

Автореферат
Л 67

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ОДЕСЬКА НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ

ЛІГАНЕНКО МАРГАРИТА ГЕННАДІЇВНА



УДК 663.316-027.332:613.232

РОЗРОБКА ТЕХНОЛОГІЙ ФУНКЦІОНАЛЬНИХ
КОНСЕРВОВАНИХ ІНГРЕДІЄНТІВ З ЯБЛУЧНИХ ВИЧАВОК

Спеціальність 05.18.13 - технологія консервованих і охолоджених
харчових продуктів

АВТОРЕФЕРАТ

дисертації на здобуття наукового ступеня

кандидата технічних наук

Одеса – 2013

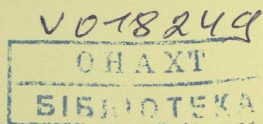
Дисертацією є рукопис.

Робота виконана в Одеській національній академії харчових технологій
Міністерства освіти і науки України

Науковий керівник - доктор технічних наук, професор
Безусов Анатолій Тимофійович,
Одеська національна академія харчових
технологій, кафедра біотехнології,
консервованих продуктів і напоїв, завідувач
кафедри.

Офіційні опоненти: - доктор технічних наук, доцент, лауреат
Державної премії в області науки і техніки
Погарська Вікторія Вадимівна,
Харківський державний університет
харчування та торгівлі, кафедра технологій
переробки плодів, овочів і молока;

- кандидат технічних наук, доцент
Мельничук Оксана Євстахівна
Тернопільський національний технічний
університет імені Івана Пулюя, кафедра
харчової біотехнології і хімії.



2013 р. о 13³⁰ годині на засіданні
спеціалізованої комісії при Одеській національній академії
харчових технологій, вул. Канатна, 112, ауд. А-234.

Одеської національної академії
харчових технологій, вул. Канатна, 112, ауд. А-234.

ОНАХТ Автореф
Розробка технологій



v018249

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Розробка сучасних технологій консервування харчових продуктів базується на максимальному використанні величезних обсягів органічних відходів, які відіграють важливу роль в економіці й стані навколишнього середовища. До цінних відходів, що утворюються в харчовій промисловості при переробці плодової сировини, відносять яблучні вичавки. Такі відходи є багатотоннажними в Україні і до теперішнього часу мало використовуються. Тому технології переробки вторинної сировини для розробки нових видів консервованих харчових продуктів з отриманням подвійної вигоди є раціональним вирішенням питання утилізації відходів консервної промисловості.

Актуальність теми. Проблеми, пов'язані з раціональним використанням сировинних ресурсів, засновані на комплексній переробці рослинної сировини, є актуальними. В останні роки в розвинених країнах стали приділяти увагу пребіотичним речовинам як функціональним інгредієнтам харчування. Найбільш відомими серед них є фруктоолігосахариди, галактоолігосахариди, інулін, ізомальтолігосахариди, з синтетичних – лактулоза. Раніше американські вчені встановили високий пребіотичний ефект пектинових олігосахаридів, який полягає у прояві біфідогенної дії поряд з уже відомими пребіотиками. Технологія отримання цих пребіотиків розроблена на основі високоочищених пектинових препаратів, тому відрізняється своєю дороговизною.

Нами розроблені науково-обґрунтовані технологічні рішення виробництва функціональних інгредієнтів харчування зі свіжих яблучних вичавок з метою найбільш повноцінного використання фізіологічно-функціональних інгредієнтів, що містяться в сировині: сиропу пектинових олігосахаридів (рідкої фази) як джерела пребіотиків та дієтичних харчових волокон (твердої фази).

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконана відповідно до держбюджетних тематик науково-дослідних робіт Одеської національної академії харчових технологій 1/09 – П «Біополімери рослин як об'єкти хімічної та біотехнологічної модифікації» (№ держреєстрації 0109U000397), 1/12 – П «Рослинні та мікробні полісахариди як об'єкти біотехнологічної модифікації» (№ держреєстрації 0112U000108).

Мета та завдання досліджень. Метою роботи є розробка технологій функціональних консервованих інгредієнтів з яблучних вичавок методом ферментативного біокаталізу.

Відповідно до поставленої мети визначено наступні завдання:

- дослідити вплив параметрів ферментативного перетворення пектинових речовин яблучних вичавок;
- встановити кінетичні властивості ферментів ендоектолітичної та пектинтранселазазної дії;
- розробити методи кількісного визначення пектинових олігосахаридів та визначити характеристики дієтичних харчових волокон;
- визначити біфідогенний ефект пектинових олігосахаридів;
- розробити технології, нормативні документації на функціональні консервовані інгредієнти з яблучних вичавок;

– розрахувати показники економічної ефективності виробництва продукції «Сироп пектинових олігосахаридів» та «Дієтичні харчові волокна».

Об'єкт досліджень – яблучні вичавки, сироп пектинових олігосахаридів, харчові волокна, технології функціональних консервованих інгредієнтів з яблучних вичавок.

Предмет досліджень – технологічні процеси, ферментативний біокаталіз пектинових речовин яблучних вичавок, біфідогенний ефект пектинових олігосахаридів.

Методи досліджень – комплекс традиційних і сучасних технологічних, біохімічних, фізико-хімічних, мікробіологічних та математико-статистичних методів досліджень.

Наукова новизна отриманих результатів. Робота характеризується наступними особливостями:

- розроблено новий вид продукції, який не має аналогу на українському ринку;
- вперше для виробництва пектинових олігосахаридів використано процес ферментативного біокаталізу яблучних вичавок;
- запропоновано нову ресурсозберігаючу технологію переробки яблучних вичавок на пектинові олігосахариди та дієтичні харчові волокна;
- визначено, що пектинові олігосахариди позитивно впливають на ріст і розвиток біомаси *Bifidobacterium bifidum*, як і вже відомі пребіотики лактулози і лактози.

Практичне значення отриманих результатів. У результаті проведених досліджень розроблено нові інноваційні технології. Розроблено технологічні інструкції і технічні умови на виробництво функціональних консервованих інгредієнтів з яблучних вичавок. Новизна технічних рішень захищена патентом України на корисну модель. Виробництво продукції «Сироп пектинових олігосахаридів» буде орієнтоване на реалізацію консервним, кондитерським і молочним підприємствам, як самостійного продукту, так і для виробництва фруктових і овочевих напоїв, коктейлів, для заміни цукрового сиропу. Виробництво продукції «Дієтичні харчові волокна» буде орієнтоване на реалізацію консервним підприємствам для повноцінної утилізації багатотоннажних відходів, що накопичуються під час переробки плодової сировини та розширення асортименту продуктів, збагачених харчовими волокнами. Розроблені технології перевірені у виробничих умовах на ТОВ НВП «Аріадна», м. Одеса.

Результати дисертаційної роботи впроваджено в навчальний процес кафедри біотехнології, консервованих продуктів і напоїв Одеської національної академії харчових технологій.

Особистий внесок здобувача. Автором організовано і здійснено аналітичні та експериментальні дослідження, проведено теоретичне та експериментальне обґрунтування механізму ферментативного біокаталізу пектинових речовин яблучних вичавок, визначено біфідогенний ефект пектинових олігосахаридів, забезпечено методичне оформлення роботи. За підтримки наукового керівника проведено аналіз та узагальнення отриманих результатів досліджень у вигляді висновків, нормативних документів; організації промислової апробації та обґрунтуванні техніко-економічного ефекту від впровадження розроблених технологій. Особистий внесок здобувача підтверджується представленими документами та науковими публікаціями.

Апробація результатів дисертації. Основні результати досліджень доповідались та обговорювались на 9 наукових конференціях, зокрема Сьомій та Восьмій Міжнародних науково-технічних конференціях «Техніка і технологія харчових виробництв» (м. Могилів, 2011-2012 рр.), Четвертій та П'ятій Всеукраїнських науково-практичних конференціях молодих учених і студентів «Проблеми формування здорового способу життя у молоді» (м. Одеса, 2011-2012 рр.), Міжнародній заочній науково-практичній конференції «Дні науки» (м. Прага, 2012 р.), Всеукраїнській науково-практичній конференції молодих учених і студентів «Актуальні проблеми розвитку харчових виробництв, ресторанного господарства і торгівлі» (м. Харків, 2012 р.), Міжнародній науково-практичній конференції «Розвиток наукових досліджень 2012» (м. Полтава, 2012 р.), Другому Північно- і Східно-Європейському Конгресі з харчової науки NEEFood-2013 (м. Київ, 2013 р.).

Публікації. Результати дисертації опубліковано в 14 друкованих працях, з яких 5 у фахових виданнях, 1 патент України на корисну модель № 54330 та 9 тез доповідей у збірниках матеріалів конференцій.

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційна робота складається зі вступу, основного змісту, що включає 4 розділи, загальних висновків, списку використаних літературних джерел з 200 найменувань (22 стор.) та 8 додатків (63 стор.). Основний зміст роботи викладено на 125 стор., включаючи 38 рисунків (12 стор.) і 20 таблиць (4 стор.).

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

У вступі обґрунтовано актуальність обраної теми, наведено зв'язок роботи з науковими програмами, сформульовано мету і завдання досліджень, показано наукову новизну і практичну значущість одержаних результатів, відображено результати їх апробації, структуру і обсяг дисертації, публікації за матеріалами роботи.

У першому розділі «Аналіз технологій виробництва харчових продуктів на основі пектинових речовин яблучних вичавок» представлено аналітичний огляд літератури щодо сучасного стану технологій виробництва пектину, структури, характеристики і тенденцій розвитку таких функціональних інгредієнтів харчування, як пребіотики-олігосахариди. Розглянуто вплив ферментів, що беруть участь в процесі перетворення пектинових речовин яблучних вичавок. Визначені основні проблеми щодо повноцінного використання плодової сировини, впровадження існуючих технологій у виробничий процес. На основі огляду літератури зроблено висновки, в яких відзначено актуальність обраного напрямку дисертаційної роботи.

У другому розділі «Об'єкти та методи досліджень» визначено основні напрямки проведення наукових і експериментальних досліджень, представлено методологічний підхід до виконання поставлених завдань та наведено програму досліджень (рис. 1), в якій відображено основні напрямки та взаємозв'язок етапів роботи. Описано предмети, об'єкти і методи досліджень. Використані методики забезпечують одержання результатів, що відображають властивості об'єктів досліджень.

Експериментальні дослідження проводили на кафедрах біотехнології, консервованих продуктів і напоїв, біохімії, мікробіології та фізіології харчування,

технології молока і молочних продуктів ОНАХТ, фізико-хімічному інституті ім. О. В. Богатського НАН України та ТДВ «ІНТЕРХІМ».

Визначення фізико-хімічних показників вхідної сировини, а також на етапах технологічного процесу і готових продуктів проводили експериментальним шляхом з використанням сучасних методів, які стандартизовані або модифіковані.



Рис. 1. Програма проведення досліджень.

Для математичної обробки результатів даних використано стандартну програму пакета Microsoft Excel 2007.

У третьому розділі «Дослідження процесу ферментативного біокаталізу пектинових речовин яблучних вичавок» наведено результати експериментальних досліджень. В технологіях комплексної переробки кожен забруднюючий матеріал повинен бути оцінений щодо придатності його використання в розробці нових видів харчових продуктів. Найбільш важливими критеріями, що визначають вибір сировини, є: вартість, наявність в достатніх кількостях, хімічний склад. У дослідженнях використовували осінньо-зимову сортосуміш яблучних вичавок, яка утворюється після відділення соку. Сорти яблук відбирались за найбільш тривалою наявністю на українському ринку. В дослідженнях використовували сортосуміш

наступних сортів: Ренет ландсбергський, Кальвіль червоний зимовий, Ренет симиренко, Бойкен, Вагнера призове. Хімічний склад сортосуміші яблучних вичавок характеризується високою харчовою цінністю, яка наведена в табл. 1.

Таблиця 1
Фізико-хімічні показники сортосуміші яблучних вичавок

Найменування показників	Яблучні вичавки (n=3; p≥0,95)
Вода, (%)	80,5
Білки, (%)	0,6
Ліпіди, (%)	0,6
Вуглеводи, (%):	
Моно- та дисахариди	7,6
Масова частка нерозчинних речовин, г/100г	10,0
з них пектинові речовини	1,8
Масова частка титрованих кислот (у перерахунку на яблучну кислоту), %	0,4
pH	3,9
Зола, (%)	0,3

Вміст пектину становить 1,8 % на сиру масу. Фракція протопектину переважає над вмістом розчинного пектину яблучних вичавок, що потрібно буде врахувати у наступних дослідженнях. З точки зору новітніх технологій відібрана сортосуміш являється задовільною сировиною для подальшої переробки на функціональний інгредієнт харчування.

Ферментативні процеси отримання пектинових олігосахаридів відрізняються від ферментативного гідролізу пектинових речовин.

Такі процеси розглядаються як біокатализ, в якому беруть участь пектолітичні ферменти різної дії. З усієї групи ферментів, що діють на пектинові речовини яблучних вичавок, найбільш важливими є полігалактуронази і траселіменази. Враховуючи основні положення концепції промислового біокаталізу, ефективність процесу залежить від показника гідромодулю (ГМ) яблучних вичавок, показників швидкості ферментативних реакцій: концентрацій ферментних препаратів, субстратів та їх співвідношення, температурних та pH-оптимумів, максимальної швидкості гідролізу (V_{max}) та констант Міхаеліса (K_m). В технології біокаталізу пектинових речовин суттєву роль відіграє поняття «граничний час» гідролізу субстрату, тобто для виробництва олігосахаридів перша ступінь гідролізу повинна

Головним складовим компонентом яблучних вичавок являються пектинові речовини. Вони представлені розчинною формою (гідратопектин) і протопектином (не розчинний у воді пектин). Знання фракційного складу дозволило оптимально оцінити технологічну прийнятність пектиновмісної сировини. Характеристика фракційного складу пектинового комплексу досліджуваної сортосуміші представлена в табл. 2. Результати експериментів показали, що досліджена сортосуміш яблучних вичавок характеризується невеликим вмістом спиртонерозчинного залишку (21,0 % на суху масу), це вказує на відсутність грануляції сировини.

Таблиця 2
Фракційний склад пектинових речовин сортосуміші яблучних вичавок (n=3; p≥0,95)

Показник	Значення
Вода, %	80,5
Спиртонерозчинний осад, %:	
на сиру масу	3,51
на суху масу	21,00
Пектин на сиру масу, %:	
протопектин	1,4
розчинний пектин	0,4
Пектин на суху масу, %:	
протопектин	6,3
розчинний пектин	1,9

пройти частково, лише для отримання субстрату для наступної стадії процесу. Біокаталіз пектинових речовин яблучних вичавок пектолітичними ферментами проходить в дві стадії: на першій відбувається гідролітичне розщеплення ферментним препаратом ендопектолітичної дії, на другій – не гідролітичне розщеплення ферментним препаратом транселіменазної дії з утворенням ненасичених вуглеводів. Найбільш важливими параметрами біокаталізу є вихідні параметри, які встановлюють необхідний вихід основного та побічних продуктів реакції, показники якості та функціонально-технологічні властивості кінцевих продуктів процесу.

Для проведення експериментів використовували ферментні препарати Pectinex BE-3L ендопектолітичної дії (виробник «Novozymes A/S», Данія) та Мацеробацилін ГЗХ (пробна партія, Росія). Активності ферментів представлені в табл. 3.

Таблиця 3

Назва препаратів	Активність ферментних препаратів пектолітичної дії						
	Активність, од/г						
	ПМЕ	Ендо-ПГ	ПТЕ	Ендо-глоконази	β -целобіази	Ксилонази	α -арабінозидази
Pectinex BE-3L	2 090	4 900	-	986	-	21 630	2 988
Мацеробацилін ГЗХ	сліди	сліди	7120	15	10	-	-

Необхідно відмітити, що для яблучних вичавок характерний високий вміст таких структурних полісахаридів, як геміцелюлози, целюлоза, серед інших вуглеводів: сахароза, фруктоза, глюкоза (табл. 4).

Таблиця 4
Вуглеводний склад яблучних вичавок
($n=3$; $p \geq 0,95$)

Найменування показників	Значення
Вологість, г/100 г	80,5
Пектинові речовини, г/100 г	1,8
Целюлоза, г/100 г	4,7
Геміцелюлози, г/100 г	3,6
Моно- та дисахариди, г/100 г	7,6

Для вилучення цукрів проводили трикратне промивання з ГМ сировина:вода = 1:5. Така обробка яблучних вичавок забезпечує екстракцію цукрів та органічних кислот, які є інгібіторами реакцій та сповільнюють синергізм обраних ферментних препаратів.

Для визначення фактичних активностей ферментних препаратів використовували візкозиметричний метод визначення активності ферменту ендопектолітичної дії. Метод заснований на гідролізі пектину ферментним препаратом і визначенні ступеня його розщеплення за величиною зниження в'язкості. За одиницю пектолітичної активності приймали таку кількість ферменту, яка у визначених умовах при температурі 40 °С за 30 хв каталізує гідроліз 1 %-го модельного розчину пектину із зниженням в'язкості на 30 %. На підставі отриманих даних побудовано графік залежності кінематичної в'язкості модельного розчину пектину від тривалості

гідролізу. Встановлено, що 0,55 мг/100 г ферментного препарату призводить до зниження в'язкості 1 %-го розчину пектину на 30 % за 15 хв (рис. 2-3).

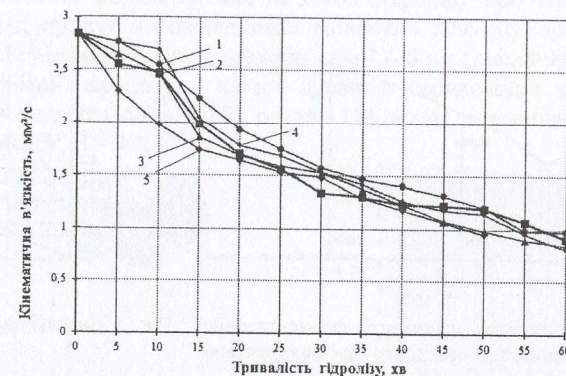


Рис. 2. Залежність кінематичної в'язкості модельного розчину пектину від тривалості гідролізу, де: 1 - концентрація ферментного препарату 0,5 мг/100 г; 2 - концентрація ферментного препарату 0,55 мг/100 г; 3 - концентрація ферментного препарату 0,6 мг/100 г; 4 - концентрація ферментного препарату 0,7 мг/100 г; 5 - концентрація ферментного препарату 1 мг/100 г.

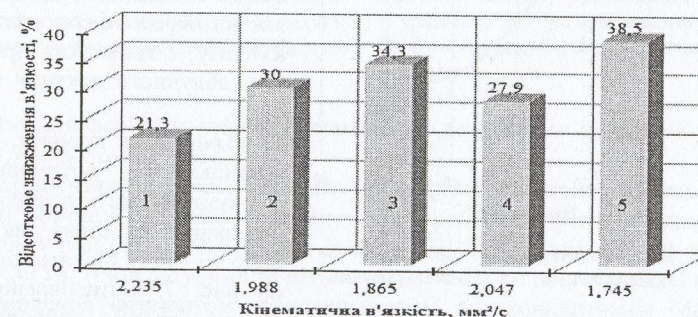


Рис. 3. Відсоткове зниження в'язкості 2 %-го розчину пектину.

Для визначення спорідненості ферменту до субстрату і встановлення оптимальної концентрації субстрату для характеристики активностей ферментного препарату визначили константи Міхаеліса і максимальну швидкість ферментативних реакцій при різних концентраціях субстрату. Всі інші показники (температура, рН середовища) залишались незмінними (рис.4). Графік показує, що при низьких концентраціях субстрату швидкість реакції пропорційна концентрації субстрату, при високих – втрачає цю залежність. Чим менше K_m , тим більша спорідненість ферменту до конкретного субстрату. Отримані результати використовували для побудови графіку в обернених координатах за методом Лайнуівера-Берка (рис. 5).

Константа Міхаеліса для всіх випадків менше одиниці, що свідчить про спорідненість ферменту до субстрату. Отже, концентрація ферментного препарату і субстрату обрані вдало.

Важливим показником при дослідженні ферментативних реакцій є температурне значення середовища. Експерименти проводили при температурах в діапазоні 20...50 °С.

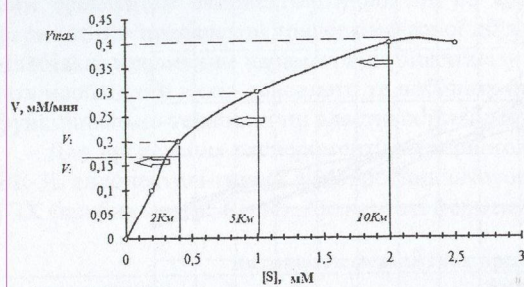


Рис. 4. Залежність швидкості ферментативної реакції від концентрації субстрату при використанні Pectinex BE-3L.

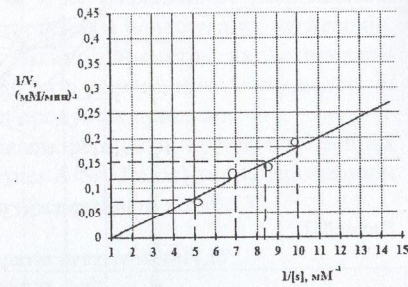


Рис. 5. Визначення констант K_m та V_{max} .

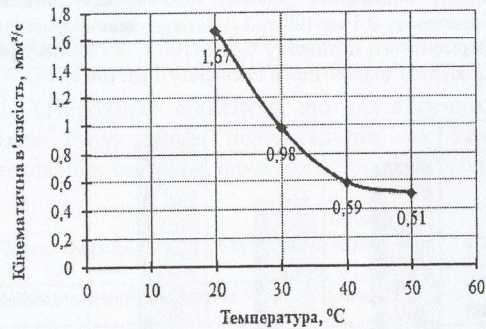


Рис. 6. Вплив температури середовища на зниження кінематичної в'язкості розчину пектину.

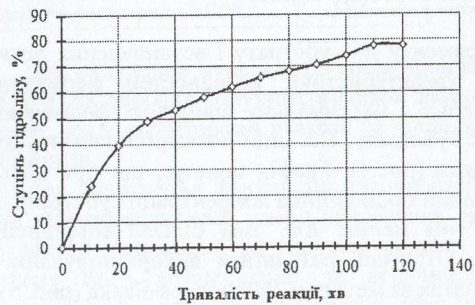


Рис. 7. Час експозиції ферментного препарату Pectinex BE-3L.

Графік на рис. 6 показує, що при температурах 40...50 °С відбувається значне зниження кінематичної в'язкості. Показником, що впливає на перебіг ферментативного біокаталізу, є тривалість процесу гідролізу яблучного пектину на першому етапі.

Тривалість процесу, яка за вище встановлених оптимальних умов ферментативного гідролізу створить найкращий субстрат для проведення другого етапу біокаталізу, зображена на рис. 7. Встановлено, що через 30 хв ступінь гідролізу розчину яблучного пектину становить майже 50 %. Тому подальшу обробку ферментним препаратом ендепектолітичної дії потрібно зупинити. Для інактивації ферменту розчин кип'ятили при 100 °С протягом 5 хв.

Другий етап досліджень включатиме негідролітичне розщеплення за допомогою ферментного препарату транселіменазної дії (Мацеробацилін ГЗХ), що призводить до отримання пектинових олігосахаридів з включенням ненасичених моноцукрів.

pH-оптимум дії ферменту знаходиться в проміжку значень 7...10. Для експерименту вносили 0,35 мг/см³ Мацеробациліну ГЗХ. За одиницю ПТЕ активності приймали таку кількість ферменту, яка за 1 год гідролізу при температурі 40 °С утворює ненасичені продукти розщеплення молекули пектину, збільшує оптичну густину реакційної суміші на 0,1 при довжині хвилі 235 нм (рис. 8-9).

Для інтенсифікації процесу в якості лужного середовища використовували електроактивовану воду (катод, pH=10), розчин 1М NaOH, внесення ПАВ (монодигліцерид жирних кислот, E = 471).

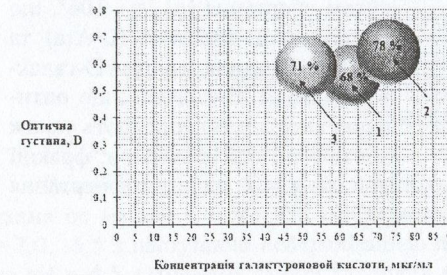


Рис. 8. Глибина гідролізу за 30 хв, де: 1-розчин пектину: активована вода (1:1) – фермент; 2 – розчин пектину: 1%-розчин ПАВ - фермент; 3-розчин пектину: 1М NaOH – фермент.

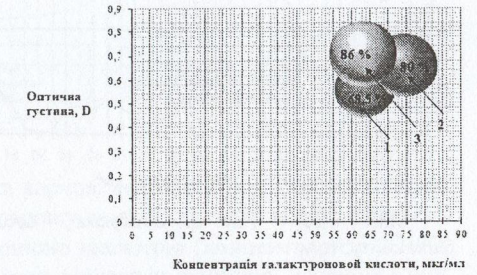


Рис. 9. Глибина гідролізу за 60 хв, де: 1-розчин пектину: активована вода (1:1) – фермент; 2 – розчин пектину: 1%-розчин ПАВ - фермент; 3-розчин пектину: 1М NaOH – фермент.

Інактивація ферменту транселіменазної дії досягається зниженням pH середовища до 3,7 за допомогою HCl.

Експериментально встановлені наступні параметри ферментативного біокаталізу 1 %-го розчину яблучного пектину: 1) гідролітичне розщеплення ферментом ендепектолітичної дії: концентрація Pectinex BE-3L – 0,55 мг/100 г, тривалість процесу – 30 хв, температурний та pH-оптимум 40 °С і 4 відповідно. 2) негідролітичне розщеплення ферментом транселіменазної дії: концентрація Мацеробациліну ГЗХ – 0,35 мг/см³, тривалість процесу – 60 хв, при температурі 40 °С, pH = 7,4, доведенням 1М NaOH в дистильованій воді.

Аналогічні дослідження, були проведені на яблучних вичавках. Встановили ідентичні параметри процесу ферментативного біокаталізу для яблучних вичавок.

Для визначення глибини гідролізу пектинових речовин яблучних вичавок здійснено комплексне визначення пектину. Розділення продуктів біокаталізу проведено гел'фільтрацією на сефадексі G-25, в кожній пробі контролювали вміст гексоуронових кислот по реакції з L-цистеїном і сірчаною кислотою, вміст пектинових олігосахаридів визначали карбазольним методом. Розподільну БХ олігосахаридів проведено на папері Filtrak FN-12 в системі чотирьох розчинників. Середню ступінь полімеризації отриманих продуктів біокаталізу визначено за накопиченням редуруючих речовин до і після їх гідролізу 2 %-им розчином HCl протягом 5 годин при температурі 98 °С. Редуруючі цукри визначено йодометричним методом Хагедорна-Йенсена. В результаті реакцій отримано речовини ступеню полімеризації 2...10.

Ідентифікація продуктів біокаталізу (рис. 10), показує, що після ферментативного біокаталізу утворюються фракції речовин зі ступенем полімеризації 2...10, що являються ненасиченими пектиновими олігосахаридами (фракції об'ємів 32-48), арабіноза і галактоза (фракції об'ємів 52-62), які включені в комплекс макромолекули пектинових речовин яблучних вичавок.

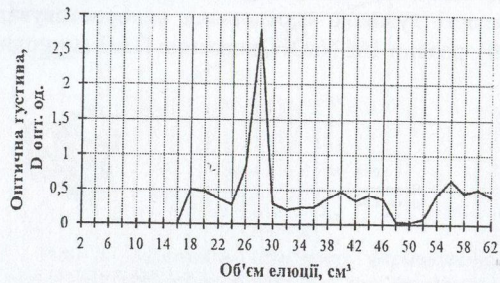


Рис. 10. Гель-хроматограма продуктів біокаталізу.

Встановлено, що до складу пектинових речовин яблучних вичавок входять наступні структурні елементи: гомогалактуронан, що складається із 1,4 – зв'язаних залишків D-галактуронових кислот, рамногалактуронан-I, в якості основного фрагмента розгалуженої області макромолекули, що складається із залишків арабінози та галактози. В результаті деградації пектинового комплексу яблучних вичавок відбувся розпад зв'язків між молекулами рамногалактуронану-I, гідроліз зв'язків гомогалактуронану з утворенням олігосахаридів різної молекулярної маси.

В четвертому розділі «Розробка технологій функціональних консервованих інгредієнтів з яблучних вичавок» проведено моніторинг існуючих способів виробництва концентрованих соків, теоретичні та експериментальні дослідження, які стали основою для розробки технологій функціональних консервованих інгредієнтів із яблучних вичавок, що відповідають усім вимогам сучасної науки про харчування.

Виробництво готового продукту «Сироп пектинових олігосахаридів» виконано при суворому дотриманні санітарно-гігієнічного режиму виробництва консервованих продуктів харчування. Після ферментативного біокаталізу суміш розділяли на рідку і тверду фази, використовуючи фільтруючу центрифугу. Вихід розчину складав 60 %. Вміст пектинових олігосахаридів в рідкій фазі – 16 г/л. Для збільшення концентрації олігосахаридів розчин сконцентровано зворотнім осмосом, використовуючи ацетатцелюлозну мембрану МГА, при робочому тиску 5,0 МПа. Концентрування розчину проводили до 40 % вмісту сухих речовин, де пектинові олігосахариди складають 36 %. Після чого проведено пастеризацію сиропу за формулою: $\frac{15-12-15}{90}$, 127 кПа. За мікробіологічними показниками пастеризовані консерви відповідають вимогам промислової стерильності до консервованої продукції групи Г, рН<3,7.

Ферментативний біокаталіз подіяв тільки на пектинову фракцію яблучних вичавок, тому вихідними сполуками крім пектинових олігосахаридів є нерозчинні

Методом поляриметрії встановлено, що фракції об'ємів 52-62 являються оптично активними: з кутом обертання $[\alpha]_D = -106^\circ$, що відповідає L-арабінозі (L-Ara) та $[\alpha]_D = +81$, що відповідає D-галактозі (D-Gal). Визначено, що оптичною активністю володіють також ненасичені олігосахариди: фракції об'ємів 42-48 мали кут обертання $[\alpha]_D = -117,65^\circ$.

фракції: целюлоза, геміцелюлози. Харчові волокна – це складний структурний об'єкт сушіння і вилучення з них вологи без втрат харчових якостей є дуже важким завданням. В лабораторних умовах нами було проведено серію експериментів з підбору способу попередньої обробки харчових волокон для поліпшення і прискорення процесу сушіння (рис.11). Визначено необхідний час сушіння харчових волокон за різних способах попередньої обробки для досягнення необхідної кінцевої вологи продукту.

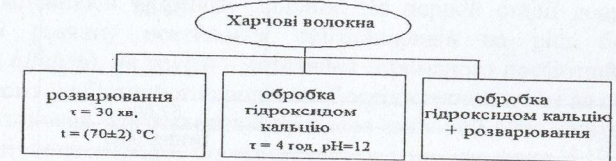


Рис. 11. Схема проведених дослідів.

Встановлено, що необхідно витримувати харчові волокна в насиченому розчині вапна не менше 4 год. Далі проводили промивку дистильованою водою до рН = 7,0...6,5 з наступною нейтралізацією лимонною кислотою (концентрацією 0,3 %) до рН = 4,5. Отриману суміш харчових волокон піддавали сушінню. За таких умов кінцева вологість харчових волокон становить 5,7 % через 105 хв процесу сушіння. Обгрунтувавши результати досліджень, розроблено технологічні схеми виробництва продукції «Сироп пектинових олігосахаридів» та «Дієтичні харчові волокна» (рис. 12). Зберігають консервовані складські приміщення за наступних умов: «Сироп пектинових олігосахаридів» при температурі 0...+10 °С, «Дієтичні харчові волокна» - при (18 ± 5) °С і відносній вологості повітря не вище 75 %. Гарантійний термін зберігання - 1 рік.

Таблиця 5

Найменування показників	Характеристика інгредієнту	
	Сироп пектинових олігосахаридів	Дієтичні харчові волокна
Смак і запах	натуральний, приблизений до яблучного соку, без сторонніх присмаку і запаху	смак та запах слабо виражені
Колір	солон'яний	блідо-жовтий

За органолептичними показниками консерви повинні відповідати вимогам, наведеним у табл. 5, за фізико-хімічними показниками - наведеним у табл. 6.

Фізико-хімічні показники сиропу пектинових олігосахаридів

Таблиця 6

Найменування показників	Найменування функціонального інгредієнту	
	Сироп пектинових олігосахаридів	Дієтичні харчові волокна
Вода, (%)	60,00	5,7
Масова частка розчинних сухих речовин, (%)	40,00	-
Зола	0,65	3,8
Масова частка титрованих кислот (у перерахунку на яблучну кислоту), %	0,50	0,4

(n=3; p≥0,95)

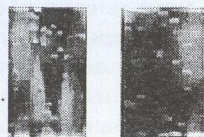


Рис. 14. *B. bifidum* з додаванням пектинових олігосахаридів (а) і лактози (б).

Таблиця 7
Накопичення біомаси *B. bifidum* залежно від джерела вуглецю

Тривалість культивування, год	Джерело вуглецю			
	лактоза		пектинові олігосахариди	
	1,0 %	0,5 %	1,0 %	2,0 %
6	$2 \cdot 10^8$	$7 \cdot 10^6$	$4 \cdot 10^7$	$8 \cdot 10^7$
12	$3 \cdot 10^9$	$1 \cdot 10^7$	$6 \cdot 10^8$	$2 \cdot 10^9$
24	$2 \cdot 10^{10}$	$3 \cdot 10^8$	$6 \cdot 10^{10}$	$4 \cdot 10^{10}$

них з вирощуванням біфідобактерій, зокрема *B. Bifidum*, а також можуть бути рекомендовані для розробки лікувально-профілактичних харчових продуктів.

ВИСНОВКИ

1. На підставі узагальнення теоретичних і експериментальних досліджень розроблені технологічні схеми виробництва функціональних консервованих інгредієнтів з яблучних вичавок.

2. Теоретично обґрунтовано та експериментально підтверджено, що обрана сортосуміш яблучних вичавок для виробництва функціональних інгредієнтів харчування задовольняє вимоги новітніх технологій. Показано найдоцільніше використання ферментативного біокаталізу в технології виробництва олігосахаридів.

3. Експериментально встановлено оптимальні параметри ферментативного біокаталізу пектинових речовин яблучних вичавок: 1) гідролітичне розщеплення ферментом ендопектолітичної дії: концентрація Pectinex VE-3L – 0,55 мг/100 г, тривалість процесу – 30 хв, температурний та рН-оптимум 40 °С і 4 відповідно. 2) не гідролітичне розщеплення ферментом транселіменазної дії: концентрація Мацеробациліну ГЗХ – 0,35 мг/см³, тривалість процесу – 60 хв, при температурі 40 °С, з рН = 7,4, доведенням 1М NaOH в дистильованій воді.

4. Оцінено якісний та кількісний склад розчину пектинових олігосахаридів та визначено основні характеристики дієтичних харчових волокон. Встановлено, що продуктами ферментативного біокаталізу пектинових речовин яблучних вичавок будуть ненасичені пектинові олігосахариди зі ступенем полімеризації 2...10, а також арабіноза і галактоза. Вміст олігосахаридів до концентрування розчину 16 %, після – 36 %. До складу дієтичних харчових волокон, які також є кінцевими продуктами ферментативного біокаталізу, входять: протопектин – 14 %, целюлоза – 46 %, геміцелюлози – 34 %, лігнін – 1 %. Кінцева вологість харчових волокон за 105 хв сушіння – 5,7 %.

5. Встановлено біфідогенний ефект функціонального консервованого інгредієнту харчування: пектинові олігосахариди позитивно впливають на ріст і розвиток біомаси *B. bifidum*, як і вже відомі пребіотики лактулоза і лактоза.

6. Розроблено проект нормативної документації на «Сироп пектинових олігосахаридів» і «Дієтичні харчові волокна», які можуть бути впроваджені у агропромислового комплексу України. Промислову апробацію виробництва на підставі розроблених технологій проводили на ТОВ НВП «Аріадна», м. Одеса.

7. Розраховано економічний ефект від впровадження розроблених технологій. Строк окупності інвестицій, вкладених у розробку та впровадження даних технологій у виробництво, буде становити 0,5 року.

Перелік опублікованих праць за темою дисертації

1. Безусов, А.Т. Технологія виробництва галактуронових олігосахаридів із пектиновмісної сировини [Текст] / А.Т. Безусов, М.Г. Малькова // Харчова наука і технологія. – Одеса: ОНАХТ, 2010. - № 1 (10). – С. 58-61.

Дисертантом запропоновано один з напрямків ефективного використання відходів консервного виробництва, а саме плодів вичавок та розроблена технологія виробництва галактуронових (пектинових) олігосахаридів - комерційного джерела пребіотиків.

2. Малькова, М.Г. Способ получения диетических пищевых волокон из отходов консервного производства [Текст] / М.Г. Малькова // Харчова наука і технологія. – Одеса: ОНАХТ, 2010. - № 4 (13). – С. 27-28.

Дисертантом розроблена технологія виробництва дієтичних харчових волокон, підібрано способи попередньої обробки яблучних вичавок для поліпшення і прискорення процесу сушіння.

3. Лисогор, Т.А. Волокноподібні неперетравні олігосахариди – перспективний клас пребіотиків [Текст] / Т.А. Лисогор, М.Г. Ліганенко // Збірник наукових праць - Харків: ХДУХТ, 2012. - № 2 (16). - С. 341-347.

Дисертантом досліджено вплив пектинових олігосахаридів на прояв біологічної активності корисних мікроорганізмів. Встановлено, від яких показників залежить стимуляція росту культури *Bifidobacterium bifidum*.

4. Ліганенко, М.Г. Функціональні напої в концепції здорового харчування [Текст] / К.В. Зубкова, М.Г. Ліганенко, К.Д. Кузнецова // Харчова наука і технологія. – Одеса: ОНАХТ, 2013. - № 3 (20). – С. 25-27.

Дисертантом розглянуті нові функціональні напої, які допоможуть знизити кількість хронічних захворювань, а саме сироп галактуронових (пектинових) олігосахаридів із яблучних вичавок, який можна вносити в овочеві, фруктові напої та коктейлі для надання пребіотичної дії готовому продукту.

5. Безусов, А.Т. Перетворення пектинових речовин під впливом пектиназ [Текст] / А.Т. Безусов, М.Г. Ліганенко // Вестник ХНТУ. – Херсон: ХНТУ, 2012. – № 2 (45). – С. 123-126.

Дисертантом наведено результати досліджень щодо виробництва низькомолекулярних олігосахаридів із пектиновмісної сировини. Встановлені механізми, умови та параметри проходження ферментативного гідролізу рослинних полісахаридів.

6. Пат. № 54330 України МПК (2009) C07H3/00 Спосіб виробництва галактуронових олігосахаридів Безусов А.Т., Нікітчина Т.І., Малькова М.Г. - № u 201003876; заявл. 06.04.2010; опубл. 10.11.2010, Бюл.№ 21.

Дисертантом узагальнено експериментальні дані, проведено літературний пошук, розроблено деклараційний патент України на корисну модель.

7. Малькова, М.Г. Разработка технологии функционального консервированного ингредиента из яблочных выжимок [Текст] / М.Г. Малькова, А.Т. Безусов // Збірник наукових праць молодих учених, аспірантів і студентів. – Одеса: ОНАХТ, 2011. - Том 2. С. 137-138.

Дисертантом запропоновано ефективний спосіб виробництва функціонального консервованого інгредієнту з яблучних вичавок, що здатен до корекції мікробіоценози кишечника людини.

8. Малькова, М.Г. Технологія получения галактуроновых олигосахаридов из яблочных выжимок [Текст] / М.Г. Малькова, А.Т. Безусов // Тез. докл. VII Международной научной конференции студентов и аспирантов. – Том 1. – Могилев, 2011. – с. 60.

Дисертантом запропоновано технологію виробництва галактуронових (пектинових) олігосахаридів із пектиновмісної сировини – яблучних вичавок.

9. Ліганенко, М.Г. Біфідогенний ефект галактуронових олігосахаридів [Текст] / М.Г. Ліганенко, А.Т. Безусов // Збірник наукових праць молодих учених, аспірантів і студентів. – Одеса: ОНАХТ, 2012. - Том 2. С. 92-93.

*Дисертантом проведені дослідження з підтвердження біфідогенного ефекту галактуранових (пектинових) олігосахаридів, використовуючи культуру *Bifidobacterium bifidum*.*

10. Паскал, Ю.Г. Підбір структуроутворювача в технології пореподібних фруктових десертів [Текст] / Ю.Г. Паскал, М.Г. Ліганенко // Тези доп. міжнародної заочної науково-практичної конференції «Дні науки». Прага, 2013. С.36-38.

Дисертантом запропоновано спосіб збагачення раціону людини харчовими волокнами шляхом збагачення продуктів харчування пектиновими речовинами яблук. Розроблено рецептуру та технологію виробництва швидкозаморожених пореподібних десертів на основі фруктової сировини.

11. Ліганенко, М.Г. Методы определения галактурановых олигосахаридов [Текст] / М.Г. Ліганенко, А.Т. Безусов // Тез. докл. VIII Международной научной конференции студентов и аспирантов. – Том 2. – Могилев, 2012. – с. 13.

Дисертантом приведені способи кількісного визначення галактуранових (пектинових) олігосахаридів в готовому продукті та на стадіях виробництва.

12. Ліганенко, М.Г. Галактуранові олігосахариди – перспективний клас пребіотиків [Текст] / М.Г. Ліганенко, А.Т. Безусов // Тез. доп. всеукраїнської науково-практичної конференції молодих учених і студентів. – Частина 1. – Харків, 2012. – с. 85.

Дисертантом вказано на роль галактуранових (пектинових) олігосахаридів як перспективного джерела пребіотиків.

13. Ліганенко, М.Г. Пребиотический эффект галактурановых олигосахаридов [Текст] / М.Г. Ліганенко // Тез. доп. міжнародної науково-практичної конференції «Розвиток наукових досліджень 2012». Том 5. – Полтава, 2012. – с. 11-13.

Дисертантом вказано на основні вимоги, що висуваються до пребіотиків та проведено дослідження з підтвердження пребіотичного ефекту галактуранових (пектинових) олігосахаридів.

14. Bezusov, A. A novel approach to the production of pectic-oligosaccharides. [Текст] / A. Bezusov, M. Liganenko // The second North & East European congress on Food, book of abstracts. – Kyiv, 2013. – page 212.

Дисертантом запропоновано новий підхід до виробництва пектинових олігосахаридів з відходів консервної промисловості.

Примітка. * Малькова М.Г. – дівоче прізвище здобувача.

АНОТАЦІЯ

Ліганенко, М.Г. Розробка технологій функціональних консервованих інгредієнтів з яблучних вичавок. – Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата технічних наук за спеціальність 05.18.13 – технологія консервованих і охолоджених харчових продуктів – Одеська національна академія харчових технологій Міністерства освіти і науки України, Одеса, 2013.

Дисертація спрямована на розробку технологій функціональних консервованих інгредієнтів з плодової мезги, шляхом визначення оптимальних параметрів проведення ферментативного біокаталізу пектинових речовин яблучних вичавок та встановлення умов сушіння дієтичних харчових волокон.

На підставі експериментальних досліджень, визначені оптимальні параметри ферментативного біокаталізу пектинових речовин яблучних вичавок: 1) гідролітичне розщеплення ферментом ендопектолітичної дії: концентрація Pectinex VE-3L – 0,55 мг/100 г, тривалість процесу – 30 хв, температурний та рН-оптимум 40 °С і 4 відповідно. 2) не гідролітичне розщеплення ферментом транселіміназної дії: концентрація Мацеробациліну ГЗХ – 0,35 мг/см³, тривалість процесу – 60 хв, при температурі 40 °С, рН = 7,4, доведенням 1М NaOH в дистильованій воді.

Встановлено, що продуктами ферментативного біокаталізу пектинових речовин яблучних вичавок будуть ненасичені пектинові олігосахариди зі ступенем полімеризації 2...10, а також арабіноза і галактоза. Іншим вихідним продуктом ферментативного біокаталізу є дієтичні харчові волокна: суміш протопектину – 14 %, целюлози – 46 %, геміцелюлоз – 34 % і лігніну – 1 %. В лабораторних умовах проведено дослідження з підбору способів попередньої обробки харчових волокон для поліпшення і прискорення процесу сушіння. Кінцева вологість харчових волокон за 105 хв сушіння – 5,7 %.

На підставі узагальнення теоретичних і експериментальних досліджень розроблені технологічні схеми виробництва функціональних інгредієнтів харчування: сиропу пектинових олігосахаридів та дієтичних харчових волокон.

Ключові слова: пектин, пектинові олігосахариди, дієтичні харчові волокна, ферментативний біокаталіз.

АННОТАЦИЯ

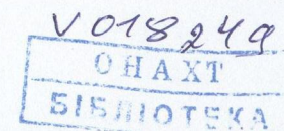
Ліганенко М.Г. Разработка технологий функциональных консервированных ингредиентов из яблочных выжимок – Рукопись.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата технических наук по специальности 05.18.13 – технология консервированных и охлажденных пищевых продуктов. – Одесская национальная академия пищевых технологий, Одесса, 2013.

Диссертация направлена на разработку технологий функциональных консервированных ингредиентов с плодовой мезги, путем подбора оптимальных параметров проведения ферментативного биокатализа пектиновых веществ яблочных выжимок, и определения оптимальных условий сушки диетических пищевых волокон.

Яблочные выжимки – источник многих биологических ценных соединений, в особенности пектиновых веществ. Распад пектиновых веществ в организме человека происходит в нижнем отделе кишечника под действием ферментов микрофлоры. В природных биоценозах расщепление пектинов вызывают микроорганизмы и высшие базидальные грибы с участием ферментов пектингидролаз и пектинлиаз. Для достижения поставленной цели, проведены исследования по подбору оптимальных условий проведения ферментативного биокатализа пектиновых веществ яблочных выжимок, с использованием ферментных препаратов эндопектолитического и лиазного действия.

Экспериментально установлены параметры ферментативного биокатализа пектиновых веществ яблочных выжимок: 1) гидролитическое расщепление ферментом эндопектолитического действия концентрация Pectinex VE - 3L – 0,55 мг/100 г, длительность процесса – 30 мин, температурный и рН-оптимум 40 °С и 4 соответственно. Активность деполимеризующего фермента определяли по изменению вязкости растворов. Установлено, что под действием эндофермента расщепление пектинового полимера происходит хаотичным образом, с разрывом внутренних связей 2) не гидролитическое расщепление ферментом транселіміназного действия концентрация Мацеробациліна ГЗХ - 0,35 мг/см³, длительность процесса – 60 мин, при температуре 40 °С, рН = 7,4, доведением 1М NaOH в дистиллированной воде. Действие фермента сопровождается разрывом 1-4 гликозидной связи путем транселіминирования, в результате чего образуется



двойная связь между 4-м и 5-м атомами углевода. Продукты преобразования, состоящие из остатков галактуроновой кислоты, на конце молекулы которых обнаружена двойная связь между C4-C5 атомами углерода, обладают антиадгезивными свойствами. Именно это и позволяет олигосахаридам блокировать связь лиганд-рецепторов с патогенными веществами и проявлять себя как пребиотик.

Разделение продуктов биокатализа проводили гель-фильтрацией на сефадексе G-25, в каждой пробе контролировали содержание гексоуроновых кислот по реакции с L-цистеином и серной кислотой, содержание пектиновых олигосахаридов определяли карбазольным методом, для определения моносахаридного состава проводили распределительную хроматограмму на бумаге в системе растворителей: а) этилацетат-уксусная кислота-вода (10:5:6), б) бутанол-пиридин-вода (3:2:1,5); в) уксусная кислота-бутанол-вода (1:4:5); г) этилацетат-уксусная кислота-муравьиная кислота-вода (18:3:1:4). Для идентификации моносахаридов соответственно использовали п-анизидин солянокислый, анилинфталат, бензидин, анилинфталат. Редуцирующие сахара определяли йодометрическим методом Хагедорна-Йенсена. Образование двойной связи контролировали спектрофотометрическим способом по реакции с тиобарбитуровой кислотой. Оптическую активность полученных веществ определяли на автоматическом поляриметре P8000-T.

Идентификация продуктов биокатализа показала образование ненасыщенных пектиновых олигосахаридов со степенью полимеризации 2...10, арабинозы и галактозы, которые включены в комплекс макромолекулы пектиновых веществ яблочных выжимок. Таким образом, полученная смесь преимущественно состоит из гетерогенных гликозидносвязанных ненасыщенных пектиновых олигосахаридов.

Установлен бифидогенный эффект пектиновых олигосахаридов: они положительно влияют на рост и развитие биомассы *Bifidobacterium bifidum*, так же, как и уже известные пребиотики лактулоза и лактоза. Поэтому пектиновые олигосахариды являются перспективным объектом исследований для использования в биотехнологических процессах, связанных с выращиванием бифидобактерий, в частности *B. bifidum*, а также могут быть рекомендованы для разработки лечебно-профилактических пищевых продуктов.

Конечными продуктами ферментативного биокатализа будут не только смесь олигосахаридов, но пищевые волокна: протопектин, целлюлоза, гемицеллюлозы и лигнин, на которую комплекс ферментов не действовал. Технологии получения пищевых волокон характеризуются большими энергозатратами в связи с трудностью высушивания до низких показателей влажности. Поэтому нами в лабораторных условиях были проведены эксперименты по подбору способов предварительной обработки пищевых волокон перед высушиванием.

Для достижения наилучшего результата необходимо выдерживать пищевые волокна в насыщенном растворе извести не менее 4 часов, далее проводить промывку дистиллированной водой до pH = 7,0...6,5, с последующей нейтрализацией лимонной кислотой (концентрацией 0,3 %) до pH = 4,5. Полученную смесь пищевых волокон подвергали сушке. При таких условиях конечная влажность пищевых волокон составила 5,7 % через 105 мин процесса сушки.

По результатам исследований разработаны технологические схемы производства, нормативная документация продукции «Сироп пектиновых олигосахаридов» и

«Диетические пищевые волокна», новизна технических решений защищена патентом Украины на полезную модель. Промышленную апробацию производства пищевых ингредиентов проводили на НПП ООО «Ариадна», г. Одесса. Результаты диссертационной работы применяются в учебном процессе кафедры биотехнологии, консервированных продуктов и напитков Одесской национальной академии пищевых технологий.

Ключевые слова: пектин, пектиновые олигосахариды, диетические пищевые волокна, ферментативный биокатализ.

ANNOTATION

Liganenko M.G. The development functional canned food ingredient technology from the apple pomace – the Manuscript.

Dissertation for obtaining the scientific degree of the candidate of technical sciences by specialty 05.18.13 – Technology of preserved and cooled foodstuffs – Odessa national academy of food technologies of the Ministry of education and science of Ukraine, Odessa, 2013.

Pectin has been utilized for his functionality in foods for many years. The inherent properties of pectin have not been fully explored and can show some novel and timely applicabilities. Today pectin is therefore beginning to gain interest as prebiotic and dietary fiber. It is known most of prebiotics are oligosaccharides - the relatively short chain carbohydrates. Problems related on the rational use of raw materials are topical nowadays. Every year more than 500 tons of apples are utilized for juices and beverages in Ukraine, which also formed about 150 tons of pectin containing pomace. The thesis presents one of the efficient use of waste in canning industry - fruit pomace. The main goal of the thesis is to develop technologies of production of low molecular weight oligosaccharides and dietary fiber.

Due, however, to current enzymatic manufacturing technology of pectic-oligosaccharides should be used high purity pectin, as a substrate. This technology is expensive and can't be applied to the industrial production of pectic-oligosaccharides. A novel approach to the production of pectic-oligosaccharides is the using of abundant and inexpensive biological raw material. The present work is to determine the optimum conditions for the controlled enzymatic biocatalysis of pectic-oligosaccharides using apple pomace as a substrate. In this field we dealt with the main different factors that affect the oligosaccharides productions, such as: temperature, pH, aeration, stirring, enzyme concentration. The composition of the pectic-oligosaccharides isn't homogenous. In addition, it consists of oligosaccharides ranging from di-saccharides to octa-saccharides. It was investigated pectic-oligosaccharides are good fermented *Bifidobacterium* with the formation of short-chain fatty acids, acetate, propionate and butyrate, as well as hydrogen and carbon dioxide. So there is clear evidence that pectic-oligosaccharides are a better prebiotic candidate than the pectin, although their bifidogenic effect is low compared to oligofructose. Enzymatic biocatalysis acted only on apple pectin fraction of the pomace so the started compound would be also the insoluble pectin fractions, cellulose, hemicellulose. It is known dietary fiber is a complex structural drying object and extraction of moisture without loss of nutritional qualities is a very difficult. In the laboratory we conducted a series of experiments on the selection method of pretreatment

dietary fiber to improve and speed up the drying process. Under chosen conditions, the final moisture content of dietary fiber is 5.7 % at 105 min of drying.

To the end the technologies of “Pectic oligosaccharide syrup” and “Dietary fiber” have been developed.

Keywords: pectin, pectic-oligosaccharides, prebiotic, dietary fiber, enzymatic biocatalysis.