



Л.В. КАПРЕЛЬЯНЦ, д-р техн. наук, профессор,
Е.Д. ЖУРЛОВА, аспирант, Е.А. КИЛИМЕНЧУК, канд. техн. наук, доцент
Одесская национальная академия пищевых технологий, г. Одесса

ЭНЗИМАТИЧЕСКАЯ ЭКСТРАКЦИЯ ФЕНОЛЬНЫХ АНТИОКСИДАНТОВ ИЗ ВТОРИЧНЫХ ПРОДУКТОВ ПЕРЕРАБОТКИ ЗЕРНА

Данное исследование касается проблем связанных с разработкой новых биологически активных добавок. Вторичные продукты переработки пшеницы и ржи были использованы в качестве сырья для извлечения фенольных антиоксидантов. Пшеничные и ржаные отруби последовательно обрабатывались α - и γ -амилазами и протеазой после чего промывались водой и подвергались энзимолузу препаратом целлюлолитического действия Viscozyme L для разрушения клеточных стенок. Приводятся условия, обеспечивающие максимальную экстракцию фенольных соединений из зернового сырья.

Ключевые слова: пшеничные и ржаные отруби, фенольные соединения, ферментативный гидролиз.

This study addresses problems related to development of new biologically active additives. Wheat and rye by-products were used as a raw material to obtain phenolic antioxidants. Wheat and rye bran was successively pretreated by α - and γ -amylase and protease. Then samples were washed by water and treated by multienzyme preparation Viscozyme L for plant cell-wall degradation. Were shown determination of conditions for the maximum enzymatic extraction of phenolic compounds from cereal by-products.

Key words: wheat and rye bran, phenolic compounds, enzymatic hydrolyze.

Известно, что за последние годы среди населения Украины увеличился риск сердечно-сосудистых заболеваний, диабета II типа, коронарных заболеваний сердца, раковых опухолей и других опасных заболеваний. Поэтому современная пищевая наука направлена на производство функциональных продуктов питания, содержащих фитоконпоненты, которые обладают антиканцерогенными, иммуномодулирующими, антиокислительными, противовоспалительными, антиатеросклерозными и антимуtagenными свойствами. Такие потребности объясняют интерес к природным антиоксидантам. Эти вещества включают в себя широкий класс химических соединений – полифенолы [1-3].

Вторичные продукты переработки зерна содержат подавляющее большинство фенольных антиоксидантов, найденных в зерне пшеницы, ржи и других злаковых культурах. Однако лишь 20 % фенольных кислот находятся в свободном состоянии, остальные 80 % – структурированы в клеточной стенке сложно-

эфирными связями с лигнином и арабиноксиланами. Вследствие этого, фенольные антиоксиданты не могут биологически усваиваться в процессе переваривания пищи. Полифенолы – это вторичные растительные метаболиты, содержащие несколько гидроксильных групп расположенных на ароматических (бензольных) кольцах: фенольные кислоты, стильбены, лигнаны и флавоноиды. В пшеничных и ржаных отрубях основная часть фенольных антиоксидантов представлена в виде производных бензойной (протокатеховая, галловая) и коричной (феруловая, п-кумаровая, кофейная) кислот (рис.1). Феруловая кислота является самой распространённой в злаковых зёрнах, она считается наиболее потребляемой с пищей из всех производных коричной кислоты, так как её содержание в пшенице и ржи составляет 90 % [3-7].

Свободные фенольные соединения легко экстрагируются органическими растворителями. Однако для извлечения ковалентно связанных полифенолов необходимо разрушить структуру растительной клеточной стенки, что требует применения кислотного или щелочного гидролиза [8, 9]. Принимая во внимание использование фенольных антиоксидантов в пищевой, фармацевтической и косметической промышленности, мягкие условия энзиматической экстракции фенольных кислот из зернового сырья являются более целесообразными, так как позволяют сохранить антиоксидантные свойства биологически активных веществ. В связи с тем, что на процесс ферментативного гидролиза существенно влияют такие факторы как температура, время, pH среды и концентрация

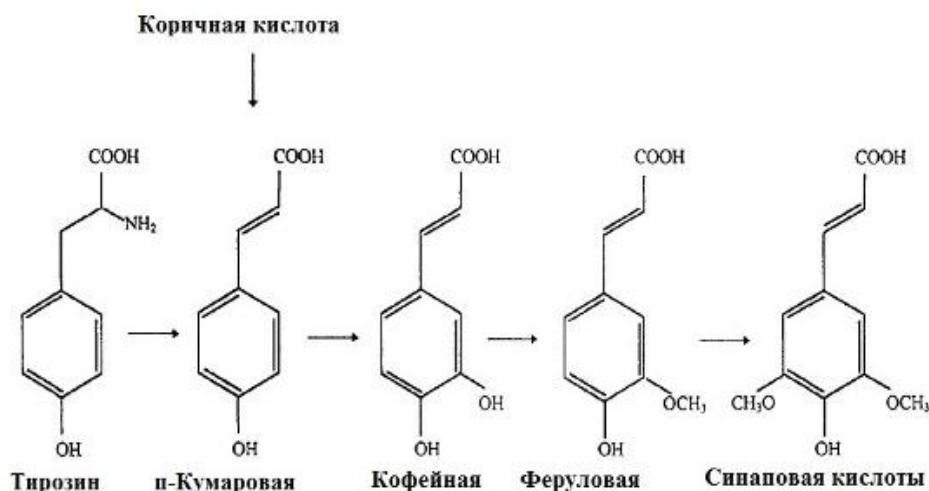


Рис. 1 - Структурные формулы основных представителей фенольных кислот пшеницы и ржи.



ферментного препарата, то целью данного исследования было обеспечить максимальную экстракцию фенольных антиоксидантов из вторичных продуктов переработки зерна, путём подбора условий энзимолитиза сырья.

В качестве сырья исследовали пшеничные и ржаные отруби урожая 2012 года предварительно измельчённые до размера частиц 1000 мкм на лабораторной мельнице. Содержание влаги в отрубях определяли по разности масс методом высушивания сырья в сушильных шкафах до постоянной массы при температуре 106 °С [10], влажность образцов составила 12 % ± 0,05 %. Перед проведением энзиматической экстракции фенольных компонентов, измельчённые отруби подвергались гидролизу ферментным комплексом α- и γ-амилаз (60 мин, 55 °С, pH 5) и слабокислой протеазы (30 мин, 55 °С, pH 5) для разрушения крахмала и белков сырья. Жидкую фазу отделяли центрифугированием при 6000 об/мин в течение 10 мин на центрифуге ОПН-12. Обработанные, таким образом, отруби промывали дистиллированной водой.

Начальное содержание фенольных антиоксидантов в образцах определили путём спиртовой экстракции 70 % раствором этанола при 4 °С в течение 16 часов. Для пшеничных отрубей содержание целевого компонента составило 1,40 мг/г, для ржаных – 1,54 мг/г соответственно.

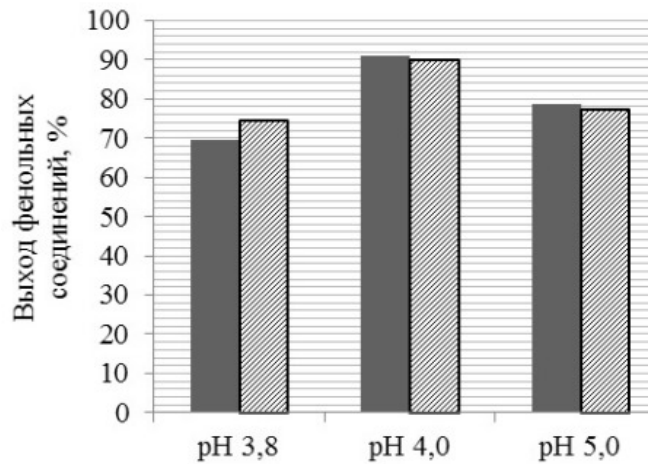
Для энзиматической экстракции фенольных кислот использовали мультиферментный препарат Viscozyme L (Novo Nordisk, Дания), содержащий широкий спектр ферментов, разрушающих структуру растительной клеточной стенки (эндо-1,4-β-глюканазу, ксиланазу, целлюлазу, гемицеллюлазу). Ферментативный гидролиз отрубей проводили при гидромодуле 1:10 в ацетатном буфере. В ходе исследования изменяли следующие параметры обработки: pH среды от 3,7 до 5,0; температуру – от 38 до 55 °С, время – от 2 до 18 часов и концентрацию мультиферментного препарата от 0,0005 до 0,002 %. По окончании энзиматической экстракции фермент инактивировали кипячением в течение 10 мин с последующим отделением осадка центрифугированием.

При обработке сырья раствором 2 М HCl в течение 6 часов содержание фенольных антиоксидантов в экстрактах пшеничных и ржаных отрубей составило 3,30 и 3,50 мг/г соответственно. Эти данные были взяты в качестве контрольных по содержанию фенольных соединений (свободных и связанных) в исходном сырье.

Определение общего содержания фенольных соединений в экстрактах проводили колориметрическим методом Фолина-Чокальтеу при длине волны 670 нм. Реактив Фолина-Чокальтеу при добавлении в экстракт окисляет фенольные группы, восстанавливаясь при этом в соединении голубого

цвета, интенсивность окраски которого пропорциональна концентрации фенольных веществ. Значение концентрации фенольных веществ определяли по эквиваленту галловой кислоты [11].

В ходе определения оптимальных условий для работы мультиферментного препарата было установлено, что максимальные показатели выхода фенольных антиоксидантов наблюдались при значении pH среды 4,0. При снижении значения pH до 3,8 (ацетатный буфер) наблюдалось снижение выхода фенольных соединений из пшеничных и ржаных отрубей на 21,2 % и 15,7 % соответственно. При повышении значения pH до 5,0 (ацетатный буфер) наблюдалось также уменьшение выхода фенольных соединений из пшеничных и ржаных отрубей на 12,1 % и 12,6 % соответственно (рис. 2).



■ - пшеничные отруби, □ - ржаные отруби
Рис. 2 - Выход фенольных соединений при изменении pH среды.

Было исследовано влияние температуры реакционной среды на продолжительность ферментативной обработки вторичных продуктов переработки зерна (рис. 3, 4). В ходе эксперимента установлено, что при понижении температуры до 38 °С достичь максимального выхода фенольных соединений удалось за 18 часов. При повышении температуры до 45 °С продолжительность энзиматической обработки пшеничных и ржаных отрубей мультиферментным

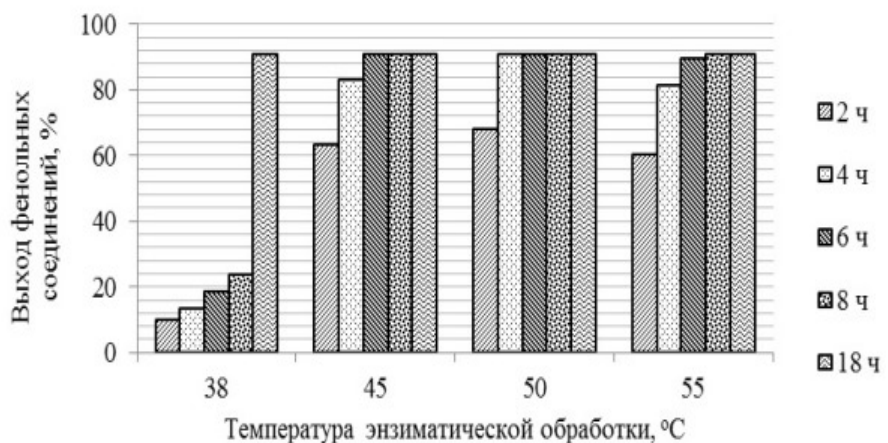


Рис. 3 - Влияние температуры энзиматической обработки пшеничных отрубей на продолжительность гидролиза.

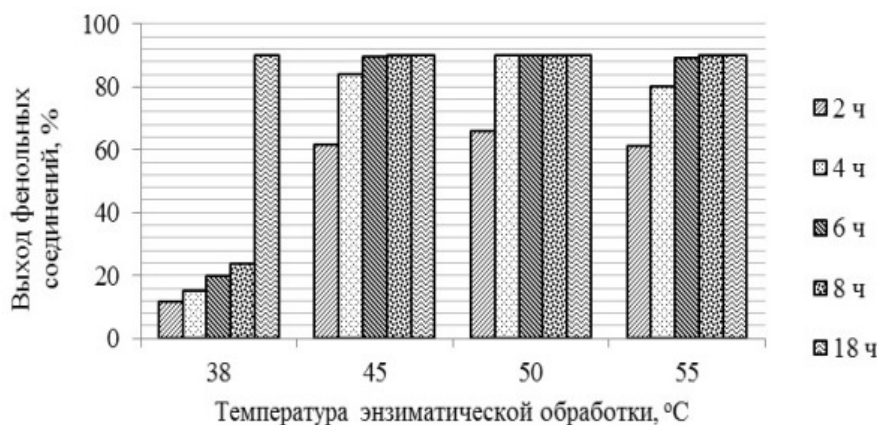
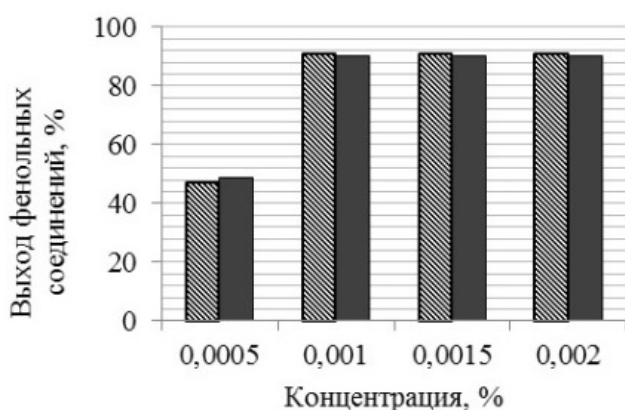


Рис. 4 - Влияние температуры энзиматической обработки ржаных отрубей на продолжительность гидролиза.



□ - пшеничные отруби, ■ - ржаные отруби

Рис. 5 Влияние концентрации препарата Viscozyme L на выход фенольных соединений

препаратом Viscozyme L сократилась в три раза и составила 6 часов. При температуре 50 °C выход фенольных веществ в экстрактах достиг максимального значения (90 % для ржаных и 90,9 % для пшеничных отрубей) за 4 часа. Дальнейшее повышение температуры привело к падению скорости ферментативных реакций, вследствие чего продолжительность обработки образцов препаратом Viscozyme L стала увеличиваться.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Kaprelyants L.V. Bioactive compounds and dietary fibers in new developed cereal products / Kaprelyants L.V., Voloshenko O.S., Zhurlova E.D. // *Зернові продукти і комбікорми*. – 2012. – №3. – С. 17-21.
2. Henryk Zielinski, Halina Kozłowska, Bogdan Lewczuk Bioactive compounds in cereal grains before and after hydrothermal processing / Henryk Zielinski // *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. – 2001. – № 2. – P. 159-169.
3. Andreasen M. F., Kroon P. A., Williamson G., and Garcia-Conesa M. Intestinal release and uptake of phenolic antioxidant diferulic acids / Andreasen M. F. // *Free Radical Biology & Medicine*. – 2001. – vol. 31, № 3. – P. 304-314.
4. Adam A., Crespy V., Levrat-Verny M., Leenhardt F., Leuillet M., Demigne C., and Remesy C. The bioavailability of ferulic acid is governed primarily by the food matrix rather than its metabolism in intestine and liver in rats / Adam A. // *J. Nutr.* – 2002. – vol. 132, № 7. – P. 1962-1968.
5. Catherine A. Rice-Evans, Nicholas J. Miller, and Goerge Paganga Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids / Catherine A. Rice-Evans // *Free Radical Biology & Medicine*. – 1996. – vol. 20, № 7. – P. 933-956.
6. Manach C., Scalbert A., Morand C., Remesy C., and Jimenez L. Polyphenols: food sources and bioavailability / Manach C. // *Am. J Clin Nutr.* – 2004. – vol. 79, № 5. – P. 727-747.
7. Liangly Yu *Wheat antioxidants / Canada: Wiley, John & Sons, Inc., 2008. – P. 276.*
8. M.F. Andreasen, L.P. Christensen, A.S. Meyer and A. Hansen Ferulic acid dehydrodimers in rye (*Secale cereal L.*) / M.F. Andreasen // *Journal of Cereal Science*. – 2000. – № 31. – P. 303-307.
9. Kenji Iiyama, Thi Bach Tuyet Lam and Bruce A. Stone Phenolic acid bridges between polycchaharides and lignin in wheat internodes / Kenji Iiyama // *Phytochemistry*. – 1990. – vol. 29, № 3. – P. 733-737.
10. Флоренская, И.К. Технохимический контроль качества сырья и комбикорма / И.К. Флоренская. – М.: Колос, 1985. – с. 119 с.
11. Методы технологического контроля в виноделии / под ред. В.Г. Гержиковой. – Симферополь: Таврида, 2002. – с. 260.

Поступила 12.12.2013

Адрес для переписки:
ул. Канатная, 112, г. Одесса, 65039

