ISSN 2074-9414 (Print)
ISSN 2313-1748 (Online)

https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-3-538-548
УДК 602.4;502.174.1

Оригинальная статья
http://fptt.ru

# Изучение комплекса свойств полифенолов и ксилоолигосахаридов, полученных путем биотехнологии вторичного сырья просо

**Д. Р. Зяйнитдинов, А. В. Евтеев, А. В. Банникова***

*Саратовский государственный аграрный университет имени Н. И. Вавилова, Саратов, Россия*

*Поступила в редакцию: 11.05.2021*
*Принята после рецензирования: 14.06.2021*
*Принята в печать: 15.07.2021*

**e-mail: annbannikova@gmail.com*
*© Д. Р. Зяйнитдинов, А. В. Евтеев, А. В. Банникова, 2021*

**Аннотация.**
*Введение.* В мире ежегодно перерабатываются тысячи тонн зерна просо, где основным отходом является лузга. Проблема ее глубокой переработки путем получения биологически ценных компонентов является актуальной и научно обоснованной. Цель работы – разработка биотехнологии и изучение комплекса свойств биологически активных веществ (БАВ) – полифенолов и ксилоолигосахаридов (КОС) – из вторичного сырья просо (лузги).
*Объекты и методы исследования.* В лузге просо определяли содержание массовой доли белка, влаги, крахмала, клетчатки, редуцирующих веществ в концентратах, исследовали антирадикальную активность, качественный и количественный состав фенольных веществ, фракционный состав углеводов, моносахаридный состав полисахаридов, качественный и количественный состав концентратов КОС.
*Результаты и их обсуждение.* Полученные концентраты БАВ содержат белок от 0,90 %, углеводы – 91,50 %, в том числе КОС, обладающие пребиотическими свойствами, – 68,50 % и золу – 6,30 %. Концентрат полифенолов представлен феруловой кислотой (33,47 %) с антиоксидантной активностью до 74,0 %. В процессе ферментативного гидролиза произошло значительное изменение фракционного состава оксикоричных кислот: в концентрате полифенолов выход феруловой кислоты увеличился на 19 %, галловой – на 2,5 %, но выход хлорогеновой кислоты уменьшился на 13 %. Концентрат КОС состоит из обладающих пребиотическими свойствами фрагментов КОС – до 78 % в абсолютно сухом веществе. Отходы после ферментативной обработки проса представляют собой концентрат пищевых волокон, который может быть применен как самостоятельный продукт в технологиях сбалансированного и диетического питания.
*Выводы.* Показана возможность практического использования просяной лузги в качестве источника антиоксидантов и пребиотиков.

**Ключевые слова.** Зерно, переработка, вторичное сырье, лузга, биологически активные вещества, гидролиз, ферменты

**Финансирование.** Работа выполнена в рамках Гранта Президента РФ для поддержки молодых российских ученых – кандидатов наук и докторов наук (№ МД-1551.2020.11).

**Для цитирования:** Зяйнитдинов Д. Р., Евтеев А. В., Банникова А. В. Изучение комплекса свойств полифенолов и ксилоолигосахаридов, полученных путем биотехнологии вторичного сырья просо // Техника и технология пищевых производств. 2021. Т. 51. № 3. С. 538–548. https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-3-538-548.

Original article
Available online at http://fptt.ru/eng

# Properties of Polyphenols and Xylooligosaccharides Obtained Biotechnologically from Processed Millets

**Damir R. Zyaynitdinov, Alexandr V. Ewteew, Anna V. Bannikova***

*N.I. Vavilov Saratov State Agrarian University, Saratov, Russia*

*Received: May 11, 2021*
*Accepted in revised form: June 14, 2021*
*Accepted for publication: July 15, 2021*

**e-mail: annbannikova@gmail.com*
*© D.R. Zyaynitdinov, A.V. Ewteew, A.V. Bannikova, 2021*

**Abstract.**
*Introduction.* Thousands of tons of millet grain are processed annually in the world. Husk is the main waste of millet processing

and can produce biologically valuable components. The present research offers a new biotechnology for the production of biologically active substances (BAS), namely polyphenols and xylooligosaccharides (XOS), from millet husk.
*Study objects and methods*. Millet husk was tested for the mass fraction of protein, moisture, starch, fiber, and reducing substances, as well as for antiradical activity, qualitative and quantitative composition of phenolic substances, fractional composition of carbohydrates, monosaccharide composition of polysaccharides, qualitative and quantitative compositions of XOS concentrates.
*Results and discussion*. The obtained BAS concentrates contained 0.90% of protein and 91.50% of carbohydrates, including 68.50% of XOS with prebiotic properties and 6.30% of ash. The concentrate of polyphenols was represented to a greater extent by ferulic acid (33.47%) with antioxidant activity up to 74.0%. The process of enzymatic hydrolysis demonstrated a significant change in the fractional composition of the extracted oxycinnamic acids, which make up the polyphenolic compounds of millet husk. In the polyphenol concentrate, the yield of ferulic acid increased by 19%, and that of gallic acid – by 2.5%, whereas the yield of chlorogenic acid decreased by 13%. The XOS concentrate mainly consisted of XOS fragments with prebiotic properties – up to 78% in absolutely dry matter. The fractional composition of the XOS concentrate revealed the presence of di-, tri-, tetra-, and pentaxylo-oligosaccharides. Xylotriose and xylotetrose prevailed in the KOS concentrates: 15.83 and 16.23%, respectively. The waste of enzymatic husk processing proved to be a concentrate of valuable dietary fiber that can be used as an independent product in the technologies of balanced and dietary nutrition.
*Conclusion*. Millet husk is an excellent source of polyphenolic compounds with antioxidant and prebiotic properties and can be used in functional food production.

**Keywords.** Grain, processing, secondary raw materials, husk, biologically active substances, hydrolysis, enzymes

**Funding.** The research was supported by the Grant of the President of the Russian Federation for young Russian scientists – candidates of sciences and doctors of sciences (No. MD-1551.2020.11).

**For citation:** Zyaynitdinov DR, Ewteew AV, Bannikova AV. Properties of Polyphenols and Xylooligosaccharides Obtained Biotechnologically from Processed Millets. Food Processing: Techniques and Technology. 2021;51(3):538–548. (In Russ.). https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-3-538-548.

**Введение**

Просо относится к семейству Мятликовые и принадлежит к двум родам *Panicum* и *Setaria*. В мире насчитывается более 400 видов просо. На территории России возделываются всего лишь два его вида: просо обыкновенное (*Panicum miliaceum*) и просо головчатое (*Setaria italica*). Просо содержит целый ряд биологически активных веществ (БАВ), а также антиоксиданты, полисахариды, витамины, аминокислоты и т. д. [1].

Переработка сельскохозяйственной продукции всегда связана с образованием значительного количества вторичных продуктов. В мире ежегодно перерабатываются тысячи тонн зерна просо. На просяную лузгу как вторичный продукт промышленной переработки приходится значительная часть. Просяная лузга – неиспользуемый отход переработки зерна проса в крупу, составляющий около 17 % массы зерна.

Значительная часть антиоксидантов содержится во внешней оболочке зерна зерновых культур просо. В связи с этим значительный интерес вызывают продукты, содержащие цельные зерна или отруби [2]. Кроме этого, оболочка просо содержит витамины, микроэлементы, моно- и олигосахариды, полифенольные соединения и другие биологически активные вещества. К антиоксидантам просо можно отнести оксиароматические кислоты, представленные производными бензойной и коричной кислот, такими как галловая, феруловая, кофейная, сиреневая, n-гидроксибензойная, ванилиновая, кумаровая, салициловая, протокатехиновая и др. [3, 4]. Данные кислоты содержатся в оболочках зерна просо как в свободном, так и связанном состоянии. При этом значительная часть свободных кислот приходится на внешнюю оболочку. Они могут быть легко экстрагированы с помощью органических растворителей. К связанным оксиароматическим кислотам относятся кислоты, содержащиеся в оболочке клеток. Для их высвобождения применимы кислотный или щелочной гидролиз [5, 6].

Ксиланы – это полисахариды, содержащиеся во вторичных продуктах переработки просяной лузги. Они могут быть преобразованы под воздействием внешних факторов в ксилоолигосахариды (КОС). Из анализа литературных данных известно, что КОС проявляют пребиотические и антиоксидантные свойства, способны подавлять активность некоторых патогенных и энтерогнилостных кишечных бактерий, а также действуют как противовоспалительные и антиаллергические агенты. Из перечисленных свойств интерес вызывает пребиотическая активность КОС, направленная на стимулирование роста пробиотической микрофлоры кишечника животных и человека [7–13].

Несмотря на обилие информации по химическому составу зерна просо, его вторичные продукты переработки слабо изучены в перспективе их применения в качестве источника биологически активных веществ. Исследование химического

состава и изучение возможности биотрансформации просяной лузги является актуальным направлением, т. к. позволит оценить возможность применения данных вторичных продуктов в качестве нового источника БАВ растительного происхождения. Биомодификация полимеров просо в данной работе направлена на получение новых пищевых функциональных ингредиентов и БАВ, а метод ферментативного гидролиза представляет собой способ прямого воздействия на белково-углеводный матрикс сырья ферментами деполимеразами.

Ферментативный гидролиз – это сложный биохимический процесс деградации микрофибрилл клеточных стенок под воздействием ферментных препаратов, обладающих рядом полисахаридазных активностей. Вследствие этого происходит солюбилизация полисахаридного матрикса структуры клеточной стенки и освобождение фенольных кислот. На процесс ферментолиза одновременно влияет много различных факторов, что не способствует применению однофакторного метода исследования. Значительное воздействие на активность действия ферментативного катализа оказывает значение pH и температуры реакционной среды, которые являются индивидуальными для каждого фермента [14, 15].

Цель данного исследования – разработка биотехнологии получения и изучение комплекса свойств БАВ из вторичного сырья просо.

**Объекты и методы исследования**

*Сырье и препараты, используемые в исследовании.* В качестве сырья и ферментных препаратов, применяемых при проведении экспериментального исследования, были выбраны:

– просо сорта «Саратовское желтое» урожая 2020 г., полученное от УНПО «Поволжье» ФГБОУ ВО Саратовский ГАУ;

– промышленные ферментные препараты «ГлюкоЛюкс А» (глюкоамилазная активность (ед./мл): 30 °С – 13000 ± 1300, 60 °С – 80000 ± 8000), «ЦеллоЛюкс А» (ксиланазная активность (КсА) – 1700 ед./мл, целлюлолитическая активность (ЦлА) – 6000 ед./мл), «АмилоЛюкс-А (3000 ед./мл)» (амилолитическая активность (ед./мл) – 3200 ± 320), «Протосубтилин Г3х (А-120 ед./г)» (протеолитическая активность – 120 ед./г) производства ПО «Сиббиофарм».

*Получение концентратов.* В процессе ферментативного гидролиза происходит извлечение биологически активных компонентов зерна, фенольных кислот, флавоноидов и олигосахаров с последующей концентрацией супернатантов и их фракционного разделения на ксилоолигосахариды (КОС) и полифенольные соединения (ПФ).

Фракция, содержащая внешние оболочки зерна проса – лузгу, отбиралась для последующего помола на ротационной мельнице ЛМЦ-1М со сменными решетами (0,2 мм). Разделение фракций проводили с помощью сит с размером ячейки 1,0, 0,80, 0,63, 0,56 и 0,315 мм. Полученная «мука» из лузги с содержанием зерновой части проса использовалась для проведения экстракции БАВ. Контроль качества измельчения «муки» проводили рассевом через сито 0,132 мм.

Полученную «муку» обрабатывали ферментными препаратами «АмилоЛюкс-А (3000 ед./мл)» (0,1 % к массе муки) и «ГлюкоЛюкс А» (0,04 % к массе муки) в ацетатном буферном растворе 5,0 ед. pH при гидромодуле 1:10 и гомогенизировали 20 мин с помощью погружного гомогенизатора ULAB US-4102 при 6000 об/мин. Полученную суспензию термостатировали в течение 3,0 ч при 60 °С с предварительной ультразвуковой (УЗВ) обработкой в лабораторной ультразвуковой ванне «Сапфир 2,5» (35 кГц, 30 мин, температура 50 °С). Через 2,5 часа вносили ферментный препарат «Протосубтилин Г3х (А-120 ед./г)» в количестве 0,5 % к массе измельченной лузги. После завершения гидролиза ферменты инактивировали нагреванием до 100 ± 2 °С в течение 3 мин. Гидролизат отделяли центрифугированием в течение 20 мин при 4000 об/мин. Осадок трижды промывали дистиллированной водой и повторно центрифугировали. После осадок отделяли и промывали 70 %-ным водным раствором этилового спирта, добавляя к одной части осадка три части этанола. Затем подвергали УЗВ воздействию в течение 15 мин. Этанольные экстракты, содержащие значительное количество свободных полифенолов, отделяли центрифугированием в течение 20 мин при 4000 об/мин и объединяли для дальнейшего разделения и очистки.

Гидролизованный осадок, содержащий БАВ, гомогенизировали с помощью погружного гомогенизатора в течение 20 мин и 6000 об/мин. Затем подвергали второму этапу гидролиза ферментными препаратами «ГлюкоЛюкс А», «ЦеллоЛюкс А», «АмилоЛюкс А (3000 ед./мл)» концентрацией 0,04, 0,2 и 0,05 % к массе просяной лузге соответственно. Гидролиз ферментными препаратами происходил в ацетатном буфере при 4 ед. pH, гидромодуле 1:10 в течение 6 ч при 60 °С с предварительной УЗВ обработкой при 35 кГц, 50 °С, 30 мин.

Через 6 ч ферментации ферменты инактивировали нагреванием до 100 ± 2 °С в течение 3-х мин с последующим разделением на фракции центрифугированием (20 мин, 4000 об/мин). Осадок промывался дистиллированной водой и снова центрифугировался, гидромодуль – гидролизованный осадок:дистиллированная вода в соотношении 1:3 объемных частей. Полифенолы вновь экстрагировали из гидролизованного осадка 70 %-ным водным раствором этанола в концентрации 1:3, обрабатывали 15 мин УЗВ и отделяли этанольные экстракты центрифугированием (20 мин, 4000 об/мин). Супернатант концентрировали на ротационном испарителе ИР-1М3 в разряженной среде

при 60 ± 5 °С до содержания влаги 30 ± 2 %, получая концентрат БАВ, который готов к применению. В целях обеспечения более продолжительных сроков хранения концентрата БАВ рекомендуется провести разделение и очистку фракций олиго- и моносахаридов, полифенолов.

В результате гидролитического воздействия на просяную лузгу ферментных препаратов получается нерастворимый осадок, образованный из неферментируемого матрикса. Ферментируемый осадок может использоваться как самостоятельный функциональный продукт, концентрат пищевых волокон (ПВ) или в качестве ингредиента в составе пищевых продуктов.

Получение концентратов КОС и ПФ проводили методом спиртовой экстракции. Спирт из объединенных этанольных экстрактов отгоняли на ротационном испарителе в разряженной среде при 60 ± 5 °С с подсушиванием до 30 % и лиофильно высушивали до содержания влаги 8 ± 1 %. Концентрат полифенолов представляет из себя желто-коричневый либо светло-коричневый мелкодисперсный порошок с слабым ванильно-зерновым запахом. Ксилоолигосахариды, осажденные раствором этанола, высушивали лиофильно до содержания влаги 8 ± 1 %, получая мелкодисперсный порошок светло-коричневого цвета с слабым сладко-зерновым запахом.

*Методы испытаний*. Массовую долю сырого протеина определяли методом Кьельдаля по ГОСТ 10846-91.

Массовую долю жира выявляли экстракционным методом Сокслета в соответствие с ГОСТ 29033-91.

Массовую долю крахмала определяли поляриметрическим методом Эверса по ГОСТ 10845-98.

Массовую долю клетчатки устанавливали по ГОСТ 13496.2-91.

Массовую долю редуцирующих веществ выявляли по ГОСТ 5903-89.

Активность ионов водорода (pH) определяли потенциометрическим методом с использованием pH-метра «Аквилон» pH-420.

Аминокислотный состав просо определяли по ГОСТ Р 55569-2013 с использованием системы капиллярного электрофореза «Капель».

Определение содержания влаги выполнялось с помощью метода высушивания. Массовую долю сухих веществ в экстрактах устанавливали с помощью рефрактометра.

Содержание минеральных веществ (золы) определяли по ГОСТ 26226-95.

Метод определения антирадикальной активности по активности поглощения DPPH основан на реакции стабильного радикала 2,2'-дифенилпикрилгидразила с подвижным атомом водорода или электроном в спиртовом растворе исследуемой пробы [15]. В пробирки вносят по 2 см$^3$ исследуемых растворов полифенолов (раствор феруловой либо галловой кислоты), в контрольную – 2 см$^3$ растворителя (метанол). По секундомеру прибавляют 2 см$^3$ раствора 2,2'-дифенилпикрилгидразина и немедленно замеряют оптическую плотность (нулевая минута) на спектрофотометре при λ = 520 нм. Пробы выдерживают 30 мин при комнатной температуре в темном месте, измерение повторяют. Рассчитывают антирадикальную активность (АРА, %) по формуле:

$$\text{АРА} = \frac{(\text{ОП}_k - (\text{ОП}_0 - \text{ОП}_{30})) * 100}{\text{ОП}_k} \quad (1)$$

где $\text{ОП}_k$ – оптическая плотность контрольной пробы; $\text{ОП}_0$ – оптическая плотность опытной пробы на 0 мин; $\text{ОП}_{30}$ – оптическая плотность опытной пробы на 30 мин; 100 – коэффициент перевода.

Массовую долю фенольных веществ определяли колориметрическим методом. Для этого 0,25 г исследуемой пробы помещали в мерную колбу объемом 25 см$^3$, добавляли 5 см$^3$ дистиллированной воды и тщательно перемешивали. Затем вносили 0,25 см$^3$ реактива Фолина-Чокалтеу и 5 см$^3$ дистиллированной воды, перемешивали, нейтрализовали 2,5 см$^3$ 1,0 М раствора карбоната натрия, тщательно перемешивали и доводили до метки дистиллированной водой. Подготовленную к анализу пробу убрали в темное место на 30 мин при комнатной температуре. По истечении установленного времени измеряли оптическую плотность при 670 нм в кювете 10 мм. Контрольный раствор готовили аналогично, заменив пробу 0,25 см$^3$ дистиллированной воды. Массовую долу фенольных веществ рассчитывали по калибровочному графику, построенному по стандартному образцу галловой кислоты [15].

Формула расчета массовой концентрации фенольных веществ (С, мг/г) по галловой кислоте:

$$\text{C} = \frac{a * V}{m} \quad (2)$$

где $a$ – концентрация фенольных веществ по калибровочному графику, мг/см$^3$; $V$ – объем растворителя для экстракции, см$^3$; $m$ – масса анализируемого образца, г.

Для количественного определения состава фенольных веществ в анализируемой пробе использовали метод ВЭЖХ на хроматографе «Стайер» (НПО «Аквилон», Россия). Идентификацию веществ проводили путем сравнения времени удерживания и спектральных характеристик исследуемых веществ с аналогичными характеристиками аналитических стандартов [16].

Режим хроматографирования:
– колонка Phenomenex Luna C18 (150×3,0 мм);
– режим хроматографирования – изократический;
– элюэнт – 40 % метанола и 60 % воды (подкислена ортофосфорной кислотой до pH = 3,0);
– продолжительность – 25 мин;
– поток – 1,0 см$^3$/мин;

– термостат – 40 °С;
– инжекция – 20 мкл;
– длина волны – 320 нм.

Экстракция из пробы. Взвешивали около 1 г пробы в плоскодонную колбу с пришлифованной пробкой на 100 см$^3$, добавляли 50 см$^3$ 50 % водного раствора метанола и экстрагировали при 40 °С в течение 20 мин при постоянном перемешивании на перемешивающем устройстве с подогревом. Полученный экстракт фильтровали через нейлоновый фильтр 45 мкм и отбирали аликвоту 20 см$^3$ для последующего анализа.

Фракционный состав углеводов определяли гравиметрическим методом, основанным на последовательном выделении фракций водорастворимых полисахаридов, пектиновых веществ, гемицеллюлозы А и Б [14, 16].

Качественный состав полученных концентратов КОС определяли с помощью тонкослойной хроматографии (ТСХ) на пластинках SORBFIL размером 10×15 см с силикагелем СТХ-1А. Подвижная фаза – н-пропанол:этилацетат:дистиллированная вода в соотношении 6:1:3 объемных частей. После элюирования пластинки обрабатывали проявителем – 50 % водный раствор серной кислоты – и высушивали при температуре 120 ± 1 °С в течение 5 мин.

Количественное определение КОС проводили спектрофотометрическим методом. Для этого с пластинок SORBFIL, после определения качественного состава КОС, соскабливали соответствующие зонам анализируемых углеводов участки сорбента и переносили их в стеклянные пробирки с пробками, добавляя по 0,5 см$^3$ анилинфталатного реагента в каждую пробу с последующим нагревом в течение часа при 110 °С в сушильном шкафу. Для приготовления анилинфталатного реагента в колбу на 100 см$^3$ помещают 1,66 г о-фталевой кислоты и 0,91 см$^3$ анилина, добавляют 48 см$^3$ н-бутанола и 4 см$^3$ дистиллированной воды, доводят до метки диэтиловым эфиром. Полученный раствор определяемых углеводов охлаждали до комнатной температуры. Тщательно перемешав, добавляли 4 см$^3$ смеси концентрированной соляной кислоты и ацетона (в соотношение 1:25 объемных частей) и выдерживали 1 ч в темном месте при комнатной температуре. Затем центрифугировали 15 мин при 8000 об/мин и фотометрировали при 520 нм. Концентрацию определяемых углеводов в пробе выявляли с помощью калибровочных графиков.

Моносахаридный состав полученных полисахаридов определяли гидролизом данных полисахаридов при температуре 100 °С раствором 1 моль/л серной кислоты. Продолжительность гидролиза зависела от фракции полисахарида: водорастворимые полисахариды – 6 ч, пектиновые вещества – 24 ч, гемицеллюлозы А и Б – 72 ч [17].

Качественный состав моносахаридов определяли методом ТСХ, используя подвижную фазу н-бутанол:пиридин:дистиллированная вода в соотношении 6:4:3 объемных частей. На соответствующие зонам исследуемых углеводов (участки сорбента, собранные с пластинок SORBFIL силикагелем СТХ-1А) наносили по 0,5 см$^3$ анилинфталатного реагента и нагревали в сушильном шкафу до 110 °С, сравнивая красновато-коричневые пятна зоны исследуемых углеводов с аналитическими стандартами моносахаридов. Количественное содержание моносахаров проводилось после очистки с помощью тонкослойной хроматографии спектрофотометрически по методу, описанному выше [2].

**Результаты и их обсуждение**

*Исследование концентратов БАВ и КОС*. В основу разработки комплексной технологии переработки просяной лузги с применением гидролитических ферментов для обеспечения получения ряда функциональных ингредиентов легли результаты многочисленных экспериментальных исследований. Основным этапом реализации поставленной задачи было проведение исследований по оптимизации ключевых технологических параметров процесса ферментативной обработки лузги, разработка и обоснование комплекса операций по переработке вторичного зернового сырья, оптимизация параметров процесса ферментативного гидролиза просяной лузги. Биомодификация лузги или ферментативный гидролиз является основным технологическим процессом получения функциональных ингредиентов [17–20]. Данный метод экстракции основан на извлечении

Таблица 1. Физико-химический состав концентратов биологически активных веществ, полученных из продуктов ферментативного гидролиза просяной лузги

Table 1. Physicochemical composition of concentrates of biologically active substances obtained from the products of enzymatic hydrolysis of millet husk

| Массовая доля влаги, % | Массовая доля белка в пересчете на сухое вещество, % | Массовая доля золы в пересчете на сухое вещество, % | Массовая доля углеводов | | Массовая доля полифенолов в пересчете на сухое вещество, % |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | КОС в пересчете на сухое вещество, % | Остаточные углеводы в пересчете на сухое вещество, % | |
| 27,20 | 0,90 | 6,30 | 68,50 | 23,00 | 0,98 |

Таблица 2. Физико-химический состав концентрата пищевых волокон, полученных из продуктов ферментативного гидролиза просяной лузги, в пересчете на сухое вещество

Table 2. Physicochemical composition of dietary fiber concentrate obtained from the products of enzymatic hydrolysis of millet husk, dry matter

| Наименование показателей, % | Результаты испытаний (измерений) |
|---|---|
| Массовая доля влаги | 8,56 |
| Белок | 1,30 |
| Зола | 2,70 |
| Крахмал | 3,70 |
| Пищевые волокна | 89,40 |

биологически активных веществ с помощью избирательной активности ферментных препаратов совместно с воздействием температуры, гидромодуля, а также дисперсности сырья, качества гомогенизации и ультразвукового воздействия.

Полученные концентраты БАВ, помимо полифенолов, содержат белок – 0,90 %, углеводы – 91,50 %, в том числе КОС, обладающие пребиотическими свойствами, – 68,50 % и золу – 6,30 % (табл. 1).

Показано, что выход полифенолов составил 85,8 %. При этом УЗВ обработка улучшает общую кинетику выхода экстрагируемых полифенолов, находящихся в связанном состоянии, на начальном и конечном этапе экстракции, расходуя значительно меньше энергии, чем при классическом виде экстракции [2]. Неагрессивный вид метода проводимой экстракции, незначительное и непродолжительное воздействие слабых органических кислот и невысокой температуры во время проведения ферментативного гидролиза способствуют повышению антиоксидантной активности полученного полифенольного экстракта.

Полученный в ходе экстракции концентрат ПВ содержит более 85 % пищевых волокон и только 3 % крахмала. Это позволит использовать его в разработке технологий для диетического питания и специализированных продуктов при контроле массы тела (табл. 2).

Ксилоолигосахариды, полученные ферментативным методом экстракции, содержат олигосахариды различной степени полимеризации (от 2 до 10) и целый ряд сопутствующих соединений. Кроме этого, в реакционной среде содержатся моносахариды, уксусная кислота, кислоторастворимые фракции лигнина, фурфурол, продукты дегидратации, пентоз, растворимые неорганические компоненты сырья, белковые вещества и другие. Для получения пищевых КОС гидролизат должен быть максимально очищен от сопутствующих веществ. Экстракция органическими растворителями может удалить

Таблица 3. Физико-химический состав концентрата ксилоолигосахаридов в абсолютно сухом веществе

Table 3. Physicochemical composition of xylooligosaccharide concentrate, absolutely dry matter

| Наименование показателей | | Результаты испытаний, % |
|---|---|---|
| Массовая доля влаги | | 7,40 |
| Массовая доля золы в пересчете на сухое вещество | | 4,26 |
| Массовая доля сырого протеина в пересчете на сухое вещество | | 3,17 |
| Углеводы (общие) в пересчете на сухое вещество | Ксилоолигосахариды | 78,29 |
| | Моносахариды | 14,17 |
| Ксилоолигосахаридный состав в пересчете на сухое вещество | Ксилоза | 10,59 |
| | Ксилобиоза | 11,61 |
| | Ксилотриоза | 18,44 |
| | Ксилотетроза | 18,91 |
| | Ксилопентоза | 14,98 |
| | Высшие КОС | 3,77 |
| Моносахаридный состав в пересчете на сухое вещество | Арабиноза | 2,35 |
| | Глюкоза | 8,25 |
| | Другие моносахариды | 3,56 |

неуглеводные компоненты из раствора, а также фенольные соединения и другие экстрактивные вещества. Выход продукта и степень очистки зависят от вида применяемого растворителя: метанол, этанол, пропанол и др. В нашем случае очистка и фракционирование, а также разделение полифенолов и ксилоолигосахаридов из концентрата биологически активных веществ проводились посредством экстракции этиловым спиртом. Соотношение гидролизата концентрата БАВ к 70 % водному раствору этанола составило 1:3 объемных частей. Вследствие воздействия этанола на гидролизат происходит расслоение концентрата, соединения полифенолов растворяются и переходят в раствор этилового спирта, ксилоолигосахариды осаждаются. Центрифугирование полученного раствора в течение 25 мин при 5000 об/мин позволяет разделить фракции биологически активных веществ. Физико-химический состав концентрата КОС представлен в таблице 3.

Анализируя данные моносахаридного состава концентрата КОС, полученного методом ферментативной экстракции, по качественному и количественному составу экстрагированных моносахаридов, видно преобладание ксилоза и арабиноза с незначительным содержанием маннозы.

Анализ результатов фракционного состава концентрата КОС выявил присутствие ди-, три-, тетра- и пентаксилоолигосахаридов. Полученные данные

Таблица 4. Физико-химический состав концентрата полифенолов в пересчете на сухое вещество

Table 4. Physicochemical composition of polyphenol concentrate, dry matter

| Наименование показателей, % | Результаты испытаний (измерений) |
|---|---|
| Протеин | 0,6 |
| Углеводы общие | 10,7 |
| Полифенолы | 88,5 |

свидетельствуют о преобладании в концентратах КОС из просо ксилотриозы и ксилотетрозы – 15,83 и 16,23 % соответственно.

Из литературных данных известно, что углеводные олигомеры ксилана проявляют значительный пребиотический эффект среди прочих олигосахаридов [10, 12, 13]. Это делает их объектом интереса с точки зрения применения в качестве самостоятельного компонента для пищевых и фармацевтических продуктов. При регулировании процесса ферментолиза и гидролиза гемицеллюлоз напрямую воздействует на процесс формирования фракционного состава КОС и обеспечение пребиотических свойств готовых концентратов.

*Исследование концентрата ПФ*. Концентраты ПФ из проса характеризуются незначительным содержанием белка – 0,6 %. Содержание углеводов доходит до 10,7 %, в них представлены моносахариды глюкозы и незначительное количество арабинозы. Данные показывают, что содержание полифенолов находится в пределах 88,5 %. Это связано с селективностью метода экстракции (табл. 4).

Фракционный состав концентрата ПФ определяли с помощью бумажной хроматографии и ТСХ. В качестве градуировочных растворов сравнения использовали растворы рутина, галовой, хлорогеновой и феруловой кислот в 70 % растворе этилового спирта. Зоны адсорбции оксикоричных кислот детектировали при 364 нм с помощью люминоскопа «Филин». Результаты хроматографического анализа полифенольных соединений концентрата полифенолов, полученного из просяной лузги, представлены в таблице 5.

В результате проведенных исследований концентрата ПФ, полученного из просяной лузги, идентифицированы рутин, хлорогеновая, галловая и феруловая кислоты, а также не идентифицированные пятна. Метод хроматографии на бумаге, как и метод ТСХ, не позволяет обнаружить все соединения, содержащиеся в анализируемом концентрате полифенолов. Поэтому для количественного определения массовой доли экстрагированных оксикоричных кислот, содержащихся в просяной лузге, использовался метод ВЭЖХ (табл. 6).

Анализ ВЭЖХ экстрактов модельных образцов ферментализатов просяной лузги (рис. 1) показал, что фенольные профили отличались от тех, которые ранее наблюдались в растворимой и связанной фракциях сырого зерна просо (рис. 2). В процессе ферментативного гидролиза произошло значительное изменение фракционного состава извлекаемых оксикоричных кислот, составляющих полифенольные соединения просяной лузги. Данное изменение связано с особенностью протекания процессов при ферментативном гидролизе сырья, высвобождением за счет разрушения эфирных связей олигомеров молекул оксикоричных кислот и неполным извлечением только свободных полифенолов при экстрагировании сырья раствором метанола. В концентрате полифенолов выход феруловой кислоты увеличился на 19 %, выход галловой кислоты – на 2,5 %. Однако произошло уменьшение выхода хлорогеновой кислоты на 13 %.

Из литературных данных известно, что полифенольные соединения, в состав которых входят

Таблица 5. Фракционный состав концентрата ПФ из просяной лузги методом хроматография на бумаге

Table 5. Fractional composition of polyphenol concentrate from millet husk by paper chromatography

| Значение Rf | Окраска зон адсорбции в УФ области | Идентифицировано |
|---|---|---|
| 0,53 | Желтая | Рутин |
| 0,62 | Голубая | Хлорогеновая кислота |
| 0,58 | Голубая | Феруловая кислота |
| 0,33 | Фиолетовая | Галловая кислота |

Таблица 6. Массовая доля экстрагированных оксикоричных кислот методом ВЭЖХ

Table 6. Mass fraction of extracted oxycinnamic acids by HPLC

| Наименование объекта | Всего оксикоричных кислот | Феруловая кислота, % | Галловая кислота, % | Хлорогеновая кислота, % |
|---|---|---|---|---|
| Лузга проса сорта «Саратовское желтое» | 0,61 | 0,12 | 0,02 | 0,20 |
| Концентрат БАВ | 0,98 | 0,38 | 0,06 | 0,19 |
| Концентрат ПФ | 88,5 | 33,47 | 5,52 | 17,18 |

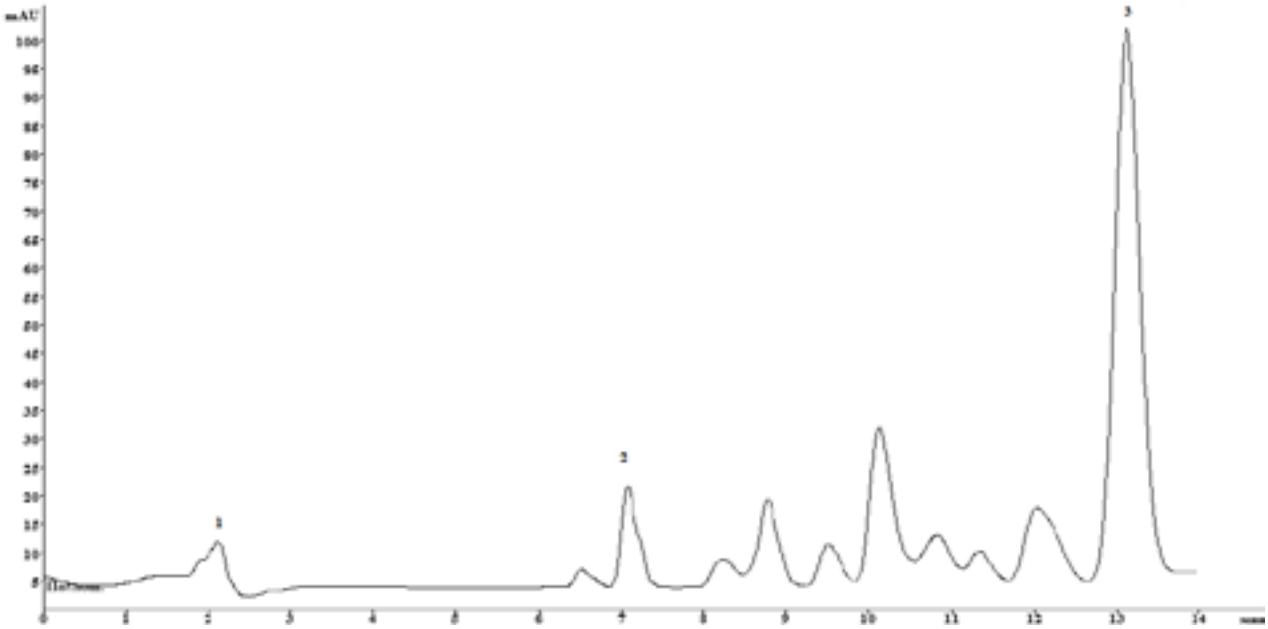

Рисунок 1. Хроматограмма концентрата полифенолов, полученного из продуктов ферментативного гидролиза просяной лузги: 1 – галловая кислота; 2 – хлорогеновая кислота; 3 – феруловая кислота

Figure 1. Chromatogram of polyphenol concentrate obtained from the products of enzymatic hydrolysis of millet husk: 1 – gallic acid; 2 – chlorogenic acid; 3 – ferulic acid

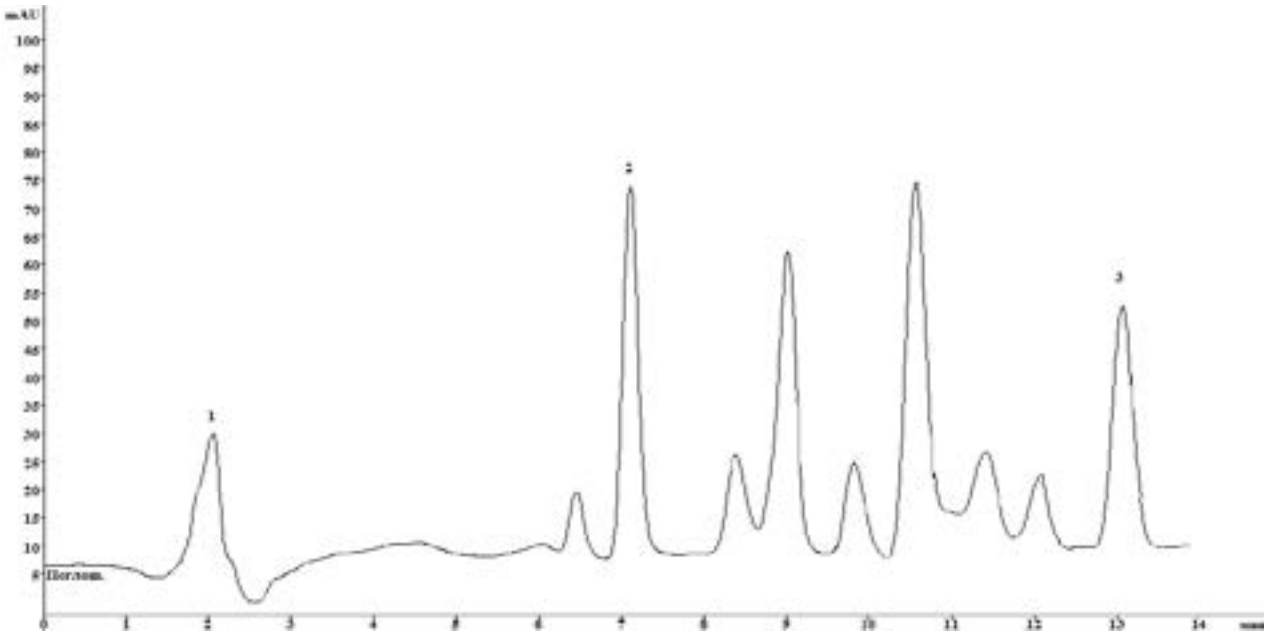

Рисунок 2. Хроматограмма пробы лузги проса сорта «Саратовское желтое»: 1 – галловая кислота; 2 – хлорогеновая кислота; 3 – феруловая кислота

Figure 2. Chromatogram of a sample of millet husk of the Saratovskoe Zheltoe variety: 1 – gallic acid; 2 – chlorogenic acid; 3 – ferulic acid

производные гидроксибензойной и гидроксикоричной кислот, проявляют антиоксидантную (анти радикальную) активность (АОА или АРА) и способность связывать свободные радикалы. АОА полифенольных соединений, полученных из просяной лузги, исследовали методом,

Таблица 7. Антиоксидантная активность концентрата полифенолов, полученного из продуктов ферментативного гидролиза просяной лузги

Table 7. Antioxidant activity of polyphenol concentrate obtained from the products of enzymatic hydrolysis of millet husk

| Массовая доля концентрата ПФ, мкг/см$^3$ | Антиоксидантная активность концентрата ПФ по радикалу DPPH, % | Антиоксидантная активность метанольного экстракта просяной лузги, по радикалу DPPH, % |
|---|---|---|
| 600 | 74,0 | 62,6 |
| 400 | 49,8 | 41,9 |
| 200 | 24,5 | 20,2 |
| 100 | 12,4 | 10,4 |

основанном на реакции антиоксиданта с DPPH, являющийся стабильным свободным радикалом. В ходе данной реакции происходит превращение DPPH в α-α-дифенил-β-пикрилгидразин [19]. Степень обесцвечивания указывает на потенциал нейтрализации антиоксиданта. Данные результаты представлены в таблице 7.

Активность полифенольного концентрата по улавливанию свободных радикалов варьировалась в зависимости от концентрации вносимых в реакционную среду полифенолов – 100, 200, 400 и 600 мкг/см$^3$. Наибольшая активность была получена при самой высокой добавляемой концентрации – 600 мкг/см$^3$. Незначительное снижение активности в метанольном экстракте из неферментированной сырой просяной лузги при аналогичном количестве внесения связано с неполным извлечением связанных оксикоричных кислот (данные таблицы 7 подтверждают данный факт). Антиоксидантная активность, которая составляла 24,5 % для концентрата ПФ и 20,2 % для необработанного сырья при внесении 200 мкг/см$^3$, увеличилась до 74,0 и 62,6 % соответственно при увеличении концентрации до 600 мкг/см$^3$.

**Выводы**

В данной работе проведено исследование физико-химических свойств БАВ из лузги просо сорта «Саратовское желтое» урожая 2020 г., полученного от УНПО «Поволжье», концентратов КОС и полифенолов. Получен углеводно-белковый концентрат, установлен его фракционный состав и дана его характеристика. Получен концентрат БАВ из проса на основе ксилоолигосахаридов и полифенольных веществ. Проведен анализ по ряду физико-химических показателей для установления его компонентного состава, дана его характеристика. Определен оптимальный режим экстракции компонентов полифенолов и КОС этиловым спиртом, концентрат к этанолу 1:3, выход полифенолов – более 85 % от общего содержания в овсе, выход КОС до 70 % по отношению к общему содержанию гемицеллюлоз. В соответствие с разработанной технологией для получения 100 г концентрата полифенолов необходимо около 30 кг сырья – просяной лузги. Для получения 100 г концентрата ксилоолигосахаридов требуется около 0,6 кг просяной лузги.

Изучены физико-химические и биологические свойства полученных концентратов КОС и полифенольных веществ. Концентрат полифенолов представлен феруловой кислотой – до 33,47 % в концентрате БАВ в пересчете на сухое вещество, АОА – до 74,0 %. Концентрат КОС состоит из обладающих пребиотическими свойствами фрагментов КОС – до 78,29 % в пересчете на сухое вещество. Установлено, что отходы после ферментативной и гидролитической обработки проса представляют собой концентрат пищевых волокон, который может быть применен как самостоятельный продукт.

В результате проведенной работы была продемонстрирована потенциальная значимость практического применения продуктов переработки просяной лузги в качестве источника биологически активных веществ, таких как полифенольные соединения, обладающие антиоксидантной активностью (концентрат ПФ), и полисахариды (концентрат БАВ), обладающие пребиотическими свойствами, при разработке функциональных пищевых продуктов.

**Критерии авторства**

Д. Р. Зяйнитдинов – получение экспериментальных данных, обработка данных, написание и подготовка рукописи. А. В. Евтеев – получение экспериментальных данных, методология, программное обеспечение, валидация. А. В. Банникова – руководство, написание, рецензирование и редактирование.

**Конфликт интересов**

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Contribution**

D.R. Zyaynitdinov obtained experimental and processing data and wrote the manuscript. A.V. Ewteew conducted the experiments, developed the methodology,

performed the software analysis, and validated the obtained data. A.V. Bannikova supervised the research and wrote and proofread the manuscript.

**Conflict of interest**

The authors declare that there is no conflict of interest regarding the publication of this article.

**Список литературы**

1. Plant-derived prebiotics and its health benefits / A. S. Althubiani [et al.] // New look to phytomedicine: Advancements in herbal products as novel drug leads / editors M. S. A. Khan, I. Ahmad, D. Chattopadhyay. Academic Press, 2019. P. 63–88. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814619-4.00004-5.

2. Разработка технологии получения фитовеществ из вторичных продуктов переработки зерна / А. В. Битюкова [и др.] // Техника и технология пищевых производств. 2019. Т. 49. № 1. С. 5–13. https://doi.org/10.21603/2074-9414-2019-1-5-13.

3. Verma D. K., Thakur M. Phytochemicals in food and health: Perspectives for research and technological development. CRC Press, 2021. 318 p.

4. Development of gluten-free cereal bar for gluten intolerant population by using quinoa as major ingredient / R. Kaur [et al.] // Journal of Food Science and Technology. 2018. Vol. 55. № 9. P. 3584–3591. https://doi.org/10.1007/s13197-018-3284-x.

5. Liu Y., Sun Y., Huang G. Preparation and antioxidant activities of important traditional plant polysaccharides // International Journal of Biological Macromolecules. 2018. Vol. 111. P. 780–786. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.01.086.

6. Towards better understanding of the interactions and efficient application of plant beneficial prebiotics, probiotics, postbiotics and synbiotics / M. Vassileva [et al.] // Frontiers in Plant Science. 2020. Vol. 11. https://doi.org/10.3389/fpls.2020.01068.

7. Advances on bioactive polysaccharides from medicinal plants / J.-H. Xie [et al.] // Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 2016. Vol. 56. P. S60–S84. https://doi.org/10.1080/10408398.2015.1069255.

8. Structure-antioxidant activity relationship of methoxy, phenolic hydroxyl, and carboxylic acid groups of phenolic acids / J. Chen [et al.] // Scientific Reports. 2020. Vol. 10. № 1. https://doi.org/10.1038/s41598-020-59451-z.

9. Kaprelyants L., Zhurlova O. Technology of wheat and rye bran biotransformation into functional ingredients // International Food Research Journal. 2017. Vol. 24. № 5. P. 1975–1979.

10. Production of fiber hydrolysate from bamboo shoot with antioxidative properties by enzymatic hydrolysis / S. Karnjanapratum [et al.] // Current Applied Science and Technology. 2019. Vol. 19. № 3. P. 225–234.

11. Structural study of a pectic polysaccharide fraction isolated from “mountain tea” (*Sideritis scardica* Griseb.) / M. Ognyanova [et al.] // Carbohydrate Polymers. 2021. Vol. 260. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.117798.

12. Pigman W. The carbohydrates: Chemistry and biochemistry. Elsevier, 2012. 452 p.

13. Singh R. D., Banerjee J., Arora A. Prebiotic potential of oligosaccharides: A focus on xylan derived oligosaccharides // Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre. 2015. Vol. 5. № 1. P. 19–30. https://doi.org/10.1016/j.bcdf.2014.11.003.

14. Vermerris W., Nicholson R. Phenolic compound biochemistry. Springer Netherlands, 2006. 276 p. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-5164-7.

15. Оценка возможности получения концентратов полифенолов из вторичных продуктов переработки зерна / А. В. Битюкова [и др.] // Технология и товароведение инновационных пищевых продуктов. 2019. Т. 56. № 3. С. 61–68.

16. Tringali C. Bioactive compounds from natural sources: Isolation, characterization and biological properties. CRC Press, 2000. 693 p.

17. Technologies for enhancement of bioactive components and potential health benefits of cereal and cereal-based foods: Research advances and application challenges / A. S. M. Saleh [et al.] // Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 2019. Vol. 59. № 2. P. 207–227. https://doi.org/10.1080/10408398.2017.1363711.

18. Postbiotics as novel health-promoting ingredients in functional foods / A. H. Rad [et al.] // Health Promotion Perspectives. 2020. Vol. 10. № 1. P. 3–4. https://doi.org/10.15171/hpp.2020.02.

19. de Carli C., Moraes-Lovison M., Pinho S. C. Production, physicochemical stability of quercetin-loaded nanoemulsions and evaluation of antioxidant activity in spreadable chicken pâtés // LWT. 2018. Vol. 98. P. 154–161. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.08.037.

20. Improvement of nutrient bioavailability in millets: Emphasis on the application of enzymes / S. A. Tharifkhan [et al.] // Journal of the Science of Food and Agriculture. 2021. https://doi.org/10.1002/jsfa.11228.

**References**

1. Althubiani AS, Al-Ghamdi SB, Samreenc, Qais FA, Khan MS, Ahmad I, et al. Plant-derived prebiotics and its health benefits. In: Khan MSA, Ahmad I, Chattopadhyay D, editors. New look to phytomedicine: Advancements in herbal products as novel drug leads. Academic Press; 2019. pp. 63–88. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814619-4.00004-5.

2. Bityukova AV, Amelkina AA, Evteev AV, Bannikova AV. New biotechnology for the production of phytocompounds from secondary products of grain processing. Food Processing: Techniques and Technology. 2019;49(1):5–13. (In Russ.). https://doi.org/10.21603/2074-9414-2019-1-5-13.

3. Verma DK, Thakur M. Phytochemicals in food and health: Perspectives for research and technological development. CRC Press; 2021. 318 p.

4. Kaur R, Ahluwalia P, Sachdev PA, Kaur A. Development of gluten-free cereal bar for gluten intolerant population by using quinoa as major ingredient. Journal of Food Science and Technology. 2018;55(9):3584–3591. https://doi.org/10.1007/s13197-018-3284-x.

5. Liu Y, Sun Y, Huang G. Preparation and antioxidant activities of important traditional plant polysaccharides. International Journal of Biological Macromolecules. 2018;111:780–786. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.01.086.

6. Vassileva M, Flor-Peregrin E, Malusa E, Vassilev N. Towards better understanding of the interactions and efficient application of plant beneficial prebiotics, probiotics, postbiotics and synbiotics. Frontiers in Plant Science. 2020;11. https://doi.org/10.3389/fpls.2020.01068.

7. Xie J-H, Jin M-L, Morris GA, Zha X-Q, Chen H-Q, Yi Y, et al. Advances on bioactive polysaccharides from medicinal plants. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 2016;56:S60–S84. https://doi.org/10.1080/10408398.2015.1069255.

8. Chen J, Yang J, Ma L, Li J, Shahzad N, Kim CK. Structure-antioxidant activity relationship of methoxy, phenolic hydroxyl, and carboxylic acid groups of phenolic acids. Scientific Reports. 2020;10(1). https://doi.org/10.1038/s41598-020-59451-z.

9. Kaprelyants L, Zhurlova O. Technology of wheat and rye bran biotransformation into functional ingredients. International Food Research Journal. 2017;24(5):1975–1979.

10. Karnjanapratum S, Kaewthong P, Takeungwongtrakul S, Sae-Leaw T, Hong JH, Nalinanon S. Production of fiber hydrolysate from bamboo shoot with antioxidative properties by enzymatic hydrolysis. Current Applied Science and Technology. 2019;19(3):225–234.

11. Ognyanova M, Remoroza CA, Schols HA, Petkova NT, Georgiev YN. Structural study of a pectic polysaccharide fraction isolated from "mountain tea" (*Sideritis scardica* Griseb.). Carbohydrate Polymers. 2021;260. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.117798.

12. Pigman W. The carbohydrates: Chemistry and biochemistry. Elsevier; 2012. 452 p.

13. Singh RD, Banerjee J, Arora A. Prebiotic potential of oligosaccharides: A focus on xylan derived oligosaccharides. Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre. 2015;5(1):19–30. https://doi.org/10.1016/j.bcdf.2014.11.003.

14. Vermerris W, Nicholson R. Phenolic compound biochemistry. Springer Netherlands; 2006. 276 p. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-5164-7.

15. Bityukova AV, Amelkina AA, Evteev AV, Bannikova AV. Evaluation of opportunity to obtain polyphenol concentrates from secondary products of grain processing. Technology and Merchandising of the Innovative Foodstuff. 2019;56(3):61–68. (In Russ.).

16. Tringali C. Bioactive compounds from natural sources: Isolation, characterization and biological properties. CRC Press; 2000. 693 p.

17. Saleh ASM, Wang P, Wang N, Yang S, Xiao Z. Technologies for enhancement of bioactive components and potential health benefits of cereal and cereal-based foods: Research advances and application challenges. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 2019;59(2):207–227. https://doi.org/10.1080/10408398.2017.1363711.

18. Rad AH, Maleki LA, Kafil HS, Zavoshti HF, Abbasi A. Postbiotics as novel health-promoting ingredients in functional foods. Health Promotion Perspectives. 2020;10(1):3–4. https://doi.org/10.15171/hpp.2020.02.

19. de Carli C, Moraes-Lovison M, Pinho SC. Production, physicochemical stability of quercetin-loaded nanoemulsions and evaluation of antioxidant activity in spreadable chicken pâtés. LWT. 2018;98:154–161. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.08.037.

20. Tharifkhan SA, Perumal AB, Elumalai A, Moses JA, Anandharamakrishnan C. Improvement of nutrient bioavailability in millets: Emphasis on the application of enzymes. Journal of the Science of Food and Agriculture. 2021. https://doi.org/10.1002/jsfa.11228.