

УДК 664.95+633

Н.Н. Ковалев, Ю.М. ПоздняковаДальневосточный государственный технический рыбохозяйственный университет,
690087, г. Владивосток, ул. Луговая, 52б**ОБОСНОВАНИЕ СПОСОБОВ ОБРАБОТКИ ЗОСТЕРЫ**

Проведено обоснование способов предварительной обработки зостеры. Для оценки экстрактивности пектина использовали зостеру сушеную листовую, измельченную до размера 2–3 мм, зостеру сушеную и измельченную на ножевой мельнице, измельченную на ножевой мельнице и обработанную ультразвуком, а также сухую зостеру, предварительно обработанную 95%-м спиртом с последующим измельчением на ножевой мельнице. Обнаружено, что экстрактивность пектинов из воздушно-сухих образцов зостеры зависит от выбора экстрагента. Выход пектина в образцах из листовой зостеры и зостеры, измельченной на ножевой мельнице (порошок), варьирует незначительно. Водная экстракция зостеры приводила к переходу в раствор около 20 % пектина, в то время как использование в качестве экстрагента 1%-го раствора лимонной кислоты приводило к повышению выхода пектина в раствор до 24,4 %. Ультразвуковая обработка измельченной зостеры приводила к наибольшему выходу пектиновых веществ в раствор. Также обработка ультразвуком положительно влияет на сорбционные свойства получаемого продукта. Исследование вязкости образцов показало, что наибольшая из всех вязкость экстракта зостеры определена в образце, полученном способом предварительной обработки травы спиртом и экстрагированном лимонной кислотой. Проведенные эксперименты показали, что раствор лимонной кислоты является более эффективным экстрагентом, чем вода. Проведенное исследование обосновывает важность предварительной обработки зостеры для дальнейшего ее применения в различных отраслях промышленности.

Ключевые слова: зостера, экстракция, измельчение, пектин.

N.N. Kovalev, Yu.M. Pozdnyakova**JUSTIFICATION METHODS OF ZOSTERA PROCESSING**

The substantiation of the pre-treatment methods zoster was conducted. To assess the pectin extractivity, dried zoster sheet crushed to a size of 2-3 mm, dried and crushed zoster in a knife mill, crushed in a knife mill and processed by ultrasound, as well as dry zoster pre-treated with 95% alcohol, followed by grinding in a knife mill, were used to assess the pectin extractiveness. It was found that the extractability of pectins from air-dried samples of zosteras depends on the choice of extractant. The yield of pectin in samples from leaf zoster and zoster milled in a knife mill (powder) varies slightly. Aqueous extraction of zosteras led to a transition to a solution of about 20% pectin, while the use of 1 % citric acid solution as an extractant led to an increase in the yield of pectin in the solution to 24.4 %. Ultrasonic treatment of ground zoster led to the highest yield of pectin substances in the solution. Also, sonication has a positive effect on the sorption properties of the resulting product. The study of the viscosity of the samples showed that the highest viscosity of the extract of the zoster extract was determined in a sample obtained by pre-treating the herb with alcohol and extracted with citric acid. Experiments have shown that citric acid solution is a more effective extractant than water. The study justifies the importance of pre-treatment of zosteras for its further use in various industries.

Key words: zoster, extraction, grinding, pectin.

Одним из направлений государственной политики в области здорового питания является улучшение структуры питания населения за счет увеличения доли продуктов массового потребления с высокой пищевой и биологической ценностью. Разработка новых пищевых продуктов для различных групп населения – актуальная задача в решении проблемы здорового питания. Важную роль в современных исследованиях играет разработка

продуктов функционального назначения, которые способны улучшать функционирование как определенных органов и систем человека, так и всего организма в целом [1]. В связи со сложной экологической ситуацией возрастает необходимость использования в пищу натуральных пищевых продуктов, содержащих биологически активные вещества (БАВ) различного спектра действия. Растительное биологически активное сырье повышает лечебно-профилактические свойства пищи, служит одним из основных источников БАВ, которые даже в минимальном количестве оказывают оздоровительное и защитное действия.

Перспективным направлением улучшения качества и ассортимента пищевых продуктов можно считать использование морского растительного сырья, такого как морские травы. Морские травы и их БАВ могут быть в полной мере использованы для профилактики и лечения ряда «болезней цивилизации», устранения последствий влияния токсических веществ на организм человека, они способствуют увеличению работоспособности и активации процессов восстановления [2, 3]. Так, показано, что низкоэтерифицированный пектин из морской травы *Zostera marina* обладает более высокой антиоксидантной активностью по сравнению с милдронатом и эмоксипином [4]. Минорные компоненты zostеры (комплекс полифенолов) проявляют противоопухолевую активность по отношению к аденокарциноме Эрлиха *in vitro* [5]. Обосновано применение zostеры в кормах сельскохозяйственных животных и птицы [6].

Zостерат рекомендуется в качестве структурообразователя при производстве консервов типа конфитюр [7]. Адсорбционные свойства zostерина высоки, в сравнении с общеизвестными пектинами, за счет более высокого содержания галактуроновой кислоты. Использование нетрадиционного сырья, содержащего пектины, немаловажно, так как в Приморском крае сохраняется неблагоприятная экологическая ситуация, обусловленная значительным ростом автотранспорта и большими объемами выбросов загрязняющих веществ от производственных объектов [8].

Несмотря на длительную историю изучения пектинов морских трав, известно несколько основных способов извлечения zostерина. Основными стадиями являются обработка zostеры слабым раствором кислот, нейтрализация, экстракция пектина и его осаждение спиртом или растворами солей металлов [9].

Была проведена работа по исследованию физико-химического состава zostеры, заготовленной разными способами [10]. Для проведения экспериментов использовали свежемороженную и сушеную zostеру. Часть исследуемых сырьевых образцов перед выделением биологически активных веществ подвергали деминерализации. Содержание пектиновых веществ в zostере свежемороженой составило 9,92 %, в zostере свежемороженой деминерализованной – 44 %; в zostере сушеной – 11,5 %, в zostере сушеной деминерализованной – 37,2 %. Самый высокий выход пектиновых веществ наблюдался после обработки сырья целлюлитическим ферментным препаратом, он составил в среднем 60,3 % от массы сырья.

Таким образом, все известные технологии переработки zostеры подразумевают сначала выделение растворимых компонентов и дальнейшее использование полученного жмыха в производстве кормов. Поэтому в настоящем исследовании в обработке zostеры применяли технологические приемы, которые позволяют использовать этот вид сырья целиком, без образования отходов. Разработка технологии пищевых продуктов на основе морской травы *Zostera marina*, включающая способы ее предварительной обработки, является актуальной.

Материалы и методы исследования

Объектами исследования являлись воздушно-сухие образцы морской травы *Zostera marina* и готовый продукт – жележный мармелад. Образцы zostеры предоставлены ООО «ФармОушн Лаб», г. Партизанск, заготовка – по ГОСТ 6730-75 «Трава морская сушеная. Технические условия» [11].

В качестве фермента использовали коммерческий препарат ЦеллоЛюкс-А с удельной активностью 2000 ед./г (ТУ 9291-008-13684916-05 с изменением № 1) [12].

Выделение нерастворимого пектина – по [13, 14].

Определение сорбционных свойств выделенного пектина зостеры проводили фотоколориметрическим методом для ионов меди [15].

Определение вязкостных характеристик растворов пектина проводили на ротационном вискозиметре серии ALPHA (производство Fungilab, SA).

Количественное определение пектиновых веществ определяли титриметрическим методом по ГОСТ 29059-91 «Продукты переработки плодов и овощей» [16].

Статистическую обработку результатов осуществляли на основе подсчета средних значений показателей и стандартной средней ошибки. Все цифровые величины, использованные при построении таблиц, являются среднеарифметическими, включая среднюю ошибку из результатов 3 параллельных определений, надежность которых установлена доверительным интервалом [17].

Полученные экспериментальные данные обрабатывали с использованием пакета прикладных программ Microsoft Excel.

Результаты и обсуждение

Для оценки экстрактивности пектина использовали 5 образцов зостеры различных способов обработки: 1 – зостера сушеная листовая, измельченная до размера 2–3 мм; 2 – зостера сушеная, измельченная на ножевой мельнице; 3 – высушенный водный экстракт зостеры (1 : 5), предварительно измельченной на ножевой мельнице и обработанной ультразвуком (250 Гц, 10 мин); 4 – сухая зостера, предварительно обработанная 95%-м спиртом с последующим измельчением на ножевой мельнице.

Нами впервые применен способ обработки зостеры ультразвуком. Чаще всего ультразвуковую обработку растительных материалов используют в фармацевтической, парфюмерной и пищевой отраслях промышленности. Установлено, что при помощи УЗ-обработки возможно извлечь практически все известные вещества, продуцируемые растениями [18].

Предварительная обработка морской травы спиртом (95%-й раствор этанола в соотношении 1 : 10) позволила очистить ее от примесей, в частности хлорофилла.

Экстракция пектиновых веществ из растительного сырья – первый и наиболее важный этап получения пектина. Задача гидролиза растительного сырья при получении пектина – разрыв макромолекулы протопектина [19].

Одна из задач по извлечению пектина – подбор наилучшего экстрагирующего агента. Известно, что экстрактивность полисахаридов зависит от типа экстрагента и его рН (увеличивается до рН 4) [20]. В качестве экстрагентов были использованы дистиллированная вода и 1%-й раствор пищевой лимонной кислоты.

Для интенсификации экстрагирования пектина и максимального его извлечения исходное сырье подвергали предварительной обработке – мацерации. Экспериментально установлено, что набухание сырья способствует более полному гидролизу растительного материала, в результате степень экстрагирования пектина увеличивается на 2–3 %, что не противоречит литературным данным [21].

Экстракцию пектина в экспериментальных образцах зостеры проводили при температуре 20 °С в течение 24 ч. Оптимальная величина гидромодуля с учетом достаточной степени высушенности используемого сырья составляет 1 : 40 [13].

Условия режима экстрагирования в проведенных экспериментах и определенное содержание пектиновых веществ (% от сухой массы сырья) приведены в табл. 1.

Таблица 1

**Влияние способов обработки zostеры на экстрактивность пектина
(% сухой массы сырья)**

Table 1

**Effect of processing on Zostera pectin extraction
(% dry weight of raw materials)**

№ п/п	Образец zostеры	Экстрагент			
		Вода		1%-я лимонная кислота	
		Пектин	Целлюлоза	Пектин	Целлюлоза
1	Листовая	20,1	79,9	23,9	76,1
2	Порошок	20,4	79,6	24,4	75,6
3	Обработанная УЗ	38,6	61,4	39,1	60,9
4	Обработанная спиртом	25,9	74,1	26,7	73,3

Проведенные исследования показали, что экстрактивность пектинов из воздушно-сухих образцов zostеры зависит от выбора экстрагента. Выход пектина в образцах из листовой zostеры и zostеры, измельченной на ножевой мельнице (порошок), варьирует незначительно. Сравнение образцов 1 и 2 показало, что водная экстракция zostеры приводила к переходу в раствор около 20 % пектина. В то время как использование в качестве экстрагента 1%-го раствора лимонной кислоты приводило к повышению выхода пектина в раствор до 24,4 %, что в 1,2 раза выше по сравнению с водной экстракцией. При сравнении образцов в зависимости от способа предварительной обработки следует отметить повышение выхода пектина в раствор. Известно, что zostера является источником флавоноидов, извлекаемых путем экстракции спиртом. Оценка влияния предварительной обработки zostеры этиловым спиртом показала, что количество экстрагируемого водой пектина составляет 25,9 %, что несколько выше, чем при экстракции раствором лимонной кислоты без обработки спиртом. Ультразвуковая обработка измельченной zostеры приводила к наибольшему выходу пектиновых веществ в раствор. Повышение выхода экстракции пектиновых веществ отмечено в 1,5 раза по сравнению с листовой zostерой. Вероятно, дезинтегрирующее действие ультразвука способствует разрушению тканевых и клеточных структур и, как следствие, повышению выхода пектина в раствор.

Сравнение влияния вида экстрагента на переход пектиновых веществ в раствор показало, что использование раствора лимонной кислоты приводит к повышению экстрактивности на 0,5–4,0 % в зависимости от используемого способа предварительной обработки травы. Наибольшая разница в экстрактивности водой и раствором лимонной кислоты отмечена для образца zostеры, измельченной на ножевой мельнице.

Обработка измельченной zostеры ультразвуком приводила к снижению количества нерастворимой целлюлозы независимо от выбора экстрагента. Возможно, воздействие ультразвука приводит к деградации полимера целлюлозы с образованием мономеров.

Полученные нами данные по экстрактивности пектина из морской травы zostера несколько выше значений, приведенных в литературе [13]. По-видимому, это связано с использованием гравиметрического метода, позволяющего оценить суммарный выход экстрактивных веществ.

Для более полного извлечения пектина из сырья представляется рациональным его предварительное механическое измельчение и обработка ультразвуком.

Дальнейшую очистку экстрагированных пектинов проводили трехкратным переосаждением 95%-м этиловым спиртом.

Одним из основных свойств пектинов как углеводных биополимеров являются их сорбционные свойства. Определение сорбционных свойств выделенного в результате экстракции образцов пектина зостеры проводили фотоколориметрическим методом. Сущность метода заключалась в сравнении содержания ионов металла в растворе пектина до и после адсорбции. Полученные данные представлены в табл. 2.

Таблица 2

Сорбционная емкость пектинов зостеры (мг меди/г)

Table 2

Sorption capacity of *Zostera* pectins (mg copper/g)

№ п/п	Образец зостеры	Содержание меди в растворе, мг	Экстракция водой	Экстракция лимонной кислотой
1	Листовая	20	5,7±0,2	4,8±0,1
		40	14,5±0,3	13,0±0,3
2	Порошок	20	5,8±0,1	4,9±0,1
		40	14,2±0,2	13,0±0,4
3	Обработанная УЗ	20	6,8±0,2	6,3±0,2
		40	14,6±0,3	13,8±0,2
4	Обработанная спиртом	20	5,8±0,1	4,9±0,1
		40	13,0±0,2	14,0±0,3

Из данных табл. 2 следует, что все образцы пектина способны сорбировать ионы меди. Способность пектинов к сорбции ионов меди из растворов с различной ее концентрацией различалась. Сорбционная способность пектинов листовой и порошковой зостеры не различались. Более эффективно ионы меди сорбировались пектином зостеры, обработанной ультразвуком. Сравнение образцов 3 и 2 показывает, что сорбционная емкость образца пектина из травы, обработанной ультразвуком, в 1,2 раза больше, чем образца без обработки. Выше было отмечено, что обработка ультразвуком приводила к снижению количества нерастворимой целлюлозы. Возможно, воздействие ультразвука приводит к деградации полимера целлюлозы с образованием мономеров, способных сорбировать ионы меди. Оценка влияния предварительной обработки зостеры этиловым спиртом показала, что сорбционная способность пектина, экстрагированного и водой, и кислотой, не изменяется. Меньшей сорбционной способностью характеризовались образцы из зостеры, экстракцию которых проводили лимонной кислотой. По-видимому, кислая среда, в случае использования лимонной кислоты, влияет на ионизацию в пектине молекул, ответственных за сорбционные свойства.

Результаты проведенного исследования показали, что способ предварительной обработки зостеры оказывает влияние на сорбционные свойства выделенного из нее пектина.

Вязкость является одним из характерных свойств пектиновых веществ как лиофильных коллоидов. Молекулы пектина легко ассоциируются либо друг с другом, либо с крупными молекулами сопутствующих веществ. Вязкость водных растворов пектинов зависит от концентрации, степени этерификации, температуры и некоторых других факторов [22]. Вязкость 1%-х растворов пектинов определяли с использованием ротационного вискозиметра ALPHA (Fungilab, SA).

Результаты определения вязкости растворов пектинов, выделенных из образцов зостеры различными экстрагентами, приведены в табл. 3.

Таблица 3

Показатели вязкости растворов пектинов, экстрагированных из zostеры

Table 3

Indicators of pectin solutions viscosity extracted from the eelgrass

№ п/п	Образец zostеры	Вязкость V , мПа·с	
		Экстракция водой	Экстракция лимонной кислотой
1	Листовая	11,5±0,2	11,6±0,2
2	Порошок	11,8±0,2	11,5±0,1
3	Обработанная УЗ	11,7±0,1	11,8±0,3
4	Обработанная спиртом	11,8±0,1	11,9±0,2

Следует отметить, что исследованные образцы растворов пектинов не различались по величине вязкости. Однако большая из всех вязкость экстракта zostеры определена в образце, полученном способом предварительной обработки травы спиртом и экстрагированном лимонной кислотой. Проведенные эксперименты показали, что раствор лимонной кислоты является более эффективным экстрагентом, чем вода.

Полиуронидная составляющая отражает содержание пектина в пересчете на галактуроновую кислоту и характеризует степень чистоты препарата пектина. Степень этерификации является важным качественным показателем пектина, рассчитывается как отношение числа этерифицированных карбоксильных групп к общему содержанию карбоксильных групп в пектине [23].

Для исследования использовали образцы zostеры 2 и 3 – zostера сушеная, измельченная на ножевой мельнице, и zostера, предварительно измельченная на ножевой мельнице, обработанная ультразвуком. Экстракцию проводили при комнатной температуре в течение 24 ч (гидромодуль 1 : 40).

Результаты определения массовой доли полиуронидов и степени этерификации пектинов, выделенных из образцов zostеры различных способов обработки, приведены в табл. 4.

Таблица 4

Определение полиуронидной части пектинов, выделенных из образцов zostеры различных способов обработки

Table 4

Determination of the polyuronide part of pectins isolated from Zostera samples of different processing methods

Образец zostеры	Массовая доля полиуронидов, %	Степень этерификации, %
Порошок	75,7	17,1
Обработанная УЗ (порошок)	76,2	14,7

Как видно из приведенных в табл. 4 данных, массовая доля полиуронидов не зависит от способа обработки сырья. В то же время обработка zostеры ультразвуком приводит к снижению степени этерификации полиуроновых кислот (пектина). Так как степень этерификации определяет способность пектинов к гелеобразованию, полученные данные необходимо учитывать при разработке рекомендаций использования данного вида сырья.

На основании проведенного исследования определено, что экстрактивность пектиновых компонентов водой зависит от способа предварительной обработки zostеры. Экстрактивность пектиновых компонентов водой уменьшается в ряду: zostера, обработанная ультразвуком > zostера, обработанная спиртом > zostера без предварительной обработки >

листовая зостера. Использование в качестве экстрагента 1%-го раствора лимонной кислоты приводило к повышению выхода пектина в раствор в 1,2 раза по сравнению с водной экстракцией. Способы обработки сырья оказывают влияние на сорбционную емкость пектина по отношению к ионам меди, но не оказывают влияния на величину их динамической вязкости.

Применяемые способы обработки сырья не оказывают влияния на массовую долю полиуронидов в экстрактах, но снижают степень их этерификации.

Таким образом, проведенное исследование обосновывает важность предварительной обработки зостеры для дальнейшего ее применения в различных отраслях промышленности.

Список литературы

1. Сергеев В. Н., Кокаев Ю. И. Биологически активное растительное сырье в пищевой промышленности // Пищ. пром-сть. 2001. № 6. С. 28–30.
2. Хасина Э.И., Кривоногова А.С. Гиполипидемический эффект зостерина – пектина из морской травы зостеры // Сельскохозяйственная биол. 2010. № 45. С. 71–75.
3. Хасина Э.И., Требухов Е.Е., Золотухина О.Н. Оптимизация физической работоспособности зостерином // Дальневост. мед. журн. 2001. № 2. С. 45–47.
4. Коленченко Е.А., Сониная Л.Н., Хотимченко Ю.С. Сравнительная оценка антиоксидантной активности низкоэтерифицированного пектина из морской травы *Zostera marina* и препаратов-антиоксидантов *in vitro* // Биол. моря. 2005. Т. 31, № 5. С. 380–383.
5. Злобнова Н.В., Кривошапко О.Н. Изучение противоопухолевой активности компонентов полифенольного комплекса из морской травы *Zostera marina in vitro* // Научный альманах. 2015. № 10. С. 1025–1027.
6. Фролова В.Д. Лабораторный анализ морской травы зостера и перспективы её использования в кормлении животных // Вклад молодых ученых в аграрную науку: сб. тр. конф., Кинель, 18–19 апреля 2017. С. 131–135.
7. Салиева А.Р. Пектиновые вещества из морских и пресноводных трав как структурообразователи при изготовлении консервов типа конфитюр // Вестн. АГТУ. Сер. Рыб. хозяйств. 2013. № 1. С. 194–200.
8. Экологическая ситуация в Приморском крае. Федеральный портал [Электронный ресурс]. URL: <http://www.protown.ru/obl/267.htm>.
9. Белякова И.А., Битютская О.Е., Глубоковских Ю.Р. Краткий аналитический обзор способов получения морского пектина // Образование, наука и молодёжь – 2018: материалы науч.-практ. конф. студентов и курсантов ФГБОУ ВО «КГМУ», Керчь, 2–13 апреля 2018. С. 110–118.
10. Боковня И.Е., Давидович В.В. Оценка содержания биологически активных веществ в морской траве семейства *Zosteraceae* при различных способах ее заготовки // Междунар. науч.-исследоват. журн. 2015. № 8(39), ч. 2. С. 6–7.
11. ГОСТ 6730-75. Трава морская сушеная. Технические условия. М.: Госстандарт, 1975. 6 с.
12. ТУ 9291-008-13684916-05. Технологическое вспомогательное средство – ферментный препарат ЦеллоЛюкс-А. Технические условия с изменением № 1.
13. Лоенко Ю.Н., Артюков А.А., Козловская Э.П. и др. Зостерин. Владивосток: Дальнаука, 1997. 211 с.
14. Пат. 2364277 РФ, МПК: А23L1/317 (2006.01), А23L1/314 (2006.01). Способ производства вареных колбасных изделий / Тихоокеанский государственный экономический университет (ТГЭУ) Федеральное агентство по образованию Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования (RU). 2009.

15. Кацева Г.П. Исследование взаимодействия пектиновых веществ с солями меди, ртути, цинка и кадмия // Химия природных соединений. 1988. № 2. С. 171–175.

16. ГОСТ 29059-91. Продукты переработки плодов и овощей. Титриметрический метод определения пектиновых веществ. М.: Госстандарт, 1991. 9 с.

17. Бунтова Е.В. Статистическая обработка результатов измерений. Самара: Книга, 2011. 87 с.

18. Гликман С.А. Природа и свойства пектиновых студней // Сб. материалов Всесоюз. совещ. по вопросам технол. и химии пектинов. М., 1962. С. 55.

19. Сушкова В.И., Воробьева Г.И. Безотходная конверсия растительного сырья в биологически активные вещества. Киров, 2007. 204 с.

20. ООО ПО «Сиббиофарм» [Электронный ресурс]. URL: <http://po-sibbiofarm.tiu.ru/p697729-tsellolyuks-2000-edg.html>.

21. Минзанова С.Т. Научные основы и технологические аспекты комплексной переработки фитомассы амаранта для получения пектиновых веществ и белковых изолятов: автореф. дис. ... канд. техн. наук. Казань: КазНЦ РАН, 2000. 159 с.

22. Шамкова Н.Т., Зайко Г.М., Тамова М.Ю. Влияние замораживания на некоторые свойства пектинов // Изв. вузов. Пищ. технология. 1999. № 5–6. С. 42–44.

23. Сравнительное изучение пектинов различного вида растительного сырья [Электронный ресурс]. URL: <http://www.scienceforum.ru/2014/581/1503>.

Сведения об авторах: Ковалев Николай Николаевич, доктор биологических наук, главный научный сотрудник НИИ инновационных биотехнологий Дальневосточного государственного технического рыбохозяйственного университета, e-mail: kovalevnn61@yandex.ru;

Позднякова Юлия Михайловна, кандидат технических наук, директор НИИ инновационных биотехнологий Дальневосточного государственного технического рыбохозяйственного университета, e-mail: pozdneyakova.julia@yandex.ru.