustatyti ultragarsinio apdorojimo (850 kHz) prie įvairių intensyvumų (0,9 W/cm<sup>3</sup>, 1,3 W/cm<sup>3</sup> ir 2 W/cm<sup>3</sup>) įtaką žirnių perdirbimo produktų sudėčiai, funkcinėms savybėms ir baltymų pasisavinamumui.

## 1. LITERATŪROS APŽVALGA

### 1.1. Žirnių gamyba: pirminis perdirbimas ir įtaka produktų kokybei

Ankštiniai javai priklauso pupinių, ankštinių šeimai (lot. *Fabaceae*, *Leguminosae*). Pasaulyje užauginama daug skirtingų ankštinių augalų rūšių: žirniai (lot. *Pisum sativum L.*), lubinai (lot. *Lupinus spp.*), Faba pupelės (lot. *Vicia faba L.*), avinžirniai (lot. *Cicer arietinum L.*), lęšiai (lot. *Lens culinaris Medik.*), paprastosios pupelės (lot. *Phaseolus vulgaris L.*) ir sojos pupelės (lot. *Glycine max (L.) Merr.*), kurie užima apie 12 % visų grūdinių kultūrų ploto [1]. Jungtinių Tautų maisto ir žemės ūkio organizacijos duomenimis 2019 metais pasaulyje pagaminta 21.76 mln. tonų žaliųjų žirnių, pagrindiniai gamintojai Kinija, Indija ir Prancūzija [2].

ES užauginama tik apie 3 % ankštinių javų, iš kurių žirniai sudaro (60 %), per 30 % visų ankštinių javų ploto užima pupos ir tik 6 % – lubinai [3] Atsižvelgiant į Lietuvos kultūrą bei istoriją, galima išskirti dvi pagrindines ankštinių javų rūšis, kurių vartojimas yra didžiausias, tai būtų žirniai ir pupos. Lietuvoje žirnių gamyba 2019 metais sudarė 155,84 tūkstančių tonų. Vietinėse sąlygose, kaip ir ES, žirniai daugiau naudojami pašarų gamybai nei maistui [4]. Per pastarąjį dešimtmetį ES šalyse ankštinių augalų pasėliai sumažėjo apie 30 % ir užima mažiau nei 2 % dirbamos Europos žemės ploto. Dėl to atsiranda problemų maisto pramonėje ir žemės ūkyje, nes auga ankštinių augalų baltymų importas ir mažėja vietinėse sąlygose visaverčių baltymų gamybos apimtys [5].

Žirnių gamyba, lyginant su kitais ankštiniais augalais, išsiskiria keliais privalumais. Pirma – šių augalų sėklos yra geras baltymų šaltinis, jose yra gausu B grupės vitaminų, mineralinių medžiagų ir skaidulinių medžiagų [6]. Taigi, ankštinių javų produktai buvo naudojami ir turi potencialą, vystant įvairius pridėtinės vertės maisto produktus.

Kita vertus, žirniai, pupos, vikiai, lubinai ir kiti ankštiniai augalai gerokai padeda sumažinti šiltnamio efektą sukeliančių dujų kiekį, nes jie absorbuoja ir fiksuoja dirvožemyje esantį azotą ir taip padeda sumažinti azoto trąšų kiekį iki 100 kg/ha<sup>-1</sup> (N) per mėnesį [7]. Įtraukus ankštinius augalus į sėjomainą, pagerinamas dirvos derlingumas ir struktūra, vėliau sėjami augalai auga sveikesni, todėl prireikia mažiau cheminių augalų apsaugos produktų. Reaguodama į klimato kaitą, žemės ūkio biologinės įvairovės nykimą, dirvožemio nualinimą, požeminio vandens taršą ir kitus veiksnius, ES skiria ypatingą dėmesį ankštinių augalų auginimo apimčių didinimui [5].

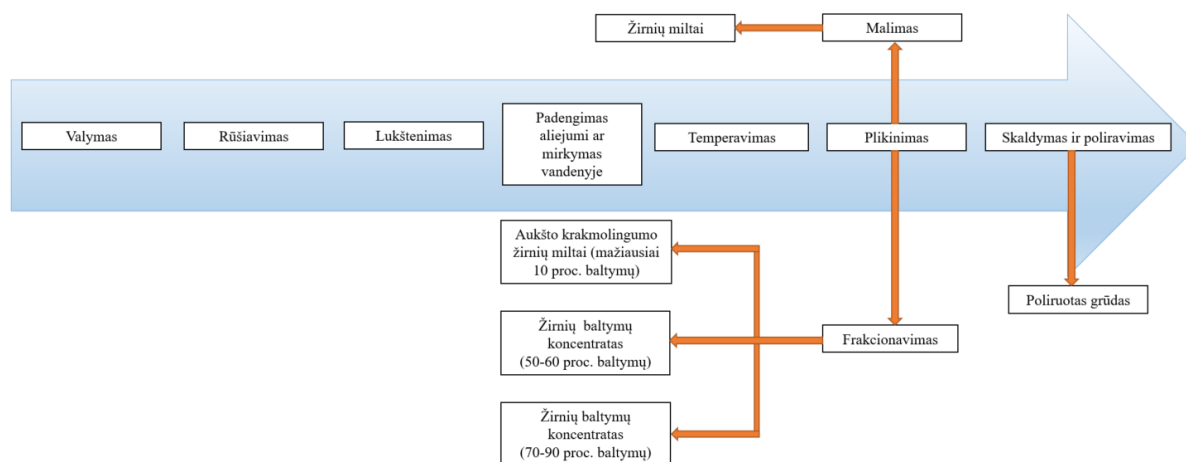
Žirniai jau daugelį metų užima reikšmingą vietą Lietuvos žemės ūkio sektoriuje, kurių perdirbimas iki šiol daugiausiai vykdomas tradiciniu būdu, pradedant nuo ankščių kūlimo operacijos ūkiuose. Žirniai yra ypač jautrūs suskaldymui (dažniausiai skyla pusiau). Todėl kuliant sausus žirnius (drėgnis < 17 %), būtina neviršyti kūlimo būgno spragilų greičio (14 m/s<sup>-1</sup>), nes jį padidinus dvigubai iki reikalingo kviečių ir avižų kūlimui, skaldytų žirnių kiekis padidėja iki 20 %. Be to, ankštinių augalų sėklas žaloja pakartotinis ankščių kūlimas. Kokybiškam žirnių perdirbimui svarbu ne tik kombainų darbo reguliavimas, bet ir jų techninė būklė [3]. Pradiniam valymui naudojamos sietinės pirminio valymo mašinos, universalieji valomieji įrenginiai ir išcentriniai separatoriai (pvz. Vokietijos kompanijos „Schmidt-Seeger“). Pirminiam ir pagrindiniam ankštinių javų sėklų valymui naudojamos universalieji valomieji įrenginiai, kuriuose sėklos valomos oro srove ir sietais. Universalųjų valomųjų įrenginių naujovė – aerodinaminiai separatoriai, kuriais sėklos valomos ir rūšiuojamos pagal oro srove tankį. Po pradinio valymo, kai iš grūdų pašalintos stambios ir drėgnesnės priemaišos, tikrinamas sėklų drėgnis ir jeigu jis didesnis nei 17 %, žirniai – džiovinami. Sausesniems ankštinių javų grūdams

išdžiovinti pakanka ir aktyviosios ventiliacijos, džiovinant atmosferos arba pašildytu oru. Drėgnesniems ankštinių javų grūdams išdžiovinti naudojamos šachtinės, konvejerinės ir kitokios džiovyklos. Džiovinimo agento bei grūdų įkaitimo temperatūra parenkama priklausomai nuo grūdų drėgnio ir paskirties. Džiovinant ankštinių javų grūdus šiluminėmis džiovyklomis, būtina prisiminti, kad vienu praleidimu per džiovyklą jų drėgnio negalima sumažinti daugiau kaip 2–3 % (absoliutiniu dydžiu), džiovinami grūdai neturi įkaisti daugiau kaip 30 °C temperatūros, o džiovinimo agento temperatūra neturi būti didesnė kaip 35 °C. Tik tada, kai džiovinamų grūdų drėgnį sumažiname iki 20 %, jų įkaitimo ir džiovinimo agento temperatūras tolesniam džiovinimui galima pakelti 5 °C. Sausi ir išvalyti ankštinių javų grūdai gali būti laikomi aruoduose, supilant juos 1,5–2,9 m aukščiu sanpilai, arba grūdų bokštuose [3].

## 1.2. Žirnių perdirbimas: pirminiai ir antriniai produktai, jų pridėtinės vertės didinimas

Sausi žirniai dažniausiai perdirbami į kruopas, miltus – pagrindinius produktus ar antrinius produktus (baltymus, krakmolą ar skaidulines medžiagas). Žirnių produktų pridėtinę vertę galima padidinti tiek pagrindinių produktų gamybos metu, tiek ir ruošiant antrinius produktus [8, 9].

Procesai naudojami žirnių perdirbimo metu pateikti 1 paveiksle [8].



1 pav. Žirnių perdirbimas į kruopas ir pridėtinės vertės produktus

Gaminant iš žirnių pagrindinius produktus (miltus ir kruopas), jie yra valomi, atskiriant mineralines ir kt priemaišas, rūšiuojami, paviršius apdorojamas, mirkomi vandenyje ar padengiami aliejumi, vykdomas terminis apdorojimas ir lukštenimas. Lukštenti žirniai malami ir taip gaunami miltai, kurie separuojami tikslu suteikti produktams pridėtinę vertę – praturtinti baltymais (žr. 1 pav.). Po separavimo atrenkama miltams tinkama frakcija, kuri naudojama maisto pramonėje. Lukštenimo proceso efektyvumo didinimui žirniai apdorojami fermentais ar cheminėmis medžiagomis tokiomis kaip natrio bikarbonatas, natrio karbonatas, natrio hidroksidas ir amoniakas [10]. Nustatyta, jog naudojant fermentus pagerėja baltymų virškinamumas. Kondicionuoti žirniai yra (kaitinami ir aušinami), o tam tikrais atvejais džiovinami. Žirnių perdirbimo technologinės operacijos išsamiai aprašytos literatūroje [11, 9].

Žirnių perdirbimas į miltus ir kruopas yra nesudėtingas. Tuo tarpu baltymų iš žirnių išgavimo procesas yra kur kas sudėtingesnis, tam naudojami du skirtingi frakcionavimo metodai – sausas ir šlapiasis frakcionavimas.

**Sausuoju separavimo būdu**, frakcionuojant nulukštentų žirnių malinį oro sraute, gaminamas baltymų koncentratas (nuo 50 % iki 60 % baltymų). Aeroseparavimas yra malimo procesas, leidžiantis frakcionuoti grūdų/sėklų malinį į daugiau krakmolo ir baltymų turinčias frakcijas [12, 13, 14]. Separuojant oru, iš malinio atskiriama lengva smulki frakcija (baltyminga) nuo sunkiosios stambesnės frakcijos (krakmolo). Norint pagerinti baltymų ir krakmolo atskyrimą oru, žirnių sėklos turi būti tinkamai susmulkintos, kad būtų pilnai suardytos augalo ląstelės, tačiau stipriai nepažeistos krakmolo granulės. Nepaisant pastangų malinio paruošimui ir pakartotino malimo, tyrimai parodė, kad baltymų grynumas dažnai yra mažesnis nei naudojant šlapiuosius ekstrahavimo procesus.

**Šlapiasis ankštinių kultūrų sėklų frakcionavimas** paprastai naudojamas gaminant iš ankštinių augalų sėklų baltymų izoliatus (nuo 70 iki 92 % baltymų). Procesas apima šarminę ekstrakciją, izoelektrinį nusodinimą, rūgštinį nusodinimą, ekstrakciją vandeniu ir druska bei ultrafiltraciją. Paskutinė žirnių baltymų išgavimo stadija yra gautų nuosėdų plovimas vandeniu ir daugiapakopis džiovinimas puršktuviniėje džiovvykloje [15]. Taip pat gaunamas didelio grynumo krakmolas (98 %).

### **1.3. Ankštinių pridėtinės vertės produktų nauda sveikatai ir funkcinės savybės**

Ankštinių sėklų perdirbimo produktai dėl jų aukštos maistinės vertės ir naudos sveikatai (didelio baltymų ir skaidulų kiekio, būdami be glitimo, turintys žemą glikemijos indeksą (GI), išsiskiriantys aukštu antioksidantų lygiu), plačiai naudojami naujų maisto produktų gamyboje [16].

Ankštinės kultūros yra baltymų šaltinis, jų aminorūgščių sudėtis yra geriau subalansuota nei grūdinių javų ir geresnis yra jų baltymų virškinamumas. Taip pat ankštinių kultūrų baltymai ar jų izoliatai, pasižymi geromis funkcinėmis savybėmis, dėl kurių jie yra laikomi kaip naudingi bei pridėtinę vertę kuriantys priedai, inovatyvių maisto produktų gamyboje [17, 18, 19]. Ankštinius augalus iš kitų išskiria šios savybės: tirpumas, vandens bei riebalų absorbcija, putų bei gelių susidarymas. Šios savybės buvo pritaikytos gaminant tokius produktus kaip konditeriniai kepiniai, ekstruduoti užkandžiai ir kt. [20, 21, 22].

Puikios ankštinių klutūrų baltymų ir baltymų izoliatų emulsinimo savybės yra susijusios su hidrofilinių amino rūgščių buvimu, skatinančiu emulsijų „aliejus vandenyje“ susidarymą [23, 24].

Ankštinių kultūrų baltymuose vyrauja vandenyje tirpūs albuminai ir druskoje tirpūs globulinai, o prolaminai ir glutelinai aptinkami mažesnėmis koncentracijomis [25]. Labiausiai maisto produktų funkcionalumą lemia – globulino baltymai. Visi ankštinių kultūrų globulinai susideda iš dviejų pagrindinių baltymų – 11S ir 7S. Ankštinių kultūrų miltų ir baltymų koncentratų bei izoliatų fizikinių ir cheminių savybių savitumus apsprendžia globulinų:albuminų santykis.

Ankštinių kultūrų baltymų funkcinės savybės, į kurias reiktų atsižvelgti kuriant pridėtinės vertės produktus, būtų tokios:

**Tirpumas:** baltymų tirpumas yra pagrindinė savybė, pasirenkama naudojant ankštinių kultūrų priedus skystų maisto produktų ir gėrimų gamyboje. Gerą tirpumą turintys baltymai, pasižymi geru baltyminių molekulių bei dalelių dispersiškumu, bei turi įtakos smulkiai disperguotų koloidinių sistemų susidarymui. Baltymų dėl didelio tirpumo panaudojimas gali būti smarkiai išplėstas [26].

**Vandens absorbcija** (g arba ml vandens/g baltymų): apibrėžiama, kaip kiekis vandens, kuris gali būti absorbuotas 1 g baltymų [27].

*Riebalų absorbcija* (g arba ml aliejaus/g baltymų): apibūdinama, kaip aliejaus tūris ar masė, kuris absorbuojamas baltymų miltelių ar ankštinių kultūrų miltų [27].

*Emulsijų sudarymo pajėgumas ir stabilumas* tai dažniausiai naudojami indeksai baltymų miltų funkcinių savybių įvertinimui. Baltymai veikdami kaip emulsikliai, formuodami plėvelę aplink disperguotus vandenyje aliejaus lašelius, užkerta kelią struktūriniais pokyčiams, tokiems kaip koalescencija, flokuliacija ar nuosėdų susidarymas [26].

*Putų susidarymo pajėgumas ir jų stabilumas* yra svarbi savybė putinių masių gamyboje, sąlygojanti ne tik tūrio padidėjimą, bet ir apsauganti putas nuo suirimo [26].

*Gelių susidarymo pajėgumas* yra svarbus gaminant daugelį maisto produktų (pvz., pudingus, drebučius ir daugelyje desertų ir kt.). Jis išreiškiamas gelių susidarymo gebos indeksu – mažiausia produkto koncentracija, kuri reikalinga savaiminiam gelio susidarymui. Todėl baltymai, kurių šio indekso vertės yra mažesnės, pasižymi didesne gelių susidarymo geba [27].

Ankštinių kultūrų baltymų aminorūgščių sudėtis yra reikšminga, apibūdinant šios rūšies baltymų vaidmenį produkto maistinei vertei ir vartotojų priimtino gerinimui. Mitybiniu atžvilgiu, ankštinių augalų kultūros pasižymi mažu sierą turinčių amino rūgščių kiekiu. Tačiau kitų nepakeičiamųjų amino rūgščių kiekis, tokių kaip lizinas ankštinėse kultūrose yra didesnis nei javų grūduose. Todėl, vertinant pagal lizino ir sierą turinčių aminorūgščių kiekį, ankštinių ir grūdinių javų baltymai gali papildyti žmonių mityboje vienas kitą. Taigi, vadovaujantis šiuo principu buvo vystomi maisto produktai (makaronai, kepiniai ir kt.), kombinuojant jų sudėtyje ankštinių kultūrų ir grūdinių javų baltymus.

#### **1.4. Ankštinių kultūrų baltymų virškinamumas ir jo gerinimo galimybės**

##### **1.4.1. Ankštinių kultūrų baltymų kokybė**

Ankštinių kultūrų sėklose gali būti ne tik naudingų baltymų, bet ir fermentų inhibitorių (pvz., tripsino ir chimotripsino inhibitorių), kurie gali turėti neigiamą įtaką baltymų virškinamumui. Taigi, ruošiant maisto produktus su ankštinių kultūrų baltymų priedais, siekiama atsižvelgti į baltymų kiekį ir jų kokybę, o taip pat į baltymų virškinamumą.

Didžiausi šių inhibitorių kiekiai aptinkami sojos pupelėse, jų aktyvumas siekia nuo 34,7 iki 122,6 mg/g produkto. Tuo tarpu žirniuose šio inhibitoriaus aktyvumas priklausomai nuo žirnių genotipo kinta nuo 2 iki 12,5 mg/g produkto [28].

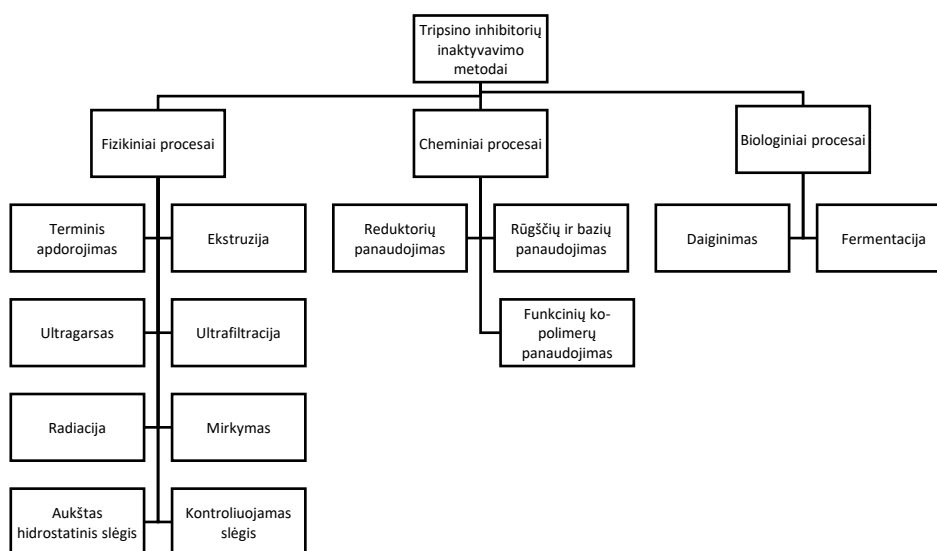
Avinžirnių, pupelių ir žirnių baltymų *in vitro* virškinamumas yra ribose nuo 65,3 % iki 79,4 %, nuo 67,2 % iki 72,2 % ir nuo 60,4 % iki 74,4 %, atitinkamai [29, 30]. Be to, nustatyti baltymų virškinamumo skirtumai tarp atskirų avinžirnių rūšių ir perdirbimo būdo.

Proteazių inhibitoriai yra baltyminės kilmės medžiagos. Ankštinėse kultūrose aptinkamos dvi pagrindinės tripsino inhibitorių grupės: *Kunitz* inhibitoriai, kurie yra sudaryti iš dviejų disulfidinių jungčių, jų molekulinė masė 18–22 kDa, ir *Bowman – Birk* inhibitoriai. *Kunitz* inhibitorių pirminę struktūrą sudaro apie 181 aminorūgščių liekana, jungiamoji kilpa, kuri prijungia prie tripsino vieną arba dvi polipeptido grandines, taip pat randamas mažas cisteino kiekis. Disulfidiniai ryšiai stabilizuojami keturiais cisteino grandinės likučiais. Nutrūkus šiems disulfidiniams ryšiams, pastebimas *Kunitz* inhibitoriaus aktyvumo praradimas. Ši inhibitorių grupė veikia tripsiną [31].

*Bowman – Birk* inhibitoriai, kurių molekulinė masė 8–10 kDa, sudaryti iš septynių disulfidinių ryšių, jie veikia tripsiną ir chimotripsiną. Dėl šių inhibitorių veiklos sumažėja baltymų virškinamumas. Disulfidiniai ryšiai suteikia struktūrai stabilumo, todėl *Bowman – Birk* inhibitoriai yra termostabilesni, atsparesni rūgščių ir šarmų poveikiui [32]. Šio tipo inhibitoriuose aptinkama daug cisteino ir jų struktūrą sudaro dvi reaktyvios kilpos (kiekvienoje molekulėje), kurios yra giminingos serino proteazėms: tripsinui, chimotripsinui, elastazei ir kalikreinui. *Bowman – Birk* inhibitoriai suskirstyti į du poklasius priklausomai nuo jų molekulinio svorio: 8 kDa ir 16 kDa. Skirtingai nuo *Kunitz* tipo inhibitorių, kurie yra koduojami vieno geno, *Bowman – Birk* inhibitoriai koduojami bent trimis genais [33].

Šie fermentų inhibitoriai prie savo substratų jungiasi skirtingais mechanizmais (su tam tikromis išimtimis). Didžioji dauguma proteazių inhibitorių savo taikinius veikia pagal konkurencinio slopinimo mechanizmą. Proteazių inhibitoriai suriša kritinę inhibitoriaus dalį aktyvioje substrato vietoje [34].

Proteazių inhibitorių eliminavimui iš ankštinių kultūrų naudojami cheminiai, fizikiniai ir biologiniai procesai pateikti 2 paveiksle.



**2 pav.** Proteazių inhibitorių eliminavimo būdai [35]

Ankštinių baltymų virškinamumas gerinamas mirkant, taikant autoklavavimą ir daiginant. Baltymų virškinamumas buvo didesnis mirkant sėklas, o be mirkymo – verdant sėklas. Pagal Carbanaro, Cappelloni ir kt., gaminant maistą pagerėjo avinžirnių ir paprastųjų pupelių miltų/koncentratų *in vitro* virškinamumas, tačiau tai nepadidino faba pupelių ir lęšių miltų virškinamumo [36].

Tokiu būdu, tyrimai apie ankštinių kultūrų baltymų virškinamumo gerinimo galimybes, naudojant ir/ar vystant įvairius technologinius procesus ir parenkant jų sąlygas, išliko perspektyvūs.

#### **1.4.2. Antimonybinių veiksmių ankštinėse kultūrose eliminavimo būdai**

Efektyviausi ir dažniausiai pramonėje naudojami metodai tripsino inhibitorių inaktyvavimui yra ekstruzija ir fermentacija. Procesas, kurio efektyvumas laikomas vidutinišku, yra ultragarsinis apdorojimas. Skirtingų ankštinių kultūrų baltymų virškinamumas ir veiksmių poveikis virškinamumui gali skirtis [37]. Svarbu įvertinti tai, jog metodų efektyvumas priklauso nuo ankštinių kultūrų tipo,

tačiau kombinuojant kelis metodus gali būti pasiektas maksimalus tripsino inhibitorių inaktyvavimas [35].

#### **1.4.2.1. Baltymų išskyrimo ir koncentravimo būdai**

Fiziniai procesai – sausasis ir šlapiasis ankštinių kultūrų produktų frakcionavimas yra labai efektyvūs technologiniai sprendimai baltymų kokybės gerinimui [37]. Naudojant juos, galima gaminti augalinius baltymų produktus, pvz., miltus (20 iki 30 % baltymų), praturtintus baltymais produktus (nuo 30 iki 50 %), baltymų koncentratų (50–80 %) ir izoliatus (> 90 %).

*Šlapiasis frakcionavimas* yra pagrindinis ir dažniausiai naudojamas baltymų išgavimo būdas augalinių baltymų (koncentratų/izoliatų) gamyboje, įskaitant šarminį ekstrahavimą, po kurio atliekamas izoelektrinis nusodinimas (pH koreguojamas pagal baltymo izoelektrinį tašką) [39, 40, 41, 42, 43]. Baltymų izoliatai, išgauti iš augalinės žaliavos šiuolaikine technika, yra puikus maisto papildas ir naudingas fizinio aktyvumo didinimui ir ansorio reguliavimui [41]. Baltymų ekstrahavimas terminiu bei šarminiu apdorojimais, gali pagerinti baltymų izoliato, lyginant su baltymų miltais, virškinamumą [44, 42]. Tačiau šis būdas turi daug trūkumų dėl didelių gamybos kaštų, įskaitant dideles vandens ir energijos sąnaudas. Kai kurie „švelnesni“ apdorojimo būdai leidžia išvengti šių trūkumų.

*Frakcionavimas sausu būdu* (smulkinimas/separavimas oru) yra efektyvi technika, naudojama baltymų koncentratu iš ankštinių augalų (pvz., žirnių, pupelių ir lęšių) ir kai kurių grūdų (pvz., miežių ir kviečių) gamybai [45, 14, 46]. Be to, membraninis frakcionavimas (pvz., ultrafiltracija) gali būti identifikuotas kaip alternatyva izoelektrinio nusodinimo procesui, naudotinas išgrynintų baltymų ingredientų iš ankštinių kultūrų gamybai. Jis leidžia pagerinti baltymų išgavimo laipsnį ir pagerinti fizines – funkcines baltymų savybes tokias kaip tirpumas ir gelio elastingumas [47]. Pažymima, kad apdorojimo sąlygos (režimas, ekstrahavimo temperatūra, trukmė, baltymų: vandens santykis) ir naudotina įranga gali turėti įtakos baltymų produkto funkcionalumui [48].

Kaip jau minėta, baltymų išskyrimo procedūros turi reikšmingą įtaką struktūrinėms ir funkcinėms baltymų savybėms. Apdorojimas sukelia baltymo dalinę denaturaciją, pokyčius ketvirtinėje ir tretinėje jo struktūroje, todėl baltymas tampa jautresniu ir labiau prieinamu virškinimo fermentų (proteazių) veiklai, tuo padidinant baltymų virškinamumą. Pagerėjęs baltymų virškinamumas yra siejamas su tam tikrų aminorūgščių sudėties pokyčiais (pvz., lizino ir sierą turinčių aminorūgščių) [49].

Augalinių baltymų izoliatų virškinamumo padidėjimas gali būti susijęs su tam tikrų nepalankių žmogaus sveikatai junginių mažinimu ir jų pašalinimu. Baltymų izoliatų išgavimo metu smarkiai sumažinamas taninų ir fitatų kiekis. Šių junginių kiekis juose nustatytas mažesnis nei ankštinių kultūrų miltuose ar neapdorotose sėklose. Tai rodo teigiamą proceso įtaką baltymų kokybės gerinimui [41]. Tyrejai įvertino rapsų sudėties pokyčius baltymų išskyrimo metu ir įrodė, kad koncentratu ir izoliato išskyrimo technika gamybos metu leido sumažinti fitino rūgšties kiekį (74–92 %) ir eliminuoti iš sudėties taninus (100 %) bei tripsino inhibitorius [50]. Proteazių inhibitorių pašalinimas iš baltymų izoliatų padidina lubinų izoliatų (93,9 %), lyginant su lubinų miltais (80 %), maistinę vertę, gauti izoliatai pasižymi didesniu baltymų virškinamumu ir juose yra mažas nepageidaujamo medžiagų kiekis [39].

## 1.5. Ekstruzijos technologijos taikymas ankštinių kultūrų sėklų apdorėjimui

Ekstruzija tai terminis/mechaninis trumpalaikis procesas, kurio metu ekstruduojama masė, veikiamą slėgio (40–120 bar) ir temperatūros (100–180 °C), maišosi su vandeniu ir pereina į skystą fazę – lydą. Masei ištekėjus iš antgalio, slėgis nukrenta iki atmosferinio ir toks staigus virsmas iššaukia vandens garavimą bei ekstrudatų plėtimąsi [49]. Ekstruzija yra vienas iš efektyviausių ir universaliausių maisto gamyboje hidroterminių procesų, kuris naudojamas grūdinių javų ir ankštinių kultūrų perdirbimui ir tekstūruotų augalinių baltymų gamybai [51, 52, 53, 35]. Ekstruzijos metu krakmolai kleisterizuojasi (visiškai arba dalinai), esant daug žemesniam drėgmės kiekiui (12–22 %) nei tai būdinga kitoms perdirbimo technologijoms [54]. Padidinus ekstruzijos temperatūrą, vyksta krakmolo kleisterizacija ir krakmolo virškinamumas gali padidėti iki ~ 90 % [55, 56]. Be to, virsmai ekstruderyje sukelia amilozės skilimą. Tokių virsmų, pasireiškiančių amilopektino polimere, rezultate susidaro mažesni ir labiau virškinami fragmentai, t.y. dekstrinai ir redukuojantys sacharidai [57]. Didinant ekstruzijos temperatūrą nuo 140 iki 180 °C, o masės drėgmę – nuo 14 iki 22 % lėšiu ekstruzijos metu, buvo stebimi teigiami krakmolo virškinamumo pokyčiai [55]. Todėl krakmolo virškinamumą galima reguliuoti, keičiant ekstruzijos proceso parametrus, nes kai kurie maisto produktai, pvz., naudojami kūdikių mityboje, turi būti lengvai virškinami. Tuo tarpu viršsvorį turinčių žmonių mityboje užkandžių sudėtyje turėtų būti mažiau lengvai virškinamų medžiagų.

Ekstruzijos metu baltymai denatūruoja, o hidrofobinės liekanos dėl didelės šlyties ir temperatūros išsiskleidžia ir išsilygina medžiagos tekėjimo link antgalio kryptimi. Formuojasi pluoštinė baltymų struktūra, susidarant naujoms tarpmolekulinėms jungtims (vandenilinėms, disulfidėms, hidrofobinėms) ir vykstant agregacijos procesams [58]. Didelio drėgnio matricoje baltymingos matricos stabilizuojasi vandenilinėmis ir disulfidinėmis jungtimis, tuo tarpu mažo drėgnio masėje (nuo 30 iki 40 %) – hidrofobinėmis ir disulfidinėmis jungtimis [59]. Šio proceso metu baltymai denatūruoja, fermentai dalinai ar visiškai inaktyvuojami, pašalinami labilūs junginiai ir tokie virsmai turi įtakos baltymų kokybei [60, 61, 51, 62, 63, 64]. Paprastai baltymų virškinamumas ekstruzijos proceso metu taip pat padidėja [54]. Manoma, kad baltymų denatūracija, kurią sukelia šiluma ir didelės trinties bei šlyties jėgos, gali pagerinti fermentų prieinamumą ir proteolizės procesą [65]. Taip pat ekstruzijos metu padidėja paviršiaus plotas ir tuo dar labiau padidinamos galimos sąveikos su fermentais [66]. Ekstruziją naudojant ryžių ir pupelių perdirbimui, baltymų *in vitro* virškinamumas, lyginant su pradine žaliava, padidėja ~ 13–18 %, todėl galutiniame produkte virškinamumas padidėja net > 90 % [67, 63]. Kita vertus, virškinamumui gali pakenkti baltymų agregacija, susidarant vandenilinėms jungtims, hidrofobinėms sąveikoms ir disulfidiniams ryšiams, dėl ko sumažėja baltymų tirpumas [54, 63]. Ekstruzijos metu baltymų kompleksų susidarymas galimas, ypač esant aukštai temperatūrai ir žemai masės drėgmei. *Majaro* reakcijos metu sumažėja lizino biologinis prisavinamumas. Be to, ekstruzija gali sumažinti kiekius tokių amino rūgščių kaip argininas, triptofanas, cisteinas ir histidinas [54]. Siekiant eliminuoti neigiamą *Majaro* reakcijos poveikį aminorūgščių sudėčiai, turėtų būti naudojamos švelnios ekstruzijos sąlygos (temperatūra – <180 °C ir drėgnis – >15 %) [54]. Baltymų *in vitro* virškinamumą gerina tai, kad sumažėja tripsino inhibitorių, kurie trukdo proteolizės procesui ir yra atsparūs šilumai [68, 63, 69]. Be to, ekstruzijos metu keičiasi albuminų ir globulinų santykis [70]. Reihman'as ir Shan'as nustatė, jog terminiai procesai sumažina antimitybinius veiksnius, tokius kaip fitino rūgštį, taninus ir polifenolius, kurie sąveikaudami su baltymais ir mažindami jų tirpumą bei jautrumą proteolizei prisideda prie blogesnio baltymų virškinamumo [71].

Galiausiai, nustatyti naudingi virsmai pupelių, žirnių ir lęšių ekstruzijos metu – netirpių maistinių skaidulų (NMS) sumažėjimas ir tirpiųjų maistinių skaidulų (TMS) padidėjimas [63, 72]. Embab'is nustatė, kad ląstelių sienelių standumas ir skaidulų kiekis gali turėti teigiamos įtakos baltymų virškinamumui [73].

Tokiu būdu, ekstruzijos procesas turi teigiamą poveikį galutinio produkto kokybei, nes jo metu vyksta svarbios krakmolo ir baltymų modifikacijos, leidžiančios padidinti jų virškinamumą ir sumažinti tripsino inhibitorių, lektinų, fitino rūgšties ir taninų kiekį. Be to, ekstruzijos procesas yra efektyvus, universalus, pažymimos mažos jo eksploatacijos išlaidos ir trumpa proceso trukmė [62, 74]. Chan'as ir kt., nustatė, kad ekstruduotų žemės riešutų hidrolizatai pasižymėjo geresniu emulsijų sudarymo pajėgumu nei neekstruduoti hidrolizatai. Vienas iš technologinių veiksnių, turėjusių įtakos hidrolizės laipsnio ir tirpumo padidėjimui, buvo mažas ekstruduojamos masės drėgnis (15 %), vykdant procesą prie 130 °C temperatūros. Teigiamą rezultatą lėmė geresnis ekstruduojamos masės putėjimas, tuo tarpu padidinus temperatūrą iki 160 °C gauti didesnio kietumo ekstrudatai [75].

Ekstruzijos proceso kintamieji, tokie kaip temperatūra, sraigto greitis, konfiguracija ir žaliavos su vandeniu santykis nulemia perdirbamo produkto sudėtį ir savybes. Ekstruzijos metu susidarantis slėgis taip pat vaidina svarbų vaidmenį ekstruduojamos žaliavos cheminei sudėčiai ir baltymų virškinamumo gerinimui [63, 75]. Baltymų hidrolizės laipsnį, pokyčių apimtį ir baltymų pokyčių tipą (tokius kaip skilimas, disociacija, agregacija arba kryžminės sąveikos susidarant kovalentinėms jungtims) įtakoja ekstruzijos metu naudojamos sąlygos [75]. Tyrimai parodė, kad apdorojimas ekstruzijos metu padidino ryžių ir žirnių miltų baltymų virškinamumą (nuo 88 % iki 95 %), palyginti su mišiniais be ekstrudavimo [63]. Linų sėmenų ekstruzijos proceso metu buvo parinktos optimalios sąlygos baltymams (temperatūra – 134,3–156,1 °C, sraigto greitis – 114–165,7 aps./min., padavimo greitis – 34,39–45,95 kg/h, o drėgmės kiekis – 17,37–22,43 %) [77]. Kitas tyrimas įvertino ekstruzijos įtaką linų sėmenų išspaudų virškinamumui kurio metu buvo taikomi tokie parametrai: sraigto greitis 120 aps/min, drėgmės kiekis – 10 %, temperatūra –120 °C, o tiekimo greitis – 91,4 kg/h [78] [75].

Temperatūros ir masės drėgmės padidinimas sumažina inozitolio heksafosfato, tripsino inhibitorių ir lektinų kiekį, tačiau turi neigiamą poveikį fenoliniams junginiams ir tokoferoliams. Kita vertus, padidėjus temperatūrai, padidėja bendras  $\beta$ -galaktozidų kiekis. Tuo tarpu dėl šilumos ir intensyvaus mechaninio apdorojimo žymiai sumažėja tripsino inhibitorių kiekis. Ekstruduotose lęšiuose pastebėtas 90 % tripsino inhibitorių sumažėjimas [79]. Tripsino inhibitorių sumažėjimas (apie 95 %) ekstruduotose pupelėse nustatytas esant temperatūrai nuo 120 iki 150 °C, o visiškai inaktyvuoti – 180 °C temperatūroje [80]. Reikšmingą tripsino inhibitorių sumažėjimą galima pasiekti ekstruzijos būdu aukštesnėje temperatūroje arba padidinant ekstruzijos proceso trukmę, kai ekstruzija atliekama žemesnėje temperatūroje [74].

## **1.6. Fermentacija ankštinių kultūrų baltymų apdorojimui**

Fermentacija maisto pramonėje naudojama tradiciškai maisto produktų juslinių savybių pagerinimui, laikymo turkmės prailginimui ir maistinės vertės pagerinimui. Be to, pagerinamas biologiškai aktyvių medžiagų (izoflavonų, B<sub>1</sub> ir B<sub>2</sub>, E ir C vitaminų) įsisavinamumas, o taip pat eliminuojami antimonybiniai komponentai (fitatai, saponinai, taninai, inozitolfosfatas ir tripsino inhibitorius) [81, 82]. Tačiau susidomėjimas fermentacija išaugo ir panaudojimo spektras išsiplėtė, didėjant augalinių baltymų priedų ir augalinės kilmės baltyminių produktų paklausai. Fermentacija buvo taikoma žirnių ir lubinų baltymų izoliatų juslinių savybių pagerinimui, veganiško sūrio (tofu) tekstūros

stabilizavimui, veganiško jogurto sinerezės sumažinimui ir augalinio pieno maistingumo pagerinimui [83, 84, 85]. Šis nebrangus biotechnologinis procesas yra paprastas būdas didesnės maistinės vertės ingredientų gamyboje, leidžiantis kartu padidinti produktų saugą. Fermentacijoje naudojami mikroorganizmai sintetina fermentus, kurie hidrolizuoja maisto komponentus ir prisideda prie naujų metabolizmo produktų susidarymo [86]. Fermentacijos metu vyksta netirpių baltymų struktūriniai pokyčiai, didėja baltymų tirpumas ir tai daro juos labiau prieinamais pepsino poveikiui. Fermentacija gali vaidinti svarbų vaidmenį gerinant baltymų virškinamumą ir maistinių medžiagų biologinį prieinamumą. Fermentacijos proceso metu kontroliuojamas atrinktų pagal paskirtį mikroorganizmų dauginimo procesas ir palankių žmogaus sveikatai metabolizmo produktų susidarymas. Augalinio maisto fermentacijai daugiausiai naudojamos įvairios pieno rūgšties bakterijos, mielės, grybai ir bakterijos [85]. Maisto pramonėje, priklausomai nuo fermentacijos terpės drėgnio, naudojami du pagrindiniai fermentacijos būdai: kietafazė fermentacija (KF) ir padidinto drėgnio. Kietafazė fermentacija atliekama esant ribotam laisvo vandens kiekiui, leidžiančiam mikroorganizmams prieiti prie koncentruotų substratų. Naudojant kietafazę fermentaciją, lengviau tvarkomasi su atliekomis nei tradicinės fermentacijos atveju, naudojant didesnę vandens kiekį [87]. Be išvardintų privalumų, fermentuojant KF sąlygose, produktai ir augaliniai baltymai pasižymi geresnėmis charakteristikomis, o taip pat išgaunamos didesnės gatavos produkcijos išeigos [88]. Augalinių baltymų gamyboje fermentacija daugiausiai taikoma baltymingų miltų kokybės pagerinimui, iš kurių yra gaminami koncentratai ir izoliatai. Be to, fermentacija taikoma baltymingų produktų, tokių kaip veganiškas sūris, veganiškas jogurtas, augaliniai gėrimai, gamyboje. Tyrimais nustatyta, kad fermentuotose augalinių baltymų miltuose padidėja žaliųjų baltymų kiekis ir pagerėja emulsijos savybės. Fermentacijos metu vyksta netirpių baltymų struktūriniai pokyčiai, didėja baltymų tirpumas ir tai padidina jų prieinamą pepsino poveikiui. Fermentacija gali vaidinti svarbų vaidmenį gerinant baltymų virškinamumą ir maistinių medžiagų biologinį prieinamumą. Pokyčiai fermentacijos metu siejami su padidėjusiu mikroorganizmų proteolitiniu aktyvumu ir baltymų hidrolizės procesais; hidrofilinio-lipofilinio balanso pokyčiais, palankiems emulsijų susidarymui [89]. Pavyzdžiui, Xiao atlikęs avinžirnių miltų fermentaciją KF sąlygose, naudojant (lot. *Cordyceps militaris*) SN-18 (temperatūra – 25 °C, trukmė – 4 dienos), nustatė, kad baltymų kiekis padidėjo nuo 22,13±1,63 g/100 g iki 26,43±0,54, emulsijų susidarymo pajėgumo indeksas padidėjo nuo 7,86±0,55 m<sup>2</sup>/g iki 13,66±0,67 m<sup>2</sup>/g esant pH 5, o emulsijų stabilumo indeksas padidėjo nuo 12,76±0,07 min iki 14,33±0,74 min. Fermentacijos įtaka kitoms funkcinėms savybėms priklauso nuo baltymų šaltinio ir naudojamo mikroorganizmo rūšies [89].

### **1.7. Ultragarso baltyminių medžiagų apdorojimas**

Ultragarso (UG) priklauso technologijoms skleidžiančioms akustines bangas (viršijančios žmogaus klausos ribą – >16 kHz), kurios pastaruoju metu sulaukė didelio susidomėjimo gyvūninės ir augalinės kilmės baltyminių medžiagų apdorojimui [90, 91]. Pagal dažnį UG galima suskirstyti į kategorijas: žemo dažnio UG (nuo 16 iki 100 kHz – galia, intensyvumas nuo 10 iki 1000 W/cm<sup>2</sup>), paprastai naudojamas fizikinei ir cheminei baltymų modifikacijai ir aukšto dažnio UG (nuo 100 kHz iki 1 MHz – galia, intensyvumas <1 W/cm<sup>2</sup>), paprastai naudojamą maisto fizikinių ir cheminių savybių vertinimui [92, 91].

UG sukelia kavitacijos reiškinį, kurį generuoja lokalizuoti bangų sklaidimo slėgio skirtumai per trumpą laikotarpį. UG kavitacijos pasekoje atsiranda hidrodinaminis kirpimas (išilginis poslinkis), nuo kurio terpė ir jos sudėtiniai komponentai yra spaudžiami ir retinami [91].

Kai kada galima stebėti naujų formų dėl agregavimo atsiradimą, kuomet susidariusių dalelių dydis gali būti didesnis nei dalelių dydis mėginyje prieš UG apdorojimą, ypač esant mažai UG galiai arba užsitęsus (> 20 min.) UG apdoravimo trukmei [92, 91]. Mokslininkai nustatė, kad vidutinis dalelių dydis ( $52\ 800 \pm 840$  nm) UG apdoroto ryžių baltymo izoliato (RBI) buvo didesnis nei prieš apdorojimą ( $51\ 600 \pm 920$  nm). Tačiau apdorojimas didelės galios UG gali sumažinti natyvių baltymų dydį dėl nekovalentinių ryšių (tokių kaip hidrofobinės, elektrostatinės ir vandenilinės) suardymo, skatinančio baltymų agregaciją [93]. Šie šlyties efektai kartu su lokalizuotu kaitinimu sąlygoja dalinius baltymų struktūros pokyčius ir kai kurių hidrofobinių likučių atsiradimą, skatinančių naujų agregacijos formų susidarymą esant tam tikroms sąlygoms [94]. Be to, šie procesai siejami su pH sumažėjimu, elektrinio laidumo padidėjimu ir kai kuriais atvejais laisvųjų radikalų susidarymu [95]. Pavyzdžiui, apdorojant UG ryžių baltymines medžiagas reikšmingas pH sumažėjimas nebuvo stebimas [91]

Eilė tyrimų rodo teigiamą UG apdoravimo įtaką augalinių baltymų funkcionalumui. Pagal Tah ir kt., didelis UG intensyvumas (nuo 50 iki 55 W/cm<sup>2</sup>, 20 kHz, 40 % amplitudės ir įjungimo laikas – 2 s ir išjungimo laikas – 2 s) pagerino emulsijų (aliejus vandenyje) susidarymą; o emulsijos apdorotos 12 ir 18 minučių buvo gerai disperguotos ir stabilios, palyginti su emulsijomis, pagamintomis didelės šlyties homogenizatoriumi (19 000 aps./min.), kai apdoravimo trukmė – 6 min [96]. Analogiškas, apdorojimas didelio intensyvumo UG (20 kHz esant 400 W 5, 20 arba 40 min) padidino baltymų tirpumą, emulsijų susidarymą, emulsijos stabilumą ir sojos pupelių β-konglicino (7S) ir glicino (11S) frakcijų paviršiaus hidrofobiškumą [97]. Papildomi eksperimentai atlikti, tiriant UG įtaką ankštinių kultūrų baltymų funkcinėms savybėms: nustatyta, kad ankštinių kultūrų baltymų UG apdorojimas (34 W/cm<sup>2</sup>, trukmė – 2 min.) pagerino emulsijų susidarymo efektyvumą; juodųjų pupelių baltymų izoliatų UG apdorojimas (150, 300 ir 450 W, trukmė – 12 ir 24 min) padidino baltymų tirpumą; apdorojus UG (amplitudė – 72,6 %, trukmė – 17,29 min.) faba pupeles, buvo padidintas baltymų tirpumas ir pagerintos putų savybės [91, 98]. UG taikytas grūdų baltymų apdorojimui ir įrodyta teigiama šios technologijos įtaka baltymų funkcinėms savybėms. Pagal Zhang ir kitus, apdorojant kviečių glitimą UG ir didinant UG galią (0, 540, 720 ir 900 W), trukmė – 10 min., padidėja putų susidarymas (~72, 132, 150, ir 162 %), putų stabilumas (~40, 56, 76 ir 84 % po 60 min.), emulsijos susidarymo pajėgumas (~36, 54, 60 ir 78 m<sup>2</sup>/g) ir emulsijų stabilumas (~12, 24, 30 ir 36 m<sup>2</sup>/g) [99]. Apdorojus sorų baltymų koncentratą UG (0, 18,4; 29,58 ir 73,95 W/cm<sup>2</sup>, trukmė – 20 min., temperatūra – 5 °C) nustatytas baltymų tirpumo padidėjimas (~65, 78, 84 ir 90 %), putų susidarymas (271,03; 148,37; 435,37 ir 716,03 ml), putų stabilumas (4,37; 18,37; 10,70 ir 25,7 ml po 10 minučių), emulsijų susidarymo pajėgumas (27,92; 39,17; 45,83 ir 52,07 %) ir emulsijų stabilumas (10,97; 22,42; 33,97 ir 41,19 %) [100].

UG yra veiksmingas įvairių fermentų inaktyvavime, kuris siejamas su kavitacijos reiškiniais, atsirandančiais dėl greito dujų burbuliukų susidarymo ir greito jų suyrimo. UG naudojamas tripsino inhibitorių inaktyvavimui kaip sinerginė priemonė, leidžianti padidinti kitų metodų veiksmingumą. Nustatyta, kad veikiant ankštines kultūras UG (30 kHz, trukmė – 20 min.), tripsino inhibitorių sumažėja apie 55 % [35].

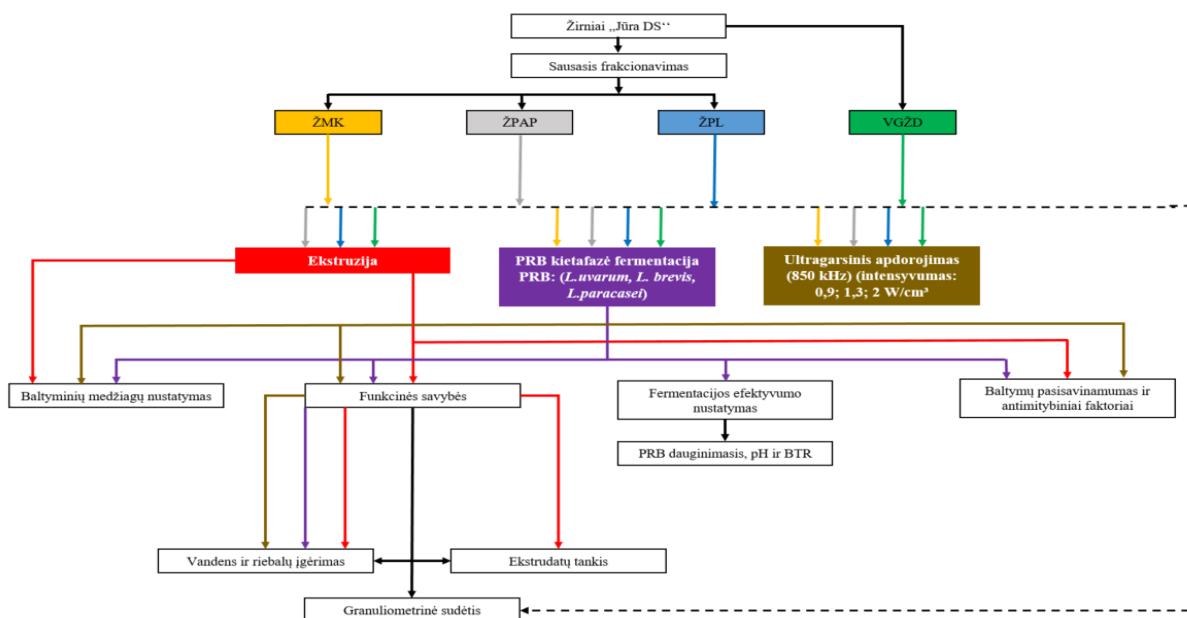
**Apibendrinimas.** Didėjant augalinio maisto paklausai, iškyla uždavinys gerinti augalinių baltymų priedų kokybę ir funkcionalumą ir naujais technologiniais sprendimais pakeisti ar padidinti jų konkurencingumą su rinkoje esančiais gyvūninės kilmės baltyminių produktų. Iš literatūros apžvalgos matoma, kad fiziniai, cheminiai ar biologiniai metodai gali pakeisti augalinio maisto baltymų chemines, biofizines ir paviršiaus aktyvias savybes ir jie gali būti pritaikyti baltymų

išskyrimui, vystant naujus maisto produktus su augalinių baltymų priedais ar baltymines žaliavas. Apibendrinant galima teigti, kad baltymų struktūrinės modifikacijos sąlygoja funkcines modifikacijas. Nors šis principas tinka daugumai baltymų, tačiau augalinių baltymų apdorojimui turėtų būti pasirinktas tinkamiausias ir patikrintas eksperimentu būdas, leidžiantis pagerinti baltymų funkcionalumą, priešingu atveju gali pablogėti baltymų kokybė ir tai gali turėti nepageidaujamą įtaką maisto produkto kokybei. Komercinėje praktikoje, cheminiai baltymų modifikavimo metodai nėra pageidaujami, turint omenyje maisto saugą, aplinkosaugos problemą, priimtinumą vartotojui ir reguliavimo problemas. Fizinis ir biologinis baltymų modifikavimas yra plačiai naudojami pramonėje ir turi perspektyvą būti komercializuoti. Fiziniai metodai tokie kaip aukšto slėgio naudojimas ir ultraterminis apdorojimas kartu su ultragarsu ir mikrojonizacija yra plačiai taikomi maisto pramonėje augalinės kilmės emulsijų stabilizavimui ir gėrimų gamybai. Fermentacija pieno rūgšties bakterijomis ir dalinė hidrolizė parinktais fermentais tampa labai populiarūs kuriant funkcinius augalinės kilmės baltymų hidrolizatus, kurie naudojami kūdikių mišinių sudėtyje, sriubose, padažuose ir užkandžiuose, leidžiantys pagerinti produktų juslines savybes. Maisto produkto sėkmę rinkoje apsprendžia priimtumas vartotojui. Todėl aktualu vystomus technologinius sprendimus išbandyti gamybinėse sąlygose ir laboratorinio eksperimento metu, siekiant suprasti ir parinkti tinkamiausius kriterijus augalinės kilmės baltymų išgavimui, apdorojimui ir funkcinių savybių pagerinimui.

## 2. TYRIMO OBJEKTAI IR METODAI

### 2.1. Tyrimo kryptys

Šis eksperimentas skirtas nustatyti skirtingų technologinių faktorių įtaką žirnių perdirbimo antriniams produktams. Tyrimo metu antriniai žirnių perdirbimo produktai, ekstruduoti, fermentuoti bei taikytas skirtingų intensyvumų ultragarsinis apdorojimas. Žemiau pateiktos tyrimo kryptys (žr. pav 3).



3 pav. Tyrimo kryptys

Žirnių perdirbimo produktai (ŽPP) apdoroti įvairiais būdais: ekstruzija, fermentacija ir ultragarsu. Ekstruzijos eksperimentas vykdytas uždarosios akcinės bendrovės (UAB) „Ustukių malūnas“ gamybinėje bazėje, ŽPP fermentacija ir ultragarsinis apdorojimas – Kauno technologijos universiteto (KTU) Maisto mokslo ir technologijos katedroje. Apie technologinio apdorojimo įtaką ŽPP buvo sprendžiama pagal baltyminių medžiagų pokyčius, funkcines savybes ir baltymų pasisavinamumo kriterijus.

### 2.2. Tyrimo objektai

Tyrimams atlikti pasirinktas žirnių (lot. *Pisum savitum*) genotipas „Jūra DS“, užaugintas Lietuvoje ūkininko Tomo Indriliūno ūkyje. Tai vienintelė registruota žirnių veislė Lietuvoje, kurios grūdai yra žalios spalvos. Ji sukurta Lietuvos agrarinių ir miškų mokslų centro Žemdirbystės institute. Padidėjus ūkininkų susidomėjimui šia veisle, planuojama eksportuoti šią žaliavą kaip ekologišką. Veislės „Jūra DS“ valstybiniai ūkinio vertinimo tyrimai atlikti 2015–2016 m Kauno, Pasvalio ir Utenos valstybinės augalininkystės tarnybos augalų veislių tyrimo skyriuose. Genetinio originalumo (išskirtinumo, vienodumo, stabilumo) tyrimai atlikti augalų veislių tyrimo centre Lenkijoje. Naujoji veislė pasižymi atsparumu išbyrėjimui (žr. 4 pav.) [101].

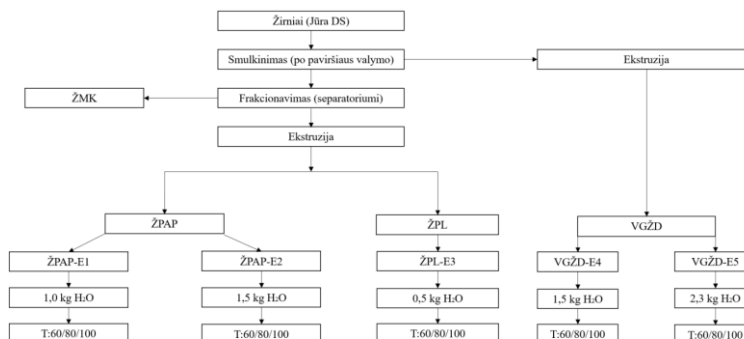


4 pav. Žirnių genotipo Jūra DS vaizdai lauke (A) ir po derliaus nuėmimo (B)

Šios veislės vidutinis gautas derlius  $5,56 \text{ t/ha}^{-1}$ , o didžiausias derlius ( $7,11 \text{ t/ha}^{-1}$ ) išaugintas 2016 metais Kauno AVT skyriuje. Kiti vidutiniai duomenys: 1000 grūdų masė – 261,8 g, augimo periodas 91,2 dienos, aukštis 90,4 cm, išgulimo įvertinimas 6,8 balai, atsparumas grūdų išbyrėjimui 9 balai (1 blogiausias, 9 geriausias rodiklis). Nustatytas grūdų baltymingumas 24,6 % – t. y. 6 % daugiau už standartinių veislių vidurkį. Ji auginama dirvožemyje, kurio pH 6,9, priešsėlis žieminiai kviečiai, kurie nupjauti rudenį. Prieš žirnių sėjimą, dirvožemis tręšiamas trąšomis, kurių sudėtis: NPK (azotas, fosforas ir kalis) santykiu 10:20:20, 300 kg/ha. Žirnių augintojams svarbu ir tai, kad veislė atspari pašaknio ir lapų ligoms [101].

Plečiantis žirnių pasėliams, grūdų perdirbėjai suinteresuoti didinti žirnių perdirbimo apimtis. Taip pat, vis dar išlieka aktuali problema, dėl produktų išėgų didinimo ir energinių sąnaudų mažinimo. Taikant tradicines žirnių perdirbimo technologijas, išgaunamas mažesnis lukštenų ir skaldytų žirnių kruopų kiekis (65–70 %) nei patobulintuose malūnuose, jie leidžia lukštenimo efektyvumą padidinti iki 95 %, o kruopų išėgą – 80–85 % (priklausomai nuo lukštenimo rūšies ir žirnių kondicionavimo režimo) [102]. Kita vertus, grūdų perdirbimo pramonė siekia perorganizuoti žirnių perdirbimą vadovaujantis tvarumo principu. Tai reiškia, kad turi būti siekiama racionaliai panaudoti žirnių perdirbimo metu susidariusius antrinius produktus, įskaitant ir luobeles. Šiuo metu antriniai žirnių perdirbimo produktai daugiausiai naudojami pašarų gamyboje.

**Žirnių perdirbimas** buvo vykdomas UAB „Ustukių malūnas“ gamybinėje bazėje pagal technologinę schemą, pateiktą 5 pav.



5 pav. Žirnių perdirbimo technologinė schema, naudojant ekstruzijos technologiją ŽPAP, ŽPL ir VGŽD apdorojimui

Pirmiausiai žirnių masė buvo valoma nuo priemaišų separatoriumi ir akmenų atskirtuvu. Antrame etape žirniai buvo lukštenami ir smulkinami valciniu malūnu „Agrex“. Gautos žirnių kruopos frakcionuotos separatoriumi, atskiriant 12 sieto žirnių maistines kruopas (ŽMK) ir 6 ir 9 sietais – žirnių perdirbimo antriniai produktai (ŽPAP). Žirnių kruopų frakcionavimo metu gauta lengviausia frakcija – luobelės (ŽPL) buvo surinktos į atskirą talpyklą. Papildomai atliktas eksperimentas, kurio metu iš žirnių buvo gaminami viso grūdo dalių žirnių dalių produktai (VGŽD).

Tolesnio eksperimento metu gauti ŽPAP, ŽPL ir VGŽD buvo ekstruduojami dviejų sraigčių ekstruderyje užprogramuotu temperatūriniu režimu (T:60/80/100). Eksperimento metu naudoti skirtingi vandens kiekiai: ŽPAP–E1 – 1,0 kg H<sub>2</sub>O; ŽPAP–E2 – 1,5 kg H<sub>2</sub>O; ŽPL–31 – 0,5 kg H<sub>2</sub>O; VGŽD–E4 – 1,5 kg H<sub>2</sub>O; VGŽD–E5 – 2,3 kg H<sub>2</sub>O. Po ekstruzijos visi ŽPP produktai buvo nukreipiami transporteriu džiovinimui (80 °C temperatūroje) ir smulkinimui. Ekstruzijos metu naudoti parametrai pateikti 1 lentelėje.

**1 lentelė.** Ekstruzijos parametrai

Ekstruzijos parametrai		
Temperatūra, (°C)		
1 sekcija	2 sekcija	3 sekcija
60	80	100
Sraigto greitis	17,5 rpm/min	
Produkto padavimo greitis	4,5 rpm/min	
Peilio greitis	5,9 rpm/min	
Ekstruzijos laikas	1 min 20 s.	
Džiovinimo spintos sekcijų temperatūra, (°C)		
1 sekcija	2 sekcija	
80	80	
Džiovinimo spintos greitis	16 m/s.	

Eksperimento metu vertintos gautų žirnių perdirbimo produktų išeigos. Įvertinant tai, kad į smulkinimą buvo nukreipta 91 kg žirnių, gauti žirnių perdirbimo produktai pasiskirstė taip: ŽMK sudarė 16,8 %, ŽPAP – 28,9 %, ŽPL – 1,7 %, VGŽD – 32,9 %, nuostoliai – 19,7 %.

**Pieno rūgšties bakterijos.** Tyrimui atlikti buvo naudotos 3 pieno rūgšties bakterijų (PRB) padermės: *L. uvarum* LUHS245 (FU), *L. brevis* LUHS140 (FB) ir *L. paracasei* LUHS244 (FP). Šios pieno rūgšties bakterijos saugomos -70 °C temperatūroje, apsauginėje „Mikroban“ sistemoje, esančioje KTU Maisto mokslo ir technologijos katedros laboratorijoje. Eksperimentui PRB atgaivintos modifikuotame MRS sultinyje.

**Žirnių perdirbimo produktų (ŽMK, ŽPAP, ŽPL ir VGŽD) fermentacija** atlikta fermentacijos sąlygomis (fermentacijos terpės drėgnis: ŽMK – 56,8 %; ŽPAP – 54,7 %; ŽPL – 57,85 %; VGŽD – 57,5 %), naudojant 2 proc. PRB nuo ŽPP masės. Fermentacija vykdyta termostate 30 °C temperatūroje, trukmė – 48 h. Mėginiai analizei imti pradiniu momentu, po 24 h ir 48 h fermentacijos.

**Apdorojimas ultragarsu.** Žirnių perdirbimo produktų vandeninės suspensijos (ŽMK, ŽPAP, ŽPL ir VGŽD – 1:2 (žaliavos masė:vandens masė)), apdorojamos naudojant (120 W – HF – Generator

*Meinhard Ultraschalltechnik*, Vokietija – generatorius ir 5/1575 ultragarso vonelė). Visi mėginiai apdorojami 850 kHz dažnio bangomis 30 min 50 °C temperatūroje, naudojant skirtingus intensyvumus: 0,9, 1,3 ir 2,0 W/cm<sup>3</sup>.

Analizuojant ultragarsinio poveikio įtaką dalelių dydžio pasiskirstymui, ruošti modeliniai mėginiai iš žirnių baltymų izoliato (ŽBI) ir avižų išspaudų (AVI) tokiais santykiais (ŽBI/AVI): 80:20; 60:40; 40:60; 20:80. Kontrolė – 100 % ŽBI. Suspensijų ruošimui naudota 10 g (ŽBI/AVI) ir 100 ml distiliuoto vandens. Eksperimento metu keistas suspensijų pH (pH 3; pH 7; pH 9), naudojant 0,1 N HCl ir 0,1 N NaOH tirpalus. pH matuotas „Mikroprocesoriniu pH – metru Hanna pH 221“. Tiriami mėginiai apdoroti 850 kHz ultragrasinėje įrangoje (intensyvumas – 2 W/cm<sup>3</sup>), 50 °C temperatūroje, trukmė – 30 min.

### 2.3. Tyrimų metodai

#### 2.3.1. Baltyminių medžiagų analizės metodai

**Bendro baltymų kiekio nustatymas Kjeldalio metodu** pagal ISO 20483:2013 standartą [103]. Analizei naudojamas 1 g tiriamojo mėginio. Mėginys įdedamas į mineralizavimui skirtą Kjeldalio kolba, į kurią įpilama 20 ml koncentruotos sieros rūgšties bei įdedama katalizatoriaus tabletė. Kolbos įstatomos į „Behr Labor Technik“ (Vokietija) mineralizatorių ir kaitinamos apie 90 min. Pasibaigus mineralizacijai, kolbos su juose esančiu skysčiu distiliuojamos (*Behr Labor – Technik GmbH*, Vokietija) distiliatoriuje. Po distiliacijos į surinktą skystį įlašinama Taširo indikatorius bei titruojama su 0,1 N HCl, kol indikatorius spalva iš žalios pakinta į violetinę. Analogiškai tokiomis pačiomis sąlygomis, distiliuojamas ir titruojamas tuščias mėginys (konc. sieros rūgštis).

Iš tiriamo produkto mėginio išsiskyręs azoto (N) kiekis apskaičiuojamas pagal (1) formulę:

$$N = \frac{1,4 * n * K (V_1 - V_0)}{M}, \% \quad (1)$$

čia: 1,4 – azoto kiekis, kurį sujungia 1 ml 0,01 N arba 0,1 N HCl; V<sub>1</sub> – 0,01 N arba 0,1 N HCl kiekis, sunaudotas iš distiliuojamo mineralizato išsiskyrusiam amoniakui sujungti, ml; V<sub>0</sub> – 0,01 N arba 0,1 N HCl kiekis, sunaudotas tuščiajam mėginiui nutitruoti, ml; m – pasvertas analizei medžiagos kiekis, g; n – druskos rūgšties, naudotos titravimui, normalingumas (0,01 N arba 0,1 N HCl); K – druskos rūgšties tirpalo pataisos koeficientas (1, jei nėra atliekamas atskiras įvertinimas).

Baltymų kiekis apskaičiuojamas pagal (2) formulę:

$$B_{pr} = N * k. \quad (2)$$

čia: N – azoto kiekis, k – koeficientas perskaičiuoti azoto kiekį į baltymų kiekį, k = 5,7.

**Tirpiųjų baltymų kiekio nustatymas Bradfordo metodu.** Metodo esmė ta, kad jis yra pagrįstas specifine baltymo sąveika su dažu kumasi briliantiniu mėlynuoju – G (angl. *Coomassie Brilliant Blue – G (CBB)*) ir susidariusio komplekso koncentracijos matavimu spektrofotometriškai, kai bangos ilgis 595 nm.

Bradfordo reagentą sudaro 100 mg *Coomassie Brilliant Blue – G*, kuris ištirpinamas 50 ml 95 % etanolio. Į gautą tirpalą įpilama 100 ml 85 % orto – fosforo rūgšties. Dažams ištirpus gautas tirpalas praskiedžiamas iki 1000 ml su distiliuotu vandeniu, bei filtruojamas per Vatmano nr.1 filtrą.

Kalibracinei kreivei sudaryti naudojamas standartinis baltyminis tirpalas, kuris paruoštas 20 mg galvijų serumo albumino (angl. *Sigma „Bovine serum albumin – BSA“*) praskiedus iki 10 ml žymės su distiliuotu vandeniu. Kalibracinei kreivei sudaryti paruošiamos šios koncentracijos standartinio baltymų tirpalo: 0; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1,0; 1,5 mg/ml. Standartinio baltyminio tirpalo, distiliuoto vandens bei Bradfordo reagento kiekis naudojamas kalibracinės kreivės paruošimui pateiktas (1 priede).

Gautas reakcijos mišinys išlaikomas 5 min kambario temperatūroje. Tirpalo absorbciją, išmatuojama *Genesys 10 UV (JAV)* spektrofotometru, esant 595 nm bangos ilgiui. Pamatavus standartinių mėginių tirpalų absorbciją, baltymų koncentracija apskaičiuojama pagal lygtį  $y=0,8415x - 0,0005$ . Koreliacijos koeficientas  $R^2 = 0,9925$ . Kalibracinė kreivė yra patikima, kadangi koreliacijos koeficientas artimas 1. Bradfordo kalibracinė kreivė pateikta 1 priede.

Analizei pasveriami 0,5 g mėginio ir sumaišoma su 5 ml distiliuoto vandens. Gautas tirpalas 1h maišomas ant magnetinės maišyklės „*Retsch AFO – 02*“. Centrifuguojama 25 min, 6000 rpm „*Velocity 18R*“ (Dynamica) centrifuga. Tolimesniam bandymui naudojamas supernatantas. Kaip standartiniai mėginiai, analogiškai paruošiami ir tiriamieji, jie išlaikomi 5 min kambario temperatūroje. Mėginių absorbcija išmatuojama spektrofotometru, esant 595 nm bangos ilgiui. Tirpiųjų baltymų kiekis, esantis žirnių perdirbimo antriniuose produktuose, apskaičiuojamas pagal kalibracinės kreivės lygtį bei išreiškiamas kaip tirpiųjų baltymų kiekis g/100 g s.m [104].

**Drėgmės kiekio nustatymas** atliekamas pagal LST EN ISO 712:2009 standartą „*Grūdai ir grūdų produktai. Drėgmės kiekio nustatymas. Pamatinis metodas*“ [105]. Mėginys džiovinamas 130 °C temperatūroje iki pastovios mėginio masės. Drėgmės kiekis apskaičiuojamas pagal (3) formulę:

$$W = \frac{m_1 - m_2}{m_1 - m_0} * 100 \% \quad (3)$$

W– analizuojamo produkto pavyzdžio drėgmė %; m0 – biukso (biuksas + dangtelis) masė, g; m1 – masė biukso su mėginiu prieš džiovinimą, g; m2 - masė biukso su mėginiu po džiovinimo, g;

Nustačius drėgmę taip pat galima išsiskaičiuoti ir sausų medžiagų (s.m.) kiekį pagal (4) formulę:

$$s.m. = 100 - W \quad (4)$$

s.m. – analizuojamo produkto pavyzdžio sausų medžiagų kiekis, %; W– analizuojamo produkto pavyzdžio drėgmė %.

**Baltyminių medžiagų išskyrimo ir gryninimo** naudojami ekstruduoti, fermentuoti, ultragarsu apdoroti bei neapdoroti tiriamieji mėginiai. Mėginiai sumaišomi su distiliuotu vandeniu santykiu 1:10 (miltų:vandens), išlaikoma 30 min kambario temperatūroje ( $20 \pm 2$  °C), juos pamaišant. Toliau suspensijų pH sureguliuojamas iki 9 su 1 M NaOH tirpalu bei papildomai išlaikoma 1 h. Po išlaikymo suspensija centrifuguojama „*Velocity 18R (Dynamica)*“ centrifuga 15 min, 8000 rpm greičiu, 8 °C temperatūroje. Į supernatantą lašinamas 1 M HCl tirpalas, iki kol supernatanto pH pasiekia 4,5 ir išlaikoma 1 h. Iškritę baltymai atskiriami centrifuguojant ir išdžiovinami „*Sublimator 3x4x5 Zirbus technology*“ (Vokietija) sublimatoriuje [106]. Gauti baltymai naudojami tolimesniuose eksperimento etapuose: SDS–PAGE gelių elektroforezėje, proteazių inhibitorių nustatyme ir *in vitro* virškinamumo analizėje.

**Baltyminių medžiagų analizė SDS–PAGE elektroforezės metodu** naudoti tirpalai ir jų paruošimas:

1. 30 % akrilamido tirpalas. Matavimo kolboje distiliuotame vandenyje ištirpinama 15 g akrilamido ir 0,4 g N,N – metilbisakrilamido ir praskiedžiama iki 50 ml. Tirpalas laikomas 4°C temperatūroje ne ilgiau kaip 30 dienų, nes laikant ilgiau akrilamidas hidrolizuojasi iki akrilino rūgšties ir amoniako.
2. 10 % natrio dodenicilsulfatas (NDS – SDS): 5g NDS ištirpinta 50 ml distiliuoto vandens lėtai šildant ir maišant. Laikoma kambario temperatūroje.
3. 4 x TRIS•HCl/NDS buferinis tirpalas, kai pH 8,8: 18,15 g TRIS•HCl ištirpinama 60 ml distiliuoto vandens, įpilama 4 ml 10 % NDS tirpalo. Sureguliuojama tirpalo pH iki 8,8 su 6N HCl ir praskiedžiama distiliuotu vandeniu iki 100 ml. Laikoma 4 °C temperatūroje ne ilgiau kaip 30 dienų.
4. 4 x TRIS•HCl/NDS buferinis tirpalas, kai pH 6,8: 6 g TRIS•HCl ištirpinama 60 ml distiliuoto vandens, įpilama 4 ml 10 % NDS tirpalo. Sureguliuojama tirpalo pH iki 6,8 su 6N HCl ir praskiedžiama distiliuotu vandeniu iki 100 ml. Laikoma 4 °C temperatūroje ne ilgiau kaip 30 dienų.
5. Elektroforezės TRIS – glicino buferinis tirpalas: 3,0 g TRIS•HCl, 14,4 g glicino, 1g NDS ir pripilama iki 1000 ml distiliuoto vandens. Laikoma 0–4 °C temperatūroje ne ilgiau kaip 30 dienų.
6. 2 x baltymų denatūravimo buferinis tirpalas: 1,25 ml 4 x TRIS•HCl/NDS buferio (pH 6,8), 1 ml glicerolio, 0,3 g NDS, 0,5 ml merkptoetanolio, 0,25 mg bromfenolio mėlynojo pripilama 25 ml distiliuoto vandens ir ištirpinama. Išpilstoma po 1 ml į epindorfus bei laikoma (-70 °C).
7. Dažo *Coomassie* mėlynojo tirpalas 250 ml: 10 % ledinės acto rūgšties, 10 % izopropilo alkoholio, 0,006 % *Coomassie* mėlynojo – G 250 dažo, 80 % distiliuoto vandens.
8. Baltymų tvirtinimo tirpalas 200 ml: 25 % izopropilo alkoholio, 10 % ledinės acto rūgšties ir 65 % distiliuoto vandens. Laikoma kambario temperatūroje.
9. 10 % amonio persulfato (APS) tirpalas: 0,1 g APS ištirpinta 1 ml distiliuoto vandens. Ruošiama prieš tyrimą.
10. Standartinis baltymų mišinys: *SIGMA colorburst „Electrophoresis marker“*. Laikomas -70°C.
11. 10 % gelio skalavimo tirpalas: 10 ml ledinės acto rūgšties praskiesta iki 100 ml su distiliuotu vandeniu.
12. Mėginių tirpinimo tirpalas 40 ml kai pH 7,5: 2 % NDS, 8 M *urea* (karbamidas – šlapalas), 5 % merkpto etanolio, 20 mM TRIS•HCl pH 7,5.

*Skiriamasis gelis* sudarytas iš 4 ml akrilamido tirpalo, 2,5 ml 4xTRIS•HCl/NDS buferinio tirpalo, kurio (pH 8,8), 3,4 ml distiliuoto H<sub>2</sub>O, 150 µl 10 % amonio persulfato tirpalo, 10 µl TEMED. Skiriamasis gelis supilamas tarp stiklo plokštelių ir paliekamas sustingti.

*Koncentruojamasis gelis* sudarytas iš 0,83 ml akrilamido tirpalo, 1,3 ml 4xTRIS•HCl/NDS buferinio tirpalo, kurio (pH 6,8), 2,9 ml distiliuoto H<sub>2</sub>O, 100 µl 10 % amonio persulfato tirpalo ir 10 µl TEMED. Tarp stiklo plokštelių supylus koncentruojamąjį gelį įdedamos plastmasinės šukelės, šulinėlių susiformavimui.

*Tiriamąjo baltymo paruošimas*: tiriamasis baltymo tirpalas santykiu 1:1 su baltymų denatūravimo buferiniu tirpalu. Mišinys kaitinamas 5 min verdančio vandens vonelėje. Analizei paimama 10–40 µl baltymų preparato.

Į gelyje paruoštus tarpus supilstomi mėginiai. Prie elektros šaltinio prijungiamas elektroforezės aparatas „CS-300 Cleaver Scientific“, nustatoma 40 mA stiprumo srovė ir 230 V įtampa. Elektros srovė išjungiamą, kai gelyje esantis mėlynas bromfenolis pasiekia skiriamojo gelio apačią. Pasibaigus elektroforezei, nuo stiko plokštelių atskiriamas poliakrilamido gelis, kuris įdedamas į plastikinę vonelę bei užpilamas baltymų tvirtinimo tirpalu. Vonelė su geliais lėtai purtoma „KS 130 basic (IKA)“ purtykle kambario temperatūroje 60 min. Po 60 min nupilamas baltymų tvirtinimo tirpalas ir užpilamas *Coomassie* mėlio dažo tirpalas. Dažoma, kol baltymo juostelės nusidažo norimo ryškumo spalva. Baigus dažyti, dažai nupilami ir užpilama 10 % acto rūgšties. Vonelė purtoma kambario temperatūroje, kol iš gelio išsiplauna nesusirišę su baltymais dažai [30].

### 2.3.2. Žirnių perdirbimo produktų funkcinių savybių vertinimas

**Granulimetrinės sudėties** vertinimui naudotas „Haver EML Digital plus“ įrenginys (Vokietija) (KTU, Silikatų technologijos katedra) su sietų komplektu: (eilės tvarka nuo didžiausio iki mažiausio skersmens): 1,6 mm, 1,0 mm, 0,5 mm, 0,315 mm, 0,2 mm, 0,6 mm, 0,08 mm. Įrenginys vibruoja 2,0 amplitude, trukmė – 2 min. Ant sietų likusi masė pasveriami ir apskaičiuojamas kiekvienos frakcijos ėminio dalis procentais.

**Tankio** nustatymui ekstruduoti žirnių perdirbimo antriniai produktai pasveriami žinomo tūrio ir masės stiklinėje. Svėrimas kartojamas 3 kartus. Ekstrudatų tankis paskaičiuojamas pagal (5) formulę:

$$q = m / V, \text{ kg/m}^3. \quad (5)$$

čia: q – tankis, kg/m<sup>3</sup>; m – masė, kg; V – tūris, m<sup>3</sup>

**Vandens įgėrimo indeksas.** Į pasvertus centrifuginius mėgintuvėlius (0,001 g tikslumu), pasveriami 0,5 g miltų ir įpilama 3 ml distiliuoto vandens (tiriant ekstrudatų vandens įgėrimą, naudojama 2 g nemalto mėginio ir 10 ml vandens). Mėginys gerai išmaišomas stikline lazdele bei 2 min „Vibrofix VF1 (IKA)“ purtykle. Išlaikoma 30 min (30 °C) temperatūroje. Centrifuguojama „Microcen 23 (Orto alresa)“ centrifuga 20 min, 4000 rpm greičiu [107]. Vandens įgėrimo indeksas apskaičiuojamas pagal (6) formulę:

$$VII = m_{nuosėdos} / m_{mėginio}$$

kur:  $m_{nuosėdos} = m_{po\ centrifugavimo} - m_{mėgintuvėlio}$  (6)

**Riebalų įgėrimo indeksas.** Į pasvertus centrifuginius mėgintuvėlius (0,001 g tikslumu), pasveriami 0,5 g miltų ir įpilama 6 ml „Floriol“ saulėgrąžų aliejaus (tiriant ekstrudatų riebalų absorbciją, naudojama 2 g nemalto mėginio bei 10 ml aliejaus). Mėginys gerai išmaišomas stikline lazdele bei 2 min „Vibrofix VF1 (IKA)“ purtykle. Išlaikoma 30 min kambario temperatūroje (20±2°C). Centrifuguojama „Microcen 23 (Orto alresa)“ centrifuga 20 min, 3000 rpm greičiu [107]. Riebalų įgėrimo indeksas apskaičiuojamas pagal (7) formulę:

$$RII = m_{nuosėdos} / m_{mėginio}$$

kur:  $m_{nuosėdos} = m_{po\ centrifugavimo} - m_{mėgintuvėlio}$  (7)

**Dalelių dydžio pasiskirtymas ŽBI ir AVI vandeninėse suspensijose** tirtas „Malvern Hydro 2000S“ lazeriniu refraktometru, esant 1750 rpm/min maišyklės apsisukimų [108].

### 2.3.3. Fermentacijos proceso vertinimas

**Pieno rūgšties bakterijų skaičiaus** įvertinamas buvo atliekamas pagal standartą ISO 4833–1:2013 (Maisto ir pašarų mikrobiologija. Bendrasis metodas).

Analizei paimamas 1 g mėginio, kuris santykiu 1:9 praskiedžiamas fiziologiu tirpalu. Toliau skiedimai atliekami mėgintuvėliuose. Suspensija išmaišoma magnetine maišykle „Tomson“. Mikropipete paimamas 1 ml skiedinio bei supilamas į sterilias *Petri* lėkšteles. Skiedinys užpilamas su atvėsinta iki 45 °C laipsnių bei ištirpinta MRS agaru terpe. *Petri* lėkštelė su turiniu gerai išmaišoma ir paliekama sustingti. Inkubuojama 48h±3 h 30±1 °C temperatūroje. Skaičiavimui atrenkamos tos lėkštelės, kuriose išaugo ne mažiau nei 15 ir ne daugiau kaip 300 kolonijų [109].

Kolonijas sudarančių vienetų (KSV) skaičius 1 g mėginiuose apskaičiuojamas pagal (8) formulę:

$$N = \frac{\sum c}{V * (n1 + 0,1 * n2) * d} \quad (8)$$

ΣC – suma kolonijų, suskaičiuotų visose neatmestose lėkštelėse iš dviejų vienas po kito einančių skiedinių, kai bent vienoje lėkštelėje yra mažiau nei 15 kolonijų; V – užsėtos medžiagos (pasėlio) tūris lėkštelėje mililitrais; n1 – pirmojo skiedinio vertinamų lėkštelių skaičius; n2 – antrojo skiedinio vertinamų lėkštelių skaičius; d – pirmojo vertinamo skiedinio skiedimo koeficientas.

**pH įvertinimas.** Analizei paimto mėginio pH matuojamas pH – metru „Sartorius PB – 11“. Prieš analizę 1 g žirnių perdirbimo produktų sumaišoma su 10 ml distiliuoto vandens. Iki matavimų ir tarp matavimų elektrodas laikomas 3 mol/l KCl tirpale [110].

### 2.3.5. Antimycetinių faktorių nustatymo metodai

**Proteazės aktyvumo nustatymas.** Analizei atlikti naudojama 5 g žirnių perdirbimo produktų, kurie sumaišomi su 50 ml 0,01 M natrio acetato ir 0,005 M kalcio acetatas) buferinio tirpalo naudojant „Vibrofix VF1 (IKA)“ purtyklę. Centrifuguojama 10 min, 8000 rpm „Velocity 18R“ (Dynamica) centrifuga. Analizei naudojamas supernatantas. Proteazės aktyvumui nustatyti į mėgintuvėlį įpilama 5 ml kazeino tirpalo bei 1 ml po centrifugavimo gauto supernatanto. Mėginys išmaišomas ir paliekamas stovėti 30 min 37 °C temperatūroje. Tolimesniame tyrimo etape į mėgintuvėlius įpilama po 5 ml 0,11 M trichloracto rūšties, o į tuščiąjį mėginį – papildomai 1 ml žirnių ekstrakto. Turinys gerai sumaišomas ir paliekamas stovėti 30 min 37 °C temperatūroje. Analogiškai paruošiami kontroliniai mėginiai. Vėliau mėginiai filtruojami per 0,45 μm popierinį filtrą. 2 ml filtrato sumaišomi su 5 ml 0,5 M natrio karbonato tirpalu ir 1 ml *Folin-Ciocalteu* fenoliniu reagentu, išmaišoma ir paliekama stovėti 30 min. 37 °C temperatūroje. „Genesys 10 UV“ spektrofotometru (JAV) matuojamas tirpalo optinis tankis (λ = 660 nm) [111].

Iš kalibracinės kreivės (žr. 2 priedą), nustatytus tirozino kiekį (T), proteazės aktyvumas žirnių ekstrakto apskaičiuojamas pagal (9) formulę:

$$PV = \frac{T * PF}{1 * 30 * 2 * m}; \quad PV / g; \quad (9)$$

čia: T – tirozino ekvivalentas standartinėje tiesėje, μmol/ml; PF – praskiedimo faktorius; 1 – tiriamojo tirpalo tūris, ml; 30 – hidrolizės trukmė, min; 2 – reakcijos mišinio tūris, paimtas kolorimetrinei analizei, ml; m – žirnių antrinių perdirbimo produktų masė, paimta 1 ml ekstraktui paruošti, g.

**Proteazių inhibitorių aktyvumas** vertinamas pagal tripsino ir chimotripsino inhibitorių aktyvumą. Tiriamos žirnių perdirbimo produktų albuminų ir gliutelinų frakcijos. Šios frakcijos išskirtos pagal (2.3.1.) skyriuje aprašytą metodiką (baltyminių medžiagų išskyrimas ir gryninimas).

Reakcijos mišinys sudarytas iš: 1 ml fosfationo buferio, 0,5 ml proteazės tirpalo (1 mg/ml), 0,5 ml 1 mM HCl, 1 ml mėginio tirpalo (1g/10 ml fosfatinio buferio). Paimamas 1 ml mėginio tirpalas įpilama 2 ml kazeino tirpalo bei inkubuojama 30 min. Reakcija vyksta 37 °C temperatūroje 20 min. Reakcijos sustabdymas įvyksta įpylus 6 ml 5 proc. trichloracto rūgšties. Tuščiasis mėginys paruošiamas vietoje tiriamojo mėginio įpilant 1 ml fosfatinio buferio, o kontroliniai mėginiai ruošiami prieš reakciją įpilant 6 ml 5 % trichloracto rūgšties. Tirozino kiekis nustatytas pagal tirpalo absorbciją, išmatuotą „Genesys 10 UV” (JAV) spektrofotometru, esant 660 nm bangos ilgiui. Inhibicinis aktyvumas (%) apskaičiuotas pagal proteolitinio aktyvumo sumažėjimą mėginiuose su inhibitoriaus tirpalu ir be jo [39].

**Baltymų *in vitro* virškinamumo** tyrimui atlikti imama 62,5 mg išskirtų žirnių produktų baltymų, kurie sumaišomi su 10 ml distiliuoto vandens. Suspensija centrifuguojama 5 min, 2000 aps/min „Heraeus labofuge 200“ (JAV) centrifugoje. Gauta tirpalo pH sureguliuojamas iki 8, naudojant 0,1 M NaOH tirpalą. Gauta suspensija sumaišoma su fermentiniu mišiniu, kuris sudarytas (1 ml distiliuoto vandens ištirpinta 1,6 mg tripsino ir 3,1 mg  $\alpha$ -chimotripsino). Suspensija su fermentiniu mišiniu sumaišoma santykiu 10:1 (suspensija:fermentinis mišinys). Po 10 min matuojamas tirpalo pH. Baltymų *in vitro* virškinamumas (V, %) įvertinamas pagal hidrolizuotų baltymų kiekį pagal (10) formulę [112]:

$$V = 210,464 - 18,103 \times pH, (\%) \quad (10)$$

### 2.3.7. Matematinė statistinė duomenų analizė

Eksperimentai kartoti mažiausiai tris kartus, išskyrus bendrą mikroorganizmų kiekio nustatymą (kartojamumas – 2 kartai). Statistinė analizė buvo atlikta su „R code naudojant (*agricolae*)“ biblioteka. Analizės metu buvo paskaičiuota bendra aprošomoji statistika kaip vidurkis ir standartinis nuokrypis. Vidurkių palyginimui buvo taikytas ANOVA post-hoc, tukey metodas. Reikšmingumo lygmuo alfa parinktas 5 %.

### 3. REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS

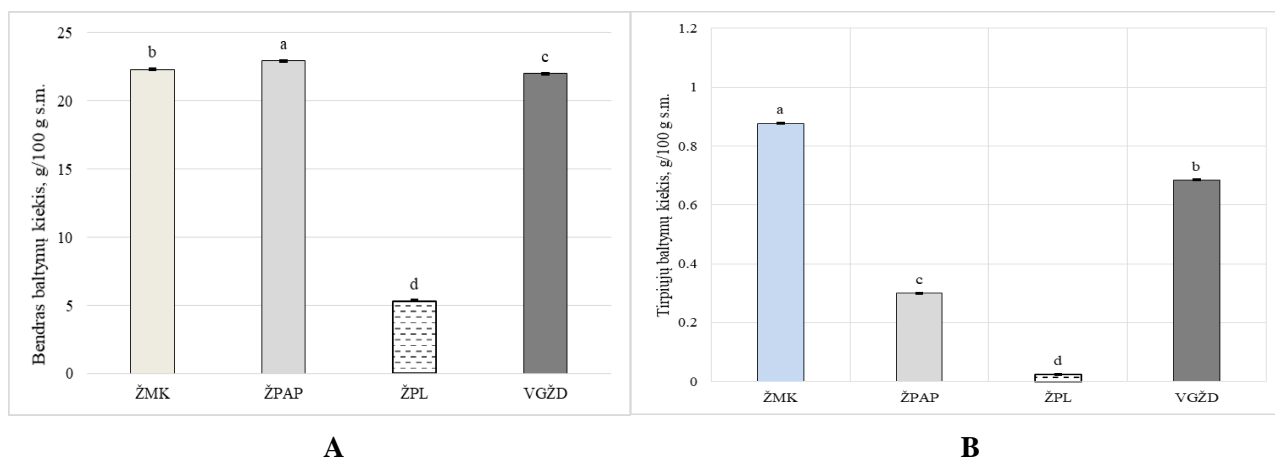
#### 3.1. Sausuoju būdu frakcionuotų žirnių perdirbimo produktų charakteristika

Šiame darbe tvarios žirnių perdirbimo technologijos vystymui išbandytas sausasis frakcionavimas antrinių produktų atskyrimui iš malinio. Papildomai analizuota galimybė gaminti iš lukštentų žirnių viso grūdo žirnių dalių produktus ir tokiu technologiniu sprendimu vykdyti beatliekinį gamybos procesą. Visais atvejais didžiausias dėmesys buvo skiriamas baltyminėms medžiagoms ir jų pasisavinamumo didinimui, o taip pat gautų produktų funkcinėms savybėms, nuo kurių priklauso jų panaudojimas.

##### 3.1.1. Žirnių perdirbimo produktų sudėtis

**Drėgnis** visuose tirtuose mėginiuose kito ribose nuo 14 % iki 14,9 % ir buvo priimtinas ilgalaikiam gautų produktų sandėliavimui.

**Bendro baltymų ir tirpiųjų baltymų kiekio tyrimų rezultatai** žirnių perdirbimo produktuose (ŽMK, ŽPAP, ŽPL ir VGŽD) pateikti (žr. 6 pav. A – bendras baltymų kiekis ir B – tirpiųjų baltymų kiekis).

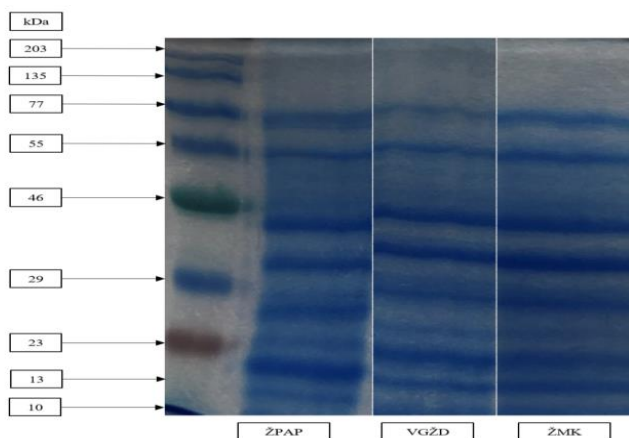


**6 pav.** Žirnių perdirbimo produktų palyginamasis įvertinimas pagal bendras baltymų (A) ir tirpiųjų baltymų kiekį (B)

Lyginant tarpusavyje įvairius žirnių perdirbimo produktus pagal bendrą baltymų kiekį (žr. 6 pav. A), matoma, kad ŽMK pagal baltymų kiekį (22,3 g/100 g s.m.) nesiskiria nuo tokių produktų kaip ŽPAP ir VGŽD (22,9 ir 22,0 g/100 g s.m., atitinkamai). Reikšmingai mažesnis baltymų kiekis nustatytas frakcijoje (ŽPL), į kurią patenka didžiausi luobelinių kieki (5,3 g/100 g s.m.).

Vertinant tirpiųjų baltymų kiekį (žr. 6 pav. B) tiriamuosiuose produktuose, matoma, jog didžiausias tirpiųjų baltymų kiekis nustatytas ŽMK (0,9 g/100 g s.m.). VGŽD ir ŽPAP mėginiuose tirpiųjų baltymų nustatyta mažiau (0,7 ir 0,3 g/100 g s.m., atitinkamai) nei ŽMK. ŽPL nustatyta mažiausiai tirpiųjų baltymų (0,02 g/100 g s.m.).

SDS–PAGE gauti albuminų įvairiuose ŽPP rezultatai pateikti 7 pav.

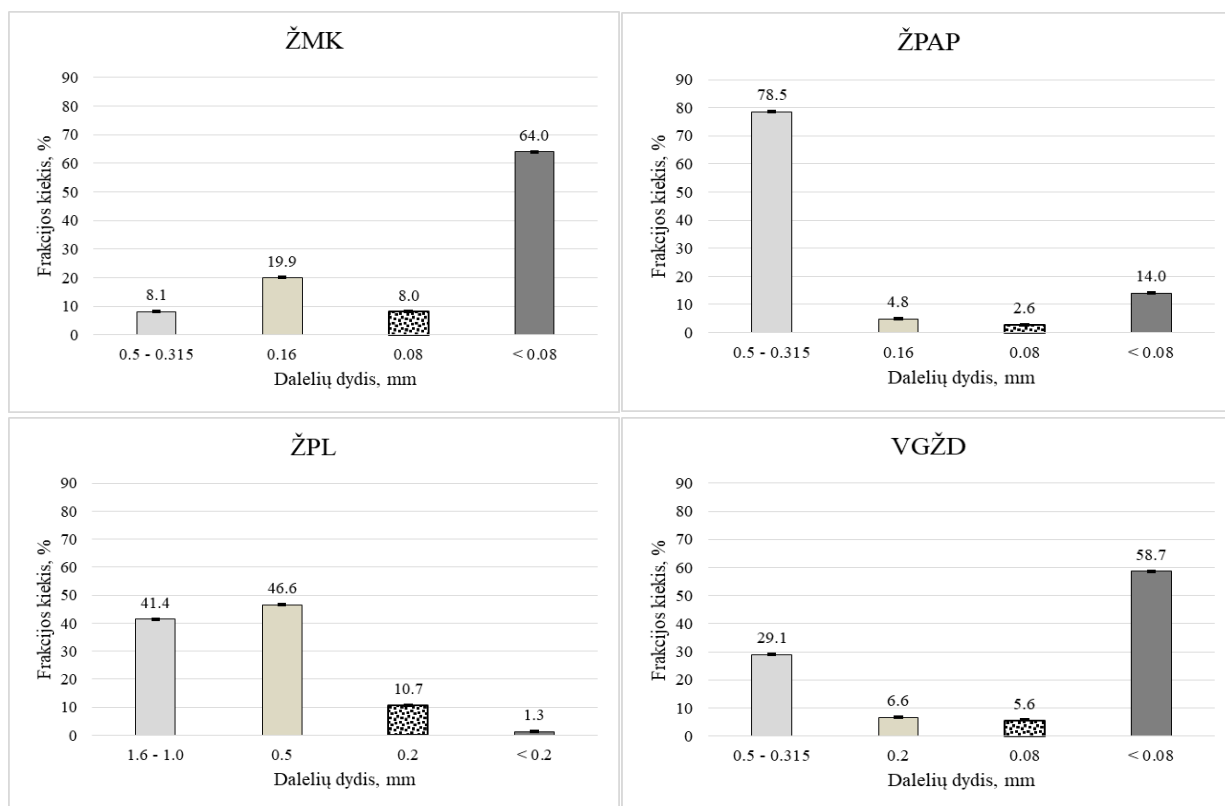


7 pav. SDS–PAGE albuminų ŽMK, ŽPAP ir VGŽD produktų tyrimų rezultatai

Nustatyta, kad albuminų frakcijoje baltyminių medžiagų molekulinės masės kinta ribose nuo 77 kDa iki 10 kDa. Lyginant tarpusavyje atskirus ŽPP, matyti, kad antriniuose produktuose (ŽPAP) stebima daugiau mažesnės molekulinės masės baltymų nei pagrindiniuose produktuose (ŽMK ir VGŽD).

### 3.1.2. Žirnių perdirbimo produktų funkcinės savybės

Granulimetrinė sudėtis tirta, frakcionuojant žirnių perdirbimo produktus sietų sistema, tikslu išsiaiškinti šio faktoriaus įtaką gautų produktų funkcinėms savybėms (žr. 8 pav).

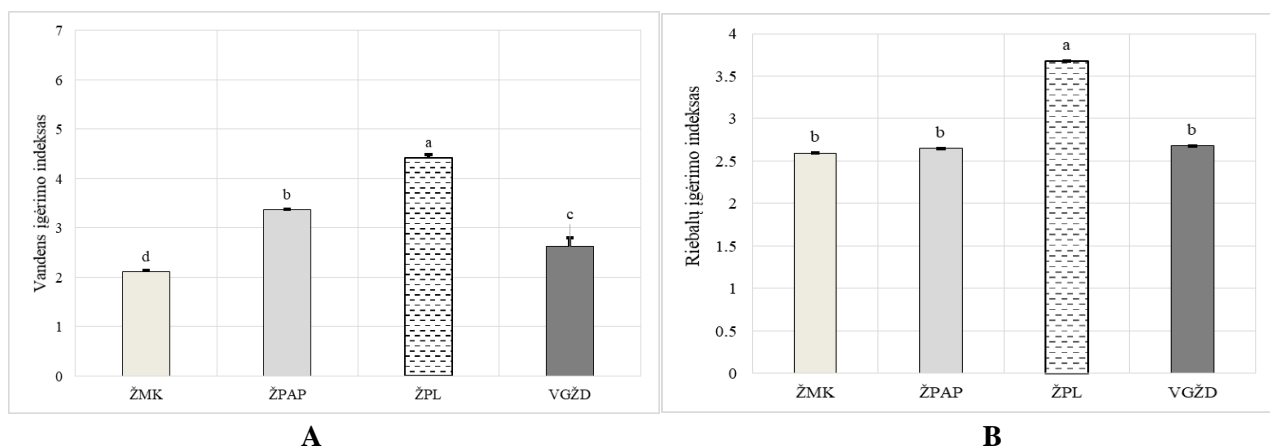


8 pav. Žirnių perdirbimo produktų (ŽMK; ŽPAP, ŽPL ir VGŽD) palyginamas pagal granulimetrinę sudėtį

Nustatyta, kad ŽMK ir VGŽD mėginiuose vyrauja daugiausiai mažiausių (< 0,08 mm) dalelių (64,0 % ir 58,7 % atitinkamai). Tuo tarpu kiti produktai (ŽPAP ir ŽPL) yra stambesni: ŽPAP mėginyje

daugiausiai aptikta dalelių (78,5 %), kurių dydis – 0,5–0,315 mm, o ŽPL – 41,4 % ir 46,6 % atitinkamai sudaro 1,6–1,0 mm ir 0,5 mm dydžio dalelės.

**Vandens ir riebalų įgėrimo indeksų** tyrimų rezultatai (žr. 9 pav. A ir B), gauti įvairių žirnių perdirbimo produktų vertinimo metu, lyginti su šių produktų granulimetrine sudėtimi (žr. 8 pav).



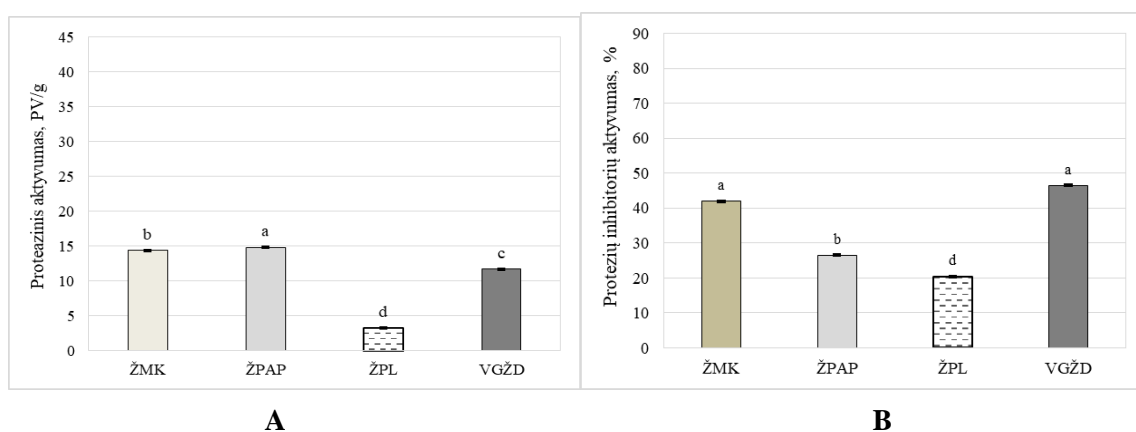
**9 pav.** Žirnių perdirbimo produktų (ŽMK; ŽPAP, ŽPL ir VGŽD) palyginamas pagal vandens įgėrimo indeksą (A) ir riebalų įgėrimo indeksą (B)

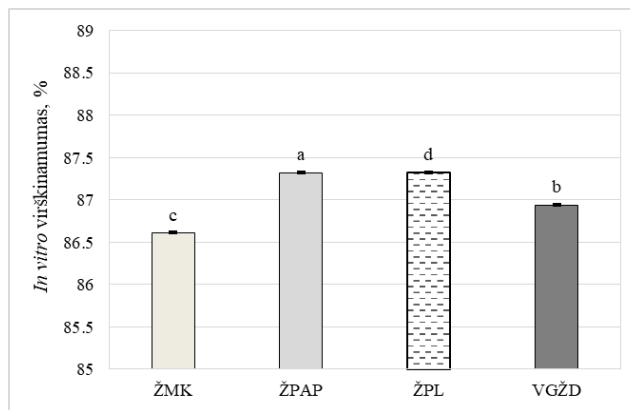
Nustatyta, kad geriausiai vandenį ir riebalus absorbuoja ŽPL mėginys (4,4 ir 3,7, atitinkamai), kuriame aptiktas didesnis stambesnių dalelių kiekis (1,6–1,0 mm ir 0,5 mm). Analogiška tendencija stebima analizuojant ŽPAP mėginį, siejant didesnę vyraujančių dalelių dydį su didesnėmis vandens įgerties ir riebalų absorbcijos vertėmis (3,4 ir 2,7 atitinkamai).

Mėginiai, kuriuose vyrauja didesnis smulkių dalelių kiekis (ŽMK ir VGŽD), pasižymėjo blogesnėmis savybėmis tiek pagal vandens įgėrimą, tiek ir pagal riebalų įgėrimą. ŽMK ir VGŽD mėginių nustatytas 2,1 ir 2,6 vandens įgėrimo indeksas, riebalų įgėrimo indeksas – 2,6 ir 2,7 atitinkamai.

### 3.1.3 Proteazinio aktyvuvo, proteazių inhibitorių aktyvumo ir virškinamumo pokyčiai

Šio eksperimento tikslas buvo palyginti žirnių perdirbimo produktus, gautus sausojo frakcionavimo būdu, pagal kriterijus, galinčius turėti įtakos baltymų pasisavinamumui, tokiems kaip proteazių aktyvumas, proteazių inhibitorių aktyvumas ir *in vitro* virškinamumas. Tyrimų rezultatai pateikti 10 pav. A - proteazių aktyvumas, B – proteazių inhibitorių aktyvumas ir C – *in vitro* virškinamumas.





### C

**10 pav.** Žirnių perdirbimo produktų (ŽMK; ŽPAP, ŽPL ir VGŽD) palyginamas pagal proteazių aktyvumą (A), proteazių inhibitorių aktyvumą (B) ir *in vitro* virškinamumą (C)

Iš gautų proteazinio aktyvumo rezultatų (žr. 10 pav. A) išryškėjo skirtumai tarp tirtų žirnių perdirbimo produktų: didžiausias proteazinis aktyvumas fiksuojamas ŽMK ir ŽPAP mėginiuose (14,4 ir 14,8 PV/g atitinkamai), po to seka ŽPL mėginys (11,8 PV/g), ŽPL mėginio būdingas mažiausias proteazinis aktyvumas (3,3 PV/g).

Lyginant tarpusavyje žirnių perdirbimo produktus pagal proteazių inhibitorių aktyvumo vertinimo rezultatus (žr. 10 pav. B), didžiausios šio parametro vertės aptiktos, analizuojant ŽMK ir VGŽD mėginius (42,0 % ir 46,4 %, atitinkamai). ŽPL mėginio vertinimo metu fiksuotos mažiausios proteazinio aktyvumo vertės (20,5 %). ŽPAP mėginys pagal šio parametro vertės užėmė tarpinę padėtį (26,5 %).

Vertinant *in vitro* virškinamumo tyrimų rezultatus (žr. 10 pav. C), nustatyta, jog didžiausiu *in vitro* virškinamumu pasižymėjo ŽPAP ir ŽPL mėginiai (87,3 % – abiejų mėginių). Tuo tarpu ŽPL ir VGŽD mėginių *in vitro* virškinamumo vertės fiksuotos reikšmingai mažesnės ir sudarė 86,6 % ir 86,9 %, atitinkamai.

**Apibendrinimas.** Eksperimento rezultatai rodo, kad taikant sausąjį frakcionavimą, gautuose antriniuose produktuose (ŽPAP), atskyrus miltus (ŽMK), lieka pakankamai didelis bendras baltymų kiekis (22,9 g/100 g s.m.). Tuo tarpu luobeliniuose produktuose (ŽPL) nustatyta baltymų iki 5,3 g/100 g s.m. Žirnių perdirbimas į viso grūdo dalių žirnių miltus (VGŽD) galėtų būti technologinė alternatyva, leidžianti organizuoti žirnių perdirbimą tvariu principu ir pagaminti 22 g/100 g s.m. baltymų turintį produktą.

Šio eksperimento metu žirnių perdirbimui pasirinktas rytinėje Lietuvoje labiausiai paplitęs žirnių genotipas „Jūra DS“. Literatūroje pažymima, kad žirnių genotipai reikšmingai skiriasi pagal baltymų kiekį. Pvz., *Linkolno* daržiniuose žirniuose nustatytas didesnis baltymų kiekis (26,4 g/100 g s.m.) nei *Jamaikiniuose balandžirniuose* (19,39 g/100 g s.m.). Žieminių žirnių genotipuose baltymų kiekis kinta nuo 21,9 iki 29,5 g/100 g s.m., tuo tarpu pavasarinių genotipų – nuo 18,1 iki 29,2 g/100 g s.m. [15]. Tokiu būdu, grūdų perdirbėjai turi potencialą baltymų kiekio žirnių perdirbimo produktuose didinimui.

Žirnių perdirbimo produktai, pagaminti vienu ar kitu būdu, galėtų būti naudojami kaip žaliava ekstruduojamų produktų gamybai, ar kaip priedai maisto produktuose. Funkcinių savybių tyrimai išryškino skirtumus tarp tirtų žirnių perdirbimo produktų, kuriuos reiktų įvertinti parenkant priedų

rūši ir kiekius. Žirnių perdirbimo produktai, kuriuose vyrauja stambesnės dalelės (ŽPAP ir ŽPL) pasižymėjo didesniu vandens ir riebalų įgėrimo pajėgumu. Be to, žirnių perdirbimo produktai skyrėsi tarpusavyje tirpiųjų baltymų kiekiu. Pagal Francesco Masoero ir kt. tirpiųjų baltymų kiekis žirnių (lot. *Pisum sativum*) miltuose sudaro 27,65 % nuo bendro baltymų kiekio [114]. Šio eksperimento metu didžiausias tirpiųjų baltymų kiekis pagal Bradfordo metodą aptiktas ŽMK ir VGŽD.

Kaip žinoma iš literatūros šaltinių, ankštinių javų grūdų produktų baltymų biologinį pasisavinamumą limituoja antimitybiniai faktoriai. Proteazių inhibitoriai yra vienas iš svarbiausių antimitybinių faktorių ankštinėse kultūrose [115]. Tyrimų rezultatai rodo, kad didžiausias tripsino inhibitorių kiekis aptiktas tokiuose žirnių perdirbimo produktuose, kaip ŽMK ir VGŽD. Šiuose produktuose, taip pat nustatytas ir mažesnis *in vitro* virškinamumas.

Įvertinant tai, tolimesnis eksperimentas bus skirtas technologinių procesų, skirtų antimitybinių faktorių mažinimui, paieškai ir cheminės sudėties bei funkcinių savybių pokyčių tyrimams.

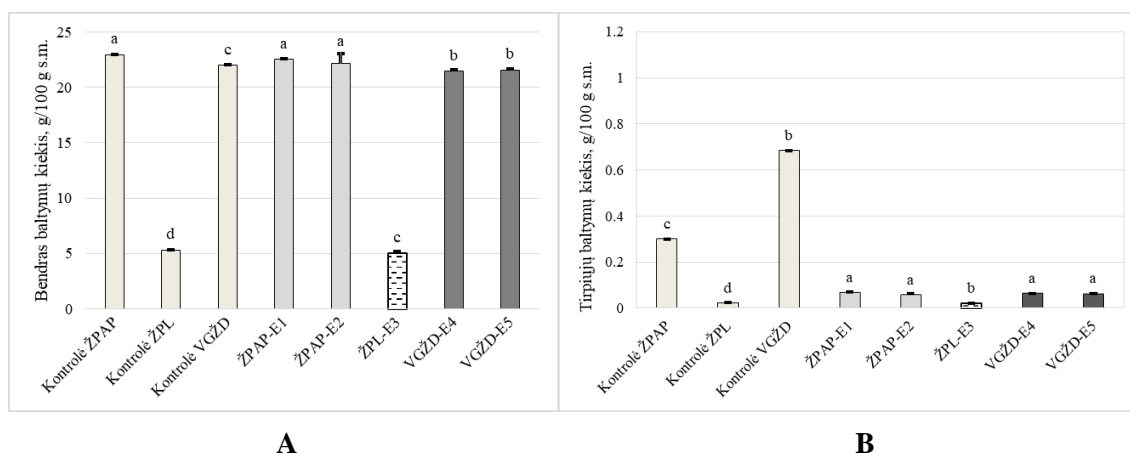
### 3.2 Ekstruzijos proceso įtaka žirnių perdirbimo produktų kokybei

Šiame eksperimento etape tirta ekstruzijos proceso įtaka žirnių perdirbimo antrinių produktų (ŽPAP ir ŽPL), o taip pat viso grūdo žirnių dalių (VGŽD) produktų kokybei. Žirnių miltams, kurie šiuo metu komercializuojami (ŽMK), ekstruzijos procesas nebuvo taikomas. Įvertinant žirnių perdirbimo produktų sudėties savitumus ir tai kad į kai kuriuos iš jų (pvz., ŽPAP ir VGŽD) patenka didesni baltyminių medžiagų kiekiai, ekstrudavimui pasirinktas žemų temperatūrų režimas. Ekstruduotų produktų sudėtis, funkcinės savybės ir antimitybinių faktorių tyrimų rezultatai palyginti su atitinkamais mėginiais be papildomo apdoravimo dviejų sraigtų ekstruderyje.

#### 3.2.1. Ekstruduotų žirnių perdirbimo produktų sudėtis

**Drėgnis** ekstruduotų produktų džiovavimo metu buvo sumažintas iki: ŽPAP–E1 (14,9 %), ŽPAP–E2 (11,9 %), ŽPL–E3 (8,5 %), VGŽD–E4 (12,6 %), VGŽD–E5 (12,9 %) , sudarant sąlygas ilgalaikiam apdorotų produktų sandėliavimui.

**Bendro baltymų ir tirpiųjų baltymų** kiekio žirnių perdirbimo produktuose tyrimų rezultatai pateikiami 11 pav., A ir B.



**11 pav.** Ekstruduotų žirnių perdirbimo produktų baltyminių medžiagų tyrimų rezultatai: A – bendro baltymų kiekio ir B – tirpiųjų baltymų kiekio

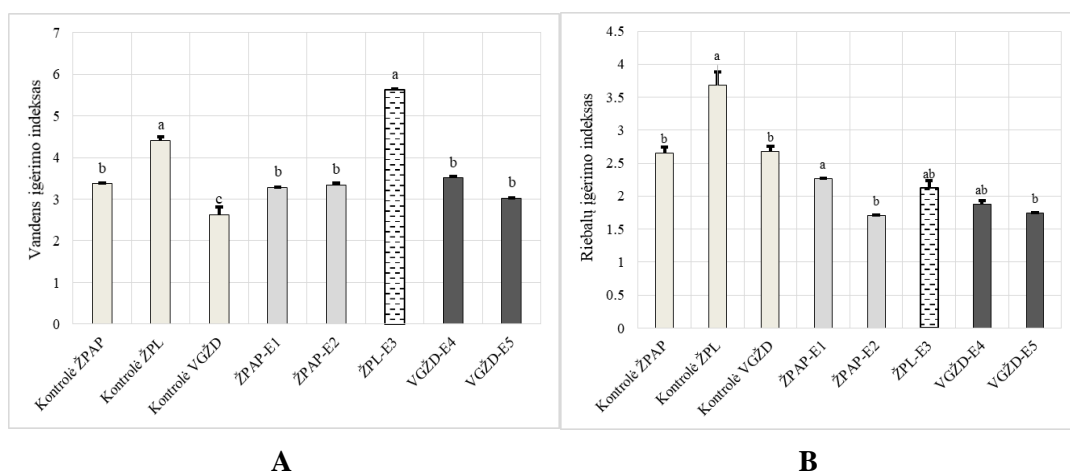
Tyrimų rezultatai rodo, kad ekstruduotuose produktuose stebimas baltymų kiekio sumažėjimas, palyginus su kontroliniais mėginiais be apdorojimo (žr. 11 pav. A). Vidutiniškai 2,7 % didesni baltymų pokyčiai nustatyti, ekstruduojant VGŽD mėginius nei ŽPAP. Be to, pastebėta ekstruzijos parametų įtaka baltymų pokyčiams: ŽPAP–E1 mėginiuose, lyginant su kontrole (22,9 g/100 g s.m.), nustatytas mažesnis baltymų pokytis nei ŽPAP–E2 (1,8 % ir 3,5 %, atitinkamai). VGŽD ekstruzijos metu taip pat išryškėjo drėgnio įtaka baltymų pokyčiams (VGŽD–E4 – 2,7 % ir VGŽD–E5 – 1,8 %). ŽPL luobeliniame mėginyje baltymų kiekis sumažėjo 5,6 %.

Tirpiųjų baltymų kiekio tyrimų rezultatai (žr. 11 pav. B) rodo reikšmingą šio parametų verčių sumažėjimą žirnių perdirimo produktuose ekstruzijos metu. ŽPAP ekstruduotose mėginiuose, palyginti su kontrole, tirpiųjų baltymų kiekis nustatytas 3 kartus mažesnis, ŽPL–E3 mėginiuose 0,8 kartus, o VGŽD ekstruduotose mėginiuose – 5 kartus.

### 3.2.2. Ekstruduotų žirnių perdirbimo produktų funkcinės savybės

Ekstruduotų žirnių perdirbimo produktų funkcinės savybės vertintos pagal vandens ir riebalų įgėrimo kriterijus ir tankį.

**Vandens ir riebalų įgėrimo** tyrimų rezultatai (žr. 12 pav. A ir B), rodo reikšmingus skirtumus tarp kontrolinių ir ekstruduotų mėginių.

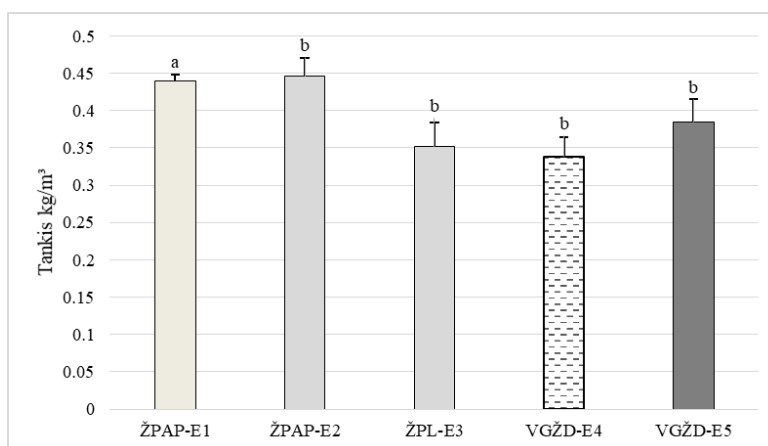


**12 pav.** Ekstruzijos proceso įtaka žirnių perdirbimo produktų vandens ir riebalų įgėrimui: A – vandens įgėrimo indeksui ir B – riebalų įgėrimo indeksui

Lyginant mėginius prieš ir po ekstruzijos pagal vandens įgėrimą (žr. 12 pav. A), stebimas šių verčių po ekstruzijos sumažėjimas ŽPAP mėginiuose (vidutiniškai 2,9 %). Tuo tarpu analizuojant ŽPL–E3, ir VGŽD mėginius nustatytas vandens įgėrimo indekso padidėjimas nei vertinant ŽPAP mėginius. ŽPL–E3 ir VGŽD ekstruduoti mėginiai vandens įgėrė vidutiniškai 1,2 kartus daugiau nei kontrolė.

Iš (žr. 12 pav. B) pateiktų riebalų įgėrimo indekso tyrimo rezultatų matyti, jog ekstruduoti žirnių perdirbimo produktų mėginiai įgeria reikšmingai mažiau riebalų nei kontroliniai. Savybė įgerti riebalus skirtingu laipsniu sumažėjo visuose tirtuose mėginiuose. Didžiausias šio parametro verčių sumažėjimas nustatytas analizuojant ŽPL–E3 mėginius (43 %), kituose mėginiuose (ŽPAP–E1; ŽPAP–E2 ir VGŽD–E4; VGŽD–E5) sumažėjimo pokyčiai nustatyti mažesni (14,8 %; 37,0 % ir 29,6 %; 37 %, atitinkamai).

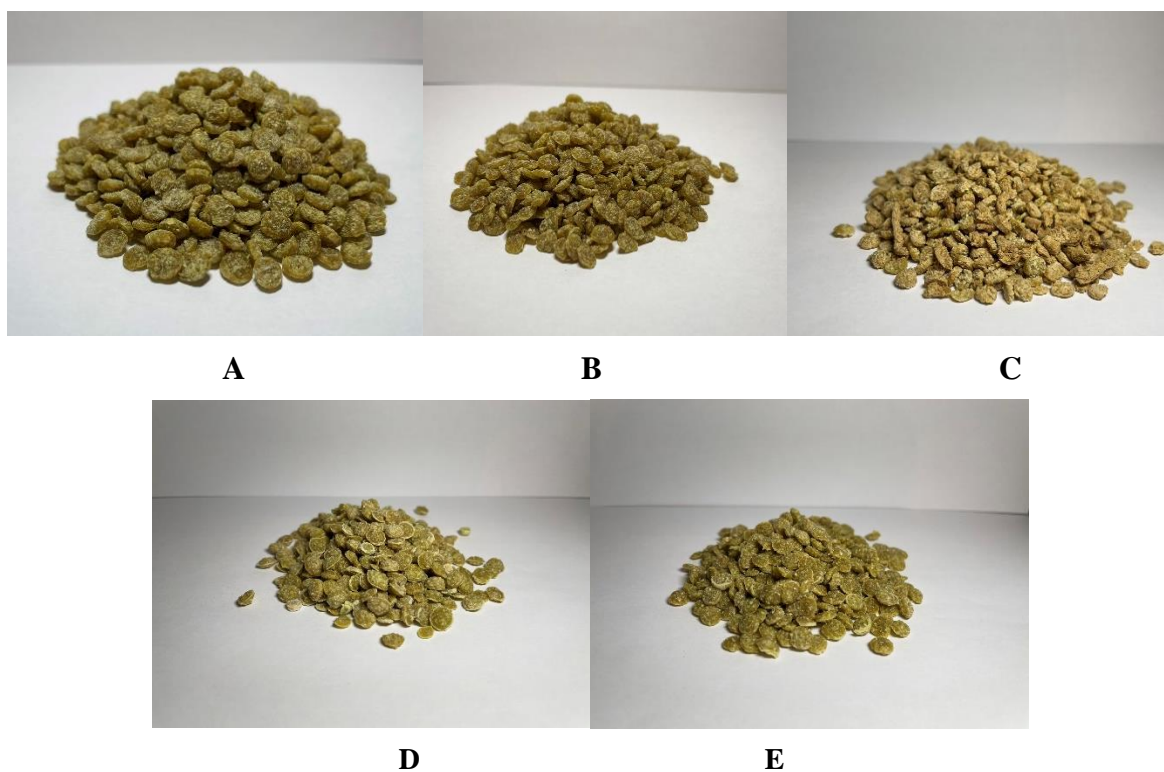
Papildomai tirtas ekstruduoutu žirniu perdirbimo produktu tankis (žr. 13 pav.), galintis turėti įtakos jų funkcinėms savybėms.



**13 pav.** Ekstruduoutu žirniu perdirbimo produktu palyginimas pagal tankį (kg/m<sup>3</sup>)

Nustatyta jog didžiausiu tankiu pasiužymėjo ŽPAP–E1 ir ŽPAP–E2 mėginiai (0,44 ir 0,45 kg/m<sup>3</sup> atitinkamai), tuo tarpu reikšmingai mažesnio tankio yra ŽPL–E3 (0,35 kg/m<sup>3</sup>), o taip pat VGŽD–E4 ir VGŽD–E5 mėginiai (0,34 ir 0,38 kg/m<sup>3</sup>, atitinkamai).

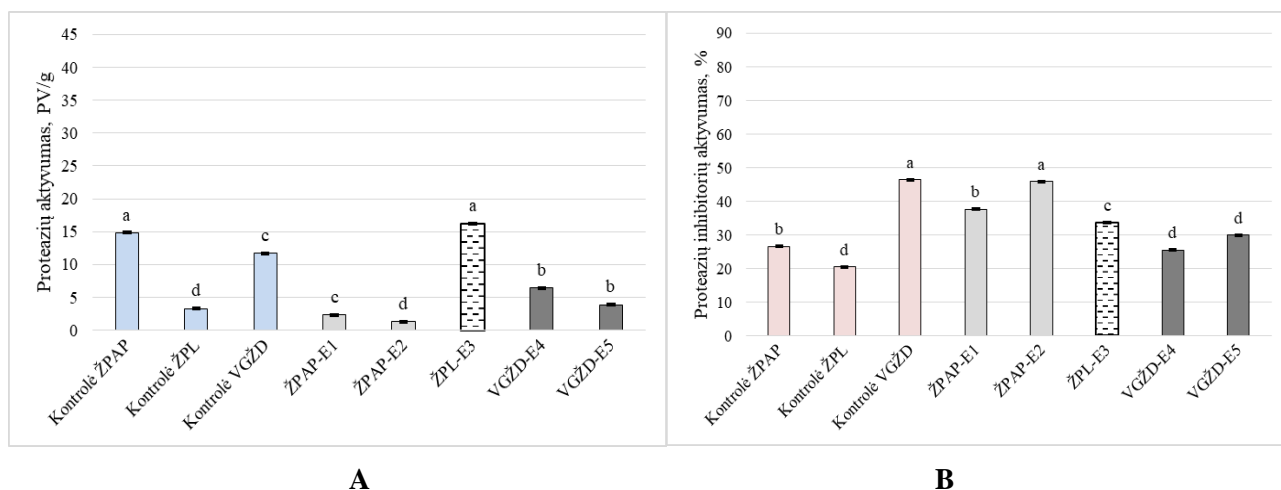
Šiuos nustatytus mėginių fizinių savybiu skirtumus patvirtina ir ekstruduoutu žirniu produktu vaizdai (žr. 14 pav. A–E)



**14 pav.** Ekstruduoti žirniu perdirbimo produktai: (A–ŽPAP–E1; B–ŽPAP–E2; C–ŽPL–E3; D–VGŽD–E4; E–VGŽD–E5)

### 3.2.3 Ekstruzijos proceso įtaka žirnių perdirbimo produktų antimonybiniais faktoriams ir *in vitro* virškinamumui

**Proteazių ir proteazių inhibitorių aktyvumas ekstruduotuose produktuose.** Eksperimento metu gauti proteazių ir proteazių inhibitorių aktyvumo tyrimų rezultatai pateikiami (žr. 15 pav. A, B).

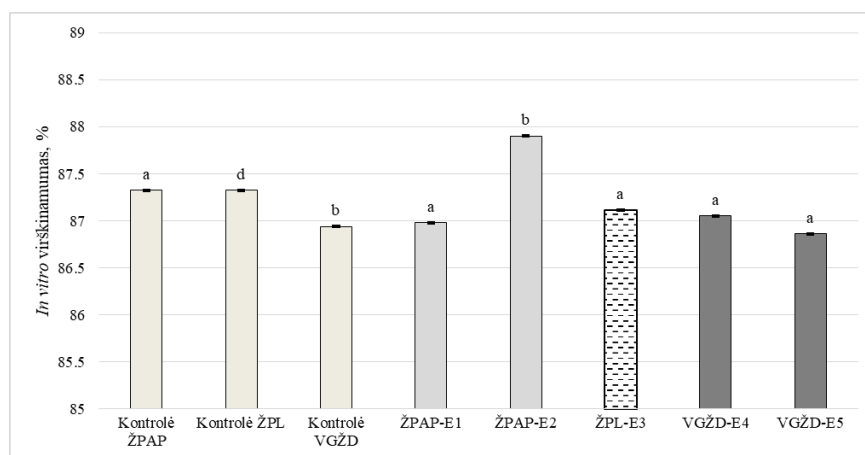


**15 pav.** Ekstruzijos proceso įtaka proteaziniam (A) ir proteazių inhibitorių aktyvumui (B)

Iš gautų proteazių aktyvumo rezultatų (žr. 15 pav. A) matoma, kad po ekstruzijos ŽPAP bei VGŽD mėginiuose nustatytas reikšmingas proteazinio aktyvumo sumažėjimas (vidutiniškai 8 kartus ir 2,3 karto, atitinkamai). Tuo tarpu ŽPL mėginyje po apdoravimo stebimas proteazinio aktyvumo padidėjimas (4,9 karto).

Vertinant proteazių inhibitorių aktyvumą (žr. 15 pav. B), stebima tam tikruose mėginiuose (ŽPAP; ŽPL) inhibitorių aktyvumo didėjimo tendencija: ŽPAP mėginiuose, lyginant su kontroliniais mėginiais, inhibitorių aktyvumas padidėjo vidutiniškai 1,5 karto ir ŽPL mėginiuose – 1,6 karto. Tuo tarpu VGŽD mėginiuose fiksuotas inhibitorių aktyvumo sumažėjimas (vidutiniškai 1,7 karto).

**Ekstruduotų produktų baltymų *in vitro* virškinamumo tyrimo rezultatai** (žr. 16 pav.) lyginti su kontrole (mėginiais be apdoravimo).



**16 pav.** Ekstruzijos įtaka žirnių perdirbimo produktų baltymų *in vitro* virškinamumui

Nustatyta, jog ekstruzijos procesas gali pagerinti baltymų *in vitro* virškinamumą ir šio proceso teigiamas poveikis priklauso nuo ekstruzijos proceso metu naudotų parametru, patvirtintas

analizuojant tiek ŽPAP mėginius (ŽPAP–E1 ir ŽPAP–E2), tiek ir VGŽD mėginius (VGŽD–E4 ir VGŽD–E5). Reikšmingų skirtumų nenustatyta tarp tirtų ŽPL mėginių ir kontrolės.

**Apibendrinimas.** Vertinant ekstruzijos proceso įtaką žirnių perdirbimo produktų baltyminių medžiagų kiekiui, nustatytas tiek bendro baltymų kiekio, tiek ir tirpiųjų baltymų mažėjimas. Analogiškos tendencijos nustatytos ir kitų tyrėjų žirnių produktų ekstrudavimo metu. Nustatyta, kad baltymų kiekis kinta priklausomai nuo tam tikrų ekstruzijos bei mėginio paruošimo parametru, tokių kaip temperatūra, džiovavimo laikas, vandens kiekis ir kt [56].

Literatūroje pažymima, kad ekstruduotų produktų vandens įgėrimo indeksas turėtų būti kuo aukštesnis. Šis parametras nusako ekstruduoto produkto sąveikas su vandeniu ir galimybes formuoti stabilias jungtis hidratacijos metu, tai yra svarbu įvertinti, naudojant ekstrudatus greito paruošiamo sriubų ruošimui ar kūdikių maisto gamybai [116]. Didesnės vandens įgėrimo indekso vertės pasiekiamos taikant ekstruzijos metu aukštesnes temperatūras, naudojant didesnę vandens kiekį bei esant mažam sraigto greičiui [55, 117]. Pagal Zarzycki ir kt. didelis sraigto greitis turi neigiamą poveikį krakmolo polimerui, nes vyksta jo skaidymasis. Susidarę mažesnės molekulinės masės junginiai turi neigiamos įtakos kleisterizacijos procesui, kuris yra tiesiogiai susijęs su vandens įgėrimu [118].

Šio eksperimento metu įrodyta, kad ekstruzijos įtaka vandens įgėrimui priklausė nuo apdorojamo žirnių perdirbimo produktų rūšies: analizuojant produktus (ŽPL–E3 ir VGŽD) nustatytas didesnis jų vandens įgėrimas nei ŽPAP. Tai manoma, kad yra susiję su didesniu šiose žaliavose skaidulinių medžiagų kiekiu.

Pagal Claudio Arriba's ir kt. ekstruduotų produktų tankis yra vienas iš svarbiausių jų kokybės kriterijų, pagal kurį buvo sudaromi žirnių ar kitų ankštinių javų mišiniai su kukurūzų miltais, užkandžių (ekstruduotų) gamybai [63]. Įrodyta, kad keičiant ekstruzijos proceso parametrus (drėgmės padavimą, sraigto greitį, temperatūrą, slėgį) galima taip pat plačiai varijuoti užkandžių, ruošiamų iš žirnių ir kukurūzų miltų mišinių, kokybę [119].

Vykdyto eksperimento metu įrodyti tankio skirtumai tarp įvairių žirnių perdirbimo produktų, stebint sudėties įtaką šio parametro vertėms.

*Baltymų virškinamumui* įtakos turi tiek endogeniniai, tiek egzogeniniai veiksniai. Endogeniniai veiksniai yra susiję su pačiu baltymu, t. y. su baltymo struktūrinėmis savybėmis ir su tuo, kaip ir kiek maisto perdirbimas gali jį paveikti. Egzogeniniai veiksniai yra susiję su maisto matrica ir apima baltymų sąveiką su kitais junginiais, tokiais kaip angliavandeniai, lipidai, ir ypač antimitybiniai veiksniai (AN). AN priskiriami antimaistiniai baltymai, tokie kaip tripsino inhibitoriai ir lektinai, ir anti–mitybinės medžiagos, tokios kaip taninai, fitatai ir polifenoliai [57]. Ekstruzija yra terminis procesas, kurio metu dėl didelės šlyties ir slėgio perdirbama žaliava patiria reikšmingus pokyčius. Nepaisant to, ekstruzijos procesas turėjo teigiamą poveikį ankštinių augalų maistinei vertei. Ekstruduojant paprastųjų pupelių, žirnių sėklų, faba ir pupelių miltus, *in vitro* virškinamumas padidinamas iki 87 % [60]. *In vitro* virškinamumo rezultatus patvirtino šėrimo *in vivo* eksperimentai [120].

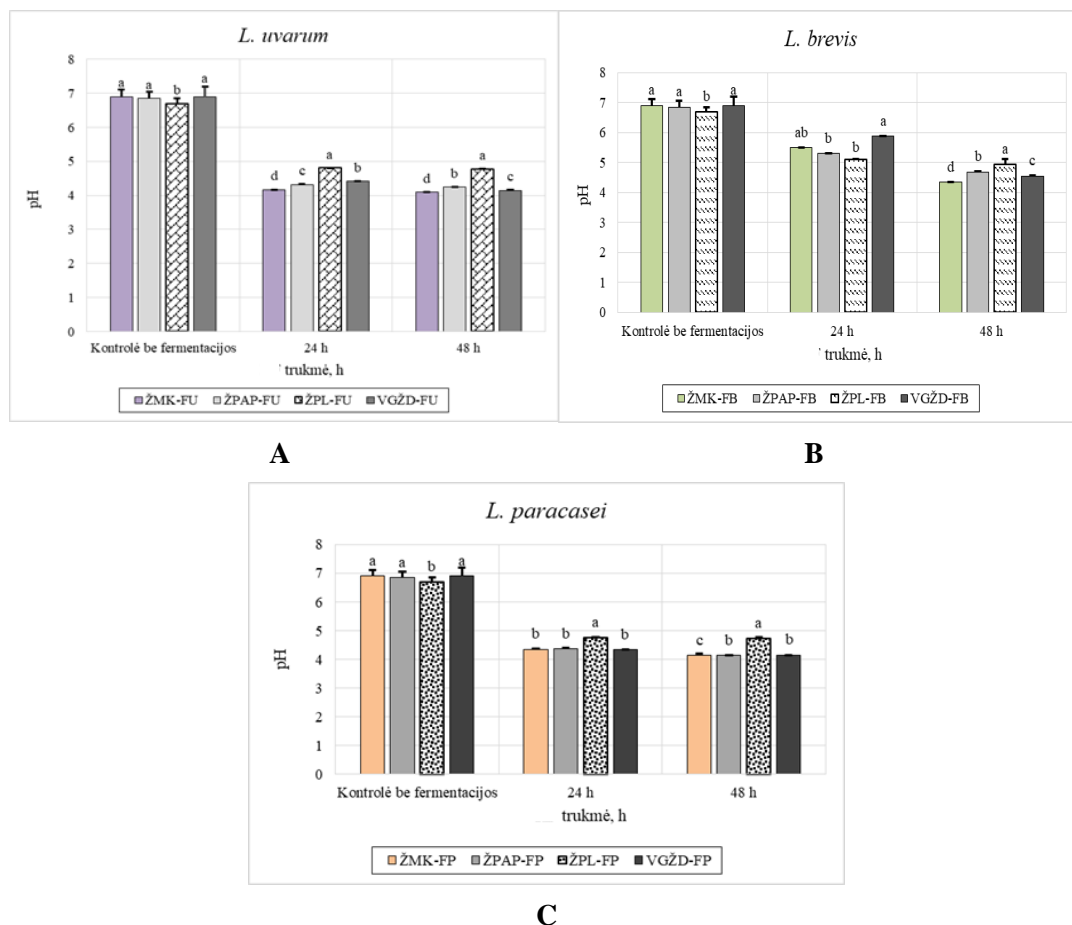
Šio eksperimento metu gauti rezultatai įrodo, kad ekstruzija, taikant žematemperatūrinį režimą, nesumažina žirnių perdirbimo produktų proteazių inhibitorių aktyvumo. Tuo tarpu *in vitro* virškinamumo testai rodo, kad šio proceso teigiamą efektą galima pasiekti ir padidinti *in vitro* virškinamumą, parenkant ekstruzijos parametrus žirnių perdirbimo produktų apdorojimu.

### 3.3 PRB fermentacijos panaudojimo galimybių tyrimai žirnių perdirbimo produktų kokybės gerinimui

#### 3.3.1. Žirnių perdirbimo produktų fermentacijos proceso vertinimas

Šiame eksperimento etape pateikti žirnių perdirbimo produktų fermentacijos proceso, naudojant įvairias PRB padermes (lot. *L. uvarum*, *L. brevis* ir *L. paracasei*), vertintimo rezultatai. Apie fermentacijos procesą buvo sprendžiama pagal pH pokyčius ir PRB dauginimosi kinetiką.

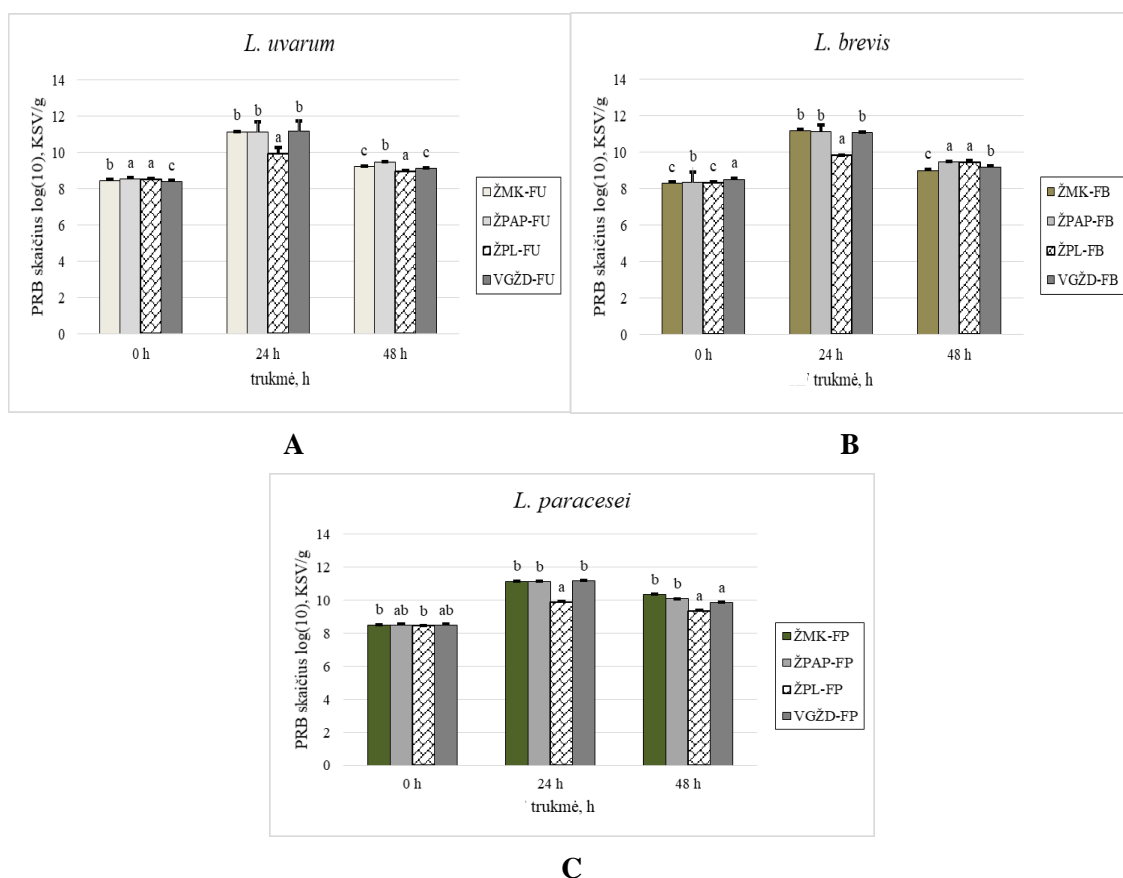
pH tyrimų žirnių perdirbimo produktų fermentacijos tyrimų rezultatai pateikti (žr. 17 pav.)



17 pav. pH pokyčiai žirnių perdirbimo produktų fermentacijos metu naudojant skirtingas PRB padermes: *L. uvarum* (A) *L. brevis* (B) ir *L. paracasei* (C)

Tyrimai rodo, kad žirnių perdirbimo produktų fermentacijos metu pH mažėjimas ir organinių rūgščių susidarymas daugiausiai priklauso nuo naudotos fermentacijai PRB padermės. *L. uvarum* (žr. 17 pav. A) ir *L. paracasei* (žr. 17 pav. C) fermentacijos metu didžiausias pH sumažėjimas nustatytas pirmų 24 h laikotarpyje (vidutiniškai iki pH 4,3 ir pH 4,4, atitinkamai). Tolesnės tirtų mėginių fermentacijos metu nebuvo fiksuoti reikšmingi šio parametro verčių pokyčiai. Fermentuojant žirnių perdirbimo produktus su *L. brevis* (žr. 17 pav. B), organinių rūgščių susidarymas vyko lėčiau ir mažiausios pH vertės nustatytos po 48 h fermentacijos (vidutiniškai pH 4,6). Be to, pastebėta ir žaliavos rūšies įtaka fermentacijos procesui. ŽMK, ŽPAP ir VGŽD produktų fermentacijos metu nustatytas didesnis pH sumažėjimas (vidutiniškai iki pH 4,3) tiek po 24 h fermentacijos su *L. uvarum* ir *L. paracasei*, tiek po 48 h fermentacijos su *L. brevis* (vidutiniškai pH 4,5) nei apdorojant ŽPL mėginius (pH 4,8; pH 4,8 ir pH 4,9, atitinkamai).

**PRB dauginimosi** kinetika atskirais fermentacijos etapais (po 24 h ir 48 h) analizuota priklausomai nuo žirnių perdirbimo produktų rūšies ir PRB padermės.

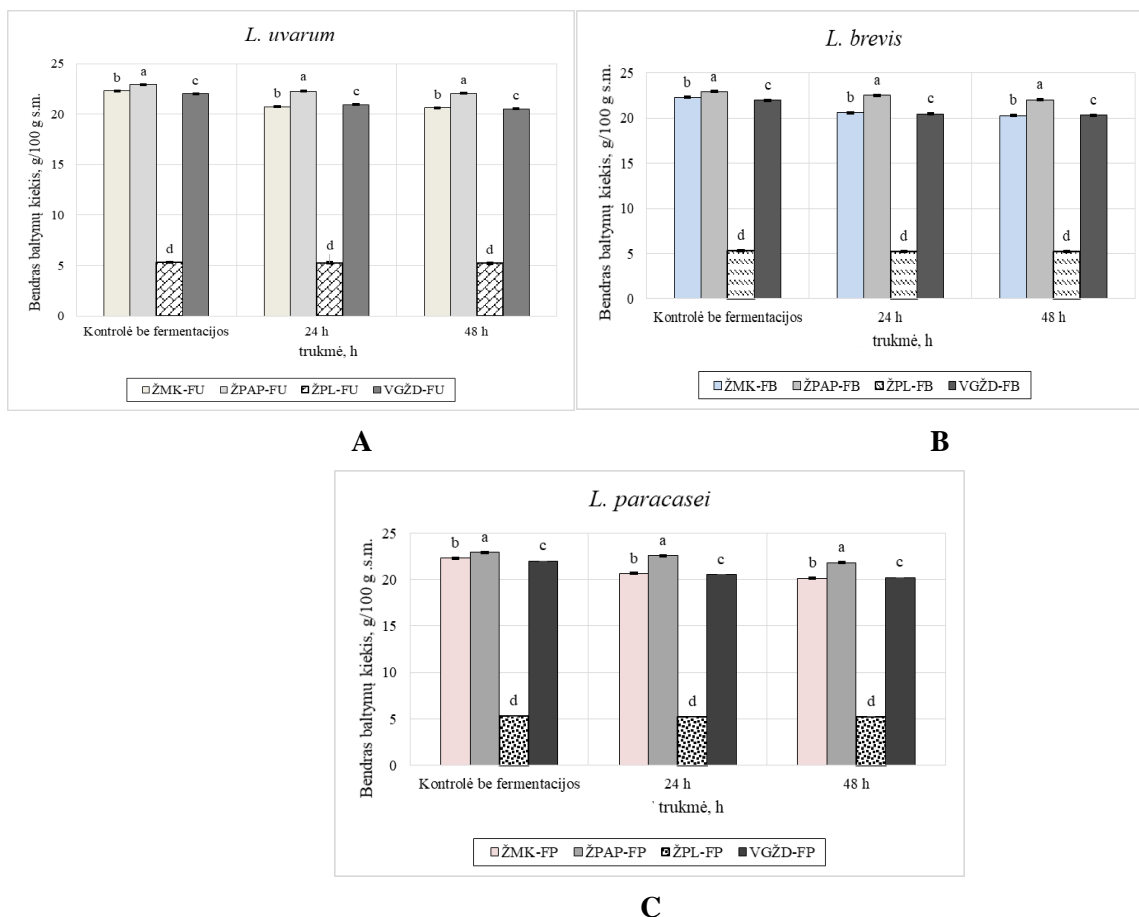


**18 pav.** PRB dauginimosi pokyčiai žirnių perdirbimo produktų fermentacijos metu, naudojant skirtingas PRB padermes: *L. uvarum* (A) *L. brevis* (B) ir *L. paracasei* (C)

Vertinant PRB dauginimosi kinetiką žirnių perdirbimo produktų fermentacijos metu, didžiausias PRB prieaugis nustatytas po 24 h fermentacijos (vidutiniškai  $11 \log^{10}$ , KSV/g), nepriklausomai nuo PRB padermės. Po 48 h fermentacijos PRB kiekio sumažėjimas nustatytas visais atvejais, kuris priklausė nuo PRB padermės: didesnis PRB skaičiaus pokytis stebimas fermentuojant mėginius su *L. uvarum* (žr. 18 pav. A) ir *L. brevis* (žr. 18 pav. B) (vidutiniškai  $9 \log^{10}$ , KSV/g) nei su *L. paracasei* (žr. 18 pav. C) (vidutiniškai  $10 \log^{10}$ , KSV/g). Lyginant tarpusavyje fermentacijos terpės įtaką PRB dauginimuisi, tinkamiausi PRB fermentacijai buvo ŽMK, ŽPAP ir VGŽD produktai, kuriuose po 24 h susikaupė didžiausias PRB kiekis vidutiniškai ( $11 \log^{10}$ , KSV/g). ŽPL mėginių fermentacijos metu PRB kiekio padidėjimas (po 24 h) nustatytas reikšmingai mažesnis (vidutiniškai  $10 \log^{10}$ , KSV/g) ŽMK, ŽPAP ir VGŽD, nepriklausomai nuo PRB padermės.

### 3.3.2. Baltyminių medžiagų pokyčiai

**Bendras baltymų kiekis** tirtas žirnių perdirbimo produktuose, fermentuotuose trimis pieno rūgšties bakterijomis (*L. uvarum*; *L. brevis* ir *L. paracasei*) pateiktas 19 pav.

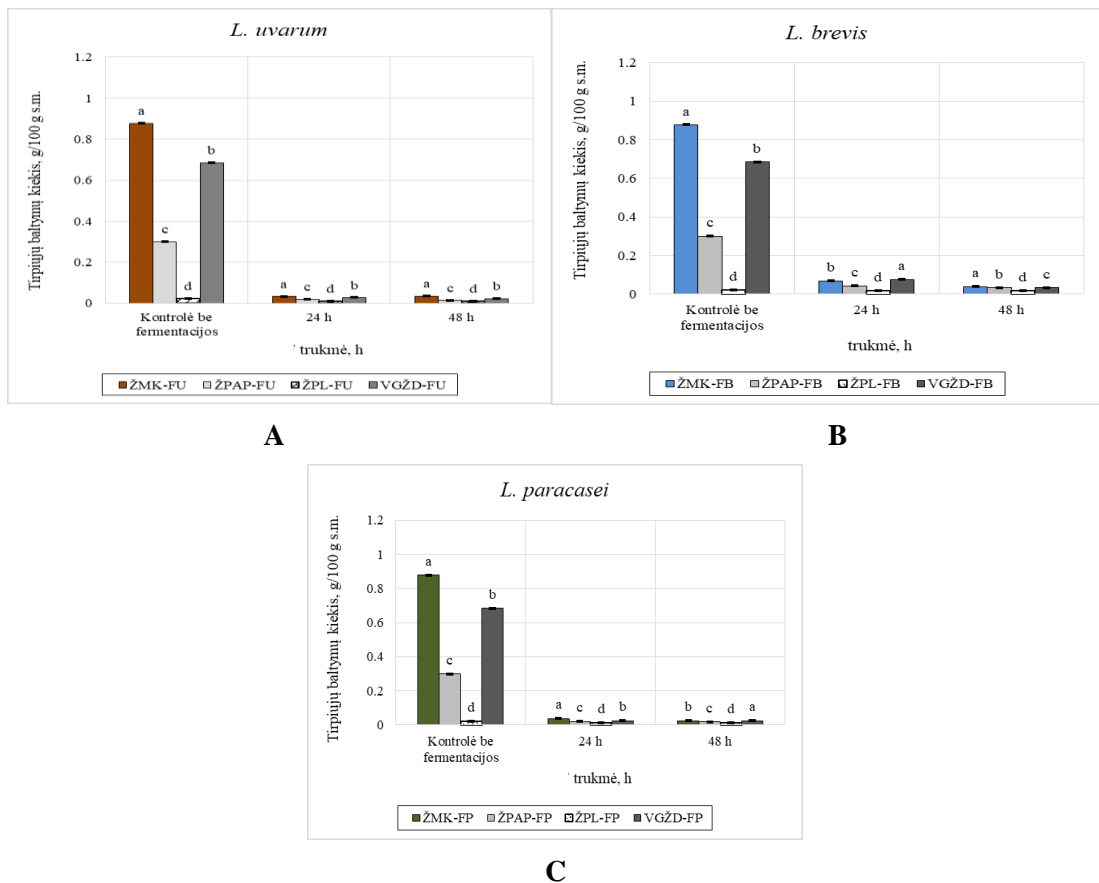


**19 pav.** Bendro baltymų kiekio pokyčiai žirnių perdirbimo produktų fermentacijos metu, naudojant skirtingas PRB padermes: *L. uvarum* (A); *L. brevis* (B); *L. paracasei* (C)

Nustatyta, jog PRB fermentuotuose žirnių perdirbimo produktuose visais atvejais stebimas bendro baltymų kiekio sumažėjimas. Didžiausias baltymų kiekio pokytis, lyginant su kontrole (be fermentacijos), nustatytas žirnių perdirbimo produktuose, fermentuotuose pirmų 24 h laikotarpyje, tuo tarpu kito fermentacijos etapo metu (po 48 h) bendras baltymų kiekis nekito.

Lyginant tarpusavyje atskirus fermentuotus žirnių perdirbimo produktus, nepriklausomai nuo PRB padermės, pagal bendro baltymų kiekio pokyčius, daugiausiai baltymų sumažėjo po 24 h fermentacijos ŽMK ir VGŽD mėginiuose (7,4 % ir 6,2 %, atitinkamai). Tuo tarpu kituose fermentuotuose mėginiuose (ŽPAP ir ŽPL) bendro baltymų kiekio pokyčiai nustatyti mažesni ir sudarė 1,9 % ir 1,8 %, atitinkamai. PRB padermė neturėjo reikšmingos įtakos baltymų kiekio pokyčiams fermentuotuose žirnių perdirbimo produktuose.

**Tirpiųjų baltymų kiekio** pokyčiai papildomai analizuoti žirnių perdirbimo produktų fermentacijos metu, naudojant *L. uvarum*, *L. brevis* ir *L. paracasei* (žr. 20 pav.).



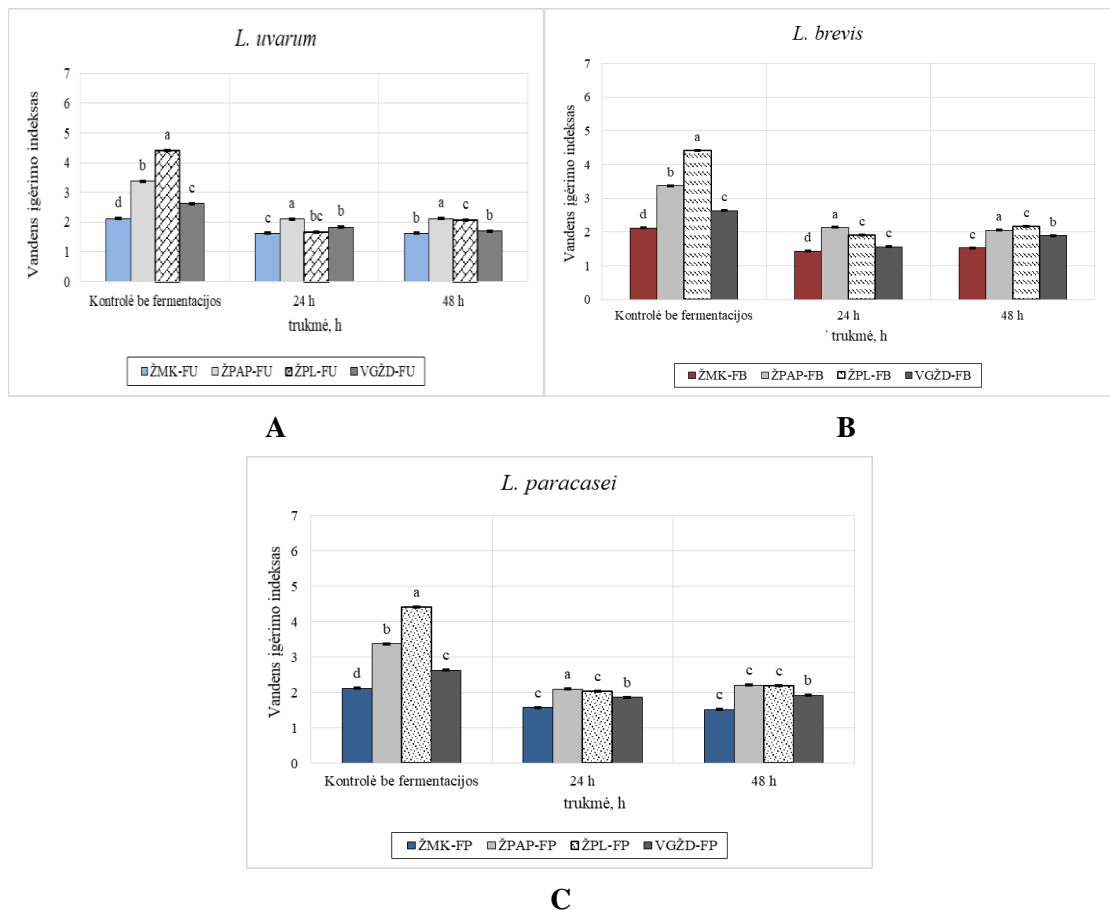
**20 pav.** Tirpiųjų baltymų kiekio pokyčiai žirnių perdirbimo produktų fermentacijos metu, naudojant skirtingas PRB padermes: *L. uvarum* (A); *L. brevis* (B); *L. paracasei* (C)

Žirnių perdirbimo produktų fermentacijos metu pagrindiniai tirpiųjų baltymų nuostoliai nustatyti po 24 h fermentacijos ir jie priklausė nuo tiriamo mėginio rūšies. Didžiausias tirpiųjų baltymų kiekio sumažėjimas, nepriklausomai nuo PRB padermės, fiksuotas tiriant ŽMK, VGŽD ir ŽPAP mėginius (94,8 %, 93,8 % ir 91,0 %, atitinkamai), tuo tarpu ŽPL fermentacijos metu jie sudarė 50 %. Po 48 h valandų fermentacijos tirpiųjų baltymų pokyčiai žirnių perdirbimo produktuose nebuvo reikšmingi. PRB padermė neturėjo įtakos tirpiųjų baltymų kiekiui.

### 3.3.3 Funkcinių savybių pokyčiai

Fermentuotų įvairiomis PRB padermėmis (*L. uvarum*, *L. brevis*, *L. paracasei*) žirnių perdirbimo produktų funkcinės savybės vertintos pagal vandens ir riebalų įgėrimo indeksą.

**Vandens įgėrimo indeksas** fermentuotuose 24 h ir 48 h žirnių perdirbimo produktuose tyrimų rezultatai pateikti 21 pav. A,B ir C.

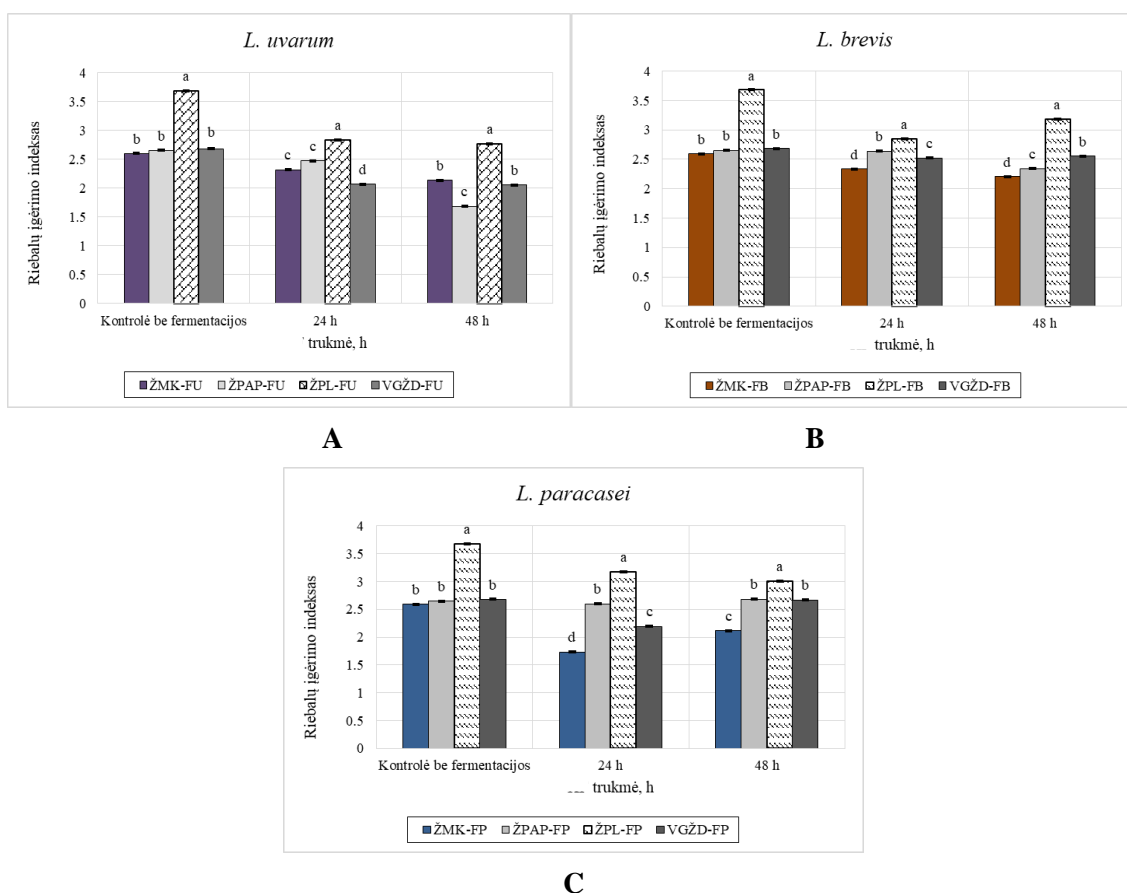


**21 pav.** Fermentuotų (24 h ir 48 h) skirtingomis PRB padermėmis (*L. uvarum* – A; *L. brevis* – B ir *L. paracasei* – C, žirnių perdirbimo produktų vandens įgėrimo indekso pokyčiai

Nustatyta, kad 24 h fermentuoti žirnių perdirbimo produktai, nepriklausomai nuo naudotos PRB padermės, pasižymėjo vidutiniškai 43,5 % mažesniu vandens įgėrimu nei kontroliniai mėginiai. Didžiausias vandens įgėrimo pokytis po 24 h fermentacijos fiksuotas ŽPL ir ŽPAP mėginiuose (38 % ir 59 %), tuo tarpu mažesni šio parametro verčių pokyčiai nustatyti, analizuojant ŽMK ir VGŽD mėginis (28,6 % ir 26,5 %). Po 48 h fermentacijos stebimas visuose tirtuose žirnių perdirbimo produktuose vandens įgėrimo indekso padidėjimas (vidutiniškai 5,4 %).

Lyginant tarpusavyje naudotas PRB padermės įtaką žirnių produktų fermentacijai, didžiausias vandens absorbcijos pokytis (vidutiniškai 1,35 ir 1,38 kartų) stebimas žaliavas fermentuojant 24 h su *L. uvarum* (žr. 21 pav. A) ir *L. brevis* (žr. 21 pav. B). Mažesnis vandens įgėrimo pokytis (vidutiniškai 1,23 karto, palyginti su kontrole), nustatytas žaliavas fermentuojant su *L. paracasei* (žr. 21 pav. C).

**Riebalų įgėrimo indeksas** fermentuotuose 24 h ir 48 h žirnių perdirbimo produktuose tyrimų rezultatai pateikti 22 pav. A, B ir C.



**22 pav.** Fermentuotų (24 h ir 48 h) skirtingomis PRB padermėmis (*L. uvarum* – A; *L. brevis* – B ir *L. paracasei* – C), žirnių perdirbimo produktų riebalų įgėrimo indekso pokyčiai

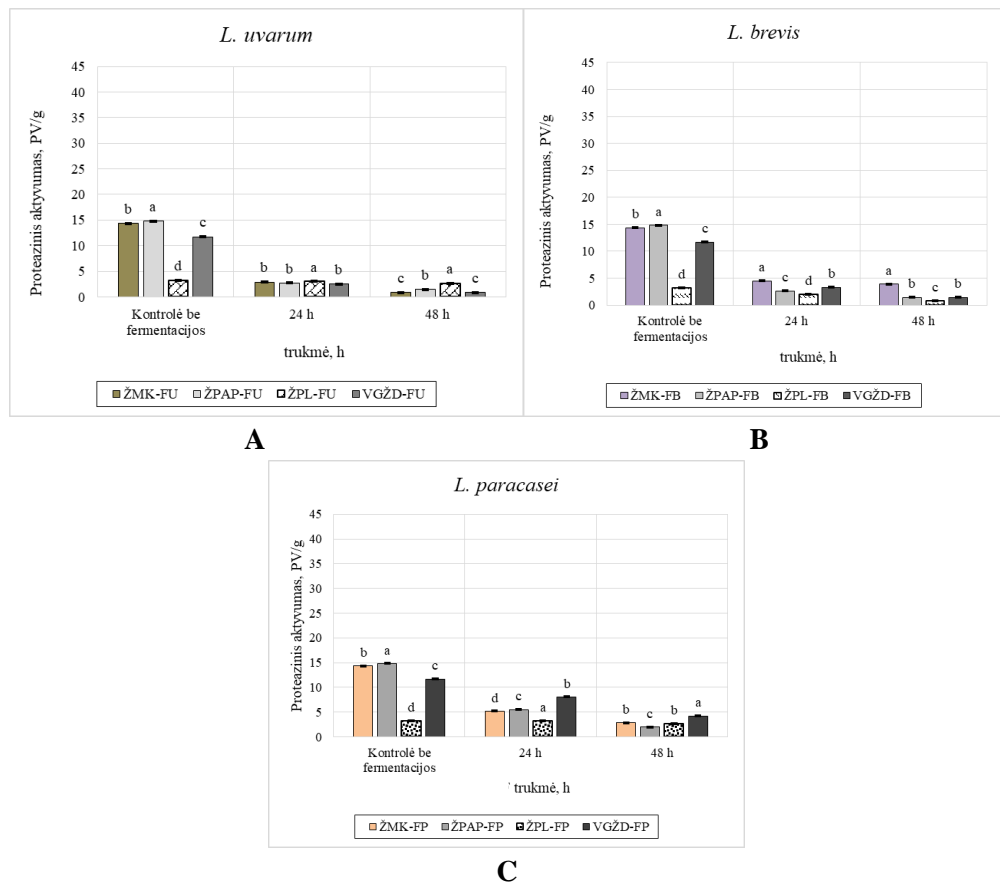
Iš pateiktų duomenų matyti, jog PRB fermentacija turėjo neigiamos įtakos tiriamų mėginių riebalų absorbcijai. Lyginant tirtus žirnių perdirbimo produktus pagal šio parametro vertes, didžiausias sumažėjimas (vidutiniškai 19,8 %) nustatytas ŽPL mėginių po 24 h fermentacijos; po to sekė fermentuoti ŽMK ir VGŽD mėginiai, kurių riebalų įgėrimo indekso vertės po apdorojimo sumažėjo vidutiniškai 19,2 % ir 16 %, atitinkamai. Mažiausias riebalų įgėrimo pokytis (sumažėjimas) nustatytas ŽPAP mėginių.

Tiriant naudotos fermentacijai PRB padermės įtaką fermentuotų produktų riebalų įgėrimui nustatyta, kad didžiausias šio parametro verčių sumažėjimas (vidutiniškai 21,5 %), lyginant su kontrole, stebimas fermentuojant žirnių perdirbimo produktus su *L. uvarum* (žr. 22 pav. A), o fermentuojant su *L. paracasei* (žr. 22 pav. C) ir *L. brevis* (žr. 22 pav. B), fermentuotų mėginių riebalų įgėrimo indekso vertė sumažėjo, lyginant su kontrole, vidutiniškai 12 %.

### 3.3.4. Proteazinio aktyvumo, proteazių inhibitorių aktyvumo bei virškinamumo pokyčiai

Šiame skyriuje pateikti fermentacijos įtakos žirnių perdirbimo produktų baltymų pasisavinamumui, vertintam pagal proteazių ir jų inhibitorių aktyvumą, ir *in vitro* virškinamumą, tyrimų rezultatai.

**Proteazinio aktyvumo** pokyčiai PRB fermentuotų (24 h ir 48 h) žirnių perdirbimo produktuose pateikti 23 pav. A,B ir C.

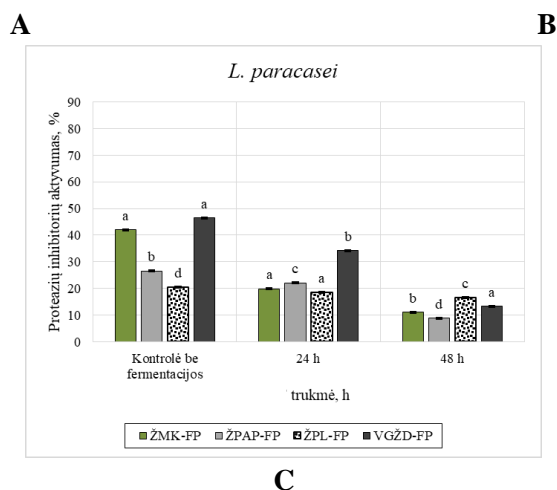
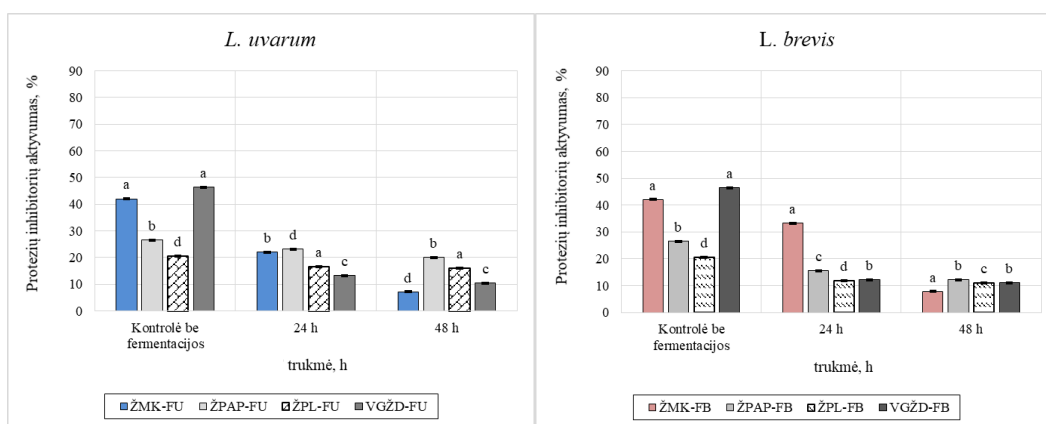


**23 pav.** Proteazinio aktyvumo pokyčiai fermentuotuose (24 h ir 48 h) žirnių perdirbimo produktuose, naudojant įvairias PRB padermes: *L. uvarum* (A); *L. brevis* (B) ir *L. paracasei* (C)

Didžiausias proteazinio aktyvumo verčių sumažėjimas po 48 h fermentacijos, lyginant su kontrole, nustatytas ŽPAP mėginiuose (89,2 %), toliau ŽMK bei VGŽD mėginiuose, kuriuose proteazių aktyvumas pakito mažiau (82,4 % ir 81,8 %, atitinkamai), mažiausias šio parametro verčių pokytis nustatytas analizuojant ŽPL mėginius (39,4 %).

Lyginant tarpusavyje žirnių perdirbimo produktus, fermentuotus skirtingomis PRB padermėmis, matoma jog fermentuojant su *L. uvarum* (žr. 23 pav. A) šio rodiklio pokytis buvo didžiausias ir sudarė vidutiniškai 87,3 %. Taip pat, reikšmingas proteazinio aktyvumo sumažėjimas (82,8 %) nustatytas, naudojant mėginių fermentacijai *L. brevis* (žr. 23 pav. B). Mažiausias proteazinio aktyvumo pokytis fiksuotas fermentuojant mėginius su *L. paracasei* (žr. 23 pav. C), šiuo atveju proteazinio aktyvumo pokytis, lyginant su kontrole, sudarė vidutiniškai 73,8 %.

**Proteazių inhibitorių aktyvumo** pokyčiai fermentuotų (24 h ir 48 h) žirnių perdirbimo produktuose pateikti 24 pav. A, B ir C.

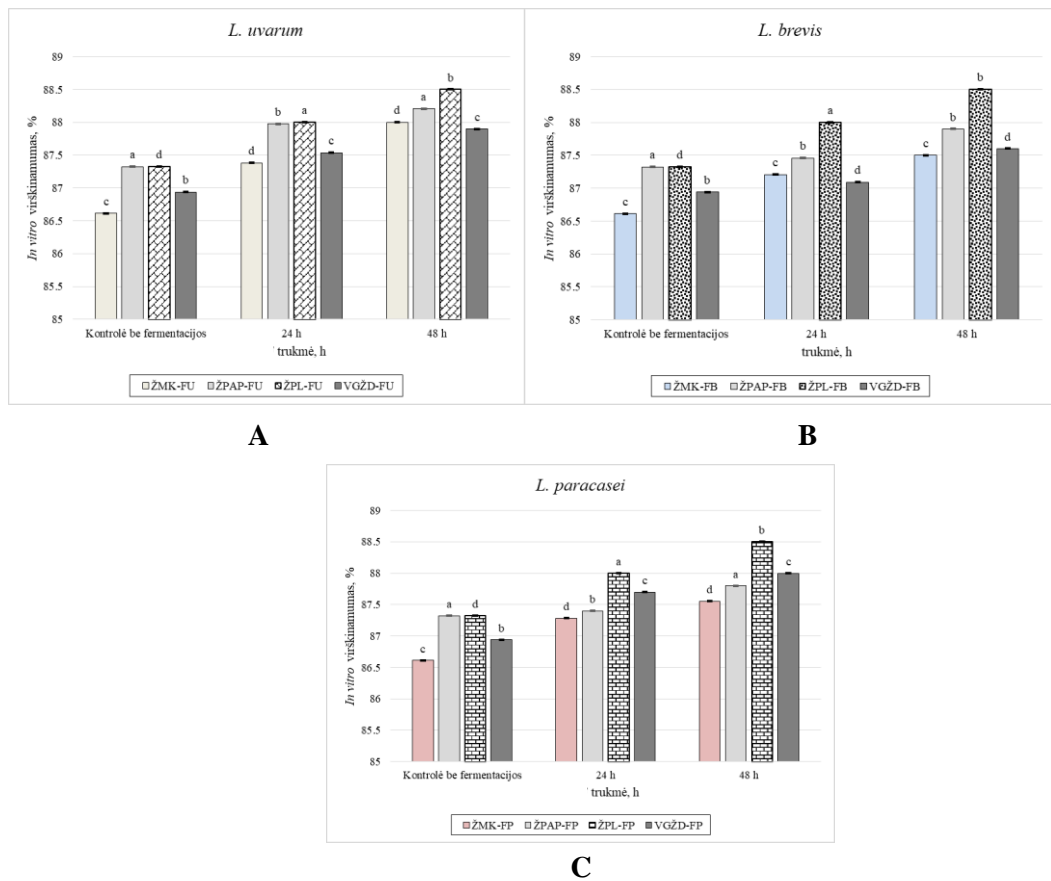


**24 pav.** Proteazių inhibitorių pokyčiai fermentuotuose (24 h ir 48 h) žirnių perdirbimo produktuose, naudojant įvairias PRB padermes: *L. uvarum* (A); *L. brevis* (B); *L. paracasei* (C)

Fermentuotuose žirnių perdirbimo produktuose visais tyrimų atvejais buvo stebimas proteazių aktyvumų sumažėjimas, kuris po 24 h valandų bioapdorojimo sudarė vidutiniškai 46,9 %, o po 48 h – 8,3 %. Lyginant su kontrole, proteazių inhibitorių aktyvumas daugiausiai sumažėjo ŽMK bei VGŽD mėginiuose (80,3 bei 74,9 % atitinkamai). Tuo tarpu žirnių antrinių produktų tokių kaip ŽPAP ir ŽPL proteazių inhibitorių aktyvumas sumažėjo 48,4 % ir 30,6 % atitinkamai.

Fermentuoti skirtingomis PRB padermėmis mėginiai buvo palyginti tarpusavyje pagal proteazių aktyvumus. Iš gautų rezultatų matyti jog fermentuojant ŽPP su *L. uvarum* (žr. 24 pav. A) šio parametro vertės pakito mažiausiai (vidutiniškai 60,4 %). Fermentuojant žirnių perdirbimo produktus su *L. paracasei* (žr. 24 pav. C) ir *L. brevis* (žr. 24 pav. B), fiksuoti didesni proteazių aktyvumo pokyčiai (vidutiniškai 64,7 % ir 68,9 %, atitinkamai).

**In vitro virškinamumo** tyrimo rezultatai, gauti analizuojant skirtingomis PRB padermėmis fermentuotus žirnių perdirbimo produktus, pateikti 25 pav. A, B ir C.



**25 pav.** *In vitro* virškinamumo pokyčiai fermentuotuose (24 h ir 48 h) žirnių perdirbimo produktuose, naudojant įvairias PRB padermes: *L. uvarum* (A); *L. brevis* (B) ir *L. paracasei* (C).

Iš pateiktų rezultatų matoma, jog KF turėjo teigiamą įtaką žirnių perdirbimo produktų *in vitro* virškinamumui: po 24 h fermentacijos šio parametro vertės padidėjo tirtuose mėginiuose, lyginant su kontrole, vidutiniškai 0,9 %, o po 48 h – 1,2 %.

Lyginant tarpusavyje fermentuotus (48 h) žirnių perdirbimo produktus pagal *in vitro* virškinamumo pokyčius, didžiausiu šio parametro verčių padidėjimu, lyginant su kontrole, išsiskyrė ŽMK bei ŽPL mėginiai (1,3 % bei 1,4 %, atitinkamai). Tuo tarpu mažiausiai pakito ŽPAP mėginio virškinamumas (0,8 %). Fermentuoti VGŽD mėginiai, kurių baltymų *in vitro* virškinamumo padidėjimas sudarė 1,1 % užėmė tarpinę padėtį.

Vertinant fermentacijai naudotas PRB padermės įtaką *in vitro* virškinamumo rodiklio pokyčiui, nustatyta, kad labiausiai išsiskyrė *L. uvarum* (žr. 25 pav. A) ir *L. paracasei* (žr. 25 pav. C) fermentuoti mėginiai. Fermentuojant su šiomis PRB *in vitro* virškinamumas padidėjo vidutiniškai 1,3 % ir 1,2 %, atitinkamai. Naudojant žirnių perdirbimo produktų fermentacijai *L. brevis* (žr. 25 pav. B), šio parametro vertės padidėjo vidutiniškai 1,0 %.

**Apibendrinimas.** ŽPP apdorojimui pritaikius fermentaciją, nustatytas baltyminių medžiagų sumažėjimas, kuris yra apie 3 kartus didesnis nei pateiktas kitų autorių darbuose, pvz., *L. plantarum* fermentuojant pupas [113]. Tokius skirtumus, matomai, galima paaiškinti taikytomis skirtingomis fermentacijos sąlygomis ir naudotų PRB proteolinių aktyvumų savitumais.

Fermentacija taip pat turėjo neigiamos įtakos žirnių perdirbimo produktų funkcinėms savybėms: didesniu laipsniu keitėsi fermentuotų žirnių perdirbimo produktų vandens absorbcijos pajėgumas nei savybė įgerti riebalus. Analogiška fermentacijos įtaka vandens bei riebalų įgėrimo mažinimui

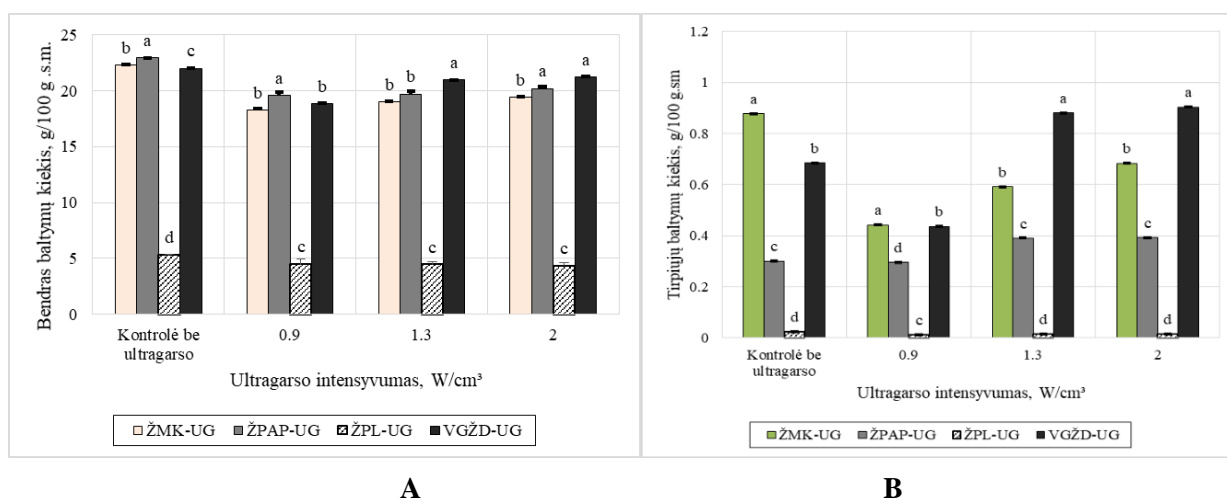
aprašyta ir literatūroje, siejant tokius rezultatus su pH sumažėjimu, o taip pat fermentacijos terpės, pvz., angliavandenių, sudėties pokyčiais. Pagal Kaleda ir kt. po fermentacijos su starterinių kultūrų mišinių žirnių baltymų riebalų įgėrimo indeksas sumažėjo 12,5 % [107].

Pažymėtina, kad fermentacijos proceso teigiama įtaka išryškėjo, nepriklausomai nuo PRB padermės, baltymų pasisavinamumui, sumažinant tripsino inhibitorių aktyvumą (vidutiniškai 50,4 %) ir proteazių aktyvumą (vidutiniškai 68,2 %) ir padidinant baltymų *in vitro* virškinamumą (1,2 %). Gautos eksperimento išvados sutampa su kitų tyrėjų rezultatais. Pagal Baroojeni ir kt. fermentuojant žirnių miltus, sumažėjo tripsino inhibitorių aktyvumas (65,7 %), o taip pat ir proteazių aktyvumas [121]. Kodo ir kt. tyrimuose pupų *L. plantarum* fermentacija leido 1,8 % padidinti *in vitro* virškinamumą [113].

### 3.4. Ultragarinio apdorojimo įtaka žirnių perdirbimo produktų kokybei

#### 3.4.1. Baltyminių medžiagų pokyčiai

**Bendrojo baltymų kiekio ir tirpiųjų baltymų kiekio** tyrimai atlikti žirnių perdirbimo produktuose, apdorotuose ultragarsu (850 kHz), naudojant skirtingus intensyvumus (0,9; 1,3 ir 2,0 W/cm<sup>2</sup>), tyrimų rezultatai pateikti 26 pav. A ir B.



**26 pav.** A, B. Bendro baltymų kiekio (A) ir tirpiųjų baltymų kiekio (B) žirnių perdirbimo produktuose, taikant skirtingo intensyvumo ultragarinį apdorojimą (0,9, 1,3 ir 2,0 W/cm<sup>3</sup>).

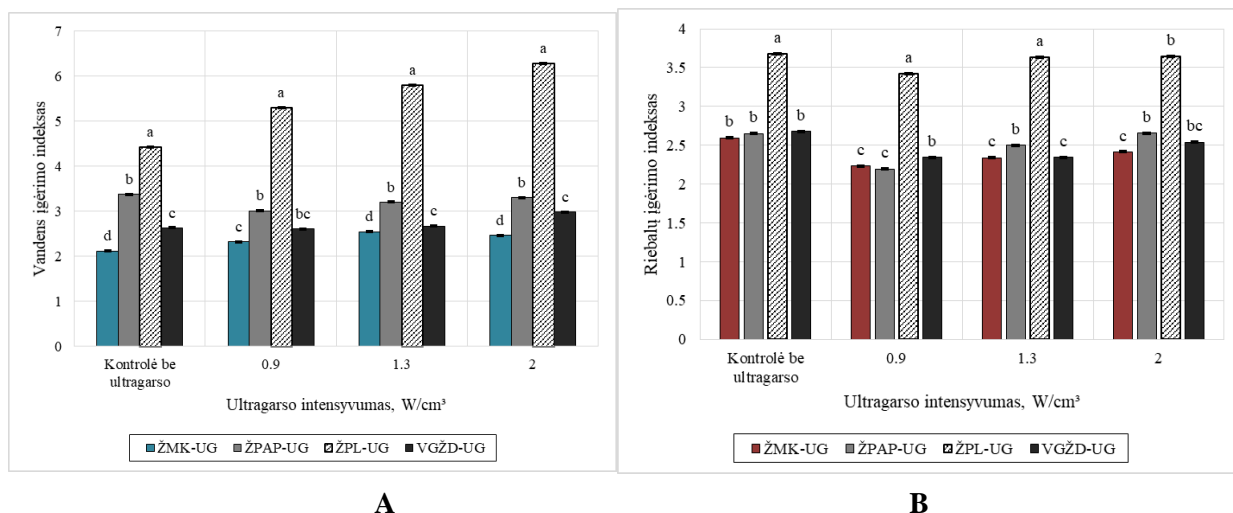
Iš pateiktų rezultatų (žr. 26 pav. A) matoma, jog apdorojant žirnių perdirbimo produktus ultragarsu, bendras baltymų kiekis, lyginant su kontrole, sumažėjo vidutiniškai 26 %.

Bendro baltymų kiekio pokyčiai priklausė nuo naudoto ultragarinio apdorojimo intensyvumo: didinant intensyvumą, stebimi, lyginant su kontrole, mažesni bendro baltymo kiekio pokyčiai (15,5 % esant 0,9 W/cm<sup>3</sup>, 11,3 % esant 1,3 W/cm<sup>3</sup> ir 9,9 % esant 2,0 W/cm<sup>3</sup>).

Tirpiųjų baltymų kiekio tyrimų rezultatai (žr. 26 pav. B) rodo, kad šio parametro pokyčiams įtakos turi intensyvumas: apdorojant žirnių perdirbimo produktus 0,9 W/cm<sup>3</sup> intensyvumu fiksuotas tirpiųjų baltymų kiekio sumažėjimas sudaro 52 %, taikant 1,3 W/cm<sup>3</sup> intensyvumą tirpiųjų baltymų kiekis tirtuose mėginiuose nesiskyrė nuo kontrolės; tuo tarpu naudojant maksimalų intensyvumą (2 W/cm<sup>3</sup>), nustatytas tirpiųjų baltymų kiekio padidėjimas, kuris sudarė 4,1 %.

### 3.4.2. Funkcinių savybių pokytis žirnių perdirbo produktuose po ultragarsinio apdorojimo

Vandens įgėrimo ir riebalų įgėrimo indeksai tirti žirnių perdirbimo produktų, apdorotų skirtingo intensyvumo (0,9, 1,3 ir 2,0 W/cm<sup>3</sup>) ultragarsu (žr. 27 pav. A ir B).



27 pav. A,B. Žirnių perdirbimo produktų, apdorotų skirtingo intensyvumo (0,9, 1,3 ir 2,0 W/cm<sup>3</sup>) ultragarsu, vandens įgėrimo indekso (A) ir riebalų įgėrimo indekso (B) pokyčiai

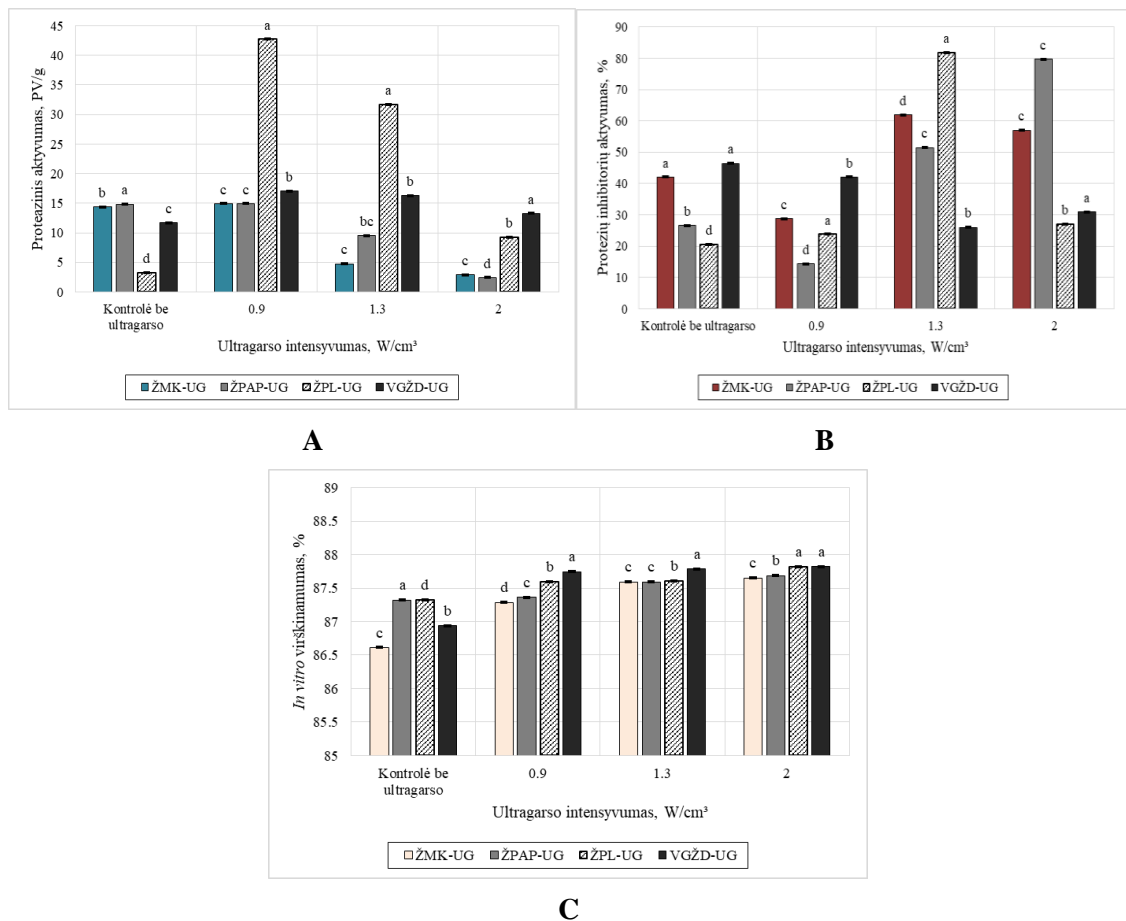
Iš pateiktų rezultatų (žr. 27 pav. A) matoma, jog daugumoje atvejų ultragarsinis apdorojimas turėjo teigiamą poveikį tirtų mėginių vandens absorbcijai. Didžiausias teigiamas poveikis nustatytas apdorotiems ultragarsu ŽPL mėginiams (31,8 %), tuo tarpu ŽMK ir VGŽD mėginių (po apdorojimo) vandens įgėrimo indekso rodiklis padidėjo 14,2 % ir 7,7 %, atitinkamai. ŽPAP mėginiuose nustatytas vandens įgėrimo indekso sumažėjimas, kuris sudarė vidutiškai 5,8 %.

Vertinant skirtingo ultragarsu intensyvumo įtaką tirtų mėginių vandens absorbcijai, nustatyta, kad didinant intensyvumą fiksuojamas mėginių vandens įgėties didėjimas. Naudojant apdorojimui mažiausio intensyvumo ultragarsą (0,9 W/cm<sup>3</sup>), tirtų mėginių vandens įgėrimas padidėjo vidutiniškai 6,5 %, tuo tarpu naudojant didesnius intensyvumus (1,3 W/cm<sup>3</sup> ir 2 W/cm<sup>3</sup>), buvo fiksuotas reikšmingai didesnis vandens absorbcijos padidėjimas (14,5 % ir 21,8 %, atitinkamai).

Iš riebalų įgėties tyrimų rezultatų (žr. 27 pav. B) nustatyta, kad apdorojimas ultragarsu mažina mėginių savybę įgerti riebalus. Ultragarsinio apdorojimo intensyvumas neturėjo reikšmingos įtakos šio parametro verčių pokyčiams.

### 3.4.3. Proteazinio aktyvumo, proteazių inhibitorių aktyvumo ir *in vitro* virškinamumo

Proteazinio aktyvumo, proteazių inhibitorių aktyvumo bei *in vitro* virškinamumo pokyčiai, nustatyti žirnių perdirbimo produktus apdorojant skirtingo intensyvumo ultragarsu pateikti 28 pav. A, B, ir C.



**28 pav.** A, B, C. Proteazių aktyvumo (A), proteazių inhibitorių aktyvumo (B) bei *in vitro* virškinamumo (C) pokyčiai ultragarsu (1,3 W/cm<sup>3</sup> ir 2 W/cm<sup>3</sup>) apdorotų žirnių perdirbimo produktų

Iš proteazių aktyvumo tyrimų rezultatų (žr. 28 pav. A) matoma, kad ultragarsinio apdorojimo intensyvumas turi reikšmingą įtaką tirtu parametro pokyčiams. Naudojant mažesnius ultragarsu intensyvumus (0,9 ir 1,3 W/cm<sup>3</sup>), stebimas proteazinio aktyvumo padidėjimas, atitinkamai 1,7 bei 1,4 kartus. Tuo tarpu prie didžiausio intensyvumo (2 W/cm<sup>3</sup>), stebimas proteazinio aktyvumo sumažėjimas (vidutiniškai 1,5 karto).

Be to, skirtingi proteazių aktyvumo pokyčiai (žr. 28 pav. A) fiksuoti priklausomai nuo žirnių perdirbimo produktų rūšies: ultragarsu apdorotų ŽPL ir VGŽD mėginių proteazinis aktyvumas (PV/g) padidėjo vidutiniškai 8,5 ir 1,3 kartus, tuo tarpu tokių mėginių kaip ŽMK ir ŽPAP proteazinis aktyvumas sumažėjo (vidutiniškai 2,0, 1,6 karto, atitinkamai).

Iš gautų proteazių inhibitorių aktyvumo tyrimų rezultatų (žr. 28 pav. B), matoma, kad ultragarsas neturėjo vienareikšmio poveikio šio parametro vertėms: ultragarsu apdorotuose VGŽD mėginiuose inhibitorių aktyvumas, lyginant su kontrole, sumažėjo 1,4 karto; tuo tarpu ultragarsu paveiktų ŽMK, ŽPAP bei ŽPL mėginių stebimas proteazių inhibitorių aktyvumo padidėjimas (vidutiniškai 1,6 karto).

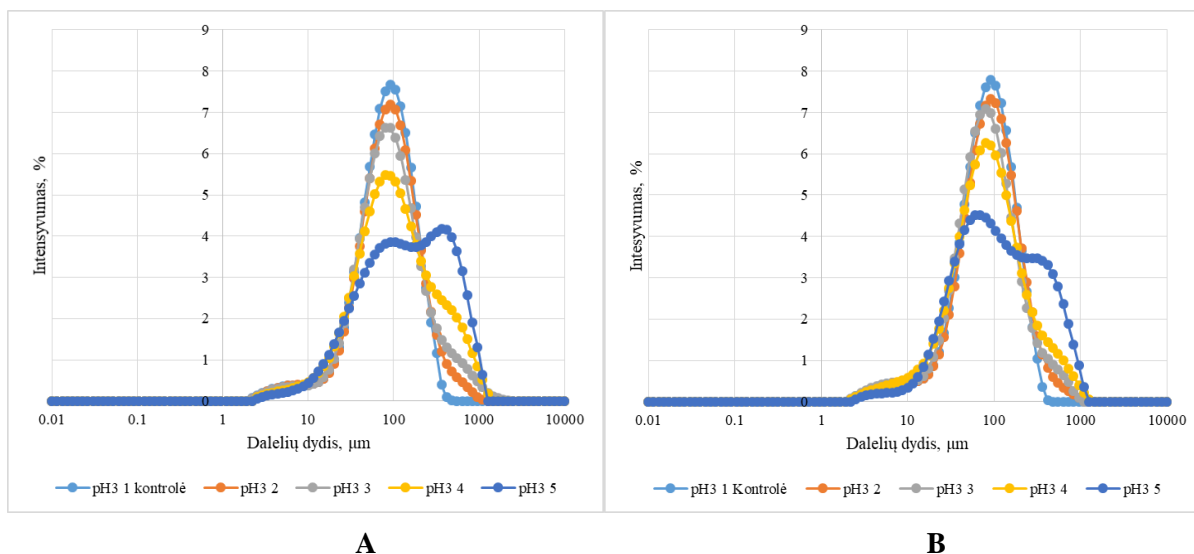
Įvertinus ultragarsinio intensyvumo poveikį proteazių inhibitoriams, nustatyta, jog mėginius apdorojant mažiausiu intensyvumu (0,9 W/cm<sup>3</sup>), nustatytas didžiausias inhibitorių sumažėjimas (vidutiniškai 1,2 karto). Didinant ultragarsinio apdorojimo intensyvumą (1,3 bei 2 W/cm<sup>3</sup>), stebimas proteazių inhibitorių aktyvumo didėjimas (vidutiniškai 1,6 bei 1,4 karto, atitinkamai).

Iš *in vitro* baltymų virškinamumo tyrimo rezultatų (žr. 28 pav. C) matyti, jog po ultragarsinio žirnių perdirbimo produktų apdorojimo baltymų virškinamumas pagerėjo vidutiniškai 0,6 %. Lyginant

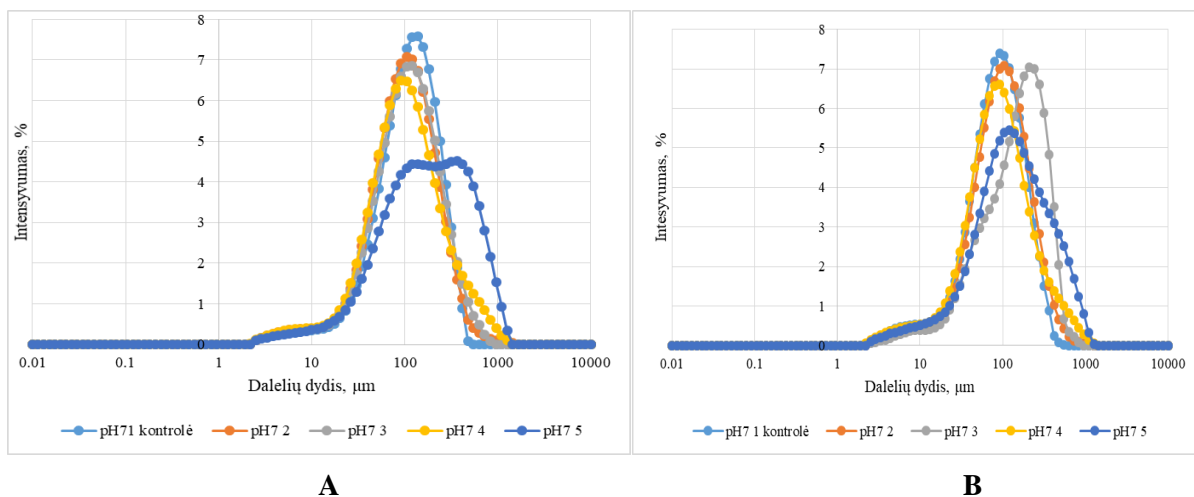
tarpusavyje tiriamus mėginius su kontrole, ultragarsu apdorotų ŽMK bei VGŽD baltymų virškinamumas padidėjo vidutiniškai 1,0 %, o ŽPAP bei ŽPL mėginių – 0,2 % ir 0,5 %, atitinkamai. Ultragarinio apdorojimo intensyvumas neturėjo reikšmingos įtakos baltymų *in vitro* virškinamumui.

### 3.4.4. Ultragarinio apdorojimo įtaką dalelių dydžio pasiskirstymui žirnių baltymų izoliato ir avižinių išspaudų vandeninėse suspensijose

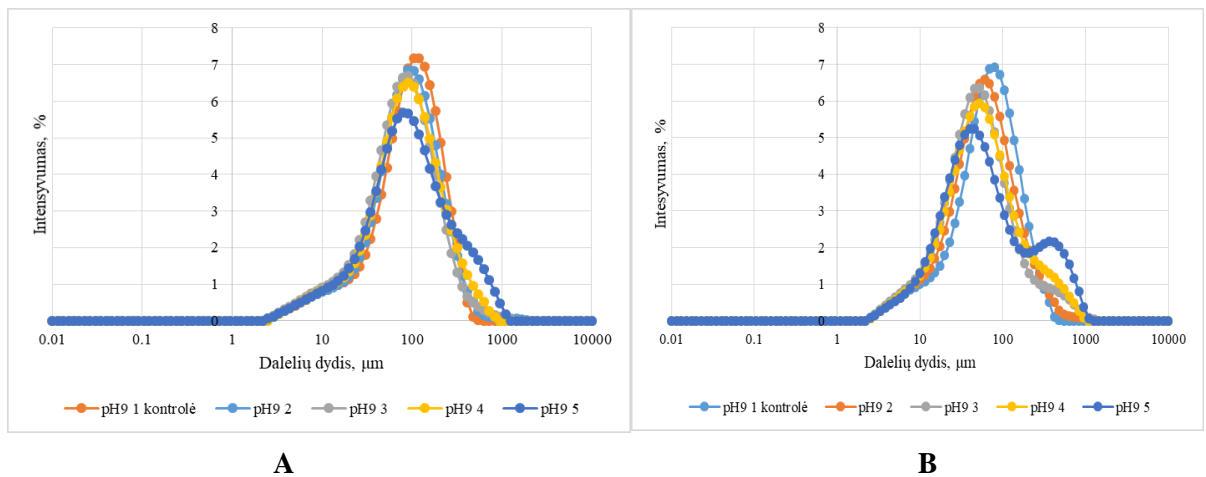
Dalelių dydžio pasiskirstymas (DDP) vandeninėse žirnių izoliatų ir avižų išspaudų suspensijose, apdorotose ultragarsu (850 kHz, intensyvumas – 2 W/ cm<sup>3</sup>, trukmė – 30 min.) esant įvairiems terpės pH (pH 3; pH 7 ir pH 9) pateiktas 29 – 31 pav.).



29 pav. Dalelių dydžio pasiskirstymas suspensijose esant pH 3 prieš apdorojimą ultragarsu (A) ir po ultragarinio apdorojimo (B)



30 pav. Dalelių dydžio pasiskirstymas suspensijose esant pH 7 prieš apdorojimą ultragarsu (A) ir po ultragarinio apdorojimo (B)



**31 pav.** Dalelių dydžio pasiskirstymas suspensijose esant pH 9 prieš apdorojimą ultragarsu (A) ir po ultragarsinio apdorojimo (B)

Homogenizuotų suspensijų (be ultragarsinio apdorojimo) kreivės (pH 3 ir pH 7) rodo, kad jose vyraujantis dalelių diapazonas nuo 50 iki 700  $\mu\text{m}$ , o nedidelės smailės aptinkamos intervale nuo 0,5 iki 1,1  $\mu\text{m}$ . Labiausiai išsiskyrė pagal DDP diapazoną mėginiai, kurių sudėtyje buvo didžiausias avižų išspaudų kiekis. Didinant terpės pH iki pH 7 tradicinės homogenizacijos atveju, buvo stebima DDP diapazono mažėjimas. Tuo tarpu reikšmingas avižinių išspaudų dispergavimo laipsnio padidėjimas aptiktas tik naudojant pH 9.

Mėginio su didžiausiu avižų išspaudų kiekiu ultragarsinis apdorojimas 850 kHz dažniu sukėlė DDP poslinkį link mažesnio skersmens dalelių ir tuo pačiu sumažino DDP vertę. DDP diapazono sumažėjimas priklauso nuo pH vertės. Didžiausias avižinių išspaudų dalelių dydžio sumažėjimas pastebėtas esant pH 7 ir pH 9 (nuo 10  $\mu\text{m}$  iki 100  $\mu\text{m}$  ir nuo 5  $\mu\text{m}$  iki 50  $\mu\text{m}$ , atitinkamai). Tuo tarpu reikšmingi baltymų pokyčiai ultragarsinio apdorojimo įtakoje stebimi prie pH 9. Manoma, kad ultragarsas skaido baltymus į mažesnius subvienetus, o taip pat palengvina skaidulinių dalelių dispergavimo procesą, sąlygojant vienalytiškų suspensijų susidarymą.

**Apibendrinimas.** Atliktų tyrimų metu nustatyta, jog bendro baltymų kiekio pokyčiai priklausė nuo naudoto ultragarsinio apdorojimo intensyvumo: didinant intensyvumą, stebimi, lyginant su kontrole, mažesni bendro baltymo kiekio pokyčiai. Tirpiųjų baltymų kiekio tyrimų rezultatai rodo, kad šio parametro pokyčiams įtakos turi ultragarso intensyvumas. Tiriant ultragarsinio apdorojimo įtaką ŽPP funkcinėms savybėms, buvo stebimas teigiamas poveikis apdorotų mėginių vandens įgėrimui. Didžiausias teigiamas poveikis nustatytas ultragarsu apdorotų ŽPL mėginių (31,8 %). Tuo tarpu ŽMK ir VGŽD žaliavose vandens įgėrimo indekso rodiklis padidėjo mažiau (14,2 % ir 7,7 %, atitinkamai). ŽPAP apdorotų ultragarsu mėginių nustatytas vandens įgėrimo indekso sumažėjimas, kuris vidutiškai sudarė 5,8 %.

Ultragarsinio apdorojimo trukmės įtaka tirta apdorotų (lot. *L. mutabilis*) ir (lot. *L. angustifolius*) sėklų vandens įgėrimui. Nustatyta, kad paveikus lubinų sėklas ultragarsu 10 minučių (lot. *L. mutabilis*) ir (lot. *L. angustifolius*) sėklose vandens absorbcija pagerėjo vidutiniškai 64 % ir 42 %, atitinkamai. Prailginus ultragarsinio apdorojimo trukmę iki 15 minučių, apdorotų (lot. *L. mutabilis*) ir (lot. *L. angustifolius*) lubinų sėklų vandens įgėrimas pagerėjo 68 % ir 30 %, atitinkamai [122, 123].

Kitų tyrėjų darbai rodo, jog *Azufrado*, *Mayacoba* ir *Garbancillo* pupų veislių kontrolinių mėginių vandens absorbcijos kreivės po 30 minučių ultragarsinio apdorojimo buvo sigmoidinės formos, o

tiriant *Flor de Mayo* pupų genotipą gauta įprasta hiperbolinė kreivė. Sigmoidinė forma kinetikoje reiškia, kad vandens absorbcijos kreivė turi atsilikimo fazę, po kurios seka fazė su lėtesniu absorbcijos greičiu ir tiesine priklausomybe tarp vandens absorbcijos ir laiko. Ši kinetika pastebėta tiriant įvairių rūšių pupelių sėklas [124].

Įvertinus riebalų absorbciją, nustatyta jog apdorojimas ultragarsu mažina riebalų įgėrimą žirnių perdirbimo produktuose. Šiame tyrime gautos tendencijos sutampa su aprašytais literatūroje, jog pritaikius ultragarsinį apdorojimą pagerėjo sojos ir ryžių baltymų izoliatų bei žirnių baltymų riebalų absorbcija [125, 126].

Iš atlikto tripsino inhibitorių tyrimo rezultatų matoma, jog efektyviausias sumažėjimas nustatytas taikant mažo intensyvumo ( $0,9 \text{ W/cm}^3$ ) UG apdorojimą. Pagal literatūrą 55 %, tripsino inhibitorių sumažėjimas sojų pupelėse pasiektas, panaudojus žemo dažnio ultragarsinį apdorojimą (30 kHz, 20 min) [35].

Šio eksperimento rezultatai sutapo su paskelbtais O'Sullivan'o ir kt. kurie nustatė reikšmingą ultragarso poveikio įtaką gyvūninės ir augalinės kilmės baltymų dalelių dydžio sumažėjimui. Tai buvo paaiškinta nekovalentinių sąveikų, tokių kaip hidrofobinės ir elektrostatinės, suardymu, palaikančių tirpaluose baltymų sąveikas ir agregaciją [91]. Li ir kt. taip pat stebėjo reikšmingą dalelių dydžio sumažėjimą, apdorojant ultragarsu vištienos krūtinėlės mėsos baltymus [122]. Pasak autorių ultragarsinis poveikis gali būti siejamas su šlyties efektais, atsirandančiais dėl akustinės kavitacijos. Šiame tyrime buvo pastebėta priešinga tendencija, kai ultragarsas buvo taikomas esant terpės pH9. Ultragrasinis apdorojimas sukėlė perėjimą prie bimodalinio dydžio pasiskirstymo, kai pikas buvo ryškus diapazone nuo 50 iki 1000  $\mu\text{m}$ , tačiau vis tiek buvo matoma mažesnė smailė esant 100  $\mu\text{m}$ . Taigi populiacija, kurios dalelių dydis didesnis, tapo akivaizdi dėl galimos agregacijos baltymų ir skaidulinių medžiagų struktūrose.

Pagal Arzeniją ir kt. ultragarsinio apdorojimo metu taip pat galima terminė baltymų agregacija ir dalelių dydžio didėjimas. Po ultragrasinio apdorojimo paminėtame šaltinyje buvo pasiekta 49 °C temperatūra, kuri buvo ženkliai aukštesnė nei palaikyta šio tyrimo metu (~30 °C) [123]. Gauti tyrimų rezultatai rodo apie galimą ultragarsinio apdorojimo įtaką funkcinėms baltyminių medžiagų savybėms, kurių tyrimų rezultatai pateikti (žr. 3.4.2) skyriuje.

## IŠVADOS

1. Išbandžius tvariam žirnių perdirbimui žirnių malinio frakcionavimą ir antrinių produktų išgavimą sausuoju separavimu, nustatyta: taikant sausąjį frakcionavimą, gautuose antriniuose produktuose (ŽPAP) atskyrus miltus (ŽMK), lieka pakankamai didelis bendras baltymų kiekis (22,9 g/100 g s.m.), tuo tarpu luobeliniuose produktuose (ŽPL) – iki 5,3 g/100 g s.m. ŽPL produktuose nustatyta daugiau mažesnės molekulinės masės albuminų frakcijų nei ŽMK. Žirnių perdirbimo produktai (ŽPAP ir ŽPL), kuriuose vyrauja stambesnės dalelės (64,0 % ir 58,7 %, atitinkamai) pasižymėjo didesniu vandens ir riebalų įgėrimo indeksu. Didžiausias tripsino inhibitorių kiekis ir mažesnis *in vitro* virškinamumas aptiktas ŽMK produktuose.
2. Žirnių perdirbimas į VGŽD galėtų būti technologinė alternatyva, leidžianti organizuoti žirnių perdirbimą tvariu principu ir pagaminti 22,0 g/100 g s.m. baltymų turintį produktą. Šių produktų albuminų kokybinė sudėtis buvo artima ŽMK ir šios abi produktų rūšys išsiskyrė didesniu tirpiųjų baltymų kiekiu.
3. Tiriant žematemperatūrinio ekstruzijos proceso įtaką žirnių perdirbimo produktų kokybei, nustatyta: baltyminių medžiagų kiekio sumažėjimas vidutiniškai sudaro 3,1 %. Ekstruzijos proceso įtaka ŽPP funkcinėms savybėms priklauso nuo ŽPP rūšies: analizuojant produktus (ŽPL–E3 ir VGŽD–E4–E5) nustatytas 1,2 kartais didesnis vandens įgėrimas nei kontrolinio mėginio. Apdorojimas ŽPP žematemperatūriniame režime nesumažino žirnių perdirbimo produktuose esančių proteazių inhibitorių aktyvumo.
4. Tiriant fermentuotų įvairiomis pieno rūgšties bakterijomis (lot. *L. uvarum*, *L. brevis* ir *L. paracasei*) žirnių perdirbimo produktų kokybę, nustatyta: fermentuotuose žirnių perdirbimo produktuose nustatytas baltyminių medžiagų sumažėjimas (vidutiniškai 2,7 %). Fermentacija turi neigiamos įtakos ŽPP funkcinėms savybėms: didesniu laipsniu sumažėjo fermentuotų ŽPP vandens absorbcijos pajėgumas nei savybė įgerti riebalus. Fermentacijos teigiama įtaka išryškėjo (nepriklausomai nuo PRB padermės) baltymų pasisavinimui: sumažinant tripsino inhibitorių aktyvumą (vidutiniškai 50,4 %) ir proteazių aktyvumą (68,2 %), o padidinant baltymų *in vitro* virškinamumą (0,8 %).
5. Vertinant aukšto dažnio ultragasinio apdorojimo įtaką prie skirtingų intensyvumų (0,9 W/cm<sup>3</sup>; 1,3 W/cm<sup>3</sup>; 2 W/cm<sup>3</sup>) ŽPP kokybei, nustatyta: ŽPP apdorojimas ultragarsu padidino vandens įgėrimo indeksą (vidutiniškai 7,8 %). Ultragarso įtaka ŽPP priklausė nuo naudoto intensyvumo: prie mažesnių intensyvumų (0,9 ir 1,3 W/cm<sup>3</sup>) stebimas proteazinio aktyvumo padidėjimas, atitinkamai 1,7 bei 1,4 karto, tuo tarpu prie didžiausio intensyvumo (2 W/cm<sup>3</sup>) fiksuotas proteazinio aktyvumo sumažėjimas (vidutiniškai 1,5 karto). Didžiausias baltyminių medžiagų kiekio pokytis ir tripsino inhibitorių sumažėjimas nustatytas prie mažiausio intensyvumo (0,9 W/cm<sup>3</sup>). Tokiu būdu, atliktas eksperimentas įrodo ŽPP apdorojimo ultragarsu perspektyvumą tiek funkcinių savybių gerinimui, tiek ir baltymų pasisavinamumo gerinimui.

## LITERATŪROS SĄRAŠAS

1. RAWAL Vikas, Navarro. K. Dorian. The Global Economy of Pulses. *London: Association of Chartered Certified Accountants*. 2019 [žiūrėta: 2020-12-05]. Prieiga per: Science Direct. ISBN 978-92-5-109730-4.
2. FAOSTAT of Crops in World. [žiūrėta: 2020-12-05]. Prieiga per internetą: <http://www.fao.org>.
3. STRAKŠAS.A.. Ankštinių Javų Pjūtis Ir Grūdų Popjūtinis Dorojimas. 2014. [žiūrėta: 2020-12-05]. Prieiga per internetą: <https://www.manoukis.lt/mano-ukis-zurnalas/2014/08/ankstiniu-javu-pjutis-ir-grudu-popjutinis-dorojimas/>.
4. BANSAL Prachi, Vikas Rawal, Vaishali Bansal. Pulses of Phaseolus and Vigna Genera. 2019. [žiūrėta: 2020-12-05]. Prieiga per internetą: [www.fao.org/publications](http://www.fao.org/publications). ISBN 978-92-5-109730-4.
5. BOKERN-MURPHY Donal, Stoddard.L Frederic, Watson. A Christine. Legumes in Cropping Systems. *CAB international*, 2017. [žiūrėta: 2020-12-05]. Prieiga per internetą: [www.cabi.org](http://www.cabi.org). ISBN 13:978-1-78639-178-0.
6. RAWAL Vikas, Ruth Charrondiere, Maria Xipsiti, Fernanda Grande. Pulses: Nutritional Benefits and Consumption Patterns. 2019. [žiūrėta: 2020-12-05]. Prieiga per: Science Direct. ISBN 978-92-5-109730-4.
7. TAYEH, N., et al. Genomic Tools in Pea Breeding Programs: Status and Perspectives. *Frontiers in Plant Science*, 2015, vol. 6. pp. 1037. [žiūrėta: 2020-12-05]. Prieiga per: PubMed. ISSN 1664-462X. DOI 10.3389/fpls.2015.01037.
8. MAZUMDAR Saikat Datta, Priyanka Durgalla and Pooran M. Gaur. Utilization of Pulses – Value Addition and Product Development. SAARC Agriculture Centre, 2016. [žiūrėta: 2020-12-05]. Prieiga per: Science Direct] ISBN 978-984-34-1521-9.
9. BOUKID, F., Rosell, C.M. and Castellari, M. Pea Protein Ingredients: A Mainstream Ingredient to (Re)Formulate Innovative Foods and Beverages. 2021, vol. 110, no. 9. pp. 729-742. [žiūrėta: 2020-12-05]. Prieiga per: Science Direct ISSN 0924-2244. DOI 10.1016/j.tifs.2021.02.040.
10. DABHI, M., et al. Dhal Recovery from Enzyme Pretreated Pigeon Pea Cultivar GJP1. *Agricultural Engineering International: CIGR Journal*, 2018, vol. 20, no. 2. pp. 216-225 [žiūrėta: 2020-12-05]. Prieiga per: Research gate. ISSN 1682-1130.
11. RATAN, R. and P.Verma, L. Post-Harvest Management of Pulses. *Indian Institute of Pulses Research Kanpur*, 2007, pp. 1-79. [žiūrėta: 2020-12-05]. Prieiga per: Science Direct. ISBN 0522-248-1164.
12. GEERTS, M., et al. Exergetic Comparison of Three Different Processing Routes for Yellow Pea (*Pisum Sativum*): Functionality as a Driver in Sustainable Process Design. *Journal of Cleaner Production*, May 10, 2018, vol. 183, no. 3. pp. 979-987. [žiūrėta: 2020-12-05]. Prieiga per: Science Direct. ISSN 0959-6526. DOI 10.1016/j.jclepro.2018.02.158.
13. SALDANHA DO CARMO, C., et al. Is Dehulling of Peas and Faba Beans Necessary Prior to Dry Fractionation for the Production of Protein-and Starch-Rich Fractions? Impact on Physical Properties, Chemical Composition, and Techno-Functional Properties, 2020, vol. 278, no. 6. pp. 1-10. [žiūrėta: 2020-12-05]. Prieiga per: Science Direct. ISSN 0260-8774. DOI 10.1016/j.jfoodeng.2020.109937.
14. SCHUTYSER, M.A.I., Pelgrom, P.J.M., Van Der Goot, A.J. and Boom, R.M. Dry Fractionation for Sustainable Production of Functional Legume Protein Concentrates. *Trends in Food Science & Technology*, 2015, vol. 45, no. 2. pp. 327-335. [žiūrėta: 2020-12-05]. Prieiga per: Science Direct ISSN 0924-2244. DOI 10.1016/j.tifs.2015.04.013.

15. BOYE Joyce, Fatemeh Zare, Alison Pletch. Pulse Proteins Processing Character. *Food Research International*, 2010, vol. 2, no. 43. pp. 441-431. [žiūrēta: 2020-12-05]. Prieiga per: Science Direct DOI 10.1016/j.foodres.2009.09.003.
16. NOSWORTHY, M.G., et al. Effect of Processing on the in Vitro and in Vivo Protein Quality of Red and Green Lentils (*Lens Culinaris*). *Food Chemistry*, 2018, vol. 240, no. 5. pp. 588-593. [žiūrēta: 2020-12-05]. Prieiga per: MEDLINE. ISSN 0308-8146. DOI 10.1016/j.foodchem.2017.07.129.
17. ETTOUMI Ladjal, Y. and Chibane, M. Some Physicochemical and Functional Properties of Pea, Chickpea and Lentil Whole Flours. *International Food Research Journal*, 2015, vol. 22, no. 3. pp. 987-996. [žiūrēta: 2020-12-05]. Prieiga per: Science Direct ISSN 2231-7546.
18. TOSH, S.M. and Yada, S. Dietary Fibres in Pulse Seeds and Fractions: Characterization, Functional Attributes, and Applications. *Food Research International*, 2010, vol. 43, no. 2. pp. 450-460 [žiūrēta: 2020-12-05]. Prieiga per: Science Direct. ISSN 0963-9969. DOI 10.1016/j.foodres.2009.09.005.
19. BASAVARAJ Madhusudhan Rudrapatnam N.Tharanathan. Structural Studies of Linear and Branched Fractions of Chickpea and Finger Millet Starches. *Carbohydrate Research*, 1996, vol. 284, no. 1. pp. 101-109. [žiūrēta: 2020-12-10]. Prieiga per: Science Direct. DOI [https://doi.org/10.1016/0008-6215\(95\)00404-1](https://doi.org/10.1016/0008-6215(95)00404-1).
20. RIZKALLA S. W., F. Bellisle and G. Slama. Health Benefits of Low Glycaemic Index Foods, such as Pulses, in Diabetic Patients and Healthy Individuals. *British Journal of Nutrition*, 2002, vol. 88, no. 3. pp. 255-262. [žiūrēta: 2020-12-05]. Prieiga per: Research gate. DOI 10.1079/BJN2002715.
21. JENKINS, D., Wolever, T., Taylor, H., Barker, H., Fielden, H., Baldwin, J.M., Bowling, A.C., Newman, H.C., Jenkins, A.L., and Goff, D.V. Glycemic Index of Foods. A Physiological Basis for Carbohydrate Exchange. *American Journal of Clinical Nutrition*, 1981, vol. 34, no. 3. pp. 362-366. [žiūrēta: 2020-12-05]. Prieiga per: Research gate. DOI 10.1093/ajcn/34.3.362.
22. JENKINS, D.J., Wolever, T.M., Jenkins, A.L., Thorne, M.J., Lee, R., Kalmusky, J., Reichert R and Wong, G.S. The Glycemic Index of Food Tested in Diabetic Patients. A New Basis for Carbohydrate Exchange Favouring the use of Legumes. *Diabetologia*, 1983, vol. 24, no. 4. pp. 257-264. [žiūrēta: 2020-12-05]. Prieiga per: Research gate. DOI 10.1007/BF00282710.
23. SIEVENPIPER, J.L., Kendall, C.W., Esfahani, A., Wong, J.M., Carleton, A.J., Jiang, H.Y., Bazinet, R.P., Vidgen, E., and Jenkins, D.J. Effect of Non-Oil-Seed Pulses on Glycemic Control: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Experimental Trials in People with and without Diabetes. *Diabetologia*, 2009, vol. 52, no. 8. pp. 64-257. [žiūrēta: 2020-12-05]. Prieiga per: Research gate. DOI 10.1007/s00125-009-1395-7.
24. FOSTER-POWELL Kaye, Susanna HA Holt, and Janette C Brand-Miller. Nutrition International Table of Glycemic Index and Glycemic Load Values: 2002. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 2002, vol. 76, no. 1. pp. 5-56. [žiūrēta: 2020-12-05]. Prieiga per: Research gate. DOI 10.1093/ajcn/76.1.5.
25. MARCONE, M.F., Kakuda, Y. and Yada, R.Y. Salt-Soluble Seed Globulins of various Dicotyledonous and Monocotyledonous plants. Isolation/Purification and Characterization. *Food Chemistry*, 1998, vol. 62, no. 1. pp. 27-47. [žiūrēta: 2020-12-05]. Prieiga per: Research gate. ISSN 0308-8146. DOI 10.1016/S0308-8146(97)00158-1.
26. SHEVKANI, K., Kaur, M. and Singh, N. Composition, Pasting, Functional, and Microstructural Properties of Flours from Different Split Dehulled Pulses (Dhals). *Journal of Food Processing and Preservation*, 2021, vol. 1, no. 1. pp. 1-14. [žiūrēta: 2020-12-05]. Prieiga per: Research gate. ISSN 0145-8892. DOI 10.1111/jfpp.15485.
27. PREETHI, R., Moses, J.A. and Anandharamakrishnan, C. Effect of Conductive Hydro-Drying on Physicochemical and Functional Properties of Two Pulse Protein Extracts: Green Gram (*Vigna*

- Radiata) and Black Gram (*Vigna Mungo*). *Food Chemistry*, 2021, vol. 343, no. 6. pp. 128551. [žiūrēta: 2020-12-10]. Prieiga per: MEDLINE. ISSN 0308-8146. DOI 10.1016/j.foodchem.2020.128551.
28. SARWAR GILANI G., Chao Wu Xiao and Kevin A. Cockell. Impact of Antinutritional Factors in Food Proteins on the Digestibility of Protein and the Bioavailability of Amino Acids and on Protein Quality. *British Journal of Nutrition*, 2012, vol. 108, no. 2. pp. 315-332. [žiūrēta: 2020-12-15]. Prieiga per: Research gate. DOI 10.1017/S0007114512002371.
  29. CARGO F.Cara, Anna-Kate Shoveller, Christopher P. F. Marinangeli, and Daniel A Columbus. Methods for Processing Pulses to Optimize Nutritional Functionality and Maximize Amino Acid Availability in Foods and Feeds. *Cereal Foods World*, 2020, vol. 65, no. 6. pp. 1-10. [žiūrēta: 2020-12-15]. Prieiga per: Research gate. ISSN 2576-1056. DOI 10.1094/cfw-65-6-0068.
  30. BARBANA, C. and Boye, J.I. *In vitro* protein Digestibility and Physico-Chemical Properties of Flours and Protein Concentrates from Two Varieties of Lentil (*Lens Culinaris*). *Food & Function*, Jan 01, 2013, vol. 4, no. 2. pp. 310-321. [žiūrēta: 2020-12-15]. Prieiga per: Research gate. ISSN 2042-6496. DOI 10.1039/c2fo30204g.
  31. DE LIMA Cristina Oliveira, Vanessa, Piuvezam, G., Leal Lima Maciel, B. and Heloneida De Araújo Morais, Ana. Trypsin Inhibitors: Promising Candidate Satiogenic Proteins as Complementary Treatment for Obesity and Metabolic Disorders? *Informa UK Limited*, 2019 pp. 1-7, [žiūrēta: 2020-12-15]. Prieiga per: Research gate. ISBN 1475-6366. DOI 10.1080/14756366.2018.1542387.
  32. REHDER, A., et al. Targeted Inactivation of Soybean Proteinase Inhibitors using Zinc. *Food Chemistry*, 2021, vol. 349, no. 6. pp. 29-49. [žiūrēta: 2020-12-15]. Prieiga per: MEDLINE. ISSN 0308-8146. DOI 10.1016/j.foodchem.2021.129049.
  33. LIU, K. Trypsin Inhibitor Assay: Expressing, Calculating, and Standardizing Inhibitor Activity in Absolute Amounts of Trypsin Inhibited Or Trypsin Inhibitors. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 2021, vol. 98, no. 4. pp. 355-373. [žiūrēta: 2020-12-15]. Prieiga per: Wiley. ISSN 0003-021X. DOI 10.1002/aocs.12475.
  34. XIE, Y., Ravet, K. and Pearce, S. Extensive Structural Variation in the Bowman-Birk Inhibitor Family in Common Wheat (*Triticum Aestivum* L.). *BMC Genomics*, 2021, vol. 22, no. 1. pp. 218. [žiūrēta: 2020-12-15]. Prieiga per: PubMed. ISSN 1471-2164. DOI 10.1186/s12864-021-07475-8.
  35. AVILÉS-GAXIOLA, S., Chuck-Hernández, C. and Serna Saldívar, S.O. Inactivation Methods of Trypsin Inhibitor in Legumes: A Review. *Journal of Food Science*, 2018, vol. 83, no. 1. pp. 17-29. [žiūrēta: 2020-12-15]. Prieiga per: PubMed. ISSN 0022-1147. DOI 10.1111/1750-3841.13985.
  36. CARBONARO, M., et al. Solubility-Digestibility Relationship of Legume Proteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1997, vol. 45, no. 9. pp. 3387-3394. [žiūrēta: 2020-12-15]. Prieiga per: Research gate. ISSN 0021-8561. DOI 10.1021/jf970070y.
  37. HAN, I.H., Swanson, B.G. and Baik, B. Protein Digestibility of Selected Legumes Treated with Ultrasound and High Hydrostatic Pressure during Soaking. *Cereal Chemistry*, 2007, vol. 84, no. 5. pp. 518-521. [žiūrēta: 2020-12-15]. Prieiga per: Wiley. ISSN 0009-0352. DOI 10.1094/CCHEM-84-5-0518.
  38. YANG, L., et al. Alkali Treatment Affects *In Vitro* Digestibility and Bile Acid Binding Activity of Rice Protein due to Varying its Ratio of Arginine to Lysine. *Food Chemistry*, 2012, vol. 132, no. 2. pp. 925-930. [žiūrēta: 2020-12-15]. Prieiga per: Research gate. ISSN 0308-8146. DOI 10.1016/j.foodchem.2011.11.068.
  39. LQARI, H., VIOQUE, J., PEDROCHE, J. and MILLÁN, F. Lupinus *Angustifolius* Protein Isolates: Chemical Composition, Functional Properties and Protein Characterization. *Food Chemistry*, 2002,

- vol. 76, no. 3. pp. 349-356. [žiūrēta: 2020-12-15]. Prieiga per: Research gate. ISSN 0308-8146. DOI 10.1016/S0308-8146(01)00285-0.
40. GEE CHEW, P., Casey, A.J. and Johnson, S.K. Protein Quality and Physico-Functionality of Australian Sweet Lupin (*Lupinus Angustifolius* Cv. Gungurru) Protein Concentrates Prepared by Isoelectric Precipitation Or Ultrafiltration. *Food Chemistry*, 2003, vol. 83, no. 4. pp. 25-38. [žiūrēta: 2020-12-15]. Prieiga per: Research gate ISSN 0308-8146. DOI 10.1016/s0308-8146(03)00156-0.
  41. ADENEKAN, M.K., Fadimu, G.J., Odunmbaku, L.A. and OKE, E.K. Effect of Isolation Techniques on the Characteristics of Pigeon Pea (*Cajanus Cajan* ) Protein Isolates. *Food Science and Nutrition*, 2018, vol. 6, no. 1. pp. 1-15. [žiūrēta: 2020-12-17]. Prieiga per: Elsevier. ISSN 2048-7177. DOI 10.1002/fsn3.539.
  42. LÓPEZ, D.N., et al. Amaranth, Quinoa and Chia Protein Isolates: Physicochemical and Structural Properties. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2018, vol. 109, no. 23. pp. 152-159. [žiūrēta: 2020-12-17]. Prieiga per: PubMed. ISSN 0141-8130. DOI 10.1016/j.ijbiomac.2017.12.080.
  43. TONTUL, Í, et al. Functional Properties of Chickpea Protein Isolates Dried by Refractance Window Drying. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2018, vol. 109, no. 12. pp. 1253-1259. [žiūrēta: 2020-12-17]. Prieiga per: PubMed. ISSN 0141-8130. DOI 10.1016/j.ijbiomac.2017.11.135.
  44. PASTOR-CAVADA, E., et al. Protein Isolates from Two Mediterranean Legumes: *Lathyrus Clymenum* and *Lathyrus Annuus*. Chemical Composition, Functional Properties and Protein Characterisation. *Food Chemistry*, 2010, vol. 122, no. 3. pp. 533-538. [žiūrēta: 2020-12-17]. Prieiga per: Elsevier. ISSN 0308-8146. DOI 10.1016/j.foodchem.2010.03.002.
  45. SCHUTYSER, M.A.I. and Van Der Goot, A.J. The Potential of Dry Fractionation Processes for Sustainable Plant Protein Production. *Trends in Food Science & Technology*, 2011, vol. 22, no. 4. pp. 154-164. [žiūrēta: 2020-12-17]. Prieiga per: Elsevier. ISSN 0924-2244. DOI 10.1016/j.tifs.2010.11.006.
  46. OPAZO-NAVARRETE, M., Tagle Freire, D., Boom, R.M. and Janssen, A.E.M. The Influence of Starch and Fibre on in Vitro Protein Digestibility of Dry Fractionated Quinoa Seed (Riobamba Variety). *Food Biophysics*, 2019, vol. 14, no. 1. pp. 49-59. [žiūrēta: 2020-12-17]. Prieiga per: Elsevier. ISSN 1557-1858. DOI 10.1007/s11483-018-9556-1.
  47. BERGHOUT, J.A.M., Venema, P., Boom, R.M. and van der Goot, A. J. Comparing Functional Properties of Concentrated Protein Isolates with Freeze-Dried Protein Isolates from Lupin Seeds. *Food Hydrocolloids*, 2015, vol. 51, no. 3. pp. 346-354. [žiūrēta: 2020-12-17]. Prieiga per: Elsevier. ISSN 0268-005X. DOI 10.1016/j.foodhyd.2015.05.017.
  48. SAMARANAYAKA, A. Sustainable Protein Sources. 2017 Chapter 11 - Lentil: Revival of Poor Man's Meat, pp. 185-196 [žiūrēta: 2020-12-17]. Prieiga per: Elsevier. ISBN 9780128027769.
  49. ZHANG, J., et al. Changes in Conformation and Quality of Vegetable Protein during Texturization Process by Extrusion. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2019, vol. 59, no. 20. pp. 3267-3280. [žiūrēta: 2020-12-17]. Prieiga per: MEDLINE. ISSN 1040-8398. DOI 10.1080/10408398.2018.1487383.
  50. MANSOUR, E.H. Chemical, Functional, Nutritional Properties and Food Applications of Pumpkin Seed and Rapeseed Protein Products Melatonin from Plant Sources View Project. *National Institute of Food Hygiene and Nutrition*, 1993, vol. 6, no. 2. pp. 1-6. [žiūrēta: 2020-12-17]. Prieiga per: Elsevier.
  51. BOYE, J., Wijesinha-Bettoni, R. and Burlingame, B. Protein Quality Evaluation Twenty Years After the Introduction of the Protein Digestibility Corrected Amino Acid Score Method. *British Journal of Nutrition*, 2012, vol. 108, no. S2. pp. S183-S211. [žiūrēta: 2020-12-17]. Prieiga per: MEDLINE. ISSN 0007-1145. DOI 10.1017/S0007114512002309.

52. LLOPART, E.E., et al. Effects of Extrusion Conditions on Physical and Nutritional Properties of Extruded Whole Grain Red Sorghum (*Sorghum Spp*). *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 2014, vol. 65, no. 1. pp. 34-41. [žiūrēta: 2020-12-17]. Prieiga per: MEDLINE. ISSN 0963-7486. DOI 10.3109/09637486.2013.836737.
53. ALBARRACÍN, M., JOSÉ GONZÁLEZ, R. and DRAGO, S.R. Soaking and Extrusion Effects on Physicochemical Parameters, Phytic Acid, Nutrient Content and Mineral Bio-Accessibility of Whole Rice Grain. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 2015, vol. 66, no. 2. pp. 210-215. [žiūrēta: 2020-12-17]. Prieiga per: MEDLINE. ISSN 0963-7486. DOI 10.3109/09637486.2014.986070.
54. SINGH, S., GAMLATH, S. and WAKELING, L. Nutritional Aspects of Food Extrusion: A Review. *International Journal of Food Science & Technology*. 2007, vol. 42, no. 8. pp. 916-929. [žiūrēta: 2020-12-17]. Prieiga per: Elsevier. ISSN 0950-5423. DOI 10.1111/j.1365-2621.2006.01309.x.
55. RATHOD, R.P. and ANNAPURE, U.S. Effect of Extrusion Process on Antinutritional Factors and Protein and Starch Digestibility of Lentil Splits. *Food Science and Technology*, 2016, vol. 66, no. 9. pp. 114-123. [žiūrēta: 2020-12-17]. Prieiga per: Elsevier. ISSN 0023-6438. DOI 10.1016/j.lwt.2015.10.028.
56. MASOERO, F., PULIMENO, A.M. and ROSSI, F. Effect of Extrusion, Espansion and Toasting on the Nutritional Value of Peas, Faba Beans and Lupins. *Italian Journal of Animal Science*, 2005, vol. 4, no. 2. pp. 177-189. [žiūrēta: 2020-12-17]. Prieiga per: Elsevier. ISSN 1828-051X. DOI 10.4081/ijas.2005.177.
57. DRULYTE, D. and ORLIEN, V. The Effect of Processing on Digestion of Legume Proteins. *Foods*, 2019, vol. 8, no. 6. pp. 224. [žiūrēta: 2020-12-17]. Prieiga per: PubMed. ISSN 2304-8158. DOI 10.3390/foods8060224.
58. SAMARD, S., GU, B. and RYU, G. Effects of Extrusion Types, Screw Speed and Addition of Wheat Gluten on Physicochemical Characteristics and Cooking Stability of Meat Analogues. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, Aug 30, 2019, vol. 99, no. 11. pp. 4922-4931. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/jsfa.9722> CrossRef. ISSN 0022-5142. DOI 10.1002/jsfa.9722.
59. CHIANG, J.H., LOVEDAY, S.M., HARDACRE, A.K. and PARKER, M.E. Effects of Soy Protein to Wheat Gluten Ratio on the Physicochemical Properties of Extruded Meat Analogues. *Food Structure*, 2019, vol. 19, no. 5. pp. 1-10. [žiūrēta: 2021-01-10]. Prieiga per: NCBI. DOI 10.1016/j.foostr.2018.11.002.
60. ALONSO, R., GRANT, G., DEWEY, P. and MARZO, F. Nutritional Assessment in Vitro and in Vivo of Raw and Extruded Peas (*Pisum s Ativum L.*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2000, vol. 48, no. 6. pp. 2286-2290. [žiūrēta: 2021-01-10]. Prieiga per: MEDLINE. ISSN 0021-8561. DOI 10.1021/jf000095o.
61. OJOKOH, A.O. and YIMIN, W. Effect of Fermentation on Chemical Composition and Nutritional Quality of Extruded and Fermented Soya Products. *International Journal of Food Engineering*, 2011, vol. 7, no. 4. pp. 65-78. [žiūrēta: 2021-01-10]. Prieiga per: NCBI. ISSN 1556-3758. DOI 10.2202/1556-3758.1857.
62. GIACOMINO, S., et al. Extruded Flaxseed Meal Enhances the Nutritional Quality of Cereal-Based Products. *Plant Foods for Human Nutrition (Dordrecht)*, 2013, vol. 68, no. 2. pp. 131-136. [žiūrēta: 2021-01-10]. Prieiga per: MEDLINE. ISSN 0921-9668. DOI 10.1007/s11130-013-0359-8.
63. ARRIBAS, C., et al. The Effect of Extrusion on the Bioactive Compounds and Antioxidant Capacity of Novel Gluten-Free Expanded Products Based on Carob Fruit, Pea and Rice Blends. *Innovative*

- Food Science and Emerging Technologies*, 2019, vol. 52, no. 6. pp. 100-107. [žiūrēta: 2021-01-10]. Prieiga per: NCBI. ISSN 1466-8564. DOI 10.1016/j.ifset.2018.12.003.
64. TUŚNIO, A., et al. Effect of Replacing Soybean Meal by Raw Or Extruded Pea Seeds on Growth Performance and Selected Physiological Parameters of the Ileum and Distal Colon of Pigs. *PLoS One*, 2017, vol. 12, no. 1. pp. 169-467. [žiūrēta: 2021-01-10]. Prieiga per: MEDLINE. ISSN 1932-6203. DOI 10.1371/journal.pone.0169467.
  65. ALAM, M.S., KAUR, J., KHAIRA, H. and GUPTA, K. Extrusion and Extruded Products: Changes in Quality Attributes as Affected by Extrusion Process Parameters: A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2016, vol. 56, no. 3. pp. 445-473. [žiūrēta: 2021-01-10]. Prieiga per: MEDLINE. ISSN 1040-8398. DOI 10.1080/10408398.2013.779568.
  66. SHAH, F., SHARIF, M.K., BASHIR, S. and AHSAN, F. Role of Healthy Extruded Snacks to Mitigate Malnutrition. *Food Reviews International*, -11-10, 2018, vol. 35, no. 4. pp. 299-323 [žiūrēta: 2021-01-10]. Prieiga per: NCBI. ISSN 8755-9129. DOI 10.1080/87559129.2018.1542534.
  67. ZHANG, B., et al. Effect of Extrusion Conditions on the Physico-Chemical Properties and in Vitro Protein Digestibility of Canola Meal. *Food Research International*, 2017, vol. 100, no. 1. pp. 658-664. [žiūrēta: 2021-01-10]. Prieiga per: PubMed. ISSN 0963-9969. DOI 10.1016/j.foodres.2017.07.060.
  68. HABIBA, R.A. Changes in Anti-Nutrients, Protein Solubility, Digestibility, and HCl-Extractability of Ash and Phosphorus in Vegetable Peas as Affected by Cooking Methods. *Food Chemistry*, 2002, vol. 77, no. 2. pp. 187-192. [žiūrēta: 2021-01-10]. Prieiga per: NCBI. ISSN 0308-8146. DOI 10.1016/S0308-8146(01)00335-1.
  69. SHIMELIS, E.A. and RAKSHIT, S.K. Effect of Processing on Antinutrients and in Vitro Protein Digestibility of Kidney Bean ( *Phaseolus Vulgaris* L.) Varieties Grown in East Africa. *Food Chemistry*, 2007, vol. 103, no. 1. pp. 161-172. [žiūrēta: 2021-01-10]. Prieiga per: NCBI. ISSN 0308-8146. DOI 10.1016/j.foodchem.2006.08.005.
  70. PARK, S.J., KIM, T.W. and BAIK, B. Relationship between Proportion and Composition of Albumins, and in Vitro Protein Digestibility of Raw and Cooked Pea Seeds (*Pisum Sativum* L.). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2010, vol. 90, no. 10. pp. 1719-1725. [žiūrēta: 2021-01-10]. Prieiga per: MEDLINE. ISSN 0022-5142. DOI 10.1002/jsfa.4007.
  71. REHMAN, Z. and SHAH, W.H. Thermal Heat Processing Effects on Antinutrients, Protein and Starch Digestibility of Food Legumes. *Food Chemistry*, 2005, vol. 91, no. 2. pp. 327-331. [žiūrēta: 2021-01-10]. Prieiga per: NCBI. ISSN 0308-8146. DOI 10.1016/j.foodchem.2004.06.019.
  72. MORALES, P., et al. Lentil Flour Formulations to Develop New Snack-Type Products by Extrusion Processing: Phytochemicals and Antioxidant Capacity. *Journal of Functional Foods*, 2015, vol. 19. no 9. pp. 537-544. [žiūrēta: 2021-01-18]. Prieiga per: Web of Science. ISSN 1756-4646. DOI 10.1016/j.jff.2015.09.044.
  73. EMBABY, Hassan El-Sayed, Suez Canal University, Ismailia, Egypt. Effect of Soaking, Dehulling, and Cooking Methods on Certain Antinutrients and in Vitro Protein Digestibility of Bitter and Sweet Lupin Seeds. *Food Science and Biotechnology*, 2010, vol. 19, no. 4. pp. 1055-1062. [žiūrēta: 2021-01-18]. Prieiga per: Web of Science. ISSN 1226-7708. DOI 10.1007/s10068-010-0148-1.
  74. KAMAU, E.H., Nkhata, S.G. and Ayua, E.O. Extrusion and Nixtamalization Conditions Influence the Magnitude of Change in the Nutrients and Bioactive Components of Cereals and Legumes. *Food Science and Nutrition*, 2020, vol. 8, no. 4. pp. 1-10. [žiūrēta: 2021-01-18]. Prieiga per: Web of Science. ISSN 2048-7177. DOI 10.1002/fsn3.1473.
  75. CHEN, L., et al. Emulsification Performance and Interfacial Properties of Enzymically Hydrolyzed Peanut Protein Isolate Pretreated by Extrusion Cooking. *Food Hydrocolloids*, 2018, vol. 77. no 6. pp.

- 607-616. [žiūrēta: 2021-01-18]. Prieiga per: Web of Science. ISSN 0268-005X. DOI 10.1016/j.foodhyd.2017.11.002.
76. ZHANG Jinchuang, Li Liu, Hongzhi Liu, Ashton Yoon, Syed S. H. Rizvi & Qiang Wang. Changes in Conformation and Quality of Vegetable Protein during Texturization Process by Extrusion. *Food Science and Nutrition*, 2018, vol. 59, no. 20. pp. 3267-3280. . [žiūrēta: 2021-01-18]. Prieiga per: Web of Science. ISSN 1040-8398. DOI <https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1487383>.
77. MIN Wu, et al. Effects of Extrusion Parameters on Physicochemical Properties of Flaxseed Snack and Process Optimization. *International Journal of Agricultural and Biological Engineering*, 2015, vol. 8, no. 5. pp. 121. . [žiūrēta: 2021-01-18]. Prieiga per: Agricultural Science Database. ISSN 1934-6344.
78. WANG, Y., et al. Optimization of Extrusion of Flaxseeds for in Vitro Protein Digestibility Analysis using Response Surface Methodology. *Journal of Food Engineering*, 2008, vol. 85, no. 1. pp. 59-64. [žiūrēta: 2021-01-18]. Prieiga per: Web of Science. ISSN 0260-8774. DOI 10.1016/j.jfoodeng.2007.06.033.
79. CIUDAD-MULERO, M., et al. Novel Gluten-Free Formulations from Lentil Flours and Nutritional Yeast: Evaluation of Extrusion Effect on Phytochemicals and Non-Nutritional Factors. *Food Chemistry*, Jun 15, 2020, vol. 315. no 9. pp. 126-175. [žiūrēta: 2021-01-18]. Prieiga per: MEDLINE. ISSN 0308-8146. DOI 10.1016/j.foodchem.2020.126175.
80. BALANDRAN-QUINTANA, R.R. (Universidad Autonoma de Chihuahua, Chihuahua, Mexico.), et al. Functional and Nutritional Properties of Extruded Whole Pinto Bean Meal (*Phaseolus Vulgaris* L.). *Journal of Food Science*. 1998, vol. 63, no. 1. pp. 113-116. [žiūrēta: 2021-01-18]. Prieiga per: AGRIS. ISSN 0022-1147. DOI 10.1111/j.1365-2621.1998.tb15688.x.
81. FRIAS, J., Miranda, M., Doblado, R. and Vidalvalverde, C. Effect of Germination and Fermentation on the Antioxidant Vitamin Content and Antioxidant Capacity of L. Var. Multolupa. *Food Chemistry*, 2005, vol. 92, no. 2. pp. 211-220. [žiūrēta: 2021-01-18]. Prieiga per: Web of Science. ISSN 0308-8146. DOI 10.1016/j.foodchem.2004.06.049.
82. GRANITO, M., et al. Nutritional Improvement of Beans (*Phaseolus Vulgaris*) by Natural Fermentation. *European Food Research & Technology*, 2002, vol. 214, no. 3. pp. 226-231. . [žiūrēta: 2021-01-18]. Prieiga per: Web of Science. ISSN 1438-2377. DOI 10.1007/s00217-001-0450-5.
83. EL YOUSSEF, C., et al. Sensory Improvement of a Pea Protein-Based Product using Microbial Co-Cultures of Lactic Acid Bacteria and Yeasts. *Foods*, 2020, vol. 9, no. 3. pp. 349. [žiūrēta: 2021-01-18]. Prieiga per: PubMed. ISSN 2304-8158. DOI 10.3390/foods9030349.
84. SHI, Y. Reducing Off-Flavour in Plant Protein Isolates by Lactic Acid Fermentation. *University of British Columbia*, 2020. [žiūrēta: 2021-01-18]. Prieiga per internetą: <http://hdl.handle.net/2429/74553>.
85. TANGYU, M., MULLER, J., BOLLEN, C. and WITTMANN, C. Fermentation of Plant-Based Milk Alternatives for Improved Flavour and Nutritional Value. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2019, vol. 103, no. 23. pp. 9263-9275. [žiūrēta: 2021-01-18]. Prieiga per: MEDLINE. ISSN 0175-7598. DOI 10.1007/s00253-019-10175-9.
86. AKHARUME, F.U., ALUKO, R.E. and ADEDEJI, A.A. Modification of Plant Proteins for Improved Functionality: A Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2021, vol. 20, no. 1. pp. 198-224. [žiūrēta: 2021-01-18]. Prieiga per: PubMed. ISSN 1541-4337. DOI 10.1111/1541-4337.12688.
87. SINGHANIA, R.R., PATEL, A.K., SOCCOL, C.R. and PANDEY, A. Recent Advances in Solid-State Fermentation. *Biochemical Engineering Journal*, 2009, vol. 44, no. 1. pp. 13-18. [žiūrēta: 2021-02-18]. Prieiga per: Research gate. ISSN 1369-703X. DOI 10.1016/j.bej.2008.10.019.

88. COUTO, S.R. and SANROMÁN, M.a.Á. Application of Solid-State Fermentation to Food industry- A Review. *Journal of Food Engineering*, 2006, vol. 76, no. 3. pp. 291-302. [žiūrēta: 2021-02-18]. Prieiga per: Research gate. ISSN 0260-8774. DOI 10.1016/j.jfoodeng.2005.05.022.
89. XIAO, Y., et al. Effect of Solid-State Fermentation with *Cordyceps Militaris* SN-18 on Physicochemical and Functional Properties of Chickpea (*Cicer Arietinum* L.) Flour. *Food Science & Technology*, 2015, vol. 63, no. 2. pp. 1317-1324. [žiūrēta: 2021-02-18]. Prieiga per: Research gate. ISSN 0023-6438. DOI 10.1016/j.lwt.2015.04.046.
90. HIGUERA-BARRAZA, O.A., DEL TORO-SANCHEZ, C.L., RUIZ-CRUZ, S. and MÁRQUEZ-RÍOS, E. Effects of High-Energy Ultrasound on the Functional Properties of Proteins. *Ultrasonics Sonochemistry*, 2016, vol. 31, no. 7. pp. 558-562. [žiūrēta: 2021-02-18]. Prieiga per: MEDLINE. ISSN 1350-4177. DOI 10.1016/j.ultsonch.2016.02.007.
91. O'SULLIVAN, J.J., et al. Applications of Ultrasound for the Functional Modification of Proteins and Nanoemulsion Formation: A Review. *Food Hydrocolloids*, 2017, vol. 71, no. 8. pp. 299-310. [žiūrēta: 2021-02-18]. Prieiga per: Research gate. ISSN 0268-005X. DOI 10.1016/j.foodhyd.2016.12.037.
92. JIANG, L., et al. Effects of Ultrasound on the Structure and Physical Properties of Black Bean Protein Isolates. *Food Research International*, 2014, vol. 62, no. 9. pp. 595-601. [žiūrēta: 2021-02-18]. Prieiga per: Research gate. ISSN 0963-9969. DOI 10.1016/j.foodres.2014.04.022.
93. SULLIVAN, J., MURRAY, B., FLYNN, C. and NORTON, I. The Effect of Ultrasound Treatment on the Structural, Physical, and Emulsifying Properties of Animal and Vegetable Proteins. *Food Hydrocolloids*, 2016, vol. 53, no. 3. pp. 141-154. [žiūrēta: 2021-02-18]. Prieiga per: Research gate. ISSN 0268-005X. DOI 10.1016/j.foodhyd.2015.02.009.
94. WEN, C., et al. Advances in Renewable Plant-Derived Protein Source: The Structure, Physicochemical Properties Affected by Ultrasonication. *Ultrasonics Sonochemistry*, 2019, vol. 53, no. 15. pp. 83-98. [žiūrēta: 2021-02-18]. Prieiga per: MEDLINE. ISSN 1350-4177. DOI 10.1016/j.ultsonch.2018.12.036.
95. JAMBRAK, A.R., et al. Effect of Ultrasound Treatment on Solubility and Foaming Properties of Whey Protein Suspensions. *Journal of Food Engineering*, 2008, vol. 86, no. 2. pp. 281-287. [žiūrēta: 2021-02-18]. Prieiga per: Research gate. ISSN 0260-8774. DOI 10.1016/j.jfoodeng.2007.10.004.
96. TAHA, A., et al. Effect of Different Oils and Ultrasound Emulsification Conditions on the Physicochemical Properties of Emulsions Stabilized by Soy Protein Isolate. *Ultrasonics Sonochemistry*, 2018, vol. 49, no. 8. pp. 283-293. [žiūrēta: 2021-02-18]. Prieiga per: PubMed. ISSN 1350-4177. DOI 10.1016/j.ultsonch.2018.08.020.
97. HU, H., CHEUNG, I.W.Y., PAN, S. and LI-CHAN, E.C.Y. Effect of High Intensity Ultrasound on Physicochemical and Functional Properties of Aggregated Soybean B-Conglycinin and Glycinin. *Food Hydrocolloids*, 2015, vol. 45, no. 11. pp. 102-110. [žiūrēta: 2021-02-18]. Prieiga per: Research gate. ISSN 0268-005X. DOI 10.1016/j.foodhyd.2014.11.004.
98. MARTÍNEZ-VELASCO, A., et al. High Intensity Ultrasound Treatment of Faba Bean (*Vicia Faba* L.) Protein: Effect on Surface Properties, Foaming Ability and Structural Changes. *Ultrasonics Sonochemistry*, 2018, vol. 44, no. 13. pp. 97-105. [žiūrēta: 2021-02-18]. Prieiga per: MEDLINE. ISSN 1350-4177. DOI 10.1016/j.ultsonch.2018.02.007.
99. ZHANG, H., Claver, I.P., Zhu, K. and Zhou, H. The Effect of Ultrasound on the Functional Properties of Wheat Gluten. *Molecules*, 2011, vol. 16, no. 5. pp. 4231-4240. [žiūrēta: 2021-02-18]. Prieiga per: Research gate. ISSN 1420-3049. DOI 10.3390/molecules16054231.
100. NAZARI, B., et al. Effect of Ultrasound Treatments on Functional Properties and Structure of Millet Protein Concentrate. *Ultrasonics Sonochemistry*, 2018, vol. 41, no. 5. pp. 382-388. [žiūrēta: 2021-02-18]. Prieiga per: MEDLINE. ISSN 1350-4177. DOI 10.1016/j.ultsonch.2017.10.002.

101. RAZBADAUSKIENĖ Kristyna. Sukurta Išskirtinė Žalių Žirnių Veislė, 2017. [žiūrėta: 2021-02-18]. Prieiga per internetą: <https://www.manoukis.lt/naujienos/mokslas/skurta-isskirtine-zaliu-zirniu-veisle>.
102. NABARD. National Bank of Agriculture and Rural Development, 2016. [žiūrėta: 2021-02-18]. Prieiga per internetą: <https://www.nabard.org/>.
103. ISO 20483:2013. Cereals and Pulses-Determination of the Nitrogen Content and Calculation of the Crude Protein Content-Kjeldahl Method, 2013. [žiūrėta: 2021-02-18]. Prieiga per internetą: <https://www.iso.org/standard/>
104. BRADFORD Marion M.. A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. *Analytical Biochemistry*, 1976, vol. 72, no. 1-2. pp. 248-254 [žiūrėta: 2021-03-05]. Prieiga per: DOI 10.1006/abio.1976.9999.
105. ISO 712:2009. Cereals and cereal products-Determination of moisture content-Reference method, 2009. [žiūrėta: 2021-02-18]. Prieiga per internetą: <https://www.iso.org/standard/>.
106. JAYASENA, V., CHIH, H.J. and NASAR-ABBAS, S. Functional Properties of Sweet Lupin Protein Isolated and Tested at various pH Levels. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*, 2010, vol. 6, no. 2. pp. 130-137. [žiūrėta: 2021-03-05]. Prieiga per internetą: <http://hdl.handle.net/20.500.11937/19417>.
107. KALEDA Aleksei, Karel Talvistu, Martti Tamm, Maret Viirma, Julia Rosend , Kristel Tanilas, Marie Kriisa, Natalja Part and Mari-Liis Tammik. Impact of Fermentation and Phytase Treatment of Pea-Oat Protein Blend on Physicochemical, Sensory, and Nutritional Properties of Extruded Meat Analogs. *Journal of Foods*, 2020, vol. 9, no. 2. pp. 1-18. [žiūrėta: 2021-03-05]. Prieiga per: Research gate.
108. SILVENTOINEN Pia and Nesli Sozer. Impact of Ultrasound Treatment and pH-Shifting on Physicochemical Properties of Protein-Enriched Barley Fraction and Barley Protein Isolate. *Foods*, 2020, vol. 9, no. 1055. pp. 1-14. [žiūrėta: 2021-03-16]. Prieiga per: MPDI. DOI 10.3390/foods9081055 [www.mdpi.com/journal/foods](http://www.mdpi.com/journal/foods).
109. ADEBOWALE, O.J. and MALIKI, K. Effect of Fermentation Period on the Chemical Composition and Functional Properties of Pigeon Pea (*Cajanus Cajan*) Seed flour. *International Food Research Journal*, 2011, vol. 18, no. 4. pp. 1329-1333. [žiūrėta: 2021-03-05]. Prieiga per: Research gate.
110. ISO 4833-1:2013. Microbiology of the Food Chain-Horizontal Method for the Enumeration of Microorganisms-Part 1: Colony Count at 30 °C by the Pour Plate Technique, 2013. [žiūrėta: 2021-03-05]. Prieiga per internetą: [iso.org](http://iso.org). ISBN 07.1-00.30FOODMICROBIOLOGY.
111. BARTKIENE, E., et al. Solid-State Fermentation with Lactic Acid Bacteria to Improve the Nutritional Quality of Lupin and Soya Bean. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2015, vol. 95, no. 6. pp. 1336-1342. [žiūrėta: 2021-03-05]. Prieiga per: MEDLINE. ISSN 0022-5142. DOI 10.1002/jsfa.6827.
112. ANWAR, A. and Saleemuddin, M. Regulation of Digestive Proteolytic Activity in the Larvae of *Spilosoma Obliqua* (Lep., Arctiidae). *Journal of Applied Entomology*, 2001, vol. 125, no. 9-10. pp. 577-582. [žiūrėta: 2021-03-16]. Prieiga per: Web of Science. ISSN 0931-2048. DOI 10.1046/j.1439-0418.2001.00587.x.
113. CODA, R., et al. Effect of Air Classification and Fermentation by *Lactobacillus Plantarum* VTT E-133328 on Faba Bean (*Vicia Faba L.*) Flour Nutritional Properties. *International Journal of Food Microbiology*, 2015, vol. 193, no. 5. pp. 1-10. [žiūrėta: 2021-03-16]. Prieiga per: Web of Science. ISSN 0168-1605. DOI 10.1016/j.ijfoodmicro.2014.10.012.
114. MASOERO, F., Moschini, M., Fusconi, G. and Piva, G. Raw, Extruded, and Expanded Pea (*Pisum Sativum*) in Dairy Cows Diets. *Italian Journal of Animal Science*, 2006, vol. 5, no. 3. pp. 237-247. [žiūrėta: 2021-03-16]. Prieiga per: Web of Science. ISSN 1594-4077. DOI 10.4081/ijas.2006.237.

115. SHI, L., Mu, K., Arntfield, S. and Nickerson, M. Changes in Levels of Enzyme Inhibitors during Soaking and Cooking for Pulses Available in Canada. *Journal of Food Science and Technology*, 2017, vol. 54, no. 4. pp. 1014-1022. [žiūrēta: 2021-03-16]. Prieiga per: PubMed. ISSN 0022-1155. DOI 10.1007/s13197-017-2519-6.
116. PASQUALONE, A., COSTANTINI, M., COLDEA, T.E. and SUMMO, C. Use of Legumes in Extrusion Cooking: A Review. *Foods*, 2020, vol. 9, no. 7. pp. 958. [žiūrēta: 2021-03-16]. Prieiga per: Web of Science. ISSN 2304-8158. DOI 10.3390/foods9070958.
117. ZARZYCKI, P., et al. Effect of Blend Moisture and Extrusion Temperature on Physical Properties of Everlasting Pea-Wheat Extrudates. *Journal of Food Science and Technology*, 2015, vol. 52, no. 10. pp. 6663-6670. [žiūrēta: 2021-03-16]. Prieiga per: PubMed. ISSN 0022-1155. DOI 10.1007/s13197-015-1754-y.
118. GÜMÜŞAY, ÖA., Şeker, M. and Sadikoğlu, H. Response Surface Methodology for Evaluation of the Effects of Screw Speed, Feed Moisture, and Xanthan Gum Level on Functional and Physical Properties of Corn Half Products. *Journal LWT - Food Science and Thecnology*, 2019, vol. 111, no. 4. pp. 622-631. [žiūrēta: 2021-03-16]. Prieiga per: Web of Science. ISSN 0023-6438. DOI 10.1016/j.lwt.2019.05.083.
119. HEJDYSZ, M., KACZMAREK, S.A. and RUTKOWSKI, A. Effect of Extrusion on the Nutritional Value of Peas for Broiler Chickens. *Archives of Animal Nutrition*, 2016, vol. 70, no. 5. pp. 364-377. [žiūrēta: 2021-03-16]. Prieiga per: MEDLINE. ISSN 1745-039X. DOI 10.1080/1745039X.2016.1206736.
120. CHAWLA, P., BHANDARI, L., SADH, P.K. and KAUSHIK, R. Impact of Solid-State Fermentation (*Aspergillus Oryzae*) on Functional Properties and Mineral Bioavailability of Black-Eyed Pea (*Vigna Unguiculata*) Seed Flour. *Cereal Chemistry*, 2017, vol. 94, no. 3. pp. 437-442. [žiūrēta: 2021-03-16]. Prieiga per: Web of Science. ISSN 0009-0352. DOI 10.1094/CCHEM-05-16-0128-R.
121. BOROJENI F. Goodarzi, M. Senz, K. Kozłowski, D. Boros, M. Wisniewska, D. Rose, K. Männer and J. Zentek. The Effects of Fermentation and Enzymatic Treatment of Pea on Nutrient Digestibility and Growth Performance of Broilers. *Journal of Animal*, 2017, vol. 11, no. 10. pp. 1698-1707. [žiūrēta: 2021-03-20]. Prieiga per: Web of Science. DOI 10.1017/S1751731117000787.
122. LI, K., et al. Use of High-Intensity Ultrasound to Improve Functional Properties of Batter Suspensions Prepared from PSE-Like Chicken Breast Meat. *Food and Bioprocess Technology*, 2014, vol. 7, no. 12. pp. 3466-3477. [žiūrēta: 2021-03-20]. Prieiga per: Web of Science. ISSN 1935-5130. DOI 10.1007/s11947-014-1358-y.
123. ARZENIA Carolina, Oscar E. Pérez, Ana M.R. Pilosof. Functionality of egg white proteins as affected by high intensity ultrasound. *Journal of Food Hydrocolloids*, 2012, vol. 29, no. 5, pp. 308-316. [žiūrēta: 2021-03-16]. Prieiga per: Web of Science. doi:10.1016/j.foodhyd.2012.03.009Food Hydrocolloids 29 (2012) 308e316.
124. AGUILAR-ACOSTA, L.A., et al. Effect of Ultrasound Application on Protein Yield and Fate of Alkaloids during Lupin Alkaline Extraction Process. *Biomolecules* (Basel, Switzerland), Feb 13, 2020, vol. 10, no. 2. pp. 292. [žiūrēta: 2021-03-16]. Prieiga per: MEDLINE. ISSN 2218-273X. DOI 10.3390/biom10020292.
125. ULLOA, J.A., et al. Effect of Ultrasound Treatment on the Hydration Kinetics and Cooking Times of Dry Beans (*Phaseolus Vulgaris*). *Informa UK Limited*, -10-23, 2015, pp. 10-23. [žiūrēta: 2021-03-16]. Prieiga per: Web of Science. ISBN 1947-6337. DOI 10.1080/19476337.2015.1024173.
126. OMURA Michele Harumi, Ana Paula Hanke de Oliveira, Lucas de Souza Soares, Jane S´elia dos Reis Coimbra, Frederico Augusto Ribeiro de Barros, M´arcia Cristina Teixeira Ribeiro Vidigal, Maria

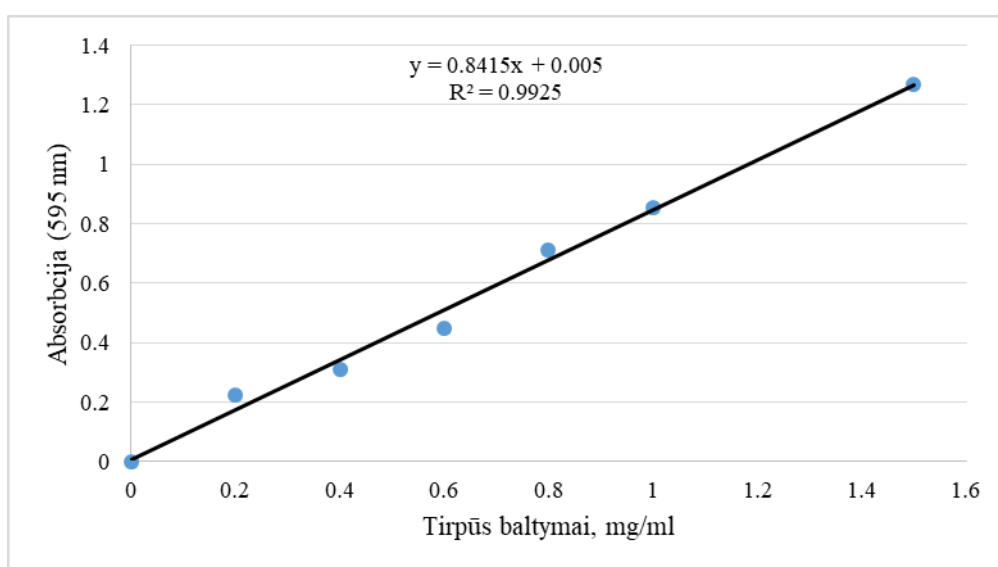
Cristina Baracat-Pereira, Eduardo Basílio de Oliveira. Effects of Protein Concentration during Ultrasonic Processing on Physicochemical Properties and Techno-Functionality of Plant Food Proteins. *Food Hydrocolloids*, 2021, vol. 113, no. 5, pp. 1-2. [žiūrēta: 2021-03-16]. Prieiga per: Science direct. ISSN 1064-57.

## PRIEDAI

### 1 priedas. Tirpiųjų baltymų kiekio nustatymo standartinių mėginių paruošimo lentelė ir kalibracinė kreivė

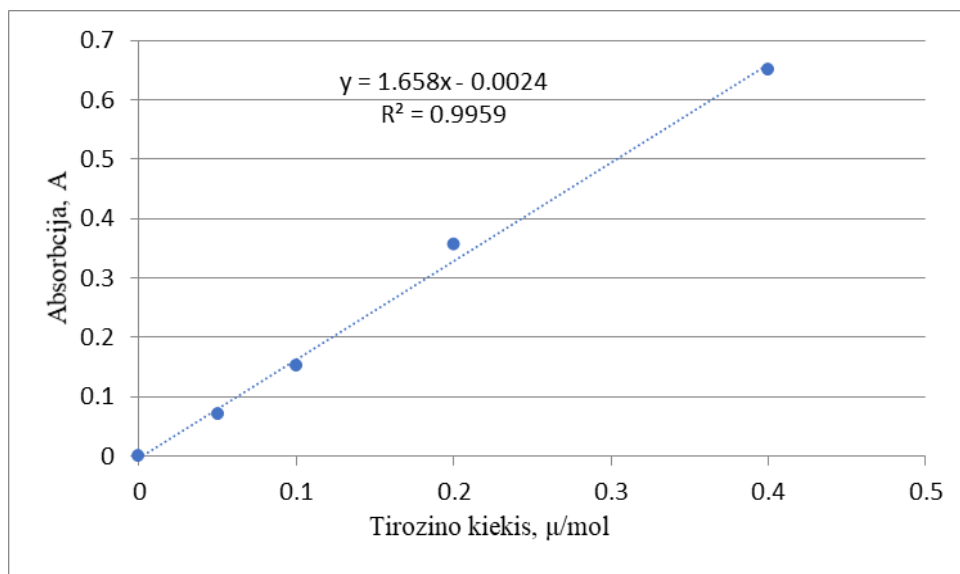
#### 1 lentelė. Kalibracinės kreivės standartinių mėginių paruošimas

Mėginio Nr.	Koncentracija, mg/ml	BSA, $\mu$ l	H <sub>2</sub> O, $\mu$ l	Bradfordas, ml
1	0	0	100	3,0
2	0,2	10	90	3,0
3	0,4	20	80	3,0
4	0,6	30	70	3,0
5	0,8	40	60	3,0
6	1,0	50	50	3,0
7	1,5	75	25	3,0



1 pav. Tirpiųjų baltymų nustatymo kalibracinė kreivė

## 2 priedas. Proteazinio aktyvumo nustatymo kalibracinė kreivė



2 pav. Proteazinio aktyvumo nustatymo kalibracinė kreivė