

04-020

На правах рукописи

Тешаев Хуршед Икромович

**ПОВЕДЕНИЕ НИЗКОМЕТИЛИРОВАННЫХ  
ПЕКТИНОВ В РАСТВОРЕ И ИЗУЧЕНИЕ ИХ  
ГЕЛЕОБРАЗУЮЩИХ СВОЙСТВ С ИОНАМИ  
ПОЛИВАЛЕНТНЫХ МЕТАЛЛОВ**

02.00.04 – Физическая химия

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени кандидата  
технических наук

Душанбе – 2004

Работа выполнена в лаборатории «Химия высокомолекулярных соединений»  
Института химии им. В.И. Никитина Академии наук Республики Таджикистан

Научные руководители: академик АН Республики  
Таджикистан, доктор химических  
наук, профессор Халиков Джурабай  
Халикович

доктор химических наук,  
Мухиддинов Зайниддин Камарович

Официальные оппоненты: доктор химических наук, профессор  
Усманов Рахматжон

кандидат технических наук  
Ульмасова Башорат Турсуновна

Ведущая организация: Таджикский аграрный университет,  
кафедра общей химии

Защита состоится: « 16 » июня 2004 г. в 9-00 часов на заседании диссер-  
тационного совета Д 047.003.01 при Институте химии им. В.И. Никитина АН  
Республики Таджикистан по адресу: 734063 Республика Таджикистан  
г. Душанбе, ул. Айни, 299/2. E-mail: [guli@academy.td.silk.org](mailto:guli@academy.td.silk.org).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Института химии им.  
В.И. Никитина АН Республики Таджикистан.

Автореферат разослан « 14 » мая 2004 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета,  
кандидат химических наук

Касымова Г.Ф.

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы.** Благодаря уникальному набору физико-химических свойств, пектиновые вещества (ПВ) нашли широкое применение в различных отраслях народного хозяйства – пищевой промышленности, медицине, биотехнологии. В пищевой промышленности ПВ, полученные из выжимки цитрусовых или яблок, используют как гелеобразующие добавки в производстве джема и желе. Джем и желе традиционно готовятся на основе высокометилированного пектина (ВМ-пектин), сахара (более 60%) и кислоты, в то время как низкометилированный пектин (НМ-пектин) образует гель в присутствии ионов кальция, независимо от содержания сахара и кислотности среды. В производстве НМ-пектины получают путем деэтерификации ВМ-пектина кислотой, щелочью и ферментами.

В то же время имеются многочисленные сырьевые базы для получения низкометилированных ПВ, среди которых можно отметить свекловичный жом, корзинки подсолнечника. Наличие перечисленной сырьевой базы ставит на повестку дня вопрос о возможности упрощения технологии получения НМ-пектинов и поиск путей их применения, в первую очередь, в пищевой промышленности и медицине.

НМ-пектины, благодаря наличию свободных карбоксильных групп, способны к организации межмолекулярных связей с низко- и высокомолекулярными компонентами. Проявление указанных особенностей ПВ, прежде всего, определяется поведением макромолекул пектинов в растворе, которое в свою очередь, зависит от конформационного состояния полимерной цепи, химической структуры, состава и соотношения кислых и нейтральных моносахаридных остатков. При этом свойства НМ-пектинов образовывать макромолекулярные комплексы, стабилизировать дисперсные системы, в присутствии ионов поливалентных металлов можно использовать при создании носителей лекарственных препаратов и в производстве желеобразующих продуктов. Поэтому НМ-пектины становятся незаменимыми гелеобразователями при изготовлении диетических продуктов на основе желе с минимальным содержанием сахара и кислот.

В связи с этим изучение взаимосвязи поведения макромолекул НМ-пектинов в растворе и их гелеобразующей способности при варьировании компонентного состава раствора и параметров системы является актуальной задачей.

**Цель и задачи исследования.** Цель настоящей работы - исследование поведения НМ-пектинов в растворе и изучение их гелеобразующих свойств с ионами поливалентных металлов.

Для выполнения поставленной цели были решены следующие задачи:  
- изучение механизма реакции гидролиза этерифицированных групп ВМ-пектина;  
- исследование полиэлектролитических свойств НМ-пектина;

- изучение свойств НМ-пектина в разбавленном растворе и его гелеобразующие свойства в присутствии поливалентных металлов.

**Научная новизна работы:**

- Впервые методом ИК-спектроскопии изучена кинетика деэтерификации цитрусового пектина со степенью этерификации 73%. Установлено, что на скорость реакции влияют степень ионизации карбоксильных групп и плотность заряда полииона. Увеличение рD раствора несколько ускоряет скорость реакции.

- Выявлен механизм взаимодействия НМ-пектина яблок с ионами меди, кальция и алюминия. Показано, что ионы кальция в большей степени способствуют образованию различных видов межмолекулярных агрегатов, в том числе трехмерных сеток. Гелеобразующая способность пектиновых веществ усиливается с увеличением числа карбоксильных групп и возрастанием их степени диссоциации.

- Впервые изучен процесс желеобразования НМ-пектина корзинок подсолнечника в присутствии ионов кальция и влияние параметров реакции гелеобразования на прочностную и деформационную характеристики студней НМ-пектинов. Полученные результаты дали возможность оптимизировать процесс получения высокопрочных гелей в широком диапазоне рН.

**Практическая ценность работы.** Полученные закономерности структурирования НМ-пектинов на основе доступных промышленных отходов – выжимки яблок и корзинок подсолнечника способствуют созданию гелеобразующих материалов, природных носителей лекарственных средств и сорбентов, которые могут найти применение в пищевой и фармацевтической отраслях промышленности. Разработан высокоэффективный способ концентрирования белков молочной сыворотки с использованием НМ-пектина и получение пектин-белкового комплекса, который может быть использован в качестве препарата с иммуностимулирующей активностью.

Работа проведена в соответствии с планами НИР Института химии АН Республики Таджикистан «Разработка и опытно-промышленное испытание полимерных систем на основе производных этинилпиперида и пектиновых веществ» (Номер госрегистрации 000000356 от 15.03.1996 г.) и «Композиционные материалы на основе ионогенных полимеров, вторичных ресурсов хлопководства, пектиновых веществ, растительных белков и использование их в народном хозяйстве» (Номер госрегистрации 000000876 от 23.03.2001 г.).

**Публикации.** По теме диссертации опубликовано 4 статьи и 2 тезиса докладов.

**Апробация работы.** Основные результаты работы изложены в докладах на Республиканской конференции «Достижения в области химии и химической технологии» (Душанбе, 2001 г.); на 5-м Международном симпозиуме по химии природных соединений (Ташкент, 2003 г.); на научно – практических конференциях профессорско-преподавательского состава Технологического университета Таджикистана (Душанбе, 2003-2004гг.).

**Объем и структура работы.** Диссертация представляет собой рукопись, иллюстрированную на 96 стр. машинописного текста. Работа состоит из введения, трех глав, заключения, иллюстрирована 24 рисунками, 4 таблицами. Список использованной литературы включает 111 наименований.

**ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

Во **введении** обосновывается актуальность темы, формулируются цели и задачи исследования, освещаются научная новизна и практическое значение работы.

В первой главе - **«Литературный обзор»** - изложены основные особенности процесса переработки главных видов сырья – яблочные и цитрусовые выжимки, жом сахарной свеклы и корзинок подсолнечника – в пектин. Особое внимание уделяется литературным данным по полиэлектрическим свойствам НМ-пектинов, в том числе их поведению в концентрированном растворе. Рассматриваются также экспериментальные данные по гелеобразующей способности пектиновых веществ, показывающие, что на данный процесс главным образом оказывают влияние молекулярная масса и степень этерификации полимера.

Особое внимание в обзоре литературы уделяется роли ионов кальция в процессе гелеобразования пектиновых веществ. Показано, что ионы кальция не просто механически внедряются в пустоты, а химически взаимодействуют посредством ионных и координационных связей с остатками анионных полисахаридов, что непосредственно вытекает из данных спектров кругового дихроизма, равновесного диализа и ионного обмена. В обзоре приводятся также данные по применению НМ-пектинов в качестве желеобразующего агента в производстве молочных изделий и фармацевтической промышленности.

В **«Экспериментальной части»** (глава 2) приведены химическая и физико-химическая характеристика объектов исследования, характеристика реагентов и рабочих растворов, методика проведения гидролиза протопектина, способы очистки раствора гидролиза, методика деэтерификации пектиновых веществ, количественные методы анализа функциональных групп и содержания ионов кальция, хроматографический анализ остатка нейтральных сахаров и спектроскопический анализ звеньев галактуроновой кислоты в пектине. Приводятся также методы исследования гидродинамических свойств ПВ, потенциометрические и кондуктометрические методы, методика определения студнеобразующей способности НМ-пектина и прочности пектинового студня по Рид-желаметру, методика определения белка в растворах.

Характеристики объектов исследования – лимонного, яблочного и подсолнечного пектинов приводятся по ходу изложения материала диссертации.

В главе 3 – **«Результаты и их обсуждение»** - приводятся экспериментальные данные, полученные автором, в соответствии с целью и задачами исследования и дана интерпретация полученных результатов.

### 1. Деэтерификация пектинов

Основным фактором, определяющим применимость пектиновых веществ, является степень этерификации (СЭ) карбоксильных групп,  $\alpha$ -D-галактуроновой кислоты. Пектины со СЭ более 50%, относят к высокометилованным, при СЭ менее 50% - к низкометилованным. Низкометилованные пектины часто получают путем контролируемой деэтерификации ВМ-пектинов в кислой, щелочной среде или ферментами.

Одна из задач данного исследования - изучение механизма реакции гидролиза этерифицированных групп пектина ИК-спектроскопическим методом. Реакцию омыления эфира в щелочном растворе относят к реакциям второго порядка, а омыление эфиров водой-первого порядка, хотя обе реакции бимолекулярные.

На ИК-спектрах цитрусового пектина (CP Kelco, USA), снятого в растворе D<sub>2</sub>O, при различных значениях рD растворов и температурах 25 и 45°C обнаружены две полосы в области 1604 см<sup>-1</sup> и 1745 см<sup>-1</sup> (рис. 1), которые относят к свободным, ионизированным карбоксильным группам и карбонильным группам (-COOH и -COOCH<sub>3</sub>) соответственно.

Принимая во внимание, что при степени диссоциации  $\alpha=1$  протонированные карбоксильные группы отсутствуют, расчет изменения содержания карбоксильных групп метиловых эфиров от продолжительности омыления производили по площади полос поглощения при 1745 см<sup>-1</sup>. Реакцию омыления проводили непосредственно в кювете спектрометра при постоянной температуре и рD раствора, с записью спектра через определенные промежутки времени.

Расчет кинетических параметров реакции проводили по изменениям концентрации этерифицированных карбоксильных групп, рассчитанных из отношения площадей полос поглощения этерифицированных и ионизированных карбоксильных групп в ИК-спектрах от времени протекания реакции (рис.2).

Экспериментальные данные описываются уравнением скорости реакции второго порядка:

$$v = -dc / dt = k_{II} c_1 c_2, \quad (1)$$

где  $c_1$  и  $c_2$  - концентрация реагирующих веществ в момент времени  $t$ .

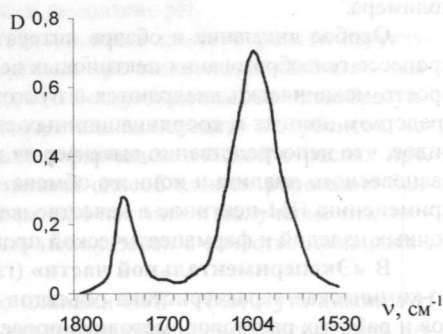


Рис.1. ИК - спектры цитрусового пектина в области 1800-1500 см<sup>-1</sup> в растворе D<sub>2</sub>O при Спв =2,7%, СМ=76%, рD = 7,5 и температуре 25°C.

Если начальная концентрация реагирующих веществ  $c_{01}$  и  $c_{02}$  различна, то константу скорости реакции второго порядка находят интегрированием (1), в котором  $c_1$  и  $c_2$  - концентрация, соответственно, первого и второго веществ в момент времени  $t$  от начала реакции. Получают выражение:

$$k_{II} = \frac{1}{t(c_{01} - c_{02})} \ln \frac{c_{02} c_1}{c_{01} c_2} \quad (2)$$

Умножая обе части (2) на  $t$  и обозначив его правую часть через  $B$ , построив зависимость  $B$  от  $t$ , получили кинетическую кривую состоящую из двух прямых, наклон которых даёт константы скорости реакции, равные  $3,43 \cdot 10^{-4}$  и  $6,16 \cdot 10^{-6}$  л / (моль\*с) при температуре 25°C и соответственно, равные  $3,46 \cdot 10^{-4}$  и  $6,53 \cdot 10^{-6}$  л / (моль\*с) при температуре 45°C.

Такой ход изменения механизма реакции омыления метилованных групп в пектине можно объяснить влиянием электростатических сил на реакционную способность карбоксильных групп остатков галактуроновой кислоты в полиионе, что отражается на снижении величин кажущейся константы скорости реакции.

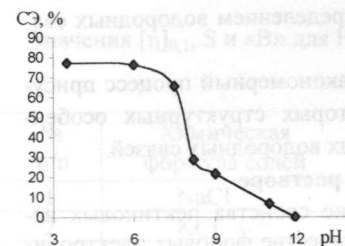


Рис.3. Зависимость изменения степени этерификации карбоксильных групп цитрусового пектина от рН раствора.

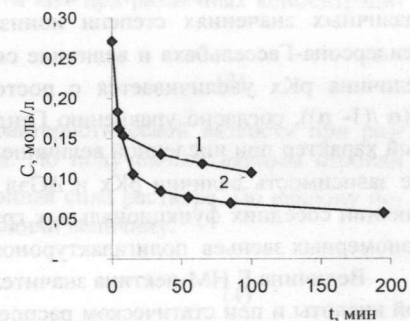


Рис.2. Зависимость концентрации -OCH<sub>3</sub> групп от времени протекания реакции при: 1- 25°C; 2- 45°C

Изменение плотности заряда в результате увеличения содержания отрицательно заряженных карбоксильных групп, скорее всего, приводит к изменению формы полииона. Граница резкого изменения СЭ соответствует 60-55% (рис. 3).

Таким образом, сложный механизм реакции гидролиза сложноэфирных групп можно интерпретировать за счет структурных изменений пектиновых макромолекул в результате конформационного перехода цепи из формы жесткого цилиндра в клубок.

## 2. Полиэлектrolитические свойства НМ- пектинов

Специфические свойства пектиновых веществ - полиэлектролитов, проявляются в условиях, в которых их макромолекулы имеют локальные некомпенсированные заряды. Эти свойства в основном определяются взаимодействием заряженных групп полиионов между собой и с окружающими их низкомолекулярными противоионами.

На основании данных потенциометрического титрования низкометилированного яблочного пектина (ЯП) в работе определены величины статической объемной емкости (Е), характеристические константы ионизации (рКх) при различных значениях степени ионизации ( $\alpha$ ), параметра «n» в уравнении Гендерсона-Гассельбаха и величине свободной энергии ( $\Delta G_{эл}$ ). Показано, что величина рКх увеличивается с ростом значения  $\alpha$ , а зависимость рН от  $\lg(\alpha / (1 - \alpha))$ , согласно уравнению Гендерсона-Гассельбаха, носит прямолинейный характер при численной величине  $n=2,1$ . Данные по значениям  $n > 1$ , а также зависимость величин рКх и  $\Delta G_{эл}$  от  $\alpha$  свидетельствуют о значительном влиянии соседних функциональных групп на ионизацию карбоксильных групп мономерных звеньев полигалактуроновых макромолекул.

Величина Е НМ-пектина значительно меньше, чем ее значение для пектовой кислоты и при статическом распределении на семь моносахаридных остатков приходится по две карбоксильные группы. Тем не менее, при таком значительном расстоянии между карбоксильными группами, их влияние на ионизацию друг друга достаточно высоко, что, по-видимому, связано со спиралеобразной формой участков макромолекул, которые стабилизированы в неионизированном состоянии водородными связями.

При ионизации макромолекул НМ-пектина происходят значительные конформационные изменения, обусловленные не только воздействием одноименных зарядов, но и разрушением или перераспределением водородных связей.

Таким образом, ионизация НМ-пектинов - закономерный процесс присущий полимерным электролитам с учетом некоторых структурных особенностей, связанных с наличием внутримолекулярных водородных связей.

## 3. Свойства НМ-пектинов в разбавленном растворе

В разбавленном растворе гидродинамические свойства пектиновых веществ были изучены методом вискозиметрии. В качестве фоновых электролитов при измерении времени течения в раствор добавляли различное количество солей: NaCl, KCl, CuCl<sub>2</sub>, CaCl<sub>2</sub>, AlCl<sub>3</sub>. Во всех изученных системах кроме растворов, содержащих ионы кальция, происходит прямолинейное уменьшение величины  $[\eta]$  с ростом концентрации фоновых электролитов. В присутствии ионов Ca<sup>2+</sup> величина  $[\eta]$  увеличивается с ростом концентрации солей. Получен-

ные результаты указывают на то, что если действие ионов щелочных металлов, меди и алюминия направлено на уменьшение эффекта полиэлектролитического взаимодействия в полимерной цепи вследствие частичного экранирования зарядов, то ионы кальция могут непосредственно взаимодействовать с карбоксильными группами пектиновых макромолекул. В связи с тем, что все измерения проводились в разбавленном растворе, где исключается межцепное взаимодействие, аномальное поведение ионов кальция следует целиком отнести к внутримолекулярному эффекту, который, по-видимому, обусловлен изменением формы полимерного клубка. По данным измерений характеристической вязкости можно оценить параметр жесткости «В» при различных концентрациях фоновых электролитов по уравнению:

$$S = B ([\eta]_{0,1})^{\nu} \quad (3)$$

Для этого проводили измерение характеристической вязкости при различном содержании фонового электролита. По полученным данным строили график зависимости  $[\eta]$  от  $1/\sqrt{J}$ , где J – ионная сила раствора. По наклону полученной прямолинейной зависимости находили величину:

$$S = \frac{\Delta[\eta]}{\Delta(1/\sqrt{J})}, \quad (4)$$

которая связана с параметром «В» из (3). Здесь величина  $[\eta]_{0,1}$  – характеристическая вязкость полимера, полученная в 0,1 М растворе соли. Величина  $\nu$  изменяется в пределах от 1,2 до 1,4. Для приближенной оценки величины «В» можно использовать среднюю величину  $\nu$ , равную 1,3.

Таблица 1

Значения  $[\eta]_{0,1}$ , S и «В» для НМ-пектина в присутствии различных солей в растворе

№ п/п	Химическая формула солей	$[\eta]_{0,1}$ , дл/г	$S, \frac{\text{л}^{1/2} \text{ моль}^{1/2}}{\text{г}}$	В
1	NaCl	1,40	0,080	0,056
2	KCl	1,60	0,092	0,051
3	CaCl <sub>2</sub>	0,88	0,0030	0,0035
4	CuCl <sub>2</sub>	0,40	0,0014	0,0047
5	AlCl <sub>3</sub>	0,30	0,0023	0,011

Данные табл.1 показывают, что величина «В» для всех исследованных систем принимает небольшие значения, что свидетельствует о значительной жесткости макромолекул НМ-пектина. Даже в присутствии солей щелочных металлов, где, по всей вероятности, отсутствует специфическое взаимодействие ионов с пектиновой макромолекулой, «В» имеет значение в пять раз меньше, чем для полиакриловой кислоты ( $B=0,44$ ), что свидетельствует о более жесткой структуре цепи первой макромолекулы по сравнению со второй. В присутствии ионов поливалентных металлов этот эффект еще больше усиливается и «В» принимает минимальное значение в системах, содержащих ионы кальция ( $B=0,0035$ ), которое почти в полтора раза меньше, чем для такой жесткоцепной макромолекулы, как ДНК ( $B=0,0055$ ).

Таким образом, характер изменения параметра «В» и, соответственно, жесткости макромолекул НМ- пектина является симбатным валентности ионов металлов, за исключением ионов кальция, где имеет место специфическое ионное взаимодействие внутримолекулярного типа, приводящее к резкому увеличению жесткости макромолекул.

#### 4. Гелеобразование НМ-пектинов в присутствии поливалентных металлов

Исследование влияния структуры ПВ, их СЭ и типа этерификации на гелеобразование пектинов с поливалентными противоионами нами проводилось с помощью методов кондуктометрии, потенциометрии и вискозиметрии. Для этого использовались хорошо очищенные образцы НМ-пектинов яблок и подсолнечника.

Основные характеристики образцов пектинов приведены в табл.2.

Таблица 2

Основные характеристики НМ-пектинов  
яблок и подсолнечника

Образцы	СЭ, %	GalA <sup>a</sup> , %	$[\eta]^b$ , дл/г	S <sup>c</sup> , Св	$\xi^d$
НМ- ЯПВ <sup>e</sup>	47,3	70,1	1,14	1,96	0,848
НМ- ППВ <sup>f</sup>	52,0	81,0	2,2	-	0,773

<sup>a</sup> Содержание галактуроновой кислоты

<sup>b</sup> Характеристическая вязкость

<sup>c</sup> Коэффициент седиментация

<sup>e</sup> Яблочный НМ- пектин

<sup>f</sup> Подсолнечный НМ- пектин

<sup>d</sup> Структурный параметр заряда

Как видно из табл.2, пектин подсолнечника, в сравнении с яблочным, отличается высоким содержанием звеньев галактуроновой кислоты, а также повышенным значением степени этерификации и молекулярной массой. В табл.2 также приведен параметр заряда  $\xi$ , введенный впервые Лифсоном и Качальским, который был определен при 25 °С, без учета небольшого содержания рамнозы в макромолекуле пектина, по уравнению:

$$\xi = \epsilon^2 / b D kT (1 - CЭ / 100) = 1,61 (1 - CЭ / 100), \quad (5)$$

где  $\epsilon^2$ -заряд электрона; kT-постоянная Больцмана; b-длина мономерного звена и D-диэлектрическая константа растворителя. Значение b для пектина равно 4,35 Å°. Этот параметр для двух видов пектина имеет близкие значения.

Взаимодействие противоионов и макромолекул НМ-пектина было изучено методом кондуктометрии. Проводимость растворов, содержащих как полиэлектролиты, так и обычные электролиты, можно рассматривать как сумму вкладов, вносимых малыми ионами и полиионами. Согласно ограниченного закона, описывающего проводимость чистого раствора полиэлектролита, эквивалентную электропроводность соли в растворе ( $\Lambda$ ) можно представить в виде:

$$\Lambda = f (\lambda_c + \lambda_p), \quad (6)$$

где  $\lambda_c$ - эквивалентная проводимость противоиона в чистом растворителе;  $\lambda_p$ - эквивалентная проводимость мономерного звена полимера и f – параметр переноса, величина которого не зависит от природы противоиона. Согласно (6), измеряя проводимость двух растворов полиэлектролитов с соответствующими противоионами и, определяя величину  $\lambda_c$  из данных измерения электропроводности растворов с низкомолекулярным электролитом, содержащим эти же противоионы, можно оценить величины f и  $\lambda_p$  из двух уравнений с двумя неизвестными.

На рис. 4 и 5 приведены кривые кондуктометрического титрования пектиновых кислот (НМ-яблочного и подсолнечного пектинов), основаниями КОН и Ca(OH)<sub>2</sub>.

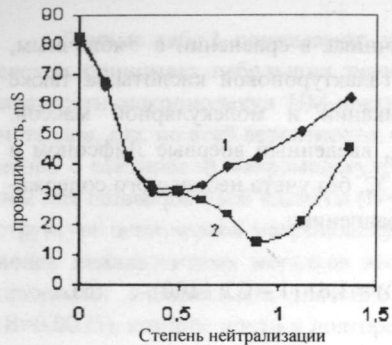


Рис.4. Кондуктометрическое титрование яблочной пектиновой кислоты гидроксидами калия (1) и кальция (2).



Рис.5. Кондуктометрическое титрование подсолнечной пектиновой кислоты гидроксидами калия (1) и кальция (2).

Как видно, кривые являются типичными для полиэлектролитов. Все эксперименты проводились в разбавленном ( $C_p < 10^{-3}$  экв/л) растворе и в отсутствии низкомолекулярного электролита. Значения величин  $\lambda p$  и  $f$  представлены в табл. 3.

Таблица 3

Параметры электрической проводимости для пектинов и их мономерного звена методом кондуктометрии и по теории Маннинга

Образцы	Экспериментальные данные			Теоретические данные	
	$\lambda_p$	$f_{K^+}$	$f_{Ca^{2+}}$	$f_{K^+}$	$f_{Ca^{2+}}$
НМ- ЯПВ	45,4	0,695	0,296	0,867	0,443
НМ- ППВ	40,2	0,709	0,370	0,897	0,520
GalA	29,2	0,968	0,911	1,000	1,000

Данные табл. 3 показывают, что величина  $\lambda p$  яблочной пектиновой кислоты больше чем, для подсолнечного пектина, что связано с СЭ, так как  $\lambda p$  увеличивается с уменьшением СЭ.

Значения транспортного параметра ( $fz$ ) сравнивали со значением полученным по теории Маннинга:

$$fz = 1 - \frac{\{0,55 (|Z| \xi)^2\}}{\{|Z| \xi + 3,14\}}, \quad |Z| \xi \leq 1 \quad (7)$$

$$fz = 0,87 (|Z| \xi)^{-1}, \quad |Z| \xi > 1 \quad (8)$$

где  $Z$  – заряд противоиона.

Из данных, представленных в табл.3 следует также, что экспериментальные величины  $fz$  пектинов меньше, чем рассчитанные теоретически, хотя это различие незначительно. В то же время, различие между значениями параметра для двух видов исследованных пектинов незначительно. Если опираться на данные, полученные в работе Дж.Тибольтом и М.Ринаудо (1985 г.), величина  $f$  для пектина с блочным распределением карбоксильных групп, каковым в данном случае является подсолнечный пектин, должны были бы, характеризоваться низким значением параметра  $f$ , по сравнению с яблочным пектином. Наконец, значение параметра  $f$  для растворов пектинов с противоионами кальция меньше, чем с противоионами калия, что согласно М.Ринаудо, Дж.Раванат, М.Винседон (1980), может быть следствием димеризации пектиновых макромолекул под действием ионов кальция.

Для подтверждения этой гипотезы измеряли приведенную вязкость образцов пектиновых веществ при их нейтрализации гидроксидами калия и кальция (рис.6.). Как видно, при нейтрализации пектинов раствором КОН приведенная вязкость полимера постепенно увеличивается, а растворами  $Ca(OH)_2$ , наоборот, происходит снижение значения этого параметра. Первое, скорее всего, обусловлено электростатическим отталкиванием одноименно заряженных ионов макромолекул, количество которых, естественно, увеличивается при диссоциации карбоксильных групп пектина и приводит к набуханию полимерного клубка. Во втором случае, при нейтрализации пектинового полииона гидроокисью кальция, ионы металла могут вступать во взаимодействие с карбоксильными группами пектиновых макромолекул, в результате чего происходит компактизация полимерной цепи.



Рис.6. Изменение приведенной вязкости растворов НМ-пектинов подсолнечника (1,2) и яблок (3,4) при нейтрализации гидроксидами калия (1,3) и кальция (2,4).

Таким образом, различие между величинами параметров проводимости и вязкости растворов пектина в зависимости от природы противоиона обусловлено, прежде всего, способностью их полимерной цепи вступить во взаимодействие с поливалентными ионами или подвергаться полиэлектролитическому набуханию, при наличии моновалентных противоионов.

Дж.Тибольт и М.Ринаудо (1985 г.), изучив процессы гелеобразования пектовой кислоты в разбавленных растворах, установили взаимосвязь между молекулярной массой полимерных агрегатов с количеством ионов кальция в растворе.

Механизм гелеобразования авторы объясняют возможностью образования межмолекулярной связи под действием ионов кальция, а роль внутримолекулярных взаимодействий, практически не принимают во внимание. Поскольку все измерения свойств растворов проводятся при низких концентрациях полимера, представляет интерес более подробное изучение процесса взаимодействия НМ-пектина с ионами металла в самом начале процесса, что даёт возможность выяснить механизм гелеобразования. В связи с этим, задача данного раздела работы заключалась в изучении гидродинамических свойств растворов НМ-пектина в присутствии солей поливалентных металлов и в получении информации о внутри- и межмолекулярных эффектах, приводящих к гелеобразованию.

Нами, в качестве объекта исследования, был использован яблочный НМ-пектин, полученный в опытно-экспериментальном цехе ПАО «Шахринав» Республики Таджикистан и имеющий следующие характеристики: содержание галактуроновой кислоты - 70,1%; влажность - 6,9%; содержание звеньев нейтральных сахаров - 16,4%; зольность - 6,2%; статистическая обменная емкость - 2,25 экв/г; степень этерификации - 47,3%; характеристическая вязкость и коэффициент седиментации в 1 %-ном растворе хлорида натрия 1,14 дл/г и 1,96 Сведберга соответственно; кислотное число  $K_s = 2,86$ ; эфирное число  $K_e = 2,10$ ; состав нейтральных сахаров: рамноза - 1,35%; арабиноза - 2,24%; ксилоза - 0,53%; манноза - 2,5%; галактоза - 6,8% и глюкоза - 2,38%.

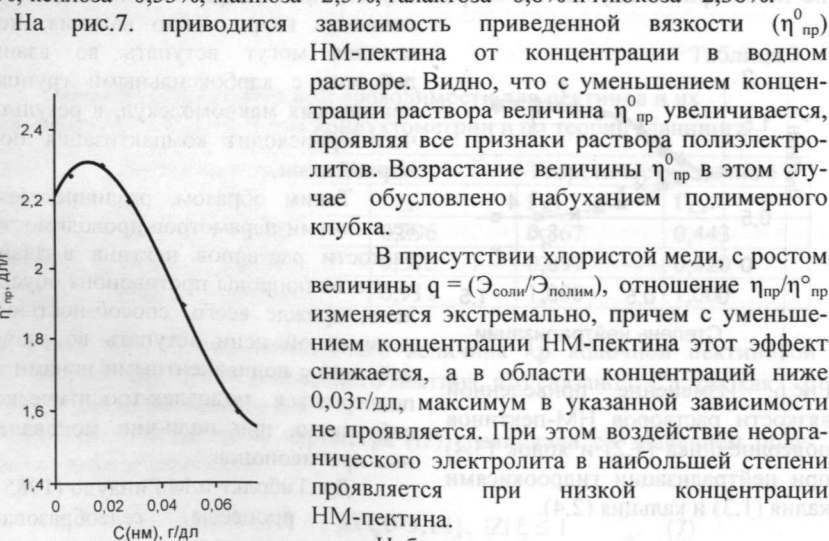


Рис. 7. Зависимость приведенной вязкости от концентрации НМ-пектина

В присутствии хлористой меди, с ростом величины  $q = (\text{Э}_{\text{соли}}/\text{Э}_{\text{полимер}})$ , отношение  $\eta_{пр}/\eta^{\circ}_{пр}$  изменяется экстремально, причем с уменьшением концентрации НМ-пектина этот эффект снижается, а в области концентраций ниже 0,03 г/дл, максимум в указанной зависимости не проявляется. При этом воздействие неорганического электролита в наибольшей степени проявляется при низкой концентрации НМ-пектина.

Наблюдаемые закономерности находят свое объяснение, если предположить, что при небольших концентрациях  $\text{CuCl}_2$ , в результате

взаимодействия ионов меди с карбоксильными группами НМ-пектина, в макромолекуле последнего не только происходит связывание ионов металла, но и разрушение или перераспределение водородных связей с участием этих групп, что приводит к набуханию макромолекулярного клубка. Это проявляется в виде возрастания отношения  $\eta_{пр}/\eta^{\circ}_{пр}$  от величины  $q$  в начале процесса. В дальнейшем, при увеличении степени замещения карбоксильных групп ионами металла, происходит компактизация макромолекулярного клубка, что приводит к резкому снижению отношения  $\eta_{пр}/\eta^{\circ}_{пр}$ . Для достижения одинакового эффекта, с уменьшением концентрации полимера, естественно, требуется большая концентрация ионов металла.

Действие хлористого алюминия аналогично хлористой меди, однако в этом случае максимум не проявляется и наблюдается монотонный спад величины  $\eta_{пр}/\eta^{\circ}_{пр}$  с ростом значения  $q$  (рис. 8). Наибольшее изменение отношения  $\eta_{пр}/\eta^{\circ}_{пр}$ , как и в случае ионов меди, происходит при значительном увеличении концентрации ионов  $\text{Al}^{3+}$  или при уменьшении концентрации полимера. Полученные данные свидетельствуют о том, что под действием ионов меди и алюминия происходят внутримолекулярные конформационные изменения, обусловленные экранированием зарядов полимера и (или) образованием внутримолекулярной связи с участием ионов металлов, приводящие к компактизации макромолекулярного клубка.

При добавлении хлорида кальция в раствор НМ-пектина происходит изменение отношения  $\eta_{пр}/\eta^{\circ}_{пр}$  в зависимости от концентрации  $\text{CaCl}_2$ , в противоположность действию хлорида меди и алюминия. На рис. 9 приводится зависи-

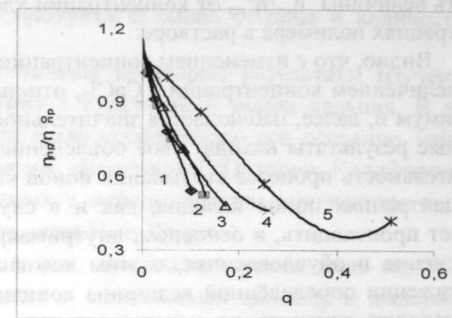


Рис. 8. Зависимость отношения  $\eta_{пр}/\eta^{\circ}_{пр}$  от величины  $q$  для НМ яблочного пектина в присутствии хлорида алюминия при различных концентрациях полимера и неорганической соли:  $C(\text{нмп})=0,1(1); 0,08(2); 0,06(3); 0,04(4); 0,02$  г/дл (5).

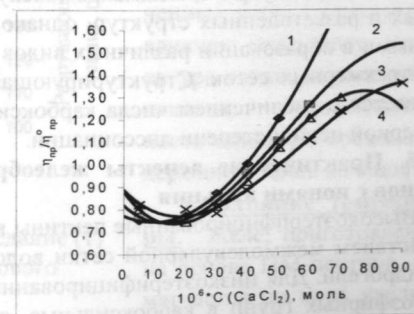


Рис. 9. Изменение отношение  $\eta_{пр}/\eta^{\circ}_{пр}$  от концентрации хлорида кальция при различных концентрациях НМ-пектина в растворе:  $C(\text{нмп})=0,1(1); 0,08(2); 0,06(3); 0,04$  г/дл (4).



мость величины  $\eta_{\text{пр}}/\eta^{\circ}_{\text{пр}}$  от концентрации хлорида кальция при различных концентрациях полимера в растворе.

Видно, что с изменением концентрации полимера график смещён по фазе. С увеличением концентрации  $\text{CaCl}_2$ , отношение  $\eta_{\text{пр}}/\eta^{\circ}_{\text{пр}}$  проходит через один минимум и, далее, наблюдается значительное возрастание его величины. Полученные результаты находят своё объяснение, если принять следующую последовательность процесса связывания ионов кальция НМ-пектином. При малых концентрациях ионов кальция, как и в случае с ионами меди и алюминия, может происходить, в основном, внутримакромолекулярное конформационное изменение и обусловленная, с этим компактизация полимерного клубка. По достижении определённой величины концентрации ионов кальция в растворе происходит димеризация макромолекулы и перераспределение внутримолекулярных связей в межмолекулярные с образованием пектиновых микрогелей. Этот процесс приводит к возрастанию отношения  $\eta_{\text{пр}}/\eta^{\circ}_{\text{пр}}$ . При последующем увеличении концентрации  $\text{CaCl}_2$ , образуются полимерные агрегаты-высоконабухший гидрогель. Естественно, что этот процесс ускоряется с ростом концентрации полимера.

Представленные результаты приводят к заключению, что даже в разбавленных растворах при взаимодействии пектиновой макромолекулы с ионами кальция происходит серия конформационных изменений - от обычного экранирования заряда до образования агрегатов, подобных структуре "яичной коробки". Димеризация цепи и ассоциация макромолекул, по-видимому, происходят кооперативно, что подтверждается резким возрастанием гидродинамических характеристик разбавленных растворов пектиновых веществ.

Таким образом, НМ-пектины в присутствии ионов металлов вступают в различные виды внутри- и межмакромолекулярных связей с образованием компактных и разветвленных структур, однако, ионы кальция являются наиболее активными в образовании различных видов межмолекулярных агрегатов, в том числе трехмерных сеток. Структурирующая способность пектиновых веществ усиливается с увеличением числа карбоксильных групп, их распределения по полимерной цепи и степени диссоциации.

##### 5. Практические аспекты желеобразования низкометилированных пектинов с ионами кальция

Высокоэтерифицированные пектины в присутствии сахаров и кислот, под воздействием межмолекулярной сетки водородных связей образуют полимерные гидрогели. Для низкоэтерифицированных пектинов, в результате перехода сложноэфирных групп в карбоксильные, становится возможным организация межмолекулярных связей между последними функциональными группами и ионами двухвалентных металлов, в частности, ионами кальция и магния, что дает возможность получения гелей, независимо от наличия дополнительных компонентов (сахаров и кислот). В то же время, концентрация необходимых для образования геля ионов металлов зависит от содержания сухих веществ,

используемого сахара, значения pH продукта, а также от вида и количества буферных солей в продукте.

В данной части работы представлены некоторые результаты изучения процесса желеобразования НМ-пектина в присутствии ионов кальция. В качестве основной характеристики желе было использовано его оседание, измеренное с помощью риджеламетра фирмы «Имсчендж» (Онтарио, Калифорния) и усилий на разрушение, определяемых с использованием анализатора желе фирмы «Марин Клоудз» (Спрингфилд, штат Нью-Джерси).

Сущность метода заключается в том, что анализируемое желе варят до достижения желаемой массы, переносят в специальный цилиндр и выдерживают при 5-7°C в течении 20-22 часов, срезают стандартную высоту, переносят в чашку Петри, измеряют оседание желе риджеламетром и, используя калибровочный график, оценивают величину оседания желе в миллиметрах. Сразу же после измерения оседания желе разрезают крест-накрест на кусочки толщиной 10 мм и измеряют усилие на разрушение с помощью анализатора желе.

В качестве сравнения брали смеси желатинизированного лимона десертного, приготовленные в соответствии с действующей инструкцией по их использованию. Такое желе характеризовалось средним оседанием в порядке 12,5 мм и средним разрушающим усилием 95 г при 11°C.

Для приготовления желе нами был использован НМ-пектин, полученный из корзинок подсолнечника и очищенный от ионов кальция. На свойства полученных желе существенное влияние оказывают температура садки, концентрация пектина, продолжительность варки, pH среды и содержание ионов кальция.

**Влияние температуры.** Желе, приготовленное на основе НМ-пектина, размягчается по мере увеличения температуры (рис.10).

Расчет корреляции полученных прямых линий показал, что при каждом повышении или понижении температуры на 1°C от сингулярной точки 14°C отклонения оседание составляло  $\pm 0,25$ , а разрушающее усилие  $\pm 3,3$ , в интервале измеряемых температур от 9 до 17 °C.

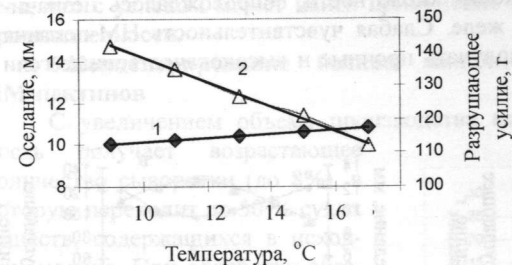


Рис. 10. Влияние температуры на оседание (1) и на разрушающее усилие (2) пектинового геля.

### Влияние концентрации пектина.

При постоянном содержании ионов кальция и общего содержания сухих веществ, увеличение концентрации пектина вызывает затвердевание и укрепление структуры желе (рис.11), скорее всего, за счет наличия большого количества свободных карбоксильных групп, способных к образованию межмолекулярных водородных связей и рациональному распределению ионов кальция в матрице полимера.



Рис. 11. Влияние концентрации НМ-пектина на его оседание (а) и разрушающее усилие (в).

### Влияние времени варки.

На рис.12 видно, что с увеличением времени варки оседание желе возрастает, а разрушающее усилие несколько снижается. Вероятно, увеличение времени варки вызывает деполимеризацию пектина, сопровождаемую ослаблением структуры желе.

**Влияние pH.** Рис.13 показывает, что максимальное разрушающее усилие наблюдается в широком диапазоне pH = 3,5 - 4,2, а минимальное оседание при pH = 3,5 - 4,0.

Следует отметить, что изменение указанной величины pH среды в сторону, как повышения, так и понижения кислотности, сопровождалось незначительным снижением прочности желе. Слабая чувствительность НМ-пектина подсолнечника к pH, позволяет получать прочные и высококачественные гели широкого применения.



Рис. 12. Влияние времени варки на оседание (а) и разрушающее усилие (в)

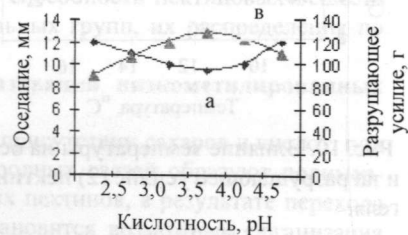


Рис. 13. Влияние кислотности на оседание (а) и разрушающее усилие (в)

**Влияние ионов кальция.** Для изучения влияние ионов кальция на структурообразование в системе НМ-пектин содержащего 30% сахара, использовали метод определения прочности желе по Тарр-Бейкеру, на примере НМ-пектинов полученных из яблок и подсолнечника. Видно (рис.14), что приведенная зависимость носит экстремальный характер с максимальным соотношением НМ-пектина и ионов кальция, равным 25-30 мг для яблочного и 30-40 мг для подсолнечного пектина на грамм полимера.

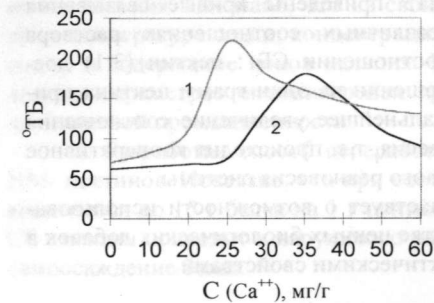


Рис. 14. Зависимость прочности желе (°ТБ) НМ-пектина яблок (1) и подсолнечника (2) от количества ионов кальция.

Таким образом, полученный нами НМ-пектин из корзинок подсолнечника под действием хлорида натрия, в отличие от полученных путем деэтерификации или действием хелатных агентов, обладает широким диапазоном pH желеобразования и отличается, при прочих равных условиях, высокой прочностью геля, что с успехом может найти применение в различных областях пищевой промышленности.

### 6. Концентрирование белков молочной сыворотки с помощью НМ-пектинов

С увеличением объема производства молочных изделий, промышленность получает возрастающее количество сыворотки (до 8%), в которую переходит до 50 % сухих веществ, содержащихся в исходном молоке. При обработке обезжиренного молока пектином может происходить разделение на концентрат натурального казеина и безказеиновую часть. Обе фракции могут быть использованы в производстве пищевых продуктов.

С этой целью, нами изучены процессы связывания и осажде-

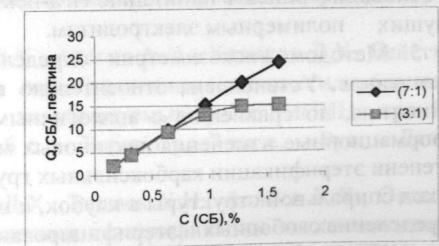


Рис. 15. Зависимость концентрации СВ в исходном растворе от количества связанных СВ на грамм пектина при различных соотношениях сыворотка : пектин.

ния сывороточных белков НМ-пектином яблок.

Для определения влияния количества вводимого полимера в сыворотку с  $\text{pH} = 7,5$  добавляли водный 0,5% -ный раствор пектина в соотношении сыворотка : пектин (1:1--10:1). На рис.15 приведены кривые связывания сывороточных белков пектином при различных соотношениях раствора сыворотки и пектина. Видно, что при соотношении СБ : пектин (3:1) достигается равновесие, т.е. при таком соотношении на один грамм пектина приходится более чем 15г белка. Однако, дальнейшее увеличение соотношения СБ : пектин приводит к нарушению равновесия, т.е. происходит кооперативное самоосаждение белка при изменении фазового равновесия системы.

Проведенное исследование свидетельствует о возможности использования пектина и молочной сыворотки в качестве ценных биологических добавок в пищу, обладающих защитными и профилактическими свойствами.

### ВЫВОДЫ

1. Изучены кинетика реакции дестерификации сложноэфирной группы и механизм реакции гидролиза этерифицированных групп цитрусового пектина методом ИК-спектроскопии. Обнаружено, что при реакции омыления происходит резкое снижение степени этерификации карбоксильных групп пектина, связанное с влиянием соседних групп на ход реакции и структурными изменениями пектиновых макромолекул, в результате конформационного перехода цепи из формы жесткого цилиндра в клубок.

2. Исследованы полиэлектролитические свойства НМ-пектина в разбавленных растворах. На основании данных потенциометрического титрования рассчитаны рК и электролитическая составляющая свободной энергии. При ионизации макромолекул НМ-пектина происходят значительные конформационные изменения, обусловленные не только воздействием одноименных зарядов, но и разрушением или перераспределением водородных связей, что дает основание описать ионизацию НМ-пектинов с помощью закономерностей, присущих полимерным электролитам.

3. Методом вискозиметрии определены гидродинамические свойства НМ-пектинов. Установлена относительно высокая жесткость макромолекулы НМ-пектина, по сравнению с аналогичными полисахаридами. Показано, что конформационные изменения пектиновых макромолекул существенно зависят от степени этерификации карбоксильных групп: с уменьшением СЭ происходит переход спиральной структуры в клубок, и на ход процесса существенно влияет распределение свободных и этерифицированных групп.

4. Изучена гелеобразующая способность НМ-пектина и показано, что в присутствии поливалентных металлов, кроме кальция, происходят внутримолекулярные конформационные изменения, приводящие к компактизации полимерного клубка. В присутствии ионов кальция, в зависимости от его концентрации и концентрации полимера, происходят конформационные изменения,

с образованием полимерных агрегатов вплоть до фазового разделения высоко набухшего геля.

5. Изучена желеобразующая способность НМ-пектинов в присутствии ионов кальция. Показано, что на свойства желе существенное влияние оказывают температура садки, концентрация пектина, продолжительность варки,  $\text{pH}$  среды и содержание ионов кальция. При исследовании воздействия перечисленных параметров оптимизирован процесс получения высокопрочных гелей для пищевой промышленности.

6. Разработан способ переработки сыворотки молока с использованием НМ-пектинов. Показано, что при соотношении сыворотки и НМ-пектина (3:1) выделяется до 15 г белка на 1 г пектина. Дальнейшее увеличение соотношения СБ : пектин приводит к нарушению равновесия, т.е. происходит кооперативное самоосаждение белка.

### СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Тешаев Х.И., Мухиддинов З.К., Авлоев Х.Х., Халиков Д.Х. Гелеобразование низкометилированного пектина в присутствии ионов поливалентных металлов // Докл. АН РТ.—Душанбе, 2002.- Т. XLV.- № 1-2. - С. 72-78.
2. Халиков Д.Х., Авлоев Х.Х., Горшкова Р.М., Мухиддинов З.К., Тешаев Х. Влияние фонового электролита на гидролиз протопектина подсолнечника // Химия природных соединений. - 2002. - № 2.- С.118-120.
3. Mukhiddinov Z.K., Ovsepian A.M., Panov V.P., Teshaeв Kh. I., Avloev Kh.Kh., Khalikov D. Kh. Investigation of alkaline de-esterification of pectin by infrared spectroscopy in solution // 5th International Symposium on the Chemistry of Natural Compounds, May 20-23, 2003. - Tashkent, 2003. - P. 233.
4. Teshaeв Kh. I., Mukhiddinov Z.K., Avloev Kh.Kh., Khalikov D. Kh.. Role of polyvalent metals ions in structural formation of low methoxyl pectin gels // 5th International Symposium on the Chemistry of Natural Compounds, May 20-23, 2003. - Tashkent, 2003. - P. 246.
5. Тешаев Х.И., Мухиддинов З.К., Авлоев Х.Х., Халиков Д.Х. Действие ионов поливалентных металлов на гелеобразование низкометилированного пектина. – Реферативный сборник неопубликуемых работ НПИЦентра РТ. – Выпуск 01.2004. № 11 (1632). – 6 с., - Библиогр.: 7 назв. – Рус. – Деп. в НПИЦентре 14.04.2004 г.
6. Мухиддинов З.К., Халиков Д.Х., Тешаев Х.И., Авлоев Х.Х., Овсепян А.М., Панов В. П. Особенности кинетики дестерификации высокометилированного пектина. – Реферативный сборник неопубликуемых работ НПИЦентра РТ. – Выпуск 01.2004. № 13 (1634). – 3 с., - Библиогр.: 3 назв. – Рус. – Деп. в НПИЦентре 14.04.2004 г.