



LATVIJAS LAUKSAIMNIECĪBAS UNIVERSITĀTE
LATVIA UNIVERSITY OF AGRICULTURE

PĀRTIKAS TEHNOLOĢIJAS FAKULTĀTE
FACULTY OF FOOD TECHNOLOGY



Mg. sc. ing.
Vitalijs Radenkovs



ENZIMĀTISKI HIDROLIZĒTU KLIJU KVALITĀTES IZVĒRTĒJUMS

QUALITY ASSESSMENT OF ENZYMATICALLY HYDROLYSED BRAN

Promocijas darba kopsavilkums
inženierzinātņu doktora zinātniskā grāda iegūšanai
pārtikas zinātnes nozarē

*Summary of promotion work for acquiring
the Doctor's degree of Engineering Sciences in sector of Food Sciences*

Jelgava
2015

Promocijas darba vadītāja/

Scientific supervisor:

asoc. prof. *Dr.sc.ing. Dace Kļava*

Oficiālie recenzenti/ *Official reviewers:*

Prof., *Dr.chem., Viesturs Kreicbergs* (Latvijas Lauksaimniecības Universitāte, Pārtikas Tehnoloģijas fakultāte, Latvija/ *Latvia of University of Agriculture, Faculty of Food Technology, Latvia*)

Vadošais pētnieks/ *Leading researcher, Dr.biol., Pāvels Semjonovs* (Latvijas Universitāte, Mikrobioloģijas un biotehnoloģijas institūts, Latvija/ *University of Latvia, Institute of Microbiology and Biotechnology, Latvia*)

Prof., *Dr. Elena Bartkiene* (Lietuvas veselības zinātņu universitāte, Lietuva/ *Lithuanian University of Health Sciences, Lithuania*)

Promocijas darba izstrāde un noformēšana ir līdzfinansēta no Valsts Pētījumu Programmas „Vietējo resursu (zemes dzīļu, meža, pārtikas un transporta) ilgtspējīga izmantošana – jauni produkti un tehnoloģijas (NatRes)” projekta Nr. 3. „Vietējo lauksaimniecības resursu ilgtspējīga izmantošana paaugstinātas uzturvērtības pārtikas produktu izstrādei (PĀRTIKA)” (2011–2014) un Valsts pētījumu programmas “Lauksaimniecības resursi ilgtspējīgai kvalitatīvas un veselīgas pārtikas ražošanai Latvijā (AgroBioRes) (2014–2017)”, Projekta Nr. 4 „Vietējo lauksaimniecības resursu ilgtspējīga izmantošana kvalitatīvu un veselīgu pārtikas produktu izstrādei (PĀRTIKA)” ietvaros.

Development and design of the doctoral thesis was co-financed by:

State Research Programme “Sustainable use of local resources (entrails, forest, food, and transport – new products and technologies (NatRes)” (2010–2013) Project no. 3. „Sustainable use of local agricultural resources for development of high nutritive value food products (Food)” (2011–2014) and National research programme “Agricultural Resources for Sustainable Production of Qualitative and Healthy Foods in Latvia” (AgroBioRes) (2014 2017), project No. 4 “Sustainable use of local agricultural resources for qualitative and healthy food product development” (FOOD).

Promocijas darba aizstāvēšana notiks LLU Pārtikas zinātnes nozares promocijas padomes atklātajā sēdē 2015. gada 28. augustā plkst. 12⁰⁰ 145. auditorijā Pārtikas tehnoloģijas fakultātē, Lielā ielā 2, Jelgavā.

The defence of the thesis in open session of the Promotion Board of Food Science will be held on August 28, 2015, at 12⁰⁰ in auditorium 145, at the Faculty of Food Technology of LUA, Liela iela 2, Jelgava.

Ar promocijas darbu un kopsavilkumu var iepazīties LLU Fundamentālajā bibliotēkā Lielā iela 2, Jelgavā, LV-3001, un internetā (pieejams: <http://lufb.llu.lv/llu-theses.htm>). Atsauksmes sūtīt Promocijas

padomes sekretārei LLU Pārtikas tehnoloģijas fakultātes docentei Dr. sc. ing. **I. Beitānei** (Lielā iela 2, Jelgava, LV-3001, e-pasts: ilze.beitane@llu.lv).

*The thesis is available at the Fundamental Library of the Latvia University of Agriculture, Liela iela 2, Jelgava and <http://llu.fb.lv/llu-theses.htm>. References are welcome to send to Dr. sc. ing. **I. Beitānei**, the Secretary of the Promotion Board of Food Science at LUA, Faculty of Food Technology, Liela iela 2, Jelgava, LV-3001, Latvia or e-mail: ilze.beitane@llu.lv.*

SATURS

Pētījuma aktualitāte	4
Zinātniskā darba aprobācija	6
Materiāli un metodes	8
Pētījuma rezultāti un diskusija	16
1. Kliju apstrāde un to fizikāli ķīmisko rādītāju izmaiņas	16
2. Kliju bioloģiski aktīvo vielu izvērtējums	26
3. Kliju un enzimatiski hidrolizēto kliju mikrobioloģisko rādītāju izvērtējums	34
4. Kviešu un rudzu kliju fermentācija ar <i>Bifidobacterium lactis</i> Bb12	37
Secinājumi	41

CONTENT

Topicality of the research	42
Approbation of the research work	44
Materials and methods	44
Results and discussion	49
1. Treatment of bran and their changes in physical-chemical characteristics	49
2. Evaluation of biologically active compounds in bran	53
3. Microbiological assessment of bran and enzymatically hydrolysed bran	58
4. Wheat and rye bran fermentation with <i>Bifidobacterium lactis</i> Bb12	59
Conclusions	61

PĒTĪJUMA AKTUALITĀTE

Graudaugi un pilngraudu pārtikas produkti ir šķiedrvielu avots cilvēka organismā. Kviešu (*Triticum aestivum* L.) un rudzu (*Secale cereale*) klijas ir graudu pārstrādes blakusprodukts, kas rodas miltu ražošanas procesā. Eiropā katru gadu rodas aptuveni 100 miljonu tonnu pārtikas blakusproduktu (noteikts 2014. gadā). Graudaugu blakusproduktu enzimatiskā hidrolīze kā bioprocesu veids dos iespēju paplašināt kliju izmantošanas iespējas pārtikas ražošanā, līdz ar to samazināt graudaugu pārstrādes blakusproduktu daudzumu. Enzimātiski hidrolizētās klijas varēs pievienot pārtikas produktiem to ražošanas procesā, piemēram, piena un skābpiena produktiem, miltu un gaļas izstrādājumiem.

Kviešu un rudzu klijas ir kompozītmateriāls, kas veidots no dažādiem histoloģiskiem slāņiem – ārējais slānis jeb perikarps (epidermas un hipodermas), iekšējais slānis jeb perikarps (cauruļu un krustojuma šūnas), sēklapvalks, hialīna slānis jeb kodola epiderma un aleirona slānis.

No literatūras avotiem zināms, ka garas ne-cietes polisaharīdu ķēdes, kas veidojas klijās, traucē izveidot regulāru (viendabīgu), izturīgu līpekļa struktūru, tas apgrūrina maizes tehnoloģisko procesu. Rezultātā maizes klāpam samazinās apjoms, paātrinās mīkstuma sacietēšana, tā kļūst tumšāka. Viens no galvenajiem komponentiem, kas negatīvi ietekmē maizes kvalitāti, ir ūdenī nešķīstošās šķiedrvielas. Vairākos pētījumos meklēta iespēja klijās esošo šķiedrvielu sašķelšanai par oligosaharīdiem. Šajos pētījumos galvenokārt izmantota fermentācija ar raugiem (*Saccharomyces cerevisiae*), kliju enzimatiskā hidrolīze (hidrolītiskie enzīmi) vai enzīmu pievienošana tieši mīklai ar klijām. Veikti pētījumi arī par hidrolītisko enzīmu pielietošanu kviešu pilngraudu apstrādei, tā ļaujot samazināt nešķīstošo šķiedrvielu polimerizācijas pakāpi. Hidrolīzes rezultātā veidojas oligosaharīdi ar mazāku polimerizācijas pakāpi, kas labāk šķīst ūdenī un mazāk absorbē ūdeni. α -amilāzes iedarbības rezultātā notiek cietes hidrolīze, un veidojas maltooligosaharīdi (1 $\rightarrow$ 4- α -stāvokļos saistītas D-glikozes vienību saturošu polisaharīdi). Publicēti vairāki zinātnisku darbu rezultāti par maltooligosaharīda pozitīvajām īpašībām maizes uzglabāšanas laika pagarināšanai.

Tā kā klijas ir graudu ārējo slāņu kompozītmateriāls un graudu malšanas blakusprodukts, tad pastāv mikrobioloģiskās piesārņotības risks šādā produktā. Vairāki pētījumi norāda uz mikrofloras izmaiņām kliju hidrolīzes procesā, tādējādi paaugstinot produkta mikrobioloģisko drošību.

Iepriekš veiktie pētījumi dod iespēju formulēt **promocijas darba hipotēzi**: enzimatiskā hidrolīze izmaina kviešu un rudzu kliju ķīmisko sastāvu un mikrofloru.

Pētījumu objekts: kviešu un rudzu klijas, kas iegādātas no industriālajām dzirnavām: Akciju sabiedrība (AS) 'Dobeles dzirnavnieks' – rupjās kviešu klijas (DRKK), smalkās kviešu klijas (DSKK); AS 'Rīgas

dzirnavnieks' – rupjās kviešu klijas (RRKK); AS 'Jelgavas dzirnavas' – smalkās rudzu klijas (JSRK).

Promocijas darba hipotēzi pierāda ar šādām **tēzēm**:

1. enzimatiskās hidrolīzes rezultātā izmainās kliju ķīmiskais sastāvs, kas ietekmē to fizikāli-ķīmiskos rādītājus;
2. enzimatiski hidrolizētās klijas palielinās bioloģiski aktīvo savienojumu īpatsvars;
3. kliju enzimatiskā hidrolīze aizkavē mikrofloras attīstību;
4. enzimatiski hidrolizētas kviešu un rudzu klijas nodrošina prebiotisku vidi *Bifidobacterium lactis* Bb12 attīstībai.

Lai pierādītu hipotēzi, ir izvirzīts promocijas **darba mērķis**: pētīt kliju enzimatiskās hidrolīzes procesu un iegūtā produkta kvalitāti.

Darba mērķa sasniegšanai izvirzīti šādi **uzdevumi**:

1. noteikt efektīvākās enzimatisko preparātu koncentrācijas kliju cietes un ne-cietes polisaharīdu hidrolīzei;
2. novērtēt enzimatiskās hidrolīzes efektivitāti, pārbaudot cietes, kopējo šķiedrvielu un reducējošo cukuru saturu klijās;
3. analizēt kliju mikrostrukturāras izmaiņas enzimatiskās hidrolīzes laikā;
4. izvērtēt bioloģiski aktīvo vielu saturu (tokohromanoli, fenoli) un antioksidantu aktivitāti enzimatiski hidrolizētos kliju paraugos;
5. izvērtēt kliju mikrofloras izmaiņas pēc enzimatiskās hidrolīzes;
6. izvērtēt enzimatiski hidrolizēto kliju piemērotību *Bifidobacterium lactis* Bb12 attīstībai.

Pētījuma novitāte un zinātniskais nozīmīgums:

Pirmo reizi Latvijā veikti padziļināti pētījumi par kviešu un rudzu klijām;

1. izvērtētas kliju fizikāli-ķīmisko rādītāju izmaiņas pēc enzimatiskās hidrolīzes;
2. analizēta kviešu un rudzu kliju mikrostrukturā un tā izmaiņas enzimatiskās hidrolīzes rezultātā;
3. noteiktas bioloģiski aktīvās vielas: kopējo fenolu, flavonoīdu, tanīnu un tokohromanolu un antiradikālās aktivitātes enzimatiski hidrolizētās kviešu un rudzu klijās;
4. noteikts kviešu un rudzu kliju mikrobioloģiskais piesārņojums, un to izmaiņas enzimatiskās hidrolīzes rezultātā;
5. enzimatiskās hidrolīzes rezultātā iespējama *Bifidobacterium lactis* Bb12 attīstība klijās.

Darba tautsaimnieciskā nozīme:

1. pētījums sniedz jaunu informāciju par kviešu un rudzu kliju ķīmisko sastāvu, bioloģiski aktīvo vielu daudzveidību, to satura izmaiņām enzimatiskās hidrolīzes procesā, radot iespēju palielināt blakusprodukta izmantošanas iespējas pārtikas nozarē;
2. pētījumā iegūtās enzimatiski hidrolizētās klijas paplašina kviešu un rudzu kliju izmantošanas iespējas augu valsts produktu izstrādē, nodrošinot ar bioloģiski augstvērtīgu produktu.

ZINĀTNISKĀ DARBA APROBĀCIJA

Pētījuma rezultāti apkopoti un publicēti septiņos recenzējamos zinātniskajos izdevumos un divās monogrāfijas apakšnodaļās.

1. **Radenkovs V.**, Klava D., Juhneviča – Radenkova K. (2014) Effect of enzymatic hydrolysis on bran microflora. **In:** *20th International Scientific conference Proceedings Research for rural development*, Latvia, Jelgava, Vol. 1, p. 148–154. (SCOPUS)
2. **Radenkovs V.**, Klava D., Krasnova I., Juhneviča-Radenkova K. (2014) Application of enzymatic treatment to improve the concentration of bioactive compounds and antioxidant potential of wheat and rye bran. **In:** *The 9th Baltic Conference on Food Science and Technology “Food for Consumer Well-Being” (FoodBalt-2014) Proceedings*, Latvia, Jelgava, p. 127–132.
3. **Radenkovs V.**, Klava D. (2013) Kviešu kliju ķīmiskā sastāva izmaiņas bioprocesu ietekmē. Vietējo resursu (zemes dziļu, meža, pārtikas un transporta) ilgtspējīga izmantošana – jauni produkti un tehnoloģijas (NatRes), p. 246–251.
4. **Radenkovs V.**, Klava D., Juhneviča K. (2013) Wheat Bran Carbohydrates as Substrate for Bifidobacterium lactis Development. **In:** *International Journal of Biological, Food, Veterinary and Agricultural Engineering*, United Kingdom, London, Vol. 7, p. 536–541.
5. **Radenkovs V.**, Klava D., Juhneviča K. (2013) Microbiology and Safety of Bran from Latvia. **In:** *The International Proceedings of Chemical, Biological and Environmental Engineering*, Moscow, Russia, Vol. 53, p. 87–92.
6. **Radenkovs V.**, Klava D. (2012) Physical-chemical characterization of industrial wheat bran from Latvia. **In:** *18th International Scientific conference Proceedings Research for rural development*, Latvia, Jelgava, Vol. 1, p. 155–160. (SCOPUS)

7. Kunkulberga D., **Radenkovs V.** (2012) Quality of fermented wheat and rye bran. **In:** *Proceedings of the 6th International Congress 'Flour-Bread '11' 8th Croatian Congress of Cereal Technologists*, Croatia, Opatija, p. 417–424.

Monogrāfija.

1. Bioloģiski aktīvās vielas pārtikas produktos. Red. Galoburda R., Krūma Z., Ciproviča I., Zagorska J. Jelgava: Latvijas Lauksaimniecības universitāte, Pārtikas tehnoloģijas fakultāte. 280 lpp. ISBN 978-9984-48-083-1
Radenkovs V., Klava D., Šabovics M. (2012) Šķiedrvielas graudos. 5.2.2. nodaļa, 160.–161. lpp.
Radenkovs V. (2012) Šķiedrvielas klijās. 5.4.2. nodaļa, 167.–168. lpp.

Par pētījuma rezultātiem ziņots 11 starptautiskās zinātniskās un zinātniski praktiskās konferencēs, kongresos un simpozijos Latvijā, Lielbritānijā, Spānijā, Krievijā, kā arī starptautiskajā pārtikas izstādē *Riga Food 2013*.

1. **Radenkovs V.**, Klava D. (2015) Effect of hydrolytic enzymes (α -amylase/cellulase) on physicochemical characteristics of wheat and rye bran. 10th Baltic Conference on Food Science and Technology “Future Food: Innovations, Science and Technology”, Kaunas, Lithuania, May 21–22. (stenda referāts/ *poster presentation*).
2. **Radenkovs V.** (2015) Tokoferola un tokotrienola saturs kviešu un rudzu klijās. Zinātniski praktiskā konference “Līdzsvarota lauksaimniecība 2015”. Jelgava, Latvija, no 19. līdz 20. februāris (referāts/ *oral presentation*).
3. **Radenkovs V.**, Klava D., Krasnova I. (2014) Application of enzymatic treatment to improve the concentration of bioactive compounds and antioxidant potential of wheat and rye bran. 9th Baltic Conference on Food Science and Technology “Food for consumer well – being 2014”, Jelgava, Latvia, May 8–9. (referāts/ *oral presentation*).
4. **Radenkovs V.**, Klava D., Juhneviča – Radenkova K. (2014) Effect of enzymatic hydrolysis on bran microflora. Annual 20th International Scientific conference “Research for rural development 2014”. Jelgava, Latvia, May 21–23. (referāts/ *oral presentation*).
5. **Radenkovs V.**, Klava D., Juhneviča K. (2013) Microbiology and safety of bran from Latvia. ICFSN 2013: International Conference on Food Science and Nutrition. Moscow, Russia, July 27–28. (referāts/ *oral presentation*).
6. **Radenkovs V.**, Klava D., Juhneviča K. (2013) Wheat Bran Carbohydrates as Substrate for *Bifidobacterium lactis* Development. WASET 2013:

- World Academy of Science, Engineering and Technology. London, United Kingdom, July 08–09. (referāts/ *oral presentation*).
7. **Radenkovs V.**, Klava D., Kunkulberga D. (2012) Investigation on chemical composition and physically – chemical parameters of rye bran. 11th European Young Cereal Scientists and Technologists Workshop. Barcelona, Spain, May 09–11. (referāts/ *oral presentation*).
 8. **Radenkovs V.**, Klava D., Kunkulberga D. (2012) Physical–chemical characterisation of industrial rye bran from Latvia. 7th Baltic Conference on Food Science and Technology Innovative and healthy food for consumers”. Kaunas, Lithuania, May 17–18. (stenda referāts/ *poster presentation*).
 9. **Radenkovs V.**, Klava D., Kunkulberga D., Rakcejeva T., Gramatina I. (2012) Evaluation of physical-chemical parameters of rye and wheat bran from Latvia. 5th International Dietary Fibre Conference. Roma, Italy, May 7–9. (stenda referāts/ *poster presentation*).
 10. **Radenkovs V.**, Klava D. (2012) Physical-chemical characterization of industrial wheat bran from Latvia. Annual 18th International Scientific conference “Research for rural development 2012”. Jelgava, Latvia, May 16–18. (referāts/ *oral presentation*).
 11. Kunkulberga D., **Radenkovs V.** (2011) Quality of fermented wheat and rye bran. “8th Croatian Congress of Cereal Technologists”. Opatija, Croatia, October 12–14. (stenda referāts/ *poster presentation*).

MATERIĀLI UN METODES

Pētījumu laiks un vieta

Eksperimenti veikti laika posmā no 2011. līdz 2015. gadam.

- LLU Pārtikas tehnoloģijas fakultātes Pārtikas tehnoloģijas katedrā:
 - ❖ pārtikas produktu analīžu laboratorijā „Pētera Delles laboratorija” (šķiedrvielu noteikšana, olbaltumvielas, fermentācija ar *Bifidobacterium lactis* Bb12);
 - ❖ iepakojuma materiālu īpašību izpētes laboratorijā (ūdens aktivitāte);
 - ❖ mikrobioloģijas zinātniskajā laboratorijā (cietes, pH, β -glikānu noteikšana, mikrobioloģiskie rādītāji).
- Latvijas Valsts augļkopības institūtā:
 - ❖ bioķīmijas laboratorijā (kopējo fenolu, tokoferolu un tokotrienolu saturs, reducējošo cukuru noteikšana, kliju hidrolīze);
 - ❖ augļu un ogu eksperimentālās pārstrādes laboratorijā (paraugu liofilizācija, kliju krāsas analizēšana).
- RTU Materiālzinātnes un lietišķās ķīmijas fakultātes Lietišķās ķīmijas katedras:

- ❖ materiālzinātnes laboratorijā (mikrostruktūras izpēte).

Pētījumā izmantotie materiāli

Klijas

Eksperimentos izmantotas divu veidu klijas ar atšķirīgiem daļiņu izmēriem, no trim industriālajām dzirnavām Latvijā:

- Akciju sabiedrība (AS) ‘Dobeles dzirnavnieks’ – smalkās kviešu klijas (DSKK – izmērs $215,8 \pm 2 \mu\text{m}$); rupjās kviešu klijas (DRKK – izmērs $441,0 \pm 2 \mu\text{m}$),
- AS ‘Rīgas dzirnavnieks’ ‘Rīgas dzirnavnieks’ – rupjās kviešu klijas (RRKK – izmērs $600,0 \pm 2 \mu\text{m}$);
- AS ‘Jelgavas dzirnavas’ – smalkās rudzu klijas (JSRK – izmērs $276,0 \pm 2 \mu\text{m}$).

Eksperimentos izmantoti kontroles (neapstrādātas klijas), termiski apstrādāti un enzimatiski hidrolizēti kliju paraugi.

Enzīmi

Pētījumos izmantoti industriālie enzīmu preparāti, no firmas „Novozyme Corporation” (Bagsvaerd, Dānija):

1. **α -amilāze** (E.K. 3.2.1) (izdalīta no *Bacillus amyloliquefaciens*) ar endo-aktivitāti, kas iedarbojas uz α -(1 $\rightarrow$ 4) glikozīdiskām saitēm cietes granulās veidojot dekstrīnus. α -amilāzes optimālie darbības parametri ir pH **5,0–8,0**, temperatūra **55 ± 1 °C** un inkubācijas laiks 0,5 h, aktivitāte $\geq 250 \text{ U ml}^{-1}$.
2. **Viscozyme L** (izdalīts no *Aspergillus* spp.) enzīmu komplekss ar aktivitāti 100 U ml^{-1} , darbības optimums pH **$4,6 \pm 0,2$** , temperatūra **44 ± 1 °C** un inkubācijas laiks **3,2 h**. Viscozyme L ir maisījums, kas sastāv no:

- ❖ Celulozes šķelošiem enzīmiem:

- a) endo-1 $\rightarrow$ 4- β -D-glikanāze (E.K. 3.2.1.4);
- b) ekzo-1 $\rightarrow$ 4- β -D-glikanāze (E.K. 3.2.1.74);
- c) β -1 $\rightarrow$ 6-glikozidāze (E.K. 3.2.1.21);
- d) ekzo- β -1 $\rightarrow$ 4-glikān-celobiohidrolāze (E.K. 3.2.1.91).

- ❖ Hemicelulozes šķelošiem enzīmiem:

- a) endo-1 $\rightarrow$ 4- β -D-ksilanāze (E.K. 3.2.1.8), kas katalizē 1 $\rightarrow$ 4- β -D-glikozīdiskās saites ksilāna ķēdē, veidojot 1 $\rightarrow$ 4- β -D-ksilooligosaharīdus (KOS);
- b) endo-1 $\rightarrow$ 3- β -ksilanāze (E.K. 3.2.1.32).

Lai atrastu efektīvākās α -amilāzes un Viscozyme L koncentrācijas kviešu un rudzu cietes un ne-cietes polisaharīdu hidrolīzei, kliju enzīmātiskā apstrāde veikta ar dažādām enzīmu koncentrācijām (1. tabula):

1. tabula/ *Table 1*

**Enzīmu koncentrācijas cietes un ne-cietes polisaharīdu hidrolīzei kliju paraugos/
Concentration of enzymes for hydrolysis of starch and non-starch
polisacharides in bran samples**

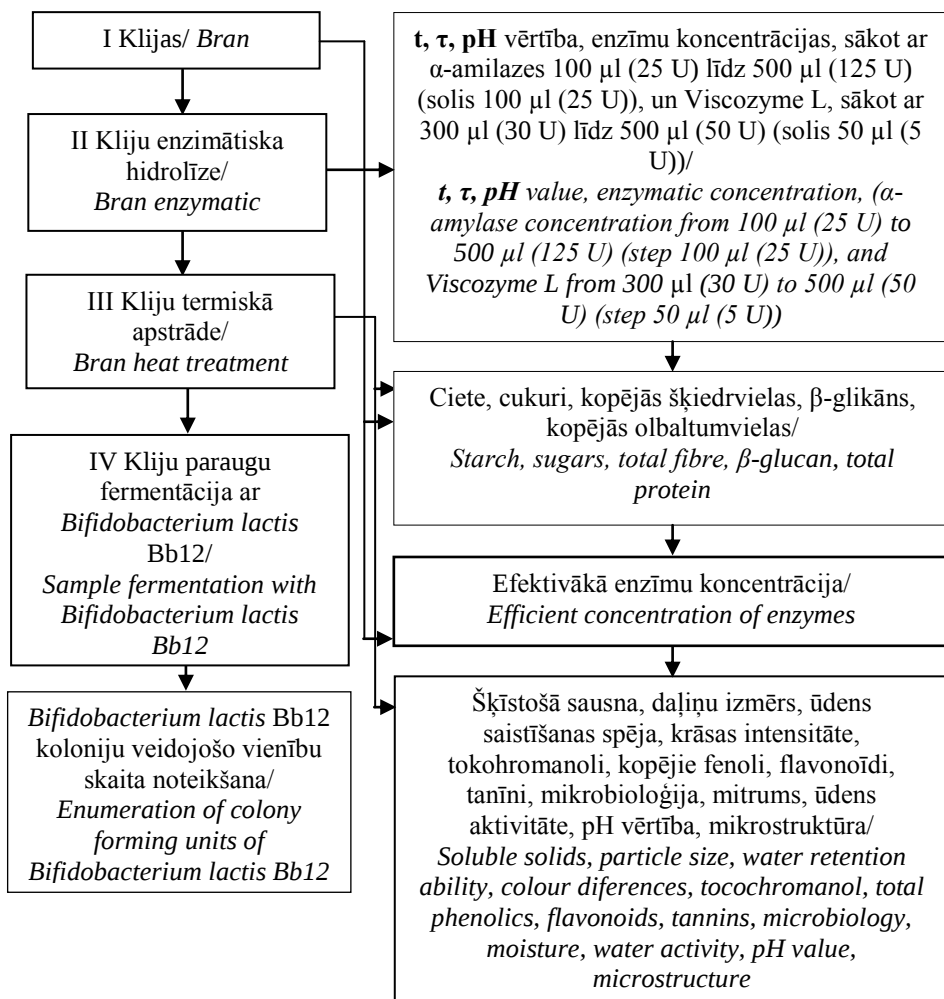
Paragi/ Samples		Pievienotais enzīmu daudzums, μl 10 g^{-1} kliju substrātā/ The amount of added enzyme, μl in 10 g^{-1} of bran substratum					Aktivitāte, U 10 g^{-1} kliju substrātā/ Activity, U in 10 g^{-1} of bran substratum				
Kontrole/ Control		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Termiskā apstrāde/ Thermal treated		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Enzīmātiskā hidrolīze/ Enzymatically hydrolysed	α -amilāze/ α -amylase	100	200	300	400	500	25	50	75	100	125
	Viscozyme L	300	340	400	450	500	30	35	40	45	50

**Bifidobaktērijas/
Bifidobacteria**

Darbā izmantots liofilizētais *Bifidobacterium lactis* Bb12 ieraugs, kas izstrādātas Chr. Hansen laboratorijā, Dānija. Bb12 baktēriju koncentrācija ir 10^9 KVV g^{-1} .

Pētījuma struktūra

Promocijas darbā pētījumi veikti četros posmos, izpētes objekti un procesi attēloti shēmā 1. attēlā.



1. att. Pētījumu vispārējā struktūra/
Fig.1. Structure of the research

I posms. Klijas/ Bran

Pētījuma pirmajā posmā kliju paraugos analizēti fizikālie, ķīmiskie, mikrostrukturālie un mikrobioloģiskie rādītāji.

II posms. Kliju enzimatiskā hidrolīze/ Bran enzymatic hydrolysis

Kliju enzimatiskā hidrolīze notika ūdens vannā, ievērojot temperatūras, inkubācijas laikus un maisījuma (10 g klijas + 90 ml ūdens) pH. Enzīmu darbības optimums (temperatūra, inkubācijas laiks, pH) izvēlēti, vadoties pēc ražotāja „Novozyme Corporation” (Bagsvaerd, Dānija) rekomendācijām, kā arī vadoties no literatūras avotiem (Arrigoni, 2001; Pryor et al., 2012; Lehtinen, 2012; Nordlund et al., 2013). Temperatūras kontrolei izmantoti „Elco ExpressThermo” sensori. Inkubācijas beigās automātiski sagatavots temperatūras protokols. α -amilāzes inaktivācija veikta ar pH vides paskābināšanu/ normalizēšanu līdz $4,6 \pm 0,2$ (Viscozyme L darbības optimums) ar 50% citronskābes šķīdumu, Viscozyme L darbības inaktivācijai tika izmantota temperatūra – 99 ± 1 °C, tās iedarbības ilgums – 10 minūtes. Pēc enzimatiskās hidrolīzes klijas atdzesētas ūdens vannā ($t - 10 \pm 1$ °C, $\tau - 10$ min), līdz istabas temperatūrai ($t - 20 \pm 1$ °C) un liofilizētas.

III posms. Kliju termiskā apstrāde/ Bran heat treatment

Termiskā apstrāde veikta ūdens vannā, ievērojot temperatūru un apstrādes laiku. Apstrādāto kliju sagatavošanas procedūra bija identiska un ir veikta vienlaicīgi ar enzimatisko hidrolīzi, neizmantojot enzimatiskus preparātus, kā arī netika normalizēta kliju pH vērtība. Pēc kliju apstrādes paraugi tika liofilizēti, iepakoti PE maisiņos ar biezu vakuuma un uzglabāti astoņas nedēļas nemainīgos apstākļos (temperatūra 20 ± 1 °C, relatīvais mitrums – $40 \pm 1\%$).

IV posms. Kliju paraugu fermentācija ar *Bifidobacterium lactis* Bb12/ Bran sample fermentation with *Bifidobacterium lactis* Bb12

Kliju fermentācijai izvēlētas gram-pozitīvās, nūjiņveida anaerobās Bb12 (Probio-Tec® no Chr. Hansen laboratorijas, Dānija) baktērijas, ar baktēriju koncentrāciju 10^9 KVV g⁻¹. Bb12 daudzums, kas sastādīja 10^7 KVV g⁻¹ (Bb12 10^9 KVV g⁻¹ + 100 ml 9% fizioloģiskais šķīdums). No sagatavotā suspensijas šķīduma 1 ml inokulēts produkta maisījumā (10 g klijas + 90 ml destilēts ūdens). (Bb 12 KVV skaits produkta maisījumā sastādīja 10^5 KVV g⁻¹). Pirms Bb12 baktēriju inokulēšanas, lai nomāktu nevēlamo (blakus) mikrofloru, kliju paraugi tika sterilizēti (temperatūra 105 ± 1 °C, laiks – 10 minūtes). Kliju fermentācija tika veikta inkubatorā UFP500 (Memmert GmbH and Co., Vācija). Anaerobu apstākļu nodrošināšanai lietots skābekļa (O₂)

absorbents (AnaeroGenTM 3,5 L, OXOID Ltd). Inkubēšanas procesa ilgums – 18 stundas, 37±1 °C temperatūrā.

Inkubācijas laiks, temperatūra un rotācijas intensitāte izvēlēta, vadoties pēc ražotāja rekomendācijām un prasībām (Chr. Hansen laboratorija). Kliju fermentācijas process kontrolēts, nosakot sagatavotam maisījumam pH vērtību, kas pārbaudīta ik pēc divām stundām. Pēc kliju fermentācijas paraugos noteikts Bb12 koloniju veidojošo vienību skaits. Tālāk paraugi tika liofilizēti, izmantojot „LABCONCO FreeZone¹” liofilizatoru (Illinois, United States) liofilizēšanas laiks – 70±2 h, pēc liofilizēšanas paraugi uzglabāti 72 stundas sterilos PE vakuuma maisiņos ar biezumu 70 µm (temperatūra 20±1 °C, relatīvais mitrums – 40±1%). Pēc kliju uzglabāšanas – 72 stundas, paraugiem atkārtoti noteikts Bb12 koloniju veidojošo vienību skaits, lai pārbaudītu baktēriju dzīvotspēju.

Pētījumos izmantoto analīžu metožu raksturojums

Promocijas darbā noteiktie rādītāji un izmantotās pētījuma metodes apkopotas 2. tabulā. Fizikālās un ķīmiskās analīzes veiktas kontroles, termiski apstrādātiem un enzimatiski hidrolizētiem kliju paraugiem.

2. tabula/ Table 2

Fizikālo un ķīmisko rādītāju noteikšanas metodes/ Methods of determination of physical and chemical parametrs

Nr./ No	Rādītāji/ Indices	Metode/ Methods
1.	pH vērtība/ <i>pH value</i>	AACC 02–52
2.	Mitrums/ <i>Moisture content</i>	ICC Standard No, 110/ 1
3.	Glikoze, fruktoze un maltoze/ <i>Glucose, fructose and maltose</i>	Šķidrums hromatogrāfijas metode
4.	Ūdens aktivitāte/ <i>Water activity</i>	ISO 21807:2004
5.	Šķīstoša sausa, °Brix/ <i>Soluble solids, °Brix</i>	Refraktometriskā metode
6.	Krāsas komponenti L* a* b*/ <i>Colour components L* a* b*</i>	Krāsu analizators <i>ColorTec – PCM Plus 30mm Benchtop Colorimeter</i> , MacDougall, 2000
7.	Daļiņu izmēri/ <i>Particle size</i>	ASAE metode S319.2
8.	Mikrostruktūra/ <i>Microstructure</i>	Cornejo-Villegas et al., 2013
9.	Kopējie flavonoīdi, mg KE 100 g ⁻¹ / <i>Total flavonoids, mg CE 100 g⁻¹</i>	Guo, 2011

2.2. tabulas turpinājums/ *continue of table 2.2*

Nr./ No	Rādītāji/ <i>Indices</i>	Metode/ <i>Methods</i>
10.	Kopējās olbaltumvielas, g 100 g ⁻¹ / <i>Total protein, g 100 g⁻¹</i>	AN 3002
11.	Cietes saturs, g 100 g ⁻¹ / <i>Starch content, g 100 g⁻¹</i>	EN ISO 10520:1998
12.	Kopējās šķiedrvielas, g 100 g ⁻¹ / <i>Total fibre content, g 100 g⁻¹</i>	AOAC No 985.29
13.	β-glikāns, g100 g ⁻¹ / <i>β-glucan g100 g⁻¹</i>	EBC Metode 3.11.1
14.	Kopējie fenoli, mg GSE 100 g ⁻¹ / <i>Total phenolics, mg GAE 100 g⁻¹</i>	Sacchetti et al., 2009
15.	Kopējie tanīni, mg KE 100 g ⁻¹ / <i>Total tannins, mg CE 100 g⁻¹</i>	Price et al., 1978
16.	Tokohromanoli, mg 100 g ⁻¹ / <i>Tocochromanol, mg 100 g⁻¹</i>	Górnas et al, 2014
17.	Ūdens saistīšanas spēja, g ūdens g ⁻¹ / <i>Water retention ability, g water g⁻¹</i>	Maes, Pirotte, 1955
18.	Antiradikālā aktivitāte (DPPH), mmol TE 100g ⁻¹ / <i>Antioxidant activity, (DPPH), mmol TE 100g⁻¹</i>	Yen, Chen, 1995
19.	Antiradikālā aktivitāte, dzelzs reducēšanas pakāpe (FRAP), mmol TE 100 g ⁻¹ / <i>Antioxidant activity Ferric reducing antioxidant power (FRAP), mmol TE 100 g⁻¹</i>	Benzie, Strain, 1996
20.	Paraugu sagatavošana mikrobioloģiskai izvērtēšanai/ <i>Sample preparation for microbiological evaluation</i>	LVS EN ISO 4833-2:2014
21.	Barotņu sagatavošana/ <i>Media preparation</i>	LVS CEN ISO/TS 11133 – 1:2009
22.	Mezofili aerobo un fakultatīvi anaerobo mikroorganismu (MAFAM) kopskaits/ <i>Total plate count of mesophilic aerobic and facultatively anaerobic microorganisms</i>	LVS EN ISO 4833-2:2014

2.2. tabulas turpinājums/ *continue of table 2.2*

Nr./ No	Rādītāji/ <i>Indices</i>	Metode/ <i>Methods</i>
22.	Raugi un pelējumi/ <i>Yeasts and moulds</i>	LVS ISO 21527-1:2008,
23.	Pienskābes baktērijas/ <i>Lactic acid bacteria</i>	ISO 9332:2003

Bifidobacterium lactis Bb12 baktērijas noteiktas saskaņā ar bifidobaktēriju noteikšanas vadlīnijām „Selective Enumeration of Bifidobacteria in Dairy Products: Development of a Standard Method”, izmantojot selektīvo Tioglikolāta (Thioglycollate broth USP Alternative) barotni.

Bifidobacterium lactis Bb12 dzīvo šūnu skaita noteikšanai inokulācijas laikā pielietota *Gorjajeva* kamera (Skudra, Kļava, 2008).

Raugu un pienskābes baktēriju identificēšana noteikta ar API bioķīmiskās teststsistēmas API stripiem – raugiem ar API ID 32 C, bet pienskābes baktērijām, izmantojot API 50 CHL stripus.

Datu matemātiskā apstrāde Iegūto datu apstrāde veikta ar SPSS 17,0 (SPSS Inc., Chicago, Illinois) un Microsoft Office Exel 2007 (Redmond, Washington).

Iegūtie dati analizēti, izmantojot aprakstošo statistiku, analīzes, testus un modeļus:

- ❖ vienfaktora dispersijas analīzi ANOVA (One way ANOVA);
 - ❖ daudzfaktoru regresijas un korelācijas analīze lietota, lai skaidrotu rezultātus, kas iegūti, analizējot kvalitātes rādītājus;
 - ❖ dispersijas analīzē rezultātu atšķirību pamatošanai starp pētītajiem paraugiem izmantoti *Sheffe* un *Tjūkija* kritēriji.
- Visiem iegūtajiem rezultātiem aprēķināti sekojoši rādītāji:
- ❖ vidējais aritmētiskais;
 - ❖ standartnovirze;
 - ❖ minimālā un maksimālā vērtība.
- Korelācijas funkcija tika pielietota, lai izvērtētu dažādu pazīmju savstarpēju kopsakarību, kā arī pielietota regresijas funkcija un mazāko kvadrātu metode. Ja korelācijas vērtība ir $0,5 \leq |r| \leq 0,8$, tad starp pētāmajām pazīmēm ir vidēji cieša lineārā sakarība, ja korelācijas vērtība ir $|r| > 0,8$, tad starp pētāmajām pazīmēm ir cieša lineāra sakarība (Arhipova, Bāliņa, 2003)

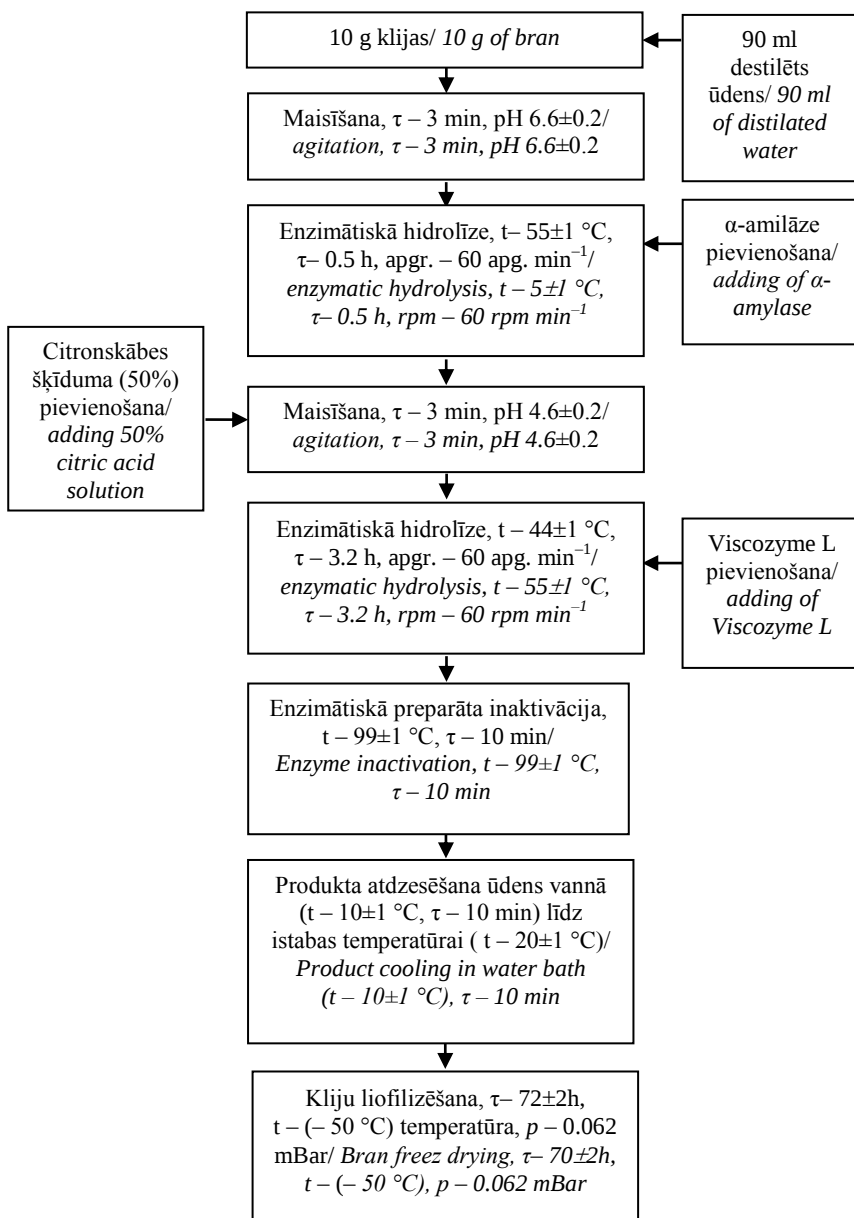
PĒTĪJUMA REZULTĀTI UN DISKUSIJA

1. Kliju apstrāde un to fizikāli ķīmisko rādītāju izmaiņas

Kviešu un rudzu kliju ķīmiskais sastāvs un mikrobioloģiskā piesārņotība ierobežo to izmantojamību pārtikas produktu ražošanā. Izmantojot kliju termisko apstrādi un enzimatisko hidrolīzi ar α -amilāzes un Viscozyme L enzīmu preparātiem, iespējams izmainīt kliju fizikāli ķīmiskos rādītājus, esošo uzturvielu īpatsvaru un uzlabot to mikrofloru.

Termiski apstrādātas klijas pētītas, lai pārbaudītu temperatūras ietekmi uz kliju fizikālajiem, ķīmiskajiem un mikrobioloģiskiem rādītājiem. Savukārt enzimatiskās hidrolīzes rezultātā paredzēts būtiski sašķelt klijās esošo cieti un šķiedrvielas, paaugstinot bioloģiski aktīvo savienojumu īpatsvaru, kā arī samazināt kliju mikrobioloģisko risku.

Lai atrastu efektīvākās α -amilāzes un Viscozyme L koncentrācijas kviešu un rudzu kliju cietes un ne-cietes polisaharīdu hidrolīzei, promocijas darba laikā izstrādāts kliju enzimatiskās hidrolīzes tehnoloģiskais process, tas parādīts 3. attēlā.

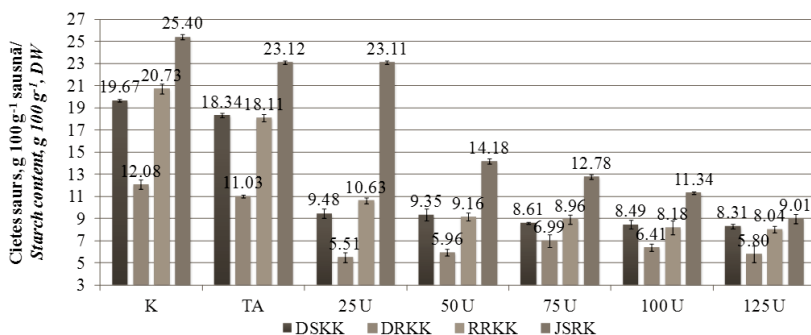


**3. att. Kliju enzimatiskā hidrolīze/
Fig. 3. Enzymatic hydrolysis of bran**

Kviešu klijas satur vidēji 8,8–24,8 % cietes endospermas, bet rudzu klijas 17,1–28,3% (Eldin et al., 2009; Radenkovs et al., 2013). Cietes daudzumu klijās nosaka malšanas tehnoloģiskais process.

Literatūras avoti liecina, ka, izmantojot dažāda veida hidrolītiskos enzīmus, iespējams ievērojami samazināt cietes saturu kviešu un rudzu klijās, vienlaicīgi veidojot un atbrīvojot bioloģiski aktīvās vielas. Cietes hidrolīzes procesu var ietekmēt, variējot ar temperatūru vai enzīmu koncentrāciju, kas dod iespēju kontrolēt monosaharīdu un oligosaharīdu iznākumu.

Pētījumā cietes polisaharīdu hidrolīzes efektivitāte pārbaudīta, nosakot cietes saturu paraugos (4. attēls).



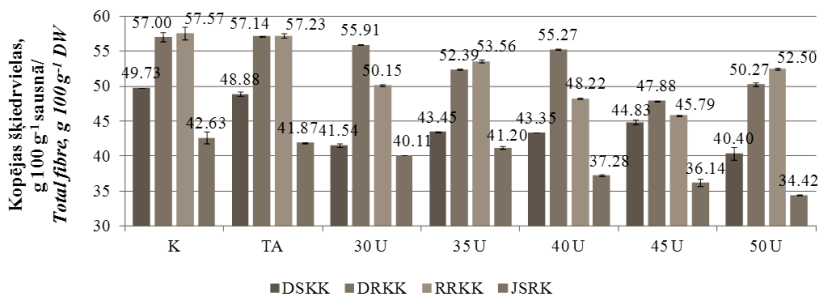
K – Kontrolē/ Control; TA – Termiski apstrādātas klijas/ Thermal treated; DSKK – Akciju sabiedrība (AS) ‘Dobeles dzirnavnieks’ – smalkās kviešu klijas/ Join-stock company (SC) ‘Dobeles dzirnavnieks’ – fine wheat bran; DRKK – AS ‘Dobeles dzirnavnieks’ rupjās kviešu klijas/ SC ‘Dobeles dzirnavnieks’ – coarse wheat bran; RRKK – AS ‘Rīgas dzirnavnieks’ – rupjās kviešu klijas/ SC ‘Rīgas dzirnavnieks’ – coarse wheat bran; JSRK – AS ‘Jelgavas dzirnavas’ – smalkās rudzu klijas/ SC ‘Jelgavas dzirnavas’ – fine rye bran

**4. att. Cietes saturs kliju paraugos, g 100 g⁻¹ sausnā/
Fig. 4. Total starch content in bran samples, g 100 g⁻¹ DW**

Pētījuma rezultāti parāda, ka, izmantojot α -amilāzi, iespējams samazināt cietes saturu kviešu un rudzu klijās. Hidrolizējot klijas ar α -amilāzi ar aktivitāti 125 U (500 μ l), konstatēts vislielākais cietes satura procentuālais samazinājums. Paraugā DSKK cietes saturs samazinājās par 57,7% sausnā, DRKK par 51,9%, RRKK par 55,9% un JSRK par 64,52%.

Kviešu un rudzu klijas ir šķiedrvielu avots, kuras izmanto pārtikas rūpniecībā, lai paaugstinātu produktu uzturvērtību. Tomēr, pievienojot šķiedrvielas ražošanas procesā, produktam izmainās: garša, smarža, krāsa, struktūra, un ne vienmēr šīs izmaiņas ir pozitīvas. Pētījumā lietots enzīmu preparāts Viscozyme L, kura sastāvā esošie enzīmi šķiedrvielas sašķel par savienojumiem ar mazāku polimerizācijas pakāpi. Zinātniskajos darbos minēts, ka enzīmu izmantošana ļauj samazināt kopējo šķiedrvielu koncentrāciju

produktā ne vairāk par 4,1% (Arrigoni, 2001). Tādēļ būtiski ir noteikt enzimatiskā preparāta koncentrāciju kliju hidrolīzes procesā.



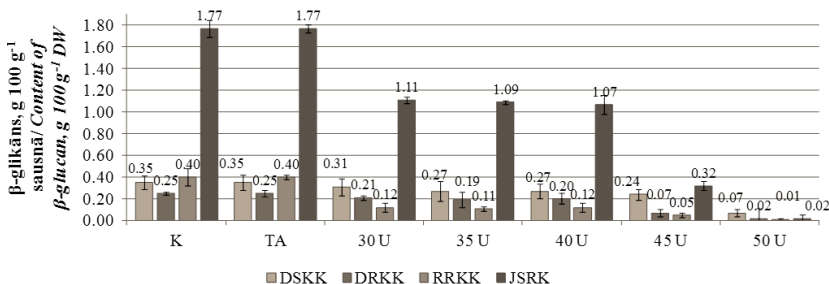
K – Kontrolē/ Control; TA – Termiski apstrādātas klijas/ Thermal treated; DSKK – Akciju sabiedrība (AS) ‘Dobeles dzirnavnieks’ – smalkās kviešu klijas/ Join-stock company (SC) ‘Dobeles dzirnavnieks’ – fine wheat bran; DRKK – AS ‘Dobeles dzirnavnieks’ rupjās kviešu klijas/ SC ‘Dobeles dzirnavnieks’ – coarse wheat bran; RKK – AS ‘Rīgas dzirnavnieks’ – rupjās kviešu klijas/ SC ‘Rīgas dzirnavnieks’ – coarse wheat bran; JSRK – AS ‘Jelgavas dzirnavas’ – smalkās rudzu klijas/ SC ‘Jelgavas dzirnavas’ – fine rye bran

**5. att. Šķiedrvielu saturs kliju paraugos, g 100 g⁻¹ sausnā/
Fig. 5. Fibre content in bran samples, g 100 g⁻¹ DW**

Hidrolizējot klijas ar Viscozyme L, augstākais kopējo šķiedrvielu hidrolīzes procentuālais samazinājums konstatēts visiem paraugiem, ar 50 U Viscozyme L (500 µl), vidēji par 14,65%. No iepriekš minētā un no veiktā pētījuma iegūto rezultātu analīzēm var konstatēt, ka pēc kliju enzimatiskās hidrolīzes, pateicoties ūdenī nešķīstoša arabinoksilāna depolimerizēšanai, daļa šķiedrvielu pāriet ūdenī šķīstošā formā.

Paaugstinoties šķīstošajām arabinoksilānām, palielinās iespēja kliju izmantot maizes ražošanā, kā arī kā prebiotisko vidi Bb12 baktērijām.

Auzas un miežus uzskata par β-glikāna avotu, tomēr nelielos daudzumos to var atrast arī rudzos un kviešos. β-glikāns ir D-glikozes polimērs, kas pieder pie šķīstošajām šķiedrvielām. Lai gan tam piemīt funkcionālas īpašības, tomēr β-glikāna klātbūtne maina produktu tehnoloģiskās īpašības – ražošanas procesā veidojot viskozus šķīdumus. Viskozitātes palielināšanās šķīdumos ir saistīta ar lielmolekulārā β-glikāna šķīdību. Viena no iespējām, kā samazināt β-glikāna tendenci veidot viskozus šķīdumus, ir polimerizācijas pakāpes samazināšana (EFSA, 2009). Kviešu un rudzu klijās β-glikāna saturs ir vidēji 1,7 un 3,5 g 100 g⁻¹ attiecīgi (Karppinen, 2003), tādēļ kviešu klijas nevar uzskatīt par β-glikāna avotu, bet tās ietekmē tehnoloģiskās īpašības.



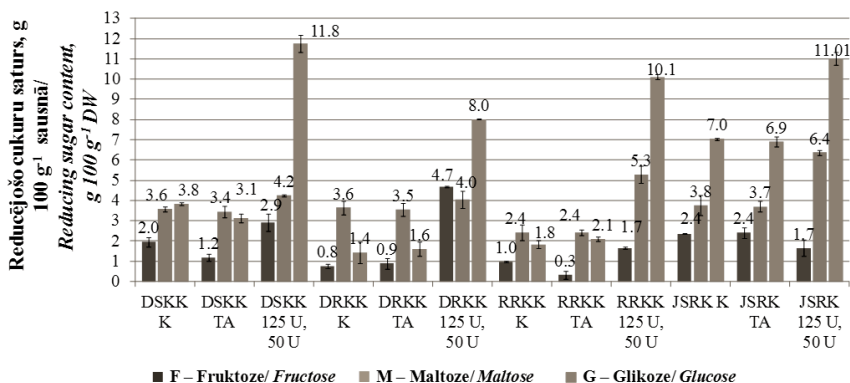
K – Kontrolē/ Control; TA – Termiski apstrādātas klijas/ Thermal treated; DSKK – Akciju sabiedrība (AS) ‘Dobeles dzirnavnieks’ – smalkās kviešu klijas/ Join-stock company (SC) ‘Dobeles dzirnavnieks’ – fine wheat bran; DRKK – AS ‘Dobeles dzirnavnieks’ rupjās kviešu klijas/ SC ‘Dobeles dzirnavnieks’ – coarse wheat bran; RRKK – AS ‘Rīgas dzirnavnieks’ – rupjās kviešu klijas/ SC ‘Rīgas dzirnavnieks’ – coarse wheat bran; JSRK – AS ‘Jelgavas dzirnavas’ – smalkās rudzu klijas/ SC ‘Jelgavas dzirnavas’ – fine rye bran

6. att. β-glikāna saturs kliju paraugos, g 100 g⁻¹ sausa/
Fig. 6. β-glucan content in bran samples, g 100 g⁻¹ DW

Vadoties no iegūtajiem rezultātiem par β-glikāna satura samazinājumu atkarībā no pievienotā enzīma aktivitātes, var secināt, ka visefektīvākā Viscozyme L aktivitāte ir 50 U (500 μl Viscozyme L). Apskatot datus no tehnoloģiskā viedokļa, var pieņemt, ka, samazinot β-glikāna polimerizācijas pakāpi enzymātiski hidrolizētās klijās, mainās tā polimerizācijas pakāpe, kas ļauj produktu izmantot maizes izstrādājumos, tas neveidos viskozus šķīdumus, kas ir nevēlami mīklas rūgšanas procesā.

Cietes un šķiedrvielu hidrolīzes efektivitāte pārbaudīta, mērot reducējošo cukuru (glikoze, fruktoze, maltoze) saturu klijās pirms un pēc hidrolīzes ar α-amilāzi un Viscozyme L enzīmu preparātiem.

Analizējot zinātnisko literatūru (Kapuśniak, Jay-lin, 2007), redzams, ka cietes hidrolīzes produkts, kas tika veidots, izmantojot amilolītiskos enzīmus, ir maltodekstrīns (ASV) jeb rezistents dekstrīns (Eiropas Savienībā) vai nesagremojamais dekstrīns (Japānā) (Kapuśniak, Jay-lin, 2007). Zinātnieks Miazato savā darbā norāda, ka maltodekstrīns ir neviskoza, viegli raudzējams, kalpo kā šķīstošo šķiedrvielu avots (Miyazato et al., 2010). Savukārt Ohkuma norāda, ka rezistents maltodekstrīns ātri fermentējas cilvēka resnajā zarnā, kā rezultātā paaugstinās minerālvielu absorbcija (Ohkuma et al., 1990).



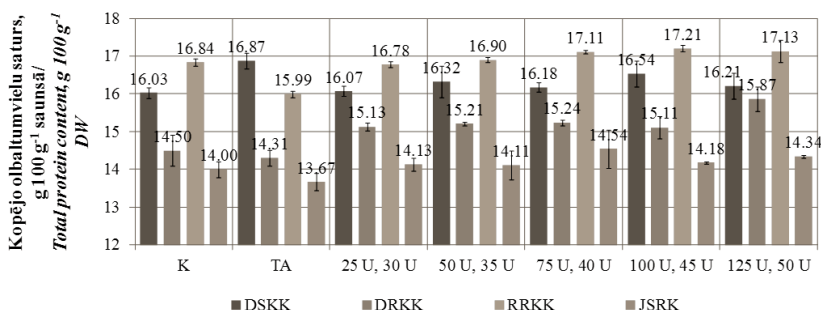
K – Kontrole/ Control; TA – Termiski apstrādātas klijas/ Thermal treated; DSKK – Akciju sabiedrība (AS) ‘Dobeles dzirnavnieks’ – smalkās kviešu klijas/ *Join-stock company (SC) ‘Dobeles dzirnavnieks’* – fine wheat bran; DRKK – AS ‘Dobeles dzirnavnieks’ rupjās kviešu klijas/ *SC ‘Dobeles dzirnavnieks’* – coarse wheat bran; RRRK – AS ‘Rīgas dzirnavnieks’ – rupjās kviešu klijas/ *SC ‘Rīgas dzirnavnieks’* – coarse wheat bran; JSRK – AS ‘Jelgavas dzirnavas’ – smalkās rudzu klijas/ *SC ‘Jelgavas dzirnavas’* – fine rye bran

7. att. Reducējošo cukuru (glikoze, fruktoze, maltoze) saturs kliju paraugos, g 100 g⁻¹ sausnā/
Fig. 7. Content of reducing sugars (glucose, fructose, maltose) in bran samples, g 100 g⁻¹ DW

Cietes un šķiedrvielu šķelšanās rezultātā reducējošo cukuru (glikoze, fruktoze, maltoze) saturs visos paraugos palielinājās. Augstākais reducējošo cukuru saturs konstatēts enzimatiski hidrolizētiem paraugiem, kas apstrādāti ar α -amilāzes aktivitāte 125 U (500 μ l) un Viscozyme L 50 U (500 μ l) aktivitāti. Rezultātā klijas ir piemērotākas maizes ražošanai, jo kalpo kā substrāti *Saccharomyces cerevisiae* rūgšanas procesu nodrošināšanai.

Kliju sastāvā ietilpst aleirona slānis, kas bagātīgi satur olbaltumvielas. Kviešu un rudzu klijas vidēji satur 16,0 g 100 g⁻¹ sausnā olbaltumvielas.

Vairāki autori zinātniskajā literatūrā norāda, ka, apstrādājot klijas ar hidrolītiskiem enzīmiem, iespējams paaugstināt šķiedrvielu šķīdības pakāpi, kā rezultātā notiks vērtīgo vielu (brīvo aminoskābju, kopējo fenolu) atbrīvošana (Anson et al., 2009; Katina et al., 2012; Coda et al., 2014). Savukārt Santāla norāda, ka enzimatiskie preparāti ir efektīvi šķiedrvielu šūnu sienīņu sadalīšanai, kas palīdz atbrīvot saistītās olbaltumvielas (Santāla et al., 2012). Pētījumā noteikts olbaltumvielu saturs kviešu un rudzu kliju paraugos (8. attēls).



K – Kontrolē/ Control; TA – Termiski apstrādātas klijas/ Thermal treated; DSKK – Akciju sabiedrība (AS) ‘Dobeles dzirnavnieks’ – smalkās kviešu klijas/ Join-stock company (SC) ‘Dobeles dzirnavnieks’ – fine wheat bran; DRKK – AS ‘Dobeles dzirnavnieks’ rupjās kviešu klijas/ SC ‘Dobeles dzirnavnieks’ – coarse wheat bran; RRKK – AS ‘Rīgas dzirnavnieks’ – rupjās kviešu klijas/ SC ‘Rīgas dzirnavnieks’ – coarse wheat bran; JSRK – AS ‘Jelgavas dzirnavas’ – smalkās rudzu klijas/ SC ‘Jelgavas dzirnavas’ – fine rye bran

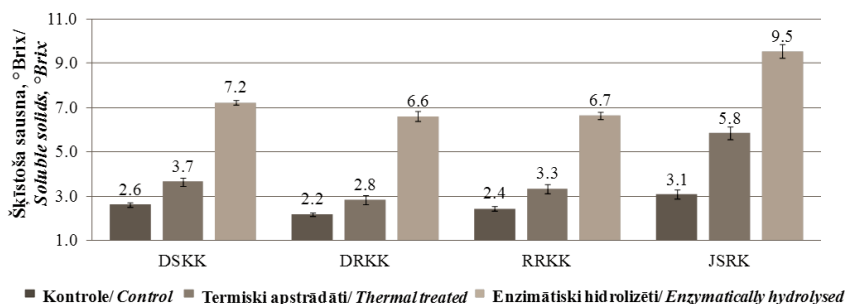
8. att. Kopējo olbaltumvielu saturs kliju paraugos, g 100 g⁻¹ sausnā/ Fig. 8. Total protein content in bran samples, g 100 g⁻¹ DW

Apstrādājot klijas ar hidrolītiskiem enzīmiem, iespējams paaugstinās šķiedrvielu šķīdības pakāpi, kā rezultātā notiek vērtīgo vielu (brīvo aminoskābju, kopējo fenolu) atbrīvošana no kliju strukturāliem komponentiem. Dotajā pētījumā iegūtie rezultāti liecina, ka pēc enzimatiskās hidrolīzes būtiska ($p < 0,05$) kopējo olbaltumvielu satura paaugstināšanās nav konstatēta.

Šķīstošā sausna ir rādītājs, kas raksturo vairākas šķīstošas vielas, galvenokārt cukuru saturu pārtikas produktos. Kliju apstrādes efektivitātes izvērtēšanai tika analizēts šķīstošās sausnas saturs pēc kliju enzimatiskās hidrolīzes.

Pamatojoties uz iepriekš analizētiem rezultātiem par kliju ķīmiskā sastāva izmaiņām (cietes, cukura, kopējo šķiedrvielu, β -glikānu, kopējo olbaltumvielu saturu) pēc enzimatiskās hidrolīzes, tika pierādīts, ka visefektīvākā enzīmu aktivitāte, kas spētu maksimāli hidrolizēt kliju esošās sastāvdaļas, ir α -amilāzi – 125 U (500 μ l) un Viscozyme L – 50 U (500 μ l). Tādēļ tālākie pētījumi veikti ar iepriekšminēto enzimatisko preparātu aktivitātēm.

Šķīstošās sausnas rezultāti atspoguļoti 9. attēlā.



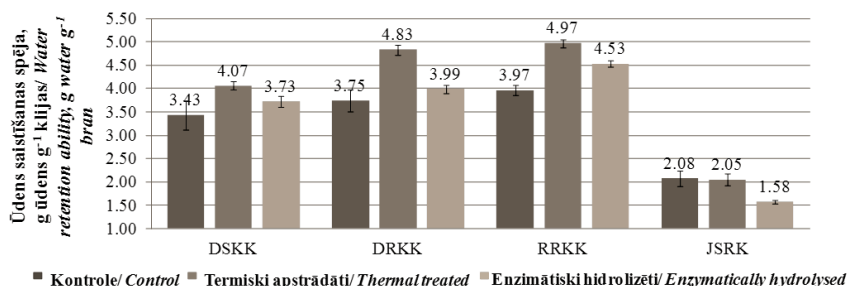
DSKK – Akciju sabiedrība (AS) ‘Dobeles dzirnavnieks’ – smalkās kviešu klijas/ *Join-stock company (SC) ‘Dobeles dzirnavnieks’ – fine wheat bran*; DRKK – AS ‘Dobeles dzirnavnieks’ rupjās kviešu klijas/ *SC ‘Dobeles dzirnavnieks’ – coarse wheat bran*; RRKK – AS ‘Rīgas dzirnavnieks’ – rupjās kviešu klijas/ *SC ‘Rīgas dzirnavnieks’ – coarse wheat bran*; JSRK – AS ‘Jelgavas dzirnavas’ – smalkās rudzu klijas/ *SC ‘Jelgavas dzirnavas’ – fine rye bran*

9. att. Šķīstošās sausnas saturs kliju paraugos, °Brix Fig. 9. Soluble solids content in bran samples, °Brix

Iegūtie rezultāti parāda, ka vislielākais šķīstošās sausnas saturs bija enzimatiski hidrolizētās klijās no $6,6 \pm 0,3$ (DRKK) līdz $9,5 \pm 0,3$ °Brix (JSRK), savukārt mazākais saturs konstatēts kontroles paraugos no $2,2 \pm 0,1$ (DRKK) līdz $3,1 \pm 0,1$ °Brix (JSRK). Dotie rezultāti apstiprina, ka enzimatiskās hidrolīzes laikā notika daļēja kliju sastāvā esošo nešķīstošo komponentu pāreja šķīstošā formā, piemēram, cietes, celulozes, hemicelulozes, arabinoksilāna sadalīšanās, kas paaugstina to šķīstošās sausnas saturu. Aprēķinot kopsakarību starp kopējo cukuru daudzumu un šķīstošās sausnas saturu klijās (3.14. attēls), konstatēta cieša kopsakarība ($r=0,893$).

Kliju ūdens saistīšanas spēja ir īpašība noturēt ūdeni produktā. Kliju ūdens saistīšanas spēja ir atkarīga no šķiedrvielu ķīmiskā sastāva un struktūras (Robertson, Eastwood, 1981). Piemēram, no Robertsons un Estvuds pētījumu rezultātiem zināms, ka 1 g kliju spēj saistīt aptuveni 3,7 g ūdens, (Robertson, Eastwood, 1981). No literatūras avotiem zināms, ka kliju ūdens saistīšanas spēja ir saistīta ar nešķīstošo šķiedrvielu hidrofilajām īpašībām un kliju daļiņu izmēriem (Esposito et al., 2005).

Analizējot ūdens saistīšanas spēju, noteikts, ka pastāv būtiska ($p<0,05$) atšķirība starp kviešu un rudzu kliju paraugiem. Pētījuma rezultāti liecina (10. attēls), ka kviešu kliju kontroles paraugos ūdens saistīšanas spēja bija $3,43 \pm 0,31$ (DSKK), $3,75 \pm 0,23$ (DRKK), $3,97 \pm 0,11$ (RRKK), savukārt rudzu klijās $2,08 \pm 0,17$ g ūdens g^{-1} .



DSKK – Akciju sabiedrība (AS) ‘Dobeles dzirnavnieks’ – smalkās kviešu klijas/ *Join-stock company (SC) ‘Dobeles dzirnavnieks’ – fine wheat bran*; DRKK – AS ‘Dobeles dzirnavnieks’ – rupjās kviešu klijas/ *SC ‘Dobeles dzirnavnieks’ – coarse wheat bran*; RKKK – AS ‘Rīgas dzirnavnieks’ – rupjās kviešu klijas/ *SC ‘Rīgas dzirnavnieks’ – coarse wheat bran*; JSRK – AS ‘Jelgavas dzirnavas’ – smalkās rudzu klijas/ *SC ‘Jelgavas dzirnavas’ – fine rye bran*

10. att. Kliju un enzimatiski hidrolizēto kliju ūdens saistīšanas spēja, g ūdens g⁻¹

Fig. 10. Water retention ability of bran and enzymatically hydrolysed bran, g of water

Pēc kliju enzimatiskās hidrolīzes konstatēts, ka nepastāv būtiskas ($p < 0,05$) atšķirības starp kviešu kliju paraugiem ūdens saistīšanas ziņā. Savukārt rudzu kliju ūdens saistīšanas spēja būtiski ($p < 0,05$) samazinājās (par 24,08%), ko varētu skaidrot ar nešķīstošo un šķīstošo šķiedrvielu īpatnību un to attiecību maiņu enzimatiskās hidrolīzes laikā, kā arī ar cietes saturu paraugos.

Enzimātiskās hidrolīzes laikā, šķeļoties uzturvielām, mainās kliju mikrostruktūra un arī daļiņu izmērs, kas tomēr varētu uzlabot kliju īpašības, un klijas būs piemērotākas maizes ražošanai. Daļiņu izmēru ietekmē malšanas iekārtas un tehnoloģiskās īpatnības. Graudu malšanas procesā rodas blakusprodukts klijas ar daļiņu izmēriem no 46 līdz 831 μm (Nīderlandes dzirnavās), no 200 līdz 1000 μm (Somijas dzirnavās) (Noort et al., 2010; Kamal-Eldin et al., 2009).

Pētījumā noteikti kviešu un rudzu kliju daļiņu izmēru procentuālā attiecība (1. tabula). Izmaiņas novērotas gan starp kliju veidiem, gan apstrādes veidiem.

1. tabula/ Table 1

**Relatīvais daļiņu izmērs un sadalījums klijās un enzīmātiski hidrolizētās klijās, %/
Relative particle size and distribution in bran and enzymatically hydrolysed bran, %**

Paraugs/ Samples	Kontroles kviešu un rudzu klijas/ Control wheat and rye bran							
	Relatīvais daļiņu izmērs (µm), %/ Relative particle size (µm), %							
	750 µm	450 µm	315 µm	250 µm	200 µm	160 µm	<160 µm	Tehnoloģiskie zudumi, %/ Technological losses, %
DSKK	0.05	8.05	23.05	17.25	17.85	13.85	15.10	4.80
DRKK	57.35	20.65	13.66	3.80	1.23	0.43	0.25	2.63
RRKK	89.00	5.60	1.30	0.20	0.05	n.k.*	n.k.*	3.85
JSRK	0.06	1.80	6.30	29.40	46.7	12.8	2.1	0.84
Termiski apstrādātas kviešu un rudzu klijas/ Thermal treated wheat and rye bran								
DSKK	0.1	7.60	24.90	18.31	16.79	4.76	15.12	2.42
DRKK	56.18	22.38	12.11	4.80	2.23	0.13	0.20	1.97
RRKK	82.20	5.49	1.19	0.40	0.08	n.k.*	n.k.*	10.64
JSRK	0.20	1.21	5.15	27.4	50.3	11.13	1.01	3.60
Enzīmātiski hidrolizētās kviešu un rudzu klijas/ Enzymatically hydrolysed wheat and rye bran								
DSKK	n.k.*	18.33	5.00	1.67	21.67	1.67	50.33	1.33
DRKK	35.00	10.00	5.00	1.70	16.67	0.33	30.00	1.30
RRKK	64.88	2.44	1.71	8.78	12.20	7.32	n.k.*	2.67
JSRK	39.18	9.28	4.12	35.05	5.15	4.43	1.03	1.76

n.k.* – nav konstatētas/ not detected; DSKK – Akciju sabiedrība (AS) ‘Dobeles dzirnavnieks’ – smalkās kviešu klijas/ Join-stock company (SC) ‘Dobeles dzirnavnieks’ – fine wheat bran; DRKK – AS ‘Dobeles dzirnavnieks’ rupjās kviešu klijas/ SC ‘Dobeles dzirnavnieks’ – coarse wheat bran; RRKK – AS ‘Rīgas dzirnavnieks’ – rupjās kviešu klijas/ SC ‘Rīgas dzirnavnieks’ – coarse wheat bran; JSRK – AS ‘Jelgavas dzirnavas’ – smalkās rudzu klijas/ SC ‘Jelgavas dzirnavas’ – fine rye bran

Iegūtie rezultāti parādīja, ka pēc kliju enzimatiskās hidrolīzes notika cietes un ne-cietes polisaharīdu sadalīšanās, un kliju daļiņu izmēri samazinājās. Kliju daļiņu izmēru samazināšana ļautu plašāk izmantot klijas maizes ražošanā, saglabājot maizes kvalitāti.

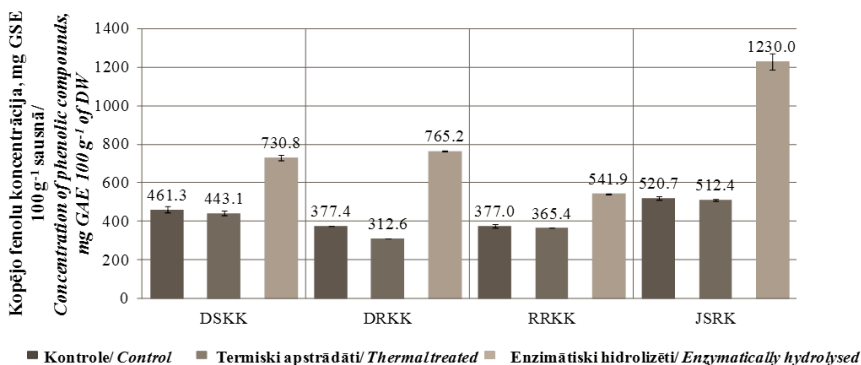
2. Kliju bioloģiski aktīvo vielu izvērtējums

Graudaugu pārstrādes blakusprodukts – klijas, ir svarīgs bioloģiski aktīvo savienojumu avots. Taču zinātnieki norāda, ka praktiski visas bioloģiski aktīvās vielas klijās, atrodas saistītā veidā kliju strukturālos komponentos. Fenolu savienojumi klijās atrodas saistīti veidā ar polisaharīdiem. Kliju apstrāde (enzimātiska, mehāniska) nepieciešama, lai atbrīvotu fenolu saistītās formas un paaugstinātu bioloģisko vielu pieejamību cilvēka organismam.

Brīvie fenolu savienojumi graudos atrodas augu šūnu vakuolās (Pandey, Rizvi, 2009), bet konjugētie fenoli ir esterificēti ar cukuriem un citiem mazmolekulāriem savienojumiem. Nešķīstošās saistītās fenolu savienojumu formas graudos ir kovalenti saistītas ar šūnu sieniņu strukturāliem komponentiem: celulozes, hemicelulozes, lignīna, olbaltumvielām (McKee, Latner, 2000; Arranz et al., 2010).

Lai panāktu saistīto fenola savienojumu atbrīvošanu no šūnu sieniņu strukturāliem komponentiem, kā arī nodrošinātu to bioloģisko pieejamību cilvēka organismam, enzimatiskā hidrolīze ir viens no veidiem, kā to sasniegt.

Rezultāti par kopējo fenolu saturu kliju paraugos atspoguļoti 11. attēlā.



DSKK – Akciju sabiedrība (AS) ‘Dobeles dzirnavnieks’ – smalkās kviešu klijas/ *Joint-stock company (SC) ‘Dobeles dzirnavnieks’ – fine wheat bran*; DRKK – AS ‘Dobeles dzirnavnieks’ rupjās kviešu klijas/ *SC ‘Dobeles dzirnavnieks’ – coarse wheat bran*; RRRK – AS ‘Rīgas dzirnavnieks’– rupjās kviešu klijas/ *SC ‘Rīgas dzirnavnieks’ – coarse wheat bran*; JSRK – AS ‘Jelgavas dzirnavas’ – smalkās rudzu klijas/ *SC ‘Jelgavas dzirnavas’ – fine rye bran*

**11. att. Kopējo fenolu saturs klijās un enzimatiski hidrolizētās klijās/
Fig. 11. Total phenolics content in bran and enzymatically hydrolysed bran**

Analizējot rezultātus, tika novērots, ka sākotnēji fenolu saturs kontroles paraugos bija $461,3 \pm 17,6$ (DSKK), $377,4 \pm 0,41$ (DRKK), $377,0 \pm 9,78$ (RRKK) un $520,7 \pm 7,17$ (JSRK) mg GSE 100 g⁻¹ sausnā. Tika noteikts, ka pastāv būtiskas ($p < 0,05$) atšķirības starp kviešu un rudzu klijām un paraugiem ar atšķirīgiem daļiņu izmēriem. Hemerijs norāda, ka liela nozīme ir daļiņu izmēriem, kādā tiek sasmalcināti graudu apvalciņi jeb klijas. Pētījums pierāda, ka kliju bioloģiskā vērtība pieaug, ja malšanas procesā iegūst ultra-maza ($< 150 \mu\text{m}$) izmēra daļiņas un palielinoties virsmas laukumam, tiek paaugstināta enzīmu iedarbība hidrolīzes procesā, gan arī klijas sagremojot. Palielinās konjugēto un brīvo fenolu savienojumu disociācija gremošanas traktā (Hemery et al., 2010).

Pētījumā iegūtie rezultāti parāda, ka kopējo fenolu īpatsvars ir lielāks paraugos ar daļiņu izmēru $215,8 \pm 2 \mu\text{m}$ (DSSK) un $276,0 \pm 2 \mu\text{m}$ (JSRK).

Termiski apstrādātos kliju paraugos kopējo fenolu saturs samazinājās vidēji par 25,77%. Izmaiņas termiski atstrādātos kliju paraugos izskaidrojamas ar fenolu savienojumu termisko nestabilitāti. Par to norāda arī pētnieka Vojdilo un kolēģu pētījuma rezultāti, ka, karsējot paraugus 50°C līdz 70°C temperatūrā, novērota kopējo fenolu satura samazināšanās. Autori secināja, ka vislielākais kopējo fenolu samazinājums konstatēts paraugos, kas apstrādāti 70°C temperatūrā (Wojdyło et al., 2007).

Enzimātiski hidrolizētās kviešu un rudzu klijās kopējo fenolu saturs ievērojami paaugstinājās. Lielākais pieaugums vērojams rudzu kliju paraugos no $520,7 \pm 7,17$ līdz $1230,0 \pm 42,57$ mg GSE 100 g⁻¹ sausnā, savukārt kviešu kliju DSKK paraugā līdz $730,8 \pm 13,05$ mg GSE 100 g⁻¹ sausnā. No iegūtajiem rezultātiem par kopējo fenolu saturu kliju paraugos, var secināt, ka, izmantojot enzīmātiskos preparātus kliju hidrolīzei, var būtiski ($p < 0,05$) atbrīvot saistītas fenolu savienojumu formas no šūnu sienīņu strukturāliem komponentiem, paaugstinot kliju uzturvērtību, vienlaicīgi paaugstinot to ekstrahēšanas kapacitāti.

No literatūras avotiem zināms, ka tokohromanoli ir cieši saistīti ar graudos esošiem savienojumiem, bet informācija par enzīmātiskās hidrolīzes ietekmi uz tokohromanolu koncentrāciju izmaiņu netika atrasta.

Kamal-Eldin un līdzautoru pētījumi parāda, ka galvenais klijās esošais tokohromanolu izomērs ir α -un β -tokotrienols. Kviešos α -tokotrienola saturs ir robežās no 1,1 līdz 2,2 mg 100 g⁻¹ sausnā, bet rudzos no 2,7 līdz 6,4 mg 100 g⁻¹ sausnā. Kviešu klijās β -tokotrienolu saturs ir robežās no 4,9 līdz 8,1 mg 100 g⁻¹ sausnā, bet rudzu klijās no 2,3 līdz 4,5 mg 100 g⁻¹ sausnā (Kamal-Eldin et al., 2009).

Analizējot pētījumā iegūtos rezultātus, redzams, ka pastāv būtiskas ($p < 0,05$) atšķirības starp tokohromanolu saturu kviešu un rudzu kliju paraugos. Galvenie tokohromanolu izomēri, kas tika atrasti kviešu kliju paraugos, bija un β -tokoferols, kā arī α - un β -tokotrienols, savukārt rudzu klijās α - un

β-tokotrienols. Eksperimenta rezultāti par tokoferolu un tokotrienolu saturu kliju paraugos doti (2. tabulā).

2. tabula/ Table 2

**Tokohromanolu saturs klijās klijās un enzimatiski hidrolizētās klijās/
Tocochromanol content in bran and enzymatically hydrolysed bran**

Kliju veids/ Type of bran	Tokohromanolu saturs (mg 100 g ⁻¹ sausnā)/ Tocochromanol content (mg 100 g ⁻¹ DW)				
	α-tokoferols/ α-tocopherol	β-tokoferols/ β-tocopherol	α-tokotrienols/ α-tocotrienol	β-tokotrienols/ β-tocotrienol	Kopā/ Total
Kontrole/ Control					
DSKK	2.65±0.06	1.94±0.09	2.31±0.05	11.18±0.23	18.10±0.20
DRKK	1.82±0.04	0.99±0.03	2.24±0.03	11.39±0.12	16.44±0.10
RRKK	0.96±0.02	0.47±0.02	1.45±0.10	9.13±0.58	12.02±0.60
JSRK	0.74±0.02	0.30±0.02	6.04±0.09	5.06±0.06	12.16±0.03
Termiski apstrādāti/ Thermal reateted					
DSKK	2.60±0.01	1.67±0.03	1.56±0.04	6.13±0.36	11.96±0.12
DRKK	1.74±0.04	0.87±0.28	1.65±0.06	7.14±0.09	11.4±0.07
RRKK	0.91±0.07	0.40±0.04	0.98±0.32	5.68±0.10	7.97±0.01
JSRK	0.65±0.08	0.27±0.01	4.11±0.03	4.54±0.07	9.57±0.07
Enzimātiski hidrolizēti/ Enzymatically hydrolysed					
DSKK	1.39±0.02	0.91±0.02	1.99±0.04	9.15±0.08	13.44±0.07
DRKK	1.03±0.03	0.66±0.01	1.61±0.02	7.98±0.15	11.28±0.14
RRKK	0.63±0.01	0.29±0.02	1.19±0.07	7.19±0.11	9.31±0.05
JSRK	0.45±0.04	0.17±0.01	4.51±0.07	4.04±0.12	9.17±0.02

DSKK – Akciju sabiedrība (AS) ‘Dobeles dzirnavnieks’ – smalkās kviešu klijas/ *Join-stock company (SC) ‘Dobeles dzirnavnieks’ – fine wheat bran*; DRKK – AS ‘Dobeles dzirnavnieks’ rupjās kviešu klijas/ *SC ‘Dobeles dzirnavnieks’ – coarse wheat bran*; RRKK – AS ‘Rīgas dzirnavnieks’– rupjās kviešu klijas/ *SC ‘Rīgas dzirnavnieks’ – coarse wheat bran*; JSRK – AS ‘Jelgavas dzirnavas’ – smalkās rudzu klijas/ *SC ‘Jelgavas dzirnavas’ – fine rye bran*

No iegūtajiem rezultātiem redzams, ka kontroles kviešu kliju paraugos kopējo tokohromanolu saturs bija no 12,02±0,60 (RRKK) līdz 18,10±0,20 (DSKK), rudzu klijās 12,16±0,03. Dominējošais izomērs, kas tika atrasts kviešu klijās, bija β-tokotrienols – no 9,13±0,58 līdz 11,39±0,12 mg 100 g⁻¹ sausnā. Rudzu klijās bija β-tokotrienols – 5,06±0,06 (JSRK), α-tokotrienols 6,04±0,09 mg 100 g⁻¹ sausnā. Salīdzinot promocijas darbā iegūtos rezultātus ar Kamal-Eldin datiem, var secināt, ka dotajā pētījumā kopējo tokohromanolu

saturs kontroles kliju paraugos bija augstāks (Kamal-Eldin et al., 2009). Būtiskās atšķirības ir skaidrojamas ar pielietotās tokohromanolu ekstrahēšanas metodi. Kamal-Eldin savā pētījumā tokohromanolu ekstrahēšanai lietoja kālija hidroksīdu (KOH), bet dotajā eksperimentā lietots heksāns ($\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}_3$).

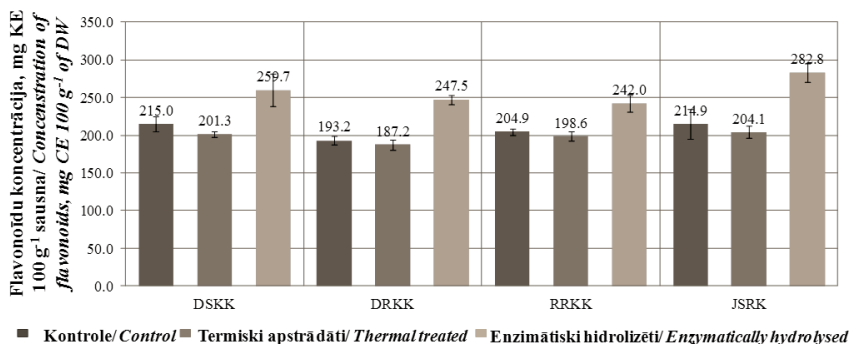
Analizējot iegūtos rezultātus pēc kliju termiskās apstrādes, α -tokoferola zudumi vidēji sastādīja – 5,91%, β -tokoferola – 12,73%, α -tokotrienola – 30,79% un β -tokotrienola – 32,63%.

Dotā eksperimenta rezultāti apstiprina, ka α -tokoferols ir termiski izturīgs savienojums. Apstrādājot klijas temperatūrā, sākot ar 44 ± 1 °C (3,2 stundas), 55 ± 1 °C (0,5 stundas) un 99 ± 1 °C (10 ± 1 min), notika tikai tā daļēja degradēšana. Zinātnieks Bruskato un kolēģi nonāca pie līdzīga secinājuma, ka, apstrādājot rīsu kliju paraugus 100 °C temperatūrā, α -tokoferols samazinās par 3%, bet ($\gamma + \beta$) tokoferola saturs samazinājās par 13% (Bruscatto et al., 2009). Pēc kliju enzimatiskās hidrolīzes kopējo tokohromanolu saturs samazinājās un bija robežās no $9,17 \pm 0,02$ (DSKK) līdz $13,44 \pm 0,07$ mg 100 g⁻¹ sausa (JSRK). α -tokoferola zudumi sastādīja – 41,12%, β -tokoferola – 42,01%, α -tokotrienola – 21,31% un β -tokotrienola – 22,37%.

Dotā eksperimenta iegūtie rezultāti par tokohromanoliem kliju paraugos norāda, ka pēc enzimatiskās hidrolīzes α -tokoferola un β -tokoferola zudumi bija lielāki nekā α -tokotrienola un β -tokotrienola.

No literatūras avotiem zināms, ka pilngraudu produkti ir flavonoīdu avots. Arī Adom un kolēģi atrada, ka 79% no kopējo flavonoīdu daudzuma graudos koncentrējas klijās (Adom et al., 2005). Noskaidrots, ka flavonoīdi graudaugos atrodas saistītā veidā ar cukuriem, lignīnu, celulozi, hemicelulozi, kā arī ar olbaltumvielām (Liu, 2007). Lai panāktu saistīto flavonoīdu savienojumu atbrīvošanu no šūnu sienīņu strukturāliem komponentiem, kā arī kliju bioloģiskas pieejamības nodrošināšanu cilvēka organismam, iespējams izmantot enzimatisko hidrolīzi.

Eksperimentāli noskaidrots, ka, izmantojot enzīmu α -amilāzi – aktivitāte 125 U (500 μ l) un enzīmu kompleksu Viscozyme L – aktivitāte 50 U (500 μ l), iespējams būtiski ($p < 0,05$) paaugstināt brīvo flavonoīdu saturu klijās (12. attēls.).



DSKK – Akciju sabiedrība (AS) ‘Dobeles dzirnavnieks’ – smalkās kviešu klijas/ *Joint-stock company (SC) ‘Dobeles dzirnavnieks’ – fine wheat bran*; DRKK – AS ‘Dobeles dzirnavnieks’ rupjās kviešu klijas/ *SC ‘Dobeles dzirnavnieks’ – coarse wheat bran*; RKKK – AS ‘Rīgas dzirnavnieks’ – rupjās kviešu klijas/ *SC ‘Rīgas dzirnavnieks’ – coarse wheat bran*; JSRK – AS ‘Jelgavas dzirnavas’ – smalkās rudzu klijas/ *SC ‘Jelgavas dzirnavas’ – fine rye bran*

12. att. Kopējo flavonoīdu saturs klijās un enzimatiski hidrolizētās klijās/ Fig. 12. Total flavonoid content in bran and enzymatically hydrolysed bran

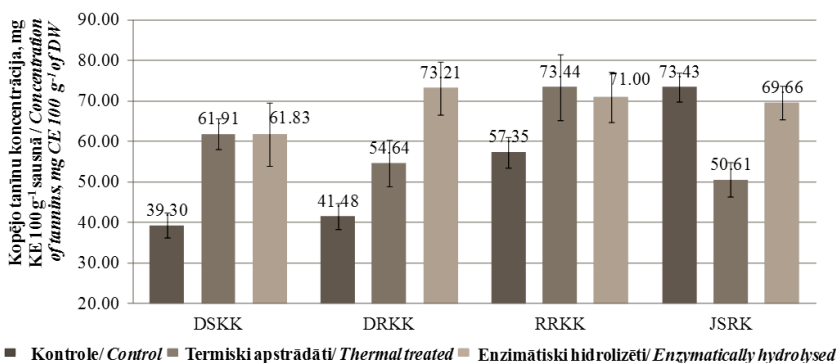
Analizējot iegūtos rezultātus, redzams, ka kontroles kviešu paraugos flavonoīdu saturs bija no $193,2 \pm 5,56$ (DRKK) līdz $215,0 \pm 10,16$ mg KE 100 g^{-1} sausnā (DSKK), rudzu klijās $214,9 \pm 19,70$ (JSRK). Iegūtie rezultāti parāda, ka nepastāv būtiskas atšķirības starp kviešu un rudzu klijām. Kopējo flavonoīdu saturu neietekmē kliju daļiņu izmērs.

Izvērtējot iegūtos rezultātus pēc kliju termiskās apstrādes, konstatēts, ka augstas temperatūras ($99 \pm 1 \text{ }^{\circ}\text{C}$) ietekmes rezultātā flavonoīdu koncentrācija paraugos nebūtiski ($p > 0,05$) samazinājās.

Enzimātiski hidrolizētās klijās flavonoīdu saturs būtiski ($p < 0,05$) paaugstinājās. Paraugā DRKK flavonoīdu saturs bija $247,5 \pm 6,17$, paraugā DSKK $259,7 \pm 21,50$, paraugā JSRK $282,8 \pm 12,14$, bet paraugā RKKK $242,0 \pm 10,82$ mg KE 100 g^{-1} sausnā.

Līdzīgi kā iepriekš, būtisku ($p < 0,05$) pieaugumu enzimatiski hidrolizētās klijās skaidrojam ar saistīto flavonoīdu pāreju brīvā formā.

Tanīni ir plaši izplatīti augu valsts izejvielās. Divi galvenie savienojumi, kas ir attiecināmi pie tanīniem, ir proantocianidīns (kondensēta tanīna forma) un hidrolizējamais tanīns. Kompleksais tanīns veidots no abām šīm formām. Tanīnu bioloģiskā aktivitāte atkarīga no polimerizācijas un līdz ar to šķīdības pakāpes. Polimerizēts tanīns demonstrē zemu bioloģisko pieejamību cilvēka organismam, kā arī zemu fermentācijas spēju ar zarnu mikrofloru. Kliju enzimatiskā hidrolīze panāktu saistīto tanīnu atbrīvošanu no šūnu sienīņu strukturāliem komponentiem un nodrošinātu kliju bioloģisko pieejamību cilvēka organismam.



DSKK – Akciju sabiedrība (AS) ‘Dobeles dzirnavnieks’ – smalkās kviešu klijas/ *Join-stock company (SC) ‘Dobeles dzirnavnieks’ – fine wheat bran*; DRKK – AS ‘Dobeles dzirnavnieks’ rupjās kviešu klijas/ *SC ‘Dobeles dzirnavnieks’ – coarse wheat bran*; RRKK – AS ‘Rīgas dzirnavnieks’ – rupjās kviešu klijas/ *SC ‘Rīgas dzirnavnieks’ – coarse wheat bran*; JSRK – AS ‘Jelgavas dzirnavas’ – smalkās rudzu klijas/ *SC ‘Jelgavas dzirnavas’ – fine rye bran*

13. att. Kopējo tanīnu saturs klijās un enzimatiski hidrolizētās klijās/ Fig. 13. Total tannin content in bran and enzymatically hydrolysed bran

Analizējot pētījuma rezultātus par kopējo tanīnu saturu kliju paraugos (3.18 attēls), noteikts, ka sākotnējais to saturs paraugos bija $39,30 \pm 3,14$ (DSKK), $41,48 \pm 3,23$ (DRKK), $57,35 \pm 3,81$ (RRKK) un $73,43 \pm 8,10$ mg KE 100 g^{-1} saussnā (JSRK).

Vislielākais tanīnu saturs ir noteikts rudzu klijās (JSRK). Kviešu klijās lielākais tanīnu saturs ir noteikts RRKK paraugā, kam 82,20% sastāda daļiņas ar izmēru $750 \text{ }\mu\text{m}$. Zemākais tanīnu saturs konstatēts klijās (DSKK) kam 23,05% no kopēja daudzuma sastāda daļiņas ar izmēru $315 \text{ }\mu\text{m}$ un 17,25% ar izmēru $250 \text{ }\mu\text{m}$. Rezultāti par tanīnu saturu kviešu klijās apstiprina iepriekšminēto, ka kliju daļiņu lielums ietekmi tanīnu saturu.

Termiski apstrādājot klijas, kopējo tanīnu saturs būtiski ($p < 0,05$) paaugstinās – $61,91 \pm 3,71$ (DSKK), $56,64 \pm 5,70$ (DRKK), $73,44 \pm 8,1$ mg KE 100 g^{-1} saussnā (RRKK), bet paraugam JSRK kopējo tanīnu saturs samazinājās līdz $50,61 \pm 4,2$ mg KE 100 g^{-1} saussnā. Tanīna satura paaugstināšanu iespējams skaidrot ar depolimerizāciju augstās temperatūrās ($99 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$), pateicoties tām veidojas savienojumi ar mazu polimerizācijas pakāpi un labu šķīdību ūdenī. Līdzīgu skaidrojumu apraksta zinātnieks Al-Jasser, pētot mērcēšanas un cepšanas procesus sorgo (*Sorghum*) apstrādei. Autors norāda, ka tanīna koncentrācijas palielināšana var būt arī saistīta ar to, ka termiskās apstrādes laikā notika polifenoloksidāzes inhibēšana, kas ir atbildīga par tanīnu oksidēšanu (Al-Jasser, 2005).

Izvērtējot rezultātus par tanīnu saturu klijās pēc enzimatiskās hidrolīzes, konstatēta tanīnu satura paaugstināšana – $61,83 \pm 7,8$ (DSKK),

73,21±6,5 (DRKK), 71,00±6,1 mg KE 100 g⁻¹ sausnā (RRKK). Savukārt paraugam JSRK tanīnu saturs samazinājies līdz 69,66±4,1 mg KE 100 g⁻¹ sausnā. Vislielākais tanīnu pieaugums konstatēts DRKK paraugā, tanīni paaugstinājās par 76,45%. Būtisku pieaugumu var izskaidrot ar tanīnu savienojuma formu šajā paraugā, iespējams, ka sastāvā ietilpst vairāk hidrolizējamais tanīns, kam ir lielāks hidrolizēšanas potenciāls un līdz ar to augstāka spēja pāriet ekstraktā salīdzinājumā ar kondestēto formu.

Fenolu savienojumiem raksturīgas antiradikālās īpašības, tādēļ turpmāk pētītas šīs īpašības kliju paraugos.

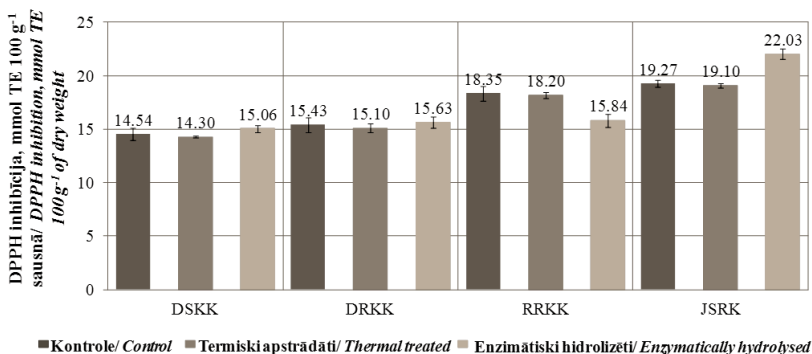
Kliju un enzimatiski hidrolizēto kliju antiradikālās aktivitātes pārbaude ar DPPH un FRAP reagentu

Pētījuma rezultāti par antiradikālo aktivitāti (DPPH metode) parāda, ka kontroles paraugos pastāv būtiska ($p<0,05$) atšķirība starp kviešu kliju paraugiem no dažādiem ražotājiem un starp kviešu un rudzu kliju paraugiem.

Termiskās apstrādes laikā būtiskas izmaiņas netika konstatētas. Tomēr izmaiņas konstatētas enzimatiski hidrolizētos kliju paraugos.

Enzimātiski hidrolizētās un kontroles kviešu un rudzu klijās liecina (14. attēls), ka, izmantojot enzimatiskos preparātus, kliju antiradikālā aktivitāte būtiski neatšķiras ($p>0,05$).

Pēc kliju enzimatiskās hidrolīzes RRKK paraugā antiradikālā aktivitāte samazinājās no 18,35±0,70 līdz 15,84±0,59 mmol TE 100 g⁻¹. Viens no iespējamajiem izskaidrojumiem, ar ko var saistīt antiradikālās aktivitātes samazinājumu RRKK paraugā, ir tas, ka tomēr DPPH metode ir vairāk balstīta uz antiradikālās aktivitātes noteikšanu, kas attiecas uz kopējām bioloģiski aktīvām vielām (tokoferoli, tokotrienoli, aminoskābes, alkilrezorcinoli, ogļhidrāti), nevis konkrēti uz fenolu savienojumiem. Visi iepriekšminētie savienojumi darbojas sinerģiski, nododot brīvam radikālim (DPPH) elektronu vai ūdeņraža molekulu un padarot to neaktīvu (inhibēšana).



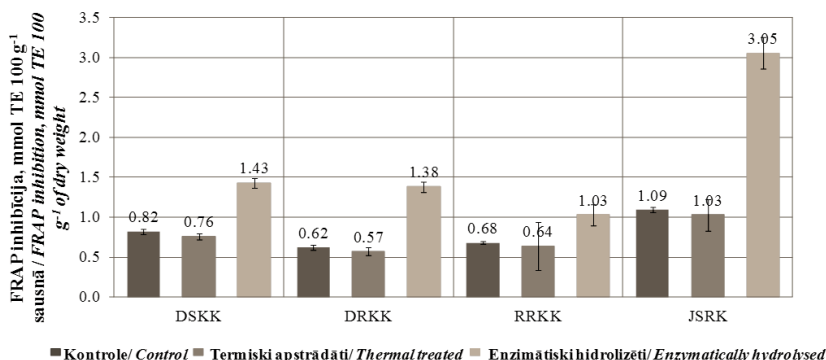
DSKK – Akciju sabiedrība (AS) ‘Dobeles dzirnavnieks’ – smalkās kviešu klijas/ *Joint-stock company (SC) ‘Dobeles dzirnavnieks’ – fine wheat bran*; DRKK – AS ‘Dobeles dzirnavnieks’ rupjās kviešu klijas/ *SC ‘Dobeles dzirnavnieks’ – coarse wheat bran*; RRRK – AS ‘Rīgas dzirnavnieks’ – rupjās kviešu klijas/ *SC ‘Rīgas dzirnavnieks’ – coarse wheat bran*; JSRK – AS ‘Jelgavas dzirnavas’ – smalkās rudzu klijas/ *SC ‘Jelgavas dzirnavas’ – fine rye bran*

14. att. Kliju un enzimatiski hidrolizēto kliju antiradikālā aktivitāte ar DPPH metodi, mmol TE 100 g⁻¹ sausnā/

Fig. 14. Bran and enzymatically hydrolysed bran antiradical activity determined with DPPH method, mmol TE per 100 g⁻¹ of dry weight

Pārbaudot antiradikālo aktivitāti kliju paraugos, izmantojot FRAP metodi (15. attēls) konstatēts, ka starp kontroles un enzimatiski hidrolizētiem kliju paraugiem pastāv būtiskas ($p < 0,05$) atšķirības. Atšķirības novērojamas dažādu ražotāju kviešu kliju paraugos. Paraugos no AS „Dobeles dzirnavnieks” tā bija $1,43 \pm 0,06$ mmol TE 100 g⁻¹ sausnā (DSKK) un $1,38 \pm 0,06$ mmol TE 100 g⁻¹ sausnā (DRKK). Savukārt no AS „Rīgas dzirnavnieks” $1,03 \pm 0,12$ mmol TE 100 g⁻¹ sausnā, ko var skaidrot ar kliju izmēriem un bioloģiski aktīvo vielu saturu paraugā.

Būtiska atšķirība tika novērota starp kviešu un rudzu klijām. Enzimātiski hidrolizētos rudzu kliju paraugos ir $3,05 \pm 0,20$ mmol TE 100 g⁻¹ sausnā. To var skaidrot līdzīgi kā iepriekš ar kliju izmēriem un bioloģiski aktīvo vielu saturu paraugos.



DSKK – Akciju sabiedrība (AS) ‘Dobeles dzirnavnieks’ – smalkās kviešu klijas/ *Join-stock company (SC) ‘Dobeles dzirnavnieks’ – fine wheat bran*; DRKK – AS ‘Dobeles dzirnavnieks’ rupjās kviešu klijas/ *SC ‘Dobeles dzirnavnieks’ – coarse wheat bran*; RRKK – AS ‘Rīgas dzirnavnieks’– rupjās kviešu klijas/ *SC ‘Rīgas dzirnavnieks’ – coarse wheat bran*; JSRK – AS ‘Jelgavas dzirnavas’ – smalkās rudzu klijas/ *SC ‘Jelgavas dzirnavas’ – fine rye bran*

15. att. Kliju un enzimatiski hidrolizēto kliju antiradikālā aktivitāte ar FRAP metodi, mmol TE 100 g⁻¹ sausnā/

Fig. 15. Bran and enzymatically hydrolysed bran antiradical activity determined with FRAP method, mmol TE per 100 g⁻¹ of dry weight

Salīdzinot rezultātus, var secināt, ka antiradikālā aktivitāte enzimatiski hidrolizētās klijās paaugstinājās: JSRK paraugā – 2,8 reizes, DRKK – 2,2 reizes, DSKK – 1,7 reizes un RRKK – 1,5 reizes. Antiradikālās aktivitātes paaugstināšanos nodrošina fenolu savienojumu atbrīvošana no kliju strukturāliem komponentiem enzimatiskās hidrolīzes laikā.

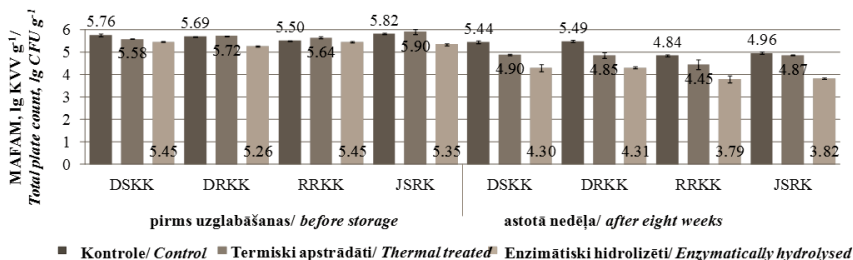
Ņemot vērā iegūtos rezultātus, var secināt, ka antiradikālās aktivitātes noteikšana ar FRAP metodi ir vairāk piemērota attiecībā pret kopējo fenolu savienojumiem, t.sk., flavonoīdu un tanīnu saturu.

3. Kliju un enzimatiski hidrolizēto kliju mikrobioloģisko rādītāju izvērtējums

Kliju mikrofloru un tās attīstību uzglabāšanas laikā būtiski ietekmē substrāts jeb barības vide. Dominējošās mikroskopiskās sēnes ir *Penicillium* spp., *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp. Klijas ir graudu ārējās un iekšējās daļas graudapvalki: perikarpa, testa, hialīna un aleirona slāņi, tādēļ to mikroflora ir riska faktors mikrobioloģiski drošam produktam.

Mezofili aerobo un fakultatīvi anaerobo baktēriju kopskaits kliju paraugos

Ekspērimētāli novērots, ka MAFAM koloniju veidojošo vienību skaits kontroles paraugos neatkarīgi no kliju veida bija no $5,50 \pm 0,02$ lg KVV g^{-1} (RRKK) līdz $5,76 \pm 0,07$ lg KVV g^{-1} (DRKK) (16. attēls). Pēc enzimatiskās hidrolīzes procesā temperatūras un vides pH izmaiņu rezultātā MAFAM koloniju veidojošo vienību skaits būtiski ($p < 0,05$) samazinājās par 5,30% (DSKK), 7,45% (DRKK), 0,95% (RRKK) un 8,05% (JSRK) paraugā.



DSKK – Akciju sabiedrība (AS) ‘Dobeles dzirnavnieks’ – smalkās kviešu klijas/ *Joint-stock company (SC) ‘Dobeles dzirnavnieks’ – fine wheat bran*; DRKK – AS ‘Dobeles dzirnavnieks’ rupjās kviešu klijas/ *SC ‘Dobeles dzirnavnieks’ – coarse wheat bran*; RRKK – AS ‘Rīgas dzirnavnieks’ – rupjās kviešu klijas/ *SC ‘Rīgas dzirnavnieks’ – coarse wheat bran*; JSRK – AS ‘Jelgavas dzirnavas’ – smalkās rudzu klijas/ *SC ‘Jelgavas dzirnavas’ – fine rye bran*

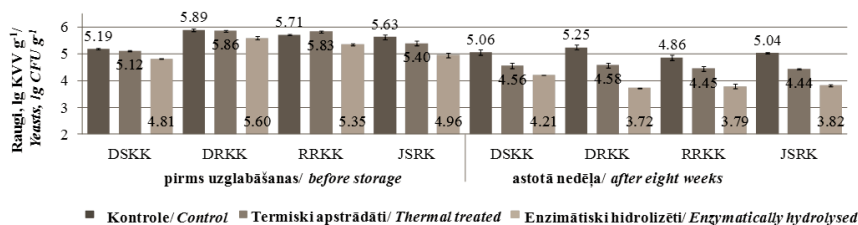
16. att. Kliju un enzimatiski hidrolizēto kliju mikrobioloģiskais piesārņojums ar MAFAM, lg KVV g^{-1}

Fig. 16. Bran and enzymatically hydrolysed bran particular microbiological contamination total plate count lg CFU g^{-1}

Uzglabājot klijas 8 nedēļas, vērojama pozitīva mikroorganismu samazināšanās dinamika. MAFAM koloniju veidojošo vienību skaits samazinājās par 25,33% (DSKK), 24,23% (DRKK), 31,07% (RRKK) un 34,32% (JSRK) paraugā.

Raugu kopskaits

Savvaļas raugi ir tipiskā graudu mikroflora, kura graudu malšanas rezultātā nonāk klijās. Rezultāti, kas iegūti, pārbaudot kliju paraugu mikrobioloģisko piesārņojumu ar raugiem, atspoguļoti 17. attēlā.



DSKK – Akciju sabiedrība (AS) ‘Dobeles dzirnavnieks’ – smalkās kviešu klijas/ *Joint-stock company (SC) ‘Dobeles dzirnavnieks’ – fine wheat bran*; DRKK – AS ‘Dobeles dzirnavnieks’ rupjās kviešu klijas/ *SC ‘Dobeles dzirnavnieks’ – coarse wheat bran*; RRKK – AS ‘Rīgas dzirnavnieks’ – rupjās kviešu klijas/ *SC ‘Rīgas dzirnavnieks’ – coarse wheat bran*; JSRK – AS ‘Jelgavas dzirnavas’ – smalkās rudzu klijas/ *SC ‘Jelgavas dzirnavas’ – fine rye bran*

17. att. Kliju un enzimatiski hidrolizēto kliju mikrobioloģiskais piesārņojums ar raugiem, lg KVV g⁻¹

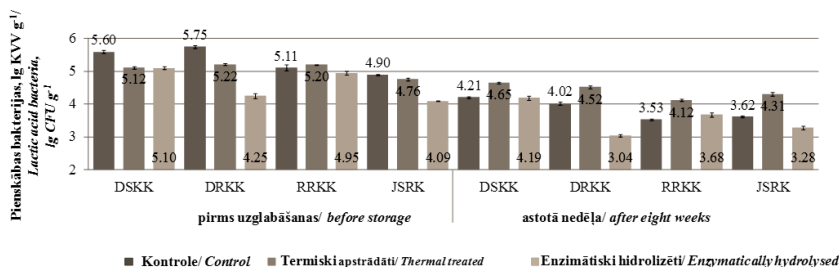
Fig. 17. Bran and enzymatically hydrolysed bran particular microbiological contamination with yeasts lg CFU g⁻¹

Pētījuma rezultāti parāda, ka enzimatiskās hidrolīzes rezultātā iespējams būtiski ($p < 0,05$) samazināt raugu koloniju veidojošo vienību skaitu. Enzimātiski hidrolizētām klijām raugu KVV skaits samazinājās DSKK par 7,20%, DRKK par 4,89%, RRKK par 6,31% un JSRK par 11,92%.

Uzglabājot klijas 8 nedēļas, vērojama pozitīva mikroorganismu samazināšanās dinamika. Raugu koloniju veidojošo vienību skaits samazinājās DSKK par 18,84%, DRKK par 36,85%, RRKK par 33,67%, JSRK par 32,13%.

Pienskābes baktēriju kopskaits

Iegūtie rezultāti liecina, ka augstākais mikrobioloģiskais piesārņojums ar pienskābes baktērijām atrasts kontroles variantos, DRKK paraugā $5,75 \pm 0,04$ lg KVV g⁻¹, DSKK $5,60 \pm 0,05$ lg KVV g⁻¹ (18. attēls). Enzimātiskās hidrolīzes procesā temperatūras un vides pH izmaiņu rezultātā pienskābes baktēriju KVV skaits samazinājās par 8,85% (DSKK), par 26,05% (DRKK), par 3,03% (RRKK) un par 16,45% (JSRK).



DSKK – Akciju sabiedrība (AS) ‘Dobeles dzirnavnieks’ – smalkās kviešu klijas/ *Join-stock company (SC) ‘Dobeles dzirnavnieks’ – fine wheat bran*; DRKK – AS ‘Dobeles dzirnavnieks’ rupjās kviešu klijas/ *SC ‘Dobeles dzirnavnieks’ – coarse wheat bran*; RRKK – AS ‘Rīgas dzirnavnieks’– rupjās kviešu klijas/ *SC ‘Rīgas dzirnavnieks’ – coarse wheat bran*; JSRK – AS ‘Jelgavas dzirnavas’ – smalkās rudzu klijas/ *SC ‘Jelgavas dzirnavas’ – fine rye bran*

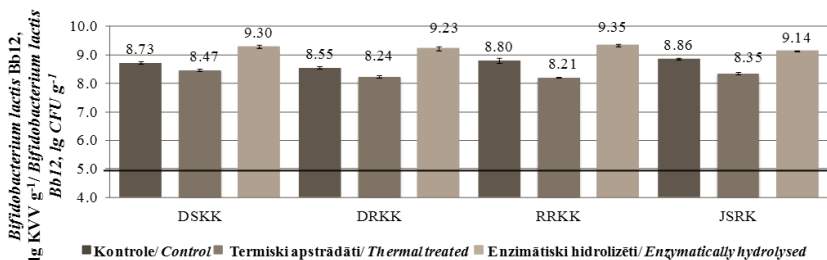
18. att. Kliju un enzīmātiski hidrolizēto kliju mikrobioloģiskais piesārņojums ar pienskābes baktērijām, lg KVV g⁻¹

Fig. 18. Bran and enzymatically hydrolysed bran particular microbiological contamination with lactic acid bacteria lg CFU g⁻¹

Konstatēts, ka pēc 8 nedēļu uzglabāšanas, enzīmātisko hidrolizēto kviešu un rudzu kliju koloniju veidojošo vienību skaits būtiski ($p < 0,05$) samazinājās, par 25,17% (DSKK), par 47,13% (DRKK), par 27,98% (RRKK) un par 33,06% (JSRK).

4. Kviešu un rudzu kliju fermentācija ar *Bifidobacterium lactis* Bb12

Mūsdienās zinātnieki pievērš arvien lielāku nozīmi funkcionālu produktu izstrādei. Šādos produktos esošie bioloģiski aktīvie komponenti, darbojoties vienā produktā, ir ar augstāku pozitīvo iedarbību, nekā katrs komponents atsevišķi izdalīts no produkta. Vairāki zinātnieki ir meklējuši iespēju graudaugus izmantot kā prebiotisko vidi probiotisko baktēriju attīstībai. Zinot bifidobaktēriju spēju asimilēt cukurus, var pieņemt, ka inokulējot bifidobaktērijas enzīmātiski hidrolizētās kliju substrātos, iespējams saglabāt to dzīvotspēju un aktivitāti. Pētījumā sterilās enzīmātiski hidrolizētās klijās pievienotas 10^7 KVV ml⁻¹ *Bifidobacterium lactis* Bb12 baktērijas un fermentētas 18 stundas, 37 °C temperatūrā, (Bb12 KVV skaits produkta maisījumā sastādīja 10^5 KVV g⁻¹) (19. attēlā melnā līnija).



DSKK – Akciju sabiedrība (AS) ‘Dobeles dzirnavnieks’ – smalkās kviešu klijas/ *Join-stock company (SC) ‘Dobeles dzirnavnieks’ – fine wheat bran*; DRKK – AS ‘Dobeles dzirnavnieks’ rupjās kviešu klijas/ *SC ‘Dobeles dzirnavnieks’ – coarse wheat bran*; RRKK – AS ‘Rīgas dzirnavnieks’ – rupjās kviešu klijas/ *SC ‘Rīgas dzirnavnieks’ – coarse wheat bran*; JSRK – AS ‘Jelgavas dzirnavas’ – smalkās rudzu klijas/ *SC ‘Jelgavas dzirnavas’ – fine rye bran*

19. att. *Bifidobacterium lactis* Bb12 koloniju veidojošo vienību skaits kliju paraugos pēc fermentācijas/

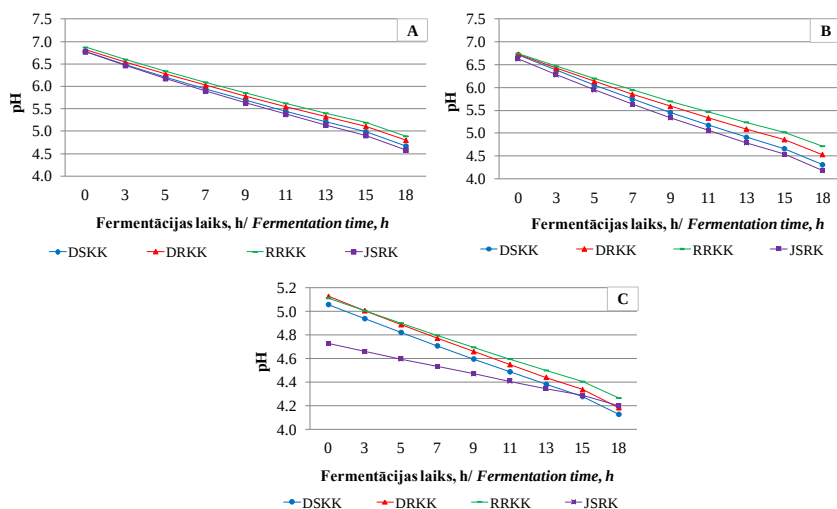
Fig. 19. Colony forming units of *Bifidobacterium lactis* Bb12 in bran samples after fermentation

Iegūtie rezultāti liecina, ka pēc fermentācijas Bb12 skaits visos kontroles paraugos pieauga (19. attēls) un bija robežās no $8,55 \pm 0,04$ (DRKK) līdz $8,86 \pm 0,05$ (JSRK) lg KVV g⁻¹ paraugā. Netika konstatētas atšķirības starp kviešu un rudzu klijām.

Termiski apstrādātos kliju paraugos pēc fermentācijas Bb12 KVV skaita pieaugums mazāks, salīdzinot ar kontroli, un bija robežās no $8,21 \pm 0,01$ lg KVV g⁻¹ (RRKK) līdz $8,47 \pm 0,03$ (DSKK) lg KVV g⁻¹. Tas skaidrojams ar kliju struktūr-mehānisko īpašību izmaiņu (cietes klīsterizēšanas, olbaltumvielu denaturācija) un substrāta nepieejamību baktēriju attīstībai.

Savukārt enzimatiski hidrolizēto kliju paraugos fermentācijas laikā ar Bb12 KVV skaits būtiski ($p < 0,05$) palielinājās, salīdzinot ar kontroles un termiski apstrādātiem paraugiem. Bb12 skaits kviešu kliju paraugos palielinājās vidēji līdz $9,29$ lg KVV g⁻¹ skaitu, bet rudzu klijās līdz $9,14$ lg KVV g⁻¹.

Fermentācijas laikā Bb12 producē organiskās skābes (skudrskābi, dzintarskābi, etiķskābi, pienskābi), kas ietekmē produkta vides pH. Pēc 18 stundu fermentācijas, kviešu un rudzu kliju substrāti, sasniedza optimālo pH vērtību, kas norāda uz Bb12 vairošanos (20. attēls).

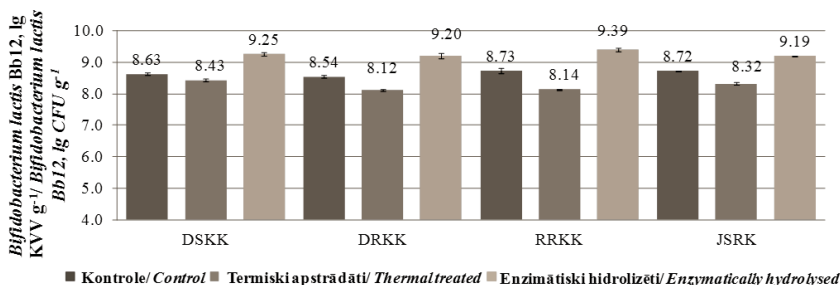


DSKK – Akciju sabiedrība (AS) ‘Dobeles dzirnavnieks’ – smalkās kviešu klijas/ *Join-stock company (SC) ‘Dobeles dzirnavnieks’ – fine wheat bran*; DRKK – AS ‘Dobeles dzirnavnieks’ rupjās kviešu klijas/ *SC ‘Dobeles dzirnavnieks’ – coarse wheat bran*; RRKK – AS ‘Rīgas dzirnavnieks’ – rupjās kviešu klijas/ *SC ‘Rīgas dzirnavnieks’ – coarse wheat bran*; JSRK – AS ‘Jelgavas dzirnavas’ – smalkās rudzu klijas/ *SC ‘Jelgavas dzirnavas’ – fine rye bran*

20. att. pH izmaiņas kontroles (A), termiski apstrādātos (B) un enzimatiski hidrolizētos (C) kliju paraugos fermentācijas laikā/
Fig. 20. Changes of pH value during fermentation of enzymatically hydrolysed bran samples

Kliju uzglabāšanas laika ietekme uz *Bifidobacterium lactis* Bb12 dzīvotspēju/
Effect of bran storage time on *Bifidobacterium lactis* Bb12 viability

Apkopojot rezultātus par Bb12 skaita izmaiņām uzglabāšanas laikā, redzams (21. att.), ka kontroles kliju paraugos pēc trīs dienu uzglabāšanas baktēriju skaits nebūtiski ($p > 0,05$) samazinājās. Paraugā DSKK par 1,14%, DRKK par 0,11%, RRKK par 0,79%, un JSRK par 1,58%. Termiski apstrādātos paraugos Bb12 skaits samazinājās par 3,43% (DSKK), par 5,02% (DRKK), par 7,50% (RRKK) un par 6,09% (JSRK).



DSKK – Akciju sabiedrība (AS) ‘Dobeles dzirnavnieks’ – smalkās kviešu klijas/ *Join-stock company (SC) ‘Dobeles dzirnavnieks’ – fine wheat bran*; DRKK – AS ‘Dobeles dzirnavnieks’ rupjās kviešu klijas/ *SC ‘Dobeles dzirnavnieks’ – coarse wheat bran*; RRKK – AS ‘Rīgas dzirnavnieks’ – rupjās kviešu klijas/ *SC ‘Rīgas dzirnavnieks’ – coarse wheat bran*; JSRK – AS ‘Jelgavas dzirnavas’ – smalkās rudzu klijas/ *SC ‘Jelgavas dzirnavas’ – fine rye bran*

21. att. *Bifidobacterium lactis* Bb12 skaits kliju paraugos pēc 72 uzglabāšanas stundām/

Fig. 21. Number of *Bifidobacterium lactis* Bb12 in fermented bran samples after 72 hours of storage

Klijās, kas tika enzimātiski hidrolizētas, Bb12 skaits bija lielāks.

Baktēriju skaits RRKK paraugā bija $9,39 \pm 0,01$ lg KVV g⁻¹, DSKK bija $9,25 \pm 0,04$ lg KVV g⁻¹, DRKK bija $9,20 \pm 0,05$ lg KVV g⁻¹ un JSRK bija $9,19 \pm 0,05$ lg KVV g⁻¹. Iegūtie rezultāti norāda, ka pēc kliju enzimātiskās hidrolīzes ievērojami palielinājās reducējošo cukuru (glikoze, fruktoze, maltoze) saturs. Zinot Bb12 spēju asimilēt reducējošos cukurus, var secināt, ka enzimātiski hidrolizētas klijas ir noderīgs substrāts, kas nodrošina Bb12 baktērijas ar barības vielām. Rezultātā Bb12 saglabā savu dzīvotspēju pēc 72 uzglabāšanas stundām.

No iegūtiem rezultātiem var secināt, ka, izmantojot enzimātiskos un mikrobioloģiskos procesus, ir iegūts jauns uzturvērtības ziņā funkcionāls pārtikas produkts, kuru var izmantot pārtikas industrijā, piemēram, sauso brokastu, cepumu, diētisko batoniņu, skābpiena produktu gatavošanai.

SECINĀJUMI

1. Pētījumā noteikts, ka kviešu un rudzu kliju enzimatiskai hidrolīzei optimālais pievienojamais enzīma α -amilāze daudzums ir 125 U (500 μ l) 10 g⁻¹ kliju substrātā un Viscozyme L daudzums ir 50 U (500 μ l) 10 g⁻¹ kliju substrātā.
2. Enzimātiskās hidrolīzes rezultātā:
 - ❖ kviešu klijās cietes saturs samazinās vidēji par 55,16%, rudzu klijās par 64,52%;
 - ❖ šķiedrvielu īpatsvars kviešu klijās samazinās vidēji par 13,12%, rudzu klijās par 19,26%;
 - ❖ reducējošo cukuru (glikoze, fruktoze, maltoze) saturs kviešu klijās palielinās par 171,08%, rudzu klijās par 44,62%.
3. Kviešu un rudzu klijās enzimatiskās hidrolīzes rezultātā pieaug šķīstošās sausas saturs attiecīgi līdz 6,8 un 9,5 °Brix, kas samazina rudzu kliju ūdens saistīšanas spēju.
4. Enzimātiskās hidrolīzes laikā samazinās kviešu kliju daļiņu izmēri un izmainās to procentuālā attiecība, kā arī palielinās kliju krāsas intensitāte (vidēji līdz L* 48,39), kas būtu jāņem vērā jaunu produktu izstrādē.
5. Izmantojot enzimatiskos preparātus kliju hidrolīzes procesā var būtiski ($p<0,05$) paaugstināt kopējo fenolu (vidēji par 85,28%) flavonoīdu (par 24,65%) un tanīnu (38,12%) saturu klijās. β tokoferoli un α un β tokotrienoli, enzimatiskās hidrolīzes laikā samazinājās vidēji par 32%.
6. Nosakot antiradikālo aktivitāti paraugos ar DPPH un FRAP metodi, konstatēts, ka FRAP ir vairāk piemērota attiecībā pret kopējo fenolu savienojumiem, t.sk. flavonoīdu un tanīnu saturu.
7. Enzimātiskās hidrolīzes procesa laikā kviešu un rudzu klijās samazinās MAFAM, raugu, pienskābes baktēriju skaits.
8. Enzimātiski hidrolizētas kviešu un rudzu klijas ir piemērots substrāts *Bifidobacterium lactis* Bb12 baktēriju attīstībai. Fermentācijas laikā KVV skaits palielinās vidēji no 5,00 lg KVV g⁻¹ līdz 9,26 lg KVV g⁻¹, un trīs dienu uzglabāšanas laikā tas būtiski ($p<0,05$) nemainās.
9. Pētījumā iegūtie dati apstiprina izvirzīto hipotēzi, ka enzimatiskā hidrolīze izmaina kviešu un rudzu kliju ķīmisko sastāvu un mikrofloru.

TOPICALITY OF THE RESEARCH

Cereal grains and whole grain products are fibre source for human organism. Wheat (*Triticum aestivum* L.) and rye (*Secale cereale*) bran are grain by-product arising during flour production. In Europe annually arising approximately 100 million tonnes of by-products arises (estimated in year 2014). Enzymatic hydrolysis of cereal grain by-products will be enable expand the use of bran in a food industry, thereby reducing the amount of by-product of cereal products. Enzymatically hydrolysed bran could be applied to food products in a producing process, such as milk and sour milk products, flour and meat products.

Wheat and rye bran are composite materials, formed from different histological layers – outer layer or pericarp (epidermis and hypodermis), inner layer or pericarp (tube and cross cells), seed coat, hyaline or nuclear epidermis and aleurone layer.

From the literature it is known that long chain non-starch polysaccharides in bran interfere the forming of regular (homogeneous), durable structure of gluten. This complicates mixing process and impairs the rheological properties of dough. As a result the volume of bread loaf decreases and accelerates the hardening and crumb becomes darker.

One of the key components that adversely affect the quality of bread is water insoluble fibres. Several potentialities were discussed for the bran fibre splitting into oligosaccharides. The fermentation with yeasts (*Saccharomyces cerevisiae*), enzymatic hydrolysis (hydrolytic enzymes) or enzyme adding directly to the dough with bran mainly was used to decrease the polymerisation degree of insoluble fibre. Studies have been accomplished as well on the use of hydrolytic enzymes for whole grain treatment to decrease the polymerisation degree of insoluble fibre. As a result of hydrolysis the oligosaccharides with lower polymerisation degree are forming, which better dissolve in the water and less absorb the water. Due to exposure of α -amylase the hydrolysis of starch takes place, in which the maltooligosaccharides (1 $\rightarrow$ 4- α -position linked D-glucose unit's containing polysaccharides) are formed. Several scientific papers have been published on the affirmative effect of maltooligosaccharides for delaying of bread crumb hardening and prolongation of shelf life.

As the bran is a composite material of outer layers of grain and milling by-product, there is a risk of microbiological contamination. Several studies indicate that due to enzymatic hydrolysis the microflora of bran might change, as a result improving the safety of bran. Previous research allows formulating the **hypothesis of the doctoral thesis**: enzymatic hydrolysis of wheat and rye bran alters the chemical composition and microflora.

The object of the research work: wheat and rye bran purchased from the industrial mills at Latvia: Joint Stock Company (SC) “Dobeles dzirnavnieks” – coarse wheat bran (DRKK), fine wheat bran (DSKK); SC

“Rīgas dzirnavieks” – coarse wheat bran (RRKK); SC “Jelgavas dzirnavas” – fine rye bran (JSRK).

The hypothesis of doctoral work will be proved by **following theses**:

1. due to enzymatic hydrolysis the chemical composition of bran changes and the physico-chemical characteristics could be affected;
2. biologically active compound content in the enzymatically hydrolysed bran increases;
3. enzymatic hydrolysis delays the development of microflora in bran;
4. enzymatically hydrolysed wheat and rye bran provides prebiotic conditions for development of bacterium *Bifidobacterium lactis* Bb12.

The following objectives of the research have been advanced: to investigate the process of enzymatic hydrolysis and evaluate the quality of obtained product.

To reach the aim of the research, the following **tasks** have been nominated:

1. determine the most efficient concentration of enzymatic preparations for hydrolysis of bran starch and non-starch polysaccharides;
2. evaluate the effectiveness of enzymatic hydrolysis by controlling the starch, dietary fibre and reducing sugar content;
3. analyse the changes in bran microstructure during the enzymatic hydrolysis;
4. appraise the content of biologically active compound content (total phenolic content including: tocochromanol, flavonoids, tannins) and antiradical activity in enzymatically hydrolysed bran samples;
5. assess the changes of bran microflora during enzymatic hydrolysis;
6. estimate the adequacy of enzymatically hydrolysed bran for development of bacterium *Bifidobacterium lactis* Bb12.

The novelty and scientific significance of the work:

For the first time in Latvia an intensified research on the wheat and rye bran has been carried out:

1. the physical and chemical composition of wheat and rye bran and its changes during hydrolysis have been analysed;
2. the microstructure of wheat and rye bran and its changes during enzymatic hydrolysis has been evaluated;
3. biologically active compound's content: total phenolics, flavonoids, tannins, tocochromanols and antiradical activity in enzymatically hydrolysed wheat and rye bran has been determined;
4. microbiological contamination in bran and its changes during enzymatic hydrolysis has been determined;

5. consequently of enzymatical hydrolyse of bran the development of bacterium *Bifidobacterium lactis* Bb12 in bran environment could be possible.

The economic significance of the research:

1. the study provides with a new information about chemical composition of wheat and rye bran, abundance of the biologically active compounds, and their changes in content during the enzymatic process, providing possibility to maximize the use of grain processing by-product in the food sector;
2. enzymatically hydrolysed bran obtained in the study widens the possibility of wheat and rye bran application in development of plant kingdom product's, providing with biologically high-value products.

APPROBATION OF SCIENTIFIC WORK

The results of the study summarised and published in seven peer-reviewed scientific publications and two subchapters of a monograph (the list of publications and attended conferences see on pages 6–8).

Results of study was presented in 11 international scientific and practical and scientific conferences, congresses and seminars, symposia in Latvia, United Kingdom, Spain, Russia, as well as the international food exhibition *Riga Food 2013*.

MATERIALS AND METHODS

The time and place of study

Experiments have been carried out during period from 2011 to 2015.

- LUA Food technology faculty, Department of Food Technology:
 - ❖ food analysis laboratory „Peter Delles laboratory” (detection of fibre and protein, fermentation with *Bifidobacterium lactis* Bb12);
 - ❖ research laboratory of packaging material properties (water activity);
 - ❖ microbiology research laboratory (detection of starch, pH, β -glucane, microbiological indicators).
- Latvia State Institute of Fruit-Growing:
 - ❖ laboratory of biochemistry (total phenolocs, content tocopherols and tocotrienols, determination of reducing sugars, bran hydrolysis);
 - ❖ fruit and berry experimental processing laboratory (sample liophylisation, bran colour analysis).
- RTU Faculty of Materials sciences and Applied Chemistry Department of Applied Chemistry:

- ❖ laboratory of materials sciences (micro-structural research).

Research materials

Bran

Two types of bran with different particle size purchased from three industrial mills in Latvia were used in experiments:

- The stock company (SC) ‘Dobeles dzirnavnieks’ – fine wheat bran (DSKK – size $215.8 \pm 2 \mu\text{m}$); coarse wheat bran (DRKK – size $441.0 \pm 2 \mu\text{m}$);
- SC ‘Rīgas dzirnavnieks’ – coarse wheat bran (RRKK – size $600.0 \pm 2 \mu\text{m}$);
- SC ‘Jelgavas dzirnavas’ – fine rye bran (JSRK – size $276.0 \pm 2 \mu\text{m}$).

Untreated bran (control), thermal-treated and enzymatically hydrolysed bran samples were used in experiments.

Enzymes

Industrial enzyme preparations obtained from „Novozyme Corporation” (Bagsvaerd, Denmark) were used in the studies:

1. **α -amylase** (EC 3.2.1) (extracted from *Bacillus amyloliquefaciens*) with endo-activity affecting on α -(1 $\rightarrow$ 4)-glycosidic bonds in starch granules, in that way creating dextrins. Optimal action parameters of α -amylase are pH **5.0–8.0**, temperature **55 ± 1 °C** and incubation time 0,5 h, activity $\geq 250 \text{ U ml}^{-1}$.
2. **Viscozyme L** (extracted from *Aspergillus* spp.) enzyme complex with an activity 100 U ml^{-1} , optimal action parameters **pH 4.6 ± 0.2** , temperature **44 ± 1 °C** and incubation time **3.2 h**. Viscozyme L mixture consist of:

- ❖ Cellulose splitting enzymes:

- a) endo-1 $\rightarrow$ 4- β -D-glucanase (EC. 3.2.1.4);
- b) exo-1 $\rightarrow$ 4- β -D-glucanase (EC 3.2.1.74);
- c) β -1 $\rightarrow$ 6-glucosidase (EC. 3.2.1.21);
- d) exo- β -1 $\rightarrow$ 4-glucan-cellobiohydrolase (EC 3.2.1.91).

- ❖ Hemicellulose splitting enzymes:

- a) endo-1 $\rightarrow$ 4- β -D-xylanase (EC 3.2.1.8), which catalyses 1 $\rightarrow$ 4- β -D-glycosidic bonds in xylane chain, creating 1 $\rightarrow$ 4- β -D-xylooligosaccharides (KOS);
- b) endo-1 $\rightarrow$ 3- β -xylanase (EC 3.2.1.32).

Treatment with different enzyme concentrations of α -amylase and Viscozyme L was performed during bran enzymatic hydrolysis to find the most

efficient ones for hydrolysis of starch and non-starch polysaccharides in wheat and rye bran (Table 1).

Bifidobacteria

A lyophilised *Bifidobacterium lactis* Bb12 starter was used developed in the Chr. Hansen laboratory, Denmark. The concentration of bacteria was 10^9 CFU g⁻¹.

Structure of the study

Studies of the doctoral thesis were carried out in four stages, the trials and processes are shown in the Figure 1.

Stage I. Bran

In the first phase of study physical, chemical, microbiological and micro-structural indices of bran were analysed.

Stage II. Bran enzymatic hydrolysis

Enzymatic hydrolysis of bran was performed in the water bath observing the temperature, incubation time and pH of the mixture (10 grams of bran, + 90 ml of water). Optimal parameters of enzyme activity (temperature, incubation time, pH) were selected according to recommendations of manufacturer „Novozyme Corporation” (Bagsvaerd, Denmark), as well as data from literature (Arrigoni, 2001; Pryor et al., 2012; Lehtinen, 2012; Nordlund et al., 2013). „Elco ExpressThermo” sensors were used for temperature control. An automatic protocol was prepared at the end of incubation process. The inactivation of α -amylase was performed by acidification/ normalisation of substratum pH till 4.6 ± 0.2 (optimum for Viscozyme L) using 50% citric acid solution; inactivation of Viscozyme L was performed in temperature 99 ± 1 °C, duration of the exposure – 10 minutes. After enzymatic hydrolysis the bran was cooled in water bath ($t - 10 \pm 1$ °C $\tau - 10$ min) up to room temperature ($t - 20 \pm 1$ °C) and lyophilised.

Stage III. Bran heat treatment

The thermal treatment of bran was performed in water bath taking into account the temperature and treatment time. Preparatory procedure was identical to the enzymatic hydrolysis of bran and was carried out at the same time without using of enzymatic agents, as well as without normalisation of bran pH. After thermal treatment the bran samples were lyophilised and vacuum packed in PE bags (thickness of film 70 μ m) and stored for eight

weeks under invariable conditions (temperature 20 ± 1 °C, relative humidity of air – $40 \pm 1\%$).

Stage IV. Fermentation of bran with *Bifidobacterium lactis* Bb12

Gram positive rod-shaped anaerobic Bb12 bacteria (Probio-Tec® from Chr. Hansen laboratory, Denmark) in concentration of 10^9 CFU g⁻¹ were selected for bran fermentation. Amount of Bb12 constitute 10^7 CFU g⁻¹ (Bb12 10^9 CFU g⁻¹+100 ml 9% saline). One ml of prepared suspension was inoculated into product mix (10 g bran + 90 ml distilled water); CFU of Bb12 in the product mix was 10^5 g⁻¹. Bran samples were sterilised (temperature 105 ± 1 °C, time of thermal treatment – 10 minutes) before the inoculation with Bb12 bacteria to suppress undesirable microflora. Bran fermentation was carried out in the incubator UFP500 (Mettler GmbH and Co., Germany). The oxygen (O₂) absorbent was used to ensure anaerobic conditions (AnaeroGen™ 3.5 L, Oxoid Ltd). Duration of incubation process was 18 hours at the temperature of 37 ± 1 °C.

Incubation time, temperature and rotational intensity were selected according to manufacturer's recommendations and requirements (Chr. Hansen laboratory). Fermentation process of bran was controlled by measuring of mixture pH value every two hours. The number of colony-forming units of Bb12 was defined in the samples after bran fermentation. The samples were lyophilised using „LABCONCO FreeZone1” (Illinois, United States), freeze-drying time – 70 ± 2 h. Lyophilised samples were stored in sterile PE vacuum bags (thickness of film 70 µm) at temperature 20 ± 1 °C, and relative humidity of surrounding air – $40 \pm 1\%$. The CFU of Bb12 in bran samples during storage of 72 hours was repeatedly established to check the viability of bacteria.

Characteristics of the analysis methods used in the study.

Indices appointed in the doctoral work and applied methods of analyse are summarized in Table 2. Physical and chemical analyses were performed of natural bran (control), thermal-treated and enzymatically hydrolysed bran samples.

Enumeration of *Bifidobacterium lactis* BB12 bacteria was performed in accordance with guidelines „Selective Enumeration of Bifidobacteria in Dairy Products: Development of a Standard Method”, using the selective Thioglycollate media (Thioglycollate broth USP Alternative).

Enumeration of viable *Bifidobacterium lactis* Bb12 cells at inoculation was performed by using *Gorjajeva* camera (Skudra, Kłava, 2008).

Identification of a yeasts and lactic acid bacteria established by the Analytical Profile Index System (API), Analytical Profile Index ID 32 C – yeasts, Analytical Profile Index 50 CHL – lactic acid bacteria.

The data statistical processing The processing of data analyse was carried out by the SPSS 17.0 (SPSS Inc., Chicago, Illinois) and Microsoft Office Excel 2007 (Redmond, Washington).

The obtained data were analysed using descriptive statistics, analyses, tests and models:

- ❖ one way analysis of variance (ANOVA);
- ❖ multiple regression and correlation analyses was used for interpretation of the results obtained by testing the quality indicators;
- ❖ justification of difference among tested sample results was stated by variance analyses according *Sheffe* and Tukey's criteria.

Following indicators were calculated for all obtained results:

- ❖ the average;
 - ❖ standard deviation;
 - ❖ minimal and maximal values.
- Correlation function was used to evaluate interconnection of various indications mutual relation; the regression function and the method of least squares were used as well. In case the correlation value was $0.5 \leq |r| \leq 0.8$, a mean close linear relationship among evaluated characters exists, in case the correlation value is $|r| > 0.8$, there is a close mean linear correlation among tested characters (Arhipova, Bălița, 2003).

RESULTS AND DISCUSSION

1. Treatment of bran and their changes in physical-chemical characteristics

Chemical composition and microbiological contamination of wheat and rye bran limits their availability in production of food products. Bran physical-chemical parameters and the existing nutrient proportion could be changed and microflora improved by application of thermal and enzymatic hydrolysis with α -amylase and Viscozyme L enzyme treatment.

Thermal treated bran has been studied to evaluate the influence of heat on the physical, chemical and microbiological indices of bran. In the turn as a result of enzymatic hydrolysis substantial splitting of the starch and fibre existing in bran is foreseen, thus increasing the proportion of biologically active compounds, as well as decrease the bran microbiological risk.

Technological process of bran enzymatic hydrolysis was developed during promotion work to find the most effective concentrations of α -amylase and Viscozyme L for splitting of starch and non-starch polysaccharides in wheat and rye bran (Fig. 3).

Total starch content in bran samples

Wheat bran contains on average 8.8–24.8% starch endosperm, whereas rye bran 17.1–28.3% (Eldin et al., 2009; Radenkovs et al., 2013). The quantity of starch in the bran is dependent from milling process.

Published data in scientific literature indicate that application of different hydrolytic enzyme types can significantly reduce the starch content in wheat and rye bran, at the same time forming and realising biologically active substances. The process of starch hydrolysis could be affected by varying of temperature or enzyme concentration, in that way controlling the outcome of mono- and oligosaccharides.

Effectiveness of starch hydrolysis in this study was verified by determination of starch content in samples (Fig. 4).

The results of the study show that starch content in wheat and rye bran can be reduced by using α -amylase. Hydrolysis of bran with α -amylase (activity U 125 in 500 μ l) showed the highest reduction of starch content. Starch content in the sample DSKK decreased by 57.7% by mass in the dry matte, in DRKK by 51.9%, RRKK by 55.9% and in JSRK by 64.52%.

Fibre content in bran samples

Wheat and rye bran is a source of fibre, which is used in food industry to improve the nutritional value of products. However, by adding the fibre during processing, products could change in: taste, aroma, colour, texture; not always these changes are desirable. Preparation of enzyme Viscozyme L was used in the study, containing enzyme, which splits fibre to compounds with

lower degree of polymerisation. It is referred in scientific papers that use of enzymes allows to reduce the total fibre concentration not more as on 4.1% (Arrigoni, 2001). Therefore, it is essential to determine the concentration of enzymatic preparation for bran hydrolysis process.

The highest reduction of total fibres in all tested bran samples were observed when hydrolysed by enzyme Viscozyme L with 50 U (500 μ l), ascertained in average of 14.65% (Fig. 5). Experimentally obtained results confirm that during enzymatic hydrolysis, due to the water-insoluble arabinoxylan depolymerisation, part of bran fibre turn into water-soluble form.

Due to increase of soluble arabinoxylan, an opportunity to use bran in the technology of bread making is growing, as well as it is possible to use like prebiotic environment for Bb12 bacteria cultivation.

β -glucan content in bran samples

Oats and barley are considered as source of β -glucan, however small quantities of β -glucan could be found in rye and wheat also. β -glucan is a polymer of D-glucose and belongs to soluble fibres. Although β -glucan has functional properties, nonetheless the presence of β -glucan changes the technological characteristics – during production process it creates viscous solutions. An increase of the viscosity of solutions is associated with solubility of high-molecular β -glucan. One of the possibilities to reduce the tendency of β -glucan to create viscous solutions is decrease of polymerisation degree (EFSA, 2009). Wheat bran and rye bran contains β -glucan on average 1.7 and 3.5 g 100 g⁻¹, respectively (Karpinen, 2003), therefore wheat bran cannot be considered as a source of β -glucan, however they have an impact on the technological characteristics.

The obtained results about reduction of β -glucan content indicate that the most effective activity have enzyme Viscozyme L with 50 U (500 μ l Viscozyme L) (Fig. 6).

Based on the results of β -glucan content reduction depending from the enzyme activity, it could be concluded that the most effective activity of enzyme Viscozyme L is 50 U (500 μ l Viscozyme L). Analysing these data from a technological point of view, it can be assumed that reduction of β -glucan polymerisation degree in hydrolysed bran will not form viscous solutions which are undesirable in bread dough fermentation process. It means that hydrolysed bran could be used in bread making technology.

Content of reducing sugars (glucose, fructose, maltose) in bran samples

Efficacy of starch and fibre hydrolysis was measured by the content of reducing sugars (glucose, fructose, and maltose) in bran before and after hydrolysis with enzymes α -amylase and Viscozyme L.

Information in the scientific literature (Kapuśniak, Jay-lin, 2007) shows, that product of starch hydrolysis obtained by using amylolytic enzymes is maltodextrin (US), or resistant dextrin (European Union), or non-digestive dextrin (Japan) (Kapuśniak, Jay-lin, 2007). Scientist Miazato indicates that maltodextrin is non-viscous, easily fermentable, and is a source of soluble fibres (Miyazato et al., 2010). Whereas Ohkuma indicates that resistant maltodextrin have quick fermentation in human large intestine, as a result the absorption of mineral nutrients increases (Ohkuma et al., 1990).

Content of reducing sugars in all samples increased due to splitting of starch and fibre. The highest content of reducing sugars was found in enzymatically hydrolysed samples treated with α -amylase by activity 125 U (500 μ l) and Viscozyme L by activity 50 U (500 μ l) (Fig. 7). As a result, the bran becomes more appropriate for bread making as substratum which could provide fermentation of *Saccharomyces cerevisiae*.

Total protein content in bran samples

Bran is composed of aleurone layer, which is rich in protein. Wheat and rye bran contains protein in average 16.0 g 100 g⁻¹ in dry matter.

Several authors in the literature indicate, that treatment of bran with hydrolytic enzymes may increase the solubility of fibre and as result a release of valuable substances could occur (total free amino acids, total phenols) (Anson et al., 2009; Katina et al., 2012; Coda et al., 2014). In the turn scientist Chantale indicates, that enzymatic preparations are effective for fibre cell wall degradation, which helps to release the bound proteins (Chantale et al., 2012). In this study the protein content in wheat and rye bran samples was evaluated (Fig. 8).

Processing of bran with hydrolytic enzymes may increase the degree of soluble fibre, which results in release of valuable substances (free amino acids, total phenols) from bran structural components. The results of this study indicate, that significant increase in the content of total proteins after enzymatic hydrolysis ($p < 0.05$) was not found.

Soluble solids content in bran samples

Soluble solids are an indicator for several soluble substances, mainly the sugar content in food products. Efficiency of bran processing was evaluated by analysis of soluble solids content after enzymatic hydrolysis.

Based on the results about different chemical modifications in bran (starch, sugar, the total fibre, β -glucan, total protein content) during enzymatic hydrolysis was stated that the most effective enzyme activity for α -amylase is 125 U (500 μ l) and for Viscozyme L – 50 U (500 μ l). Therefore further studies were realised by the above mentioned activities of enzymatic preparations.

Results of soluble solid content are reflected in Figure 9.

The results show that the highest content of soluble solids was in the enzymatically hydrolysed bran 6.6 ± 0.3 °Brix (DRKK) to 9.5 ± 0.3 °Brix (JSRK), while the lowest content was found in control samples from 2.2 ± 0.1 °Brix (DRKK) to 3.1 ± 0.1 °Brix (JSRK). These results confirm that during enzymatic hydrolysis occurs partial transformation of insoluble components in bran to soluble form, for example, degradation of starch, cellulose, hemicellulose, arabinoxylan, which increase the content of soluble solids. A close correlation ($r=0.893$) was found in the relationship between total content of sugars and soluble solids in the bran.

Water retention ability of bran samples

Water retention ability of bran is capability to keep the water in the product. Water retention ability of bran is dependent on chemical composition and structure of the fibre (Robertson, Blue, 1981). For example, from studies of researchers Robertson and Estvuds it is established that 1 g of the bran is able to retain approximately 3.7 g of water (Robertson, Blue, 1981). Scientific publications demonstrate that the water retention ability of bran is related with the hydrophilic characteristics of insoluble fibre and size of bran particles (Esposito et al., 2005).

Analysis of water retention ability showed significant ($p<0.05$) difference between wheat and rye bran samples. The results of studies show (Fig. 10) that water retention ability of wheat bran control samples was 3.43 ± 0.31 (DSKK), 3.75 ± 0.23 (DRKK), 3.97 ± 0.11 (RRKK) g water g^{-1} , whereas in rye bran samples – 2.08 ± 0.17 g water g^{-1} .

There was no significant ($p<0.05$) differences observed during enzymatic hydrolysis in water retention ability among wheat bran samples. On the contrary, water retention ability of rye bran significantly ($p<0.05$) decreased (for about 24.08%), which could be explained by the proportion of insoluble and soluble fibre content, and their ratio changes during enzymatic hydrolysis, as well as with the starch content in samples.

Relative particle size and distribution in bran samples

Due to splitting of nutrients during the hydrolysis of bran, the microstructure as well as the size of particles changes which could, however, improve the bran properties and make them more suitable for bread making. The milling equipment and technological individualities influence the size of particles. Bran is a by-product of grain milling process with a particle size of 46 to 831 μm (Dutch Mill), from 200 to 1000 μm (Finnish mills) (Noort et al., 2010; Kamal-Eldin et al., 2009).

The ratio (%) of particle sizes in wheat and rye bran was detected in this study (Table 1). Changes were observed both among the bran types and treatments ways.

The obtained results demonstrate that during enzymatic hydrolysis starch and non-starch polysaccharide's degradation occurs and size of bran particles decreased.

Reduction of bran particle sizes could enable more extensively to utilize the bran in bread making, maintaining the quality of bread.

2. Evaluation of biologically active compounds in bran

By-product of cereal processing – bran is an important source of biologically active compounds. Though scientists indicate that almost all biologically active substances in the bran are located in bound form into bran structural components.

Total phenolics content in bran samples

Phenolic compounds located in the bran are associated with polysaccharides. Bran processing (enzymatic, mechanical) is necessary to release bound forms of phenols and to increase availability of biologically active substances for human body.

Free phenolic compounds are located in the plant cell vacuoles (Pandey, Rizvi, 2009), but the conjugated phenols esterified with sugars and other compounds with low molecular weight. Forms of bound insoluble phenolic compounds in the grain are covalently bonded with structural components in cell walls: cellulose, hemicellulose or lignin, proteins (McKee, Latner, 2000; Arranz et al., 2010).

Enzymatic hydrolysis is one of the ways how to achieve the release of phenolic compounds from the cell wall structural components, as well as to ensure the availability of those to the human organism.

The results of total phenols content in bran samples are represented in Figure 11.

Review of the results showed that the initial phenolic content in control samples was 461.3 ± 17.6 (DSKK), 377.4 ± 0.41 (DRKK), 377.0 ± 9.78 (RRKK) and 520.7 ± 7.17 (JSRK) mg GAE 100 g^{-1} in dry matter. Significant ($p < 0.05$) differences were observed between wheat and rye bran as well as among samples with different particle sizes.

Scientist Hemery indicates that high importance has particle sizes how the grain layer has been milled and bran obtained. According to this study biological value of bran increases if milling ensures ultra-small size of particles ($< 150\text{ }\mu\text{m}$), which increases the surface area to be exposed by hydrolysis of enzymes as well as improve the digestion of bran. It increases the dissociation of conjugated and free phenolic compounds in the digestive tract (Hemery et al., 2010).

Obtained results show that the proportion of total phenolic is higher in samples with particle size of $215.8 \pm 2 \mu\text{m}$ (DSSK) and $276.0 \pm 2 \mu\text{m}$ (JSRK).

Content of total phenols in thermal-treated bran samples decreased on average by 25.77%. Changes in the thermal-treated bran can be explained by the thermal instability of phenolic compounds. It was already stated in the results obtained by Vojdilo and colleagues that after heating of samples at 50°C to 70°C a decrease of total phenolic content was observed. The authors concluded that the greatest reduction in total phenolic content was observed in samples processed at temperature of 70°C (Wojdyło et al., 2007).

The total phenolic content significantly increased in enzymatically hydrolysed wheat and rye bran. The highest increase was observed in rye bran samples from 520.7 ± 7.17 to $1230.0 \pm 42.57 \text{ mg GAE } 100 \text{ g}^{-1}$ dry matter, while in wheat bran DSKK it was up to $730.8 \pm 13.05 \text{ mg GAE } 100 \text{ g}^{-1}$ dry matter. Obtained results about the total phenolic content in bran samples allowed to conclude that application of enzymatic preparations for bran hydrolyses may significantly ($p < 0.05$) increase the release of phenolic compounds associated in cell wall structural components, increasing the bran nutritional value, and at the same time increasing their extraction capacity.

Tocochromanol content in bran samples

From the literature it is well known that tocochromanols are closely bound with compounds in grains, but there was no information about impact of the enzymatic hydrolysis on the changes of tocochromanol concentration.

Scientist Kamal-Eldin and jointed authors have found that the main isomers of tocochromanols in bran are α -tocotrienol and β -tocotrienol. Content of α -tocotrienol in wheat is within the range of 1.1 to $2.2 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$, whereas in rye – from 2.7 to $6.4 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$ of dry matter. While content of β -tocotrienol in wheat bran is within the range of 4.9 to $8.1 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$, and in rye bran from 2.3 to $4.5 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$ of dry matter (Kamal-Eldin et al., 2009).

The analysis of obtained results shows that there is significant ($p < 0.05$) differences between content of tocochromanols in wheat and rye bran samples. The main isomers of tocochromanol which were found in samples of wheat bran are α - and β -tocopherols and α - and β -tocotrienols, whereas in rye bran samples – α - and β -tocotrienols. The results of experiment on the tocopherol and tocotrienol content in bran samples are described in Table 2.

The obtained results show that content of total tocochromanols in wheat bran control sample was 12.02 ± 0.60 (RRKK) to 18.10 ± 0.20 (DSKK), whilst in rye bran $12.16 \pm 0.03 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$ of dry matter. The dominant isomer found in wheat bran was β -tocotrienol – from 9.13 ± 0.58 to $11.39 \pm 0.12 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$ of dry matter. Whereas in the rye bran β -tocotrienol was 5.06 ± 0.06 (JSRK) and α -tokotrienols $6.04 \pm 0.09 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$ of dry matter. Results obtained in current work by the side with data presented from scientist Kamal-Eldin and co-authors showed higher content of total tocochromanols (Kamal-Eldin et al.,

2009). These differences can be explained by used method of tocochromanol extraction: Kamal-Eldin and co-authors have used potassium hydroxide (KOH), while in current study hexane ($\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}_3$) was used for extraction of tocochromanols.

During thermal treatment of bran the losses of tocochromanols content on average were following: α -tocopherol – 5.91%, β -tocopherol – 12.73%, α -tocotrienol – 30.79% and β -tocotrienol – 32.63%.

The results of current experiment confirmed, that α -tocopherol is thermal resistant compound. A partial degradation of α -tocopherol was observed in bran processed at temperatures starting from 44 ± 1 °C (3.2 hours), 55 ± 1 °C (0.5 hours) and till 99 ± 1 °C (10 ± 1 min). Similar conclusion were stated by scientist Bruskato and co-authors, who found reduction of α -tocopherol by 3%, and ($\gamma + \beta$) tocopherol by 13% in rice bran processed at 100 °C (Bruscatto et al., 2009). Decrease of total tocochromanol content was observed also during enzymatic hydrolysis of bran and ranged from 9.17 ± 0.02 (DSKK) to 13.44 ± 0.07 mg 100 g⁻¹ of dry matter (JSRK). The losses of α -tocopherol reached to 41.12%, β -tocopherol – 42.01%, α -tocotrienol – 21.31% and β -tocotrienol – 22.37%.

The results of current experiment indicate that during enzymatic hydrolysis of bran α -tocopherol and β -tocopherol losses were higher, than losses of α -tocotrienol and β -tocotrienol.

Total flavonoid content in bran samples

Whole grain products are a source of flavonoids. Scientist Adom together with co-authors has found out that 79% of the total flavonoid content in grains are located in the bran (Adom et al., 2005). Flavonoids in the cereals are involving with sugars, cellulose, hemicellulose, as well as with proteins (Liu, 2007). Enzymatic hydrolysis could be applied in order to achieve the full release of bound flavonoids from the cell wall structural components, as well as ensuring the biological availability of bran for human organism.

According to experimental results it is stated that the content of free flavonoids could be significantly ($p<0.05$) increased by application of enzymes α -amylase by activity 125 U (500 μ l) and enzyme complex Viscozyme L by activity 50 U (500 μ l) (Fig. 12).

Experimentally obtained results indicate that in control samples of wheat bran the flavonoid content was from 193.2 ± 5.56 (DRKK) to 215.0 ± 10.16 mg CE 100 g⁻¹ of dry matter (DSKK), whereas in rye bran 214.9 ± 19.70 mg CE 100 g⁻¹ of dry matter (JSRK). According to these results there are no significant differences between the wheat and rye bran. The total content of flavonoids was not affected by bran particle size too.

The evaluation of results obtained during thermal treatment of bran affirms, that high temperature (99 ± 1 °C) has non-essential influence ($p>0.05$) on the decrease of flavonoid content in bran.

The content of flavonoids in enzymatically hydrolysed bran significantly ($p<0.05$) increased. Content of flavonoids in sample DRKK was 247.5 ± 6.17 , in sample DSKK – 259.7 ± 21.50 , in sample JSRK – 282.8 ± 12.14 and in sample RRKK 242.0 ± 10.82 mg CE 100 g^{-1} of dry matter.

Similarly to above mentioned, significant ($p<0.05$) increase of flavonoid content in enzymatically hydrolysed bran could be explained by the transition of bound flavonoids to free form.

Total tannin content in bran samples

Tannins are widespread in plant raw materials. The two main compounds referable to tannins are proanthocyanidin (condensed form of tannin) and hydrolysable tannin. The complicated tannin has been structured of both these forms. Biological activity of tannins is dependent on pattern of polymerisation, wherewith from degree of solubility. Polymerised tannin demonstrates a low bioavailability for the human organism, as well as a low fermentation capacity by intestinal microflora. Enzymatic hydrolysis of bran could achieve the release of bound tannin from the cell wall structural components and ensure the biological availability of bran to the human body.

The research results on total tannin content in bran (Fig. 13) showed that their initial content in samples was 39.30 ± 3.14 (DSKK), 41.48 ± 3.23 (DRKK), 57.35 ± 3.81 (RRKK) and 73.43 ± 8.10 mg CE 100 g^{-1} of dry matter (JSRK).

The tannin content most of all is established in rye bran (JSRK). The highest tannin content in wheat bran sample (RRKK) was found in those containing 82.20% particles size of $750\text{ }\mu\text{m}$, whereas the lowest content of tannin was found in the bran sample DSKK, which contains particles 23.05% size of $315\text{ }\mu\text{m}$ and 17.25% size of $250\text{ }\mu\text{m}$. These results confirm the aforesaid that size of bran particles has an effect on the tannin content.

The thermal treatment of bran significantly ($p<0.05$) increases the total content of tannin – 61.91 ± 3.71 (DSKK), 56.64 ± 5.70 (DRKK), 73.44 ± 8.1 (RRKK) mg CE 100 g^{-1} of dry matter by mass, whilst in the sample JSRK the total content of tannin decreased to 50.61 ± 4.2 mg KE 100 g^{-1} of dry matter. The increase of tannin content can be explained by depolymerisation process at high temperature ($99\pm1\text{ }^{\circ}\text{C}$), when compounds with smaller degree of polymerisation and good solubility in water have formed. Scientist Al-Jasser in the same way explained the soaking and cooking processes in sorghum (*Sorghum*) processing, explaining the increase of tannin content during heat treatment by inhibition of polyphenoloxidase, which is responsible for oxidation of tannins (Al-Jasser, 2005).

The tannin content in bran during enzymatic hydrolysis increases, and it is: 61.83 ± 7.8 (DSKK), 73.21 ± 6.5 (DRKK), 71.00 ± 6.1 (RRKK) mg CE 100 g^{-1} of dry matter. For its part the tannin content in sample JSRK decreased til 69.66 ± 4.1 mg CE 100 g^{-1} of dry matter. The tannin content most of all

increased in sample DRKK – by 76.45%. The essential increase could be explained by specific tannin form in this sample, probably this composition contains more hydrolysable tannins with higher potential of hydrolysis and wherewith higher ability to turn in extract compare with condensed form.

Phenolic compounds typically have antiradical properties; therefore further these features have been studied in the bran.

Evaluation of antiradical activity using DPPH and FRAP methods in bran and enzymatically hydrolysed bran

The results of study on antiradical activity (DPPH method) shows, that significant ($p < 0.05$) difference exists among various control samples purchased from different producers and among wheat and rye bran as well.

Significant changes during thermal treatment were not observed. However, changes were detected in enzymatically hydrolysed bran samples.

The antiradical activity in rye and wheat bran control samples compare to those hydrolysed by enzymatic preparations did not differ in kind ($p > 0.05$) (Figure 14).

Antiradical activity during enzymatic hydrolysis of bran sample RRKK decreased from 18.35 ± 0.70 to 15.84 ± 0.59 mmol TE 100 g⁻¹. One of possible explanations of this phenomena could be a specificity of DPPH method, which is more based on antiradical activity detection relating to common biologically active substances (tocopherols, tocotrienols, amino acids, carbohydrates, alkylresorcinol), instead specifically to phenolic compound determination. All above mentioned compounds are acting synergistically by transferring electron or hydrogen molecules to free radical (DPPH), making them inactive (inhibition).

There was stated that antiradical activity between control and by enzymes hydrolysed bran samples, when detected by FRAP method (Fig. 15), significant ($p < 0.05$) differed. Differences were observed in wheat bran samples from various manufacturers. In samples purchased from SC “Dobeles dzirnavnieks” the antiradical activity was 1.43 ± 0.06 mmol TE 100 g⁻¹ of dry matter (DSKK) and 1.38 ± 0.06 mmol TE 100 g⁻¹ of dry matter (DRKK). In its part in samples produced by SC „Rigas Dzirnavnieks” the antiradical activity was 1.03 ± 0.12 mmol TE 100 g⁻¹ of dry matter, which could be explained by different bran sizes and content of biologically active substances in sample.

A significant difference was observed between the wheat and rye bran. By enzymas hydrolysed rye bran contains had 3.05 ± 0.20 mmol TE 100 g⁻¹ of dry matter. It can be explained, as mentioned before, with bran sizes and content of biologically active substances in samples.

A comparison of results ascertains that during enzymatic hydrolyses the antiradical activity in bran increases: in JSRK sample – 2.8 times, DRKK – 2.2 times, DSKK – 1.7 times and in RRKK – 1.5 times. The rise of antiradical

activity is provided by phenolic compounds disposal from bran structural components during enzymatic hydrolyses.

Obtained results testify that determination of antiradical activity using FRAP method is more appropriate concerning to total phenol compounds, including flavonoid and tannin content.

3. Microbiological assessment of bran and enzymatically hydrolysed bran

The microflora of bran and its development during storage is significantly affected by the substratum or environment of nutrients. The prevailing microscopic fungi are *Penicillium* spp., *Aspergillus* spp. and *Fusarium* spp. Bran is external and internal part of cereal layers: pericarp, testa, hyaline and aleurone layers, and therefore their microflora is a risk factor for microbiologically safe products.

Total plate count of mesophilic aerobic and facultatively anaerobic microorganisms in bran samples

The total plate count (TPC) of microorganisms in all types of bran (control samples) was found $5.50 \pm 0.02 \lg \text{ CFU g}^{-1}$ (RRKK) to $5.76 \pm 0.07 \lg \text{ CFU g}^{-1}$ (DRKK) (Fig. 16). TPC of colony forming units as a result of temperature and pH of environment during enzymatic hydrolysis process significantly ($p < 0.05$) decreased: – by 5.30% (DSKK), 7.45% (DRKK), 0.95% (RRKK) and 8.05% (JSRK).

During storage of bran for 8 weeks a positive dynamics of microorganism decrease was observed. The total plate count of colony forming units decreased in this way: by 25.33%, DRKK by 24.23%, RRKK by 31.07% and JSRK by 34.32%.

The total number of yeasts

Wild yeasts are typical microflora of grains, which during milling process moves to bran. The results obtained by testing microbiological contamination of different bran samples are shown in Figure 17.

The results of the study show that enzymatic hydrolysis can significantly ($p < 0.05$) reduce the number of colony forming units of yeasts. In enzymatically hydrolysed bran the number of yeast CFU decreased by 7.20% in DSKK, by 4.89% in DRKK, by 6.31% in RRKK and by 11.92% in JSRK.

During storage of bran for 8 weeks the positive dynamics of microorganism decrease was observed. The colony forming units of yeasts decreased in that way: in DSKK by 18.84%, in DRKK by 36.85%, in RRKK by 33.67% and in JSRK by 32.13%.

Total number of lactic acid bacteria

The highest microbial contamination by lactic acid bacteria (CFU) was found in control samples, in DRKK sample $5.75 \pm 0.04 \text{ lg CFU g}^{-1}$, in DSKK – $5.60 \pm 0.05 \text{ lg CFU g}^{-1}$ (Fig. 18). CFU of lactic acid bacteria as a result of elevated temperature influence and changed pH of environment during enzymatic hydrolyse process significantly ($p < 0.05$) decreased: by 8.85% (DSKK), 26.05% (DRKK), 3.03% (RRKK) and 16.45% (JSRK).

It was found that after 8 weeks of storage, in enzymatically hydrolysed wheat and rye bran the colony forming units significantly ($p < 0.05$) decreased in that way: 25.17% (DSKK), by 47.13% (DRKK), by 27.98% (RRKK) and by 33.06% (JSRK).

4. Wheat and rye bran fermentation with *Bifidobacterium lactis* Bb12

Scientists today always have turned more attention to development of functional products. Biologically active components incorporated in one functional product have higher positive efficacy than each component separately. Several scientists have tried to use cereals as prebiotic environment for development of probiotic bacteria. The ability of bifidobacteria to assimilate sugars is well known; accordingly a decision could be made that inoculation of bifidobacteria into substratum of enzymatically hydrolysed bran can save their viability and activity. In this study the 10^7 CFU ml^{-1} *Bifidobacterium lactis* Bb12 were added into sterile enzymatically hydrolysed bran and fermented for 18 hours at a temperature of 37°C (Bb 12 CFU per product mix accounted for 10^5 CFU g^{-1}) (Fig. 19, the black line).

The results show that during fermentation the number of Bb12 increased in all control samples (Fig. 19) and ranged from 8.55 ± 0.04 (DRKK) to 8.86 ± 0.05 (JSRK) lg CFU g^{-1} per sample. No difference was found between CFU in wheat and rye bran.

The increase of Bb12 CFU number in thermal-treated bran samples after fermentation was lower, by the side of control sample and ranged from $8.21 \pm 0.01 \text{ lg CFU g}^{-1}$ (RRKK) to $8.47 \pm 0.03 \text{ lg CFU g}^{-1}$ (DSKK). This is due to changes in the bran structural-mechanical characteristics (starch gelatinisation and denaturation of protein) and unavailability of substratum for the development of bacteria.

While in enzymatically hydrolysed bran samples CFU number of Bb12 significantly ($p < 0.05$) increased during fermentation in comparison with the control and thermal-treated samples. The number of Bb12 in wheat bran samples increased on average to $9.29 \text{ lg CFU g}^{-1}$, but in rye bran $9.14 \text{ lg CFU g}^{-1}$.

Bacteria Bb12 produces organic acids during fermentation (formic acid, acetic acid, lactic acid, succinic acid) which can affect the pH in the environment of product. During 18 hours' fermentation an optimum value of

pH in wheat and rye bran substratum has been reached, which indicates on the development of Bb12 (Fig. 20).

Effect of bran storage time on viability of Bifidobacterium lactis Bb12

Summarization of results on changes in Bb12 bacteria number showed unsubstantial ($p>0.05$) decrease during three days of storage of bran control sample (Fig. 21). After three days of storage minor ($p>0.05$) decrease was in control bran samples. The number of Bb12 decreased in DSKK sample by 1.14%, in DRKK by 0.11%, in RRKK by 0.79% and in JSRK by 1.58%. During the same time the decrease of Bb12 bacteria in thermal treated samples was by 3.43% (DSKK), by 5.02% (DRKK), by 7.50% (RRKK) and by 6.09% (JSRK).

Number of Bb12 was higher in enzymatically hydrolysed bran.

The population of *Bifidobacterium lactis Bb12* bacteria in sample RRKK was 9.39 ± 0.01 lg CFU g⁻¹, in DSKK – 9.25 ± 0.04 lg CFU g⁻¹, in DRKK – 9.20 ± 0.05 lg CFU g⁻¹ and in JSRK – 9.19 ± 0.05 lg CFU g⁻¹. Reducing sugar content (glucose, fructose, and maltose) in enzymatically hydrolysed bran is significantly raised. Since bacterium Bb12 has ability to assimilate reducing sugars, certainly the enzymatically hydrolysed bran can be useful substratum providing bacteria Bb12 with nutrients. As a result, bacterium Bb12 retains its viability during 72 hours of storage.

Obtained results confirm that by enzymatic and microbiological processes it is possible to obtain new functional food product, which can be used in the food industry to produce, for example, breakfast cereals, biscuits, nutrition bars, acidified milk products.

CONCLUSIONS

1. In the study was determined, that optimal α -amylase addition for wheat and rye bran enzymatic hydrolysis is 125 U (500 μ l) to 10 g^{-1} of bran substratum and enzyme Viscozyme L of 50 U (500 μ l) to 10 g^{-1} of bran substratum.
2. As a results of the enzymatic hydrolysis:
 - ❖ the starch content of wheat bran decreased in average by 55.16%, in rye bran by 64.52%;
 - ❖ the fibre content of wheat bran decreased in average by 19.26%, in rye bran by 13.12%;
 - ❖ reducing sugar content (glucose, fructose, maltose) in wheat bran increased by 171.08%, in rye bran by 44.62%.
3. The content of soluble solids during enzymatic hydrolysis increased in wheat and rye bran up to 6.8 °Brix and 9.5, respectively, decreasing water retention ability of rye bran.
4. The size of the wheat bran particles have been decreased during the enzymatic hydrolysis changing their proportion; the colour of bran intensity increased as well (the value of L^* in average to 48.39), that should be considered when new food products will be developed.
5. The enzymatic hydrolysis of bran can significantly ($p<0.05$) increase the content of total phenolics (in average by 85,28%) flavonoids (by 24.65%) and tannins (by 38.12%). On the contrary the content of β -tocopherols, as well as α - and β -tocotrienols decreased during enzymatic hydrolysis, in average by 32%.
6. The antiradical activity in the bran samples was defined by two different methods – DPPH and FRAP, as more appropriate was ascertained FRAP method, especially in relation to total phenolic compounds, including flavonoid and tannin content.
7. Amount of TPC, yeasts, and lactic acid bacteria during the enzymatic hydrolysis of wheat and rye bran reduces.
8. Enzymatically hydrolysed wheat and rye bran is applicable substratum for development of *Bifidobacterium lactis* Bb12 bacteria. During fermentation CFU number in the substratum increased in average from of 5.00 lg CFU g^{-1} to 9.26 lg CFU g^{-1} , and did not change significantly ($p<0.05$) during three days of storage.
9. The results of study confirmed the nominated hypothesis, that enzymatic hydrolysis of wheat and rye bran alters the chemical composition and microflora.

Vitalijs Radenkovs
Latvijas Lauksaimniecības universitāte
Pārtikas tehnoloģijas fakultāte
LATVIA UNIVERSITY OF AGRICULTURE
FACULTY OF FOOD TECHNOLOGY
vitalijs.radenkovs@lvai.lv