

УДК 577.152.321: 664.292

¹Є.О. Омельчук, ¹В.О. Красінько, ¹І.О.Крапивницька, ²С.О.Сирчин

¹Національний університет харчових технологій, м. Київ

²Інститут мікробіології і вірусології НАН України, м. Київ

ВИКОРИСТАННЯ ЦЕЛЮЛОЛІТИЧНИХ ФЕРМЕНТНИХ ПРЕПАРАТІВ ДЛЯ ОТРИМАННЯ ЯБЛУЧНОГО ПЕКТИНУ

Досліджено можливість використання целюлолітичних ферментних препаратів для підвищення виходу пектину при обробці пектиновмісної сировини на стадії гідратування. Встановлено вплив концентрації ферментного препарату на вихід пектину, його ступінь етерифікації та молекулярну масу.

***Ключові слова:** яблучний пектин, вихід пектину, молекулярна маса, ступінь етерифікації, целюлолітичний ферментний препарат.*

Пектин – природний рослинний полісахарид, який широко застосовується у харчовій, переробній та фармацевтичній промисловостях завдяки своїм гелеутворюючим, стабілізуючим та сорбційним властивостям.

У рослинній тканині частина пектину знаходиться у вигляді протопектину – нативного пектину, міцно зв'язаного водневими, іонними і ковалентними зв'язками з іншими рослинними полісахаридами (целюлозою, геміцелюлозою). Залежно від походження та виду пектиновмісної сировини співвідношення протопектину до розчинного пектину може бути різним [1].

Основними промисловими джерелами пектину на території України є яблучні вичавки як відходи у виробництві соків та буряковий жом – відхід бурякоцукрового виробництва.

Класична технологія одержання пектину складається із таких основних стадій [2]:

- попередня підготовка сировини (замочування, гідратування пектиновмісної сировини);
- кислотний гідроліз-екстрагування;
- відокремлення твердої фази та очистка екстракту;
- виділення пектину з екстракту шляхом осадження етиловим спиртом;
- подрібнення та сушка пектину.

Базовим завданням процесу гідролізу у технології одержання пектину є розщеплення зв'язків у протопектині та переведення його у розчинну форму. Але навіть у жорстких умовах кислотного гідролізу даний процес проходить не в повній мірі. Так, наприклад, у яблучних вичавках знаходиться до 17% пектину. В процесі гідролізу-екстрагування за класичною технологією вилучають лише 50-55% пектину від загального вмісту в сировині [3].

Фізичні та фізико-хімічні фактори, які можуть збільшити вихід пектину (збільшення температури і тривалості гідролізу, зниження рН), не використовуються через економічну недоцільність та негативний вплив на якість готового продукту, тому для вирішення даної проблеми все частіше застосовують ферментні препарати, які здатні здійснювати гідроліз нерозчинного протопектину до розчинного пектину в достатньо м'яких умовах [4].

Для підвищення виходу пектину з рослинної сировини на різних стадіях виробництва доцільно застосовувати ферментні препарати, які містять у собі целюлази, геміцелюлази, протеїнази та здійснюють деградацію полімерів рослинної клітинної стінки, але не розкладають пектин.

Оскільки процес гідролізу-екстрагування проходить за достатньо жорстких умов (температура 75-80°C, значення рН в межах 1,8-2,2), за яких відбувається швидка інактивація більшості ферментів, то доцільним є використання ферментних препаратів на стадії передобробки пектиновмісної сировини – під час процесу її гідратування.

Матеріали і методи

Приготування розчину ферментного препарату. 1 г досліджуваного ферментного препарату (ФП) розводили у 100 мл дистильованої води в умовах перемішування на магнітній мішалці протягом 1 год. В процесі попередньої підготовки сировини готували серію розведень робочого розчину таким чином, щоб концентрація ферментного препарату становила від 0,1-0,5 (крок 0,1)% від вмісту пектиновмісної сировини.

Ферментативна передобробка пектиновмісної сировини. Сухі яблучні вичавки двічі промивали у воді. Спочатку у холодній (протягом 15 хв, гідромодуль 1:12 (співвідношення твердої та рідкої фази)), потім у нагрітій до 30°C (протягом 30 хв, гідромодуль 1:6).

Наважку в 20 г яблучних вичавок розтирали у ступці до однорідної маси, кількісно переносили у конічну колбу й додавали 100 мл розчину ферментного препарату визначеної концентрації та інкубували за температури 50°C і періодичного перемішування протягом 3 год.

Контрольну пробу готували за аналогічних умов без додавання ферментного розчину.

Гідроліз-екстрагування пектину здійснювали соляною кислотою за таких умов: рН 1,8-2,2, гідромодуль 1:3, температурі 75-80°C, протягом 90 хв, періодичне перемішування.

Виділення пектину. Гідролізну суміш розділяли на тверду і рідку фази центрифугуванням, тверду фазу промивали 50 мл дистильованої води, відокремлювали рідку фазу повторним центрифугуванням, яку додавали до основного екстракту, ретельно перемішували, фільтрували через паперовий фільтр і відбирали аліквоту 50 мл для одержання пектину.

Пектин осаджували 96% етиловим спиртом за температури 15°C і витримували протягом 30 хв, отриманий осад пектину (коагулят) промивали спиртом у співвідношенні пектин : етиловий спирт 1:1, відфільтровували на

попередньо зваженому паперовому фільтрі, висушували за 105°C до постійної маси і зважували.

Вихід пектину розраховували за формулою:

$$\ddot{I} = \frac{\grave{a} \cdot V}{\grave{A} \cdot m} 100\%$$

де \ddot{I} – масова частка пектину, одержаного з проби вичавок, %; \grave{a} – маса отриманого пектину, г; V – загальний об'єм екстракту, мл; \grave{A} – об'єм екстракту, взятого на осадження, мл; m – маса сировини, г [6].

Фізико-хімічні показники пектину. Одержаний пектин аналізували на такі фізико-хімічні показники: молекулярна маса та ступінь етерифікації.

Молекулярну масу одержаного пектину розраховували після визначення характеристичної в'язкості 1%-го розчину пектину за допомогою формули, перетвореної з рівняння Куна-Марка [6]:

$$M = \log_{\alpha} \frac{[\eta]}{k}$$

де $[\eta]$ – характеристична в'язкість; α , k – константи, які залежать від структури полімеру та його взаємодії з розчинником (для пектину $\alpha=1,22$; $k=1,1 \cdot 10^{-5}$).

Ступінь етерифікації пектину визначали титриметрично, згідно з ДСТУ 6088:2009.

Результати і обговорення

Для збільшення виходу пектину ми застосовували виділені з *Aspergillus* sp. 262 та *Corynascus* sp. 2006 327н целюлолітичні ФП для передобробки яблучних вичавок у процесі їх гідратування перед гідролізом та екстрагуванням із них пектину і досліджували вплив додавання ферментних препаратів на вихід та фізико-хімічні показники пектину.

Залежність виходу пектину від концентрації ферментного препарату в процесі гідратування яблучних вичавок наведено на рисунку 1.

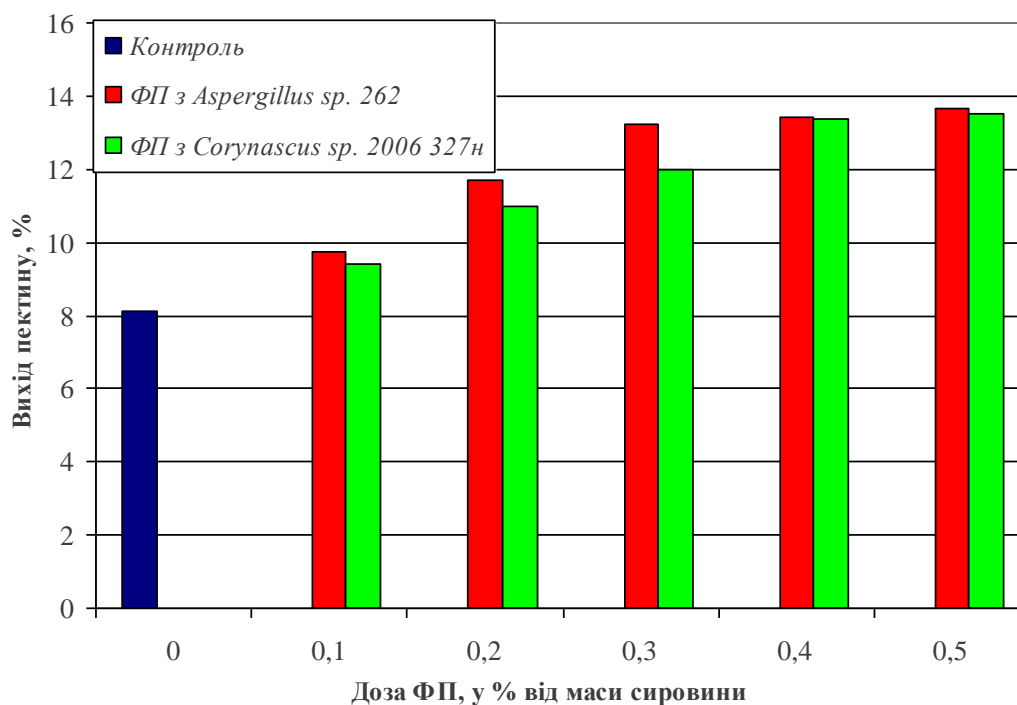


Рис. 1 Залежність виходу пектину від концентрації ферментних препаратів з *Aspergillus sp. 262* та *Corynascus sp. 2006 327n* у технологічному середовищі під час гідратування

Обробка яблучних вичавок різними концентраціями ФП з *Aspergillus sp. 262* призвела до збільшення виходу пектину на 5,13% при дозуванні ФП у 0,3% від маси сировини і 5,58% при 0,5%. Різниця між виходом пектину при 0,3, 0,4 та 0,5% вмісту ФП є незначною, тому більш доцільним для обробки яблучних вичавок в процесі їх гідратування є використання ФП у концентрації 0,3% від маси пектиновмісної сировини.

Обробка яблучних вичавок 0,4 % ФП з *Corynascus sp. 2006 327n* призвела до збільшення виходу пектину на 5,28% і на 5,43% при 0,5% концентрації ФП у технологічному середовищі. В інших випадках збільшення виходу не перевищувало 4%.

В одержаних зразках досліджували молекулярну масу (рис. 2) та ступінь етерифікації яблучного пектину (рис. 3).

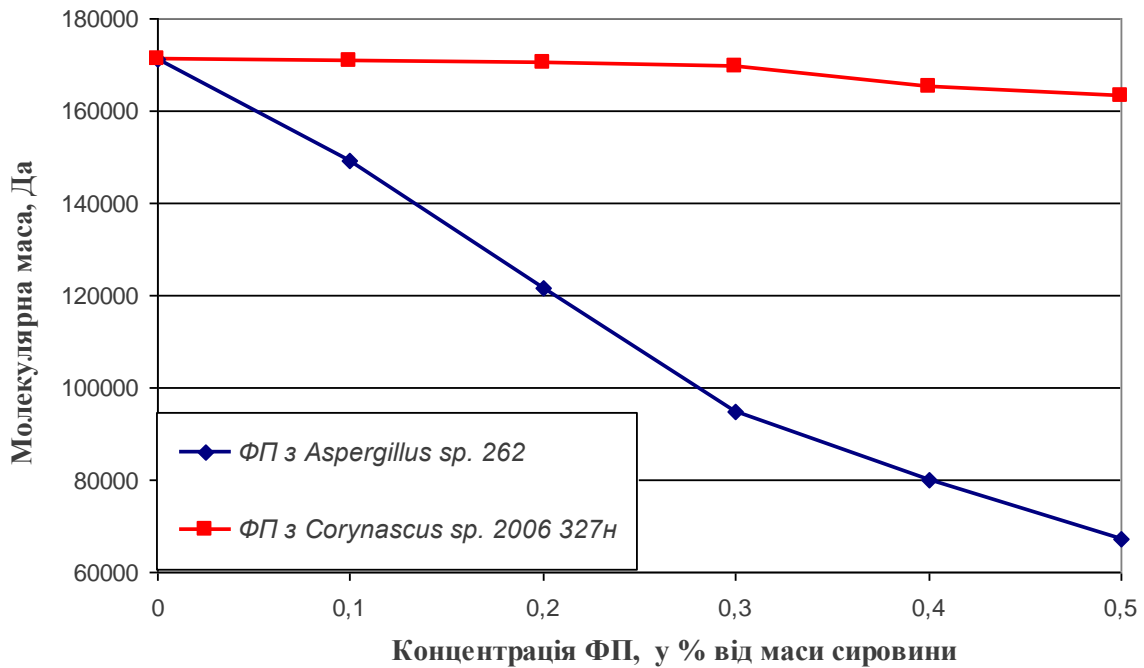


Рис. 2 Зміна молекулярної маси зразків яблучного пектину після обробки пектиновмісної сировини ФП різної концентрації

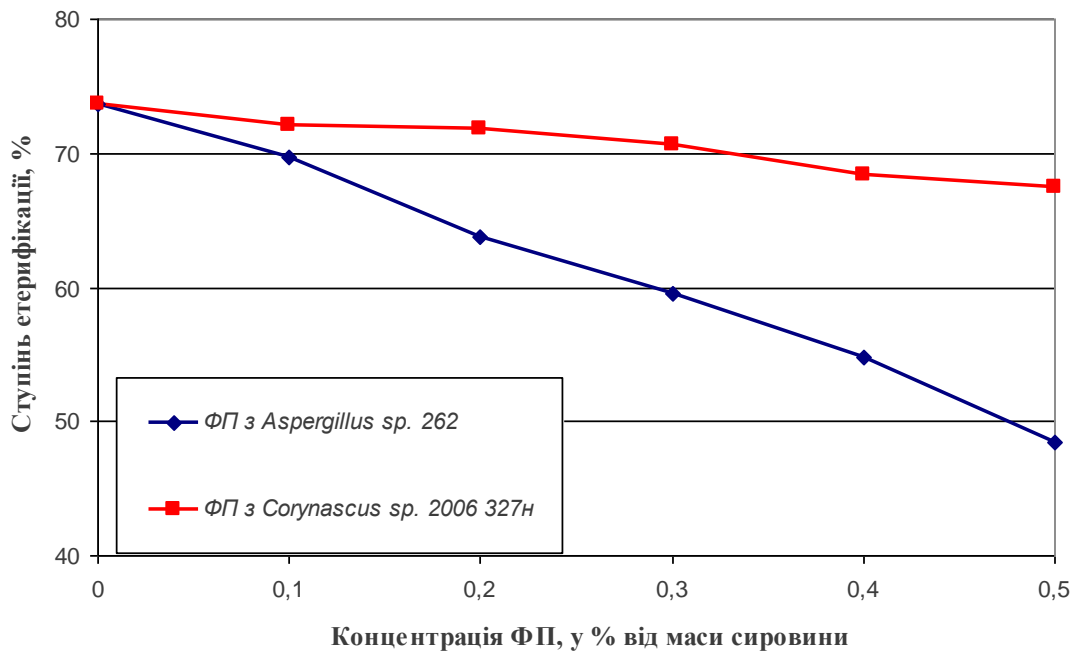


Рис. 3 Зміна ступеня етерифікації зразків яблучного пектину після обробки пектиновмісної сировини ФП різної концентрації

У зразках пектину, одержаних після обробки яблучних вичавок ФП з *Aspergillus* sp. 262 у різних дозуваннях, відбувається значне зниження

молекулярної маси пектину та ступеня його етерифікації. За максимальної концентрації ФП (0,5%) спостерігали зниження молекулярної маси пектину майже на 67% (до 68 кДа) та ступеня етерифікації на 34% (до 48%). Це пояснюється достатньо високими супутніми полігалактуроною та пектинестеразою активністю целюлолітичного ФП з *Aspergillus* sp. 262.

За умови обробки яблучних вичавок ФП з *Corynascus* sp. 2006 327н значних змін у молекулярній масі та ступені етерифікації не спостерігали. За використання максимальної концентрації ФП у 0,5% зміна молекулярної маси не перевищувала 5%, ступеня етерифікації – 9%.

Низькометоксильований яблучний пектин з невисокою молекулярною масою, одержаний після обробки сировини ферментним препаратом з *Aspergillus* sp. 262, після додаткової очистки можна застосовувати у фармацевтичній промисловості, як ефективний детоксикант та радіопротектор при отруєнні важкими металами та радіонуклідами, а також для виготовлення препаратів, які володіють імуностимулюючими, гемостатичними та антиметастазними властивостями. Завдяки створенню кислої реакції середовища, низькоетерифікований пектин здатен до бактерицидної дії на грампозитивні та грамнегативні патогенні мікроорганізми, але не впливає на ацидофільні молочнокислі та біфідобактерії [1].

Високометоксильований яблучний пектин з високою молекулярною масою, одержаний при обробці пектиновмісної сировини ферментним препаратом з *Corynascus* sp. 2006 327н можна застосовувати як структуроутворювач у виробництві харчових продуктів, а також для виготовлення фармацевтичних препаратів, які володіють гіпохолестеринемічною дією [1].

Висновки

Після обробки пектиновмісної сировини ферментними препаратами з *Aspergillus* sp. 262 та *Corynascus* sp. 2006 327н можна отримати пектини із різними фізико-хімічними властивостями і, відповідно, галузями застосування.

Оптимальним дозуванням ФП з *Aspergillus* sp. 262 є 0,3% від маси сировини – при цьому відбувається збільшення виходу пектину з 8,1% до 13,23%. Яблучний пектин за передобробки сировини даним ФП в процесі гідратування буде мати такі характеристики: середня молекулярна маса 100 кДа і ступінь етерифікації 60%.

Для ФП з *Corynascus* sp. 2006 327н оптимальним є дозування 0,4% від маси сировини, при цьому відбувається збільшення виходу пектину на 5,28%. За умови передобробки яблучних вичавок у процесі її гідратування даним ФП суттєвих змін в молекулярній організації пектину не спостерігається.

Одержані пектини можуть мати широке застосування як ефективні детоксиканти, радіопротектори, а також структуроутворювачі технологічних систем у виробництві харчової продукції, в тому числі й функціонального призначення.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Рустамбекова Г.У.* Сравнительная характеристика пектинов различного сырья / Г.У.Рустамбекова, Д.Т.Мирзарахметова, С.Х.Абдуразакова // Виноградство и виноделие. – 1992. – №1-2. – С.72-74.
2. *Донченко Л.В.* Пектин: основные свойства, производство и применение / Л.В. Донченко, Г.Г. Фирсов. – М.: ДеЛи принт, 2007. – 276 с.
3. *Mahawar, M.* Utility of apple pomace as a substrate for various products: A review / M.Mahawar, A.Singh, K.Jalgaonkar // Food and Bioproducts Processing. – 2012. – V.90, I.4. – P.597-605.

4. *Ptichkina*, N.M. Pectin extraction from pumpkin with the aid of microbial enzymes / N.M.Ptichkina, O.A.Markina, G.N.Rumyantseva // Food Hydrocolloids. – 2008. – V.22, I.1. – P.192-195.
5. Properties of pectinesterase from *Penicillium fellutanum* Biourge and new development in pectin applications / V.L.Aizenberg, S.A.Syrchin, S.A.Sedina [etc.] // Progress in Biotechnology (Ed. A.G.J.Voragen and J.Visser. – “Pectins and pectinases. Proceedings of an International Symposium”). – 1996. – V.14. – P.947-954.
6. *Шелухина Н.П.* Пектин и параметры его получения / Н.П.Шелухина, Р.Ш.Абаева, Г.Б.Аймухамедова. – Фрунзе: «Илим», 1987. – 108 с.

Е.А.Омельчук, В.О.Красинько, I.A.Крапивницкая, С.А.Сырчин
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЦЕЛЛЮЛОЗОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТНЫХ
ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ЯБЛОЧНОГО ПЕКТИНА

Была исследована возможность использования целлюлозолитических ферментных препаратов для повышения выхода пектина при предобработке пектинсодержащего сырья на стадии набухания. Установлено влияние концентрации ферментного препарата на выход пектина, его степень этерификации и молекулярную массу.

Ключевые слова: яблочный пектин, выход пектина, молекулярная масса, степень этерификации, целлюлозолитический ферментный препарат.

E.Omelchuk, V.Krasinko, I.Krapivnytska, S.Syrchin
USING CELLULOLYTIC ENZYMATIC AGENTS FOR IN APPLE
PECTIN PRODUCTION

Abstract. The possibility of using cellulolytic enzymatic agents for increase of pectin production during the hydration stage of processing of pectin-containing materials was studied. It was detected the influence of the concentration of

enzymatic agent on the pectin production, degree of its esterification and molecular weight.

***Key words:** apple pectin, pectin production, esterification degree, molecular weight, cellulolytic enzymatic agent.*