

LIETUVOS SVEIKATOS MOKSLŲ UNIVERSITETAS
VETERINARIJOS AKADEMIJA
Veterinarijos fakultetas

Miglė Kulbokaitė

Giros aromatinių junginių sąsajos su žaliavų biosaugos rodikliais

Relations of the kvass volatile compounds with parameters of raw material biosafety

Veterinarinės maisto saugos nuolatinių studijų

MAGISTRO BAIGIAMASIS DARBAS

Darbo vadovė: prof. dr. Elena Bartkienė
Katedra: Maisto saugos ir kokybės katedra

KAUNAS 2022

DARBAS ATLIKTAS MAISTO SAUGOS IR KOKYBĖS KATEDROJE
PATVIRTINIMAS APIE ATLIKTO DARBO SAVARANKIŠKUMĄ

Patvirtinu, kad įteikiamas magistro baigiamasis darbas „Giros aromatinių junginių sąsajos su žaliavų biosaugos rodikliais“

1. Yra atliktas mano pačios;
2. Nebuvo naudotas kitame universitete Lietuvoje ir užsienyje;
3. Nenaudojau šaltinių, kurie nėra nurodyti darbe, ir pateikiu visą panaudotos literatūros sąrašą.

(data)

(autoriaus vardas, pavardė)

(parašas)

PATVIRTINIMAS APIE ATSAKOMYBĘ UŽ LIETUVIŲ KALBOS TAISYKLINGUMĄ
ATLIKTAJE DARBE

Patvirtinu lietuvių kalbos taisyklingumą atliktame darbe.

(data)

(redaktoriaus vardas, pavardė)

(parašas)

MAGISTRO BAIGIAMOJO DARBO VADOVO IŠVADOS DĖL DARBO GYNIMO

(data)

(darbo vadovo vardas, pavardė)

(parašas)

MAGISTRO BAIGIAMASIS DARBAS APROBUOTAS KATEDROJE

(data)

*(katedros vedėjo (-os) vardas,
pavardė)*

(parašas)

MAGISTRO BAIGIAMOJO DARBO RECENZENTAI

1)

2)

(vardas, pavardė)

(parašai)

MAGISTRO BAIGIAMŲJŲ DARBŲ GYNIMO KOMISIJOS ĮVERTINIMAS

(data)

(gynimo komisijos sekretorės (-iaus) vardas, pavardė)

(parašas)

TURINYS

SANTRAUKA	5
SUMMARY	6
ĮVADAS	7
1. LITERATŪROS APŽVALGA	9
1.1. Pagrindinės žaliavos, naudojamos giros gamyboje	9
1.1.1. Duona – žaliava giros gamybai	10
1.1.2. Mielės giros gamyboje.....	11
1.1.3. Pagrindiniai fermentuojamieji angliavandeniai giros gamyboje	12
1.2. Pelėsinų grybų paplitimas duonoje.....	13
1.2.1. <i>Aspergillus spp.</i> pelėsiniai grybai ir jų gaminami mikotoksinai	15
1.2.2. <i>Fusarium spp.</i> pelėsiniai grybai ir jų gaminami mikotoksinai	16
1.3. Giros aromatinių junginių profilis	17
1.3.1. 2-feniletanolis	18
1.3.2. Propanolis	19
1.3.3. Butanolis.....	19
1.3.4. Metanolis	20
2. TYRIMO METODIKA	21
2.1. Principinė tyrimo schema	21
2.2. Tyrimo objektai ir metodai	22
2.2.1. Tyrimo objektai	22
2.2.2. Duonos paruošimas giros gamybai ir giros gamybos technologinė schema	24
2.2.3. Giros tyrimo metodai	24
2.2.3.1. Aktyvaus rūgštingumo nustatymo metodika	24
2.2.3.2. Spalvų koordinačių nustatymo metodika	25
2.2.3.3. Sausųjų medžiagų tyrimo metodika	25
2.2.3.4. Giros aromatinių junginių tyrimo metodika	25
2.2.3.5. Deoksinivalenolio giroje tyrimo metodika	26
2.2.3.6. Giros juslinių savybių ir bendro priimtumo vertinimo metodika	27
2.2.4. Statistinė analizė	27
3. REZULTATAI	28

3.1. Giros mėginių aktyvusis rūgštingumas	28
3.2. Giros mėginių spalvų koordinatės	28
3.3. Sausosios medžiagos, esančios giros mėginiuose	30
3.4. Giros aromatinių junginių profilis	30
3.5. Deoksinivalenolio kiekis giros mėginiuose	32
3.6. Juslinės savybės giros mėginiuose	33
4. REZULTATŲ APTARIMAS	36
IŠVADOS	39
LITERATŪRA	40
PRIEDAI	44

SANTRAUKA

Magistro darbą parengė: Miglė Kulbokaitė.

Darbo vadovė: prof. dr. Elena Bartkienė.

Pavadinimas: Giros aromatinių junginių sąsajos su žaliavų biosaugos rodikliais.

Magistro darbo atlikimo vieta: Lietuvos sveikatos mokslų universitetas, Veterinarijos akademija, Maisto saugos ir kokybės katedra.

Magistro darbo atlikimo laikotarpis: 2020.09.15 – 2022.04.01

Magistro darbo apimtis: 45 puslapiai, 12 paveikslų, 1 lentelė, 9 priedai, 51 literatūros šaltinis.

Darbo tikslas: išanalizuoti giros aromatinių junginių profilį ir įvertinti jo pokyčius, priklausomai nuo žaliavų biosaugos rodiklių.

Tyrimo metu atlikta giros gamyba, naudojant skirtingos duonos rūšis neužkrėstas ir užkrėstas pelėsinais grybais. Darbo metu analizuota pelėsinių grybų ir duonos rūšies įtaka giros fizikinėms cheminėms ir juslinėms savybėms bei deoksinivalenolio kiekiui giroje. Nustatyta, kad duonos, naudotos giros gamybai, rūšis turėjo reikšmingą įtaką giros priimtinumui ($p \leq 0,0001$), o priimtinausia įvertinta gira, pagaminta iš „Jonės“ duonos (92 balai). Analizuoti veiksniai turėjo įtakos giros aromatinių junginių profiliui. Giroje identifikuoti iš viso 82 skirtingi aromatiniai junginiai (AJ), iš kurių vyravo etanolis, 2-metil-1-propanolis, 3-metil-1-butanolis, heksano rūgštis, etil-oktanoatas, etil-kapratas, karvedilolis ir kt. O didesnės AJ įvairovė nustatyta giroje, pagamintoje iš užkrėstos mikroskopiniais grybais duonos. Giroje, pagamintoje iš neužkrėstos mikroskopiniais grybais duonos, nustatyta deoksinivalenolio (nustatyta Nr. 1 – 21,36 $\mu\text{g/kg}$; Nr. 3 – 6,16 $\mu\text{g/kg}$), tačiau jo koncentracija mėginiuose buvo mažesnė, nei ta, kuri pavojinga vartotojams. Nepaisant to, kad giros, pagamintos iš užkrėstos mikroskopiniais grybais duonos, kvapas buvo įvertintas kaip priimtinas, joje nustatyta deoksinivalenolio koncentracija buvo vidutiniškai, 4,65 $\mu\text{g/kg}$. Duonos, naudotos giros gamybai užkrėtimas mikroskopiniais grybais turėjo įtakos giros fizikinėms cheminėms savybėms, t. y., giros, pagamintos iš neužkrėstos duonos pH (3,75), spalvų koordinatės (šviesumas – 65,24; raudonumas – -1,60; geltonumas – 25,11), sausosios medžiagos (3,07 proc.) nustatytos didesnės nei giros mėginių, pagamintų iš užkrėstos pelėsinais grybais duonos (pH 3,23, spalvų koordinatės: šviesumas – 63,44; raudonumas – -0,72; geltonumas – 29,02, sausosios medžiagos: 2,88 proc.). Apibendrinant galima teigti, kad giros gamybai naudojama žaliava turi būti saugi, nes mikroskopinių grybų metabolitai pereina į galutinį produktą.

Raktiniai žodžiai: gira, duonos rūšis, pelėsiniai grybai, aromatiniai junginiai, deoksinivalenolis, biosaugos rodikliai.

SUMMARY

Author: Miglė Kulbokaite.

The supervisor of the work prof. dr. Elena Bartkiene.

The title: „Analysis of the kvass aromatic compounds and their relation with raw material biosafety parameters“.

Work was completed at the Lithuanian University of Health Sciences, Veterinary Academy, Department of Food Safety and Quality.

Bachelor work was carried out in period of: 15.09.2020 – 01.04.2022

Scope of work: 45 pages, 12 pictures, 1 table, 9 affixes and 51 references.

During the study, kvass was produced using different types of bread non-infected and infected with mold spores. The influence of contamination with mold and bread type on the physico-chemical and sensory properties of kvass and deoxynivalenol content in kvass was analyzed. It was found, that the type of bread used for the production of kvass have a significant effect on the acceptability of kvass ($p \leq 0.0001$), and the most acceptable kvass prepared from Jonė bread (92 points) was established. The analyzed factors were significant on the kvass volatile compounds profile (VC). A total of 82 different VC were identified in the kvass, of which ethanol, 2-methyl-1-propanol, 3-methyl-1-butanol, hexanoic acid, ethyl octanoate, ethyl caprate, carvadiol and others were predominated. A higher variety of VC showed kvass prepared from contaminated with mold bread. Deoxynivalenol (determined in No. 1 - 21.36 $\mu\text{g/kg}$; No. 3 - 6.16 $\mu\text{g/kg}$) was found in kvass prepared from non-contaminated bread, but its concentration in the samples was lower than that could cause a health problems for consumers. Although the smell of bread prepared from contaminated bread was considered acceptable, and the deoxynivalenol concentration in kvass was, on average, 4.65 $\mu\text{g/kg}$. Contamination of bread has a significant influence on the physico-chemical parameters of kvass. The pH, color coordinates and dry matter of the kvass prepared from non-contaminated bread (pH 3.75; brightness 65.24; redness -1.60; yellowness 25, 11; dry matter 3.07%) were higher, in comparison with kvass samples prepared from contaminated bread (pH 3.23; color coordinates: brightness - 63.44; redness - -0.72; yellowness - 29.02, dry matter 2.88%). It could be concluded, that the raw material used for kvass preparation must be safe because the metabolites of microscopic fungi are transferred to the final product.

Keywords: kvass, bread type, molds, volatile compounds, deoxynivalenol, biosafety indicators.

IVADAS

Daugelyje pasaulio šalių gėrimų įvairovė ir jų suvartojimas varijuoja, priklausomai nuo tradicijų, sveikos gyvensenos principų, mitybos, ekonomikos, geografinių zonų ir kt. Kiekvienas žmogus pivalo gauti skysčių, kurie yra reikalingi organizmui.

Gira – gėrimas, gaminamas rauginant giros misą mikroorganizmų kultūrų raugu, po rauginimo pridedant arba nepridedant cukrinių ir kitų maisto žaliavų bei maisto priedų, kurio alkoholio koncentracija neviršija 1,2 tūrio proc. Giroje etanolio koncentracija gali svyruoti nuo 0,7 iki 2,2 proc. Todėl gira yra laikomas nealkoholinis gėrimas dėl savo sudėtyje esančio mažo kiekio etilo alkoholio, tačiau gamybos proceso metu vyksta alkoholinė fermentacija. Šis gėrimas mus pasiekė iš Rytų Europoje paplitusios slaviškos virtuvės. Gira plačiai pradėta vartoti XVI amžiuje Rusijoje ir kitose slavų kultūros šalyse. Šiuo metu šis gėrimas Rusijoje, Lenkijoje, Baltarusijoje ir netgi Lietuvoje yra laikomas nacionaliniu šalies gėrimu.

Dažniausiai giros gamybos technologijai naudojamos žaliavos yra vanduo, cukrus ir mielės, kurios sukelia alkoholinę fermentaciją. Giros skoniui pagerinti gali būti naudojama įvairūs priedai: duona, vaisiai, razinos, kava, kmynai, uogos, medus ir kt. (1). Šio gėrimo gamybos metu yra naudojamos mielės, kurios skatina fermentacijos procesą skaidant įvairius angliavandenius. Šio proceso metu susidaro pirminiai, antriniai ir šalutiniai metabolizmo produktai. Vartojant giros gėrimus žmogaus organizmas ne tik gauna jam reikalingų skysčių bei druskų. Fermentacijos proceso metu gali susidaryti įvairūs vitaminai ir kitos fiziologiškai aktyvios medžiagos, kurios yra naudingos žmogaus organizmui (2).

Gaminant duonos girą pagrindinė naudojama žaliava yra tamsi duona. Gamybiniu požiūriu gaminant girą didelė problema yra duonos gedimas. Pagrindiniai mikroorganizmai, kurie sukelia duonos gedimą, yra bakterijos, pelėsiniai grybai ir mielės. Jų galima aptikti ore, vandenyje bei žaliavose. Esant tinkamoms sąlygoms mikroorganizmai duonoje suaktyvina daugelį fermentų ir taip sukelia nepageidaujamus duonos skonio, kvapo, tekstūros ir spalvos pokyčius. Taip sumažina duonos vartojimo trukmę. Labiausiai duona yra užteršiama pelėsinais grybais ir jų sporomis, kurios yra aplinkoje laikymo metu. Pagrindinės rūšys yra *Aspergillus spp.*, *Penicillium spp.*, *Fusarium spp.*, *Mucor spp.* gentys. Pagal atliktus tyrimus yra nustatyta, jog 1 grame miltų yra apie 8000 pelėsių sporų. Esant tinkamoms sąlygoms sporos virsta pelėsinais grybais ir pradeda daugintis. Tada į aplinką ima sklisti ne tik sporos, tačiau ir nuodingos medžiagos – mikotoksinai. Dėl jų gali pakisti produkto skonio savybės. Taip pat vis daugiau tyrimų atliekama norint išsiaiškinti, koks mikotoksinų poveikis žmonių sveikatai. Daugelis mikotoksinų pasižymi toksinėmis, kancerogeninėmis, mutageninėmis savybėmis (3, 4).

Alkoholinių gėrimų gamybos metu gali susidaryti aukštesnieji alkoholiai ir kiti fuzelio junginiai. Aukštesnieji alkoholiai – tai aukštesniųjų alifatinių alkoholių, aldehydų, karboksirūgščių, ketonų ir kitų junginių mišinys. Jų molekulėse yra daugiau nei du anglies atomai. Šie junginiai susidaro alkoholinės fermentacijos metu ir suteikia gėrimui savitą skonį ir aromatą. Junginių koncentracija priklauso nuo daugelio veiksnių: žaliavos, fermentacijos trukmės ir temperatūros, mikroorganizmų, receptūrų ir kt. Taip pat didesnis kiekis susidarys esant aukštesnei temperetūrai, žemesniam pH bei esant didesniam azotinių junginių kiekiui. Dažniausiai gaminant alkoholinius gėrimus susidaro 1-propanolis, 2-propanolis, amilo alkoholis, butanolis bei jų izomerai. Šie junginiai, nors ir suteikia aromato savybes gėrimams, didesnėmis koncentracijomis gali būti kenksmingi vartotojams, todėl jų kontrolė galutiniam produkte yra būtina. Junginiai gali sustiprinti produkto skonį priklausomai nuo jų susidariusių junginių savybių ir jų kiekio. Net ir labai mažos koncentracijos gali suteikti gėrimui išskirtinį aromatą bei skonį.

Darbo tikslas: išanalizuoti giros aromatinių junginių profilį ir įvertinti jo pokyčius, priklausomai nuo žaliavų biosaugos rodiklių.

Darbo uždaviniai:

1. Atlikti giros gamybą laboratorinėmis sąlygomis iš skirtingų rūšių duonos ir įvertinti jusliškai giros mėginių aromato savybes bei chemiškai išanalizuoti aromatinių junginių profilį.
2. Atlikti giros gamybą laboratorinėmis sąlygomis iš skirtingų rūšių duonos, apkrėstos pelėsiniais grybais, ir įvertinti jusliškai giros mėginių aromato savybes bei chemiškai išanalizuoti aromatinių junginių profilį.
3. Įvertinti sausųjų medžiagų kiekį, pH, spalvų koordinates giros mėginiuose, pagamintuose iš neužkrėstos ir užkrėstos mikroskopiniais grybais duonos.
4. Atlikti palyginamąją statistinę analizę ir įvertinti, ar biosaugos rodikliai turi įtakos analizuotiems giros rodikliams.

1. LITERATŪROS APŽVALGA

1.1. Pagrindinės žaliavos, naudojamos giros gamyboje

Gira yra mažai alkoholio turintis gėrimas, kuris žmogaus organizmui pavojaus nekelia. Pagal Lietuvos Respublikos žemės ūkio ministro įstatymą gira yra apibūdinama, kaip gėrimas, gaminamas rauginant giros misą mikroorganizmų kultūrų raugu, po rauginimo pridedant arba nepridedant cukrinių ir kitų maisto žaliavų bei maisto priedų, kurio alkoholio koncentracija neviršija 1,2 tūrio proc. Giroje esantis etanolio kiekis yra prilyginamas kefyrai. Gira turi teigiamą poveikį virškinamajam traktui bei yra nustatyta, jog natūraliai fermentuotoje giroje yra 25 kcal (105 kJ) energijos 100 ml. Giroje yra daugiau nei 30 skirtingų mineralinių medžiagų ir vitaminų. Dažniausiai aptinkamos šios mineralinės medžiagos: varis, fosforas, kalis, cinkas, geležis, fluoras. Taip pat B grupės vitaminai – tiaminas, riboflavinai, niacinas ir folio rūgštis. Giroje yra mažas kiekis natrio bei nėra aptinkama nitratų, todėl yra rekomenduojama gerti žmonėms, norintiems sumažinti kraujo spaudimą (5).

Pramonėje gira gali būti gaminama iš šaltinio arba geriamojo vandens, įvairių vaisių ir daržovių sulčių arba tyrių, sulčių koncentratų, anglies dioksido, kepimo mielių arba naudojamos tam tikros mielių kultūros, medaus, saldiklių, kvapiųjų medžiagų bei maisto priedų. Gali būti naudojami konservantai, kurie prailgina giros galiojimo laiką arba gali būti naudojami gaminat nepasterizuotą girą sumažinant jos fermentinį aktyvumą. Pagrindiniai konservantai naudojami gaiviųjų gėrimų gamyboje yra benzokarboksi rūgštis, sorbo rūgštis, natrio benzoatas. Taip pat svarbu, jog gamybos metu būtų užtikrinta švara ir higiena, tam yra naudojamos nerūdijančio plieno talpyklos. Vandens kokybė taip pat turi įtakos giros skonio formavimuisi, todėl yra rekomenduojama girą gaminti iš minkštesnio vandens, t. y., jog vandenyje turėtų būti mažas kiekis kalcio ir magnio druskų. Padidėjęs sulfatų kiekis vandenyje girai gali suteikti kartoką skonį, silikatai trukdo vykti fermentacijos procesui, švino chloridai vandenyje gali padaryti girą nemalonaus saldoko skonio, manganas turi įtakos giros skonio ir spalvos pokyčiams. Giros gamybai gali būti naudojamas salyklos, kuriame yra mažas kiekis baltymų ir didelis kiekis krakmolo, reikalingo fermentacijos procesams vykti. Dažniausiai naudojami salyklos iš vasarinių miežių (6). Ir svarbiausias komponentas giros gamyboje yra mielės arba pieno rūgšties bakterijos. Dažniausiai naudojamos *Saccharomyces cerevisiae* mielės, kurios gali pagaminti didelį kiekį etilo alkoholio anaerobinėmis sąlygomis. Taip pat fermentacijos metu susidaro įvairūs aromatiniai junginiai – aukštesnieji alkoholiai, aldehydai, esteriai, kurie girai suteikia savitą skonį ir aromatą. Taip pat šie junginiai gali susidaryti naudojant

duonos džiovėsėlius arba skrudintą duoną. Tai pagerina ne tik giros skonį, bet ir suteikia girai tamsesnę spalvą (7).

1.1.1. Duona - žaliava giros gamybai

Viena pagrindinių žaliavų giros gamybai yra ruginė duona. Duona suteikia girai spalvą ir skonį. Dažniausiai giros gamybai naudojama ruginė duona, pasižyminti savitu saldžiarūgščiu skoniu. Duonos gamyboje naudojamos žaliavos yra ruginiai miltai, vanduo, druska ir raugas. Ruginės duonos gamyba skiriasi nuo kvietinės duonos dėl naudojamo raugo. Pagrindiniai raugo mikroorganizmai yra pieno rūgšties bakterijos, kurios fermentacijos proceso metu gamina pieno rūgštį. Pieno rūgštis suteikia duonai rūgštų skonį. Duonai saldumo gali suteikti plikiny. Dėl šių priežasčių ruginė duona su plikiniu ir raugu pasižymi saldžiarūgščiu skoniu ir aromatu. Esant didesniai nei 321 mg/ml pieno rūgšties kiekiui, ji slopina mikroorganizmų vystymąsi (8). Anaerobinėje aplinkoje, vykstant gliukolizės procesui, susidariusi pieno rūgštis gali būti L(+) ir D(-). L(+) pieno rūgšties izomeras susidaro natūraliai žinduolių organizme. Šis pieno rūgšties izomeras gali būti naudojamas kaip priedas maisto produktų ir gėrimų gamyboje. D(-) pieno rūgšties izomeras susidaro tam tikrų dumblių rūšyse, taip pat jį produkuoja bakterijos. Pasaulio sveikatos organizacija (PSO) yra pateikusi rekomendacijas, kuriose nurodoma, kad D(-) rekomenduojama norma – ne daugiau kaip 100 mg/kg kūno svorio per dieną. Ypač svarbus šių izomerų susidarymas yra maisto fermentacijos procesų metu, gaminant jogurtus, sūrius bei alų. Gamybos metu pieno rūgšties izomerų santykis yra kontroliuojamas, užtikrinant tinkamą produkto kokybę (9).

Taip pat dėl raugė esančių bakterijų intensyvios veiklos duonos kildinimo laikas yra trumpesnis (2-4 val.) nei kvietinės duonos gamybos metu. Ruginių miltų technologinės savybės lemia didesnę duonos rūgštingumą ir drėgmės kiekį, lyginant su kvietine duona. Gauta tešla yra vertinama pagal tūrio padidėjimą kildinimo proceso metu, tešlos elastingumą. Tešlos elastingumas ir klampa yra vienas iš pagrindinių rodiklių, kuris lemia galutinio produkto savybes ir kokybę. Tešlos klampumas priklauso nuo jos paruošimo būdo, naudojamų žaliavų ir jų kokybės, temperatūros, drėgnio, mechaninio veikimo trukmės ir greičio bei kitų veiksnių. Taip pat gaminant ruginę duoną jos kokybei įtakos turi ir tešlos baltymų bei fermentų sąveika.

Ruginės duonos vandens sugėrimas yra didesnis (59,6 proc.), nei kvietinės duonos (50,4 proc.). Tai yra dėl didesnio kiekio pentazonų ruginėje duonoje nei kvietinėje. Pentazonai sugeria vandenį, todėl ruginė tešla yra labiau klampesnė ir lipnesnė. Taip pat ruginiuose miltuose esantis krakmolai hidrolizuojamas iki dekstrinų. Daugiau gilitimo yra kvietinėje duonoje. Pirmos rūšies miltuose yra 25-30 proc., antros rūšies – 22-25 proc. Dekstrinai susiformuoja tešlos gamybos metu, todėl ruginių miltų tešlą reikia minkyti trumpiau, nei kvietinę, apie 13 min. Visa tai vyksta rūgščioje

terpėje, kurios pH yra 4-4,5 dėl susidariusios pieno rūgšties fermentacijos būdu naudojant pienarūgštes bakterijas (10).

Duonos gamybos pramonėje dažnai išvaizdos kriterijų neatitinkanti ar sužiedėjusi duona yra utilizuojama ir taip padidėja gamybos atliekos. Siekiant sumažinti šias atliekas, netinkama naudoti duona dalinai perdirbama, gaminant kitas duonos partijas ar raugą. Taip pat neatitinkanti kokybės rodiklių, tačiau saugi (nesupelijusi) duona yra tinkama žaliava fermentuotų gėrimų, pvz., giros, gamybai. Taip sumažinamos duonos pramonės atliekos. Viena iš Vokietijos bendrovių „IsernHäger“ sukūrė skystą raugo fermentą IBF, panaudojant sužiedėjusią duoną. Šis raugo fermentas buvo pagamintas, perdirbant 15-50 proc. sužiedėjusios duonos. Šio fermento taikymas duonos gamyboje leidžia pagerinti duonos skonį, aktyvuoti fermentacijos procesus ir padidinti gamybos tvarumą (11).

1.1.2. Mielės giros gamyboje

Mielės – viena labiausiai naudojamų mikroorganizmų kultūrų maisto pramonėje. Pirmasis jų aktyvumą įrodė prancūzų mokslininkas Louis Pasteur. Jis nustatė, jog salykle esančius cukrus mielės gali paversti į alkoholį ir angliarūgštę. Taip buvo išaiškinta alkoholinė fermentacija, kurios produktai yra alus, vynas, gira ir kiti fermentuoti gėrimai. 1883 m. Emil Christian Hansen, remdamasis Pasteur išvadomis, sukūrė metodus, kaip išgauti grynas mielių kultūras. Nuo to laiko alaus pramonė pradėjo naudoti grynas mielių kultūras. Vėliau tokios kultūros buvo pritaikytos ir kitose gėrimų ir maisto technologijose. Atliekant vis daugiau tyrimų su mielėmis buvo nustatyta, jog jos turi įtakos alaus kokybei, skoniui bei aromatui, pagerina fizikinius cheminius alaus rodiklius. Taip pat yra sukurtos mielių kolekcijos, kurias šiuo metu sudaro apie 1900 mielių rūšių. Mielės viena nuo kitos skiriasi ne tik sandara, genomu, tačiau ir savybėmis. Vienos mielės gamina didesnes etanolio išeigas žemesnėje temperatūroje, kitos – aukštesnėje. Taip pat vienos mielių padermės gali išskirti didesnes etanolio išeigas, o kitos labiau aromatinius junginius, kurie suteikia produktui intensyvesnį skonį bei aromatą. Be to, esant mokslo pažangai, mielės hibridizuojamos. Alaus gamyboje suhibridizavus *Saccharomyces cerevisiae* ir *Saccharomyces eubayanus* mieles buvo gautas šių mielių hibridas, kuris fermentuoja angliavandenius itin žemoje temperatūroje (12).

Dažniausiai *Saccharomyces cerevisiae* mielės naudojamos duonos pramonėje, gaminant vyną, alų, girą bei kitus fermentuotus gėrimus, biokuro gamyboje ir kt. Pramonėje šios mielės dar vadinamos kepimo mielėmis. *Saccharomyces cerevisiae* mielės naudojamos gamyboje, siekiant gauti didesnius kiekius etanolio alkoholinės fermentacijos metu. Jos gali gaminti etilo alkoholį plačiu pH diapazonu. Mielės gali išskirti alkoholio dehidrogenazes, kurios gliukozės molekules paverčia į etilo alkoholio ir aldehido molekules. Taip pat šio proceso metu vyksta oksidacijos reakcijos, kurių

galutinis produktas yra angliarūgštė. Fermentuojant gliukozę, ADH1 katalazės fermentas skatina didesnį tanolio kiekio susidarymą ir acetaldehido sumažėjimą (13).

Nustatyta, kad *Saccharomyces cerevisiae* mielės alkoholinės fermentacijos metu gali sumažinti įvairių kenksmingų junginių susidarymą. Fermentacijos metu suaktyvinamas specifinių molekulių aktyvumas. Suaktyvėja L-gliutationas (GSH) ir išsiskiria peroksidazės. Šie junginiai dalyvauja ląstelių fiziologiniuose procesuose ir pasižymi antioksidacinėmis, stresą mažinančiomis savybėmis. Taip pat gali turėti įtakos ląstelių detoksikacijos procesams. Atlikti tyrimai rodo, jog naudojant magnetinius laukus galima paveikti ląstelės membranas ir suaktyvinti šių fermentų veiklą bei metabolizmą mielių ląstelėse. Mielėse padidėja (GSH) kiekis, kuris yra susijęs su oksireduktazės reakcijomis alkoholinės fermentacijos metu (14). Nors tyrimų nėra daug, tačiau manoma, jog mielės mažina mikotoksinų koncentraciją gamybos metu. Nors mikotoksinai gali paveikti mielių ląsteles ir keisti jų metabolizmą įvairiais būdais, tačiau šios fermentacijos metu mikotoksinų kiekis grūduose, o vėliau ir grūdų produktuose, mažėja.

1.1.3. Pagrindiniai fermentuojamieji angliavandeniai giros gamyboje

Giros gamybos pagrindas yra fermentuojamųjų angliavandenių metabolizmas mielėmis. Fermentacijos proceso metu susidaro aukštesnieji alkoholiai, ketonai, aldehydai ir kiti junginiai, suteikiantys girai skonį ir aromatą. Giros gamyboje, norint pagerinti gėrimo stabilumą, rekomenduojama naudoti mieles, kurios gali fermentuoti gliukozę ir fruktozę, tačiau neskaido maltozės ir sacharozės. Giros fermentacijos procesas gali būti stabdomas reikiamu metu, išgaunant įvairesnės cheminės sudėties junginius. Įvairios mielių rūšys bei skirtingi fermentuojamieji angliavandeniai suteikia girai skirtingas juslines savybes (15). Cukrinėms žaliavoms priskiriamos savo sudėtyje turinčios didelį kiekį gliukozės, fruktozės, sacharozės bei angliavandenių. Dažniausiai giros gamyboje naudojama sacharozė gaunama ir iš cukrinių runkelių ar cukranendrių (16).

Pramoniniu būdu gaminant girą gali būti naudojamos ir kitos, saldų skonį suteikiančios, medžiagos. Giros gamyboje be medaus, fruktozės sirupo, melasos gali būti naudojami ir dirbtiniai saldikliai, kaip ksilitolis, sacharinas, stevija. Rusijoje buvo atlikti tyrimai, kurių metu buvo tiriami giros, pagamintos, naudojant skirtingų rūšių saldų skonį suteikiančias žaliavas ir skirtingas jų koncentracijas, kokybės rodikliai. Tyrimai parodė, jog intensyviausia fermentacija vyko mėginiuose, kuriuose vietoj sacharozės buvo naudojama fruktozė. Mažiausias fermentacijos aktyvumas buvo mėginiuose su 30 proc. fruktozės ir 70 proc. ksilitolio. Mėginiai buvo lyginami su kontroliniu mėginiu, pagamintu su sacharoze. Taip pat mėginyje su fruktoze buvo nustatytas ir didesnis kiekis etanolio, t.y. 1,7 proc. Kituose mėginiuose etanolio kiekis buvo mažesnis nei 1,2 proc. Šis tyrimas

parodė, kad naudojant natūralius saldiklius galima gauti ne tik išskirtinio skonio ir aromato giros gėrimus, tačiau ir padidinti fermentacijos proceso metu etanolio kiekį geroje (17).

Taip pat gira gali būti gaminama su vaistiniu saldymedžiu (*Siraitia grosvenorii*), nenaudojant papildomai kitų saldinančių medžiagų. Tokią girą gali vartoti ir sergantys cukriniu diabetu žmonės. Vaistinis saldymedis yra auginamas pietų Kinijoje ir Tailande. Iš augalo vaisių išgaunamas ekstraktas, kurio saldumas 250 kartų didesnis už sacharozės. Pagrindiniai cheminiai junginiai, suteikiantys šiam ekstraktui saldumą, – mikrozdai, iš kurių labiausiai paplitęs 5-mikrozidas. Dažniausiai šio augalo vaisiai yra naudojami kaip saldikliai ir tradicinėje Kinų medicinoje kosuliui bei gerklės skausmui gydyti (18). Dėl per mažai atliktų tyrimų apie šio saldiklio poveikį visuomenės sveikatai, Europos komisija šį saldiklį klasifikuoja kaip naują ir nepatvirtintą. JAV maisto ir vaistų administracija pripažino, jog šis saldiklis yra saugus ir tinkamas vartoti maisto gamyboje (19). Giros gamybai kaip žaliava buvo naudotas vaistinio saldymedžio ekstraktas, sumaišytas su duonos ekstraktu. Gautame gėrime sacharozės nenustatyta, o skonis buvo vertinamas kaip gaivus ir priimtinas vartotojams. Tokia gira yra tinkama ir antsvorio turintiems, ir širdies ligomis sergantiems asmenims. (20).

1.2. Pelėsinų grybų paplitimas duonoje

Pelėsiniai grybai arba mikromicetai – viena plačiausiai gamtoje paplitusių mikroorganizmų grupė, kuriai būdingos lanksčios adaptacinės sistemos galimybės. Tai labai įvairi, gyvybinga, aktyvi, įvairius metabolitus produkuojanti mikroorganizmų grupė. Pelėsiniai grybai yra vienaląsčiai ir daugialąsčiai, chlorofilo neturintys heterotrofiniai eukariotiniai mikroorganizmai, pagal savybes priskiriami grybų karalystei (*Mycota, Fungi*). Jie gali daugintis ant kitų organizmų, įskaitant ir įvairias augalines žaliavas, maisto produktus. Mikromicetų vegetatyvinė dalis produkuoja fermentus, kurie, sąveikaudami su žaliavų ar produktų maistinėmis medžiagomis, jas skaido, įsisavina ir sudaro sąlygas sporuliacijai. Mikromicetai reprodukuoja mažas, šviesias sporas, lengvai plintančias oru. Todėl maisto medžiagomis, vitaminais turtingų vaisių, uogų, daržovių paviršiuje bei gilesniuose sluoksniuose, kur gausu drėgmės, gali vystytis įvairios mikromicetų rūšys, tarp jų tokios, kurios pasižymi agresyvumu, patogeniškumu bei virulentiškumu. Dažniausiai pelėsiniai grybai aptinkami ant agrokultūrų, maisto produktų, gėrimuose ir pašaruose (21). Dėl didelės produktų drėgmės ir optimalios temperatūros gali daugintis įvairių rūšių pelėsiniai grybai, tačiau dažniausiai aptinkami *Aspergillus spp.*, *Penicillium spp.*, *Fusarium spp.*, *Alternaria spp.*, ir kitos rūšys. Taip pat pelėsiniai grybai gamina ir išskiria chemines toksines medžiagas – mikotoksinus. Mikotoksinai yra antriniai metabolitai, kuriuos pelėsiniai grybai išskiria į aplinką. Pagrindiniai mikotoksinai yra aflatoksinai, ochratoksinai, fumonizina, trichotecenai ir zearalenonas. Mikotosinų molekulės gali būti labai įvairios, sudarančios tam tikrus heterociklinius junginius. Molekulių svoris gali svyruoti nuo 50 Da

iki 500 Da. Mikotoksinai turi keturis pagrindinius toksiškumo tipus: ūmus, lėtinis, teratogeninis ir mutageninis. Ūmus poveikis pasireiškia mikotoksino apsinuodijimu, kepenų ir inkstų funkcijų pablogėjimu, dėl kurio gali ištikti ir mirtis. Tačiau kai kurie mikotoksinai pasižymi neurotoksininiu poveikiu ir gali pažeisti gyvūno ar žmogaus nervų sistemą. Pagrindinis daugelio mikotoksinų lėtinis poveikis yra onkologinių ligų sukėlimas. Kai kurie toksinai veikia DNR replikaciją, taigi gali sukelti mutageninį ar teratogeninį poveikį (22).

Pelėsiniai grybai gali augti esant žemai temperatūrai (apie 18 °C). Tačiau optimali temperatūra yra 20-25 °C. Vandens aktyvumui didesniai nei 80 proc. Tačiau kai sąlygos nepalankios, mikromicetai gali sudaryti sporas, kurios išlieka gyvybingos net kelis metus. Sporos gali susidaryti ore ar vandenyje ir taip išplisti aplinkoje. Priklausomai nuo pelėsinio grybo rūšies, sporos gali būti skirtingo dydžio. Pavyzdžiui, *Aspergillus niger* sporos yra 3,5-4,5 µm, *Aspergillus carbonarius* – 7-9 µm. Skirtingų rūšių sporų forma taip pat skirtinga. Pavyzdžiui, *Aspergillus miraensis* sporos yra žvaigždės formos. Mikromicetai gali sudaryti ir askosporas, kurios yra atsparios aukštai temperatūrai. Šios askosporos išlieka gyvybingos netgi pasterizacijos ar aukšto slėgio apdorojimo metu. Atlikti tyrimai rodo, jog apdorojant produktą 5 min 55-64 °C temperatūroje askosporos išlieka gyvybingos. Jos gali augti esant žemam pH ir mažam deguonies kiekiui. Taigi, tokios askosporos, susidariusios maisto produktuose, turi neigiamą poveikį produkto tinkamumo vartoti terminui. Maisto produktą, užterštą askosporomis, reikėtų apdoroti itin aukštoje temperatūroje, o tai gali sumažinti produkto maistinę vertę. Taip pat pakinta produkto išvaizda ir skonio savybės. Jei užkrėsti produktai askosporomis nebus termiškai apdoroti, jų vartojimo terminas bus ženkliai trumpesnis (23, 24).

Duonos gamybos pramonėje pagrindinė problema – duonos tarša pelėsinų grybų sporomis, kurios vyrauja aplinkoje. Tai sukelia didelius ekonominius nuostolius ir patogeninių mikroorganizmų bei jų gaminamų toksinų patekimą į maisto produktą, dėl kurių produktas tampa nesaugus vartoti. Tokie nuostoliai duonos pramonėje Vakarų Europoje siekia apie milijardą dolerių per metus. Pelėsinų grybų sporomis duona užteršiama iš aplinkos, nuo įvairių įrengimų ar personalo. Norint taršą sumažinti, į produktus dedami konservantai, kurie gali būti natūralūs ir cheminiai. Pramoninėje duonos gamyboje dažniausiai naudojamas cheminis sintetinis konservantas – kalio propionatas (CP). Tačiau šio junginio kiekius reglamentuoja Europos parlamento ir tarybos direktyva 95/2/EB, dėl maisto priedų, išskyrus dažiklius ir saldiklius. Šioje direktyvoje nustatyti kiekiai yra 0,2-0,3 proc. 100 g produkto. Pagal atliktus tyrimus, tokie konservanto kiekiai yra per maži, siekiant sumažinti sporų kiekį duonos gaminiuose. Taip pat kintant vartotojų poreikiams, maisto pramonėje stengiamasi naudoti kuo mažiau cheminių priedų ir juos keisti natūraliais. Tad vis daugiau tyrimų atliekama ir tiriama, kaip sumažinti duonos taršą pelėsiniais grybais, naudojant natūralius biologinius konservantus. Publikuota, kad pelėsinų grybų augimą duonoje mažina ir antimikrobinėmis

savybėmis pasižymi bazilikų eterinis aliejus. Naudojamas mažais kiekiais jis gali sumažinti pelėsinų grybų sporuliaciją ant maisto produkto, tačiau per didelis kiekis pablogina duonos skonį ir aromatą. Aktyvusis komponentas eugenolis, esantis bazilikuose, padeda sumažinti *Aspergillus niger* ir *Penicillium roqueforti* pelėsinų grybų sporuliaciją ant duonos gaminių (25, 26).

Pelėsinus grybus ant duonos gaminių gali slopinti ir pieno rūgšties bakterijos, kurios gali būti dedamos į duonos gaminius. Šios bakterijos fermentacijos proceso metu išskiria pieno rūgštį bei mažais kiekiais įvairias kitas organines rūgštis, kurios sumažina pelėsinų grybų augimą. Pieno rūgštis sumažina produkto pH, dėl to pelėsinų grybų augimas sumažėja. Didžiausius kiekius šios rūgšties išskiria *Lactobacillus plantarum*. Publikuota, kad duona, kurios gamybai naudotos mielės *Saccharomyces cerevisiae* ir pieno rūgšties bakterijos *Lactobacillus plantarum* slopino pelėsinų grybų *Fusarium culmorum* augimą. Taip pat mėginiuose buvo nustatyti mažesni kiekiai *Aspergillus flavus*, *Penicillium chrysogenum*, *Penicillium expansum*, *Aspergillus niger*, *Penicillium roqueforti* pelėsinų grybų. Atlikti tyrimai parodė, jog pieno rūgšties bakterijos gali būti naudojamos duonos gamyboje kaip natūralus konservantas, apsaugantis duonos produktus nuo pelėsinų grybų taršos (27).

1.2.1. *Aspergillus spp.* pelėsiniai grybai ir jų gaminami mikotoksinai

Aspergillus spp. yra pelėsiniai grybai, kuriems priklauso įvairios rūšys: *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus terreus* ir kt. Pelėsiniai grybai yra plačiai paplitę ir randami, pvz., ant maisto produktų, statybinių medžiagų, medienos, vilnos ir kt. Jie pasižymi hidrofobiškomis savybėmis, todėl gali ilgą laiką išlikti ore. Konidijų ilgis gali varijuoti nuo 2 iki 3 µm. Jos gali būti atsparios aukštai temperatūrai ir UV spinduliams. *Aspergillus fumigatus* gali pasižymėti ir patogeninėmis savybėmis, t. y., gali sukelti žmonėms infekcijas (28). Aspergiliozę dažniausiai sukelia *Aspergillus fumigatus* pelėsinis grybas, kuris ypač pavojingas pacientams, sergantiems hematologiniais piktybiniais navikais. Publikuota, kad aspergiliozę gali sukelti ir *Aspergillus flavus* bei *Aspergillus terreus* (29). Aspergiliozės pasekmė gali būti ir lėtinė, ypač pacientams, kurių imuninės sistemos atsakas yra silpnas. Karščiavimas bei plataus veikimo spektro antibiotikų poveikio nebuvimas yra ankstyviausi ir dažniausiai apibūdinami invazinės grybelinės infekcijos požymiai. Invazinės *Aspergillus spp.* infekcijos simptomai yra kosulys, pykinimas ir ryškus pleuritinis krūtinės skausmas. Jie pastebimi ankstyvoje stadijoje, tačiau hemoptizė būna vėlai, t. y. po neutrofilų atsigavimo. Vėliau atsiranda viršutinių kvėpavimo takų sutrikimai, gali atsirasti nosies obstrukcija, kraujavimas iš nosies, veido skausmas, periorbitinis patinimas ir net gomurio pažeidimai (30).

Aspergillus niger – vienas iš labiausiai paplitusių *Aspergillus spp.* pelėsinų grybų. Dažniausiai aptinkamas ant maisto produktų: vaisių, daržovių, duonos gaminių. Micelis sudarytas iš haploidinių

siūlinių mikromicetų. Dėl sporų juodos spalvos vadinamas „juodoju pelėsiu“. Dažniausiai atsiranda mezofilinėje aplinkoje, kai temperatūra 35-37 °C. Tačiau gali augti ir 6-47 °C temperatūroje. Auga esant sąlyginai dideliame vandens aktyvumui, t. y., 0,88, lyginant su kitomis *Aspergillus spp.*

Ochratoksinas A – dažniausiai gaminamas *Aspergillus niger* mikotoksinas (31). Ochratoksinas A susideda iš izokumarino ir fenilalanino fragmentų, sujungtų amidiniu ryšiu. Ochratoksino A sudėtyje yra chloro. *Aspergillus niger* gaminamas ochratoksinas A gali ne tik pažeisti maisto produktus, bet ir sukelti susirgimus žmonėms, ypač tiems, kurių imuninė sistema yra susilpnėjusi. Šis toksinas pasižymi kancerogeniniu, mutageniniu, teratogeniniu, imunosupresiniu, nefratoksiniu poveikiu žmonėms. Šios rūšies toksinai ypač pavojingi nėščioms moterims ir vaikams, dėl mutageninio ir teratogeninio poveikių sukelia apsigimimus bei audinių nekrozę. Ochratoksinais gali pereiti placentos barjerą ir apnuodyti vaisių (32). Ochratoksinais aptinkami ir pašaruose, todėl gali patekti ir į maisto grandinę. Tokius pašarus naudojant gyvulių šėrimui ochratoksinais patenka į mėsą. Publikuota, kad iš pašarų ochratoksino A nedideli kiekiai patenka į paukštieną, tačiau, nekontroliuojant mėsos šio toksino kiekio, jis toliau gali patekti į maistą (33).

1.2.2. *Fusarium spp.* pelėsiniai grybai ir jų gaminami mikotoksinais

Fusarium spp. pelėsiniams grybams priklauso daug rūšių: *Fusarium poae*, *Fusarium graminearum*, *Fusarium culmorum*, *Fusarium cerealis*, *Fusarium pseudograminerum* ir kt. *Fusarium spp.* pasižymi gerai išsivysčiusiais, pertekliniais, nepigmentuotais hifais, su išsišakojimais, kurie sudaro konidijas. Jų forma, dydis ir skaičius priklauso nuo rūšies. *Fusarium spp.* pasižymi fitopatogeninėmis savybėmis, kurių tam tikros rūšys gali sukelti infekcijas. Kartais gali sukelti ūmines infekcijas, ypač tiems pacientams, kurių imunitetas yra nusilpęs. Mikotoksinais, patekę į maistą arba išskirti mikromicetų žarnyne, gali sukelti žarnyno mikrobiotos disbalansą. Ypatingas aspektas yra *F. venetatum* panaudojimas gaminant maisto produktus, kuriuose nėra cholesterolio ir kuriuose yra daug baltymų. Šių pelėsinų grybų augimas yra ganėtinai intensyvus, ypač esant drėgnoms aplinkos sąlygoms. Ant vieno produkto gali augti kelios *Fusarium spp.* rūšys, todėl jas atskirti dažniausiai naudojamas polimerazės grandininės reakcijos metodas (34).

Fusarium spp. aptinkami ant įvairių javų grūdų, o dažniausiai ant kviečių, avižų ir kukurūzų. *Fusarium spp.* grybai, patekę nuo dirvos ant varpos, gali užkrėsti augalą ir gaminti mikotoksinus. *Fusarium spp.* pelėsiniai grybai gamina fuzariotoksinus: deoksivalenolį, nivalenolį, T-2/HT-2 toksinus, zearalenoną, fumanizinus ir kt. *Fusarium spp.* kviečių infekcija sukelia „Fusarium Head Blight“ (FHB) ligą, kuri turi įtakos derliui, nes gali pakeisti kviečių branduolius ir pabloginti grūdų kokybės rodiklius bei saugą. Šių pelėsinų grybų plitimui įtakos turi agronominės ir aplinkos sąlygos. Esant didesnei drėgmei, *Fusarium spp.* grybų augimas spartėja. Todėl, siekiant sumažinti šių

pelėsinų grybų augimą, svarbu pasirinkti atsparias grūdų veisles, vykdyti sėjomainą, naudoti tinkamus fungicidus, derlių nuimti tinkamu metu, po derliaus grūdus džiovinti, jei jų drėgnis pernelyg didelis saugiam sandėliavimui (35).

Mikotoksinai yra grybelių metabolitai, kurie toksiški ir pavojingi žmonėms bei gyvūnams. Dažnai jie nustatomi maiste ir pašaruose ne po vieną ir sukelia didelius ekonominius nuostolius. Vomitoksinas arba deoksinivalenolis (DON) yra vienas iš mikotoksinų, susijusių su *Fusarium spp.* pelėsiniais grybais ir dažniausiai jį gamina: *F. beadium*, *F. pink*, *F. graminearum*, *F. yellow*, *F. oxysporum*, *F. avenae*, *F. briar*. DON priskiriamas B tipo trichotecenams. Tai vienas iš pavojingiausių mikotoksinų, jis dažniausiai aptinkamas ir padaro didelę ekonominę žalą. 1972 metais DON pirmą kartą aprašė japonų mokslininkas Morooka. Vėliau Yoshizawa ir Morooka 1973 m. ištyrė ir aprašė DON cheminę struktūrą bei pavadino „4-deoksinivalenoliu“. Tais pačiais metais šiam junginiui buvo skirtas dar vienas pavadinimas – „Vomitoksinas“. DON – tai bespalvė, kristalinė, termostabili medžiaga, kuriuos molekulinė masė yra 296,32 g/mol, lydymosi temperatūra 153 °C. DON molekulėje yra viena pirminė ir dvi antrinės hidroksilo grupės. Šis mikotoksinas tirpsta vandenyje ir poliniuose tirpikliuose (metanolyje, chloroforme, etilacetate). DON gali sukelti teratogenines (paveikiančias embrioną ir vaisių), kancerogenines (gali sukelti vėžį), imunitetą slopinančias (turinčios įtakos imuninei sistemai) reakcijas (36).

1.3. Giros aromatinių junginių profilis

Gaminant girą, fermentacijos metu mielės, skaidydamos angliavandenius, metabolizuoja aminorūgštis ir kitas maistines medžiagas, kad galėtų augti ir gaminti biomasę bei degraduoti įvairius junginius, kurie gėrimui suteikia savitą skonį ir aromatą. Gaminant girą anaerobinėmis sąlygomis, pagrindinis metabolitas yra etanolis, tačiau geroje šio junginio susidaro maži kiekiai. Didesni kiekiai nustatomi įvairių lakiųjų aromatinių junginių: esterių, aukštesniųjų alkoholių, lakiųjų riebalų rūgščių, karbonilų ir sieros junginių, kurie ir suteikia girai išskirtinį skonį ir aromatą. Daugelio šių aromatinių junginių susidarymas priklauso nuo azoto šaltinių substrate ir jų metabolizmo. Esant dideliame kiekiui azoto, susidaro aminorūgštys: alaninas, argininas, asparaginas, aspartatas, gliutamatas, gliutaminas ir serinas. Giros fermentacijai turi įtakos ir šių junginių kompozicijos, kurios taip pat pakeičia galutinio produkto skonį ir aromatą (37,38). Geroje gali susidaryti ir anglies dioksidas, mažos molekulinės masės junginiai, kurie suteikia girai būdingas išskirtines juslines savybes. Aukštesnieji alkoholiai, laisvosios aminorūgštys, aldehydai, organinės rūgštys, esteriai, organiniai sulfidai ir karbonilo junginiai turi nevienareikšmės įtakos produktų kokybei, kuri priklauso nuo šių junginių proporcijų gėrime.

Aukštesnieji alkoholiai ir kiti fuzelio junginiai, t. y. alkoholiai su daugiau nei dviem anglies atomais, dar vadinami „kvapiaisiais alkoholiais“, susidaro dėl aminorūgščių katabolizmo reakcijų. Misoje aminorūgštys yra pagrindinis azoto šaltinis. Ehrlichio keliu metabolizuojamos aminorūgštys: valinas, leucinas, izoleucinas, metioninas ir fenilalaninas. Šios aminorūgštys yra šakotos grandinės junginiai, kurie suteikia gėrimui intensyvesnį skonį ir kvapą (39). Aukštesnieji alkoholiai susidaro fermentuotų gėrimų, tokių kaip sidras, gira, midus, alus, vynas ir kt. gamybos metu. Fermentacijos metu daugiausiai susidaro 1-propanolio, 2-propanolio, butanolio (įvairūs izomerai), amiloalkoholio, furfurolo. Kai kurie gėrimai, pavyzdžiui, gira, šviesus alus bei sidrai turi santykinai dideles šių junginių koncentracijas, nes fuzeliai suteikia šiems gaminiams specifinį skonį. Aukštesnieji alkoholiai susidaro esant tam tikroms fermentacijos sąlygoms: per aukšta temperatūra, netinkama pH vertė, mielių veiklos ribojimas esant mažam azoto kiekiui ir kt. (40).

1.3.1. 2-feniletanolis

2-feniletanolis – tai organinis junginys, priskiriamas aukštesniesiems alkoholiams, kurį sudaro feniletino grupė, susijungusi su OH funkcinė grupe. Tai bespalvis skystis, pasižymintis mažu tirpumu vandenyje, turintis rožių kvapo aromatą. Šis junginys plačiai aptinkamas eteriniuose aliejuose. Taip pat šis junginys gali būti aptinkamas alaus, giros, duonos, kakavos, sūrio, sojos padažuose ir kituose fermentuotuose maisto produktuose, pagerindamas jų skonį ir aromatą. Be to, gali būti naudojamas farmacijos, kosmetikos ar parfumerijos pramonėje. 2-feniletanolis pramonėje išgaunamas dviem sintetiniais būdais iš benzeno ir etileno oksido, naudojant aliuminio trichlorido katalizatorių. Gali būti išgaunamas iš L-fenilalanino, naudojant *Saccharomyces cerevisiae* mieles. Taip pat maži šio junginio kiekiai gali būti išgaunami iš rožių, gvazdikų, jazminų, hiacintų, apelsino žiedų, pušų ekstraktų arba eterinių aliejų. 2-feniletanolis pasižymi priešgrybelinėmis ir antibakterinėmis savybėmis, todėl plačiai naudojamas muiluose kaip konservantas. Šį junginį išskiria ir *Candida albicans*. Maži šio junginio kiekiai yra nustatyti ir cigarečių dūmuose (41, 42).

Gamintojų asocijacija (FEMA), maisto ir vaistų administracija (FDA), maisto priedų komitetas (JECFA) bei Europos Taryba ir kitos tarptautinės organizacijos reglamentuoja, kad 2-feniletanolis yra kvapiųjų medžiagų komponentas, saugus ir tinkamas vartoti maisto, kosmetikos ir farmacijos pramonėje. Šiuo metu šio junginio paklausa kasmet vis didėja ir pasaulinėje rinkoje jo sunaudojama apie 1000 tonų per metus. Didžioji dalis šio junginio sunaudojama kosmetikos ir maisto pramonėje. Taip pat FDA bei Europos taryba pranešė, kad 2-feniletileno gavimas naudojant mikroorganizmų kultūras yra saugus ir tinkamas. Todėl vis daugiau dėmesio skiriama 2-feniletanolio gamybai biotransformacijos būdu. Ankstesni tyrimai parodė, kad *Saccharomyces cerevisiae*, *Kluyveromyces marxianus*, *Kluyveromyces lactis*, *Pichia fermentans*, *Pichia anomala*,

Schizosaccharomyces pombe, *Yarrowia lipolytica*, *Zygosaccharomyces rouxii*, *Hansenula anomala* gali sintetinti 2-feniletanolį iš L-fenilalanino arba gliukozės Erlichio ir fenilpiruvato keliu. Tačiau šis procesas yra labai sudėtingas, nes reakcijų metu gali susidaryti ir kiti junginiai. Taip pat 2-feniletanolis yra tam tikroms mikroorganizmų rūšims toksiškas ir gali pažeisti jų ląsteles (43).

1.3.2. Propanolis

Propanolio alkoholis arba 1-propanolis yra pirminis alkoholis, kurio cheminė formulė yra C_3H_7OH . Tai bespalvis skystis, turintis intensyvų kvapą. 2-propanolis yra propanolio alkoholio izomeras. Jis natūraliai susidaro mažais kiekiais daugelio fermentacijos procesų metu ir naudojamas kaip tirpiklis farmacijos pramonėje, daugiausiai išgauti dervoms ir celiuliozės esteriams. Taip pat gali būti naudojamas kaip dezinfekavimo priemonė. Be to, 1-propanolis turi didelį oktaninį skaičių, todėl yra tinkamas variklio degalų naudojimui. 1-propanolis yra pirminis alkoholis, todėl iš jo galima pagaminti n-propil- jodidą ar n-propil- chloridą cheminės reakcijos metu, naudojant jodo ar chloro jonus. 1-propanolis, reaguodamas su acto rūgštimi, gali sudaryti propilacetatą, plačiai naudojamą chemijos pramonėje. Manoma, jog 1-propanolio poveikis žmogaus sveikatai yra 2-4 kartus stipresnis už etanolio. LD_{50} žiurkėms nustatyta 1870 mg/kg (etanolio LD_{50} žiurkėms - 7060 mg/kg). Žmogaus organizme jis metabolizuojamas į propiono rūgštį. Poveikis panašus į apsinuodijimo alkoholiu ir išsivysto metabolinė acidozė. Nuo 2011 m. buvo pranešta tik apie vieną, letalinių pasekmių turėjusį, apsinuodijimą 1-propanoliu (44, 45).

1.3.3. Butanolis

Butanolis yra keturių anglies atomų alkoholis, kurio cheminė formulė yra C_4H_9OH . Butanolis gali turėti penkias skirtingas izomerines struktūras. Jis plačiausiai naudojamas chemijos pramonėje kaip tirpiklis arba tarpinis sintezės produktas. Butanolis naudojamas dažų, lakų, automobilių pramonėje kaip skiediklis. Be to, gali būti naudojamas parfumerijos pramonėje kaip tirpiklis, tačiau turi stiprų alkoholio aromatą panašų į etanolio. Taip pat gali būti vartojamas kuro gamyboje. Butanolis gaminamas fermentuojant biomasę bakterijomis. Iki 1950 m. pramonėje buvo naudojamos *Clostridium acetobutylicum* bakterijos n-butanoliui gauti. Pastarųjų kelių dešimtmečių tyrimai parodė, jog ir kiti mikroorganizmai gali gaminti izobutanolį.

Biologiškai pagamintas butanolis vadinamas biobutanoliu, kuris gali būti n-butanolis arba izobutanolis. Butanolį izomerai turi skirtingas lydymosi ir virimo temperatūras. N-butanolis ir izobutanolis prastai tirpsta vandenyje, o 2-butanolio tirpumas žymiai didesnis. Hidroksilo grupė didina tirpumą vandenyje, o ilgesnė angliavandenilių grandinė mažina poliškumą ir tirpumą (46, 47).

Kaip ir daugelis alkoholių, butanolis yra toksiškas. Jis gali sukelti centrinės nervų sistemos sutrikimus, stiprų akių dirginimą arba vidutinio stiprumo odos dirginimą. Pagrindiniai pavojai kyla dėl ilgalaikio alkoholio garų poveikio. Didelio butanolio kiekio suvartojimas sukelia centrinės nervų sistemos slopinimą ir gali būti letalinis. Mažas butanolio kiekis gali veikti kaip centrinės nervų sistemos antidepresantas. Jis gali turėti slopinantį ir raminamąjį poveikį, kuris yra intensyvesnis nei etanolio. Daugeliu atvejų butanolis greitai metabolizuojamas į anglies dioksidą. Iki šiol nėra mokslinių įrodymų, jog yra kancerogenas ir turi neigiamą poveikį DNR (48).

1.3.4. Metanolis

Metanolis yra cheminė medžiaga, kurios formulė CH_3OH . Metanolis yra paprasčiausias alkoholis, susidedantis iš metilo grupės, sujungtos su hidroksilo grupe. Tai lengvas, lakus, bespalvis, degus skystis, turintis savitą kvapą, panašų į etanolio. Metanolis yra daug toksiškesnis nei etanolis. Didelę riziką apsinuodyti metanolio kelia nelegalių alkoholinių gėrimų vartojimas. Atlikus tokių gėrimų cheminę analizę, nustatyta, kad iš 17 tirtų mėginių visuose buvo metanolio ir jo vidutinė koncentracija šiuose mėginiuose – 9 mg/l (49). Metanolis gali sukelti klinikinę mirtį, suvartojus 30-100 ml. 10 ml gryno metanolio galima apakti. Metanolis slopina centrinę nervų sistemą. Organizme metanolis metabolizuojamas į formaldehidą, kuris yra toksiškas, nes sukelia ląstelių hipoksiją bei kitų medžiagų apykaitos sutrikimus (50).

2. TYRIMO METODIKA

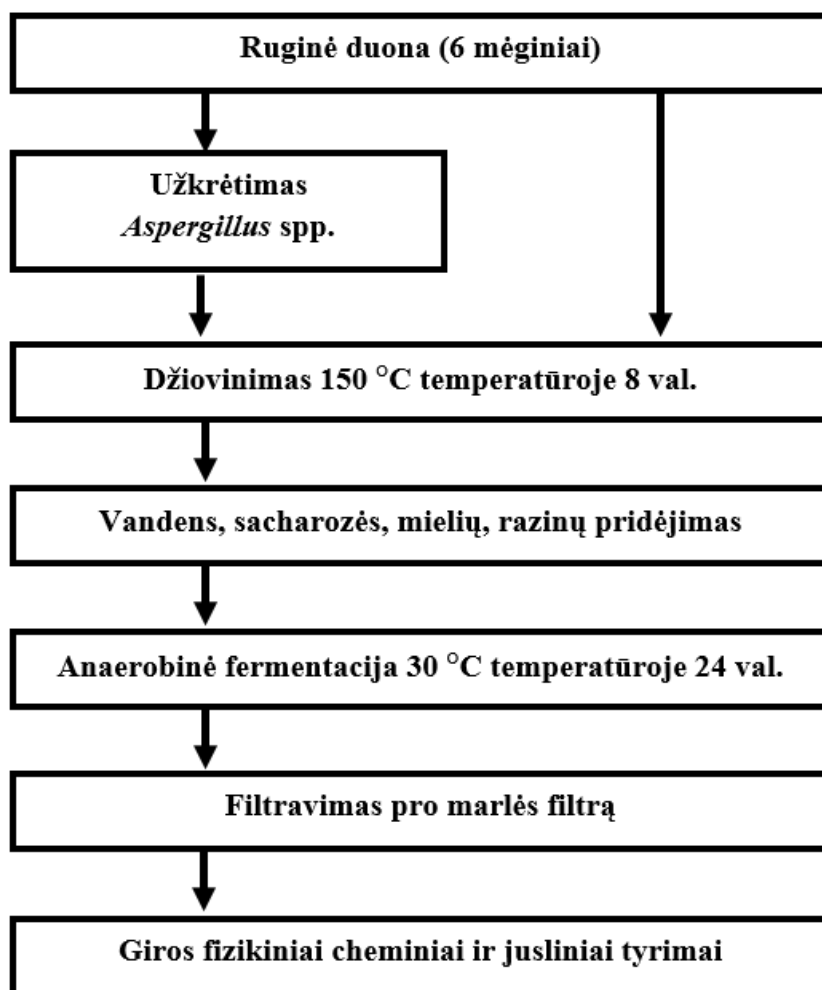
2.1. Principinė tyrimo schema

Eksperimentas atliktas dviem etapais:

(I) etape paruošti duonos mėginiai, užkrečiant juos mikroskopiniais grybais, o palyginimui giros gamybai naudoti ir tos pačios rūšies neužkrėsti duonos mėginiai; laboratorinėmis sąlygomis kepiniai buvo užkrėsti *Aspergillus spp.* pelėsinų grybų sporomis.

(II) Giros gamyba buvo atlikta iš 6 skirtingų rūšių ruginės duonos mėginių. Giros fermentacija atlikta anaerobinėmis sąlygomis naudojant *Saccharomyces cerevisiae* mieles. Taip pat atlikta giros gamyba ir išanalizuoti jos jusliniai bei fizikiniai cheminiai rodikliai.

Eksperimento principinė schema pateikta 1 paveiksle.



1 pav. Eksperimento principinė schema

2.2. Tyrimo objektai ir metodai

2.2.1. Tyrimo objektai

Giros gamybai naudota šešių skirtingų gamintojų ruginė duona buvo įsigyta prekybos centre „Maxima“ (Kaunas, Lietuva): 1. „Gudobelės duona“, 2. „Močiutės duona“, 3. „Klaipėdos plikyta duona“, 4. „Jonės duona“, 5. „Ekologiška viso grūdo ruginė duona“, 6. „Ajerų duona“.

Kepinių etiketėse nurodyta informacija pateikta 1 lentelėje.

1 lentelė. Kepinių etiketėse pateikta informacija apie sudėtį.

Kepinio pavadinimas, gamintojas, miestas, šalis	Etiketėje pateikta informacija
1. Šviesi ruginė raikyta „Gudobelės duona“, 340 g. Gamintojas – UAB „Gudobelė“, Kaišiadorys, Lietuva.	Aprašymas: „Gudobelės duona“ yra iš ruginių ir kvietinių miltų mišinio gaminama šviesi duona, pasižymi maloniu skoniu ir kvapu. Sudedamosios dalys: Ruginiai, kvietiniai miltai, geriamasis vanduo, cukrus, joduota druska, augalinis rapsų aliejus, mielės, kmynai, lieso pieno milteliai. Alergenai: Sudėtyje yra glitimo turinčių javų. Laikymo sąlygos: Laikymo temperatūra: nuo 10°C iki 26°C. Pakuotė: Polietilenas
2. Juoda ruginė raikyta „Močiutės duona“, 450 g. Gamintojas – UAB „Vilniaus duona“, Vilnius, Lietuva.	Aprašymas: „Močiutės tamsi duona“ – tai minkšta, tradicinio skonio ruginė duona, pagardinta kmynais, kurie šiai duonai suteikia skalsų kvapą ir skonį. „Močiutės duona“ yra kepama didžiuliais 4 kg kepalais, kad išlaikytų tikrą kaip naminės duonos skonį ir aromatą. Sudedamosios dalys: Ruginiai miltai, vanduo, kvietiniai miltai, cukrus, kmynai, miežių salyklo ekstraktas, joduotoji druska, mielės, rugių salyklos, rugių raugas, miežių salyklos miltai, kviečių skaidulos, miltų apdorojimo medžiaga askorbo rūgštis (E300). Alergenai: Sudėtyje yra glitimo turinčių javų. Laikymo sąlygos: Laikymo temperatūra: nuo 10°C iki 26°C. Pakuotė: Polietilenas
3. Plikyta raikyta „Klaipėdos duona“, 380 g. Gamintojas – UAB „Klaipėdos duona“, Klaipėda, Lietuva.	Aprašymas: Plikyta raikyta „Klaipėdos duona“ yra pagaminta su daigintais kviečiais. Sudedamosios dalys: Ruginiai ir kvietiniai miltai, vanduo, daiginti kviečių grūdai (8proc.), (kviečių grūdai, vanduo, miežinio salyklo ekstraktas, rūgštingumą reguliuojanti medžiaga natrio acetatas, druska), cukrus, joduota

	valgomoji druska, mielės, kmynai, skaidulos - kviečių ir gysločio, fermentai. Alergenai: Sudėtyje yra glitimo turinčių javų. Laikymo sąlygos: Laikymo temperatūra: nuo 6°C iki 25°C. Pakuotė: Polietilenas
4. Ruginė raikyta „Jonės duona“ be pridėtinių mielių, 390 g. Gamintojas – UAB „Baltasis pyragas“, Jonava, Lietuva.	Aprašymas: Ruginė duona JONĖ be mielių yra pagaminta naudojant tik vienos rūšies – ruginius miltus, gaminama be pridėtinių mielių, naudojant pačios gamyklos pasigamintą raugą. Tai išskirtinės minkštos ir drėgnos tekstūros duona, šiuolaikiška ir tuo pačiu suderinta su senovėje keptos ruginės duonos receptūra. Sudedamosios dalys: Ruginiai miltai, geriamasis vanduo, raugas, cukrus, fermentuotas termiškai stabilizuotas ruginis salyklos, kmynai, joduotoji druska, nefermentuotas ruginis salyklos. Alergenai: Sudėtyje yra glitimo turinčių javų. Laikymo sąlygos: Laikyti sausoje ir vėsioje vietoje. Laikymo temperatūra nuo 6°C iki 23°C. Pakuotė: Polietilenas
5. „Ekologiška visų grūdo dalių ruginė duona“, 400 g. Gamintojas – UAB „Plungės duonos gaminiai“, Plungė, Lietuva.	Aprašymas: Ekologiška visų grūdo dalių ruginė duona yra pagaminta ir sertifikuota pagal LT-EKO-001 sertifikatą. Leidžiamas masės trūkumas – 3 proc. Sudedamosios dalys: Ekologiški viso grūdo ruginiai miltai (66,7 proc.), geriamasis vanduo, ekologiškas cukrus, joduota druska, ekologiški kmynai. Alergenai: Sudėtyje yra glitimo turinčių javų. Laikymo sąlygos: Laikymo temperatūra: nuo 6°C iki 25°C. Pakuotė: Polipropilenas
6. Juoda raikyta „Ajerų duona“, 650 g. Gamintojas – UAB „Baltasis pyragas“, Jonava, Lietuva.	Aprašymas: „Ajerų duona“ – ant ajerų kepama senovinės formos tamsi duona išsiskiria karališkai švelniu saldoku skoniu, kuris persipina su ryškiu ruginio salyklos aromatu. Sudedamosios dalys: Kvietiniai miltai, ruginiai miltai, geriamasis vanduo, cukrus, ruginis salyklos, mielės, joduotoji druska, kmynai. Alergenai: Sudėtyje yra glitimo turinčių javų. Laikymo sąlygos: Laikymo temperatūra: nuo 6°C iki 23°C. Pakuotė: Polietilenas

Eksperimentui naudotos *Saccharomyces cerevisiae* aukštutinio rūgimo mielės UAB „Dr. Oetker Lietuva“ (Vilnius, Lietuva), įsigytos prekybos centre „Maxima“ (Kaunas, Lietuva).

Aspergillus niger pelėsinis grybas buvo gautas iš farmacijos įmonės UAB „Santonika“ mikrobiologijos laboratorijos kolekcijos.

Giros gamybai naudotas centralizuotai tiekiamas geriamasis vanduo.

Giros gamybai cukrus (gamintojas „Panėvėžio cukrus“, Panevėžys, Lietuva) buvo įsigytas iš prekybos centro „Maxima“ (Kaunas, Lietuva).

Razinos „Sultana mini day“ (kilmės šalis Iranas) buvo įsigytos iš prekybos centro „Maxima“ (Kaunas, Lietuva).

2.2.2. Duonos paruošimas giros gamybai ir giros gamybos technologinė schema

Duonos buvo apkrėstos pelėsiniais grybais Maisto saugos ir kokybės katedros laboratorijoje. Užkrėtus kepinų riekelės buvo laikomos 20-25 °C temperatūroje 2-3 savaites. Supelijusios duonos iki giros gamybos eksperimento buvo laikomos užšaldytos -18 °C temperatūroje. Kontroliniams giros gamybos mėginiais buvo naudojama duona, neužkrėsta pelėsiniais grybais. Prieš giros gamybą duona buvo defrostuota kambario temperatūroje ir džiovinama 150°C temperatūroje 8 val. Giros gamyba buvo vykdyta Maisto saugos ir kokybės katedros laboratorijoje. Išdžiovinta duona sumaišyta su 900 ml 80 °C vandens ir laikyta 30 min, kad susidarytų misa. Misa atvėsinta iki 30 °C temperatūros ir filtruota pro marlės filtrą. Atskirame inde įpilta 100 ml vandens, įdėta 40 g sacharozės ir 4 g presuotų mielių. Vanduo pašildytas iki 30 °C temperatūros, kad mielės suaktyvėtų, palaikoma 30 min ir supilama į misą. Įdedama 10 g razinų. Pagaminta gira supilama į indą ir laikoma termostate anaerobinėmis sąlygomis 24 val. 30°C temperatūroje. Po 24 val. fermentacijos gira filtruojama pro marlės filtrą, o gauti mėginiai (12 mėginių) naudojami tolimesnei analizei.

2.2.3. Giros tyrimo metodai

2.2.3.1. Aktyvaus rūgštingumo nustatymo metodika

Giros mėginių pH nustatytas pH-metru „Sartorius Professional Meter PP-15“ (Vokietija). Į kiekvieną mėginį įmerkiamas pH-metro elektrodas ir pažymima prietaiso ekrane atsiradusi pH reikšmė. Matuojant kito mėginio pH, elektrodas nuplaunamas distiliuotu vandeniu ir nusausinamas.

2.2.3.2. Spalvų koordinatinių nustatymo metodika

Spalvų koordinatės matuotos vienodo kontrasto spalvų erdvėje spektrofotometru „MiniScan XE Plus“. Matuoti parametrai L^* , a^* ir b^* (atitinkamai baltos ir juodos, raudonos ir žalios, geltonos ir mėlynos spalvų santykis) pagal CIELAB spalvų skalę, išreikšti NBS vienetais.

2.2.3.3. Sausųjų medžiagų tyrimo metodika

Sausųjų medžiagų kiekis geroje buvo nustatytas rankiniu refraktrometru („Pocket“, ATAG CO., Japonija). Tyrimo metu taip pat buvo naudotas distiliuotas vanduo, tinkamai išvalyti refraktrometrą.

2.2.3.4. Giros aromatinių junginių tyrimo metodika

Giros aromatiniai junginiai buvo nustatyti skysčių chromatografijos metodu. Lakiųjų junginių analizei duonos mėginiai buvo ruošiami pasveriant duoną ir ją homogenizuojant su 30 proc. NaCl tirpalu (vienam gramui duonos mėginio trys mililitrai NaCl tirpalo), naudojant Ultra-Turrax™ laboratorinį homogenizatorių. 8 g paruošto duonos mėginio buvo atsverta į 20 ml tūrio ekstrakcijos buteliuką. Giros mėginių lakiųjų junginių analizei 20 ml tūrio ekstrakcijos buteliuke 2 ml giros mėginio buvo sumaišyta su 8 ml 30 proc. NaCl tirpalo. Lakiųjų komponentų ekstrakcijai iš viršerdvės buvo naudojamas kietafazės mikroekstrakcijos (SPME) prietaisas, turintis Stableflex™ 50 µm DVB-PDMS-Carboxen™ pluoštą. Lakiųjų junginių analizei atlikti paruoštas mėginys buvo įdedamas į termostatą 60 °C temperatūroje 30 minučių. Tada kietafazės mikroekstrakcijos pluoštas buvo įvestas į analizuojamo mėginio viršerdvę, laikomas 10 minučių ir desorbuojamas dujinio chromatografo injekcijos sistemoje 2 minutes.

Analizei buvo naudojamas GCMS-QP2010 (Shimadzu, Japan) dujų chromatografas – masių spektrometras. Sistema buvo integruota su AOC-5000 Plus Shimadzu automatinė mėginių injektavimo sistema, kuri skirta SPME analizei atlikti. Analizių jonizacija buvo atliekama elektronų jonizacijos metodu (elektronų kinetinė energija 70 eV). Lakiųjų junginių atskyrimui buvo naudota Stabilwax-Da kapiliarinė kolona (ilgis 30 m, stacionarios fazės sluoksnio storis 0,25 µm, vidinis skersmuo 0,25 mm). Analizės sąlygos: injektoriaus temperatūra 250°C, jonų šaltinio temperatūra 220°C, sąsajos tarp detektoriaus ir kolonos temperatūra 280°C. Analizės temperatūrinis gradientas: 40°C (laikoma 3 minutes), temperatūra keliama 6°C/min greičiu iki 220°C ir po to, keliama 10°C/min greičiu iki 250°C (laikoma 6 minutes). Mobiliai fazei buvo naudojamos helio dujos (99.99 proc. detector purity, AGA, Lithuania), leidžiamos 0,95 ml/min srauto greičiu. Masių spektrometras veikė

viso diapazono skenavimo režimu (35-500 m/z). Junginiai buvo identifikuojami naudojantis junginių masių fragmentacijos spektrų duomenimis lyginant su masių spektrų bibliotekomis.

2.2.3.5. Deoksinivalenolio giroje tyrimo metodika

Deoksinivalenolio (DON) analizei duonos mėginiui paruošti buvo atsverta apie 1 g homogenizuoto duonos mėginio į 50 ml užsukamą mėgintuvėlį. Mėginys buvo ekstrahuojamas naudojant 8 ml ekstrakcijos mišinio (84 proc. acetonitrilas, 16 proc. dejonizuotas vanduo) automatine purtykle 1 valandą. Gautas mišinys buvo centrifuguojamas 15 minučių 4000 aps./min greičiu. Trys mililitrai gauto supernatanto buvo praleista per kondicionuotą kietafazės ekstrakcijos kolonėlę (Strata C18-E 500 mg). Gautas išvalytas ekstraktas buvo išgarintas azoto dujų srove ir derivatizuotas 60°C temperatūroje 30 minučių, naudojant 200 µl sililimo reagentą (N,O-bis(trimetilsilil)acetamidas, chlorotrimetilsilanas, 1-(trimetilsilil)imidazolas (3:2:3 tūrio dalimis)). Gautas derivatizatas buvo atvėsintas ir praskiestas 500 µl tirpalo (0,5 µg/ml Mirex tirpalo heksane).

DON analizei giros mėginiuose 3 ml giros mėginio buvo praleista pro kietafazės ekstrakcijos kolonėlę (Strata C18-E 500 mg), kuri buvo kondicionuota 2 ml metanoliu, 1ml vandens. Analizuojama analitė iš kolonėlės buvo eliuojama 2 ml (86 proc. acetonitrilas, 14 proc. dejonizuotas vanduo) mišiniu. Gautas ekstraktas buvo išdžiovintas azoto srove, derivatizuotas ir atitinkamai praskiestas.

Analizei buvo naudojamas GCMS-QP2010 (Shimadzu, Japan) dujų chromatografas – masių spektrometras. Sistema buvo integruota su AOC-5000 Plus Shimadzu automatine mėginių injektavimo sistema. Analizių jonizacija buvo atliekama elektronų jonizacijos metodu (elektronų kinetinė energija 70 eV). Analizių atskyrimui buvo naudota Rxi®-5MS kapiliarinė kolona (ilgis 30 m, stacionarios fazės sluoksnio storis 0,25 µm, vidinis skersmuo 0,25 mm). Analizės sąlygos: injektoriaus temperatūra 260°C, jonų šaltinio temperatūra 220°C, sąsajos tarp detektoriaus ir kolonos temperatūra 280°C. Analizės temperatūrinis gradientas: 130°C (laikoma 0,5 minutės), temperatūra keliama 7°C/min iki 260°C (laikoma 2 minutes), temperatūra keliama 15°C/min iki 310°C (laikoma 8 minutes). Mobiliai fazei buvo naudojamos helio dujos (99.999 proc. detector purity, AGA, Lithuania), leidžiamos 1,00 ml/min srauto greičiu. Masių spektrometras veikė vieno jono skenavimo režimu matuojant atskirus jonus (422 m/z, 512 m/z, 272 m/z, 276 m/z). Derivatizuojant skirtingų koncentracijų standartinius tirpalus buvo sudaryta kalibracinė kreivė ir buvo nustatytos DON koncentracijos analizės tirpaluose.

2.2.3.6. Giros juslinių savybių ir bendro priimtimumo vertinimo metodika

Giros aromato priimtimumas buvo vertintas, taikant juslinio vertinimo hedoninėje skalėje metodiką (pagal standartą ISO, metodas 1993 ISO 8586-1). Vertinime dalyvavo 10 apmokytų asmenų. Buvo vertinamos mėginių, pagamintų iš nesupelijusios duonos, kvapo ir skonio savybės. Mėginiai tyrimo metu buvo užkoduoti skaičiais. Rezultatų reikšmės buvo vertinamos 140 mm hedoninėje skalėje (140 – labiausiai priimtina, 0 – nepriimtina). Tyrimo metu, atliekant juslinę analizę, buvo vertinama giros kvapas, skonis, rūgštumas, kartumas, saldumas ir bendras priimtimumas.

2.2.4. Statistinė analizė

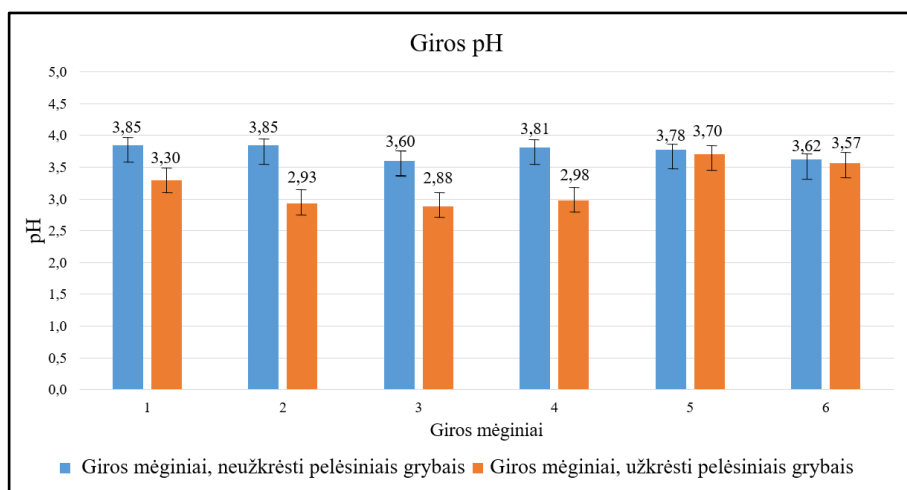
Gautų rezultatų matematinė statistinė analizė atlikta naudojant „SPSS Statistics 20.0“ statistinę programą. Nustatytos rezultatų vidutinės vertės, standartiniai nuokrypiai, skirtumo tarp rezultatų reikšmių patikimumas, įvertinta veiksnio (duonos taršos pelėsiais) įtaka tirtiems giros rodikliams. Rezultatai interpretuoti kaip statistiškai patikimi, kai $p \leq 0,05$.

3. REZULTATAI

3.1. Giros mėginių aktyvūs rūgštingumas

Giros pH rezultatai pavaizduoti 2 paveiksle (1 priedas). Daugeliu atvejų lyginant giros mėginius, pagamintus iš tos pačios rūšies duonos, giros pH buvo mažesnis tų mėginių, kurie buvo pagaminti iš užkrėstos pelėsiniais grybais duonos (Nr. 1 – 14 proc. mažesnis, Nr. 2 – 24 proc. mažesnis; Nr. 3 – 20 proc. mažesnis; Nr. 4 – 22 proc. mažesnis). Mėginių Nr. 5 ir Nr. 6 pH kito paklaidų ribose ir, lyginant užkrėstus ir neužkrėstus mėginius, reikšmingų skirtumų nenustatyta.

Įvertinus analizuotų veiksnių ir jų sąveikos įtaką giros pH, nustatyta, kad duonos užkrėtimas pelėsiniais grybais buvo reikšmingas veiksnys giros pH ($p \leq 0,0001$) (4 priedas). Tačiau duonos rūšis ir veiksnių tarpusavio sąveika (užkrėtimo pelėsiniais grybais ir duonos rūšies) giros pH nebuvo reikšminga (atitinkamai, $p=0,144$ ir $p=0,105$).



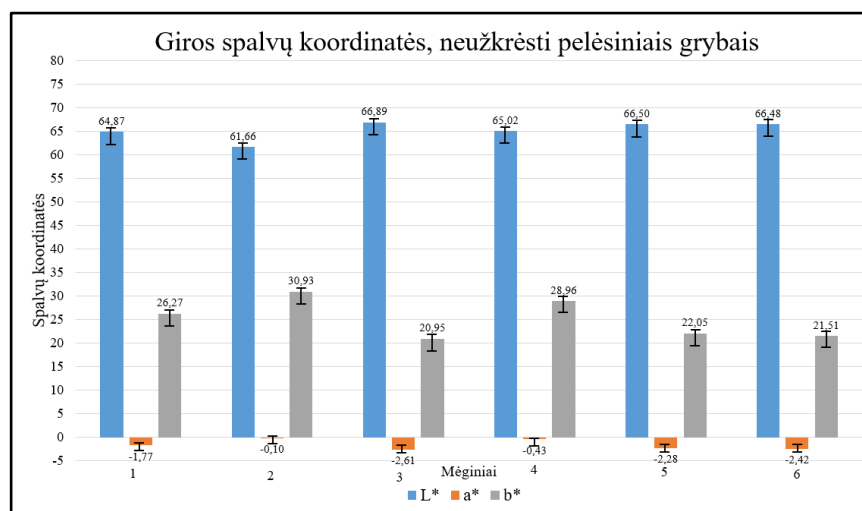
2 pav. Giros mėginių pH (Paaiškinimas: 1 – Giros mėginys, naudojant „Gudobelės“ duoną, 2 – Giros mėginys, naudojant „Močiutės“ duoną, 3 – Giros mėginys, naudojant „Klaipėdos“ plikytą duoną, 4 – Giros mėginys, naudojant „Jonės“ duoną, 5 – Giros mėginys, naudojant „Ekologiška“ viso grūdo ruginę duoną, 6 – Giros mėginys, naudojant „Ajerų“ duoną).

3.2. Giros mėginių spalvų koordinatės

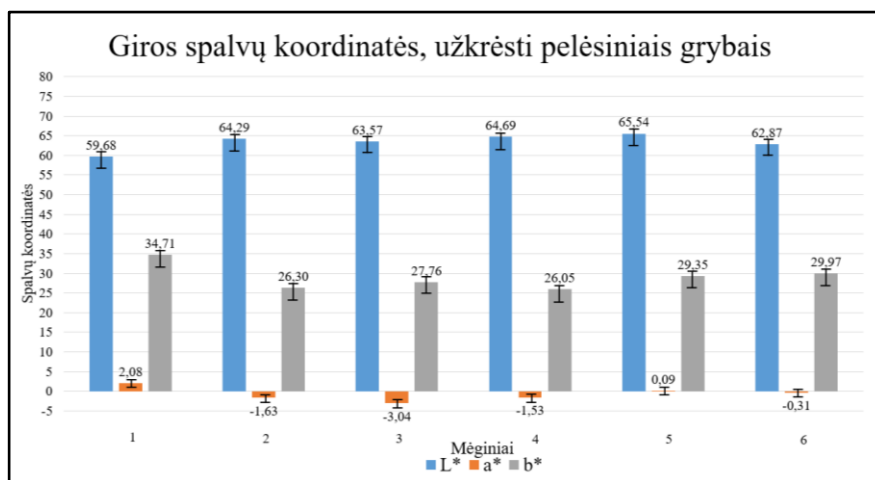
Giros spalvų koordinatėjų rezultatai pavaizduoti 3 ir 4 paveiksluose (1 priedas). Daugeliu atvejų, lyginant giros mėginius, pagamintus iš tos pačios rūšies duonos, giros šviesumas buvo mažesnis tų mėginių, kurie buvo pagaminti iš užkrėstos pelėsiniais grybais duonos (Nr. 1 – 8 proc. mažesnis, Nr. 3 – 5 proc. mažesnis; Nr. 4 – 2 proc. mažesnis; Nr. 5 – 1 proc. mažesnis; Nr. 6 – 6 proc. mažesnis). Nr. 2 mėginio šviesumas buvo didesnis to mėginio, kuris buvo pagamintas iš užkrėstos

pelėsiniais grybais duonos (Nr. 2 – 4 proc. didesnis). Atlikus tyrimus, nustatyta, kad giros geltonumas buvo mažesnis tų mėginių, kurie buvo pagaminti iš užkrėstos pelėsiniais grybais duonos (Nr. 2 – 15 proc. mažesnis, Nr. 4 – 10 proc. mažesnis). Kituose mėginiuose šviesumas buvo didesnis tų mėginių, kurie buvo pagaminti iš užkrėstos pelėsiniais grybais duonos (Nr. 1 – 32 proc. didesnis; Nr. 3 – 33 proc. didesnis). Mėginių Nr. 5 ir Nr. 6 geltonumas kito paklaidų ribose ir, lyginant užkrėstus ir neužkrėstus mėginius, reikšmingų skirtumų nenustatyta.

Įvertinus analizuojamų veiksnių ir jų sąveikos įtaką giros spalvų koordinatėms, nustatyta, kad pelėsiniai grybai bei giros gamybai naudojama duonos rūšis ir jų tarpusavio sąveika turėjo reikšmingą įtaką giros šviesumui, raudonumui bei geltonumui (atitinkamai, $p \leq 0,0001$ ir $p = 0,000$; $p = 0,000$; $p = 0,000$) (4 priedas).



3 pav. Giros, pagamintos iš neužkrėstos pelėsiniais grybais duonos, spalvų koordinatės (Paiškinimas: 1 – Giros mėginys, naudojant „Gudobelės“ duoną, 2 – Giros mėginys, naudojant „Močiutės“ duoną, 3 – Giros mėginys, naudojant „Klaipėdos“ plikytą duoną, 4 – Giros mėginys, naudojant „Jonės“ duoną, 5 – Giros mėginys, naudojant „Ekologiška“ viso grūdo ruginę duoną, 6 – Giros mėginys, naudojant „Ajerų“ duoną, L* – šviesumas; a* – raudonumas; b* – geltonumas).

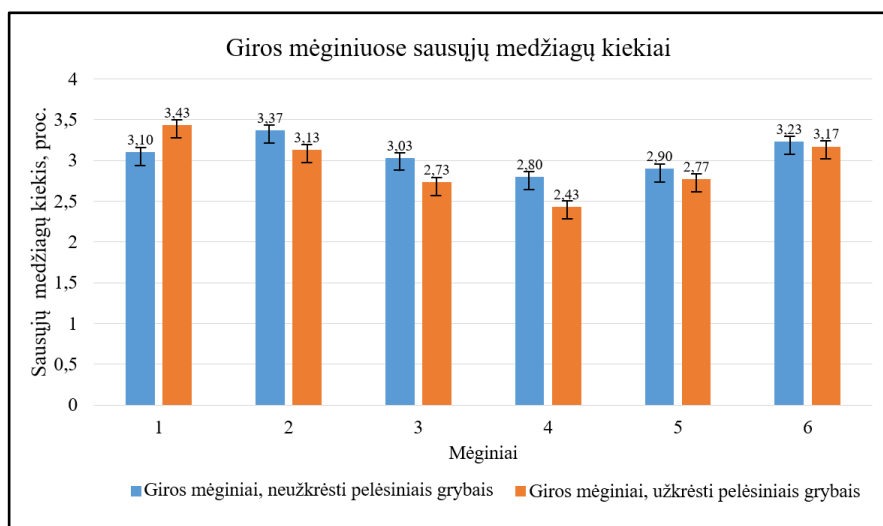


4 pav. Giros, pagamintos iš užkrėstos pelėsiniais grybais duonos, spalvų koordinatės (Paiškinimas: 1 – Giros mėginys, naudojant „Gudobelės“ duoną, 2 – Giros mėginys, naudojant „Močiutės“ duoną, 3 – Giros mėginys, naudojant „Klaipėdos“ plikytą duoną, 4 – Giros mėginys, naudojant „Jonės“ duoną, 5 – Giros mėginys, naudojant „Ekologiška“ viso grūdo ruginę duoną, 6 – Giros mėginys, naudojant „Ajerų“ duoną, L* – šviesumas; a* – raudonumas; b* – geltonumas).

3.3. Sausosios medžiagos, esančios giros mėginiuose

Sausųjų medžiagų kiekis, nustatytas tirtuose giros mėginiuose, pavaizduotas 5 paveiksle (1 priedas). Daugeliu atvejų lyginant giros mėginius, pagamintus iš tos pačios rūšies duonos, giros sausųjų medžiagų kiekis buvo mažesnis tų mėginių, kurie buvo pagaminti iš užkrėstos pelėsiniais grybais duonos (Nr. 2 – 7 proc. mažesnis; Nr. 3 – 10 proc. mažesnis; Nr. 4 – 13 proc. mažesnis; Nr. 5 – 4 proc. mažesnis; Nr. 6 – 2 proc. mažesnis). Nr. 1 mėginio šviesumas buvo didesnis to mėginio, kuris buvo pagamintas iš užkrėstos pelėsiniais grybais duonos (Nr. 1 – 11 proc. didesnis).

Įvertinus analizuotų veiksnių ir jų sąveikos įtaką giros sausosioms medžiagoms, nustatyta, kad skirtingos duonos rūšies naudojimas giros mėginiuose turėjo reikšmingą įtaką giros sausosioms medžiagoms (atitinkamai, $p \leq 0,0001$ ir $p = 0,000$). Pelėsiniai grybai ir pelėsinių grybų bei duonos rūšies tarpusavio sąveika reikšmingos įtakos analizuotam rodikliui neturėjo (atitinkamai, $p \geq 0,0001$ ir $p = 0,141$; $p = 0,231$) (4 priedas).



5 pav. Giros sausosios medžiagos mėginiuose, proc. (Paaiškinimas: 1 – Giros mėginys, naudojant „Gudobelės“ duoną, 2 – Giros mėginys, naudojant „Močiutės“ duoną, 3 – Giros mėginys, naudojant „Klaipėdos“ plikytą duoną, 4 – Giros mėginys, naudojant „Jonės“ duoną, 5 – Giros mėginys, naudojant „Ekologiška“ viso grūdų ruginę duoną, 6 – Giros mėginys, naudojant „Ajerų“ duoną).

3.4. Giros aromatinių junginių profilis

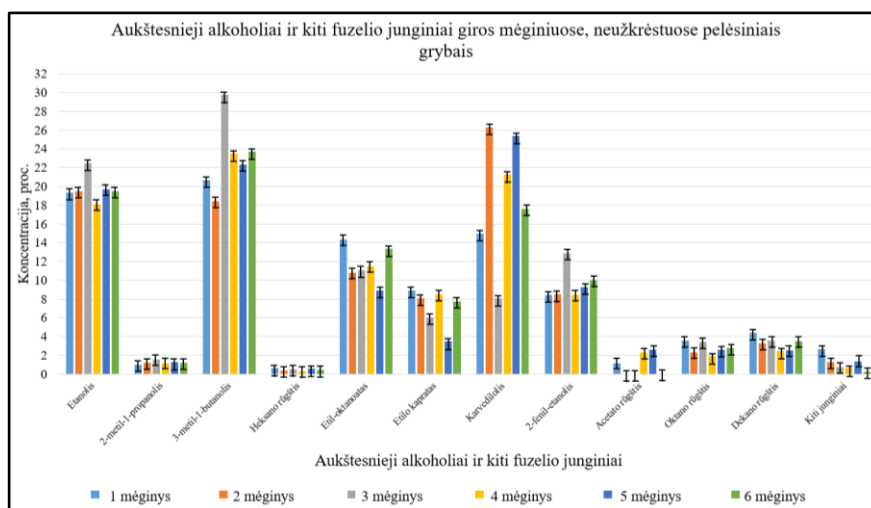
Aromatiniai junginiai (AJ), identifikuoti giros mėginiuose, pavaizduoti 6 ir 7 paveiksle (6, 7 priedai). Iš viso giroje buvo identifikuoti 82 skirtingi AJ. Giros AJ profilyje vyrauja 3-metil-1-butanolis (didžiausias šio junginio kiekis nustatytas mėginyje Nr. 3, t.y., 29,75 proc.), mažiausias

kiekis nustatytas 3-metil-3-etil-benzono (0,01proc.) ir pentadekano (0,01 proc.) (atitinkamai, Nr. 5 ir Nr. 2 mėginių AJ profilyje).

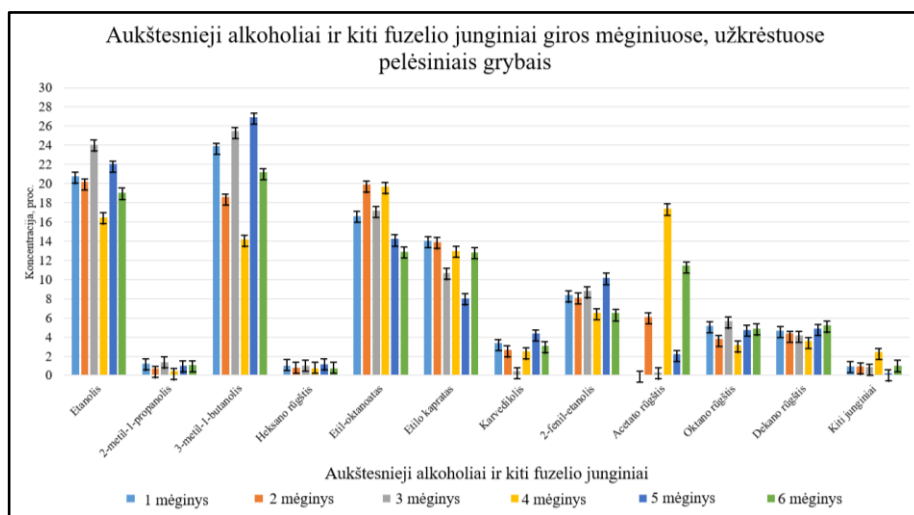
Dominuojantys AJ giros mėginiuose, kurie nebuvo užkrėsti pelėsiniais grybais buvo etanolis (19,76 proc.), 3-metil-1-butanolis (23,07 proc.), etil-oktanoatas (9,55 proc.), etil-kapratas (5,38 proc.), karvedilolis (17,64 proc.). Mažesni kiekiai nustatyti sulfito rūgšties (0,006 proc.), pentadekano (0,002 proc.), undekanolio (0,006 proc.). Kitų AJ giros mėginiuose kiekis varijavo nuo 0,002 iki 29,75 proc. nuo bendro AJ kiekio. Giroje, pagamintoje iš užkrėstos pelėsiniais grybais duonos AJ profilis buvo įvairesnis, t. y. juose identifikuota 17 AJ, kurių nenustatyta giroje, pagamintoje iš neužkrėstos duonos. Aptariant AJ skirtumus mėginiuose, pagamintuose iš skirtingų rūšių duonos, nustatyta, kad Nr. 1 mėginio AJ profilį sudaro 50 junginių; Nr. 2 – 48 junginiai; Nr. 3 – 49 junginiai; Nr. 4 – 50 junginių; Nr. 5 – 50 junginių; Nr. 6 – 48 junginiai.

Dominuojantys AJ giros, pagamintos iš užkrėstos pelėsiniais grybais duonos, buvo etanolis (20,43 proc.), 3-metil-1-butanolis (21,72 proc.), 3-metil-3-etil-benzenas (13,10 proc.), etil-kapratas (8,57 proc.), oktano rūgštis (4,56 proc.), heptantriolis (6,26 proc.), dekano rūgštis (4,65 proc.), 2-fenil-etanolis (8,09 proc.). Mažesni kiekiai nustatyti 3-metil-1-butanolio acetato (0,007 proc.), oktametiltrisiloksano (0,009 proc.), pentadekano (0,009 proc.), bergamotino (0,002 proc.), heksadekano (0,005 proc.), 4-metil-2-undekanolio (0,005 proc.), 3-nonanolio (0,005 proc.), geraniolio (0,005 proc.), 1-metil-etil-lauro rūgšties (0,003 proc.). Kitų AJ kiekis giros mėginiuose kito nuo 0,01 iki 26,94 proc. nuo bendro AJ kiekio. 9 AJ nebuvo nustatyti mėginiuose, pagamintuose iš užkrėstos pelėsiniais grybais duonos, tačiau šie AJ buvo identifikuoti mėginiuose, pagamintuose iš neužkrėstos duonos. Identifikuotų AJ įvairovė mėginiuose, pagamintuose iš skirtingų rūšių duonos, kito ir nustatyta: Nr. 1 mėginyje 50 junginių; Nr. 2 – 51 junginiai; Nr. 3 – 50 junginių; Nr. 4 – 50 junginių; Nr. 5 – 48 junginiai; Nr. 6 – 53 junginiai (6 priedas).

Įvertinus analizuotų veiksnių ir jų sąveikos įtaką giros AJ, nustatyta, kad daugeliu atvejų skirtinga duonos rūšis ir užkrėtimas pelėsiniais grybais bei jų tarpusavio sąveika turėjo reikšmingą įtaką giros AJ (atitinkamai, $p \leq 0,005$ ir $p \leq 0,0001$). Duonos rūšis ir duonos rūšies bei užkrėtimo pelėsiniais grybais tarpusavio sąveika neturėjo reikšmingos įtakos oktalo rūgšties kiekiui bendrame giros AJ profilyje (atitinkamai, $p = 0,007$) (6 priedas).



6 pav. Aromatiniai junginiai giroje, procentais nuo bendro aromatinių junginių kiekio (Paaiškinimas: 1 – Giros mėginys, naudojant „Gudobelės“ duoną, 2 – Giros mėginys, naudojant „Močiutės“ duoną, 3 – Giros mėginys, naudojant „Klaipėdos“ plikytą duoną, 4 – Giros mėginys, naudojant „Jonės“ duoną, 5 – Giros mėginys, naudojant „Ekologiška“ viso grūdų ruginę duoną, 6 – Giros mėginys, naudojant „Ajerų“ duoną).



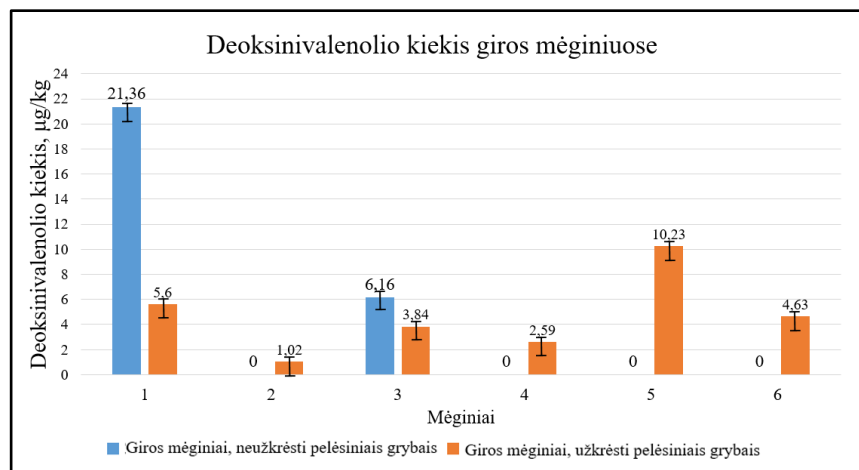
7 pav. Aromatiniai junginiai giroje, procentais nuo bendro aromatinių junginių kiekio (Paaiškinimas: 1 – Giros mėginys, naudojant „Gudobelės“ duoną, 2 – Giros mėginys, naudojant „Močiutės“ duoną, 3 – Giros mėginys, naudojant „Klaipėdos“ plikytą duoną, 4 – Giros mėginys, naudojant „Jonės“ duoną, 5 – Giros mėginys, naudojant „Ekologiška“ viso grūdų ruginę duoną, 6 – Giros mėginys, naudojant „Ajerų“ duoną).

3.5. Deoksinivalenolio kiekis giros mėginiuose

Deoksinivalenolio kiekis giros mėginiuose pavaizduotas 8 paveiksle (7 priedas). Deoksinivalenolio kiekis buvo nustatytas visuose giros mėginiuose, pagamintuose iš užkrėstos pelėsiniais grybais duonos. (Nr. 1 – 5,6 $\mu\text{g/kg}$; Nr. 2 – 1,02 $\mu\text{g/kg}$; Nr. 3 – 3,84 $\mu\text{g/kg}$; Nr. 4 – 2,59 $\mu\text{g/kg}$; Nr. 5 – 10,23 $\mu\text{g/kg}$; Nr. 6 – 4,63 $\mu\text{g/kg}$). Nr. 1 ir Nr. 3 mėginiuose didesnis deoksinivalenolio

kiekis nustatytas mėginiuose, pagamintuose iš neužkrėstos pelėsiniais grybais duonos (Nr. 1 – 74 proc. didesnis; Nr. 3 – 38 proc. didesnis). Kituose mėginiuose, pagamintuose iš neužkrėstos pelėsiniais grybais duonos, deoksinivalenolio nebuvo nustatyta.

Įvertinus analizuotų veiksnių ir jų sąveikos įtaką deoksinivalenolio kiekiui giroje, nustatyta, kad skirtingos duonos rūšies bei pelėsinų grybų ir duonos rūšies sąveika turėjo reikšmingą įtaką deoksinivalenolio kiekiui giroje (atitinkamai, $p \leq 0,0001$ ir $p = 0,0001$). Pelėsiniai grybai reikšmingos įtakos analizuotam rodikliui neturėjo (atitinkamai, $p \geq 0,0001$ ir $p = 0,023$) (7 priedas).



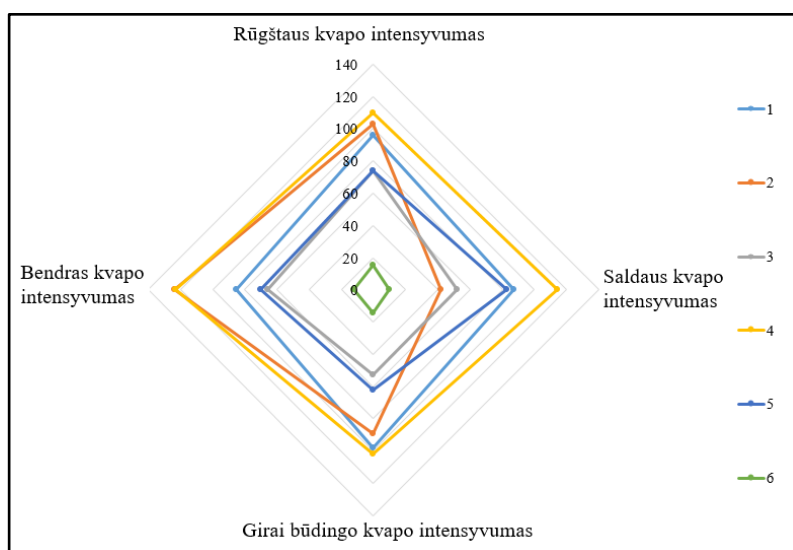
8 pav. Deoksinivalenolio kiekis giros mėginiuose (Paaiškinimas: 1 – Giros mėginys, naudojant „Gudobelės“ duoną, 2 – Giros mėginys, naudojant „Močiutės“ duoną, 3 – Giros mėginys, naudojant „Klaipėdos“ plikytą duoną, 4 – Giros mėginys, naudojant „Jonės“ duoną, 5 – Giros mėginys, naudojant „Ekologiška“ viso grūdų ruginę duoną, 6 – Giros mėginys, naudojant „Ajerų“ duoną).

3.6. Juslinės savybės giros mėginiuose

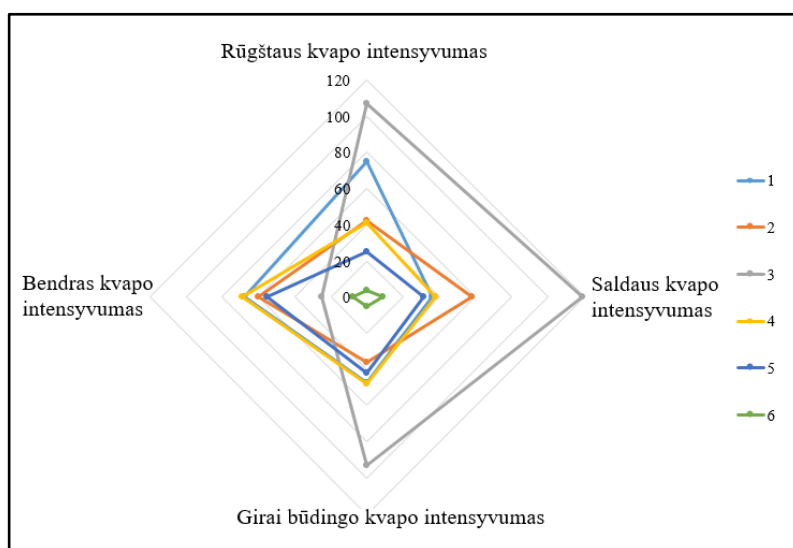
Giros mėginių (pagamintų iš neužkrėstos pelėsiniais grybais duonos) kvapo juslinių savybių rezultatai pateikti 9 paveiksle (1 priedas). Intensyviausiu kvapu pasižymėjo giros mėginiai Nr. 2 ir Nr. 4 (atitinkamai, 124 mm ir 123 mm), mažiausiu kvapo intensyvumu pasižymėjo mėginys Nr. 6 (12 mm). Intensyviausias rūgštus kvapas buvo juntamas mėginių Nr. 4 (110 mm) ir Nr. 2 (103 mm), mažiausiai intensyvus - mėginio Nr. 6 (15 mm). Intensyviausiu giros kvapu pasižymėjo mėginys Nr. 4 (102 mm), o mažiausiai intensyviu giros kvapu – Nr. 6 (14 mm). Saldžiu aromatu pasižymėjo mėginys Nr. 4 (114 mm), o mažiausiai saldus kvapas buvo išreikštas mėginio Nr. 6 (10 mm).

Giros mėginių, pagamintų iš pelėsiniais grybais užkrėstos duonos, kvapo juslinių savybių rezultatai pateikti 10 paveiksle (2 priedas). Intensyviausias kvapas buvo juntamas mėginio Nr. 4 (69 mm), mažiausiai intensyvus – mėginio Nr. 6 (8 mm). Rūgščiu kvapu labiausiai pasižymėjo mėginys Nr. 3 (107 mm). Saldžiu aromatu ir girai būdingu kvapu pasižymėjo mėginys Nr. 4 (atitinkamai, 119

mm ir 93 mm). Mažiausiai juntamas saldus kvapas ir nebūdingas girai aromatas buvo mėginio Nr. 6 (atitinkamai, 9 mm ir 5 mm).



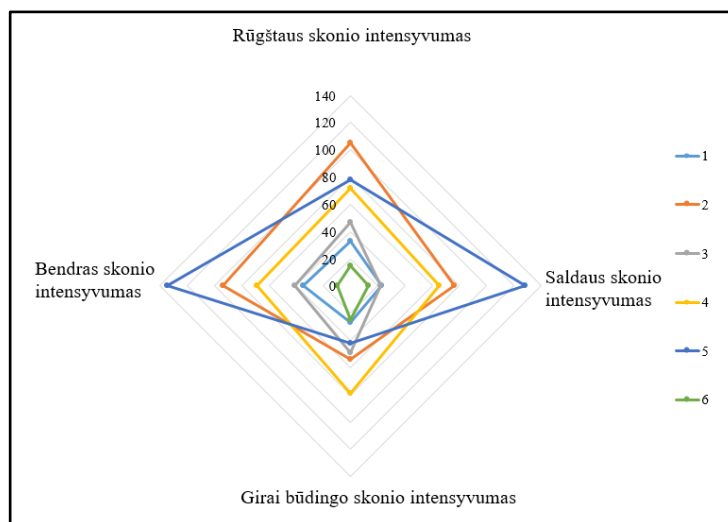
9 pav. Giros mėginių kvapo juslinės savybės (Paaiškinimas: 1 – Giros mėginys, naudojant „Gudobelės“ duoną, 2 – Giros mėginys, naudojant „Močiutės“ duoną, 3 – Giros mėginys, naudojant „Klaipėdos“ plikytą duoną, 4 – Giros mėginys, naudojant „Jonės“ duoną, 5 – Giros mėginys, naudojant „Ekologiška“ viso grūdo ruginę duoną, 6 – Giros mėginys, naudojant „Ajerų“ duoną).



10 pav. Giros mėginių, pagamintų iš supelijusios duonos, kvapo savybės (Paaiškinimas: 1 – Giros mėginys, naudojant supelijusią „Gudobelės“ duoną, 2 – Giros mėginys, naudojant „Močiutės“ supelijusią duoną, 3 – Giros mėginys, naudojant supelijusią „Klaipėdos“ plikytą duoną, 4 – Giros mėginys, naudojant supelijusią „Jonės“ duoną, 5 – Giros mėginys, naudojant supelijusią „Ekologiška“ viso grūdo ruginę duoną, 6 – Giros mėginys, naudojant supelijusią „Ajerų“ duoną).

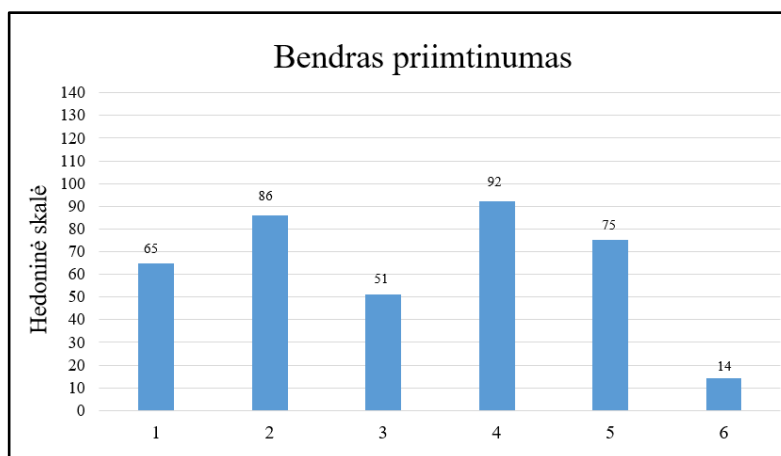
Giros mėginių skonio jausinių savybių rezultatai pateikti 11 paveiksle (1 priedas). Intensyviausiu bendru skoniui pasižymėjo mėginys Nr. 5 (135 mm), mažiausias skonio intensyvumas buvo juntamas mėginio Nr. 6 (10 mm). Rūgščiausiu skoniui pasižymėjo mėginys Nr. 2 (105 mm), mažiausiai rūgščiu – mėginys Nr. 6 (15 mm). Kartumu išsiskyrė mėginys Nr. 4 (79 mm), mažiausiai

kartumas buvo juntamas ragaujant Nr. 1 mėginį (25 mm). Saldžiausias skonis buvo juntamas mėginio Nr. 5 (128 mm), o mėginio Nr. 6 skonis buvo mažiausiai saldus (13 mm). Giros mėginių, užkrėstų pelėsiniais grybais, skonio savybės nebuvo vertinamos.



11 pav. Giros mėginių skonio juslinės savybės (Paaiškinimas: 1 – Giros mėginys, naudojant „Gudobelės“ duoną, 2 – Giros mėginys, naudojant „Močiutės“ duoną, 3 – Giros mėginys, naudojant „Klaipėdos“ plikytą duoną, 4 – Giros mėginys, naudojant „Jonės“ duoną, 5 – Giros mėginys, naudojant „Ekologiška“ viso grūdo ruginę duoną, 6 – Giros mėginys, naudojant „Ajerų“ duoną).

Giros mėginių bendras priimtumas pavaizduotas 12 paveiksle (1 priedas). Priimtumas buvo vertintas tik giros mėginių, kurie buvo pagaminti iš nesupelijusios duonos. Priimtinausiais įvertinti mėginiai Nr. 4 ir Nr. 2 (atitinkamai, 92 ir 86 mm), kaip mažiausiai priimtinas įvertintas mėginys Nr. 6 (atitinkamai, 14 mm).



12 pav. Giros mėginių bendras priimtumas (Paaiškinimas: 1 – Giros mėginys, naudojant „Gudobelės“ duoną, 2 – Giros mėginys, naudojant „Močiutės“ duoną, 3 – Giros mėginys, naudojant „Klaipėdos“ plikytą duoną, 4 – Giros mėginys, naudojant „Jonės“ duoną, 5 – Giros mėginys, naudojant „Ekologiška“ viso grūdo ruginę duoną, 6 – Giros mėginys, naudojant „Ajerų“ duoną).

4. REZULTATŲ APTARIMAS

Duonos gira, pagaminta iš ruginių žaliavų, yra tradicinis slaviškas gėrimas, kuriame daug biologiškai aktyvių medžiagų. Gėrimo gamybai naudojamos žaliavos – ruginė duona, vanduo, cukrus ir mielės. Giros aromatui ir skoniui pagerinti gali būti naudojami ir įvairūs priedai: vaisiai (pvz., razinos, džiovinti obuoliai ir kt.), kava, kmynai, uogos, medus ir kt. (1). Giros gamyboje naudojama duona yra svarbus ingredientas, norint girai suteikti sodrų skonį bei spalvą. Tačiau giros gamybai naudojama duona yra džiovinama, o nespėjus laiku sumažinti drėgno, ant pagamintos produkcijos patenka pelėsiniai grybai, jų sporos, bakterijos, mielės, kurios gali sukelti duonos gedimą. Duona dažniausiai užteršiama pelėsinių grybų sporomis nuo aplinkos bei žaliavų. Dažniausiai duonos pelijimą sukelia *Aspergillus spp.*, *Fusarium spp.*, *Mucor spp.*, *Penicillium spp.* pelėsinių grybų sporos. Esant palankioms sąlygoms, sporos tampa aktyvios ir pelėsinis grybas sukelia duonos gedimą. Taip pat pelėsiniai grybai gali išskirti pavojingus cheminius junginius – mikotoksinus, kurie gali sukelti neigiamą poveikį sveikatai. Atlikti tyrimai rodo, jog Argentinoje bei kitose šilto ir drėgno klimato zonos šalyse mažose duonos kepyklose duonos užsiteršimas pelėsiniaisiais grybais yra žymiai didesnis, lyginant su sausesnio ir šaltesnio klimato šalimis. Nustatyta, jog 1 kg miltų gali būti 8000 pelėsių sporų. Pelėsiniai grybai sukelia didžiulius ekonominius nuostolius grūdų pramonėje (3). Todėl atliekami tyrimai, kurių esmė ištirti, ar supelijusi duona gali būti saugiai perdirbama. Literatūroje teigiama, jog naudojant užkrėstą duoną mikroorganizmais, skysto raugalo gamyboje, kuris vėliau gali būti naudojamas giros gamyboje, susidaro didesnis kiekis lakiųjų rūgščių, aukštesniųjų alkoholių ir kitų fuzelio junginių (11). Fermentacijos metu daugiausiai susidaro 1-propanolio, 2-propanolio, butanolio (įvairūs izomerai), amiloalkoholio, furfurolo. Anaerobinėmis sąlygomis pagamintoje giroje pagrindinis metabolitas yra etanolis, tačiau giroje šio junginio susidaro maži kiekiai. Didesni kiekiai nustatomi įvairių lakiųjų aromatinių junginių: esterių, aukštesniųjų alkoholių, lakiųjų riebalų rūgščių, karbonilų ir sieros junginių, kurie ir suteikia girai išskirtinį skonį ir aromatą. Šie junginiai susidaro alkoholinės fermentacijos metu ir suteikia gėrimui savitą skonį ir aromatą. Junginių koncentracija priklauso nuo daugelio veiksnių: žaliavos, fermentacijos trukmės ir temperatūros, mikroorganizmų, receptūrų ir kt. Taip pat didesnis kiekis šių junginių susidaro esant aukštesnei temperatūrai, žemesniam pH bei esant didesniai azotinių junginių kiekiui. Esant dideliui kiekiui azoto, susidaro aminorūgštys: alaninas, argininas, asparaginas, aspartatas, gliutamatas, gliutaminas ir serinas. Giros fermentacijai turi įtakos ir šių junginių kiekio pasiskirstymas, kuris taip pat pakeičia galutinio produkto skonį ir aromatą (37).

Mes nustatėme skirtingų duonos rūšių bei užkrėtimo pelėsiniaisiais grybais įtaką giros pH, spalvų koordinatėms, sausosioms medžiagoms, aromatinių junginių formavimuisi bei deoksivalenolio kiekiui giros mėginiuose. Įvertinę giros pH, nustatėme, kad naudojant duoną, užkrėstą pelėsiniaisiais

grybais, giros pH yra mažesnis nei naudojant duoną, neužkrėstą pelėsiniais grybais. Fermentacijos metu susidaro įvairios organinės rūgštys (acto, pieno ir kt.), kurios sumažina giros pH. Taip pat jos reaguoja su aukštesniaisiais alkoholiais, susidarant aromatiniams junginiams. Atlikti moksliniai tyrimai parodė, kad pelėsiniai grybai turi įtakos giros pH. Duonos rūšis giros pH įtakos neturėjo ($p \geq 0,144$).

Palyginus giros mėginių šviesumo ir geltonumo koordinates, nustatyta, jog šiems rodikliams įtakos turėjo duonos rūšis ir jos užkrėtimas/neužkrėtimas pelėsiniais grybais ($p \leq 0,0001$). Mėginiai, užkrėsti pelėsiniais grybais, buvo tamsesni ir jų geltonumo koordinatės buvo mažesnės, lyginant su neužkrėstais mėginiais. Priklausomai nuo duonos rūšies, šviesiausias mėginys buvo pagamintas iš „Klaipėdos“ plikytos duonos. Geltoniausias mėginys – iš „Močiutės“ duonos. Didėjant šviesumo koordinatėms, mažėjo raudonumo koordinatės (5 priedas). Šviesumo, raudonumo ir geltonumo koordinatėms mėginiuose įtakos turėjo abu veiksniai bei jų tarpusavio sąveika ($p \leq 0,0001$).

Pagal mūsų gautus rezultatus, sausųjų medžiagų kiekis giros mėginiuose buvo nustatytas mažesnis naudojant pelėsinius grybus. Išanalizavus ir palyginus duomenis, galima daryti prielaidą, jog pelėsiniai grybai, naudoti giros gamybai, turėjo neigiamos įtakos ($p \geq 0,141$). Mėginiuose, kurių gamybai buvo naudoti pelėsiniai grybai, nustatytas mažesnis sausųjų medžiagų kiekis, palyginus su mėginiais, kurių gamybai nebuvo naudoti pelėsiniai grybai.

Mes nustatėme, jog giros mėginiuose, pagamintuose iš užkrėstos duonos, susidaro įvairesnis aromatinių junginių (AJ) profilis, t. y. identifikuojama daugiau AJ. Haiyan Wang ir Yan Xu (2017 m.) publikavo, kad fermentacijos metu naudojant įvairius mikroorganizmus susidaro įvairesni esteriai, rūgštys, alkoholiai, aromatiniai junginiai ir fenoliai. Tačiau daugiausiai AJ susidaro, naudojant *Saccharomyces cerevisiae* mieles. Pelėsiniai grybai turi reikšmingą įtaką substrato mikrobinei ir cheminei sudėčiai (51). Giros mėginiuose iš viso identifikuoti 82 skirtingi junginiai. Nepriklausomai nuo pelėsinų grybų, visuose mėginiuose nustatyta 3-metil-1-butanolio, etanolio, etil-oktanoato, etil-kaprato, karvedilolio didesni kiekiai. Mažiau nei 5 proc. nustatyta sulfito rūgšties, pentadekano, undekanolio. Mėginiuose, pagamintuose iš užkrėstos duonos, AJ įvairovė buvo didesnė. Didesni kiekiai nustatyti 3-metil-1-butanolio, etanolio, 3-metil-3-etil-benzono, etil-kaprato, oktano rūgšties, heptantriolio, dekano rūgšties, 2-fenil-etanolio. Mažiau nei 5 proc. sudarė 3-metil-1-butanolio acetato, oktametiltrisiloksano, pentadekano, bergamotino, heksadekano, 4-metil-2-undekanolio, 3-nonanolio, geraniolio, 1-metil-etil-lauro rūgšties ir kt. junginių. Taip pat mėginiuose susidariusi acto rūgštis yra svarbi aromato formavimuisi. Ši rūgštis reaguodama su etanolium gali sudaryti etilacetatą, pasižymintį saldžiu ir maloniu kvapu.

Ištyrus giros mėginiuose deoksinivalenolio kiekį, buvo nustatyta, jog visuose mėginiuose, pagamintuose iš užkrėstos duonos, šis junginys susidarė. Taip pat didesni kiekiai deoksinivalenolio susidarė dviejuose mėginiuose, pagamintuose iš neužkrėstos duonos. Nors susidarę kiekiai neviršijo

50 µg/kg, t. y. koncentracijos, turinčios neigiamos įtakos produkto saugai, tačiau kumuliacinis šio junginio poveikis nėra iki galo ištirtas ir žinomas. Deoksinivalenolis gali sukelti daug skirtingų šalutinių poveikių, tokių kaip onkologinės ligos, hormonų sistemos, virškinimo trakto ir inkstų veiklos sutrikimus.

Išanalizavus giros mėginių juslines savybes, nustatėme, kad duonos rūšis turėjo įtakos bendram mėginių priimtinumui bei skonio ir kvapo savybėms. Duonos užkrėtimas pelėsiniais grybais turėjo įtakos mėginių kvapo savybėms. Gauti rezultatai parodė, jog pelėsiniai grybai suteikia girai nemalonų kvapą. Lyginant pastarąją grupę, priimtinausiu kvapu pasižymėjo giros mėginys, pagamintas iš užkrėstos „Klaipėdos“ plikytos duonos. Tiriant juslines savybes giros mėginių, pagamintų iš neužkrėstos duonos, priimtinausiu kvapu pasižymėjo mėginiai, pagaminti iš „Jonės“ duonos. Šios giros kvapas įvertintas kaip priimtinausias, nes priminė tradicinės giros kvapą. Priimtinausiomis skonio savybėmis pasižymėjo mėginiai iš „Ekologiška“ viso grūdo ruginės duonos. Šio mėginio skonis apibūdintas kaip maloniai saldžiarūgštis. Priimtinausia įvertinta gira, pagaminta iš „Jonės“ duonos.

Apibendrinant tyrimo rezultatus galima teigti, kad nepaisant to, kad naudojant supelijusią duoną giros gamyboje susidaro priimtinos kvapo savybės ir įvairesnis AJ profilis, reikėtų atidžiai rinktis žaliavas, nes pelėsinių grybų metabolitai (mūsų darbe tirtas deoksinivalenolis) pereina į gėrimą, todėl pastarasis gali būti kenksmingas vartotojams. Taip pat reikia atkreipti dėmesį, kad nors pelijimo požymių ant žaliavos (duonos) paviršiaus dar nesimato, ji gali būti užteršta mikroskopiniais grybais, tai parodo ir mūsų darbe gauti rezultatai, nes giroje, kuri buvo pagaminta iš laboratorinėmis sąlygomis neužkrėstos duonos, taip pat nustatyta deoksinivalenolio. Taip pat galima hipotezė, kad kepinuose yra deoksinivalenolio, kuris ten papuolė su pagrindine žaliava – miltais, nes termiškai apdoroti kepiniai yra saugūs, tačiau mikroskopinių grybų metabolitai pasižymi termostabilumu, todėl gali išlikti po terminio apdorojimo.

IŠVADOS

1. Duonos, naudotos giros gamybai, rūšis turėjo reikšmingą įtaką giros priimtinumui ($p \leq 0,0001$), o priimtinausia įvertinta gira, pagaminta iš „Jonės“ duonos (92 balai).
2. Duonos, naudotos giros gamybai, rūšis turėjo reikšmingą įtaką giros aromatinių junginių profiliui, giroje identifikuota iš viso 82 skirtingi aromatiniai junginiai, o vyraujantys buvo etanolis, 2-metil-1-propanolis, 3-metil-1-butanolis, heksano rūgštis, etil-oktanoatas, etil-kapratas, karvedilolis, 2-fenil-etanolis, acetato rūgštis, oktano rūgštis, dekanio rūgštis.
3. Giroje, pagamintoje iš neužkrėstos mikroskopiniais grybais duonos, nustatyta deoksinivalenolio (nustatyta Nr. 1 – 21,36 $\mu\text{g/kg}$; Nr. 3 – 6,16 $\mu\text{g/kg}$), tačiau jo koncentracija yra mažesnė, nei ta, kuri pavojinga vartotojams.
4. Duonos užkrėtimas mikroskopiniais grybais turėjo įtakos aromatinių junginių profiliui giroje, t. y., nustatyta didesnė aromatinių junginių įvairovė, lyginant su mėginiais, pagamintais iš neužkrėstos duonos (giroje iš užkrėstos mikroskopiniais grybais duonos nustatyti 74 aromatiniai junginiai, o iš neužkrėstos – 65 aromatiniai junginiai).
5. Nepaisant to, kad giros, pagamintos iš užkrėstos mikroskopiniais grybais duonos kvapas buvo įvertintas kaip priimtinas (priimtinausias kvapas įvertintas giros mėginio, pagaminto iš „Klaipėdos“ plikytos duonos), joje nustatyta deoksinivalenolio koncentracija buvo vidutiniškai, 4,65 $\mu\text{g/kg}$.
6. Duonos, naudotos giros gamybai užkrėtimas mikroskopiniais grybais turėjo įtakos giros fizikinėms cheminėms savybėms, t. y. giros, pagamintos iš neužkrėstos duonos pH (3,75), spalvų koordinatės (šviesumas – 65,24; raudonumas – -1,60; geltonumas – 25,11), sausosios medžiagos (3,07 proc.) nustatytos didesnės nei giros mėginių, pagamintų iš užkrėstos pelėsiniais grybais duonos (pH 3,23, spalvų koordinatės: šviesumas – 63,44; raudonumas – -0,72; geltonumas – 29,02, sausosios medžiagos: 2,88 proc.).
7. Skirtinga duonos rūšis bei užkrėtimas pelėsiniais grybais ir šių veiksnių sąveika buvo reikšminga ($p \leq 0,0001$) analizuotiems giros rodikliams: pH, spalvų koordinatėms, sausosioms medžiagoms, aromatinių junginių susidarymui bei deoksivalenolio koncentracijai giros mėginiuose.

LITERATŪRA

1. Dulka O, Prybylskyi V, Oliinyk S, Kuts A, Vitriak O. Influence of physicochemical parameters of water on the amino acid composition of bread kvass. *Ukrainian Food Journal* 2020;9(3):610-733.
2. Dulka O, Prybylskyi V, Oliinyk S, Kuts A, Vitriak O. Using of clinoptilolite, activated charcoal and rock crystal in water purification technology to enhance the biological value of bread kvass. *Ukrainian food journal* 2019(8, Issue 2):307-316.
3. El Sheikha AF. Bread: Between the heritage of past and the technology of present. Bread and its fortification: Nutrition and health benefits, food biology series, eds.CM Rosell, J.Bajerska, and AF El Sheikha 2015:1-25.
4. Fendiyanto MH, Satrio RD. Identification, aflatoxin content, and antagonistic test of spoilage fungi in bread to *Aspergillus niger*. *Asian Journal of Tropical Biotechnology* 2020;17(2).
5. Costa HS, Albuquerque TG, Sanches-Silva A, Vasilopoulou E, Trichopoulou A, D'Antuono LF, et al. New nutritional composition data on selected traditional foods consumed in Black Sea Area countries. *J Sci Food Agric* 2013;93(14):3524-3534.
6. Lidums I, Karklina D, Kirse A. Quality changes of naturally fermented kvass during production stages. Conference proceedings of 9th Baltic Conference on Food Science and Technology FOODBALT; 2014.
7. Birch AN, Petersen MA, Arneborg N, Hansen ÅS. Influence of commercial baker's yeasts on bread aroma profiles. *Food Res Int* 2013;52(1):160-166.
8. Tang J, Wang X, Hu Y, Zhang Y, Li Y. Lactic acid fermentation from food waste with indigenous microbiota: Effects of pH, temperature and high OLR. *Waste Manage* 2016;52:278-285.
9. Stanojević-Nikolić S, Dimić G, Mojović L, Pejin J, Djukić-Vuković A, Kocić-Tanackov S. Antimicrobial activity of lactic acid against pathogen and spoilage microorganisms. *J Food Process Preserv* 2016;40(5):990-998.
10. Ptichkina N, Nepovinnykh N. Textural Characteristics of Traditional Russian Foods. *Textural Characteristics of World Foods* 2020:251-267.
11. Savkina O, Kuznetsova L, Lokachuk M, Parakhina O, Pavlovskaya E, Lavrenteva N. The way of old bread recycling in the bread making. *E3S Web of Conferences: EDP Sciences*; 2020.
12. Lengeler KB, Stovicek V, Fennessy RT, Katz M, Förster J. Never Change a Brewing Yeast? Why Not, There Are Plenty to Choose From. *Frontiers in Genetics* 2020;11.

13. Khandaker MM, Abdullahi UA, Abdulrahman MD, Badaluddin NA, Mohd KS. Bio-ethanol production from fruit and vegetable waste by using *saccharomyces cerevisiae*. *Bioethanol: IntechOpen*; 2020.
14. Boeira CZ, de Carvalho Silvello, Maria Augusta, Remedi RD, Feltrin ACP, Santos LO, Garda-Buffon J. Mitigation of nivalenol using alcoholic fermentation and magnetic field application. *Food Chem* 2021;340:127935.
15. Kobelev KV, Eliseev MN, Filimonova TI, Borisenko OA. The yeast *Saccharomyces* in the production of kvass. *Beer and Beverages* 2010.
16. Tomaszewska J, Bieliński D, Binczarski M, Berlowska J, Dziugan P, Piotrowski J, et al. Products of sugar beet processing as raw materials for chemicals and biodegradable polymers. *RSC advances* 2018;8(6):3161-3177.
17. Ivanchenko OB, Danina MM. The use of sweeteners in the technology of bread kvass. 2019.
18. Dharmananda S. Luo Han Guo: Sweet fruit used as sugar substitute and medicinal herb. : ITM; 2012.
19. Itkin M, Davidovich-Rikanati R, Cohen S, Portnoy V, Doron-Faigenboim A, Oren E, et al. The biosynthetic pathway of the nonsugar, high-intensity sweetener mogroside V from *Siraitia grosvenorii*. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2016;113(47):E7619-E7628.
20. XUE Y, GAO R, WANG C. Manufacture of Compound Fermented Kvass Beverage with *Momordica Grosvenori*. *Beverage Industry* 2014:12.
21. Gourama H, Bullerman LB. Detection of molds in foods and feeds: potential rapid and selective methods. *J Food Prot* 1995;58(12):1389-1394.
22. Pitt JI. Toxigenic fungi and mycotoxins. *Br Med Bull* 2000;56(1):184-192.
23. Rico-Munoz E. Heat resistant molds in foods and beverages: recent advances on assessment and prevention. *Current Opinion in Food Science* 2017;17:75-83.
24. Van den Brule T, Lee CLS, Houbraken J, Haas P, Wösten H, Dijksterhuis J. Conidial heat resistance of various strains of the food spoilage fungus *Paecilomyces variotii* correlates with mean spore size, spore shape and size distribution. *Food Res Int* 2020;137:109514.
25. Ju J, Xie Y, Yu H, Guo Y, Cheng Y, Chen Y, et al. Synergistic properties of citral and eugenol for the inactivation of foodborne molds in vitro and on bread. *LWT* 2020;122:109063.
26. EUROPOS PARLAMENTO IR TARYBOS DIREKTYVA 95/2/EB 1995 m. vasario 20 d. dėl maisto priedų, išskyrus dažiklius ir saldiklius <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/LT/TXT/?uri=CELEX%3A31995L0002>

27. Russo P, Fares C, Longo A, Spano G, Capozzi V. *Lactobacillus plantarum* with broad antifungal activity as a protective starter culture for bread production. *Foods* 2017;6(12):110.
28. Krusong W, Pothimon R, Vichitraka A. Inhibitory impact of vapor-phase ethanol on conidia germination and mycelial growth of *Aspergillus fumigatus* on bread. *Food Control* 2019;95:165-169.
29. Cho S, Lee D, Choi J, Lee H, Kim S, Park SH, et al. Characteristics of culture-positive invasive pulmonary aspergillosis in patients with hematologic diseases: comparison between *Aspergillus fumigatus* and non-*fumigatus* *Aspergillus* species. *Medicine* 2017;96(49).
30. Schwartz S, Thiel E. Clinical presentation of invasive aspergillosis. *Mycoses* 1997;40:21-24.
31. Frisvad JC, Møller LL, Larsen TO, Kumar R, Arnau J. Safety of the fungal workhorses of industrial biotechnology: update on the mycotoxin and secondary metabolite potential of *Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae*, and *Trichoderma reesei*. *Appl Microbiol Biotechnol* 2018;102(22):9481-9515.
32. Asif S. Effects of dietary exposure to Ochratoxin A (OTA) mycotoxin below/around guidance values on embryo/fetal development and pregnancy success. 2020.
33. Al Khalaileh NI. Prevalence of Ochratoxin A in Poultry Feed and Meat from Jordan. *Pakistan journal of biological sciences: PJBS* 2018;21(5):239-244.
34. Hof H. The Medical Relevance of *Fusarium* spp. *Journal of Fungi* 2020;6(3):117.
35. Janssen EM, Mourits M, Van Der Fels-Klerx, H J, Lansink AO. Pre-harvest measures against *Fusarium* spp. infection and related mycotoxins implemented by Dutch wheat farmers. *Crop Protection* 2019;122:9-18.
36. Yao Y, Long M. The biological detoxification of deoxynivalenol: A review. *Food and Chemical Toxicology* 2020;145:111649.
37. Tsygankov S, Ushkarenko V, Grek O, Krasulya O, Ushkarenko I, Tymchuk A, et al. Research on fermentation process of reconstituted whey-malt mixtures. *Восточно-Европейский журнал передовых технологий* 2018(5 (11)):21-29.
38. Fairbairn S, McKinnon A, Musarurwa HT, Ferreira AC, Bauer FF. The impact of single amino acids on growth and volatile aroma production by *Saccharomyces cerevisiae* strains. *Frontiers in microbiology* 2017;8:2554.
39. Hazelwood LA, Daran J, Van Maris AJ, Pronk JT, Dickinson JR. The Ehrlich pathway for fusel alcohol production: a century of research on *Saccharomyces cerevisiae* metabolism. *Appl Environ Microbiol* 2008;74(8):2259-2266.

40. Loviso CL, Libkind D. Síntesis y regulación de los compuestos del aroma y sabor derivados de la levadura en la cerveza: alcoholes superiores. *Revista Argentina de Microbiología* 2019;51(4):386-397.
41. Fahlbusch K, Hammerschmidt F, Panten J, Pickenhagen W, Schatkowski D, Bauer K, et al. Flavors and fragrances. *Ullmann's encyclopedia of industrial chemistry* 2000.
42. Eshkol N, Sendovski M, Bahalul M, Katz-Ezov T, Kashi Ya, Fishman A. Production of 2-phenylethanol from L-phenylalanine by a stress tolerant *Saccharomyces cerevisiae* strain. *J Appl Microbiol* 2009;106(2):534-542.
43. Dai J, Xia H, Yang C, Chen X. Sensing, Uptake and Catabolism of L-Phenylalanine During 2-Phenylethanol Biosynthesis via the Ehrlich Pathway in *Saccharomyces cerevisiae*. *Frontiers in Microbiology* 2021;12:288.
44. Favre HA, Powell WH. Nomenclature of organic chemistry: IUPAC recommendations and preferred names 2013. : Royal Society of Chemistry; 2013.
45. Ghanbari R, Anwar F, Alkharfy KM, Gilani A, Saari N. Valuable nutrients and functional bioactives in different parts of olive (*Olea europaea* L.)—a review. *International journal of molecular sciences* 2012;13(3):3291-3340..
46. Atsumi S, Hanai T, Liao JC. Non-fermentative pathways for synthesis of branched-chain higher alcohols as biofuels. *Nature* 2008;451(7174):86-89.
47. Maiti, S., Gallastegui, G., Kaur Brar, S., LeBihan, Y., Buelna, G., Drogui, P., & Verma, M. (2016). Quest for sustainable bio-production and recovery of butanol as a promising solution to fossil fuel. *International Journal of Energy Research*, 40(4), 411-438.
48. Segal, D., Bale, A. S., Phillips, L. J., Sasso, A., Schlosser, P. M., Starkey, C., & Makris, S. L. (2020). Issues in assessing the health risks of n-butanol. *Journal of Applied Toxicology*, 40(1), 72-86.
49. Lao, Y., Pham, B. D., Le, H. T., Nguyen Van, H., & Hovda, K. E. (2019). Methanol content in homemade alcohol from a province in North Vietnam. *Drug and alcohol review*, 38(5), 537-542.
50. Ran, M., Li, Y., Zhang, L., Wu, W., Lin, J., Liu, Q., & Ou, S. (2019). Clinical features, treatment, and prognosis of acute methanol poisoning: experiences in an outbreak. *Int J Clin Exp Med*, 12(5), 5938-50.
51. Wang H, Xu Y. Microbial succession and metabolite changes during the fermentation of Chinese light aroma-style liquor. *J Inst Brewing* 2019;125(1):162-170.

PRIEDAI

1 priedas. Giros mėginių kokybės rodikliai.

Mėginio Nr.	pH	L*	a*	b*	Sausųjų medžiagų kiekis, proc.
1-	3,85±0,47	64,87±0,45	-1,77±0,31	26,27±0,64	3,10±0,74
2-	3,85±0,65	61,66±0,37	-0,10±0,78	30,93±0,36	3,37±0,35
3-	3,60±0,25	66,89±0,63	-2,61±0,38	20,95±0,24	3,03±0,28
4-	3,81±0,82	65,02±0,73	-0,43±0,26	28,96±0,17	2,80±0,16
5-	3,78±0,53	66,05±0,34	-2,28±0,67	22,05±0,56	2,90±0,52
6-	3,62±0,49	66,48±0,61	-2,42±0,85	21,51±0,44	3,23±0,84
1+	3,30±0,22	59,68±0,55	2,08±0,14	34,71±0,79	3,43±0,54
2+	2,93±0,57	64,29±0,29	-1,63±0,59	26,30±0,39	3,13±0,68
3+	2,88±0,19	63,57±0,32	-3,04±0,33	27,76±0,43	2,73±0,23
4+	2,98±0,75	64,69±0,87	-1,53±0,76	26,05±0,97	2,43±0,83
5+	3,70±0,42	65,54±0,13	0,09±0,48	29,35±0,58	2,77±0,41
6+	3,57±0,69	62,87±0,51	-0,31±0,62	29,97±0,46	3,17±0,27
Pastaba: rezultatai yra statistiškai patikimi, kai $p < 0,05$.					
Paaiškinimas: 1 - Giros mėginys, naudojant „Gudobelės“ duoną, 2 - Giros mėginys, naudojant „Močiutės“ duoną, 3 – Giros mėginys, naudojant „Klaipėdos“ plikytą duoną, 4 – Giros mėginys, naudojant „Jonės“ duoną, 5 – Giros mėginys, naudojant „Ekologiška“ viso grūdo ruginę duoną, 6 - Giros mėginys, naudojant „Ajerų“ duoną, „-“ – Giros mėginiai, nenaudojant pelėsinų grybų, „+“ – Giros mėginiai, naudojant pelėsinus grybus; L* - šviesumas; a* - raudonumas; b* – geltonumas.					

2 priedas. Giros mėginių juslinės savybės.

Mėginio Nr.	Skonio savybės				Kvapo savybės				Bendras priimtumas
	Rūgštumas	Saldumas	Kartumas	Intensyvumas	Rūgštumas	Saldumas	Būdingas girai	Intensyvumas	
1.	33±2	23±7	25±6	35±4	96±8	87±7	98±4	85±9	65±7
2.	105±6	76±7	54±3	94±2	103±5	42±6	89±9	124±7	86±9
3.	47±5	22±4	49±8	41±3	74±4	52±8	53±3	66±6	51±6
4.	72±6	65±2	79±9	69±05	110±6	114±8	102±7	123±5	92±4
5.	78±9	128±3	42±5	135±7	74±7	83±3	62±3	70±4	75±7
6.	15±3	13±3	27±4	10±05	15±5	10±7	14±5	12±8	14±3
Paaiškinimas: 1 - Giros mėginys, naudojant „Gudobelės“ duoną, 2 - Giros mėginys, naudojant „Močiutės“ duoną, 3 – Giros mėginys, naudojant „Klaipėdos“ plikytą duoną, 4 – Giros mėginys, naudojant „Jonės“ duoną, 5 – Giros mėginys, naudojant „Ekologiška“ viso grūdo ruginę duoną, 6 - Giros mėginys, naudojant „Ajerų“ duoną.									

3 priedas. Giros, pagamintos iš apkrėstos pelėsiniais grybais duonos, juslinės kvapo savybės.

Mėginio Nr.	Kvapas			
	Rūgštumas	Saldumas	Būdingas girai	Intensyvumas
1.	75±6	36±8	47±3	68±5
2.	42±3	58±7	36±4	60±9
3.	107±8	119±5	93±5	25±8
4.	41±4	38±4	48±8	69±5
5.	25±3	31±3	42±6	55±7
6.	4±1	9±6	5±4	8±6
Paaiškinimas: 1 - Giros mėginys, naudojant „Gudobelės“ duoną, 2 - Giros mėginys, naudojant „Močiutės“ duoną, 3 – Giros mėginys, naudojant „Klaipėdos“ plikytą duoną, 4 – Giros mėginys, naudojant „Jonės“ duoną, 5 – Giros mėginys, naudojant „Ekologiška“ viso grūdo ruginę duoną, 6 - Giros mėginys, naudojant „Ajerų“ duoną.				

4 priedas. Analizuotų veiksnių (duonos rūšies, pelėsinų grybų) bei jų sąveikos įtaka analizuotiems giros rodikliams (pH, L*, a*, b*, sausosios medžiagos).

Veiksny	Analizuoti rodikliai	Vidurkis	Fišerio koeficientas (F)	p
Pelėsiniai grybai	pH	2,533	25,870	0,0001
	L*	26,660	44,211	0,0001
	a*	6,717	14,562	0,0001
	b*	137,749	50,728	0,0001
	Sausosios medžiagos	0,147	2,320	0,141
Duonos rūšis	pH	0,180	1,835	0,144
	L*	11,263	18,679	0,0001
	a*	5,625	12,254	0,0001
	b*	30,310	11,162	0,0001
	Sausosios medžiagos	0,434	6,850	0,0001
Pelėsiniai grybai*duonos rūšis	pH	0,202	2,064	0,105
	L*	12,140	20,132	0,0001
	a*	7,324	15,878	0,0001
	b*	54,203	19,961	0,0001
	Sausosios medžiagos	0,094	1,489	0,231

Paaiškinimas: pH - aktyvusis rūgštingumas; L* - šviesumas ; a* - raudonumas; b* – geltonumas; F – Fišerio koeficientas; p – veiksnio įtakos patikimumas analizuotam rodikliui, p patikimas, kai $p \leq 0,05$.

5 priedas. Analizuotų giros rodiklių (pH, L*, a*, b*, sausosios medžiagos) tarpusavio sąveika (Pearsono koreliacijos) ir jos patikimumas.

Rodikliai	pH	L*	a*	b*	Sausosios medžiagos
R (p)					
pH	1	0,156±0,365	0,128±0,456	-0,076±0,685	0,106±0,537
L*	0,156±0,365	1	-0,736±0,000	-0,861±0,000	-0,401±0,150
a*	0,128±0,456	-0,736±0,000	1	0,841±0,000	0,365±0,029
b*	-0,076±0,685	-0,861±0,000	0,841±0,000	1	0,145±0,145
Sausosios medžiagos	0,106±0,537	-0,401±0,150	0,365±0,290	0,248±0,145	1

Paaiškinimas: pH - aktyvusis rūgštingumas; L* - šviesumas ; a* - raudonumas; b* – geltonumas; „-“ – neigiama koreliacija; R – Pearsono koreliacija. Koreliacija patikima, kai $p \leq 0,05$.

6 priedas. Giros mėginiuose esantys aukštesnieji alkoholiai ir kiti fuzelio junginiai. (Lentelės tęsinys pateikiamas 47, 48 psl.)

Junginio pavadinimas	1 -	2 -	3 -	4 -	5 -	6 -	1 +	2 +	3 +	4 +	5 +	6 +
Etanolis	19,326	19,482	22,469	18,076	19,719	19,510	20,727	20,162	24,081	16,494	22,066	19,069
1-2-metil-propanolis	0,987	1,162	1,538	1,096	1,286	1,178	1,201	0,683	1,349	0,451	1,013	1,086
3-metil-1-butanolio acetatas	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,041	0,000	0,000	0,000
Limonenas	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,532	1,603	2,206
3-metil-1-butanolis	20,684	18,419	29,754	23,516	22,355	23,717	23,925	18,598	25,504	14,145	26,944	21,176
Heksano rūgštis	0,642	0,340	0,521	0,278	0,548	0,413	1,008	0,808	1,011	0,735	1,117	0,681
Terpinenas	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,108	0,306
1-metil-3-benzenas	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,313
1-heksanolis	0,043	0,046	0,000	0,000	0,070	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

Junginio pavadinimas	1 -	2 -	3 -	4 -	5 -	6 -	1 +	2 +	3 +	4 +	5 +	6 +
3-metil-5-propil-nonanas	0,038	0,066	0,047	0,000	0,000	0,032	0,042	0,082	0,000	0,000	0,053	0,000
Tetradekanas	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,112	0,000	0,090
Nonanalis	0,103	0,205	0,216	0,158	0,181	0,223	0,265	0,154	0,292	0,157	0,123	0,000
Oktametil-trisiloksanas	0,000	0,000	0,000	0,000	0,00	0,000	0,000	0,000	0,000	0,054	0,000	0,000
2-metil-3etil-benzenas	0,205	0,256	0,219	0,000	0,010	0,000	0,185	0,000	0,227	0,209	0,000	0,204
Etil-oktanoatas	11,761	9,095	8,281	10,213	6,761	11,174	12,376	16,897	12,572	17,181	10,283	9,269
Oktenolis	0,125	0,097	0,110	0,0700	0,108	0,074	0,141	0,141	0,471	0,101	0,080	0,0969
Skrudžių rūgštis	0,000	0,021	0,034	0,000	0,016	0,014	0,027	0,026	0,000	0,028	0,022	0,023
Izopentino heksanoatas	0,042	0,029	0,030	0,033	0,000	0,024	0,044	0,026	0,017	0,028	0,0250	0,000
Sulfito rūgštis	0,000	0,000	0,000	0,037	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
Pentadekanas	0,000	0,010	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,014	0,011	0,016	0,000	0,015
Nonano rūgštis	0,164	0,494	0,107	0,124	0,213	0,113	0,092	0,251	0,074	0,151	0,066	0,110
Linalolas	0,047	0,000	0,024	0,033	0,000	0,035	0,092	0,041	0,116	0,021	0,038	0,065
Izobutilo acetatas	0,052	0,054	0,044	0,049	0,000	0,055	0,051	0,038	0,048	0,045	0,030	0,052
2-metil-propano rūgštis	0,143	0,146	0,197	0,1700	0,151	0,151	0,248	0,188	0,261	0,098	0,210	0,174
2,2-dimetil-propano rūgštis	0,057	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
Bergamotinas	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,014	0,000
Heksadekanas	0,000	0,042	0,041	0,037	0,022	0,024	0,037	0,000	0,040	0,049	0,052	0,062
Kariofilenas	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,027	0,000
Undekanolis	0,037	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
4-metil-2-undekanolis	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,029	0,000	0,000	0,000
Karvonas	0,120	0,344	0,000	0,228	0,300	0,201	0,384	0,256	0,000	0,589	0,175	0,099
6-metil-1-oktanolis	0,060	0,043	0,056	0,033	0,043	0,046	0,031	0,027	0,032	0,000	0,029	0,029
Izomaltolis	0,331	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,329	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
Etilo kapratas	6,553	6,165	4,423	6,388	2,723	6,027	8,650	10,792	6,380	10,473	5,769	9,355
Oktano rūgštis	3,588	2,310	3,446	1,871	2,575	2,805	5,146	3,800	5,651	3,146	4,724	4,900
Farnesenas	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,109	0,000	0,000	0,000	0,000
4-metil-benzaldehidas	0,000	0,000	0,220	0,000	0,153	0,000	0,169	0,000	0,199	0,093	0,000	0,158
2-metil-butano rūgštis	0,143	0,141	0,184	0,169	0,146	0,154	0,228	0,198	0,220	0,165	0,208	0,174
2-4-hidroksi-butil-cikloheksanolis	0,000	0,061	0,000	0,051	0,049	0,049	0,000	0,000	0,000	0,062	0,000	0,000
2-metil-5-cikloheksanolis	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,370	0,289	0,034	0,184	0,080	0,610
3-nonanolis	0,042	0,000	0,043	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,028	0,000	0,000	0,000
L-terpineolis	0,062	0,106	0,033	0,087	0,053	0,074	0,060	0,071	0,000	0,173	0,058	0,101
Acetatas	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,056	0,000	0,262	0,000	0,043
3-metil-1-propanolis	0,045	0,041	0,063	0,046	0,033	0,048	0,040	0,050	0,051	0,000	0,036	0,039
Karvedilolis	13,832	24,784	7,413	19,664	23,840	16,278	3,138	2,461	0,310	2,479	4,372	3,059
Kaprio rūgštis	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,147	0,000	0,000	0,000
Neodihidrokarveolis	0,000	0,000	0,000	0,000	0,163	0,000	0,000	0,549	0,000	1,689	0,000	0,000
Geranil-acetatas	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,144
Citronelolis	0,061	0,052	0,030	0,033	0,047	0,048	0,036	0,034	0,038	0,000	0,057	0,045
Dibutil-formamidas	0,027	0,023	0,035	0,027	0,028	0,030	0,030	0,027	0,031	0,018	0,040	0,036
4-metil-nanonolis	0,039	0,000	0,000	0,072	0,000	0,047	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
Geraniolis	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,032
Heptantriolis	1,110	0,000	0,000	2,281	2,607	0,000	0,000	6,095	0,300	17,422	2,245	11,474
Acto rūgštis	0,086	0,101	0,134	0,111	0,091	0,114	0,116	0,097	0,082	0,133	0,126	0,078
1-metil-etil-lauro rūgštis	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,017	0,000	0,000	0,000
2-metil-5,2-Cikloheksanas	0,000	0,000	0,000	0,000	0,169	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
Dekano rūgštis	4,359	3,287	3,577	2,473	2,492	3,468	4,646	4,373	4,114	3,54	4,8704	5,248
Heksano rūgštis	0,401	0,286	0,385	0,299	0,359	0,313	0,5856	0,413	0,573	0,364	0,625	0,487
3-metilbutil-pentodekano rūgštis	1,034	0,694	0,740	0,688	0,304	0,687	1,876	1,267	1,827	0,816	0,800	0,982
Karveolis	1,145	1,540	0,643	1,610	1,555	1,302	0,221	0,190	0,133	0,000	0,000	0,000

Junginio pavadinimas	1 -	2 -	3 -	4 -	5 -	6 -	1 +	2 +	3 +	4 +	5 +	6 +
2-metil-1,3-propiono rūgštis	0,181	0,118	0,185	0,083	0,120	0,139	0,135	0,116	0,175	0,088	0,113	0,066
2-metil-2,2-propiono rūgštis	0,251	0,082	0,128	0,085	0,110	0,099	0,071	0,073	0,118	0,058	0,114	0,137
2-izopropil-5-metil-1-heptanolis	0,042	0,025	0,044	0,013	0,028	0,032	0,022	0,027	0,055	0,018	0,024	0,000
2-fenil-etanolis	8,421	8,507	12,869	8,455	9,233	10,03	8,386	8,098	8,837	6,483	10,189	6,528
2-etil-heksano rūgštis	0,388	0,274	0,393	0,247	0,289	0,319	0,377	0,337	0,428	0,265	0,379	0,315
Heptano rūgštis	0,000	0,000	0,000	0,065	0,075	0,000	0,089	0,085	0,000	0,053	0,090	0,061
Izobutilo lauratas	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,078	0,000	0,093	0,000	0,000	0,032
Izopropilo miristatas	0,116	0,112	0,107	0,054	0,049	0,040	0,050	0,000	0,053	0,000	0,000	0,000
Tetradekanoatas	0,000	0,000	0,000	0,112	0,000	0,000	0,213	0,133	0,222	0,105	0,000	0,147
Izoamilo lauratas	0,199	0,088	0,166	0,098	0,081	0,109	0,350	0,294	0,341	0,177	0,230	0,188
2-propeno rūgštis	0,000	0,000	0,000	0,000	0,036	0,041	0,054	0,000	0,036	0,000	0,000	0,047
Nonano rūgštis	0,609	0,980	0,590	0,340	0,583	0,432	0,435	0,283	0,495	0,424	0,404	0,382
1-teatradekanolis	0,023	0,017	0,021	0,013	0,014	0,019	0,024	0,022	0,000	0,015	0,015	0,000
2-feniletil-heksano rūgštis	0,061	0,030	0,047	0,025	0,021	0,036	0,044	0,039	0,041	0,037	0,040	0,019
Pačiulio alkoholis	0,066	0,063	0,041	0,0140	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
Gvajakolis	0,064	0,039	0,034	0,027	0,042	0,052	0,035	0,030	0,047	0,024	0,074	0,045
Heksandediolio diakrilatas	0,000	0,000	0,111	0,081	0,094	0,109	0,118	0,102	0,000	0,000	0,115	0,102
2-etanolis	0,000	0,000	0,025	0,012	0,016	0,015	0,000	0,032	0,000	0,033	0,000	0,000
Palmitino rūgštis	0,000	0,077	0,105	0,000	0,103	0,094	0,000	0,166	0,197	0,152	0,193	0,421
Metildihidroximonatas	0,142	0,073	0,026	0,011	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
2,4-di-fenolis	2,355	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
Farnezolis	0,000	0,082	0,148	0,065	0,060	0,086	0,000	0,102	0,000	0,000	0,000	0,039

Paaiškinimas: 1 - Giros mėginys, naudojant „Gudobelės“ duoną, 2 - Giros mėginys, naudojant „Močiūtės“ duoną, 3 - Giros mėginys, naudojant „Klaipėdos“ plikytą duoną, 4 - Giros mėginys, naudojant „Jonės“ duoną, 5 - Giros mėginys, naudojant „Ekologiška“ viso grūdo ruginę duoną, 6 - Giros mėginys, naudojant „Ajerų“ duoną, „-“ - Giros mėginiai, nenaudojant pelėsinų grybų, „+“ - Giros mėginiai, naudojant pelėsinus grybus.

7 priedas. Analizuotų veiksmų (duonos rūšies, pelėsinų grybų) bei jų sąveikos įtaka analizuotiems giros rodikliams (etanolis, 2-metil-1-propanolis, 3-metil-1-butanolis, heksano, oktano, lauro rūgštys, 2-fenil-etanolis, acetato, oktano, dekanų rūgštys, kiti junginiai). Lentelės tęsinys pateikiamas 49 psl.

Veiksny	Analizuoti rodikliai	Vidurkis	Fišerio koeficientas (F)	p
Pelėsiniai grybai	Etanolis	4,052	1,057	0,001
	2-metil-1-propanolis	0,536	1,576	0,001
	3-metil-1-butanolis	16,614	1,615	0,001
	Heksano rūgštis	1,682	1,972	0,002
	Oktano rūgštis	233,219	3,219	0,001
	Lauro rūgštis	221,846	2,845	0,002
	Karvedilolis	236,099	3,099	0,001
	2-fenil-etanolis	20,228	2,225	0,001
	Acetato rūgštis	248,661	4,645	0,001
	Oktano rūgštis	28,163	1,288	0,001
	Dekano rūgštis	88,635	3,523	0,001
	Kiti junginiai	75,377	5,374	0,001
Duonos rūšis	Etanolis	116,190	3,213	0,001
	2-metil-1-propanolis	1,550	0,315	0,001
	3-metil-1-butanolis	361,817	2,351	0,001
	Heksano rūgštis	0,649	1,125	0,001
	Oktano rūgštis	77,484	1,486	0,007
	Lauro rūgštis	140,815	2,124	0,001
	Karvedilolis	463,397	2,629	0,001
	2-fenil-etanolis	44,904	8,981	0,002

Veiksny	Analizuoti rodikliai	Vidurkis	Fišerio koeficientas (F)	p
Duonos rūšis	Acetato rūgštis	399,009	9,802	0,001
	Oktano rūgštis	15,785	7,465	0,001
	Dekano rūgštis	98,562	4,257	0,001
	Kiti junginiai	45,898	9,180	0,001
Pelėsiniai grybai*duonos rūšis	Etanolis	15,797	3,159	0,001
	2-metil-1-propanolis	0,679	1,136	0,001
	3-metil-1-butanolis	199,282	9,856	0,001
	Heksano rūgštis	0,083	1,017	0,001
	Oktano rūgštis	98,194	1,639	0,001
	Lauro rūgštis	2,056	2,411	0,001
	Karvedilolis	275,109	5,022	0,001
	2-fenil-etanolis	30,021	6,004	0,001
	Acetato rūgštis	350,596	7,119	0,001
	Oktano rūgštis	32,027	6,258	0,001
	Dekano rūgštis	102,255	5,542	0,001
	Kiti junginiai	19,663	3,933	0,001
Paaiškinimas: F – Fišerio koeficientas; p – veiksnio įtakos patikimumas analizuotam rodikliui, p patikimas, kai $p \leq 0,005$.				

8 priedas. Analizuotų veiksnių (duonos rūšies, pelėsinų grybų) bei jų sąveikos įtaka analizuotiems giros rodikliams (Deoksinivalenolis).

Veiksny	Analizuoti rodikliai	Vidurkis	Fišerio koeficientas (F)	p
Pelėsiniai grybai	Deoksinivalenolis	0,06	5,88	0,023
Duonos rūšis	Deoksinivalenolis	134,54	13179,09	0,001
Pelėsiniai grybai*duonos rūšis	Deoksinivalenolis	116,13	11376,13	0,001
Paaiškinimas: F – Fišerio koeficientas; p – veiksnio įtakos patikimumas analizuotam rodikliui, p patikimas, kai $p \leq 0,05$.				