

О ДЕКАТИОНИЗАЦИИ ПЕКТИНСОДЕРЖАЩЕГО СЫРЬЯ НА ПРИМЕРЕ СВЕКЛОВИЧНОГО ЖОМА

Кондратенко В.В., канд. техн. наук, Царёва М.А., Кондратенко Т.Ю., Давыдова А.Ю.,
Алабина Н.М., канд. техн. наук

Всероссийский научно-исследовательский институт технологии консервирования –
филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения
«Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН
(Видное, Московская область)

Реферат. При обработке растительного сырья с высоким содержанием поливалентных катионов ферментными препаратами, катионы могут ингибировать или даже блокировать их работу. Для предотвращения этого был определён оптимальный режим декатионизации свекловичного жома водным раствором комплексона (на примере двузамещённой натриевой соли этилендиаминететрауксусной кислоты): концентрация $\sim 2,612 \text{ г/дм}^3$, продолжительность – 48 минут. В результате исследования косвенно установлено, что в процессе хелатообразования в свекловичном жоме принимают участие не только катионы Ca^{2+} , но и незначительное количество других – миорных – катионов. При установленном режиме декатионизация позволяет удалить из субстрата до $\sim 23\%$ содержащихся в нём катионов Ca^{2+} , что, предположительно, достаточно для стабилизации работы фермента на следующем этапе обработки свекловичного жома.

Ключевые слова: пищевые волокна, ферментные системы, комплексон, свекловичный жом, декатионизация

Summary. Within processing of plant materials with a high native or added content of polyvalent cations with enzymes, cations can inhibit or even block their activity. To prevent this, the optimum mode of sugar beet pulp decationization with an aqueous complexon solution was determined (by the example of the double-substituted sodium salt of ethylenediaminetetraacetic acid): the concentration is about 2,612 g/dm³, duration is 48 minutes. As an additional result of research, it was indirectly established that during chelating in beet pulp, in addition to Ca^{2+} cations, an insignificant number of other – minor – cations are also processed. Within the established condition, decationization allows to remove from the substrate up to $\sim 23\%$ of Ca^{2+} cations. Presumably, it should be sufficient for stabilization of the enzyme activity at the next stage of sugar beet pulp processing.

Key words: food fibers, enzyme systems, chelating agent, sugar beet pulp, decationization

Введение. Одной из важнейших задач, стоящих в настоящее время перед перерабатывающими отраслями отечественного агропромышленного комплекса, является повышение эффективности трансфера нутриентного потенциала сельскохозяйственного сырья и вторичных продуктов его переработки в пищевые системы и/или ингредиенты. Особенно актуально это в части вторичных продуктов переработки – жома сахарной свёклы, подсолнечного шрота, выжимок сырья после сокового производства, побочных продуктов пивоварения, виноделия и т.д., – они представляет ценное сырье для выделения функциональных высокомолекулярных компонентов. По своему гистологическому составу данное сырьё представляет собой обогащённую материалом клеточных стенок биомассу, в отдельных случаях более или менее существенно модифицированную, с пониженным содержанием компонентов протоплазмы [1]. В свою очередь, матрикс клеточных стенок включает в себя значительное разнообразие высокомолекулярных компонентов [2], по-

тенциально способных, будучи выделенными, проявлять функциональные свойства [3]. К ним относятся различные виды пищевых волокон, в том числе пектин [4].

Среди существующих способов извлечения функциональных компонентов растительного сырья наиболее экологичными являются биотехнологические, такие как, в частности, обработка ферментами [5]. Так, для выделения пектиновых веществ используются ферментные препараты комплексного действия с полигалактуроназной, арабаназной, галактаназной, целлюлазной, гемицеллюлазной и др. активностью [6]. Данный подход имеет как минимум один существенный недостаток – в качестве продуктов обработки образуется семейство растворимых высокомолекулярных фрагментов разной природы – рамногалактуронаны, арабинаны, галактаны, арабиноксиланы, ксилогликаны и др. [6]. В этом отношении более перспективным видится использование гомоферментных препаратов, отличающихся узким спектром объектов целевого действия [7].

Однако и в этом случае имеет место ряд факторов, уменьшающих целевую эффективность такого подхода при акцентировании внимания исключительно на природе используемых ферментов. Известно, что компоненты клеточных стенок нативно объединены между собой в единый матрикс посредством нескольких видов связей, таких, как простые и сложные эфирные, водородные, солевые и комбинированные мостики [2]. Солевые и комбинированные солевые мостики, в силу своей природы образованные с участием катионов поливалентных металлов, могут вызвать определённые затруднения для работы целевых фрагментов. Такой эффект может быть обусловлен изменением степени сродства активных центров ферментов к солевым внутримолекулярным связям, снижая эффективность фермента. Также солевые мостики сами могут дополнительно связывать выделяемые целевые фрагменты с матриксом. В этой связи потенциально возникает необходимость инактивации поливалентных катионов – основных составляющих данных мостиков. Особенно остро этот вопрос стоит в отношении свекловичного жома, для которого характерно высокое содержание катионов Ca^{2+} [4]. В целях профилактики подобных негативных эффектов авторы видят целесообразным введение в технологию выделения пектиновых веществ из растительного сырья гомоферментными препаратами предварительного этапа декатионизации с использованием хелатирующих агентов [8].

Объекты и методы исследований. В качестве объектов исследований использовались образцы сушёного негранулированного свекловичного жома, произведённые в Краснодарском крае (ЗАО «Успенский сахарник»). В качестве модельного активного агента (комплексона) использовали двузамещённую натриевую соль этилендиаминетрауксусной кислоты. Базовую концентрацию водного раствора рассчитывали, исходя из известных представлений о механизмах образования хелатов катионов с комплексоном. Базовая концентрация составила $2,87 \text{ г/дм}^3$. Поскольку в механизме образования хелатов кроме обычных ионных задействованы также и координационные связи катионов с комплексоном [9], динамика хелатообразования в целом потенциально может иметь нелинейный характер. В этой связи исследовали процесс декатионизации при различных концентрациях комплексона, дробно соотносящихся с базовой: 0,0; 0,1; 0,3; 0,5; 0,7; 0,9 и 1,1. Последние обозначали как «условные концентрации».

Динамику хелатообразования фиксировали по изменению удельной электрической проводимости (УЭП) системы. Для определения УЭП использовали кондуктометр лабораторный WTW inoLab® Cond 7310, укомплектованный погружной ячейкой с чернёными платиновыми электродами.

Для каждой дробной концентрации комплексона исследование проводили следующим образом. Навеску сухого свекловичного жома 20 г помещали в стеклянный стакан на 1000 см^3 . К навеске приливали бидистиллированную воду объёмом 400 см^3 температурой 20°C . Смесь перемешивали и оставляли для набухания в течение 18 ч. Затем первичный

водный экстракт отфильтровывали через бумажный обеззоленный складчатый фильтр «красная лента». Осадок с фильтра количественно переносили обратно в стакан небольшими порциями водного раствора комплексона, предварительно нагревшего до температуры 40 °C. В этот же стакан прибавляли дополнительное количество водного раствора комплексона, предварительно нагревшего до температуры 40 °C до доведения общего его объема в системе 450 см³. Стакан с системой помещали на водяную баню при той же температуре, вводили погружную кондуктометрическую ячейку и с помощью оригинального программного обеспечения, прилагаемого к кондуктометру, фиксировали динамику УЭП в течение 19200 с (до перехода в зону «плато») с дискретностью 30 с. Полученный экстракт отфильтровывали через бумажный обеззоленный складчатый фильтр «красная лента». В фильтрате определяли массовую долю катионов Ca²⁺ по [10]. Кроме того определяли УЭП каждого из приготовленных водных растворов комплексона. Все исследования проводили в трёхкратной повторности.

Математическую обработку экспериментальных данных проводили с использованием программного обеспечения, прилагаемого к аналитическому оборудованию, специализированного программного обеспечения TableCurve 2D v.5.01 (SYSTAT Software Inc.), табличного процессора Microsoft Excel 2010 (Microsoft Corporation) со встроенным языком программирования VBA и надстройкой Addinsoft XLSTAT Version 2014.5.03. Первичное отсеивание статистически недёжных экспериментальных данных в повторностях, расчёты средних и погрешностей эксперимента проводили с использование существующих подходов [11]. Обработку данных по методу главных компонент Пирсона проводили по [12].

Обсуждение результатов. Первичный анализ экспериментальных данных динамики УЭП системы «свекловичный жом – водный раствор комплексона» от продолжительности процесса взаимодействия показал отличие как в форме кривой, её отражающей, так и в локализации областей определения зависимого показателя при использовании растворов с разными условными концентрациями комплексона. Для проведения дальнейшего анализа, экспериментальные данные были трансформированы в единую область варьирования УЭП. В качестве фактора инвариантности были приняты значения УЭП исходных растворов комплексона. Для каждой условной концентрации были рассчитаны приведённые значения УЭП по формуле:

$$Q_{sp} = Q_t - Q_o, \quad (1)$$

где Q_{sp} – приведённая УЭП, мкСм/см; Q_t – УЭП системы «комплексон – сырьё» как функция продолжительности процесса $f(\tau)$, мкСм/см; Q_o – УЭП исходного водного раствора комплексона, мкСм/см.

Для каждой зависимости была определена функция, наиболее адекватно аппроксимирующая приведённые экспериментальные данные при $\alpha < 0,05$. Полученные в результате первичной обработки динамики приведённой УЭП в процессе декатионизации при разных условных концентрациях комплексона представлены на рис. 1.

Анализ полученных результатов показал, что процесс взаимодействия комплексона с катионами сырья происходит в два последовательных этапа. На первом происходит непосредственное связывание катионов комплексоном, при этом УЭП системы «комплексон – сырьё» уменьшается и момент «насыщения» комплексона катионами характеризуется локальным минимумом УЭП. Особенно явно это в вариантах с максимальными значениями условной концентрации комплексона. На втором этапе продолжается лишь процесс диффузии отдельных мономерных компонентов сырья в экстракт, в результате чего происхо-

дит монотонное возрастание УЭП со стремлением к некоторому асимптотическому значению при $t \rightarrow \infty$.

Следует отметить, что увеличение условной концентрации комплексона приводило к увеличению выраженности (аналитической визуализации) процесса связывания катионов. При этом заметным он становился, начиная с условной концентрации 0,5 ед. Косвенно наличие процесса фиксировали визуализацией локальных экстремумов (точки T1, T2, T3 и T4), а выраженность – продолжительностью процесса до достижения этих экстремумов. Предположительно, при значениях условной концентрации комплексона меньше 0,5 ед., насыщение комплексона катионами происходило практически мгновенно (по временным масштабам исследований), что косвенно указывает на сильный дефицит комплексона.

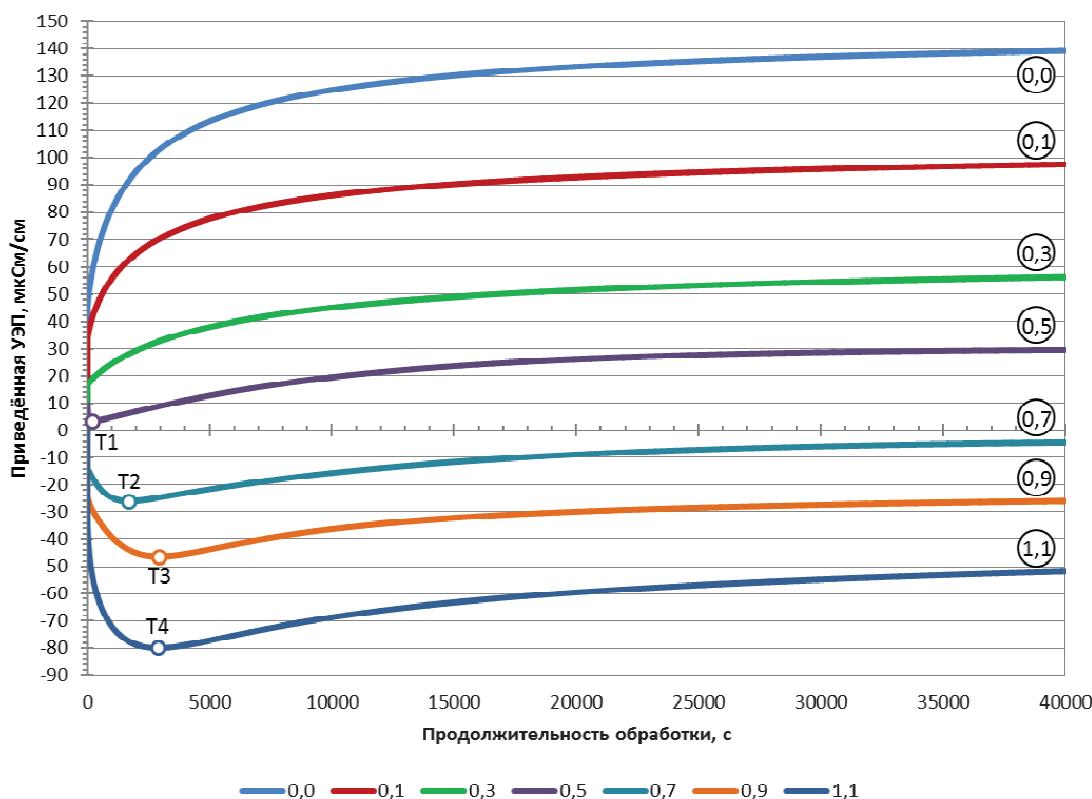


Рис. 1. Динамика приведённой УЭП в процессе декатионизации системы «комплексон – субстрат» при разных концентрациях комплексона: 0,0, 0,1, 0,3, 0,5, 0,7, 0,9 и 1,1 – условные концентрации комплексона, ед.; T1, T2, T3 и T4 – точки экстремумов

Для нахождения оптимальных режимов декатионизации, были аналитически определены численные значения локальных минимумов, на основании которых провели дальнейший анализ зависимости продолжительности активного связывания катионов (достижение экстремума) от величины условной концентрации комплексона. Для этого точки экстремумов расположили в системе координат «условная концентрация комплексона – продолжительность обработки до достижения экстремума». В данной системе функция, адекватно аппроксимирующая аналитически полученные данные, имеет вид:

$$y = \frac{a}{1 + \exp\left(\frac{b-x}{c}\right)}, \quad (2)$$

где x – условная концентрация комплексона, ед.; y – продолжительность связывания катионов, с; $a = 2949,625211$; $b = 0,679466805$; $c = 0,06158077$.

Полученная зависимость адекватно аппроксимирует исследуемый процесс с $\alpha \leq 0,00001$. Константа и коэффициенты адекватны с $\alpha \leq 0,0005$. Коэффициент корреляции 0,998442, что говорит о тесной связи исследуемых показателей.

Результаты исследований приведены на рис. 2.

Функция, описывающая зависимость, имеет тенденцию к неравномерному монотонному возрастанию к асимптотическому значению, равному ~ 2950 с при $x \rightarrow \infty$.

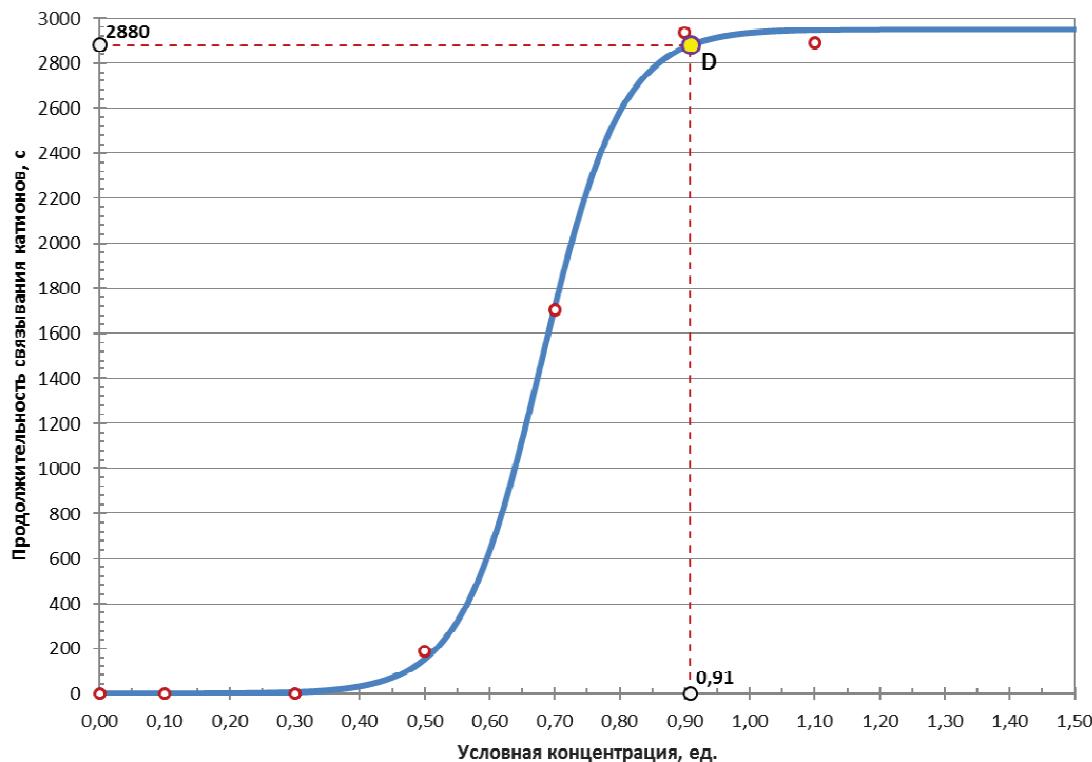


Рис. 2. Зависимость продолжительности эффективного хелатообразования от условной концентрации комплексона в системе «комплексон – субстрат»

Дальнейший анализ функции показал, что при достижении некоторого значения условной концентрации комплексона – точки D – дальнейшее её увеличение приводит к переходу в состояние плато. Данное критическое значение находили методом нормированного асимптотического приближения при $d = 1\%$ и $\Delta x = 0,1$ ед., в соответствии с формулой (3).

$$\frac{|f(x_D + \Delta x) - f(x_D)|}{f(x_D)} \leq d, \quad (3)$$

где $f(x_D)$ – значение функции в точке x_D ; $f(x_D + \Delta x)$ – значение функции в точке $x_D + \Delta x$; d – максимально допустимое приращение значения функции $f(x_D)$ на интервале Δx независимой переменной, %.

В результате, с учётом округления расчётной продолжительности процесса до ближайшего минимального целого количества минут, в качестве оптимального предварительно определён следующий режим декатионизации:

– условная концентрация комплексона $C_c = 0,91$ ед. или $2,612 \text{ г}/\text{дм}^3$;

– продолжительность процесса $\tau_c = 2880 \text{ с} = 48 \text{ мин.}$

Адекватность режима был подтверждён исследованием зависимости массовой доли хелатно связанных катионов Ca^{2+} от условной концентрации комплексона в системе «комплексон-субстрат» (рис. 3).

Функция, наиболее адекватно аппроксимирующая экспериментальные данные, имеет вид:

$$y = \frac{a}{1 + \left(\frac{x}{b}\right)^c}, \quad (4)$$

где x – условная концентрация комплексона, ед.; y – массовая доля связанных катионов Ca^{2+} , мг/100 г жома; $a = 181,6999319$; $b = 0,481401217$; $c = -7,27990297$.

Полученная зависимость адекватно аппроксимирует экспериментальны данные с $\alpha \leq 0,00001$. Константа и коэффициенты адекватны с $\alpha \leq 0,00023$. Коэффициент корреляции 0,999974, что говорит о тесной связи исследуемых показателей.

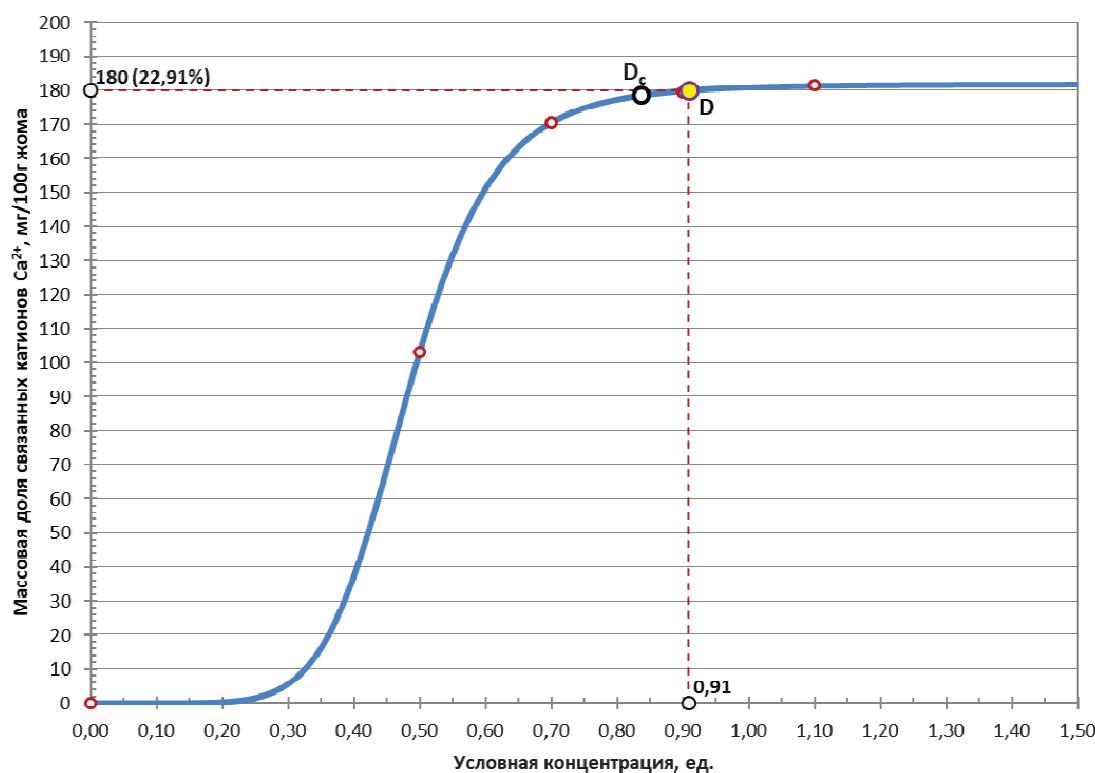


Рис. 3. Зависимость массовой доли связанных катионов Ca^{2+} от условной концентрации комплексона в системе «комплексон-субстрат»

Функция (4), описывающая зависимость, имеет тенденцию к неравномерному монотонному возрастанию к асимптотическому значению, равному 181,7 мг/100 г жома при $x \rightarrow \infty$. Для функции по формуле (3) при тех же граничных условиях было рассчитано место перехода в зону плато – координаты точки D_c . Отличие ранее рассчитанной точки D от значения точки D_c со смещением первой вглубь зоны плато указывает на то, что в процессе хелатообразования участвовали не только катионы Ca^{2+} , но и другие катионы, миорные по отношению к нему, например, Mg^{2+} . Таким образом, установленный режим декатионизации является достаточным.

Стоит особо отметить, что при установленном режиме декатионизация сырья – частичная, позволяющая вывести из субстрата около 23 % катионов (по Ca^{2+}), что, предположительно, является достаточным для стабилизации работы ферментной системы следую-

щего этапа в силу весьма ограниченной реакционной активности остаточного количества катионов.

Выводы. В результате проведённых исследований установлен оптимальный режим предварительной декатионизации свекловичного жома для последующей ферментативной обработки:

- концентрация водного раствора комплексона (на примере ЭДТА) $\sim 2,612 \text{ г/дм}^3$;
- продолжительность декатионизации – 48 минут.

Косвенно установлено, что в процессе хелатообразования принимают участие не только катионы Ca^{2+} , но и другие миорные катионы.

Установленный режим декатионизации позволяет удалить из субстрата до 23 % содержащихся в нём катионов Ca^{2+} , что, предположительно, достаточно для стабилизации работы фермента на следующем этапе обработки свекловичного жома.

Литература

1. Лукин А.Л. Свекловичный пектин: от поля до конечного продукта / А.Л. Лукин, В.В. Котов, Н.Г. Мязин. – Воронеж: Истоки, 2005. – 176 с.
2. Dominiak M.M. A novel perspective on pectin extraction / M.M. Dominiak, J.D. Mikkelsen, K. Marie Søndergaard / Ph.D. Thesis. – Technical University of Denmark, Department of Chemical and Biochemical Engineering, 2014. – 113 р.
3. Хатко З.Н. Свекловичный пектин полифункционального назначения: свойства, технологии, применение / З.Н. Хатко. – Майкоп: МГТУ, 2012. – 244 с.
4. Кондратенко В.В. О некоторых особенностях сушёного свекловичного жома как сырья для производства пектина / В.В. Кондратенко, Т.Ю. Кондратенко, М.А. Царёва, Е.Ю. Колпаков, В.П. Рачкова, М.А. Хрупalo // Инновационные пищевые технологии в области хранения и переработки сельскохозяйственного сырья: фундаментальные и прикладные аспекты: Материалы VI международной научно-практической конференции. – Краснодар, 2016. – С.42-46.
5. Nadar Sh.S. Enzyme assisted extraction of biomolecules as an approach to novel extraction technology: A review / Sh.S. Nadar, P. Rao, V.K. Rathod // Food Research International – 2018. – V.108. – pp.:309-330.
6. Babbar N. Enzymatic pectic oligosaccharides (POS) production from sugar beet pulp using response surface methodology / N. Babbar, W. Dejonghe, S. Sforza, K. Elst // J. Food Sci. Technol. – 2017. – V.54(11). – pp.3707-3715.
7. Кондратенко В.В. Исследование возможности комплексного ферментативного экстрагирования отдельных полимерных компонентов из сухого свекловичного жома / В.В. Кондратенко, А.П. Синицын, Т.Ю. Кондратенко, Л.В. Киселёва, Н.М. Алабина // Инновационные пищевые технологии в области хранения и переработки сельскохозяйственного сырья: Материалы V Международной научно-практической конференции. – Воронеж: 2015. – С.92-98.
8. Кропачева Т.Н. Моделирование ремобилизации тяжёлых металлов под действием ЭДТА/ Т.Н. Кропачева, В.И. Корнев // Вода: химия и экология. – 2012. – №5. – С.92-98.
9. Leštan D., Luo Ch.-l., Li X.-d. The use of chelating agents in the remediation of metal-contaminated soils: A review / D. Leštan, Ch.-l. Luo, X.-d. Li // Environ. Pollut. – 2008. – V.153(1). – pp.3-13.
10. ГОСТ Р 51429-99 Соки фруктовые и овощные. Метод определения содержания натрия, калия, кальция и магния с помощью атомно-абсорбционной спектрометрии. – М.: 2002. – 8с. – Дата последнего изменения: 19.04.2010.
11. Seltman Y.J. Experimental Design and Analysis / Y.J. Seltman. – 2014. – 414 p.
12. Abdi H. Principal component analysis. Overview / H. Abdi, L.J. Williams // WIREs Computational Statistics. – 2010. – V.2. – pp.433-459.