

А.Г. ЧЕРНОБРОВИНА, Н.Е. КУЛИКОВА, Н.Н. РОЕВА, О.Ю. ПОПОВА

Влияние предварительной обработки ягод красной смородины на выход фитоингредиентов и комплексообразующие свойства сока

С целью максимальной модификации полимеров ягодного сырья, увеличения выхода экстрактивных веществ, обогащения соковой фракции ягод красной смородины ценными фитоконпонентами, обладающими антиоксидантными и антиканцерогенными свойствами, были применены современные биотехнологические приемы обработки ягод. Для этого использовали биокатализаторы в составе мультэнзимной композиции на основе ферментных препаратов пектолитического и целлюлолитического действия (*Fructocim-Color* и *Ксибитен-Цел*).

Полученные результаты свидетельствуют, что проведение ферментативной обработки ягод красной смородины с применением мультэнзимной композиции способствует переводу в сок значительной части ценных ингредиентов ягод: установлено увеличение выхода в сок пектина в 1,6 раза, биоактивных полифенольных соединений – в 2 раза, антоцианов и катехинов – в 1,2 раза, витамина С – в 1,3 раза. Кроме того, получены данные по содержанию в ферментативном гидролизате смородины органических кислот-комплексообразователей (лимонной 18,92 г/л и яблочной 8,22 г/л), а также микро- и макроэлементов, в том числе кальция (166 мг/л).

Полученные данные о химическом составе ферментативного гидролизата ягод красной смородины убедительно демонстрируют редкое сочетание природных ингредиентов, обладающих способностью связывать и выводить из организма «тяжелые» металлы и радионуклиды. В связи с этим исследовали комплексообразующую способность ферментативного гидролизата ягод красной смородины (на примере свинца), которую определяли по разности содержания свинца, внесенного в гидролизат и обнаруженного после инкубации. После этого снимали вольтамперные кривые ферментативного гидролизата ягод красной смородины. Полученные экспериментальные данные свидетельствуют о высокой комплексообразующей способности ферментативного гидролизата ягод красной смородины, который способен связывать $17,00 \pm 3,4$ % от общего количества свинца, внесенного в пробу.

Ключевые слова: токсичные вещества, детоксирующие свойства, соединения полифенольной природы, вольтамперные кривые.

The influence of red currant berries pretreatment on phytoingredients extraction and juice complexing properties. A.G. CHERNOBROVINA, N.E. KULIKOVA, N.N. ROEVA, O.Yu. POPOVA (Moscow State University of Food Production, Moscow).

*In order to maximize the modification of polymers of berry raw materials, increase the yield of extractive substances and enrich the juice fraction of red currant berries with valuable phytocomponents with antioxidant and anti-carcinogenic properties, modern biotechnological methods of processing berries were used. For this purpose, biocatalysts were used in the multienzymatic composition, based on pectolytic and cellulolytic AF (*Fructocim-Color* and *Xybitene-Cele*) action.*

ЧЕРНОБРОВИНА Антонина Григорьевна – кандидат технических наук, доцент, КУЛИКОВА Наталья Евгеньевна – кандидат технических наук, доцент, РОЕВА Наталья Николаевна – доктор химических наук, профессор, заведующая кафедрой, ПОПОВА Ольга Юрьевна – преподаватель (Московский государственный университет пищевых производств, Москва). E-mail: ag_61@list.ru

The results obtained indicate that the enzymatic processing of red currant berries with the use of multienzymatic composition contributes to the transfer of a significant part of the valuable ingredients of berries to the juice. Studies have shown an increase in the yield of pectin – 1.6 times bioactive polyphenolic compounds – 2 times, anthocyanins and catechins – 1.2 times, vitamin C – 1.3 times. In addition, data were obtained on the content of organic acids in FGS (citric 18.92 g/l and malic 8.22 g/l), as well as micro – and macronutrients, including calcium (166 mg/l).

The data obtained from the study of the chemical composition of the enzymatic hydrolysate of red currant berries convincingly demonstrate a rare combination of natural ingredients that have the ability to bind and remove heavy metals and radionuclides from the body. In this regard, the complexing ability of the enzymatic hydrolysate of red currant berries (for example, lead) was studied, which was determined by the difference of lead content introduced into the hydrolysate and detected after incubation. After that, the current-voltage curves of the enzymatic hydrolysate of red currant berries were removed. The experimental data obtained indicate a high complexing ability of the enzymatic hydrolysate of red currant berries. It was found that the enzymatic hydrolysate of red currant is able to bind $17.00 \pm 3.4\%$ of the total amount of lead introduced into the sample.

Key words: toxic substances, detoxifying properties, compounds of polyphenolic nature, current-voltage curves.

Введение

Разработка и внедрение новых технологических решений, способствующих получению высококачественных натуральных продуктов питания, – одна из первостепенных задач, стоящих перед производителями и исследователями в области переработки растительного сырья. Во многом успешному решению этих задач способствует биокатализ, основанный на действии препаратов микробного происхождения. Важным аспектом эффективного применения ферментных препаратов в пищевой технологии является минимизация потерь полезных для здоровья человека биологически активных веществ сырья, максимального использования его природного потенциала. В этом ключе ферменты рассматривают как инструмент, позволяющий тонко и направленно воздействовать на структурные компоненты растительной ткани, мягко извлекать и переводить в биодоступную форму вещества, обладающие биологической активностью, оказывающие благоприятное воздействие на определенные функции организма человека, ускоряющие процессы выздоровления и снижающие риск возникновения заболевания.

Одним из факторов интоксикации человеческого организма является накопление в окружающей среде тяжелых металлов (свинца, олова, кадмия и др.) в результате производственной деятельности человека [1–3]. Загрязнения из внешней среды довольно стабильны и имеют тенденцию к биоаккумуляции в пищевой цепи. Попадая в организм человека, они вызывают неблагоприятные последствия, тяжесть которых изменяется в широких пределах и зависит от длительности и степени воздействия. Поэтому в настоящее время значительно возрастает роль продуктов, обладающих способностью связывать, нейтрализовать и выводить из организма тяжелые металлы, радионуклиды и другие вредные соединения. В литературе приводится много данных о том, что именно с наличием растворимых пищевых волокон (растворимых пектиновых веществ) в продуктах питания ученые связывают проявление ими комплексообразующих и адсорбционных свойств по отношению к ионам тяжелых металлов и радионуклидов [2, 3, 5]. Имеются сведения о том [8], что флавоноиды функционируют как эффективные хелаторы, связывающие ионы переходных металлов, в том числе стимулирующие перекисные процессы, в силу чего эти соединения являются ингибиторами металлкатализируемого перекисного окисления липидов, белков и др. Путем хелатирования флавоноиды связывают и ионы токсичных металлов, способствуя элиминированию из организма [3, 5, 7, 8]. Немаловажное значение при этом отводится антоцианам, которые, по мнению ученых, способны образовывать хелатные соединения с ионами тяжелых металлов [2, 3]. Выявлена протекторная роль кальция в отношении свинцовой интоксикации [2, 7], а также радионуклидов, поэтому включение в рацион питания продуктов, обогащенных кальцием, препятствует проникновению свинца в организм и абсорбции радионуклидов в желудочно-кишечном тракте, способствует выведению их из организма, обеспечивая радиопротекторный эффект. Комплексы природных биологически активных соединений, взаимодополняя друг друга,

могут оказывать мощный взаимоусиливающий эффект и обуславливать полезные для здоровья человека свойства [8].

Цель исследований

Работа посвящена обоснованию роли ферментативной обработки ягод красной смородины при получении сока как фактора, способствующего более полному извлечению функциональных ингредиентов в соковую фракцию по сравнению с соком, полученным в тех же условиях, но без ферментативной обработки, и выявлению его комплексобразующих свойств (на примере свинца), т.е. способности связывать и выводить из организма *in vitro* «тяжелые» металлы.

Материалы и методы

Объект исследования – сок ягод красной смородины, полученный следующим образом: ягоды измельчали, готовили среднюю пробу, затем подвергали биотехнологической обработке смоделированной мультэнзимной композицией – МЭК (Fructocim-Color + Ламинекс-ВГ). Композиционный состав и концентрацию ферментных препаратов определяли экспериментально с использованием метода математического моделирования на основе равномер-ротатабельного планирования [9, 10].

Суммарное содержание фенольных соединений определяли модифицированным методом Фолина–Чокальтеу, антоцианиновых пигментов – методом дифференциальной спектрофотометрии [11]. Определение катехинов в исследуемых образцах проводили методом ОФ ВЭЖХ со спектрофотометрическим детектированием [11]. Редуцирующие сахара определяли ускоренным иодометрическим методом, основанным на определении количества окисленной меди до и после восстановления щелочного раствора меди сахаром¹. Комплексобразующую способность ферментолизата определяли методом переменноточковой полярографии, включенным в ГОСТ «Продукты пищевые и продовольственное сырье»².

Анализ содержания ионов кальция и магния проводили методом пламенной фотометрии на пламенном фотометре ФПА-2, при проведении анализа использовали эффективную длину волны для ионов Ca^{2+} – $\lambda = 621$ нм, для ионов Mg^{2+} – $\lambda = 285$ нм. Пламя воздушно-метиленовое с применением однощелевой горелки. Количественное содержание ионов определяли по градуировочному графику [6].

Результаты и обсуждение

С целью максимальной модификации полимеров ягодного сырья, увеличения выхода экстрактивных веществ, обогащения соковой фракции ягод красной смородины ценными фитоконпонентами, обладающими антиоксидантными и антиканцерогенными свойствами, были применены современные биотехнологические приемы обработки ягод. Для этого использовали биокатализаторы на основе ферментных препаратов (ФП) пектолитического и целлюлолитического действия – Fructocim-Color и Ксибитен-Цел соответственно. Анализ литературных данных свидетельствует, что для конверсии природного сырья, представляющего смесь нескольких субстратов различной природы, целесообразно использовать комплекс ферментных препаратов или МЭК, обладающих

¹ ГОСТ 26930-34. Определение тяжелых металлов; ГОСТ 33824-2016. Продукты пищевые и продовольственное сырье.

² ГОСТ 33824-2016. Продукты пищевые и продовольственное сырье. Инверсионно-вольтамперометрический метод определения содержания токсичных элементов (кадмия, свинца, меди и цинка).

пектинрасщепляющими, целлюлазными и гемицеллюлазными активностями [9, 10]. Поэтому для обработки ягод красной смородины смоделирован композиционный состав МЭК (мульти-энзимные композиции Fructocim-Color + **Ксибитен-Цел**). Время проведения гидролиза, дозировка ферментов в составе МЭК и другие оптимальные условия обработки ягод выбраны на основании проведенных исследований [9, 10].

Целесообразность применения МЭК была доказана на основании сравнительного анализа данных по изучению химического состава сока, полученного после проведения ферментативного гидролиза. Для сравнения исследовали состав сока, полученного из ягод красной смородины без применения ферментных препаратов (контроль). Данные исследований представлены в табл. 1.

Таблица 1

Химический состав сока и ферментативного гидролизата ягод красной смородины (ФГС)

Показатели	Сок ягод красной смородины (контроль)	ФГС
Полифенольные соединения, мг/л	750	1500
Сумма катехинов, мг/л, из них :	210,3	245,2
Эпигаллокатехин	33,6	46,9
Катехин	124,3	141,6
Эпикатехин	7,6	11,8
Эпигаллокатехингаллат	41,6	41,9
Галлокатехингаллат	0,8	1,1
Эпикатехингаллат	2,4	1,9
Антоцианы, мг/л в том числе относительное содержание, %:	197,6	235,6
Цианидин-3-ксилозил рутинозид	27,4	26,6
Цианидин-3-глокозилрутинозид	64,7	60,7
Цианидин-3-рутинозид	7,9	8,6
Цианидин-3-софорозид	–	4,2
Пектиновые вещества, %	0,83	1,4
Витамин С, мг/л	88	110
РВ в пересчете на глюкозу, г/ 100 мл	5,2	7,4

Полученные данные (табл. 1) свидетельствуют, что проведение ферментативной обработки ягод с применением МЭК способствует более полной и глубокой конверсии природного сырья, существенному повышению экстрактивной способности растительной ткани и переводу в сок значительной части ценных биологически активных ингредиентов ягод (полифенольных веществ, в том числе антоцианов и катехинов, пектина, витамина С), природных антиоксидантов, способных восстанавливать окисленные соединения и гасить свободные радикалы, связывать ионы токсичных «тяжелых» металлов.

Одним из общеизвестных функциональных ингредиентов, обладающих комплексообразующей способностью по отношению к токсичным металлам, является пектин, содержание которого в ферментированном соке в 1,6 раза больше, чем в соке, полученном без обработки ФП. Реакционная способность пектиновых веществ по отношению к ионам «тяжелых» металлов всесторонне изучена и определяется наличием в них карбоксильных и гидроксильных групп. Катионы двухвалентного свинца при взаимодействии с карбоксильными группами образуют соединения типа $H(COO)_2Me$ и с оксигруппами макромолекул – соли типа $R(COO)Me(OOCCN_3)$. Нерастворимые комплексы, которые образуются в результате такого взаимодействия, не всасываются в кишечнике и выводятся из организма. Аналогичный эффект могут оказывать присутствующие в ферментативном гидролизате полифенолы (содержание которых составляет 1500 мг/л, что в 2 раза превышает их содержание в соке без обработки (750 мг/л)) ввиду высокой способности пектинов к взаимодействию с этими компонентами с образованием комплексов. Кроме этого, были проведены исследования состава и содержания органических кислот-комплексообразователей

(лимонной и яблочной), содержание которых в ферментативном гидролизате из ягод красной смородины составляет 18,92 и 8,22 г/л соответственно. Известно, что лимонная кислота является регулятором кислотности, антиокислителем и активно влияет на связывание пектинами токсичных металлов.

Эта положительная динамика прослеживается и по группам флавоноидов – катехинов и антоцианов. Среди обнаруженных катехинов выявлено наибольшее содержание катехина (почти 60 %), эпигаллокатехина и эпигаллокатехинагаллата (более 17 %), небольшая доля (около 6 %) приходится на другие обнаруженные соединения в общем составе катехинов (эпикатехин, галлокатехингаллат, эпикатехингаллат).

В качестве структурных элементов антоцианов в соке, полученном из ягод красной смородины (без обработки ФП), а также в ферментированных соках (методом ВЭЖХ) установлены трисахариды, основным структурным компонентом которых является цианидин: (цианидин-3-глюкозил рутинозид, цианидин-3-ксилозил рутинозид). Антоцианы и антоцианидины способны взаимодействовать с солями свинца, олова и других металлов, давая характерные цветные осадки.

Именно физиологически функциональные компоненты, такие как полифенольные вещества, в том числе катехины и антоцианы, пектин и органические кислоты ферментированного сока из ягод красной смородины (ФГС), обуславливают антиканцерогенные свойства полученного продукта, который может быть использован в составе антирадионуклидных рационов. Немаловажное влияние на комплексообразующую способность могут оказывать и минеральные вещества (макро- и микроэлементы), которые содержатся в соке ягод красной смородины и являются необходимым компонентом полноценного питания. Они входят в состав белков, жиров, ферментов, содержатся в крови, участвуют в процессе обмена веществ практически любой ткани организма человека [1–3]. В связи с этим проводили исследования по определению содержания минеральных веществ в ферментативном гидролизате ягод красной смородины. Как свидетельствуют полученные данные, ферментативный гидролизат обладает благоприятным сочетанием минеральных веществ (табл. 2), причем превалирует калий.

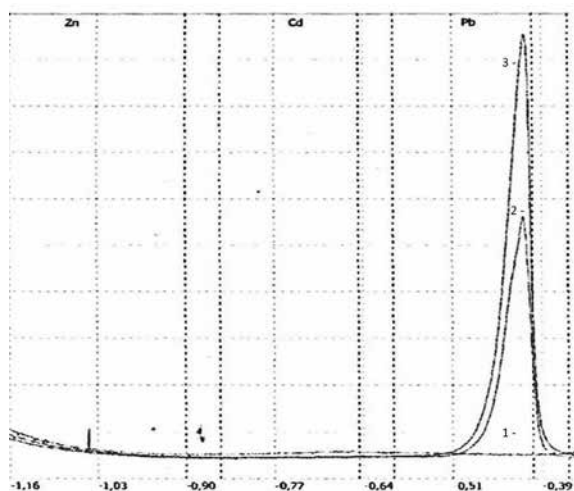
Известно, что калий способствует нормализации водного обмена и улучшает работу сердечной мышцы [2, 3]. Кальций и фосфор участвуют в построении костной ткани. Кроме того, выявлена протекторная роль кальция в отношении радионуклидной и свинцовой интоксикации [3, 6]. Минеральные вещества ферментативного гидролизата ягод красной смородины, находясь в сбалансированной и усвояемой форме, дополняют полезные качества сока, повышают его защитные и антиканцерогенные свойства.

Данные, полученные в результате изучения ингредиентного состава ферментативного гидролизата ягод красной смородины, убедительно демонстрируют редкое сочетание природных компонентов, обладающих способностью связывать и выводить из организма «тяжелые» металлы и радионуклиды.

В этой связи исследовали комплексообразующую способность ферментативного гидролизата ягод красной смородины (на примере свинца). Исследование проводили следующим образом: соли свинца добавляли в ферментативный гидролизат ягод красной смородины, инкубировали в течение 1 ч. Комплексообразующую способность ферментативного гидролизата ягод красной смородины определяли по разности свинца, внесенного в гидролизат и обнаруженного после инкубации. После этого снимали вольтамперные кривые ферментативного гидролизата ягод красной смородины. Метод количественного анализа – метод добавок. Данные исследований представлены на рисунке.

Таблица 2
Содержание некоторых минеральных веществ в ферментативном гидролизате ягод красной смородины

Элемент	Содержание, мг/ л
Натрий	24
Калий	2960
Магний	123
Кальций	166
Фосфор	260



Вольтамперная кривая ФГС: 1 – фоновый электролит, 2 – ферментативный гидролизат красной смородины после 1 ч инкубации, 3 – ферментативный гидролизат ягод красной смородины с добавкой (90 мкг) стандартного раствора свинца

Полученные экспериментальные данные (рис. 1) свидетельствуют о высокой комплексообразующей способности ферментативного гидролизата ягод красной смородины. Установлено, что ферментативный гидролизат красной смородины способен связывать $17,00 \pm 3,4 \%$ от общего количества свинца, внесенного в пробу (90 мкг).

По-видимому, достаточно высокая комплексообразующая способность ферментативного гидролизата по отношению к свинцу обусловлена тем, что содержание в ягодах физиологически функциональных компонентов, обладающих детоксицирующими свойствами, значительно превышает их содержание в соке. Кроме того, применяемый для ферментативной обработки ягод красной смородины ферментный препарат Фрутоцим-Колор является комплексным и содержит пектинразрушающие ферменты, в том числе активную пектинэстеразу. Возможно, в результате ферментативного воздействия Фрутоцим-Колор на биополимеры ягод красной смородины проявляется действие пектинэстеразы, что приводит к накоплению частично деметоксилированной полигалактуроновой кислоты, которая, как известно, обладает большей комплексообразующей способностью, чем высокоэтерифицированная полигалактуроновая кислота [1, 2, 4]. Аргументом, свидетельствующим в пользу этого предположения, является значительное снижение вязкости ферментативного гидролизата за счет применения активного комплекса ферментов (известно, что высокометоксилированный пектин обладает высокой вязкостью [1, 5]).

Выводы

Таким образом, на основании исследований химического состава ФГС показана роль ферментативного гидролиза некрахмальных полисахаридов ягод как фактора, способствующего более полному извлечению функциональных ингредиентов в соковую фракцию по сравнению с соком, полученным в тех же условиях, но без ферментативной обработки. Кроме того, выявлены детоксицирующие свойства ферментативного гидролизата ягод красной смородины, что позволяет считать его перспективным компонентом для использования в составе антирадионуклидных рационов.

Для обработки полученных вольтамперограмм и расчета содержания определяемого токсичного элемента (Pb^{2+}) в анализируемом соке измерили высоты пиков элементов в исследуемом растворе (h_1) и после внесения добавки (h_2). Содержание остатка свинца в исследуемом гидролизованном соке рассчитывали по формуле

$$C(x) = h_1 C_{cm} V_{cm} / h_2 (V_x - V_{cm}) - h_1 V_x,$$

где $C(x)$ – искомая концентрация определяемого иона, мкг/мл; h_1 – высота волны исследуемого раствора, мм; h_2 – высота волны после внесения добавки, мм; C_{cm} – концентрация стандартного раствора, мкг/мл; V_{cm} – объем стандартного раствора (добавки), мл; V_x – объем исследуемого раствора, взятый на полярографирование, мл.

ЛИТЕРАТУРА

1. Донченко Л.В., Фирсов Г.Г. Пектин: основные свойства, производство и применение. М.: ДеЛипринт, 2007. 275 с.
2. Кочеткова А.А., Нечаев А.П., Траубенберг С.Е. Пищевая химия: учебник. СПб: ГИОРД, 2015. 672 с.
3. Мартинчик А.Н., Маев И.В., Янушевич О.О. Общая нутрициология: учеб. пособие. М.: МЕДпресс-информ, 2005. 392 с.
4. Михеева М.А., Февралева Г.Т., Брынски А.В., Тры Л.А. Изучение комплексообразующей способности пектина по отношению к меди и свинцу // Ульян. мед.-биол. журн. 2017. № 2. С. 111–116.
5. Мыкоц Л.П., Романцова Н.А., Гущина А.В. Изучение сорбционной способности пектина, выделенного из плодов калины обыкновенной, по отношению к ионам свинца // Фундам. исслед. 2013. № 3–1. С. 197–200.
6. Руководство по методам анализа качества и безопасности пищевых продуктов / под ред. И.М. Скурихина, В.А. Тутельяна. М.: Брандес; Медицина, 1998. 342 с.
7. Суханов Б.П., Королев А.А., Мартинчик А.Н. Влияние хронической свинцовой интоксикации на организм человека // Сибир. мед. журн. 2013. № 2. С. 13–15
8. Тараховский Ю.С., Ким Ю.А., Абдралилов Б.С., Музафаров Е.Н. Флавоноиды: биохимия, биофизика, медицина. Пушино, 2013. 310 с.
9. Чернобровина А.Г., Траубенберг С.Е., Алексеенко Е.В., Никитин А.В. Применение биотехнологических приемов для переработки ягод красной смородины и брусники // Изв. вузов. Пищевая технология. 2008. № 2/3. С. 67–70.
10. Чернобровина А.Г. Ферментативный гидролизат красной смородины, его биохимическая характеристика и применение при получении пищевых продуктов: дис. ... канд. техн. наук. М., 2009. 176 с.
11. Эллер К.И., Бессонов В.В., Левин Л.Г. и др. Методы контроля. Химические факторы: метод. указания. М.: Моск. гос. ун-т пищевых производств; Науч.-исслед. ин-т питания РАМН; Федер. центр гигиены и эпидемиологии, 2006. 14 с.