

## СПЕКТРОМЕТРИЯ РАСТИТЕЛЬНЫХ ПОЛИСАХАРИДОВ В РАСТВОРЕ ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКИ АКТИВИРОВАННОЙ ВОДЫ

Погорелов А.Г.<sup>1</sup>, Ипатова Л.Г.<sup>1</sup>, Панайт А.И.<sup>1</sup>, Погорелова М.А.<sup>1</sup>, Гулин А.А.<sup>2</sup>,  
Погорелова В.Н.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН

ул. Институтская, 3, г. Пущино, 142290, РФ

<sup>2</sup> ФИЦ Химической физики им. Н.Н. Семенова РАН

ул. Косыгина, 4, г. Москва, 119991, РФ; e-mail: agpogorelov@rambler.ru

Поступила в редакцию: 19.07.2021

**Аннотация.** Используя UV-vis спектрометрию, изучали изменение свойств полисахаридов в растворе под действием электрохимической активации воды (ЭХАВ). Показано, что исследуемые водные растворы полисахаридов растительного происхождения (агар, модифицированный крахмал, пищевой крахмал) подвержены модификации, направленность которой обусловлена используемой фракцией ЭХАВ (католит или анолит). Выявленные особенности могут быть востребованы при разработке новых способов управления свойствами биологического сырья в технологии производства пищевых продуктов. Отметим, технология ЭХАВ, которую относят к разряду «зеленых», может быть воспроизведена в промышленных масштабах.

**Ключевые слова:** электрохимически активированная вода, агар, крахмал, полисахарид, олигосахар, UV-vis спектрометрия, масс-спектрометрия вторичных ионов (ToF-SIMS).

Исходным сырьем для пищевых технологий является биологическая матрица, основу которой составляют органические молекулы, включая полисахариды растительного происхождения. В производственном цикле данный класс макронутриентов, в зависимости от амфифильности, используют в виде раствора (модифицированный крахмал, агар) или суспензии (крахмал). При обработке сырья, а также в процессе получения полуфабрикатов и конечного продукта, вещество преобразуют так, чтобы улучшить его реологические свойства, ускорить или оптимизировать технологические процессы, улучшить органолептические характеристики готовой продукции. Для безреагентного управления свойствами пищевых систем применяют фракции электрохимически активированного водного раствора. Отметим, подходы, разработанные на основе ЭХАВ, относят к «зеленым» технологиям, так как воздействие остается экологически безопасным и не несет техногенной нагрузки.

Принцип получения ЭХАВ состоит в накоплении метастабильной фракции воды в области, прилегающей к аноду или катоду электролизера, анолита или католита, соответственно [1]. В интервале релаксации длительностью до нескольких дней эти фракции обладают характерными свойствами [2,3]. После катодной обработки водный раствор приобретает щелочную реакцию, а его ОВП может снизиться до отрицательных значений, в нем уменьшается содержание растворенного кислорода, но возрастает уровень молекулярного водорода. Наоборот, в результате анодной обработки возрастает до аномально высокого значения ОВП раствора, увеличивается его кислотность, а также содержание растворенного кислорода.

Фракции ЭХАВ показали себя в качестве перспективных экстрагирующих и гидролизующих агентов. Например, в области переработки растительного сырья разработан метод экстрактивного получения красителя из кожуры лука в среде католита [3]. Извлечение виннокислых соединений из виноградной выжимки в непрерывном потоке анолита повышает выход виннокислых соединений, сокращает длительность процесса и снижает потребление энергии [5]. Похожий метод использован для обработки бурых водорослей, что делает более эффективным производство альгиновой кислоты и альгината натрия, улучшает санитарно-гигиенические условия и экологическую безопасность, а также упрощает технологические процессы [6]. Сравнительные исследования показали, что эффективность экстракции белка из абрикоса или муки рапса у электролизной воды выше, по сравнению с водой [7,8].

Схожие процессы описаны для такой сложной физико-химической системы, как тесто. Показано, что использование католита ускоряют набухание крахмальных зерен, способствуя формированию однородной структуры конечного продукта, увеличению выхода клейковины и количества адсорбированной влаги [9]. В цитируемой работе установлено влияние католита на удельный объем и пространственную структуру готового продукта. Описанные закономерности наблюдали и в других исследованиях, где для опытных образцов отмечали изменение цвета, удельного объема, текстуры, степени желатинизации и твердости [10-12]. Показано, что применение ЭХАВ способствует интенсификации получения сушла за счет более глубокого гидролиза полисахаридов [13,14]. При этом обработка сырья анолитом увеличивает амилитический эффект за счет активизации фермента амилазы [13,15].

Таким образом, в области пищевых производств накоплен значительный опыт практического использования ЭХАВ, который носит, как правило, эмпирический характер. Фундаментальные механизмы и эффекты действия фракций электрохимически активированной воды на биологические молекулярные мишени остаются мало изученными. Поэтому целью данного исследования было экспериментальное исследование *in vitro*

взаимодействия католита и анолита с важным классом макронутриентов – полисахаридами растительного происхождения.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

**Подготовка образцов.** Для экспериментов брали артезианскую воду (pH 7,2, ОВП +360 мВ) из городского водопровода (г. Пушкино). На установке «Стел» (Делфин Аква, Россия), рекомендованной для бытового использования, получали фракции ЭХАВ: католит (pH 8,2, ОВП -800 мВ) или анолит (pH 2,2, ОВП +800 мВ). Исследование проводили на трех образцах полисахаридов растительного происхождения: растворимый в воде модифицированный крахмал или агар марки Gelagar (B&V S.R.L., Италия), а также не растворимый в воде пищевой крахмал. Из растворимых препаратов готовили маточный водный раствор, который в пропорции 1:4 разводили водой или одной из фракций ЭХАВ. Для агара, учитывая его низкую растворимость, в маточном растворе весовая концентрация составляла 0,3%, для модифицированного крахмала – 2,5%. Полученные растворы изучали посредством UV спектрометрии.

**UV-vis спектрометрия.** Наличие эффекта действия ЭХАВ оценивали посредством спектрометрии водных растворов полисахаридов (агар, крахмал). Для этого регистрировали оптическую плотность в спектре поглощения образца на длине волны 225 нм на спектрофотометре Shimadzu UV-2401PC (Япония). Растворы крахмала дополнительно окрашивали иодитным методом, что позволило получить в видимой области специфичные спектры поглощения олигосахаров. Данную реакцию проводили в среде с избытком йода, чему соответствует наличие характерного пика на длине волны 355 нм в спектре поглощения анализируемого раствора.

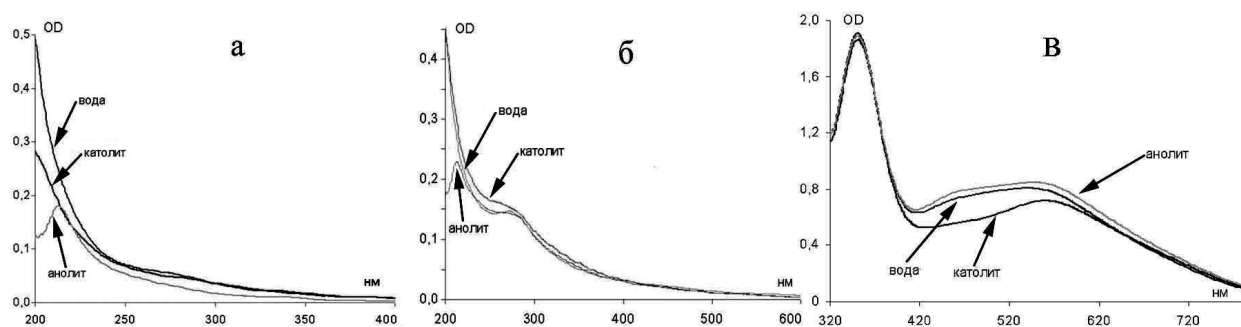
**Времяпролетная масс-спектрометрия вторичных ионов (TOF-SIMS).** Образцы для масс-спектрометрии получали следующим образом. Капли препарата, объемом 2 мкл наносили на чистую стеклянную подложку, поверхность которой покрыта токопроводящей пленкой. После высушивания в струе инертного газа образец переносили в камеру масс-спектрометра вторичных ионов TOF-SIMS 5 (ION-TOF GmbH, Германия). Препарат ионизировали пучком первичных ионов  $Bi_3^+$  с энергией 30 кэВ, диаметром 200 нм. После воздействия длительностью 70 нс и последующей регистрации вторичных ионов (~80 мкс) пучок перемещался в следующую точку поверхности. Плотность дозы облучения первичными ионами не превышала  $\sim 5 \times 10^{12}$  ионов/см<sup>2</sup>. Для оценки различий между полученными масс-спектрами применили метод PCA (principal component analysis) [16,17].

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

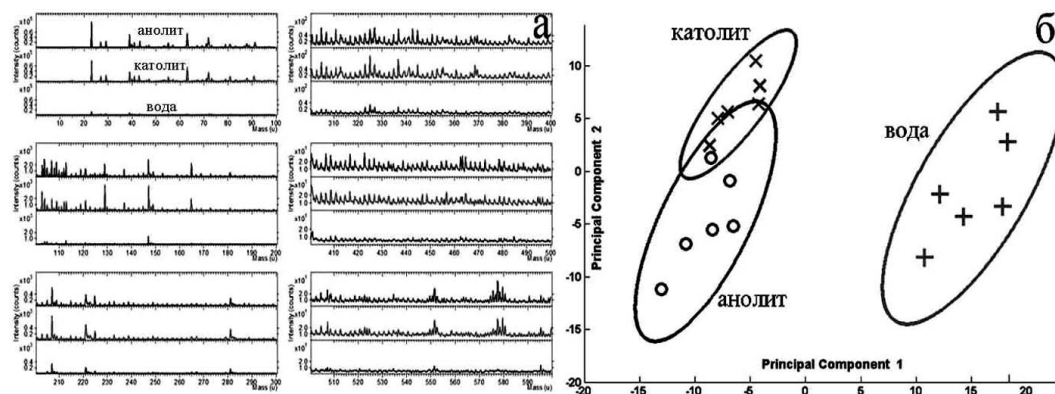
**Спектрометрия водных растворов агара и модифицированного крахмала.** Изучали полисахариды растительного происхождения со свойствами гидроколлоидов, которые в воде образуют вязкие растворы. Гидроколлоиды применяют в пищевых технологиях в качестве добавок с функциями загустителей, стабилизаторов и гелеобразователей. Спектры поглощения водных растворов полисахарида (агар, модифицированный крахмал) показаны на рисунке 1.

По сравнению с раствором в воде, качественное изменение спектра поглощения обоих полисахаридов наблюдается только в среде анолита (рис. 1а, б), что характеризует пик в области 225 нм. Отметим, для агара в растворе католита также наблюдается тенденция к трансформации спектра (рис. 1а), который соответствует промежуточному состоянию между контролем и раствором в анолите. Возможно, завершение перехода требует более длительного воздействия восстановленной фракцией ЭХАВ.

Растворы модифицированного крахмала дополнительно окрашивали иодитным методом, что позволило получить специфичные спектры поглощения в видимой области (рис. 1в). Данную цветную реакцию проводят на олигосахара с пиком в характерной области 520 нм при условии насыщения раствора йодом (пик 355 нм). Значимое снижение интенсивности характерного спектра наблюдается только для раствора крахмала в католите



**Рисунок 1.** Спектры поглощения растворов полисахарида растительного происхождения в воде (контроль) или фракциях ЭХАВ (анолит, католит): (а) не специфические UV спектры агара, (б) не специфические UV спектры модифицированного крахмала, (в) характерные спектры раствора модифицированного крахмала после окраски олигосахаров посредством иодитной реакции



**Рисунок 2.** Результаты ToF-SIMS анализа образцов агара, приготовленных из раствора полисахарида в воде (контроль) или фракциях ЭХАР (анолит, католит): (а) диапазоны молекулярных масс, где везде нижний масс-спектр соответствует контролю (вода), средний – после обработки католитом, верхний – после обработки анолитом; (б) эллипсами обозначены 95% доверительные интервалы для групп из 6 измерений в каждой. Сравнение различий между масс-спектрами образцов проведено методом PCA

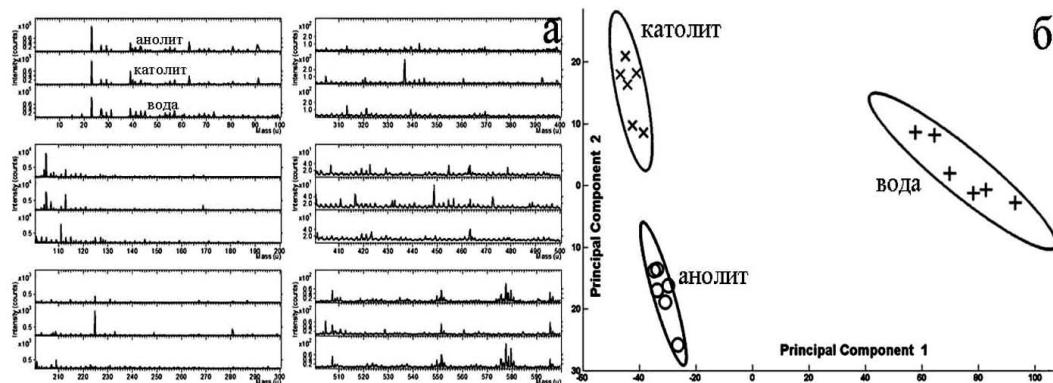
(рис. 1в). Учитывая то, что во всех вариантах исходный маточный раствор модифицированного крахмала разбавляли одинаковым способом, уменьшение содержания олигосахаров можно объяснить наличием амилолитической активности у католита. Дело в том, что модифицированный крахмал представляет собой смесь олигосахаров, фрагментация которых  $\alpha$ -амилазой или, например, католитом приводит к образованию моносахаров и, следовательно, к уменьшению интенсивности цветной окраски.

Характерные масс-спектры молекулярного состава раствора агара в воде, анолите и католите приведены на рисунке 2а. Для указанных вариантов с помощью метода PCA проведен сравнительный анализа данных молекулярного анализа (рис. 2б).

Полученные данные (рис. 2б) свидетельствуют о значимом отличии масс- спектра агара в водном растворе (контроль) от масс-спектров полисахарида, обработанного фракциями ЭХАВ. Масс-спектры агара в анолите и католите между собой достоверно не различаются, что соответствует тенденции на сближение, отмеченной для UV спектров (рис. 1а). Характерные масс-спектры молекулярного состава раствора модифицированного крахмала в воде, анолите и католите приведены на рисунке 3а. Для указанных вариантов с помощью метода PCA проведен сравнительный анализа данных молекулярного анализа (рис. 3б).

Ситуация для образцов модифицированного крахмала (рис. 3) отличается от той, что наблюдается для агара (рис. 2). Отметим значимое различие в молекулярном составе между фракциями ЭХАВ (рис. 3б), что соответствует данным UV-vis спектрометрии (рис. 1б). Однако различие между масс-спектрами для образца крахмала в воде и католите более выражено, по сравнению с тем, что регистрируется на UV спектрах. Возможно, в указанном диапазоне изменение в молекулярном составе, обусловленное обработкой католитом, существенно не повлияло на спектральные характеристики раствора модифицированного крахмала.

Завершая обсуждение результатов, можно прийти к следующему заключению. Полисахариды растительного происхождения (агар, крахмал) подвержены действию фракций ЭХАВ. Анализ проб агара показывает идентичность эффекта обработки полисахарида обеими фракциями ЭХАВ. Для модифицированного крахмала



**Рисунок 3.** Результаты ToF-SIMS анализа образцов модифицированного крахмала, приготовленных из раствора полисахарида в воде (контроль) или фракциях ЭХАР (анолит, католит): (а) диапазоны молекулярных масс, где везде нижний масс-спектр соответствует контролю, средний – после обработки католитом, верхний – после обработки анолитом; (б) эллипсами обозначены 95% доверительные интервалы для групп из 6 измерений в каждой. Сравнение различий между масс-спектрами образцов проведено методом PCA

методом ToF-SIMS показано статистически значимое различие молекулярного состава олигосахаров в зависимости от фракции ЭХАВ. Используя специфическую цветную реакцию йодом, показано амилолитическое действие католита на раствор модифицированного крахмала, что обусловлено снижением содержания олигосахаров. Учитывая широкое применение гидроколлоидов полисахаридной природы в качестве загустителей и гелеобразователей, использование ЭХАВ можно рассматривать как перспективное технологическое решение для производства пищевых продуктов.

*Исследование выполнено при поддержке Российского научного фонда (проект № 20-16-00019).*

**Список литературы/References:**

1. Bakhir V.M., Pogorelov A.G., Universal electrochemical technology for environmental protection. *Int. J. Pharm. Res. Allied Sci.*, 2018, vol. 7, pp. 41-57.
2. Chyer K., Yen-Con H., Brackett R.E. Roles of Oxidation–Reduction Potential in Electrolyzed Oxidizing and Chemically Modified Water for the Inactivation of Food-Related Pathogens. *J. Food Protection*, 2000, vol. 63, pp. 19-24.
3. Takenouchi T., Wakabayashi Si. Rinsing effect of alkaline electrolyzed water on nickel surfaces., Shinichi. *J. Appl. Electrochemistry*, 2006, vol. 36, pp. 1127-1132.
4. Способ производства красителя из шелухи лука. Патент RU 2130472, 1999. [*Method for the production of dye from onion husks*. Patent RU 2130472, 1999. (In Russ.)]
5. Способ извлечения виннокислых соединений из виноградных выжимок. Патент RU 2372399, 2009. [*Method for extracting tartaric acid compounds from grape pomace*. Patent RU 2372399, 2009. (In Russ.)]
6. Способ получения альгиновой кислоты и альгината натрия из бурых водорослей. Патент RU 2197840, 2003. [*A method of obtaining alginic acid and sodium alginate from brown algae*. Patent RU 2197840, 2003. (In Russ.)]
7. Gerzhova A., Benali M., Mondor M., Aider M. A comparative study between the electro-activation technique and conventional extraction method on the extractability, composition and physicochemical properties of canola protein concentrates and isolates. *Food Bioscience*, 2015, vol. 11, pp. 56-63.
8. Li Z-H, Zhou B., Li X.T., Li S.-G. Effect of alkaline electrolyzed water on physicochemical and structural properties of apricot protein isolate. *Food science and biotechnology*, 2018, vol. 28, pp. 15-23.
9. Науменко Н.В. Влияние активированной воды на формирование качества и сохраняемость хлеба из пшеничной муки. Диссертация ... канд. техн. наук, 2007, 112 с. [Naumenko N.V. *Influence of activated water on the formation of quality and preservation of bread from wheat flour*. Dissertation ... Cand. tech. nauk, 2007, 112 p. (In Russ.)]
10. Kobayashi K., Tosa N., Hara Y., Horie S. An examination of cooked rice with electrolyzed water. *Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaisha*, 1996, vol. 43, pp. 930-938.
11. Onishi R., Hara Y., Arai E. Effect of Weak Electrolysed Water on the Properties of Bread. *Food Sci. Technol. Res.*, 1999, vol. 5, pp. 388-392.
12. Patent US 6326048. *Date of Patent*, 2001.
13. Храпенков С.Н., Гернет М.В., Свиридов Д.А. Электрохимическая активация при получении пивного сула. *Пиво и напитки*, 2003, № 4, с. 18-19. [Khrapenkov S.N., Gernet M.V., Sviridov D.A. Electrochemical activation during the production of beer wort. *Beer and drinks*, 2003, no. 4, pp. 18-19. (In Russ.)]
14. Кругликов Б.В., Гернет М.В., Козлов И.В. ЭХА-растворы в технологии пива, полученные на установках нового поколения. *Пиво и напитки*, 2008, № 5, с. 36-37. [Kruglikov B.V., Gernet M.V., Kozlov I.V. ECA solutions in beer technology obtained on new generation installations. *Beer and drinks*, 2008, no. 5, pp. 36-37. (In Russ.)]
15. Храпенков С.Н., Гернет М.В., Бахир В.М. Воздействие электрохимически активированных систем на ферменты солода. *Пиво и напитки*, 2002, № 5, с. 20-21. [Khrapenkov S.N., Gernet M.V., Bakhir V.M. Effect of electrochemically activated systems on malt enzymes. *Beer and Drinks*, 2002, no. 5, pp. 20-21. (In Russ.)]
16. Graham D.J., Wagner M.S., Castner D.G. Information from complexity: Challenges of TOF-SIMS data interpretation. *Appl. Surf. Sci.*, 2006, vol. 252, pp. 6860-6868.
17. Graham D.J., Castner D.G. Multivariate Analysis of ToF-SIMS Data from Multicomponent Systems: The Why, When, and How. *Biointerphases*, 2012, vol. 7, pp. 49-61.

## SPECTROMETRY OF PLANT POLYSACCHARIDES IN ELECTROCHEMICALLY ACTIVATED WATER

Pogorelov A.G.<sup>1</sup>, Ipatova L.G.<sup>1</sup>, Panait A.I.<sup>1</sup>, Pogorelova M.A.<sup>1</sup>, Gulin A.A.<sup>2</sup>, Pogorelova V.N.<sup>1</sup><sup>1</sup>Institute of Theoretical and Experimental Biophysics RAS*Istitutskay, 3, 142290, Pushchino, Russia*<sup>2</sup>N.N. Semenov` Institute of Chemical Physics RAS*ul. Kosygina, 4, Moscow, 119991, Russia; e-mail: agpogorelov@rambler.ru*

**Abstract.** Using UV-vis spectrometry, time of flight secondary ion mass spectrometry (ToF-SIMS) and scanning electron microscopy, the changes of polysaccharide features in aqueous environment were examined. The impact of electrochemically activated water solution (EAWS) on plant polysaccharides (agar, modified starch, food starch) was explored. It was shown that the studied plant samples were modified in EAWS and its action specificity was dependent on EAWS fraction (catholite or anolite). Our findings will be able to allow the promising tool in designing the novel approaches for food industry. Furthermore, EAWS is a suitable green chemical process that can be translated to industrial level. This work was supported by Russian Science Foundation grant № 20-16-00019.

**Key words:** *electrochemically activated water; agar; starch; polysaccharide; oligosugar; UV-vis spectrometry; time of flight secondary ion mass spectrometry (ToF-SIMS).*