

## ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОЦЕССА ФЕРМЕНТАТИВНОГО ГИДРОЛИЗА УГЛЕВОДОВ ВТОРИЧНОГО ЯБЛОЧНОГО СЫРЬЯ



И. М. Нигматуллина, студентка,  
e-mail: ida7991@gmail.com

С. В. Агафонова, канд. техн. наук, доцент,  
e-mail: svetlana.agafonova@klgtu.ru

ФГБОУ ВО «Калининградский государственный  
технический университет»

Описаны возможные пути переработки яблочных выжимок. Исследовано влияние целлюлолитических ферментных препаратов на гидролиз сложных углеводов этих выжимок при различных дозировках и условиях протекания реакций с целью получения продукта с заданными физико-химическими свойствами. Экспериментально определены оптимальные условия ферментативного гидролиза яблочных выжимок для получения пастообразной массы.

*яблочные выжимки, яблочная паста, вторичное яблочное сырье, ферментативный гидролиз, пектиновые вещества*

Введение в России с 2014 г. продовольственного эмбарго привело к развитию российского садоводства. Правительство оказывает поддержку садовым питомникам и молодым предприятиям, нацеленным на переработку отечественного сырья, в том числе яблок. На территории Калининградской области существует крупное действующее производство по переработке яблок, выпускающее не менее 12 тыс. л сока в день. Вторичное яблочное сырье на данном предприятии не реализуется. Отходы при производстве яблочного сока составляют от 27 до 40 % от массы яблок. В регионе ориентировочно в 2022 г. планируется открытие ещё одного предприятия по изготовлению яблочного пюре и сока. Увеличение количества неиспользуемого вторичного сырья повлечет острую необходимость в его переработке, обеспечивая тем самым полноценное применение, а также повышение экономической эффективности от использования данного пищевого сырья.

Вторичное яблочное сырье представляет собой яблочные выжимки, которые состоят на 95 % из яблочной кожицы и мякоти, от 2 до 4 % семян и 1 % стеблей [1]. Выжимки имеют промышленное значение как пектинсодержащее сырье, богаты полифенолами, витаминами, макро- и микроэлементами. В химический состав сырого вторичного яблочного сырья на 100 г входят: белок 0,7 г, липиды от 1,3 г, зола 0,4 г, сахара 9,1 г, содержание пектиновых веществ составляет около 2,5 % в зависимости от сорта яблок [2].

Большая часть яблочных выжимок перерабатывается для получения пектиновых веществ, которое основано на гидролизе разбавленными кислотами и дальнейшем спиртовом осаждении полисахаридов. Главным моносахаридом, входящим в состав выделенных таким образом пектиновых веществ, является *D*-галатуриновая кислота, в малых количествах образуются *L*-арабиноза и *D*-галактоза, реже *L*-рамноза, *D*-ксилоза, *L*-фукоза и др. Часть остатков уроновых кислот этерифицирована метиловым спиртом [3].

Возможно использование выжимки в качестве компонента ферментационной среды для твердофазной ферментации, так как она содержит высокий уровень углеводов, витаминов, пищевых волокон и многих других жизненно важных питательных веществ, необходимых для роста микроорганизмов, таких как мицелиальные грибы и дрожжи. Продуктами их метаболизма являются: лимонная кислота, молочная кислота, различные ферменты (например, целлюлаза, гемицеллюлаза,  $\beta$ -глюкозидаза и пектиназа) [1].

Яблочные выжимки – это перспективное сырье для получения биотоплива. Известны способы их ферментативного гидролиза с применением комплекса ферментов, работающих в

синергии. Основными продуктами гидролиза яблочной выжимки являются галактуроновая кислота (78 %), глюкоза (75 %), арабиноза (90 %) и галактоза (87 %). Эти продукты – потенциальное сырье для получения биотоплива и биопрепаратов химического производства [4].

Переработка вторичного яблочного сырья для получения пектиновых веществ обоснована их широким применением в медицине и фармацевтике (производство суспензий, гелей, использование для придания вязкости эмульсиям, связывания ионов тяжелых металлов, лечения ран), косметической (производство масок для лица и гелей) и, главным образом, в пищевой промышленности (производство мармелада, конфитюров, джемов, колбасных изделий, соков, йогуртов др.) [5].

Целью данной работы является исследование влияния ферментных препаратов на гидролиз гликозидных связей в углеводах яблочных выжимок с целью получения пастообразной пектиновой массы.

Для производства продукта с заданными физико-химическими свойствами необходимо разрушить связи в высокомолекулярных углеводах – целлюлозы и гемицеллюлозы для получения низкомолекулярных углеводов – целлобиозы, глюкозы, галактозы, арабинозы, ксилозы и маннозы [6]. Также следует перевести нерастворимую форму пектиновых веществ – протопектин – в растворимую форму. Для достижения результатов целесообразно использование целлюлолитических ферментов.

Исследовали влияние на гидролиз выжимок двух ферментных препаратов (ФП) - бета-глюканаза («Микробиопром», Россия) и Viscozyme L. (Novozymes, Дания) при различных дозировках и условиях ферментализации.

Бета-глюканаза – фермент, катализирующий 1,3- и 1,4-гликозидные связи из β-глюканов, разбивает макромолекулы вязкого полимера до низковязких изомальтозы и мальтотриозы. Фермент обладает значительным уровнем побочных активностей к расщеплению гемицеллюлозы, ксиланов и целлюлозы. Оптимум действия pH 4,0-7,0. Ферментная активность 10000 ед./мл.

Viscozyme L. – мультиферментный комплекс, содержащий арабиназу, целлюлазу, β-глюканазу, гемицеллюлазу и ксиланазу, выделен из гриба *Aspergillus sp.* Оптимум действия pH 3,3-5,5. Температура 40-50 °С.

Эксперимент проводили на сырых яблочных выжимках с содержанием сухих веществ 19,8 %. Испытывали различные дозировки ФП – 0,25 и 0,5 % к общей массе яблочного сырья и жидкой фазы. Гидролиз вели при естественном pH яблочного сырья, при pH 4,5 для ФП бета-глюканаза и 4,0 для ФП Viscozyme L. (слабый раствор органической кислоты). Параллельно исследовали процесс гидролиза в контрольном образце без добавления фермента при нейтральном pH (дистиллированная вода). Гидролиз проводили при температуре 50 °С на лабораторном шейкере в течение 60 мин. Содержимое колб центрифугировали со скоростью 3500 об/мин и отделяли жидкую фракцию. В полученной жидкой фракции определили содержание сухих веществ термogravиметрическим методом на экспресс-анализаторе OHAUS MB23.

Количество жидкой фракции во всех образцах, полученных в ходе первого эксперимента, было примерно одинаковым и составило порядка 80 г. Условия опытов, а также результаты исследования количества воды и сухих веществ в жидкой фракции образцов представлены в табл. 1.

Из данных, приведенных в табл. 1, видно, что внесение ФП бета-глюканаза в количестве 0,25 % к общей массе сырья и раствора кислоты не способствует существенному увеличению количества сухих веществ в жидкой фазе (эксперимент № 6). Наиболее глубокого гидролиза удалось добиться при обработке яблочных выжимок ФП бета-глюканаза в количестве 0,5 % в условиях кислой среды (эксперимент № 4).

Визуальная оценка образцов (рис. 1) показала более насыщенный цвет жидких фракций в образцах с применением бета-глюканазы, кроме образца № 5. Видимых изменений в консистенции яблочных выжимок не было обнаружено.

Таблица 1 – Содержание воды и сухих веществ в жидкой фракции, полученной после гидролиза с использованием ФП бета-глюканаза

Номер эксперимента	1 (контроль)	2	3	4	5	6
Количество добавленного ФП, %	0	0	0,5	0,5	0,25	0,25
Среда ферментации	Естеств.	pH 5,0	Естеств.	pH 5,0	Естеств.	pH 5,0
Содержание сухих веществ в жидкой фракции, %	3,9	3,9	3,9	5,4	3,9	4,6
Содержание воды в жидкой фракции, %	96,1	96,1	96,1	94,6	96,1	95,4

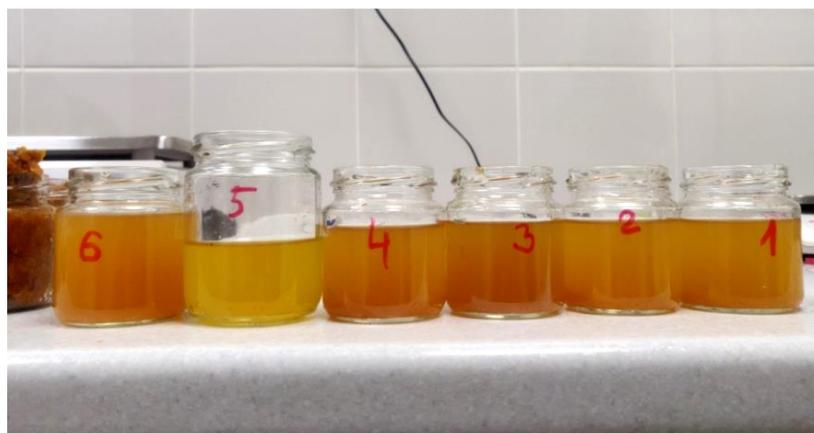


Рисунок 1 – Отделенная жидкая фракция исследуемых образцов (гидролиз с ФП бета-глюканаза)

В аналогичных условиях проводили ферментацию с применением ферментного препарата Viscozyme L. (табл. 2).

Из данных, приведенных в табл. 2, следует, что внесение ФП Viscozyme L. увеличивает содержание сухих веществ. При этом препарат работает как в естественной среде яблочных выжимок, так и в более кислой среде, однако во втором случае можно судить о более глубоком гидролизе, о чем свидетельствуют большее содержание сухих веществ и цвет жидкости в этих образцах (эксперимент № 4, б).

В данном случае количество жидкой фракции, отделенной после центрифугирования, было различным. В образцах с использованием ФП выделилось на 28 % больше жидкости по сравнению с образцами без его применения (рис. 2).

В этих же образцах заметно осаждение гидролизованных яблочных выжимок, в условиях эксперимента с добавлением 0,5 % ФП осадка образовалось больше (№ 3, 4). Более насыщенный цвет жидких фракций заметен в образцах с применением ФП в условиях кислой среды (№ 4 и б). Также было выявлено изменение структуры яблочного сырья, образовалась размягченная консистенция. В образцах № 3 и 4 произошла гомогенизация массы выжимок (рис. 3). Аналогичный результат, но с меньшим эффектом заметен в образцах № 5 и б.

Таблица 2 – Содержание воды и сухих веществ в жидкой фракции, полученной после гидролиза с использованием ФП Viscozyme L.

Номер эксперимента	1 (контроль)	2	3	4	5	6
Количество добавленного ФП, г	0	0	0,25	0,25	0,125	0,125
Среда ферментации	Естеств.	pH 4,0	Естеств.	pH 4,0	Естеств.	pH 4,0
Содержание сухих веществ в жидкой фракции, %	4,8	4,8	6,3	7,0	5,8	6,5
Содержание воды в жидкой фракции, %	95,2	95,2	93,7	93,0	94,2	93,5



Рисунок 2 – Отделенная жидкая фракция исследуемых образцов (гидролиз с ФП Viscozyme L.)



Рисунок 3 – Исследуемые образцы после ферментализации

Результаты исследования позволяют сделать вывод о возможности применения ферментного препарата Viscozyme L. для получения пастообразной пектиновой массы из вторичного яблочного сырья, поскольку требуется внесение небольшого количества фермента к массе сырья для размягчения выжимки до необходимой консистенции, а также проявления активности при естественном pH сырья. Применение ферментного препарата бета-глюканаза требует внесения как большого количества его к массе сырья, так и кислоты для лучшего протекания реакции гидролиза, что в масштабах производства является экономически нецелесообразным. Поэтому, несмотря на то, что ФП Viscozyme L. зарубежного производства, его использование является более выгодным и эффективным. В дальнейшем возможно уменьшение дозировки ферментного препарата.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Camila A. Perussello, Zhihang Zhang, Antonio Marzocchella, Brijesh K. Tiwari Valorization of Apple Pomace by Extraction of Valuable. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2017, vol.16, i. 5, pp. 776-796. DOI: 10.1111/1541-4337.12290
2. Перфилова, О. В. Яблочные выжимки как источник биологически активных веществ в технологии продуктов питания / О. В. Перфилова // *Новые технологии*. – 2017. – № 4. – С. 65-71.
3. *Химия углеводов* / Н. К. Кочетков [и др]. – Москва: Химия, 1967. – 674.

4. Repson Gama, J. Susan van Dyk, Brett Ivan Pletschke Optimisation of enzymatic hydrolysis of apple pomace for production of biofuel and biorefinery chemicals using commercial enzymes. 3 Biotech, 2015, vol. 5(6), pp 1075-1087. DOI: 10.1007 / s13205-015-0312-7.

5. Чалдаев, П. А. Применение яблочных выжимок для производства продуктов питания / П. А. Чалдаев, А. Ю. Свечников // Пищевая промышленность. – 2014. – № 4. – С. 40-41.

6. Петров, К. П. Методы биохимии растительных продуктов: учеб. пособие / К. П. Петров. – Киев: «Вища школа», 1978. – 224 с.

#### STUDY OF THE PROCESS OF ENZYMATIC HYDROLYSIS OF CARBOHYDRATES OF SECONDARY APPLE RAW MATERIALS

I. M. Nigmatullina, student,  
e-mail: ida7991@gmail.com

S. V. Agafonova, PhD. tech. Sciences, docent,  
e-mail: svetlana.agafonova@klgtu.ru  
Kaliningrad State Technical University

Possible ways of processing Apple pomace are described. The effect of two enzyme preparations beta-glucanase and Viscozyme L. on the hydrolysis of complex carbohydrates of Apple pomace at different dosages and conditions of reactions in order to obtain a product with specified physical and chemical properties was studied. The optimal conditions for enzymatic hydrolysis of Apple pomace to obtain a paste-like mass were experimentally determined.

*apple pomace, Apple paste, secondary Apple raw materials, enzymatic hydrolysis, pectin substances*