УДК 544.421.42

Доцент И.В. Кузнецова, доцент Л.В. Лыгина,
(Воронеж. гос. ун-т. инж. технол.) кафедра неорганической химии и химической технологии.
тел. (473) 255-38-87
E-mail: kuznetsovaiv@mail.ru
доцент Г.А. Нетесова
(Воронеж. гос. аграрный ун-т имени императора Петра I)
E-mail: galanet@mail.ru

Associate professor I.V. Kuznetsova, associate professor L.V. Lygina,
(Voronezh state university of engineering technologies) Department of inorganic chemistry and chemical technology.
phone (473) 255-38-87
E-mail: kuznetsovaiv@mail.ru
associate professor G.A. Netesova
(Voronezh state agrarian University named after Emperor Peter Great)
E-mail: galanet@mail.ru

Состояние воды в клетках хлореллы

Water condition in cells of chlorella

Реферат. Для получения информации о соотношении свободной и связанной воды и их взаимного изменения в процессе дегидратации микроводоросли хлорелла был использован метод термогравиметрического анализа. С увеличением скорости нагрева эндотермический эффект, соответствующий процессу дегидратации, смещается в сторону более высоких температур. При скорости 2 К/мин он составляет 308-368 К, 5 К/мин - 323-403 К, 10 К/мин - 348-403 К. Рассчитаны количественные характеристики кинетически неравноценной воды в хлорелле для каждой ступени дегидратации ($\Delta\alpha$, ΔT, массовая доля (w), энергия активации (E_a)). Проведена аналогия с процессом дегидратации в ионообменных мембранах. Выявленные особенности дегидратации хлореллы позволяют делать вывод о существовании влаги в трех состояниях по степени связанности с веществом. Полученные кинетические характеристики дают возможность определить оптимальный температурный интервал и скорость высушивания микроводоросли для использования ее в качестве биодобавки. Кроме того, наличие трёх типов воды в клетке хлореллы установлено по данным метода ЯМР с импульсным градиентом магнитного поля. Так как именно свободная вода участвует в протекании биохимических, химических и микробиологических процессов, то ее желательно удалить при сушке препарата. Полученный температурный интервал 323-343 К (2 ступень) при скорости нагревания 2 К/мин соответствует температурному интервалу высушивания хлореллы в производственных условиях. Стоит заметить, что в водоросли наибольшее количество сильносвязанной воды (последние ступени). По всей видимости, это определяется уникальной клеточной структурой. Температурные интервалы процесса дегидратации не являются четкими и варьируют в зависимости от скорости нагревания, что находится в полном соответствии с ранее проведенными исследованиями термического анализа для зерна, хлебобулочных изделий и овощей.

Summary. The water condition in cages of the paste of chlorella was investigated by the method of thermogravimetric analysis. With increasing heating rate endothermic effect corresponding to the dehydration process is shifted towards higher temperatures. Temperature intervals of chlorella dehydration are defined at rate of heating 2 K/min - 308-368 K, 5 K/min - 323-403 K, and 10 K/min - 348-403 K. Quantitative characteristics of kinetic unequal water in chlorella have been received for each step ($\Delta\alpha$, ΔT, a mass fraction (w), energy of activation (E_a)). This process is similar to the process of the dehydration in ion exchange membranes. The derived kinetic characteristics give the possibility to define an optimum temperature interval and rate of drying microalgae for the purpose of increase of periods of storage in the form of paste or a solid substance for the further use as the bioadditive. In addition the presence of three types of water chlorella in a cell set according to NMR with pulsed magnetic field gradient. Since free water is involved in biochemical, chemical and microbiological processes, it is desirable to remove during drying of the preparation. The resulting temperature range of 323-343 K (step 2) at a heating rate of 2 K / min corresponds to a temperature range of drying the chlorella in a production environment. It should be noted that the highest number of algae in a tightly-water (the last stage). Apparently, this is determined by a unique cell structure. Temperature ranges dehydration process are not clear and vary depending on the heating rate, which is fully in line with previous studies of thermal analysis for grains, vegetables and bakery products.

Ключевые слова: термогравиметрический анализ, хлорелла, состояние воды

Keywords: thermogravimetric analysis, chlorella, water condition

Вода – важная составляющая пищевых продуктов. Она присутствует в разнообразных растительных и животных объектах как клеточный и внеклеточный компонент, как диспергирующая среда и растворитель, обусловливая их консистенцию и структуру и влияя на внешний вид, вкус и устойчивость продукта при хранении. Исследования состояния воды в углеводах [1] показали существование трёх структур воды: 1) вода, входящая в первый гидратационный слой, имеет менее сильные водородные связи, чем чистая вода;

© Кузнецова И.В., Лыгина Л.В., Нетесова Г.А., 2015

2) вода, формирующая второй гидратационный слой, структура которой подобна несколько разупорядоченной структуре жидкой воды; 3) вода, имеющая обычную структуру. Изучение полимерных мембран также подтвердило существование в них трёх типов воды: 1) вода, образующая первый гидратационный слой; 2) вода, входящая во вторичную гидратную сферу, с несколько нарушенной структурой водородных связей, характерной для жидкой воды; 3) псевдожидкая вода. Для осуществления переноса веществ в мембранах необходимо присутствие второго и третьего типов воды. Первые порции воды, проникающие в мембрану, образуют первичные гидратные слои (связанная вода) [2]. Вода, поглощенная мембраной после заполнения гидратных слоев, считается свободной. Все высокомолекулярные соединения в зависимости от количества сорбируемой воды и природы взаимодействия с нею делятся на три основные группы: гидрофобные, умеренно гидрофильные и гидрофильные [3, 4]. Содержание сорбированной воды связано с количеством свободной воды, т. е. воды, растворенной в полимере, свободно мигрирующей по его объёму и осуществляющей динамический обмен между ассоциативными структурами. К гидрофобным относятся полимеры, содержание воды в которых при нормальных условиях и 100 % влажности составляет ~1 % (полиолефины, фторсодержащие полимеры, полиорганосилоксаны и др.). К умеренно гидрофильным относятся целлюлоза и её производные, полиамиды и др., которые при 25 ºС ограниченно совмещаются с водой (до 10 % воды).

Гидрофильные полимеры содержат более 10 % воды (белки, поливиниловый спирт, синтетические полиэлектролиты и др.) [1,3 - 5].

В обеспечении устойчивости при хранении продуктов важную роль играет соотношение свободной и связанной воды. Связанная вода – это ассоциаты, прочно связанные с белками, липидами, углеводами вследствие межмолекулярных взаимодействий. Свободная вода не связана с полимером и доступна только для протекания биохимических и микробиологических реакций. Представляет интерес исследовать состояние воды в биологическом объекте. Авторы [**6**] исследовали состояние воды в микроводоросле хлорелле методом ЯМР (ядерно-магнитного резонанса) с импульсным градиентом магнитного поля; было определено, что вода существует в трех формах: свободная, внутриклеточная и внеклеточная, рассчитаны коэффициенты самодиффузии.

Для получения информации о соотношении свободной и связанной воды и их взаимного изменения в процессе дегидратации различных продуктов питания нами был использован метод термического анализа. Объектом исследования были образцы пасты микроводоросли хлореллы НПО "Агропищепром", вырабатываемые с использованием штаммов Chlorella vulgaris.

Хлорелла была открыта и классифицирована в 1890 г. датским ученым М.У. Бейжерником, она относится к классу одноклеточных пресноводных зеленых водорослей. В медицинской практике было отмечено, что эта микроскопическая водоросль, богатая хлорофиллом, является эффективным средством в борьбе с малокровием, благодаря не только высокому содержанию витамина B_{12}, фолиевой кислоты, железа и аминокислот, но, возможно, и тому, что в присутствии железа хлорофилл, попадая в кровоток, насыщает кровь кислородом и преобразуется в гемоглобин. По своей питательной ценности водоросль не уступает мясу и значительно превосходит пшеницу. В последнее время налажен выпуск пищевой продукции для на основе хлореллы для добавления в корм животных в виде суспензии, пасты, порошка, таблеток.

Нагрев образцов пасты хлореллы массой 14 мг осуществляли в комплексном анализаторе TGA-DCK фирмы МЕТТЛЕР ТОЛЕДО со скоростями нагревания 2, 5, 10 К/мин. Как видно из рисунка 1, эндотермический эффект, соответствующий процессу дегидратации, смещается в сторону более высоких температур с увеличением скорости нагрева. При скорости 2 К/мин он составляет 308-368 К, 5 К/мин - 323-403 К, 10 К/мин - 348-403 К. Это необходимо учитывать при высушивании вещества в производственных условиях.

Для получения информации о механизме процесса дегидратации мы использовали представления о кинетике в твердофазных системах. Реакция дегидратации микроводоросли относится к процессам типа:

$$A(тв.) \rightarrow B(тв.) + C(г) \quad (1)$$

и протекает ступенчато. Скорость процесса зависит от температуры и степени превращения:

$$\frac{d\alpha}{d\tau} = w(T) f(\alpha), \quad (2)$$

где $w(T)$ - скорость процесса, α - степень превращения, τ - время превращения. Скорость процесса можно также выразить через уравнение Аррениуса:

$$w(T) = A\exp(-\frac{Ea}{RT}), \quad (3)$$

где A - предэкспоненциальный множитель, Ea - энергия активации.

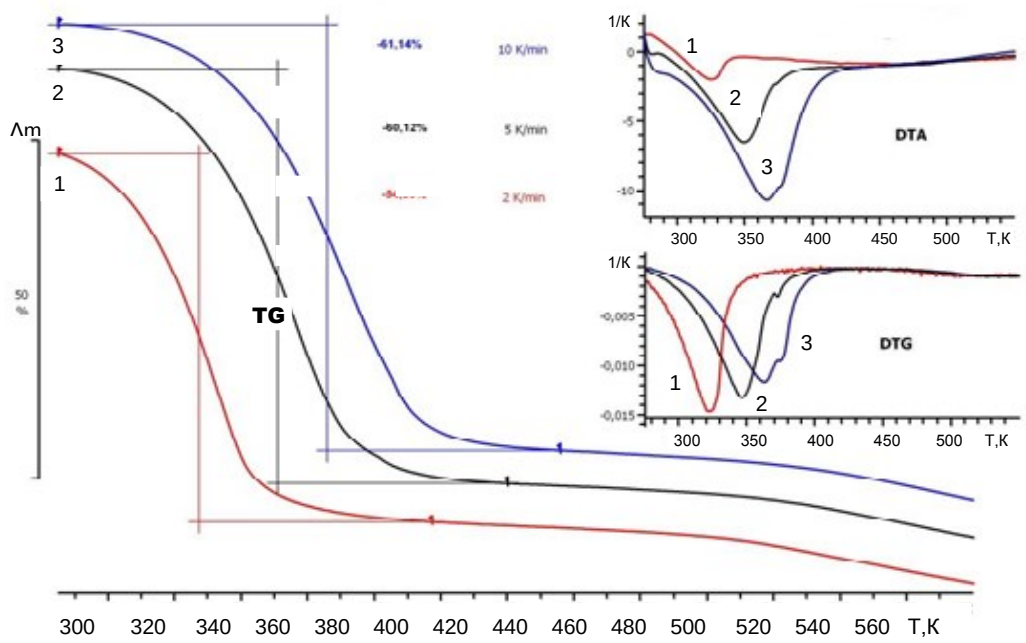

Рисунок 1 Термоаналитические кривые, полученные для образцов хлореллы при нагревании с различными скоростями: 1 - 2К/мин; 2 - 5К/мин; 3 - 10 К/мин.

После расчёта степени превращения α, полученные данные обрабатывали в координатах – lg (1 - α) – 1/T и строили график, выделяя на нем линейные участки. По массе растворителя определяли его количество, выделяющееся на каждой ступени дегидратации, а по наклону – энергии активации процесса. Использованный прием позволил выделить различное количество линейных участков десорбции воды (рисунок 2). В таблице 1 приведены количественные характеристики кинетически неравноценной воды в хлорелле для каждой ступени дегидратации (Δα, ΔT, массовая доля (w), энергия активации (E_a)).

Таблица 1

Количественные характеристики кинетически неравноценной воды в хлорелле

Ступень дегидратации	ΔT, К	Δα	w, %	Ea, кДж/моль
Скорость нагревания 2 К/мин.				
1	308-318	0-0,11	10,4	5,3
2	323-343	0,11-0,54	43,2	30,0
3	348-368	0,54-0,94	46,4	91,6
Скорость нагревания 5 К/мин.				
1	323-358	0,07-0,3	30,7	9,5
2	358-403	0,3-0,97	69,3	86,4
Скорость нагревания 10 К/мин.				
1	348-378	0,09-0,45	44,7	18,7
2	383-403	0,45-0,98	55,3	104,8

При скорости нагрева 2 К/мин получены три, а при более высоких скоростях только две ступени дегидратации. С увеличением скорости нагрева свободная вода удаляется очень быстро, что не позволяет зафиксировать изменение массы образца. Аналогичные явления наблюдаются для синтетических полимеров. Относительно низкое значение Ea на первой ступени дегидратации при скорости нагрева 2 К/мин указывает на то, что молекулы воды слабее связаны с веществом и находятся в межпоровом пространстве (разупорядоченная вода). Полученные значения энергии активации по второй ступени для скорости нагревания 2 К/мин и первой ступени для 5 К/мин и 10 К/мин позволяют предположить, что в этих температурных интервалах разрываются водородные связи вода-вода и удаляется среднесвязанная вода. На третьей ступени происходит разрыв более прочных связей, удаляется сильносвязанная (гидрат-

ная) вода. Аналогичные результаты при скорости нагревания 3 К/мин были получены для ряда ионообменных мембран: МК-100 с полиэтилен-стирол-дивинилбензольной матрицей, ПАК мембраны на основе частично имидизированной ароматической полиамидокислоты, ПА мембраны, полученной поликонденсацией натриевой соли 4,4′-диаминодифениламин-2-сульфокислоты и μ-фенилендиамина в различном их соотношении с хлорангидридом изофталевой кислоты, а также поли-μ-фениленизофталамид (фенилон). В таблице 2 представлены количественные характеристики процесса дегидратации мембран.

Таблица 2

Количественные характеристики кинетически неравноценной воды в ионообменных мембранах

Мембрана, ионная форма	Распределение сорбатов по ступеням дегидратации, моль сорбата/моль	Ea, кДж/моль
МК-100, H^+	2,4 4,9 8,8	5,6 23,2 129,8
ПАК, H^+	0,7 1,4 3,5	3,4 17,2 80,7
ПА-55, H^+	1,1 3,1 6,1	3,1 15,1 65,6
фенилон	0,5 2,5	4,6 54,9

Кроме того, наличие трёх типов воды в клетке хлореллы установлено по данным метода ЯМР с импульсным градиентом магнитного поля [6]. Так как именно свободная вода участвует в протекании биохимических, химических и микробиологических процессов, то ее желательно удалить при сушке препарата. Полученный температурный интервал 323-343 К (2 ступень) при скорости нагревания 2К/мин соответствует температурному интервалу высушивания хлореллы в производственных условиях. Стоит заметить, что в водоросли наибольшее количество сильносвязанной воды (последние ступени, таблица 1). По всей видимости, это определяется уникальной клеточной структурой. Температурные интервалы процесса дегидратации не являются четкими и варьируют в зависимости от скорости нагревания, что находится в полном соответствии с ранее проведенными исследованиями термического анализа для зерна, хлебобулочных изделий и овощей.

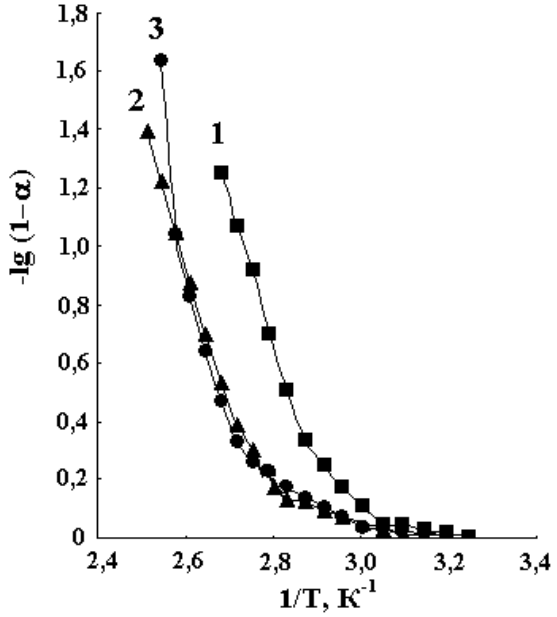

Рисунок 2 Зависимость -lg (1-α) от 1/T для микроводоросли хлорелла:

- • - скорость нагревания 10 К/мин
- ■ - скорость нагревания 2 К/мин
- ▲ - скорость нагревания 5К/мин

1 – скорость нагревания 2 К/мин
2 – скорость нагревания 5К/мин
3 - скорость нагревания 10 К/мин

Выводы

1. При исследовании дегидратации хлореллы методом термического анализа выявлено наличие трёх типов воды по степени связанности при низкой скорости нагрева и двух типов – при высоких.

2. Определены температурные интервалы дегидратации образцов хлореллы, составляющие при скорости нагрева 2 К/мин 308-368 К, 5 К/мин - 323-403 К, 10 К/мин - 348-403 К. Полученные результаты могут быть положены в основу технологии высушивания хлореллы для использования в качестве биодобавки.

ЛИТЕРАТУРА

1 Knapen E., Cizer O., Van Valen K., Van Gemert D. Effect of free water from early-age hydrate cement pastes on thermal analysis // J.Construction and Building Mateials. 2009. № 23. P. 3431-3438.

2 Бойко Б.Н., Колпаков И.М., Уминский А.А. Метод количественного определения содержания различных форм воды в биологически активных субстанциях // Химико-фармацевтический журнал. 2010. Т. 44. № 10. С. 46-52.

3 Osorio C., Carriazo J. G., Barbosa H. Thermal and structural study of guava (Psidium Guajava L) powders obtained by two dehydration methods // Química Nova. 2011. **V.** 34. № 4. P. 636–640.

4 Maggio R. M., Cerretani L., Barnaba C., Chiavaro E. Application of differential scanning calorimetry-chemometric coupled procedure to the evaluation of thermo-oxidation on extra virgin olive oil // Food Biophysics. 2012. V. 7. № 2. P. 114–123.

5 Wahyudiono M., Sasaki M., Goto M. Thermal decomposition of guaiacol in sub-and supercritical water and its kinetic analysis // J. Mater. Cycles Waste Manag. 2011. V. 13. № 1. P. 68 – 79.

6 Athmaselvi K. A., Kumar C., Balasubramanian M., Roy Ishita Thermal, Structural, and Physical Properties of Freeze Dried Tropical Fruit Powder // Journal of Food Processing. V. 2014, 10 p.

REFERENCES

1 Knapen E., Cizer O., Van Valen K., Van Gemert D. Effect of free water from early-age hydrate cement pastes on thermal analysis. J. Construction and Building Mateials, 2009, no. 23, pp. 3431-3438.

2 Boiko B.N., Kolpakov I.M., Uminskii A.A. The method of quantitative determination of the different forms of water in biologically active substances. *Khimiko-farmatsevticheskii zhurnal.* [Pharmaceutical Chemistry Journal], 2010, vol. 44, no. 10. pp. 46-52. (In Russ.).

3 Osorio C., Carriazo J. G., Barbosa H. Thermal and structural study of guava (Psidium Guajava L) powders obtained by two dehydration methods. Química Nova, 2011, vol. 34, no. 4, pp. 636–640.

4 Maggio R. M., Cerretani L., Barnaba C., Chiavaro E. Application of differential scanning calorimetry-chemometric coupled procedure to the evaluation of thermo-oxidation on extra virgin olive oil. Food Biophysics, 2012, vol. 7, no. 2, pp. 114–123.

5 Wahyudiono M., Sasaki M., Goto M. Thermal decomposition of guaiacol in sub-and supercritical water and its kinetic analysis. J. Mater. Cycles Waste Manag., 2011, vol. 13, no. 1, pp. 68 – 79.

6 Athmaselvi K. A., Kumar C., Balasubramanian M., Roy Ishita Thermal, Structural, and Physical Properties of Freeze Dried Tropical Fruit Powder. Journal of Food Processing, 2014, 10 p. Available at: http://dx.doi.org/10.1155/2014/524705 (Accessed 25 November 2015).