

Latvia University of Life Sciences and Technologies  
*Latvijas Biozinātņu un tehnoloģiju universitāte*

Faculty of Agriculture and Food Technology  
*Lauksaimniecības un pārtikas tehnoloģijas fakultāte*



*Mg.bus.admin.* **Darius Sargautis**

**ENZYME-ASSISTED OAT PROTEIN CONCENTRATE  
DEVELOPMENT AND WET EXTRUSION**

***ENZIMĀTISKĀ AUZU PROTEĪNA KONCENTRĀTA  
IEGUVE UN MITRĀ EKSTRŪZIJA***

**SUMMARY**

of the Doctoral thesis for the Doctoral degree of Science (*Ph.D.*)  
in Engineering Sciences and Technologies

Promocijas darba KOPSAVILKUMS  
*zinātnes doktora grāda (Ph.D.) iegūšanai  
inženierzinātnēs un tehnoloģijās*

JELGAVA  
2024

**Scientific supervisor** / *Promocijas darba vadītāja*:  
LBTU professor / *profesore*, Dr.sc.ing. **Tatjana Ķince**

**Official reviewers** / *Darba recenzenti*:

Leading researcher / *Vadošā pētniece*, Dr.sc.ing. **Vita Šterna** – Institute of Agricultural Resources and Economics, Latvia University of Life Sciences and Technologies / *APP Agrolesursu un ekonomikas institūts, Latvijas Biozinātņu un tehnoloģiju universitātē*

Leading researcher / *Vadošais pētnieks*, Dr.biol. **Pāvels Semjonovs** – Institute of Biology, University of Latvia / *Latvijas Universitātes Bioloģijas institūts*

Dr. **Elena Bartkiene** – Professor at Department of Food Safety and Quality, Chief Researcher and Head of Institute of Animal Rearing Technologies, Lithuanian University of Health Sciences / *Pārtikas nekaitīguma un kvalitātes katedras profesore, Dzīvnieku audzēšanas tehnoloģiju institūta vadošā pētniece un vadītāja, Lietuvas Veselības zinātņu universitātē*

**The defence of the doctoral thesis** in an open session of the Promotion Board of Food and Beverage Technology at Latvia University of Life Sciences and Technologies will be held on 17<sup>th</sup> May 2024 at 10 AM in auditorium 216 at the Food Institute, 22a Rigas Street, Jelgava.

**Promocijas darba aizstāvēšana** notiks Latvijas Biozinātņu un tehnoloģiju universitātes Pārtikas un dzērienu tehnoloģijas nozares promocijas padomes atklātajā sēdē 2024. gada 17. maijā plkst. 10:00 Pārtikas institūtā 216. auditorijā, Rīgas ielā 22a, Jelgavā.

**The doctoral thesis is available** at the Fundamental Library of Latvia University of Life Sciences and Technologies, 2 Liela Street, Jelgava, and on the internet ([www.kopkatalogs.lv](http://www.kopkatalogs.lv)). References should be sent to associate professor Dr.sc.ing. J. Zagorska, the Secretary of the Promotion Board of Food and Beverage Technology at the Food Institute, 22a Rigas Street, Jelgava LV-3004, Latvia or e-mail: [jelena.zagorska@lbtu.lv](mailto:jelena.zagorska@lbtu.lv).

**Ar promocijas darbu un tā kopsavilkumu var iepazīties** LBTU Fundamentālajā bibliotēkā, Lielā ielā 2, Jelgavā un portālā (pieejams: [www.kopkatalogs.lv](http://www.kopkatalogs.lv)). Atsaukmes sūtīt Pārtikas un dzērienu tehnoloģijas nozares promocijas padomes sekretārei, asociētai profesorei Dr.sc.ing. J. Zagorskai (Rīgas iela 22a, Jelgava LV-3004, e-pasts: [jelena.zagorska@lbtu.lv](mailto:jelena.zagorska@lbtu.lv))

# CONTENT

Content .....	3
Topicality of the research .....	4
Approbation of the research .....	5
Materials and methods.....	8
Results and discussion.....	12
1. Oat protein isolation .....	12
2. Oat protein characterisation and its functional properties .....	16
3. Extrusion of oat protein concentrate .....	28
Conclusions .....	34
Pētījuma aktualitāte .....	35
Pētījuma aprobācija .....	36
Materiāli un metodes.....	36
Rezultāti un diskusija .....	38
1. Auzu proteīna izolēšana.....	38
2. Auzu proteīna raksturojums un funkcionālās īpašības.....	40
3. Auzu proteīna koncentrāta ekstrūzija .....	45
Secinājumi.....	49

## TOPICALITY OF THE RESEARCH

Oats, recognised for their exceptional nutritional value and amino acid composition (Mohamed, Biresaw, Xu, Hojilla-Evangelista, & Rayas-Duarte, 2009), show promise as an alternative source for plant protein concentrates and isolates. They contain higher protein levels in their groats compared to other cereals (Klose & Arendt, 2012) and are well-suited for cultivation in the local region where this research was conducted (Sterna, Zute, & Brunava, 2016).

Despite the extensive study of oat protein characteristics (Spaen & Silva, 2021), the current methods for extracting oat protein frequently employ harsh alkaline extraction followed by precipitation, or rely on air separation, which is inherent to the milling process (Sibakov, 2014).

Another way to concentrate oat protein is through enzyme-assisted aqueous extraction. This method can produce a versatile protein concentrate that can be used in various applications. It allows for the adjustment of protein concentration levels and control of suspended solids. Additionally, the resulting oat protein concentrate can be used as a valuable raw material for developing unique products, such as oat protein extrudates.

The **aim** of the doctoral thesis was to develop enzyme-assisted aqueous extraction methods to obtain oat protein concentrates, evaluate the functional properties of the obtained protein concentrates, and determine their suitability for further processing, including but not limited to wet extrusion.

The **hypothesis**: oat protein concentrate obtained through enzyme-assisted aqueous extraction followed by defatting can be utilised in wet extrusion systems.

**Theses** confirming the hypothesis:

- oat protein can be extracted and concentrated through enzyme-assisted aqueous extraction;
- the degradation of non-starch polysaccharides during wet enzymatic hydrolysis does not affect the amino acid composition of the oat protein;
- ionic strength influences oat protein aggregation subsequently affecting its functional properties and the yield of protein recovery;
- defatting methods affect oat protein functional properties;
- defatting the oat protein concentrate improves the wet extrusion process.

**Research objects**: whole grain oat flakes, fine oat flour, oat protein, oat protein extrudates.

**Tasks** of the present research are as follows:

- to identify methods suitable for oat protein enzyme-assisted aqueous extraction from commercial whole oat flakes and fine oat flour;
- to identify suitable defatting methods for oat protein concentrates obtained from commercial oats and oat flour;
- to evaluate the redistribution of amino acids in obtained oat protein

concentrates and side products, in particular, fibre;

- to evaluate the characteristics of obtained protein concentrates and investigate the functional properties of obtained oat protein concentrates;
- to determine the extrusion parameters for oat protein concentrate;
- to investigate the physical characteristics of the obtained oat protein extrudate, including its structure, texture, and colour.

**Novelty** of the present research:

- methods for obtaining oat protein concentrate up to 75% (dry matter) through enzyme-assisted aqueous extraction have been developed;
- physiochemical characteristics, amino acid profile and functional properties of oat protein concentrates obtained through enzyme-assisted aqueous extraction have been evaluated;
- technological parameters for the wet extrusion of oat protein concentrate have been determined;
- physical properties of oat protein extrudate obtained through wet extrusion have been studied.

**Economic significance:**

- developed methods have shown the possibility of obtaining oat protein concentrates which are considered as innovative raw materials, potential ingredients for a wide range of food applications, including categories of products with the “clean label”;
- functional properties of obtained oat protein concentrates enable producers to determine the applicability of oat protein concentrates in their products;
- defined parameters of the extrusion process and the characteristics of the extrudates derived from oat concentrates support producers in innovating and introducing novel products, specifically extrudates, containing a new ingredient: oat protein concentrate.

## APPROBATION OF THE RESEARCH

The research results are summarised and published in 4 peer-reviewed scientific editions in English, which are indexed in the international databases SCOPUS and/or Web of Science. 2 patents have been granted.

**Publications:**

1. **Sargautis D.**, Kince T., Gramatina I. (2023) Characterisation of the Enzymatically Extracted Oat Protein Concentrate after Defatting and Its Applicability for Wet Extrusion. *Foods*, 12:2333. <https://doi.org/10.3390/foods12122333>.
2. **Sargautis D.**, Kince T. (2023) Effect of Enzymatic Pre-Treatment on Oat Flakes Protein Recovery and Properties. *Foods*, 5:965. <https://doi.org/10.3390/foods12050965>.

3. Sargautiene V., **Sargautis D.**, Podjava A., Jakobsone I., Nikolajeva V. (2023) Feasibility of Integrating Spray Dried and Freeze Dried Oat  $\beta$ -Glucans in a Synbiotic Formulation with *Akkermansia muciniphila*. *Fermentation*, 9(10): 895. <https://doi.org/10.3390/fermentation9100895>.
4. **Sargautis D.**, Kince T., Sargautiene V. (2021) Review: Current Trends in Oat Protein Recovery and Utilization in Aqueous Food Systems. *Proceedings of the annual 27<sup>th</sup> International scientific conference Research for Rural Development 2021*. 36:77–83. <https://doi.org/10.22616/rrd.27.2021.011>.

#### **Granted patents:**

1. **Sargautis D.** (2024) A method of producing a drink from an oat material. Latvijas Republikas patentu valde LV 15707, filed 2021, issued on 20 February 2024, <https://databases.lrpv.gov.lv/patents/LVP2021000048>.
2. **Sargautis D.** (2023) A process of producing a plant-based protein. Latvijas Republikas patentu valde LV 15735, filed 2021, issued on 20 August 2023, <https://databases.lrpv.gov.lv/patents/LVP2021000081>.

The research **results have been presented** at international scientific conferences in Latvia, Lithuania and France.

1. 15<sup>th</sup> Baltic Conference on Food Science and Technology, FOODBALT-2022 “Food Research and Development in the Baltic States and Beyond”, Kaunas, Lithuania. Oral presentation. **Sargautis D.**, Kince T., Gramatina I. Effect of defatting method on enzymatically extracted oat protein solubility (26–27 October 2022).
2. 4<sup>th</sup> Edition of Euro Global Online Conference on Food Science and Technology, France. Oral presentation. **Sargautis D.**, Kince T., Gramatina I. Evaluation of functional properties of enzymatically extracted oat protein (12–13 September 2022).
3. Workshop within Riga Food 2022 “Innovative and sustainable solutions in food and packaging”, Riga, Latvia. Oral presentation. **Sargautis D.**, Kince T., Gramatina I. Oat protein nutritional value reallocation in wet processing (9 September 2022).
4. 27<sup>th</sup> Annual International Scientific Conference “Research for rural development 2021”, Jelgava, Latvia. Oral presentation. **Sargautis D.**, Kince T., Sargautiene V. Review: Current Trends in Oat Protein Recovery and Utilization in Aqueous Food Systems (12–13 May 2021).
5. 3<sup>rd</sup> International Conference “Nutrition and Health”, Riga, Latvia. Poster presentation. Sargautiene V., Ligere R., **Sargautis D.** Metabolic activity of the gut microbiota. Oral presentation. **Sargautis D.**, Kince T., Sargautiene V. Investigation of structure formation of oat protein during wet extrusion (9–11 December 2020).

Additional publications released within the duration of the research.

1. Revina O., Avsejenko J., Revins V., **Sargautis D.**, Cirule D., Valdovska A. (2020) Effect of dietary supplementation with  $\beta$ -glucan on growth performance and skin-mucus microbiota of sea trout (*Salmo trutta*). *Fisheries & Aquatic Life*. 28:155–165. <https://doi.org/10.2478/aopf-2020-0019>.

The study was partly **financed** by

- the European Social Fund Project No. 8.2.2.0/20/I/001 “Transition to the new doctoral funding model at Latvia University of Life Sciences and Technologies”;
- project “Oat protein in extruded products” funded and implemented by the LBTU (Latvia University of Life Sciences and Technologies) research programme.



NACIONĀLAIS  
ATTĪSTĪBAS  
PLĀNS 2020



**EIROPAS SAVIENĪBA**  
Eiropas Sociālais  
fonds

---

I E G U L D Ī J U M S T A V Ā N Ā K O T N Ē

# MATERIALS AND METHODS

## Time and place of research

The present research was performed between 2019 and 2024 in the laboratories of Latvia University of Life Sciences and Technologies (LBTU), Faculty of Agriculture and Food Technology, Food Institute, as well as at the Institute of Agricultural Resources and Economics (AREI), LBTU DPP Institute of Horticulture, Latvian State Forest Research Institute “Silava” and JP Biotechnology, Ltd.

## Structure of the research

The research comprises three general stages described in Table 1 below.

Table 1 / *I. tabula*

Description of the research stages / *Pētījuma posmu apraksts*

<b>Stage / Posms</b>	<b>Description / Apraksts</b>
Stage I / <i>I posms</i>	Enzymatic protein extraction from oat flakes and oat flour / <i>Enzimātiskā proteīnu ekstrakcija no auzu pārslām un auzu miltiem</i> Influence of 0.1 M NaCl solution on protein yield / <i>0.1 M NaCl šķīduma ietekme uz proteīnu iznākumu</i> The study of oat protein defatting / <i>Auzu proteīnu attaukošanas izpēte</i>
Stage II / <i>II posms</i>	Research of the characteristics and functional properties of oat protein concentrates / <i>Auzu proteīna koncentrātu parametru un funkcionālo īpašību izpēte</i>
Stage III / <i>III posms</i>	Extrusion of oat protein concentrate and evaluation of the extrudate functional properties / <i>Auzu proteīna koncentrāta ekstrūzija un ekstrudāta funkcionālo īpašību novērtēšana</i>

## Description of materials

**Object** of the research: whole grain oat flakes, fine oat flour with reduced fibre content (oat flour), commercial enzymes ( $\alpha$ -amylase (from *Bacillus Licheniformis*), complex enzymes (from *Trichoderma reesei*) with main xylanase and side  $\beta$ -glucanase activities), extrudate of the oat protein concentrate (Tables 2 and 3).



Table 2 / 2. tabula

**Description of oat flakes and oat flour used in the study as an initial raw material / Pētījumā kā sākotnējās izejvielas izmantoto auzu pārslu un auzu miltu raksturojums**

<b>Raw material / Izejviela</b>	<b>Chemical composition, g 100 g<sup>-1</sup> in DM / Ķīmiskais sastāvs, g 100 g<sup>-1</sup> sausnā</b>	<b>Producer / Ražotājs</b>
Whole oat flakes / <i>Pilngraudu auzu pārslas</i>	Crude protein / <i>Kopproteīns</i> 17.6 g, Fats / <i>Koptauki</i> 5.7 g, Fibre / <i>Kopējās šķiedrvielas</i> 2.13 g, Carbohydrates / <i>Ogļhidrāti</i> 54.1 g, $\beta$ -glucans / <i><math>\beta</math>-glikāni</i> 4.4 g, Salt / <i>Sāls</i> 0.01 g.	Dobeles dzirnavnieks, SIA (Latvia / Latvija)
Fine oat flour / <i>Smalkā maluma auzu milti</i>	Crude protein / <i>Kopproteīns</i> 10.4 g Carbohydrates / <i>Ogļhidrāti</i> 78.1, of which sugar / <i>no kuriem cukuri</i> 0.4 g, Fat / <i>Koptauki</i> 6.1 g, of which saturated fatty acids / <i>no kuriem piesātinātās taukskābes</i> 1.1 g, Dietary fibre / <i>šķiedrvielas</i> 2.7 g, of which $\beta$ -glucan / <i>no kurām <math>\beta</math>-glikāni</i> 1.56 g	Helsinki mills (Vaasa, Finland/ <i>Vāsa, Somija</i> )

Table 3 / 3. tabula

**Specification of commercial enzymes used in the study / Pētījumā izmantoto komerciālo enzīmu raksturojums**

<b>Parameters/ Rādītāji</b>	<b>Enzyme trade mark / Enzīmu preču zīme</b>	
	<b>HSAL</b>	<b>Grainzyme FL</b>
Main activities / <i>Galvenās aktivitātes</i>	$\alpha$ -amylase / <i><math>\alpha</math>-amilāze</i> – 40 000 u mL <sup>-1</sup>	Xylanase / <i>ksilanāze</i> – 12 000 u mL <sup>-1</sup> ; B-glucanase / <i><math>\beta</math>-glikanāze</i> – 5 000 u mL <sup>-1</sup> ; Cellulase / <i>celulāze</i> – 1 000 u mL <sup>-1</sup>
Optimal working temperature / <i>Optimāla darba temperatūra</i>	94–98 °C	58–66 °C
Optimal working pH / <i>Optimāls darba pH</i>	5.8–7.0	5.5–6.5
Strain / <i>Celms</i>	<i>Bacillus Licheniformis</i>	<i>Trichoderma reesei</i>
Producer / <i>Ražotājs</i>	Suntaq International, China	Suntaq International, China

## Methods used in the research

In Stage I, the oat protein concentrates were obtained from oat flakes and fine oat flour, enzymatically hydrolysing starch and non-starch polysaccharides by subsequent protein concentration through centrifugation. In addition, the research aimed to explore the effects of changes in ionic conditions on both protein yield and characteristics. Protein obtained from oat flour subsequently passed defatting, independently employing ethanol and SC-CO<sub>2</sub>. The original protein purification methods were developed by the author; other methods and analyses used in the research are summarised in Table 4.

Table 4 / 4. tabula

### Standards and methods used for analysis / Pētījumā izmantotie standarti un metodes

Stage / Posms	Parameters / Parametri	Standards and methods / Standarti un metodes
I, II	Crude protein / <i>Koproteīns</i>	LVS EN ISO 20483:2014
I, II, III	Moisture content / <i>Mitruma saturs</i>	ISO 6496:1999
I, II, III	Fibre / <i>Kopējās šķiedrvielas</i>	ISO 5498:1981
I, II, III	Fats / <i>Koptauki</i>	ISO 6492:1999
I, II	Amino acids / <i>Aminoskābes</i>	LVS EN ISO 13910-2005
II	Molecular weight / <i>Molekulmasa</i>	Sodium dodecyl sulphate-polyacrylamide gel electrophoresis, Agilent Protein 230 kit / <i>Nātrija dodecilsulfāta-poliakrilamīda gēla elektroforēze, Agilent Protein 230 kit</i>
II	Protein solubility / <i>Proteīna šķīdība</i>	Morr et al. (1985), Sewada et al. (2014) with minor modification / <i>Morr et al. (1985), Sewada et al. (2014) ar nelielām izmaiņām</i>
II	Water and oil holding capacity / <i>Ūdens un eļļas noturības spēja</i>	Mirmoghtadaie et al. (2009) with minor modification / <i>Mirmoghtadaie et al. (2009) ar nelielām izmaiņām</i>
II	Foaming capacity / <i>Putošanas spēja</i>	Adapted from Mirmoghtadaie et al. (2009) / <i>adaptēts no Mirmoghtadaie et al. (2009)</i>

Stage/Posms	Parameters / Parametri	Standards and methods / Standarti un metodes
III	Colour analysis / <i>Krāsu parametri</i>	CIELAB colour space according to Kirse-Ozolina, Muizniece-Brasava, & Veipa (2019) and J. Zhang et al. (2020) / <i>CIELAB krāsu telpa pēc Kirse-Ozolina, Muizniece-Brasava, &amp; Veipa (2019) and J. Zhang et al. (2020)</i>
III	Fracturability, hardness and toughness / <i>Stingrība, lūstamība un cietība</i>	Texture analysis method by Stable Microsystems, Ltd. (Godalming, UK) / <i>Stable Microsystems, Ltd. (Godalminga, Apvienotā Karaliste) tekstūru analīzes metode</i>
III	Microstructure analysis / <i>Mikrostruktūras analīze</i>	Scanning electron microscopy / <i>Skenējošā elektronmikroskopija</i>

Stage II examined the characteristics and functional properties associated with the acquired protein concentrates. This stage covered an analysis of the obtained materials, including their molecular mass and amino acid profile. Furthermore, it implies an investigation into the functional properties of the materials, particularly their protein solubility, foaming capacity, and water or oil holding capacity, which are summarised in Table 4.

Stage III of the study encompassed a study of the extrusion process applied to the protein concentrates that were characterised in the preceding stages. This stage focused on revealing the key characteristics and parameters of the extrusion system necessary for the production of wet extrudate. Alongside the analysis of the extrusion system, the research also presents comprehensive data on the physical properties of the obtained extrudate, including its textural attributes and colour. Furthermore, the oat protein extrudate was subjected to analysis under a Scanning Electron Microscope (SEM), revealing the longitudinal and cross-sectional images for analysis. The methods and analyses used in stage III of the research are summarised in Table 4.

### Mathematical data processing

The Friedman rank sum test was applied, analysing the median differences among polar and one-way ANOVA for non-polar amino acid groups with the prior Shapiro-Wilk normality test. The T-test was applied for textural analysis. Data in tables and graphs is expressed as mean  $\pm$  standard deviation for at least three replications, if it is not mentioned separately. ANOVA tests followed by Tuckey's HSD and compact letter display were applied for the remaining analyses unless stated otherwise. Statistical analysis was conducted in R (R Core Team, 2022). Figures and data were processed using R packages (Graves, Piepho, & Dorai-Raj, 2023; Kassambara, 2023; Patil, 2021; Wickham et al.,

2019). RStudio (RStudio Team, 2022) was used for the Integrated Development Environment for R.

## RESULTS AND DISCUSSION

### 1. Oat protein isolation

#### Protein isolation from whole oat flakes by enzymatic hydrolysis

The present study comprises the data related to protein recovery from whole oat flakes through enzymatic extraction. Two approaches were studied: treating oat flakes with  $\alpha$ -amylase for starch hydrolysis (protein sample coded as A1) and applying two kinds of enzymes simultaneously,  $\alpha$ -amylase and complex enzyme which initiate the hydrolysis of starch and non-starch polysaccharides (protein sample coded as AX1), respectively. Subsequently, protein separation was accomplished using centrifugal force. The obtained results provide information on the protein concentration, fat content, crude fibre content, and protein yield of the samples, as detailed in Table 5.

Table 5 / 5. tabula

**Chemical characterisation of initial oat flakes and oat protein concentrates** / *Sākotnējo auzu pārslu un auzu proteīna koncentrātu ķīmiskā sastāva raksturojums*

<b>Sample / Paraugs</b>	<b>Crude protein, in DM / Kopproteīns, sausnā, g 100 g<sup>-1</sup></b>	<b>Fats, in DM / Koptauki, sausnā, g 100 g<sup>-1</sup></b>	<b>Crude fibre / Kopējās šķiedrvielas sausnā, g 100 g<sup>-1</sup></b>	<b>Protein Yield* / Proteīnu iznākums*, %</b>
FL1	17.56±0.03 d	5.7±0.11 c	2.1±0.10 b	-
A1	84.64±1.64 a	3.0±0.14 d	1.4±0.08 c	35.9±0.70 b
AX1	85.86±1.80 a	5.7±0.08 c	1.1±0.05 c	28.1±0.56 c
AF1	30.30±0.62 c	7.6±0.16 b	5.5±0.37 a	35.9±0.73 b
AXF1	39.36±0.76 b	9.0±0.40 a	5.2±0.34 a	47.6±1.02 a

\* % of protein content in initial material. Data expressed as means ± standard deviations within the column not sharing any letter are significantly different by the ANOVA test at a 5% level of significance; FL1 – whole oat flakes; A1 – oat protein concentrate treated with  $\alpha$ -amylase; AX1 – oat protein concentrate treated with  $\alpha$ -amylase and complex enzymes; AF1 – oat fibre, treated with  $\alpha$ -amylase; AXF1 – oat fibre, treated with  $\alpha$ -amylase and complex enzymes / \* % no proteīna saturs sākotnējā materiālā. Dati, kas izteikti kā vidējie ± standartnovirzes kolonnā, un kuriem nav kopīgi burti, būtiski atšķiras pēc ANOVA testa 5% nozīmīguma līmenī. FL1 – pilngraudu auzu pārslas; A1 – auzu proteīna koncentrāts, apstrādāts ar  $\alpha$ -amilāzi; AX1 – auzu proteīna koncentrāts, apstrādāts ar  $\alpha$ -amilāzi un kompleksiem enzīmiem; AF1 – auzu šķiedrvielas, apstrādāta ar  $\alpha$ -amilāzi; AXF1 – auzu šķiedrvielas, apstrādāta ar  $\alpha$ -amilāzi un kompleksiem enzīmiem

The dried samples were subsequently analysed to determine their protein

concentrations, which ranged from 84.6% to 85.9% in dry matter (DM) by weight, for protein samples A1 and AX1, respectively.

The study focused on investigating the effects of ionic concentration changes in the solution on protein aggregation and its subsequent recovery from clarified hydrolysate. The aforementioned hydrolysates, derived from oat flakes, underwent treatment using a sole  $\alpha$ -amylase enzyme individually (sample coded as AR1), as well as in combination with complex enzymes (sample coded as AXR1), followed by an additional process involving ionic shift.

The efficiency of recovery by separation is subjected to various factors, encompassing particle properties and forces participating in particle-particle separation.

It is generally believed that the aggregation of particles, particularly when similar particles aggregate and result in larger aggregate sizes, leads to significant differences in forces, thereby exerting a positive influence on the separation process (van Hee, Hoeben, van der Lans, & van der Wielen, 2006).

The content of Table 6 represents the outcomes pertaining to the concentration of protein and oil in samples that have undergone treatment with NaCl salt. The protein concentration in samples ranged from 84.2% to 86.5%, for AR1 and AXR1, respectively. The introduction of 0.1 M NaCl solution resulted in a protein yield increase of approximately 24.8% and 17.8% in samples where whole oat flakes were subjected to treatment with  $\alpha$ -amylase alone and in combination with complex enzymes, respectively.

Table 6 / 6. tabula

**Chemical characterisation of oat protein concentrates after treatment with 0.1 M NaCl salt/ Auzu proteīna koncentrātu ķīmiskā sastāva raksturojums pēc apstrādes ar 0.1 M NaCl**

Sample / Paraugs	Crude protein, in DM / Kopproteīns, sausnā, g 100 g <sup>-1</sup>	Fats, in DM / Koptauki, sausnā, g 100 g <sup>-1</sup>	Protein Yield* / Proteīnu iznākums*, %
AR1	84.20±1.89 a	5.20±0.06 b	44.80±0.83 a
AXR1	86.46±2.23 a	6.30±0.20 a	33.10±0.51 b

\* % of protein content in initial material. Different letters within a column indicate significant differences for each parameter ( $p < 0.05$ ). AR1 – protein concentrate treated with  $\alpha$ -amylase and NaCl; AXR1 – protein concentrate treated with  $\alpha$ -amylase, complex enzymes and NaCl / \*\*% no proteīna satūra izejvielās. Dažādi burti kolonnā norāda uz būtiskām atšķirībām katram parametram ( $p < 0.05$ ). AR1 – proteīna koncentrāts apstrādāts ar  $\alpha$ -amilāzi un NaCl; AXR1 – proteīna koncentrāts apstrādāts ar  $\alpha$ -amilāzi, kompleksiem enzīmiem un NaCl

**Protein isolation from fine oat flour**

As an alternative approach to protein recovery, one can consider utilising raw materials with reduced fibre content, achieved through the commercial milling

process involving dry fibre separation by sieving. The protein extraction process wherein complex enzymes in combination with  $\alpha$ -amylase were used was conducted (protein sample was coded as OC1). The dried sample contained protein at  $63.05 \pm 1.30\%$ , in the dry matter. The overall protein yield amounted to  $77.0 \pm 3.0\%$ , in comparison to the initial protein content present in the oat flour.

Exclusion of complex enzymes during the hydrolysis process resulted in a more viscous hydrolysate solution. This yielded a lower protein concentration in the dried sample (sample coded as OC1B) which averaged  $59.90 \pm 2.0\%$ , accompanied by a crude oil content of  $14.61\%$ , and an expected increase in fibre content by  $1.8\%$ . Findings that characterise the analysed samples are provided in Table 7.

It might be assumed that the relatively high protein concentration led to the formation of insoluble protein aggregates, which could be attributed to its increased tendency for intermolecular bonding with surrounding proteins in their vicinity (G. Liu et al., 2009). In addition, the protein's surface hydrophobicity can be recognised as a supplementary factor promoting protein recovery, given its inverse correlation with protein solubility in aqueous solutions (Jing, Yang, & Zhang, 2016).

Table 7 / 7. tabula

**Chemical characterisation of oat flour and oat protein concentrates obtained from oat flour,  $g\ 100\ g^{-1}$  in DM / *Auzu miltu un no auzu miltiem iegūto auzu proteīna koncentrātu ķīmiskā sastāva raksturojums,  $g\ 100\ g^{-1}$  sausnā***

<b>Sample / Paraugs</b>	<b>Crude protein / Kopproteīns, (<math>N \times 6.25</math>)</b>	<b>Lipids / Koptauki</b>	<b>Fibre / Kopējās šķiedrvielas</b>
Oat Flour / <i>Auzu milti</i> (OF1)	$10.44 \pm 0.32c$	$6.21 \pm 0.28c$	$0.59 \pm 0.21c$
Protein concentrate / <i>Proteīna koncentrāts</i> (OC1)	$63.05 \pm 1.30a$	$20.55 \pm 0.40a$	$1.34 \pm 0.07b$
Protein concentrate / <i>Proteīna koncentrāts</i> (OC1B)	$59.90 \pm 1.48b$	$14.61 \pm 0.82b$	$1.80 \pm 0.13a$

OC1 – oat protein concentrate treated with  $\alpha$ -amylase and complex enzymes; OC1B – oat concentrate treated with  $\alpha$  amylase. Data expressed as means  $\pm$  standard deviations within the column not sharing any letter are significantly different by the ANOVA test at a 5% level of significance / *OC1 – auzu proteīna koncentrāts, kas apstrādāts ar  $\alpha$ -amilāzi un kompleksajiem enzīmiem; OC1B – auzu proteīna koncentrāts, kas apstrādāts ar  $\alpha$ -amilāzi. Dati, kas izteikti kā vidējie  $\pm$  standartnovirzes kolonnā, kuriem nav kopīgi burti, būtiski atšķiras ar ANOVA testu 5% nozīmīguma līmenī*

It is worth noting the fact that oat protein was extracted from oat flour, which underwent a pre-processing step where a significant portion of non-endosperm crop tissues were removed. This reduction minimises the loss of yield since a significant portion of water-soluble albumins are located in the embryonic axis and scutellum (Peterson, 2011), regions that are typically subjected to separation.

Furthermore, the aleurone layer, which is a major location of enzymes (Hu, Wei, Ren, & Zhao, 2009; Miller & Fulcher, 2011) was also removed to some extent from the oat flour during processing. As a result, the protein fraction subjected to subsequent analysis can be considered as predominantly composed solely of the water-insoluble globulin fraction.

Initially, oat flour comprised  $6.21 \pm 0.28\%$  wt. of lipids in the raw material, although the concentration of oil in the oat protein concentrate increased up to  $20.55 \pm 0.40\%$  wt. and  $14.61 \pm 0.82\%$  wt., depending on the enzymes utilised for hydrolysis. Considering the protein recovery process, which led to a significant accumulation of oil in the protein fraction, the resulting oat protein concentrates contained up to 42.60% of the total lipid content when a combination of  $\alpha$ -amylase and complex enzymes were employed. The elevated concentration of lipids in the samples of the oat protein concentrates can be attributed to the substantial presence of non-polar oat lipids, which typically range from 65% to 90% of the total lipid content (Doehlert, Moreau, Welti, Roth, & McMullen, 2010). In contrast to oat protein concentrates derived from whole oat flakes, the protein concentrate obtained from oat flour displayed a comparatively higher lipid content, assuming the subsequent removal of lipids. Two distinct approaches were employed for lipid extraction from dried samples: precipitation utilising ethanol (obtained sample coded as ODE1) and extraction utilising supercritical fluid CO<sub>2</sub> (obtained sample coded as ODC1).

The experiment was carried out by treating oat protein concentrate OC1 with ethanol. The oil content in the sample was reduced from 20.60% wt. to about 4.90% wt. Two-step extraction was performed. First, the main step, wherein protein concentrate was subjected to 4 hours of treatment at 60 °C (period of time was determined experimentally) to remove the major part of the lipids. The second washing step wherein partially defatted protein concentrate was repeatedly washed with ethanol, also resulted in a visible change in the colour of the decant, indicating the presence of remaining lipids after the initial ethanol treatment. Removing spoiling lipids from the protein concentrate increased the protein concentration in the sample, which reached up to  $78.18 \pm 1.93\%$  by weight. An even greater effect on lipid extraction was achieved when lipids were extracted by means of supercritical fluid CO<sub>2</sub>. The concentration of lipids in the dried sample was reduced up to 3.48%. It could be speculated that the remaining oil in the protein concentrate contained a higher ratio of non-polar lipids than the initial material. Table 8 summarises the results of lipid extraction by ethanol and CO<sub>2</sub>.

Table 8 / 8. tabula

**Chemical characterisation of oat protein samples after defatting by ethanol and supercritical fluid CO<sub>2</sub>, g 100 g<sup>-1</sup> in DM / Auzu proteīna paraugu ķīmiskā sastāva raksturojums pēc attaukošanas ar etanolu un superkritisko šķidrums CO<sub>2</sub>, sausnā %**

Sample / Paraugs	Crude protein / Kopproteīns, (N × 6.25)	Crude Oil / Koptauki
Defatted by ethanol / Attaukots ar spirtu (ODE1)	78.18±1.93a	4.88±0.01a
Defatted by SC-CO <sub>2</sub> / Attaukots ar SC-CO <sub>2</sub> (ODC1)	77.39±1.58a	3.48±0.11b

Data expressed as means ± standard deviations within the column not sharing any letter are significantly different by t-test at a 5% level of significance / Dati, kas izteikti kā vidējie ± standartnovirzes kolonnā, kuriem nav kopīgi burti būtiski atšķiras t-testa 5% nozīmīguma līmenī

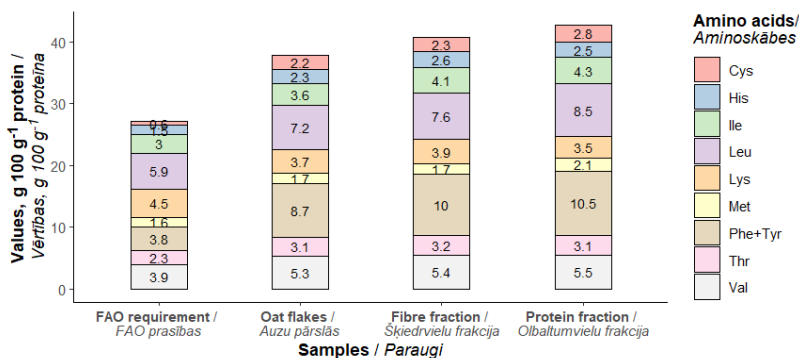
## 2. Oat protein characterisation and its functional properties

### Oat protein derived from whole oat flakes

#### Amino acids

It is believed that the observation of changes in the amino acid composition of treated products can provide insights into the degree of modification they have undergone (Z. Wang, Zhang, Zhang, Ju, & He, 2018). In the present study, the amino acid profiles among the samples demonstrated a relatively similar pattern. Comparing AR1 to A1, a minor decrease of approximately 10% in cysteine and around 8% in methionine was observed. Conversely, slight increases of approximately 7% in histidine and approximately 8% in isoleucine were detected in AR1 compared to A1. The manipulation of ionic strength did not significantly affect the amino acid content in samples treated with complex enzymes. The amino acid levels in these samples were relatively consistent, with variations within a range of 3% for certain amino acids such as histidine and isoleucine. Other changes in amino acid content between AX1 and AXR1 were to an even lower extent. Figure 1 illustrates the graph representing the averaged content of essential amino acids in the oat fractions. The averaged samples exhibited significantly higher levels of essential amino acids, with the exception of lysine, compared to the recommended values for an ideal protein as outlined in the FAO guidelines (2007). Moreover, the composition of essential amino acids exceeded the recommended values in all the averaged samples. The averaged samples include A1, AR1, AX1, AR1 as protein fractions, and AF1 and AXF1 as fibre fractions. The summarised content of essential amino acids in the averaged samples overcame the recommended 36% ratio for essential/total amino acid content (Jing et al., 2016). Oat protein concentrate demonstrated the highest content of summarised essential amino acids.





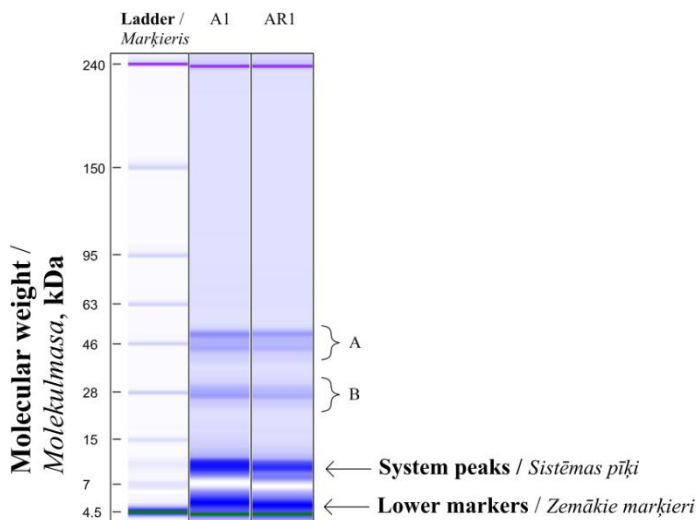
**Fig. 1. Amount of essential amino acids in initial oat flakes, averaged fibre and protein fractions, and FAO (2007) recommended values, g 100 g<sup>-1</sup> protein / 1.att. Neaizstājamo aminoskābju saturs auzu pārslās, šķiedrvielu un proteīnu frakcijas un FAO (2007) ieteiktās vērtības, g 100 g<sup>-1</sup> proteīna**

Column indicating the FAO requirement with Ref. permission (FAO et al., 2007) / Kolonna, kas norāda FAO prasības, pārpublicēta ar atļauju (FAO et al., 2007)

### *Molecular weight*

The molecular weight of the protein was determined in two samples, indicated as A1 and AR1. The SDS-page analysis presented in Figure 2 provides the data in reduced samples.

The protein size in both samples displayed variations that fell into two main groups, approximately 28 kDa and 46 kDa. Sample A1 revealed major bands with 27.8, 45.2 and 51.0 kDa, which accounted for 43.3, 28.7 and 24.40% of total protein, respectively. The size of protein in sample AR1 was determined at the level of 27.7, 45.3 and 51.0 kDa, which represented 42.5, 28.2 and 24.2% of total protein. The variations among the samples were relatively insignificant; both demonstrated relatively close similarity in terms of size and accounted protein. This confirms that the solution's shifted ionic strength did not impact the quality of the agglomerated protein. The aggregated protein displayed uniform protein fractions, while proteins with different sizes, potentially belonging to other protein fractions such as albumins, were not detected.



**Fig. 2. SDS-PAGE image of protein profiles of A1 and AR1 samples, kDa / 2. att. A1 un AR1 proteīna profīlu SDS-PAGE attēls, kDa**

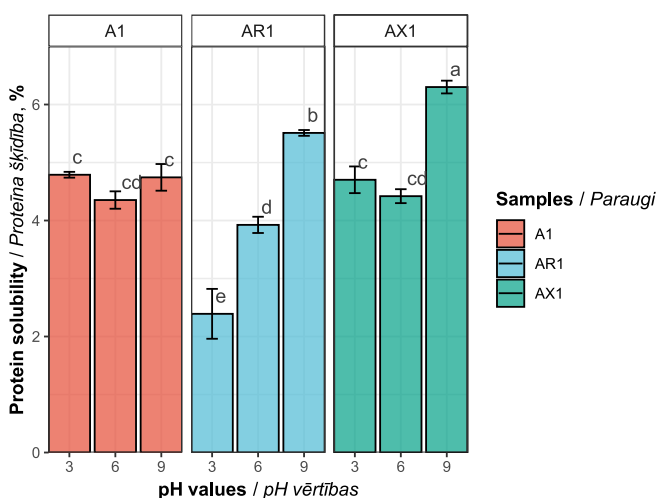
Lower markers and system peaks indicated by arrows did not derive from the analysed samples. A1 – oat protein concentrate treated with  $\alpha$ -amylase; AR1 – protein concentrate treated with  $\alpha$ -amylase changing ionic strength / *Apakšējie marķieri un sistēmas pīķi, kas norādīti ar bultiņām, nav iegūti no analizētajiem paraugiem. A1 – auzu proteīna koncentrāts, apstrādāts ar  $\alpha$ -amilāzi; AR1 – proteīna koncentrāts, apstrādāts ar  $\alpha$ -amilāzi un iegūt mainot jonu stiprumu*

In a study by Klose et al. (2009), a prominent band representing oat albumin was reported with a specific molecular weight range of around 35–44 kDa. Similarly, other studies have reported a major peak of albumins at 15 kDa (Mirmoghtadaie et al., 2009). However, in the present study, none of these albumin bands were observed. It is possible that the salt-induced protein aggregation led to the aggregation of proteins from the same source. The patterns of determined bands are very close to the earlier published oat globulin size (Klose et al., 2009).

### *Solubility*

The results of the solubility test conducted on samples A1, AR1, and AX1 are illustrated in Figure 3. The solubility of sample A1 was relatively constant across the entire pH range, with average values of 4.8%, 4.3%, and 4.7% at pH levels 3, 6, and 9, respectively. Similarly, the solubility of sample AR1 fell within a similar range, averaging 2.4%, 3.9%, and 5.5% at the investigated pH levels. The protein solubility of sample AX1 was similarly low at the investigated pH levels. It averaged 4.7%, 4.4% and 6.3% at pH 3, 6 and 9, respectively. It is

important to highlight that altering the pH towards either acidic or alkaline conditions only had a minimal impact on the protein solubility. This is noteworthy, considering the fact that proteins are typically prone to hydrolysis under harsh pH conditions (Averina, Konnerth, D'Amico, & van Herwijnen, 2021), leading to a reduction in molecular size and subsequently increased solubility. Despite this, the changes observed in protein solubility were not substantial. This observation contrasts to some extent with published studies. Earlier reported solubility of the oat protein, obtained through alkaline solubilisation followed by protein precipitation, ranged from 20% (Walters, Udenigwe, & Tsoptmo, 2018) to 70% (Zhong et al., 2019). Air-separated native oat proteins were reported as being soluble by more than 20% at pH 7 (Brückner-Gühmann, Heiden-Hecht, Sözer, & Drusch, 2018).



**Fig. 3. Protein solubility among the oat protein samples A1, AR1, and AX1 at pH 3, 6, and 9, % / 3.att. Auzu proteīna paraugu proteīnu šķīdība A1, AR1 un AX1 pH 3, 6 un 9, %**

Different letters indicate significant differences within the samples ( $p < 0.05$ ). A1 – oat protein concentrate treated with  $\alpha$ -amylase; AR1 – protein concentrate treated with  $\alpha$ -amylase changing ionic strength; AX1 – oat protein concentrate treated with  $\alpha$ -amylase and complex enzymes / *Dažādi burti norāda uz būtiskām atšķirībām ( $p < 0.05$ ). A1 – auzu proteīna koncentrāts, apstrādāts ar  $\alpha$ -amilāzi; AR1 – proteīna koncentrāts, apstrādāts ar  $\alpha$ -amilāzi, mainot jonu stiprumu; AX1 – auzu proteīna koncentrāts, apstrādāts ar  $\alpha$ -amilāzi un kompleksiem enzīmiem*

The solubility of oat proteins which passed enzymatic extraction was reported in the range of 10% to 50% at pH 9 and pH 5, respectively (Prosekov et al., 2018). Protein solubility can be influenced by various factors, ranging from salt

concentration (Loponen, Laine, Sontag-Strohm, & Salovaara, 2007) to the specific oat variety used in the experiments (Yue et al., 2021). It has been reported that purified oat globulins exhibit limited solubility (Loponen et al., 2007). The major bands observed in the current research, falling within the range of 28 to 46 kDa, are likely oat globulins, which could explain the observed limited solubility. The behaviour of oat globulins is significantly affected by salt concentration, particularly in conjunction with extreme pH values.

Recent findings indicate that the introduction of NaCl salts can significantly increase solubility, up to 90%, when the NaCl concentration reaches 1 mol L<sup>-1</sup>. Surprisingly, a low ionic strength solution (around 0.1 M) was found to reduce oat protein solubility due to a substantial increase in protein size (R. Li & Xiong, 2021). It is worth mentioning that the methodologies for protein solubilisation differ, and some limitations have been reported (K. Liu & Hsieh, 2008). The proposed standardised procedure for protein determination in food includes 0.1 M NaCl solution (Morr et al., 1985; Sawada et al., 2014), which may potentially reduce protein solubility values, including those observed in the current study.

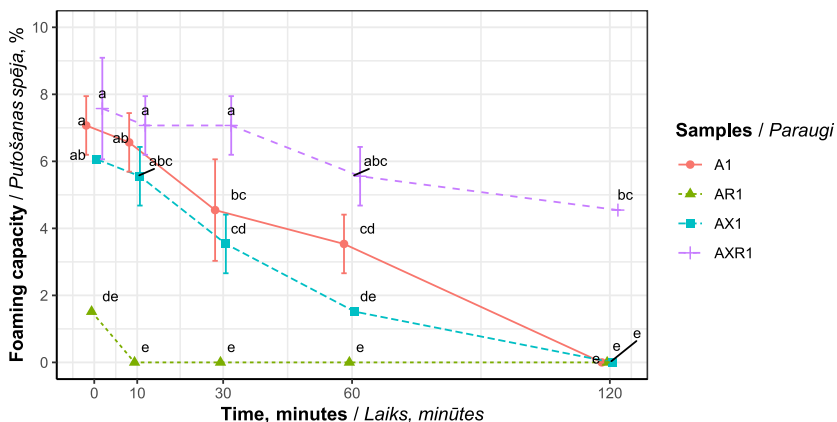
### *Foamability*

Foaming properties involve two main aspects: foam capacity and foam stability. Foam capacity refers to the overall volume of foam produced under specific conditions, while foam stability is influenced by the rate at which the liquid in the foam precipitates over time (B. Zhang, Kang, Cheng, Cui, & Abd El-Aty, 2022).

The foaming capacity of protein concentrate samples was evaluated and expressed as a change in foam volume and stability within a 2-hour period. The results are presented in Figure 4.

The protein concentration in the mixture was kept low (1 g of protein per 33 mL of water) to minimise any potential viscosity effects on colloidal stability (Nivala, Mäkinen, Kruus, Nordlund, & Ercili-Cura, 2017). Samples AXR1 and A1 showed the highest foaming capacity, averaging 7.6% and 7.1% at the initial point, respectively. However, foam stability was poor across all the samples, with a sharp decline observed over time. AR1 exhibited the lowest foaming capacity and stability, with minimal foam observed at the start of the measurement, averaging 1.50%, and subsequently disappearing completely in 10 minutes. Interestingly, the variation in ionic strength resulted in diverse foaming characteristics, where AXR1 showed the highest foaming capacity (7.6% at 0 minutes, 4.5% at 120 minutes), while AR1 (1.5% at 0 minutes, 0.0% at 10 minutes) displayed the lowest foaming performance. The foaming capacity observed in our study was notably lower in comparison to the results reported by Kaukonen et al. (2011). In their study, the foaming capacity for oat protein (protein content in the water extract used for the test was 0.33%, and prior extraction of lipids was performed using SC-CO<sub>2</sub>) reached as high as 137% by volume. However, the water-extracted protein primarily exhibited molecular

weights corresponding to the bands of 10–15, 20–30, and 35–45 kDa. These molecular weights were relatively smaller than the molecular weight of oat protein.



**Fig. 4. Foaming capacity of oat protein concentrates, % /**

*4. att. Auzu proteīna koncentrātu putošanas spēja, %*

Different letters indicate significant differences in each measurement ( $p < 0.05$ ). A1 – oat protein concentrate treated with  $\alpha$ -amylase; AR1 – protein concentrate treated with  $\alpha$ -amylase changing ionic strength; AX1 – oat protein concentrate treated with  $\alpha$ -amylase and complex enzymes; AXR1 – protein concentrate treated with  $\alpha$ -amylase, complex enzymes and NaCl / *Dažādi burti norāda uz būtiskām atšķirībām katrā mērījumā ( $p < 0.05$ ). A1 – auzu proteīna koncentrāts, apstrādāts ar  $\alpha$ -amilāzi; AR1 – proteīna koncentrāts, apstrādāts ar  $\alpha$ -amilāzi, mainot jonu stiprumu; AX1 – auzu proteīna koncentrāts, apstrādāts ar  $\alpha$ -amilāzi un kompleksiem enzīmiem; AXR1 – proteīna koncentrāts, apstrādāts ar  $\alpha$ -amilāzi, kompleksiem enzīmiem un NaCl*

The extraction method used (water extraction) indicates that the reported protein is likely related to the soluble fraction, which may consist of water-soluble albumins. The findings indicate that the foaming capacity of soluble oat proteins is greater than proteins with limited solubility. This aligns with previous reports suggesting that albumins may play a significant role in contributing to foaming (Runyon, Nilsson, Alfrén, & Bergenståhl, 2013).

#### *Water/oil holding capacity*

The findings regarding the oil and water holding capacities of oat protein concentrates are presented in Figure 5. The ratio of oil holding capacities of the samples averaged approximately 2.19 to 1.0. Minimal variation was observed among the samples, with AX1 displaying the highest value and AR1 the lowest, with averaged ratios of 2.21 and 2.16, respectively.

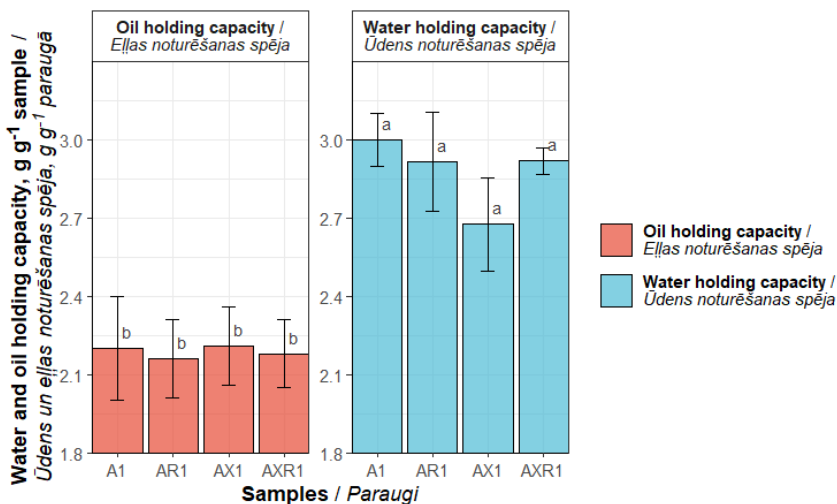


Fig. 5. Water and oil holding capacity ratios, g g<sup>-1</sup> / 5. att. Ūdens un eļļas noturēšanas koeficienti, g g<sup>-1</sup>

Different letters indicate significant differences within the samples ( $p < 0.05$ ). A1 – oat protein concentrate treated with  $\alpha$ -amylase; AR1 – protein concentrate treated with  $\alpha$ -amylase changing ionic strength; AX1 – oat protein concentrate treated with  $\alpha$ -amylase and complex enzymes; AXR1 – protein concentrate treated with  $\alpha$  amylase, complex enzymes and NaCl / *Dažādi burti norāda uz būtiskām atšķirībām katrā mērījumā ( $p < 0.05$ ). A1 – auzu proteīna koncentrāts, apstrādāts ar  $\alpha$ -amilāzi; AR1 – proteīna koncentrāts, apstrādāts ar  $\alpha$ -amilāzi, mainot jonu stiprumu; AX1 – auzu proteīna koncentrāts, apstrādāts ar  $\alpha$ -amilāzi un kompleksiem enzīmiem; AXR1 – proteīna koncentrāts, apstrādāts ar  $\alpha$ -amilāzi, kompleksiem enzīmiem un NaCl*

The extraction methods showed little impact on the oil holding capacity. Generally, all samples exhibited similar moisture retention when using water. The highest water holding capacity was found in sample A1, with a water-to-protein average ratio of 3.0 to 1.0. On the other hand, the lowest results were observed in samples AR1 and AX1, with ratios averaging 2.84 and 2.83 to 1.0, respectively. There were no significant differences among the protein samples treated with salts or complex enzymes, with the observed variation being around 5%, which was too low to determine the influence of the presence of salt on the water holding capacity. The oil and water holding capacities observed in this study were higher compared to the results reported by Mirmoghtadaie et al. (2009) In their study, the water holding capacity was determined to be at a ratio of 1.27 g g<sup>-1</sup>, while the oil holding capacity was found to be at a ratio of 1.73 g g<sup>-1</sup> for oat protein obtained through isoelectric precipitation after alkaline extraction.

In a similar study, the oat concentrate obtained through alkaline extraction exhibited a water holding capacity ranging from 2.00 to 2.70 mL g<sup>-1</sup> and an oil

holding capacity ranging from 2.25 to 2.80 mL g<sup>-1</sup> (Ma, 1983). Furthermore, the same study also identified that the observed differences in water and oil holding capacities were influenced by the specific oat varieties used in the investigation.

### Oat protein derived from oat flour

#### Amino acids

Table 9 provides the amino acid composition of the analysed protein in the initial raw material, the extracted protein concentrate, and the defatted samples treated with ethanol and supercritical fluid.

Table 9 / 9. tabula

**Amino acid composition of analysed samples, g 100 g<sup>-1</sup> of total protein /**  
*Analizēto paraugu aminoskābju sastāvs, g 100 g<sup>-1</sup> kopējā proteīna*

Amino Acid / Aminoskābe	Oat flour protein / <i>Auzu</i> miltu proteīni	Experimental samples / <i>Eksperimentālie paraugi</i>		
		OC1	ODE1	ODC1
Ala	3.80±0.17a	3.70±0.05a	4.01±0.17a	3.85±0.06a
Arg	6.62±0.29b	7.50±0.25a	7.66±0.32a	7.66±0.08a
Asp	7.59±0.24a	7.89±0.16a	8.06±0.18a	7.88±0.30a
Cys	1.95±0.05b	2.27±0.07a	2.35±0.05a	2.31±0.07a
Phe	5.42±0.27a	5.76±0.23a	5.86±0.17a	5.74±0.16a
Gly	4.45±0.10a	4.49±0.19a	4.60±0.12a	4.47±0.18a
Glu	20.28±0.54b	21.35±1.01ab	22.17±0.54a	21.64±0.38ab
His	2.39±0.05bc	2.30±0.08c	2.61±0.05a	2.49±0.06ab
Ile	3.90±0.06b	4.29±0.19ab	4.49±0.15a	4.13±0.19ab
Leu	8.57±0.11a	7.81±0.10b	8.24±0.29ab	7.95±0.18b
Lys	3.69±0.12a	3.34±0.11b	3.42±0.12ab	3.30±0.09b
Met	1.52±0.08b	1.71±0.02a	1.78±0.04a	1.75±0.08a
Pro	5.31±0.23a	5.59±0.18a	5.73±0.17a	5.45±0.06a
Ser	4.34±0.18a	4.37±0.10a	4.52±0.15a	4.46±0.16a
Tyr	3.25±0.17b	4.47±0.14a	4.75±0.19a	4.61±0.06a
Thr	3.47±0.11a	3.26±0.16a	3.31±0.1a	3.30±0.15a
Val	4.88±0.09c	5.26±0.21bc	5.76±0.14a	5.53±0.14ab

Data expressed as means ± standard deviations within the row not sharing any letter are significantly different by the ANOVA test at a 5% level of significance. OC1 – protein concentrate before defatting; ODC1 – protein concentrate defatted by SC-CO<sub>2</sub>; ODE1 – protein concentrate defatted by ethanol / *Dati, kas izteikti kā vidējie ± standartnovirzes rindā, kuriem nav kopīgi burti, būtiski atšķiras ar ANOVA testu 5% nozīmīguma līmenī. OC1 – proteīnu koncentrāts pirms attaukošanas; ODC1 – proteīnu koncentrāts, kas attaukots ar SC-CO<sub>2</sub>; ODE1 – proteīnu koncentrāts, kas attaukots ar etanolu*

The enzymatic hydrolysis of starch resulted in a significant elevation of

certain amino acids in protein sample OC1, namely tyrosine, cysteine, arginine, methionine, and isoleucine, each exceeding a 10% increment. Additionally, a slight increase, less than 10%, was observed for amino acids valine, proline, glutamic acid and aspartic acid. Conversely, a decrease in concentration was determined for lysine, leucine and threonine, accounting for 9%, 9% and 6%, respectively. The decrease in concentration of amino acids such as lysine and alanine might indicate their association with albumins, which could have passed into the liquid phase during hydrolysis and separation, given the fact that the concentration of these amino acids in albumins is reported to be higher compared to globulins. The significant elevation in tyrosine concentration may suggest the potential presence of glutelin, as tyrosine is known to be relatively abundant in the oat glutelin fraction (Peterson, 2011).

The use of supercritical CO<sub>2</sub> fluid for lipid removal resulted in a minor decline in the concentration of isoleucine and proline, while the levels of other amino acids showed an increase. Ethanol extraction led to a substantial increase in the concentration of histidine, valine and alanine, which were determined to be higher by 14%, 9%, and 8%, respectively.

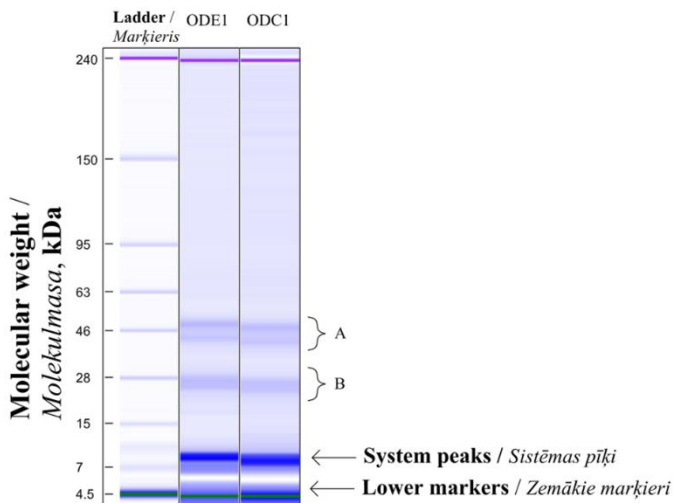
### *Molecular weight*

The molecular weight of oat proteins was investigated to assess whether the enzymatic extraction followed by defatting leads to significant differences in oat protein analysed by SDS-PAGE in reduced samples and is provided in Figure 6.

In sample ODC1, the bands with molecular weights of 25.4, 26.8, 42.5, and 48.3 kDa accounted for 16.8, 25.2, 20.4, and 27.7% of the total protein content, respectively. Similarly, in sample ODE1, the bands with molecular weights of 26.3, 27.6, 43.8, and 49.8 kDa represented 23.3, 28.7, 20.8, and 26.0% of the total protein content, respectively. The size dispersion among the samples was evident, with two prominent areas observed at 46 kDa and 28 kDa, labelled as A and B areas in Figure 6, respectively. The patterns of both samples displayed similarities, with bands falling within comparable ranges and no significant differences observed.

These findings provide evidence that the size of oat proteins was not affected by the method of lipid extraction. However, some reports have suggested that the electrophoretic profile of oat proteins could be influenced by the defatting treatment itself (Yue et al., 2021). In addition, studies have reported that endosperm proteins associated with oil bodies are most prominently observed at the 28 kDa band (Heneen et al., 2008).





**Fig. 6. SDS-PAGE image of protein profiles of ODC1 and ODE1 samples /**

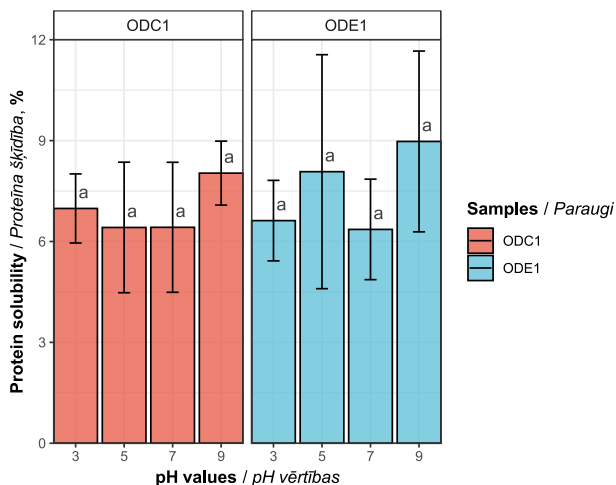
*6.att. ODC1 un ODE1 paraugu proteīnu profilu SDS-PAGE attēls*

Lower markers and system peaks indicated by arrows did not derive from the analysed samples; ODC1 – protein concentrate defatted by SC-CO<sub>2</sub>; ODE1 – protein concentrate defatted by ethanol / *Zemākie marķieri un sistēmas pīķi, kas norādīti ar bultiņām, nav iegūti no analizētajiem paraugiem; ODC1 – proteīnu koncentrāts, kas attaukots ar SC-CO<sub>2</sub>; ODE1 – proteīnu koncentrāts, kas attaukots ar etanolu*

*Solubility*

The solubility of oat protein concentrates samples, namely ODC1 and ODE1, was investigated at various pH levels, and the findings are presented in Figure 7.

The results showed that the highest solubility was achieved at pH 9, with the ODC1 sample reaching approximately 8.00%. As the pH was lowered to 7 and 5, the solubility decreased to an average value of 6.40% for both measurements. Further lowering the pH to 3 resulted in a slight increase in solubility, reaching around 7.00%. Similar trends were observed for the ODE1 samples, with solubility ranging from 6.40% to 9.00% across the pH range from 3 to 9. The differences in solubility among the samples at different pH levels were not significant. In general, the oat protein demonstrated low solubility across the entire pH range tested, and the impact of the lipid extraction method on protein solubility was found to be insignificant. The chosen pH range was predetermined with consideration of its potential use in food-related applications.



**Fig 7. Oat protein solubility in samples ODC1 and ODE1, % / 7.att. Auzu proteīna šķīdība paraugos ODC1 un ODE1, %**

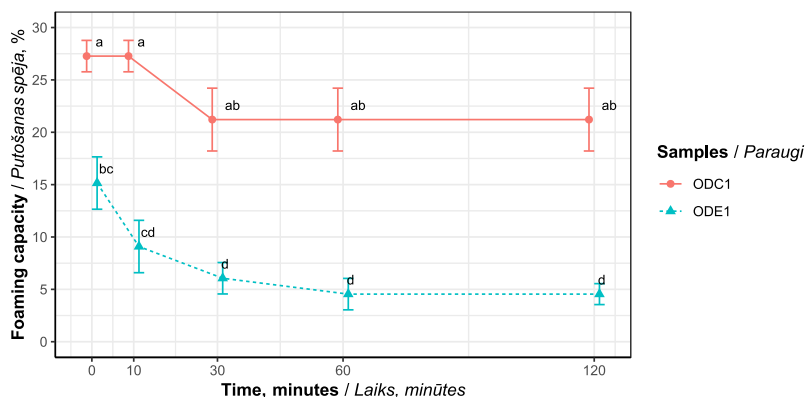
Means sharing a common letter do not differ significantly at a 5% level of significance. ODC1 – protein concentrate defatted by SC-CO<sub>2</sub>; ODE1 – protein concentrate defatted by ethanol / Vienādi burti parāda nebūtiskas atšķirības 5% nozīmīguma līmenī. ODC1 – proteīnu koncentrāts, kas attaukots ar SC-CO<sub>2</sub>; ODE1 – proteīnu koncentrāts, kas attaukots ar etanolu

The solubility of oat protein obtained from flour and oat flakes, discussed above, exhibited similar characteristics, with both samples showing relatively low solubility. The pH of the medium had a minimal impact on protein solubility, and extreme pH values used in the study did not significantly alter the solubility. For instance, Li & Xiong (2021) reported oat protein solubility reaching up to about 80% at pH 8. However, it is important to note that the reported results were obtained from a specific fraction of oat protein, isolated using NaOH treatment at pH 10, followed by centrifugation, pH readjustment, and drying. Such severe pH treatments might have induced structural changes in the protein, making it more soluble at the same pH levels it was isolated in.

### Foamability

The foaming properties of the samples are depicted in Figure 8. In general, the oat protein concentrate defatted using supercritical fluid CO<sub>2</sub> exhibited higher foamability compared to the sample treated with ethanol. The foaming capacity for sample ODC1 was initially at 27.3%, remaining stable for 10 minutes, and then gradually decreasing to an average of 21.2% throughout the measurement period. On the other hand, sample ODE1 displayed a lower foaming capacity,

starting at 15.2%, sharply declining to 9.1% in 10 minutes, and eventually reaching a final value of 4.5%.



**Fig. 8. Foaming capacity in samples ODC1 and ODE1, % vol /**

*8.att. ODC1 un ODE1 paraugu putošanas spēja ODC1 un ODE1, tilp. %*  
Means with no letter in common are significantly different ( $p < 0.05$ ).  
ODC1 – protein concentrate defatted by SC-CO<sub>2</sub>; ODE1 – protein concentrate defatted by ethanol / *ODC1 – proteīnu koncentrāts, kas attaukots ar SC-CO<sub>2</sub>; ODE1 – proteīnu koncentrāts, kas attaukots ar etanolu*

The foaming capacity of the oat protein concentrates in this study was found to be higher than that observed for oat protein extracted from oat flakes; however, it was lower compared to the findings reported in the literature. One potential reason for this limited foaming capacity could be the presence of remaining lipids, which may have influenced the observed foaming behaviour. For instance, studies have reported higher foamability in defatted oats treated with hexane, followed by alkaline treatment and isoelectric precipitation. The foaming capacity of the obtained protein in all samples exceeded 100% and outperformed the foaming capacity of non-defatted oat protein concentrate (Yue et al., 2021).

The presence of remaining lipids in the oat protein concentrate might act as a constraining element for its foaming capacity, potentially leading to weaker interactions between proteins adsorbed to lipids or the formation of bridges between protein surfaces (Yang, Berton-Carabin, Nikiforidis, van der Linden, & Sagis, 2022). Furthermore, the relatively low solubility of oat protein could be another contributing factor to the limited foaming capacity, as previous studies have highlighted the critical role of protein solubility in determining foaming capacity (Lan, Ohm, Chen, & Rao, 2020; B. Zhang et al., 2022). The high insolubility of the protein concentrate observed in the current study further supports this statement.

### 3. Extrusion of oat protein concentrate

#### *Extrusion*

To conduct the extrusion process, a sample of oat protein concentrate defatted using ethanol (ODE1) was employed, alongside a commercial soy protein concentrate as a reference material. Among the various tested samples, ODE1 exhibited the most promising potential for extrusion, primarily due to its fibre content meeting industry standards and the practicality and cost-effectiveness of the ethanol defatting method, as previously discussed.

The extrudate, as observed empirically, can be described as a firm, well-formed solid with a dark pale brown colour and rare visible cracks. During the extrusion process, vapour was noticeable, likely due to the absence of cooling at the die, causing the extruded material to be released in a free form at the temperature resulting from decompression. The extrudate did not exhibit a tendency to expand, maintaining dimensions close to those of the slit, and breaking into non-regular length pieces. Cooled to room temperature, the extrudate became difficult to slice. Figure 9 illustrates the cross-sectional and longitudinal views of the oat protein extrudate samples.



**Fig. 9. Samples of oat protein extrudate, cross and longitudinal section /**  
*9. att. Auzu proteīna ekstrudāta paraugi, šķērs griezum un garengriezum*

It has been mentioned that achieving a protein content within a range of 50% to 70% is essential to facilitate the formation of fibrous structures during extrusion (Immonen, Chandrakusuma, Sibakov, Poikelispää, & Sontag-Strohm, 2021). However, several other key factors may exert an influence on the formation of fibrous structures in oat proteinaceous materials, including pressure, cooking time, temperature, and the inclusion rate of water or other crop compounds such as starch (Osen, Toelstede, Wild, Eisner, & Schweiggert-Weisz, 2014; Sargautis, 2020).

The process of extrudate formation was observed to initiate within the A-B sections indicated by the arrows in Figure 10. Protein melting was observed during the last 2–3 pitches of the screw, with the previous pitches functioning solely as transportation and precooking systems. The material inside the barrel before the A-B area appeared uniform, bright, and without noticeable signs of melting formation.



Fig. 10. **Extrudate formation sections /**

*10. att. Ekstrudāta veidošanas sekcijas*

Arrows A and B point to the region where the initiation of extrudate formation was observed / *Bultiņas A un B norāda uz reģionu, kurā tika novērota ekstrudāta veidošanās sākšanās*

### *Texture and colour of extrudates*

For validation purposes, a soy protein concentrate was selected as a reference material for extrusion, aiming to compare and assess the chosen extrusion procedures. This selection was based on the similarity in material composition and structure between soy protein and oat protein. Furthermore, soy protein concentrates have commonly been favoured as suitable choices in extrusion systems that utilise a single source of protein (Thadavathi, Wassén, & Kádár, 2019).

The texture profiles of the extrudates are illustrated in Figure 11. Notably, the hardness of oat protein extrudate, with a mean value of 176.9 N, exceeded that of the soy protein concentrate, which exhibited an average hardness of 143.4 N. While the hardness measurements for oat protein were not uniform within the oat sample, the spread of measurements for the referenced soy protein extrudate displayed a similar level of variability, leading to the determination that the disparity between the two samples was statistically insignificant. The observed differences in hardness measurements could potentially be attributed to variations in the composition of the samples, thereby exerting an impact on the overall texture of the extrudates (Lobato, Anibal, Lazaretti, & Grossmann, 2011). It is essential to acknowledge that the hardness of extrudates is influenced by their protein content, with higher protein levels generally leading to reduced hardness (Sun, Sun, Jia, Sun, & Cao, 2011). Similarly, the oil content also plays a role in determining the hardness of the extrudates; the elevated oil content contributed to lower hardness in certain measurements (H. Wang et al., 2023). The findings suggest that the oat extrudates achieved a peak hardness of 205.0 N in some measurements. Nevertheless, it is essential to consider customer preferences, particularly for certain product categories such as snacks, where the acceptable hardness level is believed not to surpass 200 N.

Fracturability, which reflects the brittleness or crunchiness of products, is commonly assessed through peak force measurements (Linly et al., 2021). In this study, the fracturability of oat protein extrudate exhibited a wide range, spanning from 87.0 to 205.0 N, with a calculated mean of 148.0 N. In contrast, the fracturability of soy protein extrudate showed a narrower range, ranging from

88.7 to 122.4 N, and a mean value of 103.7 N. The noticeable variance in fracturability observed in the oat protein extrudate appears to be linked to its lower homogeneity. Despite its seemingly relatively uniform plain surface, fractures were evident at cross sections, contributing to the observed variability. In comparison, the surface of soy protein extrudate displayed visible roughness in contrast to oat protein extrudate. Despite the noticeable difference in the fracturability mean values between the two analysed samples, the notably high variability in measurements prevented the conclusive establishment of statistically significant differences.

Toughness, representing the total positive area under the curve and quantifying the total work exerted during the test, exhibited higher values in oat protein extrudates, with an average of  $348.6 \text{ N} \times \text{s}$ . In comparison, soy extrudate displayed an average toughness value of  $292.0 \text{ N} \times \text{s}$ . However, despite the observed difference in average toughness values between the samples, statistical analysis indicated that the means of toughness were not significantly different.

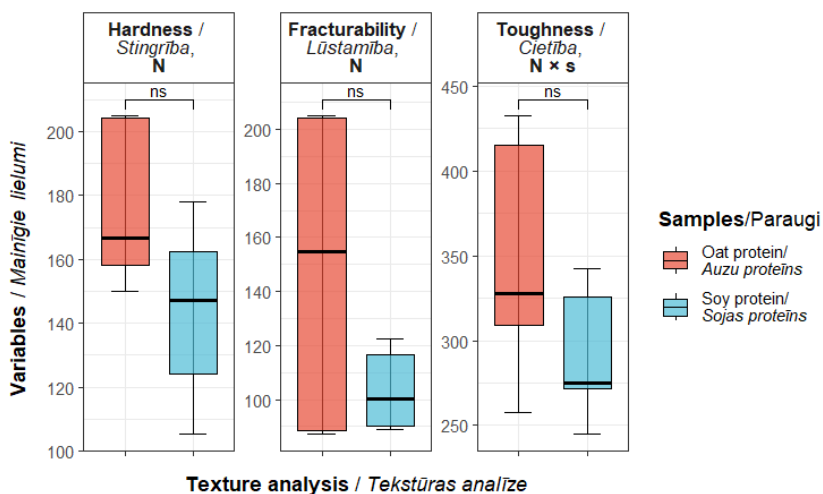


Fig. 11. Texture profile of oat and soy protein extrudates, displaying toughness, fracturability and hardness in samples /

11. att. Auzu un sojas proteīna ekstrudātu tekstūras profils, kas parāda stingrību, lūstamību un cietību paraugos

Means represented with “ns” are not significantly different by t-test at a 5% level of significance / Vidējie, kas attēloti ar “ns”, būtiski neatšķiras ar t-testu 5% nozīmīguma līmenī

The colour attributes of oat and soy extrudates were documented in Table 10. Evaluated as tri-stimulus attributes, the colour of the oat extrudate appeared darker, with an average value of 21.78, compared to soy extrudates

whose mean was 48.68, despite the initial colour similarity of the raw materials. A darker colour is generally associated with higher protein content, as the L value exhibits a negative correlation with protein content (Agrahar-Murugkar, Gulati, Kotwaliwale, & Gupta, 2015). Recent research has indicated the influence of oil content on lightness during the extrusion of soy protein isolate, whereby an increase in oil concentration from 0 to 8% resulted in a shift of L values from 41.70 to 53.8 (H. Wang et al., 2023).

Table 10 / 10. tabula

**CIE lab colour parameters of oat and soy raw materials and extrudates /**  
*Auzu un sojas izejvielu un ekstrudātu CIE krāsu parametri*

<b>Sample / Paraugs</b>	<b>a*</b>	<b>b*</b>	<b>L*</b>
Oat raw material / <i>Auzu izejviela</i>	2.60±1.41 a	11.57±5.36 a	83.6±2.47 b
Oat extrudate / <i>Auzu ekstrudāts</i>	0.61±1.56 ab	11.34±5.68 a	21.78±5.27 d
Soy raw material / <i>Sojas izejviela</i>	-0.67±2.38 b	14.19±5.61 a	90.68±2.49 a
Soy extrudate / <i>Sojas ekstrudāts</i>	-0.54±1.55 b	15.48±4.73 a	48.68±3.44 c

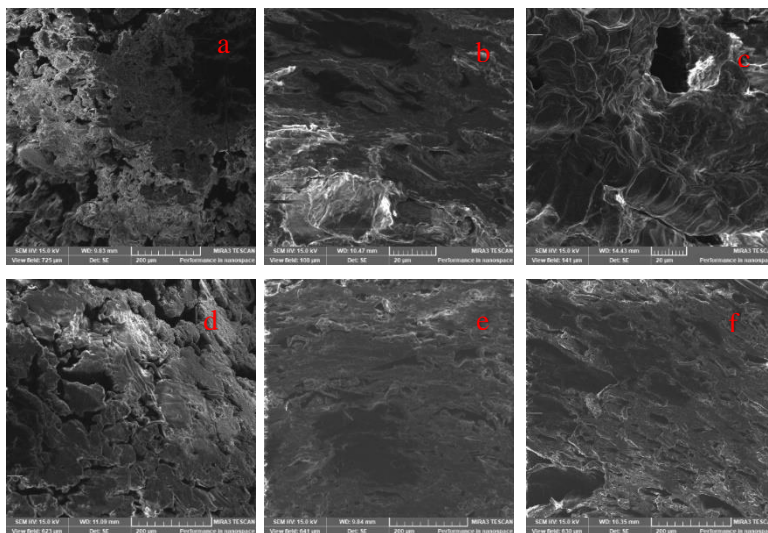
*Means ± standard deviations within the column not sharing any letter are significant different by ANOVA test at a 5% level of significance / Vidējie ± standartnovirzes kolonnā, kuriem nav vienādi burti, būtiski atšķiras ar ANOVA testu 5% nozīmīguma līmenī*

However, in the present study, no significant colour shift was observed in the a\* direction, indicating that the colour of the extruded samples did not significantly differ from that of the raw materials. Previous literature has suggested that the development of redness in extruded products might be associated with Maillard reactions inducing browning (Kristiawan et al., 2018). Nevertheless, in the present study, the changes towards both the red and blue directions were relatively small and insignificant. The colour change between the raw material and processed material expressed as ΔE averaged 42.57 (±5.63) and 62.14 (±4.56) for soy and oat protein extrudates, respectively. Such perceivable colour alterations were relatively high and could be analytically described as substantial (Andrés, Villanueva, & Tenorio, 2016).

#### *Microstructure of extrudate*

In this research, a scanning electron microscope was utilised to investigate the structure of oat protein concentrate. The purpose was to focus solely on the extrusion of the inherent components of the protein concentrate and avoid any potential interference from major grain components, such as starch or other admixed substances, which are considered to have an impact on the extrusion process and attributes characterising extrudates. The images displaying protein microstructure at different magnifications, with scale bars representing 20 μm and 200 μm, are presented in Figure 11. The magnification levels and power of 15 kV were chosen empirically as best representing the structure of extruded oat protein. At closer magnification, the images reveal the protein surface at a cellular level, while the higher magnification provides an overview of the overall

structure, demonstrating its homogeneity and orientation.



**Fig. 12. Microstructure of oat protein extrudate at different stages of extrudate formation and different magnification/**

*12. att. Auzu proteīna ekstrudāta mikrostruktūra dažādos ekstrudāta veidošanās posmos un dažādos palielinājumos*

(a) beginning of the extrusion, longitudinal view, scale bar – 200 μm; (b) cross-section scale, bar – 20 μm, (c) cross-section, scale bar – 200 μm; (d) intermediate, scale bar – 200 μm; (e) longitudinal view, scale bar – 20 μm, and (f) longitudinal view, scale bar – 200 μm. Images that are not labelled as “beginning” or “intermediate” stages refer to the extruded oat protein concentrate. / (a) ekstrūzijas sākums, garenskats, mēroga josla – 200 μm; b) šķērs griezum, mēroga josla – 20 μm, e) šķērs griezum, mēroga josla – 200 μm; d) starpposms, mēroga josla – 200 μm; (c) garenskats, mēroga josla – 20 μm un (f) garenskats, mēroga josla – 200 μm. Attēli, kas nav apzīmēti kā “sākuma” vai “starpposma” posmi, attiecas uz ekstrudētu auzu proteīna koncentrātu

In contrast, tangential sections of the extruded product in Figures 12(c) and 12(f) revealed a solid extrudate that was relatively hard to cut and had changed in colour to pale brown. Further examination through the longitudinal slice showed that the material’s texture exhibited a relative orientation towards the direction of extrusion. The surface exhibited smoothness and molten characteristics, but no evidence of forming a fibrillar structure was observed. The internal breaks within the structure were potentially formed due to water evaporation, possibly caused by insufficient cooling during the extrusion process. The release of air during extrusion may serve as a precondition for the



development of the ruptured structure. The presence of noticeable aggregates and clusters, as seen in Figure 11(c), could be attributed to the collapse of air cells. Previous studies have indicated that the collapse of air bubbles during extrusion can lead to a crater-like structure formation, particularly when the protein content in the extrudate is high (Beck et al., 2018). The oat protein concentrate under investigation contained a portion of unextracted fibre, which became concentrated alongside the protein during processing. The increased fibre content led to a corresponding increase in cell density, where air bubbles were formed. Since brans are mainly composed of insoluble fibre and undergo limited changes in solubility during extrusion (Robin, Dubois, Pineau, Schuchmann, & Palzer, 2011), they act as nucleation agents for bubble formation due to their inability to be wetted. Additionally, the increase in bran content reduced cross-sectional volumetric expansion, although this effect was found to be insignificant in the investigated sample. Previous research has indicated an increase in longitudinal expansion with increased bran content (Robin et al., 2011), although this specific parameter was not measured in the current study. The cross-section of the extrudate, as depicted in Figure 11(b, e), provided a similar view, with the structure orientation of the extrudate described as anisotropic.

## CONCLUSIONS

1. The wet enzymatic extraction method proves to be effective in recovering oat protein, yielding concentrations of up to 85% for protein isolated from whole oat flakes with suspended fibre solids removed and 78% for protein extracted from oat flour with reduced initial fibre content.
2. The addition of ionisable salts, specifically NaCl at a concentration of 0.1 M, leads to a significant enhancement in oat protein recovery, increasing it by up to 24.8%.
3. The introduction of complex enzymes or alterations to the ionic strength of the solution during the procedure of oat protein isolation from whole oat flakes has a limited influence on the amino acid profile of the resulting protein.
4. Ethanol treatment and supercritical CO<sub>2</sub> treatment significantly reduce lipid content in oat protein concentrates ODE1 and ODC1 from 20.6 % to 4.9% and 3.5% respectively, while demonstrating minimal effects on the protein's nutritional value, as proven by negligible changes in its amino acid composition.
5. The amount of essential amino acids in the extracted oat protein exceeded the recommendations for adults outlined by FAO, except for lysine.
6. Oat protein concentrates passed through enzymatic extraction comprise predominantly oat globulin fraction, as evidenced by SDS-page patterns showing dominated protein bands at approximately 28 and 46 kDa.
7. The obtained oat protein exhibited relatively low performance in terms of solubility and foaming capacity, irrespective of the extraction method and initial raw material used. The liquid retention for oil fell within the range of 2.05 to 2.21 g g<sup>-1</sup>, while for water, it ranged from 2.61 to 3.0 g g<sup>-1</sup>.
8. Utilising a single screw extruder for the extrusion of pure oat protein concentrate yields a dense, dark pale brown product with a firm texture that surpasses soy protein extrudate in terms of hardness, fracturability, and toughness.
9. The thesis revealed that the use of pure oat protein concentrate in wet extrusion processes is feasible; however, optimising its textural properties may require the incorporation of additional ingredients tailored to the specific application objectives.

## PĒTĪJUMA AKTUALITĀTE

Auzas, pazīstamas ar savu paaugstinātu uzturvērtību un aminoskābju sastāvu (Mohamed et al., 2009), un ir daudzsološs alternatīvs avots augu izcelsmes olbaltumvielu koncentrātu un izolātu ieguvei. Salīdzinājumā ar citiem graudaugiem to putrāimos ir vairāk olbaltumvielu (Klose & Arendt, 2012), un tie ir labi piemēroti audzēšanai reģionā, kur tika veikts šis pētījums (Sterna et al., 2016).

Neraugoties uz plašo auzu proteīna īpašību izpēti (Spaen & Silva, 2021), pašreizējās auzu proteīna ekstrakcijas metodes bieži izmanto rupju sārmainu ekstrakciju ar sekojošu nogulsnēšanu vai arī gaisa atdalīšanu (Sibakov, 2014).

Vēl viens auzu proteīna koncentrēšanas veids ir fermentatīva ūdens ekstrakcija. Izmantojot šo metodi, var iegūt universālu proteīna koncentrātu, izmantojamu dažādos veidos. Tas ļauj regulēt proteīna koncentrācijas līmeni un kontrolēt suspendēto vielu daudzumu. Turklāt iegūto auzu proteīna koncentrātu var izmantot kā vērtīgu izejvielu unikālu produktu, piemēram, auzu proteīna ekstrudāti izstrādei.

Promocijas darba **mērķis** – izstrādāt fermentatīvās ūdens ekstrakcijas metodes auzu proteīna koncentrāta iegūšanai, novērtēt iegūto auzu proteīna koncentrātu funkcionālās īpašības un noteikt to piemērotību turpmākai pārstrādei, tostarp, mitrai ekstrūzijai.

**Hipotēze:** ar fermentatīvās ūdens ekstrakcijas, kam seko attaukošana, palīdzību iegūtu auzu proteīna koncentrātu var izmantot mitrās ekstrūzijas sistēmās.

**Tēzes,** kas apstiprina hipotēzi:

- auzu proteīnu var ekstrahēt un koncentrēt ar fermentatīvās ūdens ekstrakcijas palīdzību;
- necietes polisaharīdu noārdīšanās mitrās fermentatīvās hidrolīzes laikā neietekmē auzu proteīna aminoskābju sastāvu;
- jonu stiprums ietekmē auzu proteīna agregāciju, kas vēlāk ietekmē tā funkcionālās īpašības un proteīna atgūšanas iznākumu;
- attaukošanas metodes ietekmē auzu proteīna funkcionālās īpašības;
- auzu proteīna koncentrāta attaukošana uzlabo mitrās ekstrūzijas procesu.

**Pētījuma objekti:** pilngraudu auzu pārslas, smalkā maluma auzu milti, auzu proteīns, auzu proteīna ekstrudāti.

Šim pētījumam ir šādi **uzdevumi:**

- identificēt metodes, kas ir piemērotas auzu proteīna fermentatīvai ūdens ekstrakcijai no rūpnieciskām pilngraudu auzu pārslām un smalkā maluma auzu miltiem;
- identificēt piemērotas attaukošanas metodes no rūpnieciskām auzām un auzu miltiem iegūtiem auzu proteīna koncentrātiem;
- novērtēt aminoskābju pārdalījumu iegūtajos auzu proteīna koncentrātos un blakusproduktos, jo īpaši šķiedrvielās;

- novērtēt iegūto proteīna koncentrātu raksturīpašības un izpētīt iegūto auzu proteīna koncentrātu funkcionālās īpašības;
- noteikt auzu proteīna koncentrāta ekstrūzijas parametrus;
- izpētīt iegūtā auzu proteīna ekstrudāta fizikālās īpašības, tostarp tā struktūru, tekstūru un krāsu.

#### Pētījuma **novitāte**:

- ir izstrādātas metodes auzu proteīna koncentrāta ieguvei līdz pat 75% (sausnā) ar fermentatīvās ūdens ekstrakcijas palīdzību;
- ir novērtētas ar fermentatīvās ūdens ekstrakcijas palīdzību iegūto auzu proteīna koncentrātu fizikālķīmiskās īpašības, aminoskābju profils un funkcionālās īpašības;
- ir noteikti auzu proteīna koncentrāta mitrās ekstrūzijas tehnoloģiskie parametri;
- ir izpētītas ar mitrās ekstrūzijas metodi iegūtā auzu proteīna ekstrudāta fizikālās īpašības.

#### **Ekonomiskā nozīme:**

- izstrādātas metodes ir pierādījušas iespēju iegūt auzu proteīna koncentrātus, ko uzskata par inovatīvām izejvielām, potenciālām sastāvdaļām plašam pārtikas lietojumu klāstam, tostarp "tīrās etiķetes" produktu kategorijām;
- iegūto auzu proteīna koncentrātu funkcionālās īpašības ļauj ražotājiem noteikt auzu proteīna koncentrātu pielietojamību savos produktos;
- noteiktie ekstrūzijas procesa parametri un no auzu koncentrātiem iegūto ekstrudātu raksturojums palīdz ražotājiem ieviest jauninājumus un jaunus produktus, jo īpaši ekstrudātus, kas satur jaunu sastāvdaļu – auzu proteīna koncentrātu.

## PĒTĪJUMA APROBĀCIJA

Pētījumu rezultāti ir apkopoti un publicēti piecos recenzētos zinātniskajos izdevumos angļu valodā, indeksētajās starptautiskajās datubāzēs *SCOPUS* un/vai *Web of science*. Ir piešķirti divi patenti (publikāciju un prezentāciju sarakstus skatīt 5.–7. lpp.).

## MATERIĀLI UN METODES

### **Pētījuma laiks un vieta**

Šis pētījums tika veikts no 2019. līdz 2024. gadam Latvijas Biozinātņu un tehnoloģiju universitātes (LBTU) Lauksaimniecības un pārtikas tehnoloģijas fakultātes Pārtikas institūta laboratorijās, kā arī Agrolesursu un ekonomikas institūtā (AREI), LBTU APP Dārzkopības institūtā, Latvijas Valsts mežzinātnes institūtā "Silava" un SIA "JP Biotechnology".

## Pētījuma struktūra

Pētījums ietver trīs vispārīgos posmus, kas ir aprakstīti 1. tabulā.

### Materiālu apraksts

Pētījuma **objekts**: pilngraudu auzu pārslas (auzu pārslas), smalkā maluma auzu milti ar samazinātu šķiedrvielu saturu (auzu milti), rūpnieciskie fermenti ( $\alpha$ -amilāze (no *Bacillus Licheniformis*), kompleksie fermenti (no *Trichoderma reesei*) ar galveno ksilanāzes un blakus  $\beta$ -glikanāzes aktivitāti), auzu proteīna koncentrāta ekstrudāts. Iepriekš minēto materiālu apraksts ir sniegts 2.–3. tabulā.

### Pētījumā izmantotās metodes

I posmā auzu proteīna koncentrātus ieguva no auzu pārslām un smalkā maluma auzu miltiem, fermentatīvi hidrolizējot cieti un cieti nesaturošus polisaharīdus ar sekojošu proteīnu koncentrēšanu centrifugēšanas ceļā. Turklāt pētījuma mērķis bija izpētīt jonu apstākļu izmaiņu ietekmi gan uz proteīna iznākumu, gan īpašībām. No auzu miltiem iegūtais proteīns pēc tam tika attaukots, izmantojot neatkarīgi etanolu un superkritisko CO<sub>2</sub>. Oriģinālās olbaltumvielu attīrīšanas metodes izstrādāja autors, citas pētījumā izmantotās metodes un analīzes ir apkopotas 4. tabulā.

II posmā tika pārbaudīti iegūto proteīna koncentrātu raksturlielumi un funkcionālās īpašības. Šajā posmā tika veikta iegūto materiālu, tostarp to molmasas un aminoskābju profila analīze. Turklāt tas ietvēra materiālu funkcionālo īpašību izpēti, jo īpaši to proteīnu šķīdību, putošanas un ūdens vai eļļas noturēšanas spējas, kas apkopotas 4. tabulā.

Pētījuma III posmā tika pētīts ekstrūzijas process, ko piemēroja iepriekšējos posmos raksturotajiem proteīna koncentrātiem. Šajā posmā galvenā uzmanība tika pievērsta to ekstrūzijas galveno īpašību un parametru noteikšanai, kas nepieciešami mitra ekstrudāta ieguvei. Līdztekus ekstrūzijas sistēmas analīzei pētījumā sniegti arī visaptveroši dati par iegūtā ekstrudāta fizikālajām īpašībām, tostarp tā tekstūras īpatnībām un krāsu. Turklāt auzu proteīna ekstrudātu analizēja skenējošā elektronu mikroskopā (SEM), analizēm izmantojot garenvirziena un šķērsriezuma attēlus. Pētījuma III posmā izmantotie standarti un analīžu metodes ir apkopotas 4. tabulā.

### Datu matemātiskā apstrāde

Frīdmana rangu summas tests tika izmantots, analizējot mediānas atšķirības starp polārājām un vienfaktoru dispepsijas analīze nepolāro aminoskābju grupām, pirms tam veicot Šapiro-Vilka testu. Tekstūras datu analīzei tika izmantots T-tests. Dati tabulās un grafikos ir izteikti kā vidējie aritmētiskie lielumi  $\pm$  standartnovirze vismaz trim atkārtojumiem, ja nav norādīts citādi. Pārējām analīzēm, ja vien nav norādīts citādi, tika izmantoti ANOVA testi, kam sekoja Tjūkija un kompakta burtu attēlojuma (*Compact Letter Display*) testi. Statistiskā analīze tika veikta programmatūrā R (R Core Team, 2022). Attēli un dati tika apstrādāti, izmantojot R programmatūras paketes (Graves et al., 2023;

Kassambara, 2023; Patil, 2021; Wickham et al., 2019). *RStudio* (RStudio Team, 2022) tika izmantota *R* integrētajai izstrādes videi.

## REZULTĀTI UN DISKUSIJA

### 1. Auzu proteīna izolēšana

#### **Proteīna izolēšana no pilngraudu auzu pārslām ar fermentatīvo hidrolīzi**

Šajā pētījumā ir apkopoti dati par proteīna atgūšanu no pilngraudu auzu pārslām, izmantojot fermentatīvo ekstrakciju. Tika pētītas divas pieejas: auzu pārslu apstrāde ar  $\alpha$ -amilāzi cietes hidrolīzei (proteīna paraugs A1) un vienlaicīga divu veidu fermentu –  $\alpha$ -amilāzes un komplekso enzīmu izmantošana cietes un cieti nesaturošo polisaharīdu hidrolīzes veicināšanai (proteīna paraugs AX1). Pēc tam proteīna atdalīšana tika veikta, izmantojot centrālās spēku. Iegūtie rezultāti sniedz atziņas par proteīna koncentrāciju, tauku saturu, kopējo šķiedrvielu saturu un proteīna iznākumu paraugos, kā parādīts 5. tabulā.

Kaltētos paraugus analizēja, lai noteiktu proteīna koncentrāciju, kas proteīnu paraugiem A1 un AX1 bija attiecīgi no 84,6% līdz 85,9% sausnā.

Pētījumā galvenā uzmanība tika pievērsta jonu koncentrācijas izmaiņu ietekmes izpētei uz proteīna agregāciju un tā turpmāko atgūšanu no dzirdinātā hidrolizāta. Iepriekš minētie hidrolizāti, kas iegūti no auzu pārslām, tika apstrādāti, izmantojot tikai  $\alpha$ -amilāzes fermentu (paraugs AR1), kā arī savienojumā ar kompleksiem enzīmiem (paraugs AXR1), kam sekoja papildu procedūra ar jonu nobīdi. Atgūšanas efektivitāte ir atkarīga no dažādiem faktoriem, tostarp daļiņu īpašībām un spēkiem, kas piedalās daļiņu atdalīšanā. Parasti uzskata, ka daļiņu agregācija, jo īpaši, ja apvienojas līdzīgas daļiņas un rezultātā veidojas lielāki agregāti, rada ievērojamas spēku atšķirības, tādējādi pozitīvi ietekmējot atdalīšanas procesu (van Hee et al., 2006).

6. tabulā ir sniegti rezultāti par proteīna un eļļas koncentrāciju paraugos, apstrādātos ar NaCl. Proteīna koncentrācija paraugos bija no 84,2% līdz 86,5% attiecīgi AR1 un AXR1 paraugiem. Pievienojot 0,1 M NaCl šķīdumu, proteīna iznākums palielinājās par aptuveni 24,8% un 17,8% paraugos, kuros pilngraudu auzu pārslas tika apstrādātas attiecīgi ar  $\alpha$ -amilāzi un kombinācijā ar kompleksajiem enzīmiem.

#### **Proteīna izolēšana no smalkā maluma auzu miltiem**

Alternatīvi proteīnu atgūšanai var izmantot izejvielas ar samazinātu šķiedrvielu saturu, ko iegūst rūpnieciskā malšanas procesā. Tika veikta proteīna ekstrakcija, izmantojot kompleksos fermentus kombinācijā ar  $\alpha$ -amilāzi (proteīna paraugs tika kodēts kā OC1). Kaltētā paraugā proteīna saturs sausnā bija  $63,05 \pm 1,30\%$ . Kopējais proteīna iznākums bija  $77,0 \pm 3,0\%$ , salīdzinot ar sākotnējo proteīna saturu auzu miltos.

Ja hidrolīzes laikā tika izslēgti kompleksie fermenti, iegūtais hidrolizāta šķīdums bija viskozāks. Tā deva zemāku proteīna koncentrāciju kaltētajā paraugā (paraugs OC1B) – vidēji  $59,90 \pm 2,0\%$ , kam klāt nāca neapstrādātās eļļas saturs  $14,61\%$  un paredzamais šķiedrvielu satura pieaugums par  $1,8\%$ . Analizētos paraugus raksturojošie rezultāti ir sniegti 7. tabulā.

Var pieņemt, ka relatīvi augstā olbaltumvielu koncentrācija izraisīja nešķīstošu proteīnu agregātu veidošanos, kas izskaidrojams ar to paaugstinātu tendenci veidot starpmolekulāras saites ar tuvumā esošajiem proteīniem (G. Liu et al., 2009). Turklāt proteīna virsmas hidrofobitāti var uzskatīt par papildu faktoru, kas veicina proteīna atgūšanu, ņemot vērā tās apgriezto korelāciju ar proteīna šķīdību ūdenī (Jing et al., 2016).

Ir jāatzīmē fakts, ka auzu proteīns tika ekstrahēts no auzu miltiem, pakļautiem pirmapstrādei, kurā tika noņemta ievērojama daļa no neendosperma audiem. Tas samazina iznākuma zudumus, jo ievērojama daļa ūdenī šķīstošo albumīnu atrodas grauda daļās, kas parasti tiek atdalītas (Peterson, 2011). Turklāt no auzu miltiem pārstrādes laikā zināmā mērā tika noņemts arī aleirona slānis, kas ir galvenā fermentu atrašanās vieta (Hu et al., 2009; Miller & Fulcher, 2011). Rezultātā var uzskatīt, ka turpmāk analizējamo proteīna frakciju pārsvarā veido tikai ūdenī nešķīstošā globulīna frakcija.

Sākotnēji auzu miltos bija  $6,21 \pm 0,28$  masas % tauku, lai gan tauku koncentrācija auzu proteīna koncentrāta sastāvā palielinājās līdz  $20,55 \pm 0,40$  masas % un  $14,61 \pm 0,82$  masas % (skat. 3.3. tabulu), atkarībā no hidrolīzē izmantotajiem fermentiem. Ņemot vērā proteīna atgūšanas procesu, kura rezultātā proteīna frakcijā uzkrājās ievērojams tauku daudzums, iegūtie auzu proteīna koncentrāti saturēja līdz  $42,60\%$  no kopējā tauku daudzuma, ja tika izmantota  $\alpha$ -amilāzes un komplekso fermentu kombinācija. Paaugstināto tauku saturu auzu proteīna koncentrātu paraugos var izskaidrot ar to, ka tajos ir daudz nepolāro auzu tauku, kas parasti veido no  $65\%$  līdz  $90\%$  no kopējā tauku daudzuma (Doehlert et al., 2010).

Atšķirībā no auzu proteīnu koncentrātiem, iegūtiem no pilngraudu auzu pārslām, proteīnu koncentrāts, iegūts no auzu miltiem, uzrādīja salīdzinoši augstāku tauku saturu, paredzot, ka pēc tam taukus atdala. Tauku ekstrakcijai no kaltētiem paraugiem tika izmantotas divas atšķirīgas pieejas: igulsnēšana, izmantojot etanolu (iegūtā parauga kods ODE1), un ekstrakcija, izmantojot superkritisko  $\text{CO}_2$  šķīdumu (iegūtā parauga kods ODC1).

Eksperiments tika veikts, apstrādājot auzu proteīna koncentrātu OC1 ar etanolu. Rezultātā tauku saturs paraugā tika samazināts no  $20,60$  masas % līdz aptuveni  $4,90$  masas %. Tika veikta divpakāpju ekstrakcija. Vispirms tika veikts galvenais posms, kurā proteīna koncentrātu apstrādāja  $60^\circ\text{C}$  temperatūrā līdz 4 stundām (ilgumu noteica eksperimentāli), lai atdalītu lielāko daļu tauku. Otrajā mazgāšanas posmā daļēji attaukoto proteīna koncentrātu atkārtoti mazgāja ar etanolu, kā rezultātā notika redzamas dekantāta krāsas izmaiņas, kas norāda uz atlikušajiem taukiem pēc sākotnējās apstrādes ar etanolu. Atbrīvojot proteīna

koncentrātu no taukiem, paraugā palielinājās proteīna koncentrācija, sasniedzot  $78,18 \pm 1,93$  masas %.

Vēl augstāks tauku ekstrakcijas efekts tika panākts, ekstrahējot taukus ar superkritisko CO<sub>2</sub> šķīdumu. Tauku koncentrācija kaltētā paraugā samazinājās līdz 3,48%. Iespējams, ka proteīna koncentrātā atlikušajā tauku daļā bija lielāka nepolāro lipīdu proporcija nekā izejmateriālā.

8. tabulā ir apkopoti tauku ekstrakcijas rezultāti ar etanolu un CO<sub>2</sub>.

## **2. Auzu proteīna raksturojums un funkcionālās īpašības**

### **Auzu proteīns, iegūts no pilngraudu auzu pārslām**

#### *Aminoskābes*

Tiek uzskatīts, ka apstrādāto produktu aminoskābju sastāva izmaiņu novērošana var sniegt ieskatu par to, cik lielā mērā tie ir modificēti (Wang et al., 2018). Šajā pētījumā aminoskābju profiliem dažādiem paraugiem bija relatīvi līdzīgs raksturs. Salīdzinot AR1 ar A1, tika novērots neliels cisteīna satura, par aptuveni 10%, un, par aptuveni 8%, metionīna satura samazinājums. Turpretī AR1 tika konstatēts neliels histidīna satura pieaugums par aptuveni 7% un izoleicīna satura pieaugums par aptuveni 8%, salīdzinot ar A1. Jonu stipruma izmaiņas būtiski neietekmēja aminoskābju saturu paraugos, apstrādātos ar kompleksajiem fermentiem. Aminoskābju saturs šajos paraugos bija līdzīgs, dažām aminoskābēm, piemēram, histidīnam un izoleicīnam, svārstības bija 3% robežās. Citu aminoskābju satura atšķirības starp AX1 un AXR1 bija vēl mazākas. 1. attēlā ir redzams grafiks, kurā ir parādīts vidējais neaizvietojamo aminoskābju saturs auzu frakcijās.

Pētāmos paraugos bija ievērojami augstāks neaizvietojamo aminoskābju saturs, izņemot lizīnu, salīdzinot ar Pārtikas un lauksaimniecības organizācijas (FAO) vadlīnijās noteiktajām ieteicamajām vērtībām (2007). Turklāt neaizvietojamo aminoskābju saturs visos vidējos paraugos pārsniedza ieteicamās vērtības. Vidējie paraugi ietver A1, AR1, AX1, AR1 kā proteīnu frakcijas un AF1 un AXF1 kā šķiedrvielu frakcijas. Apkopotais neaizvietojamo aminoskābju saturs vidējos paraugos pārsniedza ieteicamo 36% neaizvietojamo un kopējo aminoskābju attiecību (Jing et al., 2016). Auzu proteīna koncentrāts uzrādīja visaugstāko apkopoto neaizvietojamo aminoskābju saturu.

#### *Molekulmasa*

Proteīna molekulmasa tika noteikta diviem paraugiem, kas apzīmēti kā A1 un AR1. SDS-PAGE analīze, kas parādīta 2. attēlā, sniedz datus par proteīnu profilu.

Proteīna molekulmasa abos paraugos atšķirās, iedaloties divās galvenajās grupās – aptuveni 28 kDa un 46 kDa. A1 paraugā tika konstatētas galvenās joslas ar 27,8, 45,2 un 51,0 kDa, kas veidoja attiecīgi 43,3, 28,7 un 24,4% no kopējā



proteīna. AR1 parauga proteīna molekulas masa tika noteikta 27,7, 45,3 un 51,0 kDa līmenī, kas veidoja 42,5, 28,2 un 24,2% no kopējā proteīna. Atšķirības starp paraugiem bija salīdzinoši nenozīmīgas, abi paraugi bija relatīvi līdzīgi gan proteīna lieluma, gan daudzuma ziņā. Tas apstiprina, ka šķīduma jonu stiprības izmaiņas neietekmēja aglomerētā proteīna kvalitāti. Proteīna paraugs uzrādīja viendabīgas proteīna frakcijas, bet dažāda lieluma proteīni, kas, iespējams, piederētu citām proteīna frakcijām, piemēram, albumīniem, netika konstatētas.

Klose et al. pētījumā (2009) tika konstatēta izteikta auzu albumīnu pārstāvoša josla ar īpatnējo molekulas masu aptuveni 35–44 kDa. Līdzīgi arī citos pētījumos ir ziņots par galveno albumīnu maksimumu 15 kDa līmenī (Mirmoghtadaie et al., 2009). Tomēr šajā pētījumā neviena no šīm albumīna joslām netika novērota. Iespējams, ka sāls inducētā olbaltumvielu agregācija izraisīja olbaltumvielu agregāciju no viena avota. Noteikto joslu raksturs ir ļoti līdzīgs auzu globulīna izmēram (Klose et al., 2009).

### *Šķīdība*

A1, AR1 un AX1 paraugiem veiktā šķīdības testa rezultāti ir parādīti 3. attēlā. A1 parauga šķīdība bija relatīvi nemainīga visā pH diapazonā, un vidējās vērtības bija attiecīgi 4,8%, 4,3% un 4,7% pie pH 3, 6 un 9. Arī AR1 parauga šķīdība bija līdzīgā diapazonā, vidēji 2,4%, 3,9% un 5,5% pie pētītajiem pH līmeņiem. AX1 parauga proteīna šķīdība bija līdzīgi zema pētītajos pH līmeņos, – vidēji 4,7%, 4,4% un 6,3% attiecīgi pie pH 3, 6 un 9. Ir svarīgi uzsvērt, ka pH maiņa un skābo vai sārmaino pusi minimāli ietekmēja proteīna šķīdību. To ir vērts atzīmēt, ņemot vērā, ka proteīniem parasti ir nosliece uz hidrolīzi nepatīkamās pH apstākļos (Averina et al., 2021), kā rezultātā samazinās molekulu izmērs un attiecīgi palielinās šķīdība. Neraugoties uz to, novērotās proteīna šķīdības izmaiņas nebija būtiskas. Šis novērojums ir zināmā mērā pretrunā ar publicētajiem pētījumiem. Agrāk ziņots, ka šķīdība auzu proteīnam, kas iegūts, izmantojot sārmainu šķīdināšanu ar sekojošu proteīna nogulsnešanu, svārstījās no 20% (Walters et al., 2018) līdz 70% (Zhong et al., 2019). Tika ziņots, ka ar aereoseparācijas ceļā iegūta auzu proteīnu šķīdība pārsniedz 20% pie pH 7 (Brückner-Gühmann et al., 2018). Savukārt to auzu proteīnu šķīdība, kas tika pakļauti fermentatīvai ekstrakcijai, ir no 10% līdz 50% attiecīgi pie pH 9 un pH 5 (Prosekov et al., 2018). Proteīnu šķīdību var ietekmēt dažādi faktori, sākot no sāls koncentrācijas (Loponen et al., 2007) un beidzot ar konkrēto eksperimentos izmantoto auzu šķirni (Yue et al., 2021). Ir ziņots, ka attīrīto auzu globulīnu šķīdība ir ierobežota (Loponen et al., 2007). Galvenās šajā pētījumā novērotās joslas, diapazonā no 28 līdz 46 kDa, visticamāk, ir auzu globulīni, kas varētu izskaidrot novēroto ierobežoto šķīdību. Auzu globulīnu uzvedību būtiski ietekmē sāls koncentrācija, jo īpaši apvienojumā ar ekstrēmām pH vērtībām.

Jaunākie atklājumi liecina, ka NaCl sāļu pievienošana var ievērojami palielināt šķīdību – līdz pat 90%, ja NaCl koncentrācija sasniedz 1 mol L<sup>-1</sup>. Pārsteidzoši tika konstatēts, ka zema jonu stipruma šķīdums (apmēram 0,1 M)

samazina auzu proteīna šķīdību, jo ievērojami palielinās proteīna izmērs (Li & Xiong, 2021). Ir jāatzīmē, ka proteīnu šķīdināšanas metodikas atšķiras, un ir ziņots par dažiem ierobežojumiem (K. Liu & Hsieh, 2008). Piedāvātā standartizētā procedūra proteīnu noteikšanai pārtikā ietver 0,1 M NaCl šķīdumu (Morr et al., 1985; Sawada et al., 2014), kas potenciāli var samazināt olbaltumvielu šķīdības vērtības, tostarp šajā pētījumā novērotās.

### *Putošanas spēja*

Putošanas īpašības ietver divus galvenos aspektus: putu veidošanas spēju un putu stabilitāti. Putu veidošanas spēja attiecas uz kopējo putu tilpumu, kas veidojas konkrētos apstākļos, savukārt putu stabilitāti ietekmē ātrums, ar kādu šķidrums putās ar laiku nogulsņējas (B. Zhang et al., 2022).

Proteīna koncentrāta paraugu putošanas spēja tika novērtēta un izteikta kā putu tilpuma un stabilitātes izmaiņas divu stundu laikā. Rezultāti ir parādīti 4. attēlā. Proteīna koncentrācija maisījumā tika uzturēta zema (1 g proteīna uz 33 mL ūdens), lai samazinātu jebkādu iespējamo viskozitātes ietekmi uz koloidālo stabilitāti (Nivala et al., 2017). AXR1 un A1 paraugi uzrādīja vislielāko putošanas spēju, attiecīgi vidēji 7,6% un 7,1% sākotnējā punktā. Taču putu stabilitāte visos paraugos bija zema, un laika gaitā novērots straujš kritums. AR1 uzrādīja viszemāko putošanas spēju un stabilitāti, mērījumu sākumā bija novērojama minimāla putu veidošanās – vidēji 1,50%, kas 10 minūšu laikā pilnībā izzuda. Interesanti, ka jonu stipruma izmaiņas ietekmēja arī putošanas īpašības, un AXR1 uzrādīja vislielāko putošanas spēju (7,6% 0 minūtēs, 4,5% pēc 120 minūtēm), bet AR1 (1,5% 0 minūtēs, 0,0% pēc 10 minūtēm) uzrādīja viszemāko putošanas spēju. Šajā pētījumā novērotā putošanas spēja bija ievērojami zemāka salīdzinājumā ar *Kaukonen et al.* (2011) ziņotajiem rezultātiem. Viņu pētījumā auzu proteīna putošanas spēja (proteīna saturs eksperimentā izmantotajā ūdens ekstraktā bija 0,33%, un pirms tam tika veikta tauku ekstrakcija, izmantojot superkritisko CO<sub>2</sub>) sasniedza 137 tilpuma %. Tomēr ar ūdeni ekstrahētajam proteīnam galvenokārt bija molekulmasas, kas atbilst 10–15, 20–30 un 35–45 kDa joslām. Šīs molekulmasas bija relatīvi mazākas nekā auzu proteīna molekulmasa. Izmantotā ekstrakcijas metode (ūdens ekstrakcija) norāda, ka proteīns, visticamāk, attiecas uz šķīstošo frakciju, kas var sastāvēt no ūdenī šķīstošiem albumīniem. Iegūtie rezultāti liecina, ka šķīstošo auzu proteīnu putošanas spēja ir lielāka nekā proteīniem ar ierobežotu šķīdību. Tas saskan ar iepriekšējiem ziņojumiem, kas liecina, ka albumīniem var būt nozīmīga loma putu veidošanā (Runyon et al., 2013).

### *Ūdens un eļļas noturēšanas spēja*

Rezultāti par auzu proteīna koncentrātu eļļas un ūdens noturēšanas spēju ir parādīti 5. attēlā. Paraugu eļļas noturēšanas spēju attiecība vidēji bija aptuveni 2,19 pret 1,0. Starp paraugiem tika novērotas minimālas atšķirības – AX1 paraugam bija visaugstākā eļļas noturēšanas spēja, bet AR1 paraugam –

viszemākā, ar vidējiem koeficientiem attiecīgi 2,21 un 2,16. Ekstrakcijas metodes maz ietekmēja eļļas noturēšanas spēju. Kopumā, izmantojot ūdeni, visiem paraugiem bija līdzīga ūdens noturēšanas spēja. Visaugstākā ūdens noturēšanas spēja bija A1 paraugam, kur ūdens un proteīna vidējā attiecība bija 3,0 pret 1,0. No otras puses, viszemākie rezultāti tika novēroti AR1 un AX1 paraugiem, kuriem vidējais koeficients bija attiecīgi 2,84 un 2,83. Starp proteīnu paraugiem, apstrādātiem ar sāļiem vai kompleksiem enzīmiem nebija būtisku atšķirību, un novērotās variācijas bija aptuveni 5%, kas ir pārāk zemas, lai noteiktu sāls ietekmi uz ūdens noturēšanas spēju. Šajā pētījumā novērotās eļļas un ūdens noturēšanas spējas bija lielākas salīdzinājumā ar *Mirmoghadaie et al.* (2009) ziņotajiem rezultātiem. Viņu pētījumā ziņotā ūdens noturēšanas spēja bija  $1,27 \text{ g g}^{-1}$ , savukārt eļļas noturēšanas spēja –  $1,73 \text{ g g}^{-1}$  auzu proteīnam, iegūtam, izoelektriski nogulsņējot pēc sārmainas ekstrakcijas. Līdzīgā pētījumā auzu proteīna koncentrātā, kas iegūts, izmantojot sārmainu ekstrakciju, ūdens noturēšanas spēja bija no 2,00 līdz  $2,70 \text{ mL g}^{-1}$  un eļļas noturēšanas spēja no 2,25 līdz  $2,80 \text{ mL g}^{-1}$  (Ma, 1983). Turklāt tajā pašā pētījumā tika konstatēts, ka novērotās atšķirības ūdens un eļļas noturēšanas spējās ietekmēja konkrētās auzu šķirnes, kas izmantotas eksperimentos.

## Auzu proteīns, iegūts no auzu miltiem

### *Aminoskābes*

Pēc cietes fermentatīvās hidrolīzes dažu aminoskābju, proti, tirozīna, cisteīna, arginīna, metionīna, izoleicīna un izoleicīna, daudzums proteīna paraugā OC1 ievērojami palielinājās; katrai no tām pieaugums pārsniedza 10%. Turklāt neliels pieaugums, mazāks par 10%, tika novērots aminoskābēm valīnam, prolīnam, glutamīnskābei un asparagīnskābei. Turpretī lizīnam, leicīnam un treonīnam tika konstatēts koncentrācijas samazinājums attiecīgi par 9%, 9% un 6%. Tādu aminoskābju kā lizīns un alanīns koncentrācijas samazināšanās varētu liecināt par to saistību ar albumīniem, kas hidrolīzes un atdalīšanas laikā varētu pāriet šķidrā fāzē, ņemot vērā, ka šo aminoskābju ziņotā koncentrācija albumīnos ir augstāka salīdzinājumā ar globulīniem. Ievērojamais tirozīna koncentrācijas pieaugums var liecināt par iespējamo glutelīna klātbūtni, jo ir zināms, ka auzu glutelīna frakcijā tirozīna ir salīdzinoši daudz (Peterson, 2011).

Lietojot superkritisko  $\text{CO}_2$  šķidrums tauku atdalīšanai, izoleicīna un prolīna koncentrācija nedaudz samazinājās, bet citu aminoskābju saturs palielinājās. Etanola ekstrakcijas rezultātā ievērojami palielinājās histidīna, valīna un alanīna koncentrācijas, kas bija attiecīgi par 14%, 9% un 8% augstākas.

9. tabulā ir sniegts analizēto proteīnu aminoskābju sastāvs sākotnējā izejvielā, ekstrahētajā proteīna koncentrātā un attaukotajos paraugos, kas apstrādāti ar etanolu un superkritisko  $\text{CO}_2$  šķidrums.

## *Molekulmasa*

Tika pētīta auzu proteīna molmasa, lai novērtētu, vai fermentatīvā ekstrakcija ar sekojošu attaukošanu rada būtiskas atšķirības auzu proteīnos, kas analizēti ar *SDS-PAGE* metodi. ODC1 paraugā joslas ar molmasu 25,4, 26,8, 42,5 un 48,3 kDa veidoja attiecīgi 16,8, 25,2, 20,4 un 27,7% no kopējā proteīna satura. Līdzīgi arī paraugā ODE1 joslas ar molmasu 26,3, 27,6, 43,8 un 49,8 kDa veidoja attiecīgi 23,3, 28,7, 20,8 un 26,0% no kopējā proteīna satura. Starp paraugiem bija vērojama izmēru variācija, ar divām izteiktām zonām 46 kDa un 28 kDa, kas 6. attēlā ir attiecīgi apzīmētas kā A un B zonas. Abiem paraugiem bija līdzīgs raksturs, joslas atradās salīdzināmos diapazonos, un būtiskas atšķirības netika novērotas.

Iegūtie rezultāti liecina, ka lipīdu ekstrakcijas metode neietekmēja auzu proteīna molekulmasu. Tomēr daži ziņojumi norāda uz to, ka auzu proteīna elektroforētisko profilu varētu ietekmēt pati attaukošana (Yue et al., 2021). Turklāt pētījumos ir ziņots, ka endosperma proteīni, kas saistīti ar eļļas ķermenīšiem, visvairāk ir novēroti 28 kDa joslā (Heneen et al., 2008).

## *Šķīdība*

Auzu proteīna koncentrātu paraugu, proti, ODC1 un ODE1, šķīdība tika pētīta dažādos pH līmeņos, un rezultāti ir parādīti 7. attēlā. Rezultāti liecina, ka vislielākā šķīdība tika sasniegta pie pH 9, ODC1 paraugam sasniedzot aptuveni 8,0%. Kad pH tika pazemināts līdz 7 un 5, šķīdība samazinājās līdz vidējai vērtībai 6,4% abos gadījumos. Turpinot pazemināt pH līdz 3, šķīdība nedaudz palielinājās, sasniedzot aptuveni 7,0%. Līdzīgas tendences tika novērotas arī ODE1 paraugiem, kur šķīdība svārstījās no 6,4% līdz 9,0% visā pH diapazonā no 3 līdz 9. Šķīdības atšķirības starp paraugiem dažādos pH nebija nozīmīgas. Kopumā auzu proteīns uzrādīja zemu šķīdību visā pārbaudītajā pH diapazonā, un tika konstatēts, ka tauku ekstrakcijas metodes ietekme uz proteīna šķīdību ir nenozīmīga. Izvēlētais pH diapazons tika noteikts iepriekš, ņemot vērā tā iespējamo izmantošanu ar pārtiku saistītos lietojumos.

Iepriekš aplūkotā no miltiem un auzu pārslām iegūtā auzu proteīna šķīdība bija līdzīga – abiem paraugiem tā bija salīdzinoši zema. Vides pH minimāli ietekmēja proteīna šķīdību, un pētījumā izmantotās galējās pH vērtības šķīdību būtiski nemainīja. Piemēram, *Li & Xiong* (2021) ziņoja, ka auzu proteīna šķīdība sasniedz aptuveni 80% pie pH 8. Taču ir svarīgi atzīmēt, ka minētie rezultāti tika iegūti no konkrētas auzu proteīna frakcijas, kas izolēta, apstrādājot ar NaOH pie pH 10 ar sekojošu centrifugēšanu, atkārtotu pH regulēšanu un kaltēšanu. Šāda spēcīga pH apstrāde, iespējams, izraisīja strukturālas izmaiņas proteīnā, padarot to šķīstošāku tajā pašā pH, kurā tas tika izolēts.

## *Putošanas spēja*

Paraugu putošanas īpašības ir parādītas 8. attēlā. Kopumā auzu proteīna koncentrāts, attaukots, izmantojot superkritisko CO<sub>2</sub> šķidrums, uzrādīja lielākas putošanas spējas salīdzinājumā ar paraugu, kas apstrādāts ar etanolu. ODC1 parauga putošanas spēja sākotnēji bija 27,3%, saglabājās stabila 10 minūtes un pēc tam pakāpeniski samazinājās līdz vidēji 21,2% visā mērījumu laikā. No otras puses, ODE1 paraugam bija zemāka putošanas spēja, kas sākās ar 15,2%, strauji samazinājās līdz 9,1% 10 minūtēs un galā sasniedza 4,5%.

Šajā pētījumā tika konstatēts, ka auzu proteīna koncentrātu putošanas spēja ir augstāka nekā auzu proteīnam, kas ekstrahēts no auzu pārslām, taču tā bija zemāka, salīdzinot ar literatūrā atspoguļotiem rezultātiem. Viens no iespējamajiem iemesliem ierobežotajai putošanas spējai varētu būt atlikušo lipīdu klātbūtne, kas varētu būt ietekmējusi novērotās putu veidošanas īpašības. Piemēram, pētījumos ir ziņots, ka attaukotām auzām, kas apstrādātas ar heksānu, pēc tam ar sārnu un tad izoelektriski izgulsnētas, ir augstāka putošanas spēja. Iegūtā proteīna putošanas spēja visos paraugos pārsniedza 100% un pārspēja neattaukota auzu proteīna koncentrāta putošanas spēju (Yue et al., 2021).

Atlikušo tauku klātbūtne auzu proteīna koncentrāta sastāvā varētu būt ierobežojošs elements tā putošanas spējai, kas, iespējams, izraisa vājāku mijiedarbību starp proteīniem, kas adsorbēti uz lipīdiem, vai tiltiņu veidošanos starp olbaltumvielu virsmām (Yang et al., 2022). Turklāt auzu proteīna relatīvi zemā šķīdība varētu būt vēl viens ierobežoto putošanas spēju noteicošais faktors, jo iepriekšējos pētījumos ir uzsvērtā proteīna šķīdības izšķirošā nozīme putošanas spējas noteikšanā (Lan et al., 2020; B. Zhang et al., 2022). Šo apgalvojumu apstiprina arī promocijas darbā novērotā proteīna koncentrāta zemā šķīdība.

### **3. Auzu proteīna koncentrāta ekstrūzija**

#### *Ekstrūzija*

Ekstrūzijai tika izmantots auzu proteīna koncentrāta paraugs, attaukots, izmantojot etanolu (ODE1), kā arī rūpniecisks sojas proteīna koncentrāts kā kontrole. No testētajiem paraugiem lielāks ekstrūzijas potenciāls bija ODE1, galvenokārt tāpēc, ka tajā esošais šķiedrvielu saturs atbilst nozares standartiem, kā arī tāpēc, ka etanola attaukošanas metode ir praktiska un rentabla, kā minēts iepriekš.

Empīriski novēroto ekstrudātu var raksturot kā stingru, labi veidotu cietvielu tumšā krāsā ar retām redzamām plaisām. Ekstrūzijas laikā bija manāmi tvaiki, kas, iespējams, bija saistīts ar to, ka presformā nebija dzesēšanas, tāpēc ekstrudētais materiāls izdalījās brīvā formā pie temperatūras, kas radās dekompresijas rezultātā. Ekstrudātam nebija manāma tendence izplesties un tas saglabāja izmērus, tuvus spraugas izmēriem, un sadalījās neregulāra garuma gabalos. Atdzesēts līdz istabas temperatūrai, ekstrudāts kļuva grūti sagriežams.

9. attēlā ir parādīti auzu proteīna ekstrudāta paraugu šķērsgriezuma un garenvirziena skati.

Ir minēts, ka olbaltumvielu satura sasniegšana 50–70% robežās ir būtiska, lai atvieglotu šķiedrainu struktūru veidošanos ekstrūzijas laikā (Immonen et al., 2021). Taču šķiedrainu struktūru veidošanos auzu proteīna materiālā var ietekmēt arī vairāki citi būtiski faktori, tostarp spiediens, pagatavošanas laiks, temperatūra un ūdens vai kādu savienojumu, piemēram, cietes, pievienošanas ātrums (Osen et al., 2014; Sargautis, 2020).

Tika novērots, ka ekstrudāta veidošanās process sākas A–B sekcijās, kas 10. attēlā ir norādītas ar bultiņām. Proteīna kušana tika novērota pēdējos 2–3 vītnes soļos, savukārt iepriekšējie soļi darbojās tikai kā transportēšanas un iepriekšējas gatavošanas sistēmas. Izejmateriāls cilindra iekšpusē pirms A–B zonas šķidrā veidā izskatījās neizturīgs, spilgts un bez pamanāmām kušanas pazīmēm.

### *Ekstrudātu tekstūra un krāsa*

Validācijas nolūkos par ekstrūzijas standartmateriālu tika izvēlēts sojas proteīna koncentrāts (kontrolē), lai salīdzinātu un novērtētu izvēlētās ekstrūzijas procedūras. Šis izvēles pamatā bija sojas proteīna un auzu proteīna materiāla sastāva un struktūras līdzība. Turklāt sojas proteīna koncentrāti parasti tiek uzskatīti par piemērotu izvēli ekstrūzijas sistēmās, kurās izmanto vienu proteīna avotu (Thadavathi et al., 2019).

Ekstrudātu tekstūras profili ir parādīti 11. attēlā. Ir jāatzīmē, ka auzu proteīna ekstrudāta cietība ar vidējo vērtību 176,9 N pārsniedza sojas proteīna koncentrāta cietību, kuras vidējā vērtība bija 143,4 N. Lai gan auzu proteīna cietības mērījumi auzu paraugā nebija vienmērīgi, sojas proteīna ekstrudāta mērījumu sadalījums uzrādīja līdzīgu dispersiju, kā rezultātā tika noteikts, ka atšķirība starp abiem paraugiem bija statistiski nenozīmīga. Novērotās cietības mērījumu atšķirības, iespējams, varētu būt saistītas ar paraugu sastāva atšķirībām, tādējādi ietekmējot ekstrudātu kopējo tekstūru (Lobato et al., 2011). Būtiski ir atzīt, ka ekstrudātu cietību ietekmē proteīnu saturs tajos, jo lielāks proteīna saturs parasti samazina produkta cietību (Sun et al., 2011). Tāpat arī tauku saturam ir nozīme ekstrudātu cietības veidošanā, paaugstināts tauku saturs dažos mērījumos veicināja zemāku cietību (H. Wang et al., 2023). Iegūtie rezultāti liecina, ka dažos mērījumos auzu ekstrudāti sasniedza 205,0 N maksimālo cietību. Tomēr ir būtiski ņemt vērā ražotāju vēlmes, jo īpaši attiecībā uz noteiktām produktu kategorijām, piemēram, uzkodām, kur pieņemamais cietības līmenis nedrīkst pārsniegt 200 N.

Trauslumu, kas atspoguļo izstrādājumu sairšanas, parasti novērtē, izmantojot maksimālā spēka mērījumus (Linly et al., 2021). Šajā pētījumā auzu proteīna ekstrudāta trauslums bija plašā diapazonā no 87,0 līdz 205,0 N ar aprēķināto vidējo vērtību 148,0 N. Turpretī sojas proteīna ekstrudāta trauslums bija šaurākā diapazonā no 88,7 līdz 122,4 N un vidējā vērtība bija 103,7 N. Iespējams, auzu proteīna ekstrudātā novērotās ievērojamās trausluma atšķirības ir saistītas ar tā

zemāku homogenitāti. Neraugoties uz šķietami salīdzinoši viendabīgu līdzenu virsmu, šķērsgriezumos bija redzami lūzumi, kas veicināja novēroto mainīgumu. Salīdzinājumam, sojas proteīna ekstrudāta virsmai bija redzams nelīdzenums, atšķirībā no auzu proteīna ekstrudāta. Neraugoties uz ievērojamo atšķirību starp vidējām trausluma vērtībām starp abiem analizētajiem paraugiem, būtiska mērījumu mainība neļāva pārliecinoši noteikt statistiski nozīmīgas atšķirības.

Stingrība, kas ir kopējais pozitīvais laukums zem līknes un raksturo kopējo testa laikā veikto darbu, auzu olbaltumvielu ekstrudātos uzrādīja augstākas vērtības – vidēji 348,6 N·s. Salīdzinājumam, sojas ekstrudāta vidējā stingrības vērtība bija 292,0 N·s. Tomēr, neraugoties uz novēroto vidējo stingrības vērtību atšķirību starp paraugiem, statistiskā analīze parādīja, ka stingrības vidējās vērtības būtiski neatšķīrās.

Auzu un sojas ekstrudātu krāsas īpašības ir atspoguļotas 10. tabulā. Auzu ekstrudāta krāsa izrādījās tumšāka, vidējā  $L^*$  vērtība bija 21,78, salīdzinot ar sojas ekstrudātu, kura vidējā  $L^*$  vērtība bija 48,68, neskatoties uz izejvielu sākotnējo krāsas līdzību. Tumšāka krāsa parasti ir saistīta ar augstāku proteīna saturu, jo  $L^*$  vērtībai ir negatīva korelācija ar proteīna saturu (Agrahar-Murugkar et al., 2015). Jaunākie pētījumi liecina par eļļas satura ietekmi uz gaišumu sojas proteīna izolāta ekstrūzijas laikā, kur tauku koncentrācijas palielināšanās no 0 līdz 8% izraisīja  $L^*$  vērtību nobīdi no 41,70 uz 53,8 (H. Wang et al., 2023).

Tomēr šajā pētījumā  $a^*$  krāsas intensitātes būtiska izmaiņas netika konstatētas, kas norāda, ka ekstrudēto paraugu krāsa būtiski neatšķīrās no izejvielu krāsas. Iepriekš literatūrā ir izteikts pieņēmums, ka sarkanās krāsas veidošanās ekstrudētos produktos varētu būt saistīta ar Maijāra reakcijām, kas izraisa brūnēšanu (Kristiawan et al., 2018). Tomēr šajā pētījumā izmaiņas gan sarkanās, gan zilās krāsas intensitātēs bija salīdzinoši nelielas un nenozīmīgas. Kopējās krāsas izmaiņas starp izejvielu un apstrādāto materiālu, kas izteiktas kā  $\Delta E$ , sojas un auzu proteīna ekstrudātiem vidēji bija attiecīgi 42,57 ( $\pm 5,63$ ) un 62,14 ( $\pm 4,56$ ). Šādas pamanāmas krāsu izmaiņas bija salīdzinoši lielas un analītiski tās var raksturot kā būtiskas (Andrés et al., 2016).

### *Ekstrudāta mikrostruktūra*

Šajā pētījumā auzu proteīna koncentrāta mikrostruktūras izpētei tika izmantots skenējošais elektronu mikroskops. Mērķis bija vēltīt uzmanību tikai proteīna koncentrāta raksturīgo sastāvdaļu ekstrūzijai un izvairīties no jebkādiem iespējamiem traucējumiem no galvenajām graudu sastāvdaļām, piemēram, cietes vai citām vielām, kuras, kā uzskata, ietekmē ekstrūzijas procesu un ekstrudātu raksturojošās īpašības. 11. attēlā ir parādīti attēli, kuros redzama proteīna mikrostruktūra dažādos palielinājumos, ar mēroga joslām, kas attēlo 20  $\mu\text{m}$  un 200  $\mu\text{m}$ . Palielinājuma līmeņi un 15 kV jauda tika izvēlēti empīriski, jo tie vislabāk atspoguļo ekstrudēta auzu proteīna mikrostruktūru. Tuvākā palielinājuma attēlos ir redzama proteīna virsma šūnu līmenī, savukārt lielāks palielinājums sniedz pārskatu par kopējo struktūru, parādot tās viendabīgumu un

orientāciju.

Konkrētāk, 11.a attēlā ir redzama proteīna ekstrudāta sākotnējā veidošanās 10. attēlā attēlotajā punktā A. Šī struktūra šķīta irdena, pārrauta, bez kušanas pazīmēm. Tālāk, 11.d attēlā ir redzams proteīna koncentrāta kušanas sākums pirms izvadišanas no ekstrudera (10. attēlā – punkts B). Lai gan paraugs daļēji izkusa, nebija redzama cieta struktūra. Tika novēroti pārrāvumi un agregācija anizotropos veidojumos, un starpposma struktūrai bija tendence viegli sadalīties mazākos veidojumos.

Turpretī 11.c un 11.f attēlā redzamajos ekstrudētā produkta griezumos ir redzams ciets ekstrudāts, ko bija salīdzinoši grūti sagriezt un kas bija mainījis krāsu uz tumšāku. Turpmāka gareniskā griezuma pētīšana parādīja, ka materiāla tekstūra ir relatīvi orientēta ekstrūzijas virzienā. Virsma bija gluda un izkususi, bet netika novērotas šķiedrainās struktūras veidošanās pazīmes. Iekšējie pārrāvumi struktūrā, iespējams, veidojās ūdens iztvaikošanas dēļ, ko, iespējams, izraisīja nepietiekama dzesēšana ekstrūzijas procesā. Gaisa izdalīšanās ekstrūzijas laikā var kalpot par priekšnoteikumu plīsuma struktūras attīstībai. Kā redzams 11.c attēlā, ievērojamu agregātu un kopu klātbūtni varētu skaidrot ar gaisa šūnu sabrukumu. Iepriekšējos pētījumos ir norādīts, ka gaisa burbuļu plīšana ekstrūzijas laikā var izraisīt krāterveida struktūras veidošanos, jo īpaši, ja proteīna saturs ekstrudātā ir augsts (Beck et al., 2018). Izmeklējamais auzu proteīna koncentrāts saturēja daļu neekstrahētas šķiedrvielas, kas apstrādes laikā koncentrējās kopā ar proteīnu. Palielinoties šķiedrvielu saturam, attiecīgi palielinājās šūnu blīvums, un veidojās gaisa burbuļi. Tā kā klijas galvenokārt sastāv no nešķīstošām šķiedrvielām un to šķīdība ekstrūzijas laikā mainās ierobežoti (Robin et al., 2011), tās darbojas kā burbuļu veidošanās ierosinātāji. Turklāt, palielinot kliju saturu, samazinājās šķērsriezuma tilpuma izplešanās, lai gan pētītajā paraugā šī ietekme bija nenozīmīga. Iepriekšējos pētījumos ir norādīts, ka, palielinoties kliju saturam, palielinās gareniskā izplešanās (Robin et al., 2011), lai gan šajā pētījumā šis konkrētais parametrs netika mērīts. Ekstrudāta šķērsgriezumā, kas attēlots 11.b, 11.e attēla ir līdzīgs izskats, un ekstrudāta struktūra ir aprakstīta kā anizotropa.



## SECINĀJUMI

1. Mitrās fermentatīvās ekstrakcijas metode ir efektīva auzu proteīna atgūšanā, sasniegto koncentrācijas līdz 85% proteīnam, kas izolēts no pilngraudu auzu pārslām, no kurām atdalītas suspendētās cietās šķiedrvielas, un 78% proteīnam, kas ekstrahēts no auzu miltiem ar samazinātu sākotnējo šķiedrvielu saturu.
2. Pievienojot jonizējamus sāļus, konkrēti NaCl 0,1 M koncentrācijā, ievērojami uzlabojas auzu proteīna atgūstamība, palielinoties līdz pat 24,8%.
3. Komplekso fermentu izmantošanai vai šķīduma jonu stipruma izmaiņām auzu proteīna izolēšanas procesā no pilngraudu auzu pārslām ir ierobežota ietekme uz iegūtā proteīna aminoskābju profilu.
4. Apstrāde ar etanolu un apstrāde ar superkritisko CO<sub>2</sub> nozīmīgi samazina tauku saturu auzu proteīna koncentrātos ODE1 un ODC1 no 20,6% līdz attiecīgi 4,9% un 3,5%, vienlaikus minimāli ietekmējot proteīna uzturvērtību, par ko liecina nenozīmīgas izmaiņas tā aminoskābju sastāvā.
5. Neaizvietojamais aminoskābju saturs ekstrahētajā auzu proteīnā pārsniedza FAO ieteikumus norādīto līmeni pieaugušajiem, izņemot lizīnu.
6. Auzu proteīna koncentrāti, kas ekstrahēti ar fermentatīvo ekstrakciju, pārsvārā sastāv no auzu globulīna frakcijas, par ko liecina SDS-PAGE analīzes rezultāti, kuros dominē proteīna joslas aptuveni 28 un 46 kDa.
7. Iegūtais proteīns uzrādīja salīdzinoši zemu šķīdību un putošanas spēju, neatkarīgi no ekstrakcijas metodes un izmantotās sākotnējās izejvielas. Eļļas noturēšanas spēja bija robežās no 2,05 līdz 2,21 g g<sup>-1</sup>, bet ūdens noturēšanas spēja – no 2,61 līdz 3,00 g g<sup>-1</sup>.
8. Izmantojot vienskrūves ekstrūderi tīra auzu proteīna koncentrāta ekstrudēšanai, iegūst blīvu produktu tumšā smilškrāsā ar stingru konsistenci, kas pēc cietības, trausluma un stingrības pārspēj sojas proteīna ekstrudātu.
9. Promocijas darbā tika noskaidrots, ka tīra auzu proteīna koncentrāta izmantošana mitrās ekstrūzijas procesos ir iespējama, tomēr, lai optimizētu tā tekstūras īpašības, var būt nepieciešams iekļaut papildu sastāvdaļas, kas pielāgotas konkrētiem izmantošanas mērķiem.

*Mg.bus. admin.* Darius Sargautis  
e-mail / e-pasts: [darius.sargautis@outlook.com](mailto:darius.sargautis@outlook.com)  
Latvia University of Life Sciences and Technologies /  
*Latvijas Biozinātņu un Tehnoloģiju universitāte*  
Faculty of Agriculture and Food Technology /  
*Lauksaimniecības un pārtikas tehnoloģijas fakultāte*  
22a Rīgas Street, Jelgava, LV-3004, Latvia /  
*Rīgas iela 22a, Jelgava, LV-3004, Latvija*