

УДК 664.292

ИССЛЕДОВАНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ЭКСТРАКЦИИ ПЕКТИНА ИЗ ОТХОДОВ ПЕРЕРАБОТКИ ЯБЛОК ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ФЕРМЕНТНЫХ ПРЕПАРАТОВ И НЕИОНОГЕННЫХ ПОВЕРХНОСТНО-АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ**Л.Н. Скрыпник, А.Е. Новикова***Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта, Калининград, Россия*

Введение. Промышленность по переработке фруктов и овощей производит большое количество побочных продуктов, таких как кожура, семена и скорлупа, которые содержат большое количество биоактивных компонентов, включая антиоксиданты (полифенолы, токоферолы), пигменты, ароматические соединения, белки, эфирные масла, ферменты и пищевые волокна. Пектин является одним из наиболее распространенных компонентов в отходах пищевой промышленности и побочных продуктах биомассы, поэтому оптимизация экстракции и извлечения пектина важна для полной оценки этих сырьевых ресурсов [1].

Пектин представляет собой структурный комплекс, состоящий из основной цепи (1–4) остатков α -D-галактуроновой кислоты, которые частично этерифицированы метиловым спиртом по карбоновой кислоте, и некоторых нейтральных сахаров [2].

При производстве яблочных соков пектиновые вещества практически полностью остаются в яблочных выжимках – отходах переработки яблок. Содержание пектина в них составляет 10–17 % в пересчете на сухую массу [3]. Использование яблочных выжимок в качестве сырья для экстракции из них пектина позволит, во-первых, сократить количество отходов переработки яблок и, во-вторых, более экономно расходовать растительные ресурсы.

На сегодняшний день можно выделить несколько основных подходов, используемых при экстракции соединений пектиновой природы. Это классические методы, основанные на способности хорошо растворяться в водно-спиртовых растворах. Также, методы ультразвуковой, микроволновой экстракции [4]. Однако использование пектинов как биологически активных соединений в коммерческих целях требует разработки экологически чистых и экономически эффективных методов экстракции из растительного сырья. В связи с этим, методы экстракции, относящиеся к так называемой «зеленой химии», приобретают все большее значение.

Мицеллярная экстракция – это метод, основанный на использовании поверхностно-активных веществ и позволяющий проводить экстракцию за более короткий промежуток времени, без использования органических растворителей, что важно для сохранения термолабильных компонентов и для сокращения потребления энергии [5]. Другим современным, экологически-чистым способом получения пектина является биотехнологический способ, основанный на применении при экстракции гидролитических ферментов, как правило, микробного происхождения. Ранее было показано, что использование ферментных препаратов позволяет повысить выход пектина при экстракции с сохранением его качественных характеристик [6]. Таким образом, сочетание мицеллярной и ферментативной экстракции должно позволить повысить выход пектина, сократить время экстракции и снизить расход органических растворителей и минеральных солей.

В связи с этим целью данной работы являлся подбор параметров экстракции пектина из отходов переработки яблок с использованием ферментных препаратов и неионогенных поверхностно-активных веществ.

Материалы и методы. В качестве объекта исследования использовали отходы переработки яблок сорта Royal Gala (Италия). Яблочные выжимки были получены при отжиме сырья на соковыжималке (Журавинка, Беларусь). Затем полученные отходы высушивали в сушильном шкафу (Binder, Германия) при 60 °C до постоянного веса. Далее высушенный жмых подвергали измельчению до размера частиц 0,1 мм и просеивали. Подготовленные яблочные выжимки хранили в плотно закрывающейся емкости при комнатной температуре.

Экстракцию пектина проводили двумя методами. В качестве контрольного использовался «классический» метод экстракции, основанный на осаждении пектиновых веществ концентрированной соляной кислотой [7].

Для проведения мицеллярно-ферментативной экстракции к 2 г измельченного образца добавляли 60 мл 0,05 н HCl, гидролитические ферменты и ПАВ. Экстракцию проводили в течение 3 часов при

температуре 40 °С, затем экстракт отфильтровывали через марлю. Полученный фильтрат разливали в пробирки, после чего в каждую пробирку добавляли 35 мл 95 % спирта. Эти пробирки отправляли в холодильник на 12 часов. По истечении этого времени пробирки ставили центрифугироваться на 25 минут при 3900 об/мин. Затем полученный осадок промывали 70 % спиртом и снова ставили центрифугироваться в течение 25 минут при 3900 об/мин. Промывание спиртом повторяли 3 раза, после чего полученный пектин высушивали в сушильном шкафу при температуре 60 °С. После полного высыхания пробирки взвешивали и рассчитывали выход пектина из сырья.

В качестве гидролитических ферментов использовали ксиланазу (активность – 10000 ед./г), целлюлазу (активность – 2 500 ед./г) и их смесь, в качестве ПАВ – полисорбат-20 и полисорбат-80. После выбора оптимальных ферментов и ПАВ проводился подбор их эффективных концентраций согласно вариантам эксперимента, представленным в таблице 1.

Таблица 1 – Варианты эксперимента по подбору концентрации ПАВ и гидролитических ферментов для экстракции пектина из яблочной выжимки

Вещество	Варианты эксперимента				
	№ 1	№ 2	№ 3	№ 4	№ 5
Целлюлаза, мг/г сырья	10	20	30	50	75
Ксиланаз, мг/г сырья	2,5	5,0	25	50	75
ПАВ, %	0,5	1,0	1,5	2,0	2,5

Выделенный пектин проверяли на содержание в нем галактуроновой кислоты и степень этерификации согласно [8].

Эффективность экстракции оценивали по величине выхода пектина, выраженного в %. Все эксперименты повторялись минимум 3 раза. На графиках представлены средние значения с указанием стандартного отклонения. Полученные экспериментальные данные были обработаны статистически с использованием однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA). Достоверность различий между средними оценивали с помощью критерия Тьюки (при $p \leq 0,05$). Достоверно различимые средние обозначены на рисунках различными латинскими буквами.

Результаты. Мицеллярно-ферментативная экстракция подразумевает под собой использование в ходе экстракции ферментов и поверхностно-активных веществ. Результаты исследования эффективности экстракции пектина при использовании ксиланазы и целлюлазы, а также их смеси представлены на рисунке 1.

Как видно из представленных на рисунке 1 данных, использование смеси гидролитических ферментов позволяет повысить выход пектина в 1,2–1,5 раза по сравнению с применением отдельных ферментных препаратов.

При выборе эффективного поверхностно-активного вещества учитывалась не только его способность повышать выход пектина при экстракции, но и возможность его использования в пищевой или фармацевтической промышленности без вреда для здоровья человека. Среди неионогенных ПАВ к использованию в качестве пищевых добавок разрешены вещества группы полисорбатов. Результаты исследования эффективности экстракции пектина при использовании в качестве экстрагентов растворов полисорбата-20 и полисорбата-80 показали, что применение полисорбата-20 совместно со смесью гидролитических ферментов позволяет добиться более высокого выхода пектина (рисунок 2).

Результаты исследований по подбору концентраций ферментов и полисорбата-20 представлены на рисунке 3.

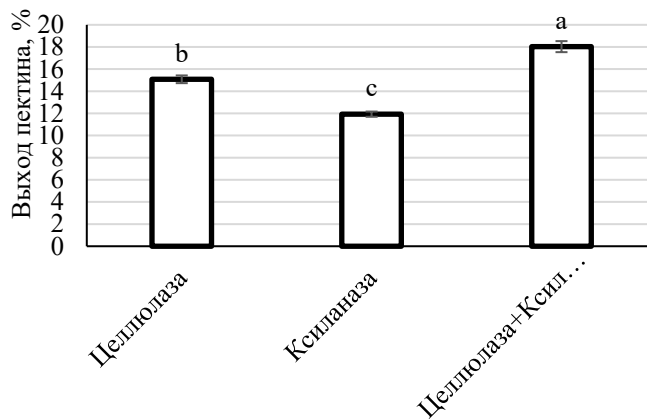


Рисунок 1. Выход пектина при экстракции из яблочной выжимки в зависимости от используемого ферментного препарата

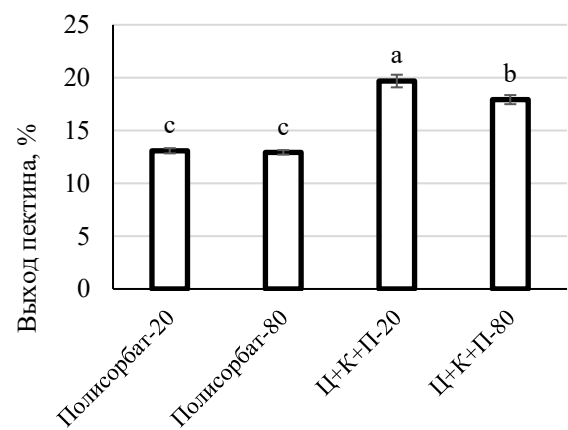


Рисунок 2. Выход пектина при экстракции из яблочной выжимки в зависимости от используемого ПАВ и ферментов (Ц – целлюлаза, К – ксиланаза, П-20 – полисорбат-20, П-80 – полисорбат-80)

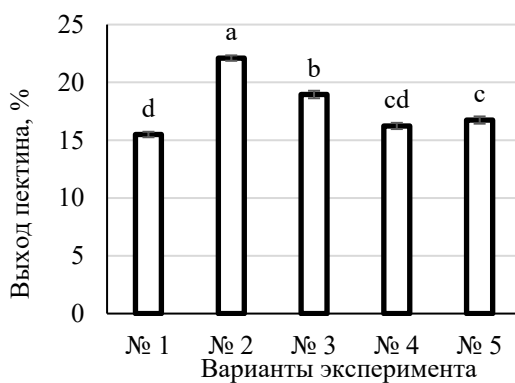


Рисунок 3. Содержание пектина в яблочной выжимке, в зависимости от концентраций ПАВ и ферментов (номера вариантов экспериментов соответствуют номерам, представленным в таблице 1)

Оптимальными концентрациями для проведения мицеллярно-ферментативной экстракции пектина из яблочной выжимки являлись: для полисорбата-20 – 1 % водный раствор, для целлюлазы – 20 мг и для ксиланазы – 5 мг на 1 г сырья.

Сравнительная характеристика выхода пектина и его качественных характеристик при использовании «классического метода экстракции» и мицеллярно-ферментативной экстракции представлены в таблице 2.

Как видно из представленных в таблице 2 данных выделенный с использованием ферментных препаратов и ПАВ пектин отличался высокой степенью этерификации ($74,1 \pm 0,8$ %) и содержанием галактуроновой кислоты ($75,1 \pm 0,3$ %), что позволяет использовать данный пектин в пищевой промышленности.

Таблица 2 – Результаты сравнительного анализа выхода пектина и его качественных характеристик при использовании «классического» метода и мицеллярно-ферментативной экстракции

Показатель	«Классический» метод экстракции	Мицеллярно-ферментативная экстракция
Выход пектина, %	$18,3 \pm 0,4$	$22,1 \pm 0,2$
Массовая доля галактуроновой кислоты, %	$68,4 \pm 0,6$	$75,1 \pm 0,3$
Степень этерификации, %	$76,7 \pm 1,1$	$74,1 \pm 0,8$

Дискуссия

Основными промышленными источниками для извлечения пектина являются яблочные выжимки и кожура citrusовых, представляющие собой отходы после соковых производств. «Классические» методы экстракции пектина основаны на использовании концентрированных минеральных кислот и высоких температур. При этом очень низкие значения pH и высокие температуры вызывают риск коррозии и быстрого износа оборудования. Применение ферментных препаратов позволяет преодолеть указанные недостатки кислотной экстракции, поэтому представляет собой выгодную альтернативу «классическому» методу.

Как показали проведенные нами исследования использование отдельно целлюлазы или ксиланазы при экстракции пектина из яблочных выжимок не позволяла достигать выхода, получаемого при кислотной экстракции. При использовании смеси ферментов выход пектина был соизмерим с выходом при кислотной экстракции (18,0 % и 18,3 % соответственно). Ранее в работе [9] также было показано, что при использовании целлюлазы выход пектина был практически в два раза ниже по сравнению с «классическим» методом. При этом данные, представленные в работе [6], свидетельствуют об эффективности использования эндо-ксиланазы при экстракции пектина из яблочных выжимок.

Использование поверхностно-активных веществ является эффективным решением при экстракции биологически активных соединений из растительного сырья. Мицеллярная экстракция дает преимущество растворения различных типов гидрофильных и липофильных соединений и возможность концентрирования растворенных веществ, что приводит к высокой эффективности экстракции и извлечению продукта. Кроме того, этот вид экстракции может быть принят как экологический, эффективный и дешёвый метод [10]. В нашем исследовании установлено, что добавление полисорбата-20 в экстракционную среду, содержащую гидролитические ферменты, позволяет повысить выход пектина на 20 % по сравнению с «классическим» кислотным методом. Ранее было показано, что использование сурфактантов совместно с микроволновым излучением повышает эффективность экстракции пектина из кожуры апельсинов [11].

Галактуроновая кислота является основным компонентом пектиновых полисахаридов что делает его определение очень важным шагом в анализе химической структуры пектина. В высокомолекулярном пектине насчитывают от 300 до 1000 остатков галактуроновой кислоты. Считается, что используемый в промышленности пектин должен содержать не менее 65 % галактуроновой кислоты [9]. Другим важным показателем, определяющим способность пектина образовывать гели является степень этерификации, представляющая собой отношение числа этерифицированных карбоксильных групп к общему содержанию карбоксильных групп в пектине. К высокоэтерифицированным пектинам относятся пектины со степенью этерификации более 50 %. Таким образом, выделенный в нашем исследовании пектин является высокоэтерифицированным (степень этерификации – $74,1 \pm 0,8$ %) с высоким содержанием галактуроновой кислоты (более 65 %).

Заключение. В ходе проведенного исследования было выявлено, что использование при экстракции пектина из отходов переработки яблок смеси ферментов (целлюлазы и ксиланазы) и неионогенного ПАВ (полисорбата-20) позволяет повысить его выход на 20 %. Высокий выход пектина достигался при относительно низкой температуре экстракции – 40 °С, а выделенный пектин характеризовался высоким содержанием галактуроновой кислоты и степенью этерификации, что позволяет использовать данный пектин в пищевой промышленности в качестве гелеобразователя.

Литература

- 1) Chen M., Lahaye M. Natural deep eutectic solvents pretreatment as an aid for pectin extraction from apple pomace // *Food Hydrocolloids*. 2021. Vol. 115. P. 106601.
- 2) Wang S., Chen F., Wu J., Wang Z., Liao X., Hu X. Optimization of pectin extraction assisted by microwave from apple pomace using response surface methodology // *Journal of food engineering*. 2007. Vol. 78(2). P. 693–700.
- 3) Sharma P.C., Gupta A., Kaushal, P. (2014). Optimization of method for extraction of pectin from apple pomace // *Indian journal of natural products and resources*. 2014. Vol. 5 (2). P. 184–189.
- 4) Marić M., Grassino A.N., Zhu Z., Barba F.J., Brnčić M., Brnčić S.R. An overview of the traditional and innovative approaches for pectin extraction from plant food wastes and by-products: Ultrasound-, microwaves-, and enzyme-assisted extraction // *Trends in Food Science & Technology*. 2018. Vol. 76. P. 28–37.
- 5) Plotka-Wasyłka J., Rutkowska M., Owczarek K., Tobiszewski M., Namieśnik, J. Extraction with environmentally friendly solvents // *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 2017. Vol. 91. P. 12–25.
- 6) Wikiera A., Mika M., Starzyńska-Janiszewska A., Stodolak, B. Endo-xylanase and endo-cellulase-assisted extraction of pectin from apple pomace // *Carbohydrate polymers*. 2016. Vol. 142. P. 199–205.
- 7) Ольховатов Е.А., Родионова Л.Я., Щербакова Е.В. Разработка методики определения количества пектиновых веществ в сырье и продуктах его переработки // *Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета*. 2017. № 128 (04). С. 665–678.
- 8) Peng X., Yang G., Shi Y., Zhou Y., Zhang M., Li S. Box–Behnken design based statistical modeling for the extraction and physicochemical properties of pectin from sunflower heads and the comparison with commercial low-methoxyl pectin // *Scientific reports*. 2020. Vol. 10 (1). P. 1–10.
- 9) Dranca F., Vargas M., Oroian M. Physicochemical properties of pectin from *Malus domestica* 'Fălticeni' apple pomace as affected by non-conventional extraction techniques // *Food Hydrocolloids*. – 2020. Vol. 100. P. 105383.
- 10) Skrypnik L., Novikova A. Response Surface Modeling and Optimization of Polyphenols Extraction from Apple Pomace Based on Nonionic Emulsifiers // *Agronomy*. 2020. Vol. 10. P. 92.
- 11) Su D.L., Li P.J., Quek S.Y., Huang Z.Q., Yuan Y.J., Li G.Y., Shan Y. (2019). Efficient extraction and characterization of pectin from orange peel by a combined surfactant and microwave assisted process // *Food chemistry*. 2019. Vol. 286. P. 1–7.