

## CHITAZANO MAISTO PRODUKTUOSE NUSTATYMAS

Dalia Sekmokienė<sup>1</sup>, Vilma Speičienė<sup>2</sup>, Alviša Šalaševičienė<sup>2</sup>, Galina Garmienė<sup>2</sup><sup>1</sup>Lietuvos veterinarijos akademija, Tilžės g. 18, 47181, Kaunas; tel. (8~37) 36 26 95; el. paštas: dalsek@lva.lt<sup>2</sup>Lietuvos maisto institutas, Taikos pr. 92, 3031, Kaunas; tel. (8~37) 31 23 93; el. paštas: lmai@lmai.lt

**Santrauka.** Chitozanas – vienas perspektyviausių biologiškai aktyvių, į maistą dedamų ingredientų. Dedant jo į maisto produktus susiduriama su identifikavimo problema. Darbe ištirta, ar galima kiekybiškai įvertinti chitozано kiekį šio aminopolisacharido mišinyje su liesu pienu, išrūgų baltymais bei mėsos faršu (žaliu ir keptu), taikant įprastines bendro ir nebaltyminio azoto kiekio nustatymo metodikas. Ištirta, kad chitozanas kartu su lieso pieno baltymais sudaro nenustatytos kilmės cheminius kompleksus, kurie trukdo taikyti nebaltyminio azoto metodus mišiniuose su pieno baltymais nustatyti. Chitozано kiekį mišiniuose su išrūgų baltymų izoliatu bei mėsos (faršo) maistinėje matricoje preliminariai galima nustatyti taikant įprastines nebaltyminio azoto kiekio nustatymo metodikas, tik reikia įvesti pataisos koeficientus, nes nustatoma 81–86 % pridėto chitozано kiekio.

**Raktažodžiai:** chitozanas, chitozано nustatymo metodai.

## DETERMINATION OF CHITOSAN IN FOOD PRODUCTS

**Summary.** Chitosan is one of the most perspective biologically active ingredient, which is widely used as a food supplement. However, addition of chitosan to food products causes the problem of identification of its exact quantities in food.

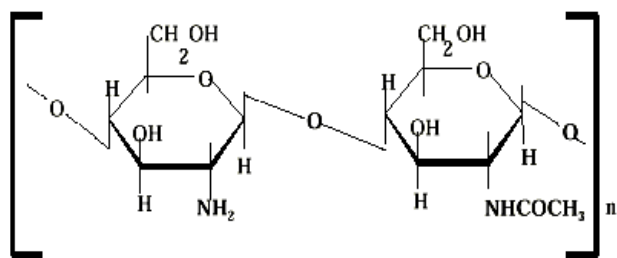
The study was performed to analyze the possibility of quantitative determination of chitosan added to skimmed milk, whey proteins and minced meat (raw and thermal treated). The common total nitrogen and non-nitrogen protein determination methods were used for analysis.

It was determined, that chitosan created untraceable chemical compounds with skimmed milk proteins. It was concluded that non-protein nitrogen methods not allowed to determine the presence of chitosan in mixtures with milk proteins.

**Keywords:** chitosan, food, quantitative determination.

**Įvadas.** Biologiškai veikioji medžiaga chitozanas yra maistinis pluoštas, išskirtas iš vėžiagyvių kriauklelių (Shadhidi et al., 1999). Tai aminopolisacharidas, chitino darinys. Cheminiu požiūriu chitinas ir chitozanas yra poliglikozaminai, kurie skiriasi acetilinimo laipsniu (Furda, 1983). Medikai yra ištyrę chitozано biologinį poveikį žmogaus organizmui: jis efektyviau už daugelį maistinių skaidulų reguliuoja daugelį organizmo funkcijų (Mhurchuet al., 2005; Kato et al., 2003). Ši medžiaga yra netoksiška. Dėl medicininių ir technologinių savybių chitozanas vis plačiau naudojamas maisto pramonėje, žinomi bandymai sukurti maisto produktus su chitozanu ir jo fermentacijos produktais (Lopez-Caballero et al., 2005; Sekmokienė, Kačerauskis, 2002). Tačiau technologiniu požiūriu chitozanas dar mažai tirtas.

Chitozanas – aminopolisacharidas, chitino, vieno iš gausiausiai gamtoje randamų polisacharidų, darinys (pav.).



Pav. Chitozано cheminė formulė

Chitinas yra pagrindinė jūrų vėžiagyvių, vabzdžių ir kitų gyvūnų dengiamųjų audinių dalis. Jo randama kai kurių mikroorganizmų ląstelių sienelių sudėtyje (Majeti, Kumar, 2000). Šio polisacharido gamybą iš vėžiagyvių kriauklelių sudaro daug technologijos etapų: baltymų šalinimo kriaukleles apdorojant 1–2% NaOH tirpalu, kalcio šalinimo apdorojant 10% HCl, chitino deacetilinimo 40–50% NaOH, plovimo, pH reguliavimo ir džiovinimo (Cho et al., 1998). Cheminiu požiūriu chitinas ir chitozanas yra į celiuliozę panašūs poliglikozaminai, besiskiriantys acetilinimo laipsniu, vienu iš pagrindinių rodiklių, lemiančių šių junginių tirpumą bei tirpalų savybes. Chitinas – linijinės struktūros polimeras, sudarytas iš 70–90% N-acetil-D-glikozamino ir 10–30% D-glikozamino vienetų, beta 1,4-glikozidinėmis jungtimis sujungtų atsitiktine tvarka. Chitozanas sudarytas iš 75–95% gliukozamino ir 5–25% N-acetil-D-glikozamino vienetų (Shadhidi et al., 1999; Cho et al., 1998). Pramoniniu būdu gaminamas jis yra baltos, rausvos arba gelsvos spalvos bekvapiai, beskoniai milteliai. Jo fizikinės ir cheminės savybės kinta priklausomai nuo gaminto sąlygų ir žaliavos.

Chitozanų, kuriems būdingos skirtingos fizikinės ir cheminės savybės, funkcinės savybės taip pat gana smarkiai kinta. Ištyrus skirtingus chitozanas nustatyta, kad jie gali sujungti nuo 3,6 iki 6,1 karto daugiau riebalų ir nuo 2,2 iki 4 kartų daugiau vandens nei jų pačių svoris. Taip pat turi savybę sujungti dažus (Knorr, 1982; 1983; Cho et al., 1998; No et al., 2000).

M. S. Rodriguez ir kiti tyrėjai (Rodriguez et al., 2003)

teigia, kad chitozanas gali sudaryti stabilias emulsijas nepridedant jokių kitų paviršiaus aktyvių medžiagų (PAM). Be to, minėti autoriai nustatė, kad didelio deacetilinimo laipsnio chitozono molekulės sudaro emulsijas, kuriose aliejus emulguotas vandenyje, o turinčios mažą deacetilinimo laipsnį – atvirkštinės emulsijas, tai yra tokias, kuriose vanduo emulguotas aliejuje. Y. Song su kolegomis (Song et al., 2002) tyrė lizozimo, iš kiaušinio baltymo išskirto baltymo, ir chitozono mišinių bei kovalentinių kompleksų, gautų Majero reakcijos metu, emulsavimo savybes. Jie nustatė, kad lizozimo-chitozono mišinių bei kompleksų emulsavimo aktyvumas, esant pH 4 ir pH 7, yra daug didesnis nei vien lizozimo ar chitozono. Nors emulsijoms, paruoštos su lizozimo-chitozono kompleksais, esant pH 4, būdingas daug didesnis stabilumas nei vien su lizozimu paruoštos, esant pH 7 šis efektas nėra toks žymus.

KTU Maisto institute tyrinėta chitozono ir išrūgų baltymų sistemų įtaka koncentruotų tiesioginio tipo emulsijų savybėms (Speičienė ir kt., 2002; 2004; Speičienė ir kt., 2004). Nustatyta chitozono bei išrūgų baltymų kiekio, taip pat pH bei NaCl kiekio įtaka emulsijų stabilumui, reologinėms savybėms ir mikrostruktūrai. Šias emulsijas būtų galima panaudoti kuriant sveikos mitybos požiūriu labiau priimtinas maisto produktus, kuriuose dalis gyvulinių riebalų pakeista augaliniais, juos kartu papildant biologiškai aktyvia medžiaga – chitozanu.

Chitozanui būdingas didelis biologinis ir fiziologinis aktyvumas, todėl jis naudojamas kaip funkcinio maisto (teigiamai veikiančio daugelį organizmo funkcijų ir profilaktiškai saugančio nuo ligų) ingredientas. Tai maistinė skaidula, kurios žmogaus organizmo gaminami fermentai neskaido. Pažymima, kad chitozanas nėra toksiškas junginys. Jo toksiškumas gali būti prilygintas cukraus ar druskos toksiškumui (Taravel, Domard, 1996; Ausar et al., 2001). Jam būdingos savybės, kurių augalinės kilmės skaidulos (celiuliozė, pektinas ir kt.) neturi. Mokslinėje literatūroje paskelbta daug darbų, kuriuose nustatyta teigiamas chitozono poveikis mažinant riebalų ir cholesterolio pasisavinimą tiek gyvūnų (Ikeda et al., 1993; Kanauchi et al., 1998), tiek žmonių (Maezaki et al., 1993) organizme. Manoma, kad chitozanas sudaro gelio tinklą, kuriame sulaikomi riebalai bei cholesterolis (Fukada et al., 1991). Nustatyta, kad mažo molekulinio svorio chitozanas stabdo vėžinių ląstelių plitimą (Qin et al., 2004).

Aminopolisacharidas maisto, o ypač mėsos pramonėje vis plačiau naudojamas dėl daugelio savybių (Simontachi, 1999; Tharanathan, Kittur, 2003). Jo į maisto produktus gali būti dedama siekiant modifikuoti produkto tekstūrą. Chitozanui būdingos tirštiklio bei gelį sudarančių medžiagų savybės. Pasižymėdamas antimikrobinu ir priešgrybeliniu aktyvumu, yra potencialus natūralios kilmės maisto, ypač mėsos produktų, konservantas (Rodriguez et al., 2002; Lopez-Caballero et al., 2005; Young et al., 2004). P. Darmadji ir M. Izumimoto (1994) tyrė chitozono įtaką mėsos mikrobiologinėms, cheminėms ir juslinėms savybėms. 10 dienų mėsos mėginius išsaugojus 4 °C temperatūroje, mėginiuose su chitozanu

(0,5–1,0%) sustabdytas gedimą sukeliančių bakterijų augimas, nustatyta mažesnė riebalų oksidacija ir geresnės juslinės savybės nei mėginiuose be chitozono. S. Sagoo su kolegomis (2002), S. Roller su kolegomis (2002) nustatė, kad chitozono gliutamatas efektyviai stabdo mikroorganizmų augimą maltose atvėsintose kiaulienos dešrelėse. S. R. Youn su grupe mokslininkų (1999) nustatė, kad 0,2% chitozono, kurio molekulinė masė 120 000, visiškai sustabdė mikroorganizmų augimą, tačiau dėl didelio maltos mėsos su chitozanu klampumo susidurta su technologiniais sunkumais. Mokslininkai rekomenduoja dešrelių gamybai naudoti chitozaną, kurio molekulinis svoris yra 30 000 ir mažesnis. C. Jo su kolegomis (2001) nustatė, kad chitozono oligomeras (molekulinė masė 5000; 0,2%), įdėtas į kiaulienos dešreles, nedarė įtakos mikroorganizmų augimui, bet sumažino riebalų oksidaciją produktą saugant, o jusliškai įvertinus dešrelių kokybę su chitozanu niekuo nesiskyrė nuo dešrelių be jo. Chitozanas sėkmingai pritaikytas ir kuniškų dešrelių su mažesniu riebalų kiekiu gamyboje (Lin, Chao, 2001). Tirtos jo kaip maistinio apvalkalo panaudojimo galimybės. Chitozanui būdinga sudaryti pusiau pralaidžias plėveles, į kurias įpakavus maisto produktus kontroliuojami drėgmės mainai su aplinka bei deguonies slėgis (Butler et al., 1996; Choi et al., 2002; Srinisava et al., 2004) Tiriamos šių plėvelių savybės, ieškoma naujų tyrimo metodų, kurie įvertintų plėvelių iš chitozono kokybę (Nobile et al., 2004).

Apibendrinus visą analizuotą literatūrą matyti, kad chitozanas – vienas perspektyviausių biologiškai ir fiziologiškai aktyvių į maistą dedamų ingredientų. Jis gali būti vertinamas kaip funkcinio maisto sudedamoji dalis. Dedant chitozaną į maisto produktus susiduriama su jo identifikavimo problema. Greiti ir nesudėtingi kiekybiniai chitozono nustatymo metodai, pagrįsti pirminės amino grupės spalvine reakcija su ninhidrinu (Prochazkova et al., 1999) ar anijoniniais dažais (Muzzarelli, 1998) maisto produktuose, kurių sudėtyje yra baltymų, netinkami. Daugelis polisacharidų kiekybinės analizės metodų pagrįsti jų hidrolize iki monosacharidų bei tolesniu monomerų charakterizavimu. Chitozono sudėtyje esančios teigiamai įkrautos amino grupės rūgštinės hidrolizės metu kliudo suardyti glikozidines jungtis, o netgi labai stiprioje šarminėje aplinkoje chitiną deacetilinant iki chitozono, ne visada įvyksta žymi depolimerizacija (Ottoy et al., 1995). Tai viena iš priežasčių, dėl kurios polisacharidų nustatymo metodai chitozanui sunkiai pritaikomi.

Vienas iš paprastesnių chitozono kiekybinio nustatymo metodų produktuose, kuriuose yra ir baltymų, galėtų būtų pagrįstas nebaltyminio azoto kiekio nustatymu. Nustačius nebaltyminio azoto kiekį pieno ar mėsos gaminiuose su chitozanu ir žinant paties chitozono bei pieno ir mėsos nebaltyminio azoto kiekį, būtų galima nustatyti pridėto chitozono kiekį. Kiekybinis chitozono nustatymo metodo sukūrimas įmanomas tik tuo atveju, jei jis nesudaro pernelyg tvirtų cheminių jungčių su maisto baltymais, tai yra jeigu baltymus įmanoma nusodinti. Taigi taikant šį metodą būtų galima įvertinti ir kompleksų tarp chitozono bei baltymų susidarymo galimybę.

Į pieno produktus chitozanas dedamas tirpalo pavidalo. Jis tirpsta acto, pieno rūgštyse. Ištirpsta santykinai nedidelis kiekis (1,5%) (Nol, Meyers, 2004; Kačerauskis ir kt., 2001), todėl pieno produktuose dėl nedidelio kiekio kiekybiškai jį nustatyti būtų sunkiausia. Į mėsos produktus, miltų gaminius dedama palyginti daug netirpaus rehidratuoto chitozono (5–20% rehidratuoto santykiu 1:5–1:7 masės), todėl jį aptikti ir nustatyti jo kiekį teoriškai turėtų būti lengviau.

**Darbo tikslas** – ištirti, ar galima kiekybiškai įvertinti chitozaną šio aminopolisacharido mišinyje su liesu pienu ir išrūgų baltymais bendro azoto ir nebaltyminio azoto kiekio nustatymo metodais.

**Medžiagos ir metodai.** Tyrimams naudotas chitozanas (Marine Chemicals, India), kurio santykinė molekulinė masė – 161 000, deacetilinimo laipsnis – 86%, taip pat naudotas rūgščiųjų išrūgų baltymų koncentratas (IBK) (Lacprodan DI-9213, MD Foods Ingredients Amba, Danija) bei sauso lieso pieno milteliai (SLP) (AB „Pieno žvaigždės“), kiaulių ilgiausiasis nugaros raumuo (*M. longissimus dorsi*) (ŽŪB „Nematekas“).

Tyrimams buvo gaminami šie mėginiai:

- Chitozono tirpalas.

Chitozanas yra tirpus rūgštinėje aplinkoje, o jo tirpalams būdingas didelis klampumas. 1,5% chitozono tirpalas buvo gautas atitinkamą chitozono miltelių kiekį 6 val. magnetine maišykle maišant 1% ledinės acto rūgšties tirpale. Chitozono koncentracijos pasirinkimą lėmė tai, kad didesnę jo kiekį dėl didelio tirpalų klampumo buvo sunku ištirpinti.

- IBK bei SLP tirpalai.

Buvo paruošti 7% IBK bei 10% SLP miltelių tirpalai, atitinkamą jų kiekį ištirpinant distiliuotame vandenyje 1 val. maišant magnetine maišykle.

- Chitozono ir IBK bei chitozono ir SLP mišiniai.

Šie mišiniai buvo paruošti chitozono ir IBK tirpalus bei chitozono ir SLP tirpalus sumaišius santykiu 1:1.

Mėsos gaminių paruošimas: susmulkinta 800 g kiaulių ilgiausiojo nugaros raumens (sietelio skersmuo 2 mm). Atliekant chitozono identifikavimo tyrimus maltos mėsos (faršo) maistinėje matricijoje, į faršą buvo pridėta 20% santykiu 1:7 rehidratuoto chitozono (12,5% chitozono ir vandens mišinys) ir iš jo kepti mėginiai. Vadinas, gryno chitozono į faršą pridėta 2,5%.

Tirti mėginiai:

- žalias faršas be chitozono (ŽF);
- žalias faršas su chitozanu (ŽFCh);
- keptas faršas (maltinukas) be chitozono (K);

1 lentelė. Azoto kiekis tirtuose mėginiuose su chitozanu ir pieno baltymais

Mėginiai	pH	Bendras azoto kiekis, %	Nebaltyminio azoto kiekis, %	Baltyminio azoto kiekis, % <sup>(1)</sup>
Chitozono tirpalas (1,5%)	4,42	0,085±0,004	0,072±0,001	0,013
IBK tirpalas (7%)	3,39	0,777±0,053	0,037±0,001	0,747
IBK+chitozanas (1:1) tirpalas	4,21	0,413±0,025	0,048±0,007	0,365
SLP tirpalas (10%)	6,77	0,443±0,008	0,005±0,001	0,438
SLP+chitozono tirpalas	4,87	0,200±0,007	– <sup>(2)</sup>	–

1 – baltyminio azoto kiekis buvo apskaičiuotas iš bendro azoto atimant nebaltyminio azoto kiekį

2 – SLP + chitozono tirpale nepavyko nustatyti nebaltyminio azoto kiekio, nes mūsų taikytu metodu baltymų nusodinti nepavyko

- keptas faršas (maltinukas) su chitozanu (KCh).

Parentant į mišinį dedamo chitozono ar jo tirpalo kiekį buvo atsižvelgiama, jog į maisto produktus dedama 1–3% gryno chitozono miltelių, prieš tai juos išbrinkinus vandenyje (Kačerauskis ir kt.; 2001; Sekmokiėnė, Kačerauskis, 2002).

Chitozono tirpalo, lieso pieno miltelių su chitozanu ir be jo, išrūgų baltymų su chitozanu ir be jo tirpalų bendras bei nebaltyminis azoto kiekis buvo nustatytas pagal LST IDF 20 B. Kiaulienos faršo, kiaulienos faršo su chitozanu, keptų maltinukų ir keptų maltinukų su chitozanu bendras bei nebaltyminis azotas buvo nustatytas pagal LST ISO 937:2000.

Visuose mėginiuose nustatytas bendras ir nebaltyminio azoto kiekis.

Chitozono bendras ir nebaltyminio azoto kiekis turėtų sutapti, nes visas chitozono sudėtyje esantis azotas yra nebaltyminės formos. Apskaičiavimai atlikti remiantis hipoteze, kad pridėto chitozono kiekį galima apskaičiuoti kaip nebaltyminio azoto kiekį. Reikia iš produkte su chitozanu nustatyto nebaltyminio azoto kiekio atimti produkto be chitozono nebaltyminio azoto kiekį.

Bandymai atlikti KTU Maisto institute.

Tyrimai kartoti ne mažiau kaip 3 kartus. Lentelėse pateiktos nustatytos vidutinės rezultatų vertės bei vidutinis standartinis nuokrypis.

**Tyrimų rezultatai.** Atlikę chitozono miltelių azoto kiekio tyrimus nustatėme, kad bendras azoto kiekis juose sudaro 5,246±0,05%.

Nustatytas bendras ir nebaltyminio azoto kiekis chitozono tirpale (1,5%), IBK tirpale (7%), SLP tirpale (10%), taip pat IBK ir SLP tirpalų mišiniuose su chitozanu. IBK ir SLP koncentracijos parinktos panašios į tas, kurios naudojamos maisto produktų gamyboje, įeina į produktų sudėtį. Lentelėje pateiktas visų mėginių bendras, baltyminis ir nebaltyminis azoto kiekis.

Tyrimų duomenys rodo, kad chitozono milteliuose bei jo tirpaluose azoto kiekį galima nustatyti įprastais cheminiais metodais. Chitozono tirpalą sumaišius su IBK tirpalu galima nustatyti tiek bendrą, tiek nebaltyminio azoto kiekį. Nors teoriškai visas azotas chitozane turėtų būti nebaltyminės kilmės, jo atkuriamumas įprastomis nebaltyminio azoto metodikomis yra 85% (bendras azoto kiekis 0,085%, o nebaltyminio – 0,07 %). Šis neatitikimas galėjo atsirasti dėl to, kad chitozono išgavimo iš kriauklelių metu baltymai ne visiškai buvo atskirti, tai yra chitozanas gali būti ne visai grynas.

Nustatėme, kad IBI tirpale bendras azoto kiekis sudaro 0,783%, o nebaltyminis azotas – 0,037%. Jeigu šį tirpalą santykiu 1:1 praskiestume vandeniui, nebaltyminio azoto kiekis būtų 0,019%. Tuo tarpu 7% IBK tirpalą praskiedus 1,5% chitozono tirpalu santykiu 1:1, nebaltyminio azoto buvo 0,059%. Metodo tikslumas leidžia daryti prielaidą, kad šiuo atveju galima nustatyti, „atgaminti“ visą pridėtą chitozono kiekį, išreiškiant jį nebaltyminio azoto kiekiu. Nebaltyminio azoto kiekis padidėti teoriškai turėjo 0,019%, o gavome 0,022% ( $0,059 - 0,037 = 0,022$ ), tačiau dėl nedidelio kiekio ir leidžiamų metodo paklaidų statistiškai tai patikimas rezultatas.

Tyrimo duomenys leidžia daryti prielaidą, kad nebaltyminio azoto nustatymo metodas ateityje gali būti taikomas chitozono kiekiui maisto produktuose nustatyti. Metodui patikslinti, kad jį taikant būtų gaunami statistiškai patikimi duomenys, reikia atlikti keletą papildomų tyrimų. Taip pat būtina patikslinti cheminį metodą, skirtą nebaltyminio azoto kiekiui chitozono mišiniuose su SLP nustatyti. Nors SLP tirpalui nebaltyminio azoto nustatymo metodai tinka, SLP + chitozanas tirpale baltymų nusodinti nepavyko nei trichloracto, nei kitomis rūgštimis. Galime daryti prielaidą, kad chitozanas su SLP esančiais baltymais sudaro stabilius junginius. Chitozono ir pieno baltymų sąveiką tyrė ir kiti mokslininkai. Nustatyta, kad chitozanas esant terpės pH 6, tai yra kai chitozanas yra teigiamai įkrautas (chitozono  $pK \approx 6,3$ ), o išrūgų baltymai įkrauti neigiamai, nusodina baltymus ir kitas išrūgų sudedamąsias dalis (Mukhopadhyay et al., 2003). Elektrostatinių kompleksų tarp chitozono ir išrūgų baltymų susidarymas užfiksuotas ir kituose darbuose (Laplante et al., 2002; 2004). Mūsų tirtose IBK +

chitozanas sistemose esant pH 4,21 tiek baltymai, tiek chitozanas yra teigiamai įkrauti, ir elektrostatinių kompleksų susidarymo galimybė yra nedidelė. Taikant nebaltyminio azoto nustatymo metodą ir apdorojus IBK + chitozanas tirpalus trichloracto rūgštimi, baltymus šiuose tirpaluose pavyko nusodinti. Kiti tyrėjai nustatė, kad chitozono tirpalas (pH 5,9), įpiltas į pieną, nulemia kazeino micelių koaguliaciją, o didžioji dalis išrūgų baltymų lieka tirpūs (Ausar et al., 2001). Mokslininkai teigia, kad tarp didelės ( $600 \times 10^3$ ), vidutinės ( $400 \times 10^3$ ) ir mažos ( $80 \times 10^3$ ) molekulinės masės chitozanų (apie 80% deacetilimo laipsnio) bei kazeino veikia elektrostatinės ir hidrofobinės jėgos, o tarp chitozono oligosacharidų (di-, tri-, tetra- ir pentasacharidų mišinio) ir minėtų baltymų – tik elektrostatinės. Tikėtina, kad SLP + chitozanas sistemose, kurių pH buvo artimesnis pieno baltymų izoelektriniam taškui, kompleksų susidarymo galimybė yra didesnė. Be to, kazeinų sąveika su chitozanu veikiausiai yra stipresnė nei su išrūgų baltymais.

Jei į pieno produktus įmaišyto chitozono kiekis sąlyginai yra labai mažas, nes jį įmaišyti galima tik tirpalo pavidalu, o chitozono tirpumas maistinėse rūgštyse yra ribotas, tai į mėsos gaminius jis dedamas netirpių drebučių (su vandeniui sumaišyto sauso chitozono) pavidalu.

Farše su chitozanu ir be jo, taip pat keptame maltinuke su chitozanu ir be jo nustatytas bendras ir nebaltyminio azoto kiekis ir perskaičiuotas į sausąsias medžiagas, kad būtų įmanoma palyginti. Maltinukų drėgnis buvo 45%, o faršo – 65%.

Azoto kiekiai, nustatyti tirtuose žalio faršo ir maltinukų mėginiuose, pateikti antroje lentelėje.

2 lentelė. Azoto kiekis tirtuose mėginiuose su chitozanu ir mėsos baltymais

Mėginiai	Bendras azoto kiekis perskaičiuojant į sausąsias medžiagas, %	Nebaltyminio azoto kiekis perskaičiuojant į sausąsias medžiagas, %	Baltyminio azoto kiekis perskaičiuojant į sausąsias medžiagas, %
Žalias faršas be chitozono, ŽF	5,603±0,012	0,604±0,002	4,999
Žalias faršas su chitozanu, ŽFCh	5,619±0,001	0,617±0,011	5,002
Keptas maltinukas be chitozono, K	5,641±0,231	0,690±0,061	4,951
Keptas maltinukas su chitozanu, KCh	5,657±0,102	0,704±0,021	4,953

Vertinant tyrimo rezultatus buvo atsižvelgta į tai, kad chitozono į faršą pridėta 2,5%, taigi jo, kaip nebaltyminio azoto, kiekis turėtų padidėti 2,5%. Pavyzdžiui, žalio faršo nebaltyminio azoto kiekis sudarė 0,604%, o faršo su chitozanu – 0,617%. Vadinasi, padidėjo 0,013%, tai yra 2,15% nebaltyminio azoto kiekio. Kadangi turėjome nustatyti visą pridėtą chitozono kiekį, tai yra 2,5%, o pagal tyrimų rezultatus galime konstatuoti, kad jo pridėta 2,15%, jo atkuriamumas yra 86,1%. Analogišku būdu išanalizavę keptų maltinukų duomenis galime konstatuoti, kad juose aptiktas chitozono kiekis siekia 2,03%, o atkuriamumas – 81,2%. Galime teigti, kad chitozono kiekio atkuriamumas žaliame farše yra didesnis negu keptuose maltiniuose. Galime daryti prielaidą, kad dalis chitozono ištekėjo keptant.

Apibendrinus tyrimų rezultatus galima teigti, kad baltymų turinčioje maistinėje matricoje (pieno ir mėsos gaminiuose) chitozono kiekį galima nustatyti įprastais nebaltyminio azoto nustatymo metodais, tačiau būtina metodų modifikacija ir tikslus įvertinimas įvedant pataisos koeficientus. Visa tai padėtų rasti funkcinio maisto ingredientų (šiuo atveju – chitozono) kiekybinio nustatymo metodus, juos įteisinti, kartu gerinti maisto produktų saugą, nes dedamų ingredientų kiekį būtų galima kontroliuoti.

#### Išvados.

1. Chitozono kiekį mišiniuose su išrūgų baltymų izoliatu preliminariai galima nustatyti taikant įprastines nebaltyminio azoto nustatymo metodikas. Norint

chitozaną įvertinti kiekybiškai, šias metodikas būtina tobulinti ir įvertinti statistiškai.

2. Chitozanas kartu su lieso pieno baltymais sudaro nenustatytos kilmės cheminius darinius, kurie trukdo taikyti nebaltyminio azoto metodus jam mišiniuose su pieno baltymais nustatyti.

3. Chitozono kiekį žalios ar keptos mėsos (faršo) maistinėje matricoje galima nustatyti įprastais nebaltyminio azoto nustatymo metodais, tik reikia taikyti pataisos koeficientus, nes nustatoma 81–86% pridėto kiekio.

#### Literatūra

1. Ausar S. F., Bianco I. D., Badini R. G., Gastagna L. F., Modesti N. M., Landa C. A., Beltramo D. M. Characterization of casein micelle precipitation by chitosan. *Journal of Dairy Science*. 2001. Vol. 2. P. 361–369.
2. Butler B. L., Vergano P. J., Testin R. F., Bunn J. N., Wiles J. L. Mechanical and barrier properties of edible chitosan films as affected by composition and storage. *Journal of Food Science*. 1996. Vol. 61. P. 953–955, 961.
3. Cho Y., No H. K., Meyers S. P. Physicochemical characteristics and functional properties of various commercial chitin and chitosan products. *Journal of Agricultural Food Chemistry*. 1998. Vol. 46. P. 3839–3843.
4. Choi W. Y., Park H. J., Anh J., Lee J., Lee C. Y. Wettability of chitosan coating solution on 'fuji' apple skin. *Journal of Food Science*. 2002. Vol. 67. P. 2668–2672.
5. Darmadji P., Izumimoto M. Effect of chitosan in meat preservation. *Meat Science*. 1994. Vol. 38. P. 243–254.
6. Ikeda I., Sugano M., Yoshida K., Sasaki E., Ivamoto Y., Hatano K. Effects of chitosan hydrolysates on lipid absorption and on serum and liver lipid concentration in rats. *Journal of Agricultural Food Chemistry*. 1993. Vol. 41. P. 431–435.
7. Fukada Y., Kimura K., Ayaki Y. Effect of chitosan feeding on intestinal bile acid metabolism in rats. *Lipids*. 1991. Vol. 26. P. 395–399.
8. Furda I. Aminopolysaccharides – their potential as dietary fiber. Unconventional sources of dietary fiber. American Chemical Society. 1983. P. 105–122.
9. Jo C., Lee J. W., Lee K. H., Byun M. W. Quality properties of pork sausage prepared with water-soluble chitosan oligomer. *Meat Science*. 2001. Vol. 59. P. 369–375.
10. Kačerauskis D., Sekmokienė D., Speičienė V. Biologiškai aktyvių skaidulinių medžiagų koncentratų įtaka modeliniams maltos mėsos gaminiams. Maisto chemija ir technologija: Lmal ir KTU mokslo darbai. 2001. T. 35. P. 35–40.
11. Kanauchi O., Deuchi K., Imasato Y., Kobayashi E. Increasing effect of a chitosan and ascorbic acid mixture on fecal dietary fat excretion. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*. 1994. Vol. 58. P. 1617–1620.
12. Kato Y., Onishi H., Machida Y. Application of chitin and chitosan derivatives in the pharmaceutical field. *Current Pharmaceutical Biotechnology*. 2003. Vol. 4. P. 303–309.
13. Koide S. Chitin-chitosan: properties, benefits and risks. *Nutrition Research*. 1998. Vol. 18. P. 1091–1101.
14. Knorr D. Functional properties of chitin and chitosan. *Journal of Food Science*. 1982. Vol. 47. P. 593–595.
15. Knorr D. Dye binding properties of chitin and chitosan. *Journal of Food Science*. 1983. Vol. 48. P. 36–37, 41.
16. Laplante S., Turgeon S. L., Paquin P. Effect of various factors on emulsion stability properties on chitosan in a model system containing whey protein isolate. In *Gums and Stabilizers for the Food Industry* (Ed. Williams P. A., Phillips G. O.) Cambridge, UK: The Royal Society of Chemistry, 2002. Vol. 11. P. 245–255.
17. Laplante S., Turgeon S. L., Paquin P. Effect of pH, ionic strength, and composition on emulsion stabilizing properties of chitosan in a model system containing whey protein isolate. *Food Hydrocolloids*. 2004. Vol. 18. P. 1–9.
18. Lin K. W., Chao J. Y. Quality characteristics of reduced-fat Chinese-style sausage as related to chitosan's molecular weight. *Meat Science*. 2001. Vol. 59. P. 343–351.
19. Lopez-Caballero M.E., Gomez-Guillen M.C., Perez-Mateos M., Montero P. A functional chitosan-enriched fish sausage treated by high pressure. *Journal of Food Science*. 2005. Vol. 70. P. 166–171.
20. Maezaki Y., Tsuji K., Nakagawa Y. Hypocholesterolemic effect of chitosan in adult males. *Bioscience Biotechnology Biochemistry*. 1993. Vol. 57. P. 1439–1444.
21. Majeti N. V., Kumar R. A review of chitin and chitosan applications. *Reactive & Functional Polymers*. 2000. Vol. 46. P. 1–27.
22. Mhurchu C. N., Dunshea-Mooij C., Bennet D., Rodgers A. Effect of chitosan on weight loss in overweight and obese individuals: a systematic review of randomized controlled trials. *Obesity reviews*. 2005. Vol. 6. P. 35–42.
23. Mukhopadhyay R., Talukdar D., Chatterjee B. P., Guha A. K. Whey processing with chitosan and isolation of lactose. *Process Biochemistry*. 2003. Vol. 39. P. 381–385.
24. Muzzarelli R. A. A Colorimetric determination of chitosan. *Analytical biochemistry*. 1998. Vol. 260. P. 255–257.
25. No H. K., Lee K. S., Meyers S. P. Correlation between physicochemical characteristics and binding capacities of chitosan products. *Journal of Food Science*. 2000. Vol. 65. P. 1134–1137.
26. Nobile M. A., Buonocore G. G., Conte A. Oscillatory sorption tests for determining the water-transport properties of chitosan-based edible films. *Journal of Food Science*. 2004. Vol. 69. P. 44–49.
27. Nol H. K., Meyers S. P. Preparation of tofu using chitosan as coagulant for improved shelf-life. *International Journal of Food Science & Technology*. 2004. Vol. 39. P. 133–141.
28. Ottoy M. H., Varum K. M., Smidsrod O. Compositional heterogeneity of heterogeneously deacetylated chitosans. *Carbohydrate Polymers*. 1995. Vol. 29. P. 17–24.
29. Prochazkova S., Varum K. M., Ostgaard K. Quantitative determination of chitosan by ninhydrin. *Carbohydrate polymers*. 1999. Vol. 38. P. 115–122.
30. Qin C., Zhou B., Zeng L., Zhang Z., Liu Y., Du Y., Xiao L. The physicochemical properties and antitumor activity of cellulase-treated chitosan. *Food Chemistry*. 2004. Vol. 84. P. 107–115.
31. Rodriguez M. S., Centurion M. E., Agullo E. Chitosan-yeast Interaction in Cooked Food: Influence of the Maillard Reaction. *Journal of Food Science*. 2002. Vol. 67. P. 2576–2578.
32. Rodriguez M. S., Ramos V., Agullo E. Antimicrobial action of chitosan against spoilage organisms in precooked pizza. *Journal of Food Science*. 2003. Vol. 68. P. 271–273.
33. Roller S., Sagoo S., Board R., O'Mahony T., Caplice E., Fitzgerald, Fogden M., Owen M., Fletcher H. Novel combinations of chitosan, carnocin and sulphite for the preservation of chilled pork sausages. *Meat Science*. 2002. Vol. 62. P. 165–177.
34. Sagoo S., Board R., Roller S. Chitosan inhibits growth of spoilage micro-organisms in chilled pork products. *Food Microbiology*. 2002. Vol. 19. P. 175–182.
35. Shadhidi F., Arachchi J. K. V., You-Jin Jeon. Food applications of chitin and chitosans. *Trends in Food Science & Technology*. 1999. Vol. 10. P. 37–51.
36. Sekmokienė D., Kačerauskis D. Chitozono įtaka maltos kiauulienos technologinėms savybėms. Maisto chemija ir technologija: Lmal ir KTU mokslo darbai. 2002. T. 36. P. 162–166.
37. Simontachi C. Frequently asked questions: all about chitosan. Putnam Publication group. 1999. P. 96.
38. Song Y., Babiker E. E., Usui M., Saito A., Kato A. Emulsifying properties and bactericidal action of chitosan-lysozyme conjugates. *Food Research International*. 2002. Vol. 35. P. 459–466.
39. Speičienė V., Leskauskaitė D., Kačerauskis D. Chitozono įtaka išrūgų baltymais stabilizuotų emulsijų savybėms. Maisto chemija ir technologija. Kaunas. 2002. T. 36. P. 167–171.
40. Speičienė V., Leskauskaitė D., Kačerauskis D. NaCl įtaka koncentruotų emulsijų su išrūgų baltymais bei chitozanu savybėms. Maisto chemija ir technologija. 2004. T. 38. Nr. 1. P. 74–79.
41. Speičienė V., Kačerauskis D., Leskauskaitė D. Aktyviojo rūgštingumo įtaka koncentruotų emulsijų su išrūgų baltymais ir chitozanu formavimuisi bei stabilumui. Cheminė technologija. Kaunas, Technologija. ISSN 1392–1231 2004. Nr. 4 (34). P. 76–81.
42. Srinisava P. C., Ramesh M. N., Kumar K. R. Properties of chitosan films under different drying conditions. *Journal of Food Engineering*. 2004. Vol. 63. P. 79–85.
43. Taravel M. N., Domard A. Collagen and its interaction with chitosan: III. Some biological and mechanical properties. *Biomaterials*. 1996. Vol. 17. P. 451–455.

44. Tharanathan R. N., Kittur F. S. Chitin – the undisputed biomolecule of great potential. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2003. Vol. 43. P. 61–87.
45. Winterowd J. G., Sanford P. A. Chitin and chitosan. In: *Food Polysaccharides and Their Applications*. (Ed Stephen.A. M.) Marcel Dekker. Inc. New York. 1995. P. 441–462.
46. Young S. K., Her J. H., Kim Y. J., Choi J. S., Park S. M., Ahn D. H. Studies on the improvement of shelf-life in spicy beef meat using chitosan. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*. 2004. Vol. 33. P. 207–211.
47. Youn S. K., Park S. M., Kim Y. J., Ahn D. H. Effect on storage property and quality in meat sausage by added chitosan. *Journal of Chitin and Chitosan*. 1999. Vol. 4. 189–195.
50. Mėsa ir mėsos produktai. Azoto kiekio nustatymas (LST ISO 937:2000).
51. LST IDF 20 B. Pienas. Azoto kiekio nustatymas. 1995.