

На правах рукописи



ДЖОНМУРОДОВ АБДУВАЛИ САЛОМОВИЧ

**ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ И СТРУКТУРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ
ПЕКТИНОВЫХ ПОЛИСАХАРИДОВ ИЗ НЕТРАДИЦИОННЫХ
СЫРЬЕВЫХ ИСТОЧНИКОВ**

02.00.04 – физическая химия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Душанбе – 2016

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

Научный руководитель: **Мухидинов Зайниддин Камарович**
доктор химических наук, профессор

Официальные оппоненты: **Раджабов Умарали**
доктор химических наук, доцент, зав. кафедры фармацевтической и токсикологической химии Таджикского государственного медицинского университета им. Абуали ибни Сино

Тошов Азамджон Фозилович
кандидат химических наук, доцент кафедры общей и неорганической химии Таджикского государственного педагогического университета имени С. Айни

Ведущая организация: Таджикский национальный университет, кафедра физической и коллоидной химии

Защита диссертации состоится «___» _____ 2016 г. в 10.00 часов на заседании диссертационного совета Д 047.003.02 при Институте химии им. В.И. Никитина АН РТ по адресу: 734063, Душанбе, ул. Айни, 299/2.

E-mail: gulchera@list.ru

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Института химии им. В.И. Никитина Академии наук Республики Таджикистан по адресу: 734063, г. Душанбе, ул. Айни, 299/2 и на сайте Института химии им. В.И. Никитина АН Республики Таджикистан www.chemistry.tj

Автореферат разослан: «___» _____ 2016 г.

Ученый секретарь диссертационного совета, доктор химических наук, профессор



Абулхаев В.Д.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность работы. Эффективное использование вторичных ресурсов в народном хозяйстве представляет собой экономию материального сырья, способствует устойчивому развитию страны в условиях глобального кризиса. Одним из перспективных направлений использования вторичных продуктов, перерабатывающих предприятий, является получение биополимеров (полисахаридов и белков), так как, несмотря на рост абсолютной величины образующего сырья, недостаток в функциональных продуктах на их основе, весьма ощутим в пищевой, медицинской, парфюмерной и других отраслях промышленности.

Республика Таджикистан является страной с огромным потенциалом возобновляемых сырьевых ресурсов, из которых можно получить не только пектиновые полисахариды (ПП), но и другие растительные продукты профилактического назначения. Учитывая огромный сырьевой потенциал, а также ежегодно возрастающую потребность населения в функциональных пищевых продуктах, разработка универсальных технологий для получения полисахаридов является крайне актуальной.

В то же время имеется ряд нетрадиционных сырьевых баз для получения ПП, среди которых можно отметить корзинки подсолнечника и плоды тыквы, которые требуют определённый подход при их получении и обращении. Наличие перечисленных сырьевых баз, имеющих в себе готовые низкометилованные (НМ-) пектины, способствуют упрощению технологии получения этого типа пектина, который нашел потенциальный рынок в медицине, фармацевтической и пищевой промышленности.

Внедрение инновационных технологий, позволяющих производить пектин из вторичных отходов с низкой себестоимостью, является важнейшим направлением развития современной промышленности. В связи с этим актуальной проблемой представляется постановка исследования в области инновационных методов получения пектина из различных источников с определёнными физико-химическими характеристиками.

В этом плане пектиновые полисахариды или на языке пищевиков «пектин», в отличие от других структурообразователей, проявляют различные свойства в зависимости от способа источника получения, выделения и очистки, от состава и структуры основной цепи, а также от формы и свойств отдельных макромолекул в растворе. ПП самые сложные по структуре биополимеры клеточных стенок растений, поэтому для каждого типа пектина необходим подбор соответствующих условий при изготовлении пищевых или фармацевтических продуктов. Кроме того, некоторое аномальное поведение этих биополимеров, изменение конформации и тенденция макромолекулы ПП к агрегации, отрицательно сказывается на их потребительских свойствах.

Следовательно, знание физико-химических свойств и гидродинамическое поведение этих биополимеров существенно облегчает контроль технологических параметров производства и осуществление важных функциональных свойств этих биополимеров.

Цель и задачи работы. Целью работы являлось изучение физико-химических, гидродинамических, структурных и функциональных свойств ПП, полученных селективным способом из различных источников сырья Республики Таджикистан.

В соответствии с поставленной целью были решены следующие задачи:

- ✓ исследован процесс гидролиза экстракции ПП из плодов тыквы при высокой температуре и давлении в автоклаве (флэш-способ);
- ✓ исследован процесс гидролиза экстракции ПП из корзинок подсолнечника последовательной обработкой растительного сырья;
- ✓ изучены физико-химические показатели и молекулярные характеристики ПП, полученные из местного растительного сырья;
- ✓ выявлена эффективность диаультраfiltrационной очистки на физико-химические и гидродинамические свойства ПП;
- ✓ исследовано строение полученных фракций пектинов;
- ✓ изучены потребительские свойства полученных пектинов.

Научная новизна работы.

- Исследована применимость новой и эффективной технологии получения пектина при высокой температуре и давлении (флэш-способ) за короткий период гидролиза для различного вида сырья.
- ПП были селективно экстрагированы из корзинок подсолнечника различными реагентами, проведён детальный анализ физико-химических и гидродинамических свойств, показано, что эти фракции мономодальные по молекулярно-массовому распределению (ММР) отличаются как по составу, так и по конформации макромолекул.
- Исследованы структурные особенности ПП из корзинок подсолнечника и плодов тыквы с использованием ИК-Фурье спектроскопии, ^1H -, ^{13}C - и двумерной gHSQC ЯМР-спектроскопии. Показано, что ПП из данных источников представляют гетерополимер образованный минимум из 5 сахарных остатков. Во фракциях обнаружено наличие 4 вариантов структуры, где карбоксильные группы окружены различными группами.
- Отличие значений молекулярных масс (M_w), полученных методом эксклюзионной жидкостной хроматографии (ЭЖХ), с использованием многоугольного лазерного светорассеивания (МУЛС) и вискозиметрического детектора, указывают на тенденцию пектинов к агрегации, что может отрицательно сказываться на потребительских свойствах пектиновых полисахаридов.

Теоретическая и практическая значимость работы.

Путем систематического анализа физико-химических и гидродинамических свойств ПП, полученных новыми способами гидролиз-экстракции, найдена взаимосвязь молекулярно-массового распределения макромолекул, их гетерогенность структуры, ассоциация и формы макромолекул с функциональными свойствами. Использование инновационного метода, флэш-гидролиза, по сравнению с традиционными способами позволяет проводить гидролиз-экстракцию любого сырья, избегая длительного контактирования с высокой температурой и агрессивной средой, не изменяя при этом технологические параметры процесса, что дает возможность сократить энергоёмкие и дорогостоящие процессы в производстве пектина. Предлагаемый способ позволяет получать пектин с оптимальными параметрами по молекулярной массе, содержанию основного компонента, что делает возможным его широкое применение в различных областях пищевой и фармацевтической промышленности.

Применение процесса диализа ультрафильтрации (ДУФ) в производстве пектина, с применением селективных мембран, также приводит к увеличению молекулярной массы, уменьшению полидисперсности образцов и повышению чистоты конечного продукта, что способствует внедрению при производстве пектина энергосберегающего технологического процесса для получения целевого продукта, отвечающего требуемым качествам и экологической безопасности производства.

Систематический анализ z-среднего молекулярного веса ПП позволило рекомендовать внедрение нового параметра при оценке качества студней - отношение M_z/M_w , указывающего на степень агрегации молекул, препятствующей формированию студней независимо от природы пектина.

Объектами исследования данной работы являлись пектиновые полисахариды, полученные селективным способом из нетрадиционных источников сырья, а именно корзинок подсолнечника и плодов тыквы.

Методология и методы исследования. Для получения ПП в работе использовали метод быстрой гидролиз-экстракции пектина в автоклаве под давлением за короткий промежуток времени (далее флэш-метод). Содержание урсонных кислот определяли с помощью мета-гидроксидифенильного метода спектрофотометрически по калибровочному графику (на спектрофотометре UV 1 Thermo Spectronic, UK) при 525 нм. ИК-Фурье спектры были записаны с использованием прибора Spectrum 65 FT-IR (Perkin Elmer, Швейцария). Молекулярную массу пектинов определяли с использованием эксклюзионного жидкостного хроматографа (ЭЖХ). Значения M_w , M_w/M_n и гидродинамический радиус

очищенных образцов ПП также были определены с помощью ЭЖХ системы в сочетании с детектором многоугольного лазерного светорассеивания (МУЛС, HELEOS II, Wyatt Technology Corp., Santa Barbara, CA, США), УФ (UV, Wyatt Technology), вискозиметрического (Viscostar II, Wyatt Technology) и рефрактометрического (REX, Wyatt Technology) детекторов. Для анализа структуры методом ЯМР-спектроскопии были использованы фракции ПП из корзинок подсолнечника и плодов тыквы. ЯМР спектры были сняты на приборе 14 Tesla Agilent VNMRS NMR spectrometer (Santa Clara, CA, США). Наряду с методом осаждения для получения и очистки ПП был использован метод диа- и ультрафильтрации с помощью мембраны УПМ-100 на лабораторной ячейке при давлении 0.16 МПа, с последующей лиофилизацией очищенных растворов пектиновых веществ. ДУФ осуществлялась на лабораторной системе KrosFlow (США), а также на полупромышленной установке на двух модулях из полых волоконных мембран: полисульфоновой АР-ПС 100-2.5 (Институт физико-органической химии Белорусской Академии Наук, Минск, Белоруссия) и полиамидной ВПУ 100-2.0 (Предприятие Химволокно, г. Мытищи, РФ).

Достоверность полученных результатов работы обеспечена использованием современного оборудования с программным обеспечением и статистическим анализом при проведении экспериментов, согласованностью выводов, полученных с помощью различных методов исследования и с положениями физической химии.

Апробация работы. Основные результаты работы доложены на международной научно - практической конференции XII Нумановских чтениях «Состояние и перспективы развития органической химии в Республике Таджикистан» (г. Душанбе, 2015 г.); международной научно - практической конференции, посвященной 1150-летию персидско - таджикского учёного А. Рази (г. Душанбе, 2015 г.); 15th IUPAC International Symposium Macromolecular Complexes (Greenville, USA, 2013); 18th Gums & Stabilisers for the Food Industry Conference (Wrexham, UK, 2015); международной научной конференции «Инновационные технологии комплексной переработки природных богатств Туркменистана» (г. Ашгабат, 2012 г.); Materiály VII mezinárodní vědecko - praktická conference «Vědecký pokrok na přelomu tisyachalety - 2011» (Praha, 2011); 14th International Symposium on Macromolecular Complexes (Helsinki, 2011); Пятой Всероссийской Каргинской конференции «Полимеры-2010» (г. Москва, 2010 г.).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 5 статей в рецензируемых научных журналах, входящих в перечень ВАК РФ, 8 тезиса докладов на международных конференциях.

Личный вклад автора. Вклад автора состоит в сборе литературных источников, подготовке и проведении экспериментов, обработке экспериментальных данных и анализе полученных результатов.

Объём и структура работы. Диссертация представляет собой рукопись, изложенную на 124 страницах компьютерного набора, состоит из введения и 3 глав, посвященных обзору литературы, экспериментальной части, результатам исследований и их обсуждению, выводам. Работа иллюстрирована 22 рисунками и 19 таблицами. Список использованной литературы включает 170 наименований.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во **введении** приводится актуальность данной диссертационной работы, обоснована его новизна, показана практическая и фундаментальная значимость выносимых на защиту результатов.

В **главе 1** (литературный обзор) представлен развернутый анализ публикаций по теме диссертации. Анализ литературных данных свидетельствует о том, что физико-химические свойства ПП обусловлены сырьем, из которого они образованы в клеточной стенке растений, так как различные фрукты, овощи, лекарственные растения содержат, кроме них, также и другие им присущие компоненты. Из-за многостадийности технологического процесса, в зависимости от вида растительных источников и использование разных химических

реагентов, традиционные методы получения ПП не удовлетворяют потребности в высококачественных продуктах. Разработка методов гидролиз-экстракции ПП из местных сырьевых ресурсов, способов их очистки и концентрирования из раствора гидролизата с применением энергосберегающих технологий, исключающих применение химических реагентов и не нарушающих нативную структуру и свойства молекул пектина является актуальной.

Глава 2 - экспериментальная часть, описаны объекты исследования, методы получения, очистки и анализа пектиновых полисахаридов.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

3.1. Влияние технологических параметров инновационного метода на структуру, физико-химические и гидродинамические свойства пектиновых полисахаридов различного происхождения

3.1.1. Флэш-метод гидролиза пектинов различного происхождения

В соответствии с патентованным методом, сырье, содержащее пектин подаётся в автоклав при требуемой температуре 110-140⁰ С и давлении 1.2-1.5 атм. Гидролиз-экстракция пектина проводится в течение 3-10 минут при низких значениях pH раствора. Для сравнения качества ПП гидролиз-экстракцию проводили также традиционным методом, соответственно для каждого вида сырья.

В табл. 1. представлены численные значения выхода фракций из различного сырья, в зависимости от способа проведения гидролиз – экстракции. В качестве сырья использовали выжимки яблок красных сортов из Муминобадского (ЯМ) и Файзабадского районов (ЯФ), айвы (Ай), абрикосов (Аб), персиков (Пр), лимонных корок (ЛК), стебли и листья ревеня (Рв), плоды тыквы (Ткв) и корзинки подсолнечника (КрП). Суммарное содержание микрогеля (МГ), пектинового вещества (ПВ) и олигосахаридов (ОС) для каждой фиксированной продолжительности реакции гидролиз-экстракции составляет содержание ПП, распадающихся за этот период времени.

Таблица 1. Выход фракций ПП растительного сырья в зависимости от метода получения

Выход фракций ПП, %						
Сырье	МГ		ПВ		ОС	
	ТМ	флэш	ТМ	Флэш	ТМ	флэш
ЯМ	3.60	2.60	4.25	23.60	24.65	28.00
ЯФ	2.00	2.26	22.00	22.37	20.60	31.87
Ай	1.40	4.50	11.40	12.40	25.90	56.50
Аб	1.22	3.76	4.86	7.05	37.92	69.19
ЛК	2.00	2.06	19.00	20.06	23.80	45.84
Рв	1.11	3.18	12.36	17.50	35.03	29.32
Пр	0.86	4.28	6.49	7.20	37.85	43.36
Ткв	1.19	8.68	2.24	3.77	73.71	76.92
КрП	4.30	8.20	10.20	24.68	13.40	7.50

Для всех видов сырья, суммарный распад полисахаридного матрикса (ПМ) при флэш-гидролизе значительно превышает аналогичный показатель, полученный традиционным методом (ТМ). Численные значения выходов ПВ и ОС существенно возрастают при применении метода быстрой экстракции, за исключением ревеня скального (табл. 1). Для данного вида сырья характерен более высокий выход ОС при традиционном методе. В то же время, выход ПВ из стеблей и листьев ревеня скального выше при флэш-методе. При этом, суммарный распад ПП остается практически неизменным как при традиционном методе, так и при флэш - методе. Применение данного метода позволило сократить продолжительность

процесса гидролиз-экстракции до нескольких минут и оптимизировать значение выхода продуктов распада протопектина растительного сырья.

3.1.2. Физико-химические и гидродинамические свойства ПП различного происхождения

Содержание галактуроновой кислоты (ГК), степени этерификации (СЭ) и молекулярной массы (M_w) - важнейшие факторы, определяющие качество ПП, поэтому их регулированию должно быть уделено особое внимание. Воздействие высокой температуры и давления часто приводят к снижению молекулярной массы, но применение флэш-метода за короткое время, напротив, несколько увеличивает данный параметр, по сравнению с аналогичными ПВ, полученными при помощи традиционного метода, практически не оказывая при этом влияния на значения СЭ (табл. 2).

Таблица 2. Содержание звеньев галактуроновой кислоты и степень этерификации ПВ в зависимости от метода получения

Сырье	ГК, %		СЭ, %	
	ТМ	Флэш	ТМ	Флэш
ЯВ М	70.00	70,00	52,00	52.17
ЯВ Ф	49.80	50.40	71.59	68.60
Ай	66.00	67.20	58.24	57.14
Аб	66.00	67.20	54.65	52.87
ЛК	72.24	74.40	76.74	74.42
Пр	65.28	66,00	94.94	94.87
Ткв	64.80	71.50	48.71	46.79
КрП	74,00	76,00	26.60	32,00

Пектиновые образцы, полученные, из выжимок яблока Муминабадского района Республики Таджикистан (ЯМ), плодов абрикоса (Аб) и тыквы (Ткв), флэш-методом устойчивы к повышенной температуре, отличаются большим значением молекулярной массы по сравнению с аналогичными образцами, полученные традиционным методом. В данных пектинах наблюдаются аномалии, связанные с агрегацией макромолекул с формированием микрогелей. Как видно, чем больше M_z у пектина, тем больше его молекулы подвержены агрегации, за исключением пектиновых веществ, полученных из лимонных корок (ПВ ЛК). Данный факт объясняется особенностями структуры молекулы пектина. Молекулярная масса ПВ, показатель полидисперсности (M_w/M_n), содержание агрегированной фракции (АФ) в ПВ представлены в табл. 3.

Таблица 3. Сравнительные молекулярные характеристики ПП разного происхождения, полученные ТМ и флэш-методом гидролиза

Сырье	$M_w \cdot e^{-3}$, КД		M_w/M_n		$M_z \cdot e^{-3}$, КД		МГ, %	
	ТМ	Флэш	М	Флэш	М	Флэш	ТМ	Флэш
ЯМ	134.00	309.40	3.80	9.50	1133	4473	23.50	20.00
ЯФ	120.00	92.50	5.60	4.50	4743	1558	36.50	18.50
Ай	176.00	112.40	4.35	2.80	7309	613	25.00	8.50
АбВ	114.50	718.00	4.70	10.90	755	12500	18.50	8.50
ЛК	107.80	82.29	2.89	9.31	267	387	18.50	16.00
Рв	268.00	114.00	4.80	2.30	1479	338	26.50	49.00
Пр	243.80	65.50	6.30	3.07	2103	145	14.50	23.00
Ткв	673.90	999.70	1.93	2.74	2069	4112	17.70	40.00
КрП	142.40	181.00	3.22	5.00	1793	1374	40.00	33.50

Получение пектиновых полисахаридов при помощи данного метода приводит к значительному увеличению выхода целевых продуктов, положительным образом сказываясь

на качестве пектинов, молекулярной массе и молекулярно-массового распределения (рис.1).

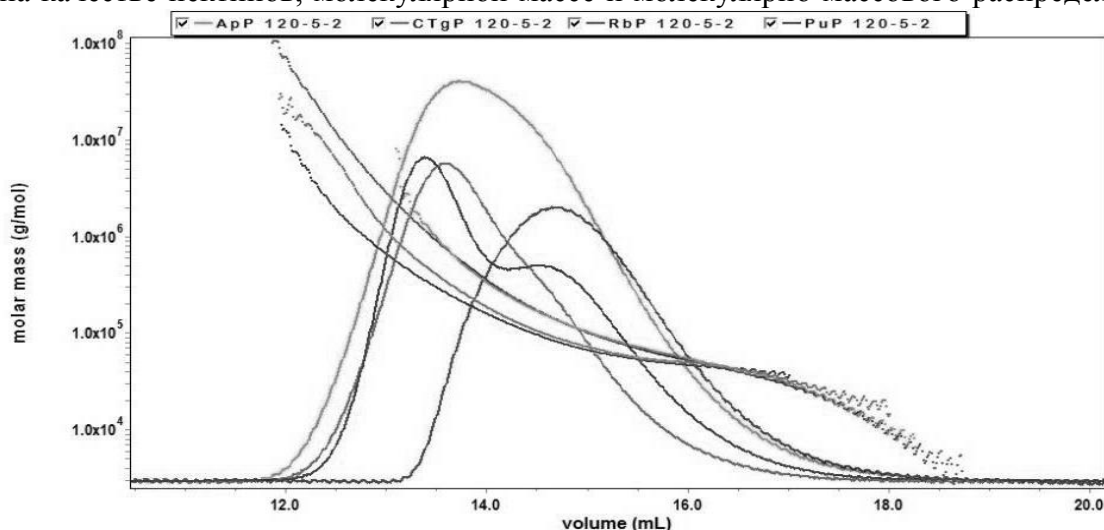


Рисунок 1. Кривые молекулярно-массового распределения пектинов на ЭЖХ с использованием сочетания вискозиметрического и рефрактометрического детекторов, полученных флэш-методом.

Использование инновационного метода позволяет проводить гидролиз–экстракцию любого сырья, избегая длительного контактирования с высокой температурой и агрессивной средой, не изменяя при этом технологических показателей гидролиз–экстракции, что дает возможность сократить энергоемкие и дорогостоящие процессы в производстве пектина. Пектины, полученные в соответствии с параметрами предлагаемого способа, гидролиз–экстрагирование твёрдой фазы в режиме автоклавирувания, обладают высокими значениями молекулярной массы, содержанием галактуроновой кислоты и оптимальной СЭ. Причем полученные пектины имеют узкое распределение по молекулярной массе (низкие коэффициенты полидисперсности) и менее агрегированы (содержат меньше микрогеля).

Кроме гибкости технологической линии, короткий контакт полученных ПП с кислым раствором, разработанная технология позволяет перерабатывать любые виды пектинсодержащего растительного сырья обладает ещё и рядом преимуществ перед существующим уровнем техники по простоте и экологичности производства. Предлагаемый способ позволяет получать пектин с оптимальными параметрами по молекулярной массе, содержанию ГК и СЭ, что делает возможным его применение в различных областях пищевой и фармацевтической промышленности.

3.2. Влияние параметров флэш-гидролиза на физико-химические свойства НМ – пектина из плодов тыквы, полученного флэш-методом

Огромные сырьевые запасы и относительно низкая стоимость сырья дают предпосылки для разработки технологии получения тыквенного пектина. К настоящему времени, к сожалению, состав и свойства полисахаридов этого ценного сырья являются малоизученными. Учитывая вышесказанное, целью данной работы было изучение процесса распада ПМ тыквы, влияния параметров процесса экстракции на выход, основные физико-химические и молекулярно-массовые параметры ПП.

Сравнительные исследования процесса распада ПМ тыквы под воздействием параметров процесса различных методов гидролиза, представлены в табл. 4. Отличительной особенностью плодов тыквы является высокое содержание агрегированного гомогалактуронана (НГ) и олигосахаридов, численное значение выхода которых возрастает при увеличении продолжительности процесса, стабилизируясь при 5 мин. экстракции. Другим показателем, характеризующим ПВ тыквы, является значение степени этерификации (41–52 %), данный пектин можно отнести к НМ-пектинам. При этом способ проведения

гидролиз-экстракции, а также продолжительность процесса мало оказывают влияние на СЭ пектиновых веществ тыквы.

Таблица 4. Значения выхода продуктов распада ПМ (в % по отношению к массе исходного сырья) и физико-химические параметры ПВ тыквы, полученные флэш-методом (120⁰С, t=3-10 мин) и ТМ (85⁰С, t=60 мин)

Темп., °С	t, мин	ПГ, %	ПВ+МГ, %	ОС, %	ПП суммар- ный, %	Остаток КС, %	ГК, %	СЭ, %
85	60	2.29	2.84	32.61	5.13	62.26	64.80	48.71
120	3	7.16	1.77	32.15	8.93	58.92	62.00	52.51
120	5	9.34	4.78	45.00	14.12	40.88	71.50	46.79
120	7	10.05	4.97	63.84	15.02	21.14	70.80	43.35
120	10	10.82	5.98	67.46	16.80	84.26	61.20	41.29

3.2.1. Влияние параметров флэш-гидролиза на структурные характеристики ПП из плодов тыквы

ИК Фурье-спектры были сняты для фракций ПВ, ПГ и МГ в сухом виде на Spectrum 65 FT-IR (Perkin Elmer). ИК-спектроскопия образцов фракций ПП тыквы показала характерные полосы поглощения для гомо- и рамногалактуронанов пектиновых цепей. В спектрах пектинов плодов тыквы в области частот 3600-3000 см⁻¹ наблюдаются полосы поглощения, обусловленные валентными колебаниями гидроксильных групп, в области 2920 см⁻¹ – полоса, соответствующая симметрическим колебаниям С-Н и полоса в области 2850 см⁻¹ соответствует валентным колебаниям С-Н группы (рис. 2).

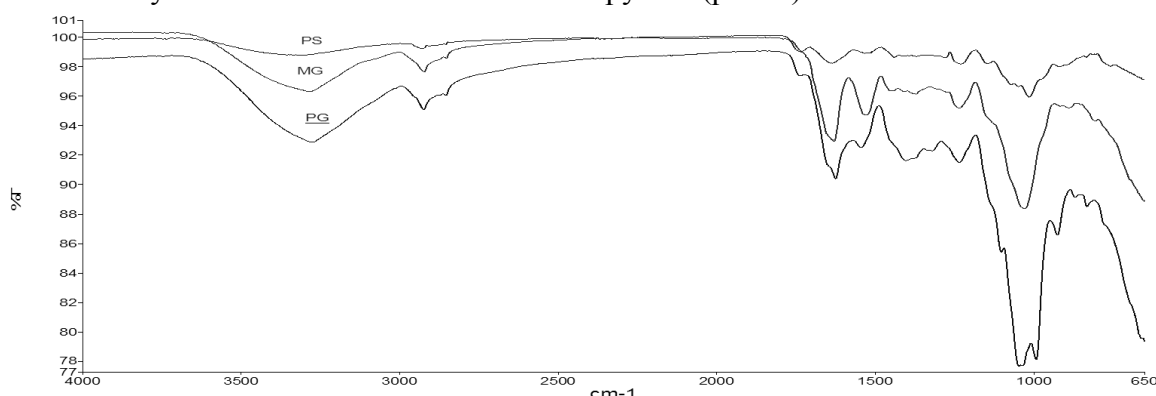


Рисунок 2. ИК-Фурье НПВО спектры пектинового вещества ПВ (PS), микрогеля МГ (MG) и пектинового геля ПГ (PG).

Различия в ИК-спектрах не только для частот колебаний основной цепи макромолекулы HG (С-С колебаний 900-1200 см⁻¹, С-Н симметричные при 2850 см⁻¹ и асимметричные при 2922 см⁻¹ валентных колебаний пиранозного цикла), но и в интенсивности полос поглощения, характерные для карбонильной группы в области 1600-1800 см⁻¹ (рис. 2). Полосы, обнаруженные во всех трех фракциях при 1531 и 1535 см⁻¹ относятся к ароматическим соединениям (возможно, фенольным соединениям). Интенсивность полос поглощения ароматических соединений для МГ была выше, чем для ПГ и ПВ соответственно, что свидетельствует об их доминировании во фракции МГ. Значения СЭ, для нерастворимых фракций ПГ и МГ были рассчитаны из площади пиков метильных групп ИК-Фурье спектров, как показано на рис. 3 и описано в экспериментальной части. Таким образом, найденные значения СЭ для ПГ и МГ с помощью этого метода составляли 2.0 и 9.2 соответственно.

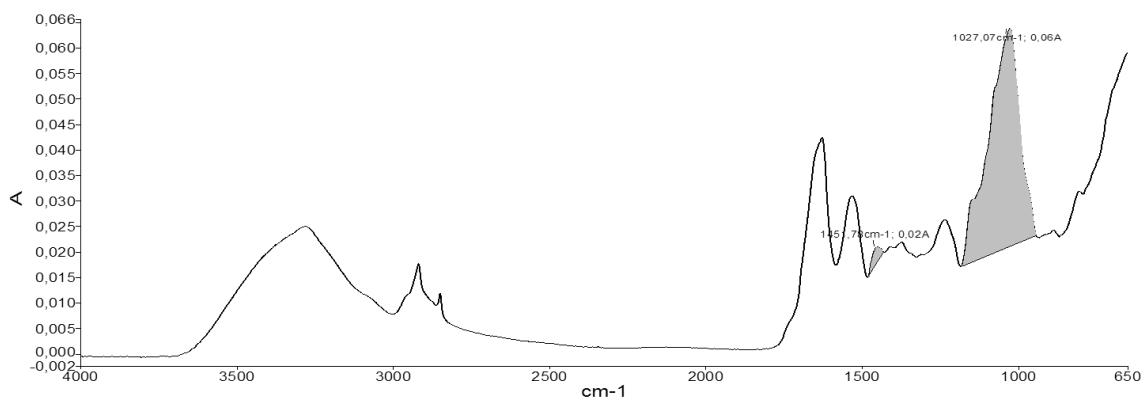


Рисунок 3. Расчет степени этерификации по площади пиков метильных групп при частоте спектров, 1439 см^{-1} и 1015 см^{-1} .

^1H и ^{13}C ЯМР спектры для растворимой фракции ПВ ПП приведены на рис. 4.

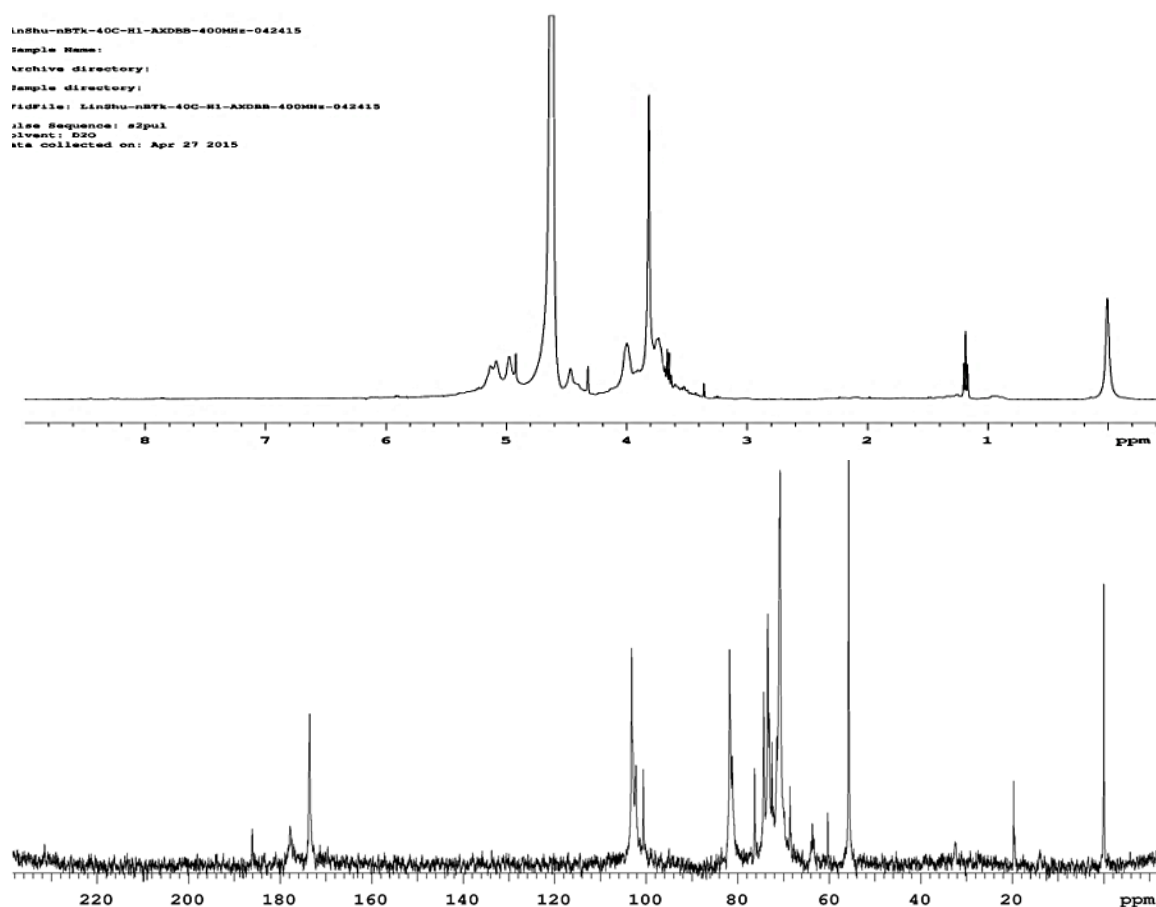


Рисунок 4. ^1H (вверху) и ^{13}C (внизу) ЯМР спектры (снятые при 600 МГц, в D_2O и 40°C) фракции ПВ, выделенных из плодов тыквы.

Резонансы при 101 м.д. и ~ 79 м.д. отнесены к глюкозидным атомам углерода, связей C-1 и C-4, и пики при 67-72 м.д. отнесены к другим атомам углерода пиранозного кольца, соответственно. Пики, обнаруженные при 105.8 м.д., 70.9 м.д. и 19.6 м.д., соответствуют остаткам рамнозы от RG блоков в пектине. Однако, наличие четырех сигналов для аномерных C1, карбонильных групп и слабые сигналы метил/ацетильных групп, представленные в табл. 5, свидетельствуют о существовании как минимум трех блоков НГ в пектине из плодов тыквы, отличающиеся по строению. В табл. 5-7 приведены результаты анализов ^1H , ^{13}C ЯМР и двумерные спектры градиентных гетероядерных протон-углеродных корреляционных спектров (gHSQC) фракции ПП из плодов тыквы.

^1H ЯМР спектры были не особенно высокого разрешения из-за широких пиков, свидетельствуют о наличии сахарных остатков. В образце фракции ПВ обнаружен триплет при 1.18 м.д. в ^1H ЯМР спектре, который отнесен к метильной группе в данном пектине.

Таблица 5. Анализ ^{13}C ЯМР спектров

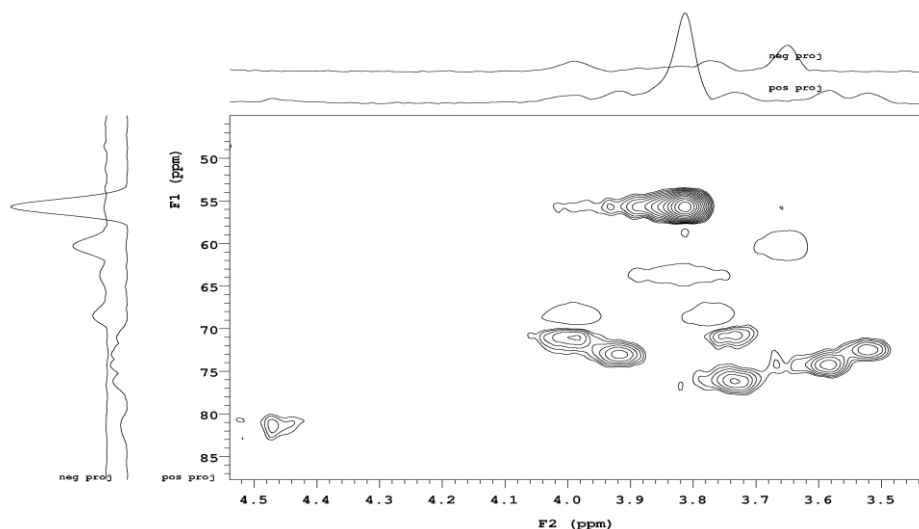
ПП	-CO ₂ H или -CO ₂ -CH ₃		Аномерные атомы углерода		Метильные/ацетиль-ные группы	
	Кол-во пиков	Хим. сдвиги (м.д.)	Кол-во пиков	Хим. сдвиги (м.д.)	Количество пиков	Хим. сдвиги (м.д.)
ПВ	3	173.5, 177.8, 186.1	~ 4	100.6, 102.3, 102.8, 103.2	3	13.9, 19.7, 32.5

Слабые сигналы ацетильных протонов найдены в области 1.5-2.5 м.д. Путём интегрирования интенсивности этих пиков и сравнение их с остальными протонами сахаров (между 3 ~ 6 м.д), относящиеся к CH₂ и C-H группам в ПП можно получить приблизительный процент метильных и ацетильных групп в образце (табл. 6).

Таблица 6. Анализ ^1H ЯМР спектров

	Аномерный протон (за исключением сигнала HOD при 4.5~4.8 м.д.)		Протоны прианозных циклов H (3.0 – 4.4 м.д.)		Ацетильный протон (2.5 ~ 1.5 м.д.)		Метильный протон (0.8 ~ 1.5 м.д.)	
	Кол. набл. пиков	Интегральная площадь	Кол. набл. пиков	Интегральная площадь	Кол. набл. пиков	Интегральная площадь	Кол. набл. пиков	Интегральная площадь
ПВ	>6	29 %	Много пиков	66.7 %	>5	1 %	>6	~3 %

Рисунок 5. Фрагменты градиентных гетероядерных протон-углеродных корреляционных спектров gHSQC (средних полей от 3.5 м.д. до 4.5 м.д. для ЯМР ^1H и ^{13}C при 55 - 85 м.д. соответственно) фракции ПВ тыквы. - CH₂- резонансы легко идентифицированы как отрицательные пики в 2D фрагментах.



Из анализа чувствительных фрагментов спектров gHSQC (рис. 5 и табл. 6) можно получить информацию о доминирующих сахарах, по сигналам -CH₂- группы легко определяются пики в диапазоне ~ 55 - 70 м.д. в ^{13}C как отрицательные и ~ 3.7 – 4.2 м.д. для ^1H ЯМР спектров.

Это свидетельствует о том, что у данной фракции существуют, по крайней мере, 4 различных сахарных остатков, отличающиеся своим окружением. При анализе фрагментов gHSQC в сильных полях ЯМР ^{13}C и ^1H спектров обнаружены резонансы при 1.18 м.д. и сигналы при 19.6 м.д., которые свидетельствуют о наличии остатков L-рамнозы, вовлеченные в RG регионах макромолекулы ПП.

3.2.2. Влияние параметров флэш гидролиза на молекулярную массу и молекулярно-массовое распределение ПП тыквы

Перед определением вышеназванных параметров, образцы были очищены от балластных веществ (БВ) – сопутствующих компонентов клеточной стенки (низкомолекулярных фракций, красителей, жировосковых веществ и т.д.), которые экстрагируются в процессе гидролиз-экстракции и осаждаются вместе с пектиновыми веществами.

На рис. 6 представлены ВЭЖХ хроматограммы водорастворимой фракции ПП тыквы (т.е. ПВ). Каждая кривая представляет фракцию пектина, полученная ТМ и флэш-методом гидролиз-экстракции при различном времени в виде зависимости M_w от объема элюирования. При длительном гидролизе и экстракции ПМ традиционным методом, формируются сложные по структуре ПП, на что указывает количество пиков на хроматограмме.

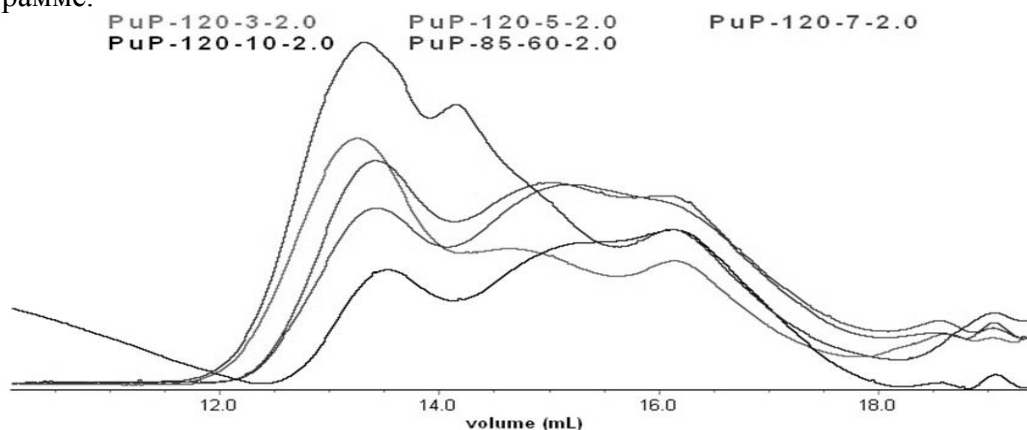


Рисунок 6. Эксклюзионные хроматограммы ПП плодов тыквы (PuP - ТкП), полученные флэш методом гидролиз-экстракции при (ТкП-120-3-2.0) – 3 мин, (ТкП-120-5-2.0) – 5 мин, (ТкП-120-7-2.0) – 7 мин, (ТкП-120-10-2.0) – 10 мин и традиционным методом (ТкП-85-60-2.0) при 85°C , $t=60$ мин.

Для ПП плодов тыквы, независимо от способа получения и продолжительности процесса, характерно бимодальное молекулярно-массовое распределение, причем, если разделить бимодальные пики на две фракции, все образцы монодисперсные ($M_w/M_n=1.10-2.74$) (рис. 6).

ПВ, экстрагированные при высокой температуре и давлении, имеют также высокие значения M_w , M_z и Rh_w , но относительно низкое значение $[\eta]$, что указывает на агрегирующую способность ПВ, подвергнутую высокой температуре. С увеличением продолжительности процесса быстрой экстракции изменение молекулярной массы обеих фракций ПВ тыквы носит экстремальный характер. При этом максимум приходится на 5 минут. Отношение высокомолекулярной к низкомолекулярной фракции в конце процесса достигается 24 и 75 % соответственно, что указывает на процесс деградации ПВ при быстром способе гидролиза, при высокой температуре и давлении.

Анализ полученных данных (табл. 7) показывает, что распад ПП тыквы при различной продолжительности процесса протекает неравномерно. Появление максимумов в кинетике выхода МГ, изменение содержания звеньев ГК, АГ и молекулярно-массовые характеристики в области 5 минут свидетельствуют о том, что до данного времени протекает распад ПМ и экстракция нативных макромолекул протопектина.

Таблица 7. Молекулярно–массовые и гидродинамические характеристики

ПП плодов тыквы

ПП	№ пика	$M_w \cdot e^{-3}$, Да	M_w/M_n	$M_z \cdot e^{-3}$, Да	$[\eta]$, мл/г	$R_h(w)$, nm	b^*	АГ, %
ТкП 85-60	1	673.90	1.93	2069.00	747.0	39.7	0.57	17.70
	2	72.02	1.20	82.99	251.0	13.2		
ТкП 120-3	1	661.00	1.80	1267.00	689.4	39.0	0.61	37.50
	2	65.71	1.15	74.29	162.4	11.2		
ТкП 120-5	1	769.50	3.40	3969.00	375.1	33.1	0.47	40.00
	2	58.58	1.20	69.01	125.8	10.0		
ТкП 120-7	1	622.10	1.86	1317.00	471.8	33.4	0.56	21.60
	2	62.61	1.28	77.84	153.3	10.9		
ТкП 120-10	1	403.50	1.56	619.40	492.4	33.1	0.50	34.95
	2	41.72	1.31	48.64	180.0	10.2		

*Коэффициент, найденный из кривой зависимости гидродинамического радиуса и молекулярной массы, определяющий конформацию макромолекулы в растворе.

Величина коэффициента b , определяющего конформацию макромолекулы в растворе, найденная из наклона кривой зависимости гидродинамического радиуса и молекулярной массы, также имеет высокое значение для ПВ тыквы при любом методе получения, за исключением 5 минутной продолжительности быстрой экстракции. Макромолекулы ПВ, полученные при 5 минутной экстракции, имеют компактную конформацию, ввиду их высокой агрегации, на что указывают высокие значения АГ и M_z . При разделении хроматограмм на два отдельных пика и расчете коэффициента b из конформационных кривых в отдельности, наблюдается четкое разделение ПВ на две фракции с различной конформацией цепи (рис.7). Первая высокомолекулярная фракция имеет конформацию свернутого (сферического) клубка ($b=0.29$), а вторая представлена низкомолекулярными ПВ, имеющими жесткую конформацию цепи в виде линейных стержней ($b=0.94$).

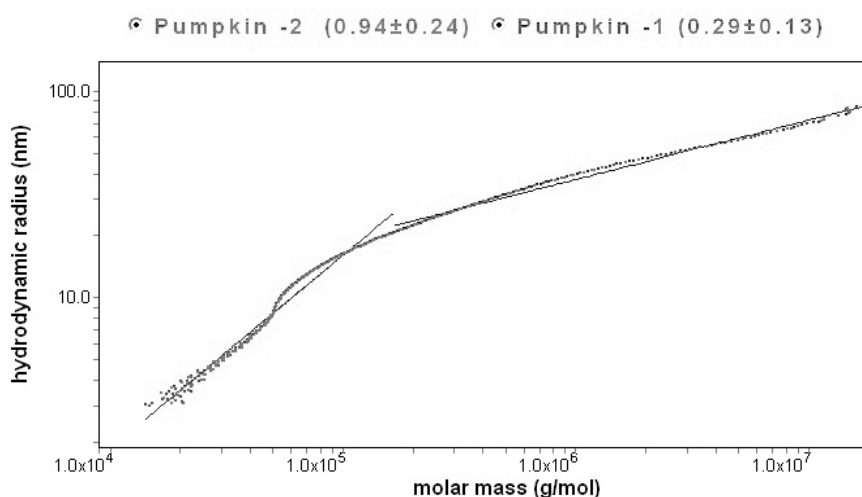


Рисунок 7. Зависимость гидродинамического радиуса от молекулярной массы фракции пектина тыквы, полученные флеш-методом (ТкП-120-5-2.0): первая, высокомолекулярная фракция, в интервале молекулярных масс 120 КД и более, Pumpkin-1 ($b=0.29$) и вторая, низкомолекулярная фракция, в интервале молекулярных масс 40-120 КД, Pumpkin -2 ($b=0.94$).

Полученные результаты демонстрируют перспективность использования плодов тыквы в качестве сырья для получения высокомолекулярных пектиновых полисахаридов. Изучение влияния продолжительности процесса быстрой экстракции на распад ПМ тыквы и параметры компонентов дают дополнительную информацию о строении макромолекулы пектиновых полисахаридов тыквы.

Данная работа демонстрирует уникальную структуру ПП тыквы, состоящей из ПВ, ПГ и МГ фракций, полученные флеш способом гидролиз-экстракцией, на основе результатов ЯМР 1H , ^{13}C и gHSQC спектроскопии, ИК-Фурье спектроскопии и результатов

гидродинамических исследований. На основе совместного анализа результатов данной работы и данными, имеющимися в литературе, можно установить строение основных компонентов ПП, присутствующих в HG и RG-I регионах КС плодов тыквы.

Данные результаты дают новую информацию о структуре и поведении ПП плодов тыквы, что даёт основу для развития технологии получения НМ-пектинов и пектиновых гелей. Показано, что с применением флэш метода, в целом, можно получить до 15-16 % ПП, и ОС, потенциальный источник пребиотиков и функциональных пищевых ингредиентов, необходимых для медицины, пищевой и фармацевтической промышленности.

3.3. Физико-химические свойства и структурные особенности ПП подсолнечника, полученных последовательной экстракцией

3.3.1. Влияние способа экстракции на физико-химические и гидродинамические свойства ПП корзинок подсолнечника

Пектиновые полисахариды в зависимости от вида сырья и способа получения экстрагируются в виде различных полисахаридных фракций, проявляют различные физико-химические и гидродинамические свойства, которые определяют направление их применения. В настоящей работе ПП были фракционно экстрагированы из корзинок подсолнечника различными реагентами для детального анализа структуры, молекулярной массы (M_w), молекулярно-массового распределения и гидродинамических свойств выделенных фракций. Фракции ПП были получены в зависимости от их способности к растворению в различных средах, что привело к значительным отличиям физико-химических свойств и гидродинамического поведения данных биополимеров (табл. 8–10).

Таблица 8. Физико-химические свойства пектиновых фракций, полученные из корзинок подсолнечника

Фракции ПП	Выход фракции ПП, %				ГК, %	СЭ, %
	ПВ	МГ, % от ПВ	ПГ	ОС		
F1 (NaCl) верхняя часть	2.74	12.0	7.37	14.2	65.4	39.2
F1 (NaCl) нижняя часть	3.58	10.2	-	-	75.5	49.5
F2 (H ₂ O)	-	70.0	6.5	21.5	45.8	49.8
F3 (HCl) верхняя часть	1.02	2.2	8.28	6.54	69.2	44.8
F3 (HCl) нижняя часть	-	40.5	-	-	40.1	36.0

Основными показателями качества ПП как биополимеров, кроме содержания основных компонентов ПП ГК и СЭ, является молекулярная масса и ММР. Установлено, что ММР и СЭ пектинов регулируют их чувствительность и активность в комплексообразовании. Молекулярная масса и гидродинамические свойства пектиновых фракций корзинок подсолнечника, полученных методом многоугольного лазерного светорассеивания приведены в табл. 9.

Таблица 9. Молекулярная масса и гидродинамические свойства пектиновых фракций корзинок подсолнечника, полученных методом МУЛС

Фракции ПП	% Rec	M_w/M_n	M_w , КД	$[\eta]$, мл/г	Rgz, нм	Rhz, нм	$\rho=Rg/Rh$	a
F1 (NaCl) нижняя часть	75.7	2.28	777	139.3	54.5	58.3	0.93	0.909
F1 (NaCl) верхняя часть	78.5	2.63	904	119.5	55.9	60.3	0.93	0.794
F2 (H ₂ O)	53.6	1.93	187	518.7	51.2	36.4	1.41	0.898
F3 (HCl) нижняя часть	58.5	2.09	238	509.2	47.9	39.0	1.23	0.695
F3 (HCl) верхняя часть	92.4	2.81	320	451.4	46.6	42.1	1.11	0.617

Анализ ЭЖХ данных позволяет сделать вывод о структуре и конформации выделенных фракций ПП подсолнечника. Для примера на рис. 8 приведены полученные хроматограммы солерастворимой фракции (верхней части) ПП.

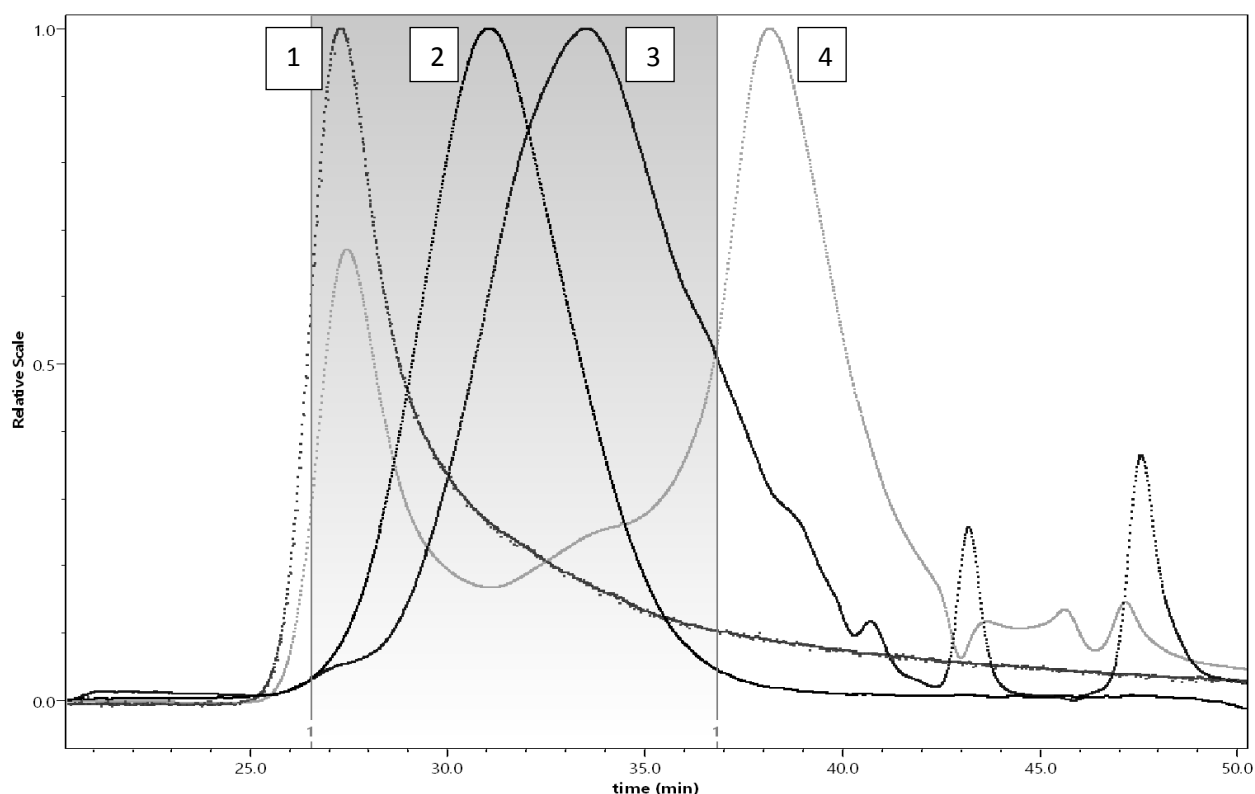


Рисунок 8. Хроматограммы фракции ПП подсолнечника, полученные с помощью солевого раствора. Хроматограммы соответствуют сигналам: МУЛС (1); визкозиметрического (2); рефрактометрического (3) и УФ (4) детекторов.

Хроматограммы были почти одинаковые для нижней части данной фракции. Однако хроматограммы ПП водной и кислотной фракций отличались по сигналу УФ детектора, что говорит о присутствии белка и полифенолов, а также неодинаковых по строению компонентов, составляющих ПП. Относительно высокое значение M_w и низкое значение характеристической вязкости солерастворимых фракций, найденных методом МУЛС, объясняется цепной агрегацией вытянутых макромолекул, что подтверждается найденным значением M_w методом универсальной калибровки с помощью визкозиметрического детектора (табл. 10).

Таблица 10. Молекулярная масса и гидродинамические свойства пектиновых фракций корзинок подсолнечника, полученных методом ЭЖХ с использованием универсальной калибровки

Пектиновые полисахариды	% Rec	M_w/M_n	M_w , КД	$[\eta]$, мл/г	M_z , КД	Rhz, нм	b
F1 (NaCl) верхняя часть	111	1.57	126	104.5	173.1	55.9	0.60
F2 (H ₂ O)	64	3.729	540.6	630.4	3044.0	69.0	0.48
F2 (HCl) верхняя часть	106	4.485	493.0	301.7	2216.0	49.3	0.49

Найденные значения параметра ρ для фракции ПП подсолнечника указывают еще на разветвленность солерастворимой фракции, что также является причиной низкого значения характеристической вязкости и высокой M_w . Таким образом, несмотря на гетерогенность строения ПП подсолнечника, они еще могут отличаться по форме, размеру и степени линейности макромолекул.

3.3.2. Влияние способа экстракции на структурные особенности ПП корзинок подсолнечника

В данной части работы последовательно экстрагированные фракции ПП из корзинок подсолнечника с помощью соли, воды и кислоты были анализированы с использованием ^1H , ^{13}C и двумерной gHSQC ЯМР спектроскопии. Как описано в работе, фракции пектина получали методом последовательной экстракции.

Спектры ^1H , ^{13}C и gHSQC были сняты для пяти фракций ПП подсолнечника. В отличие от ЯМР спектров ПВ тыквы данные спектры были хорошего качества. В рамках данной работы обсуждаются ЯМР спектры и строение только солерастворимой фракции ПП. На рис. 9 приведен ^1H и ^{13}C ЯМР спектры нижней частей солерастворимой фракции пектиновых полисахаридов (F1).

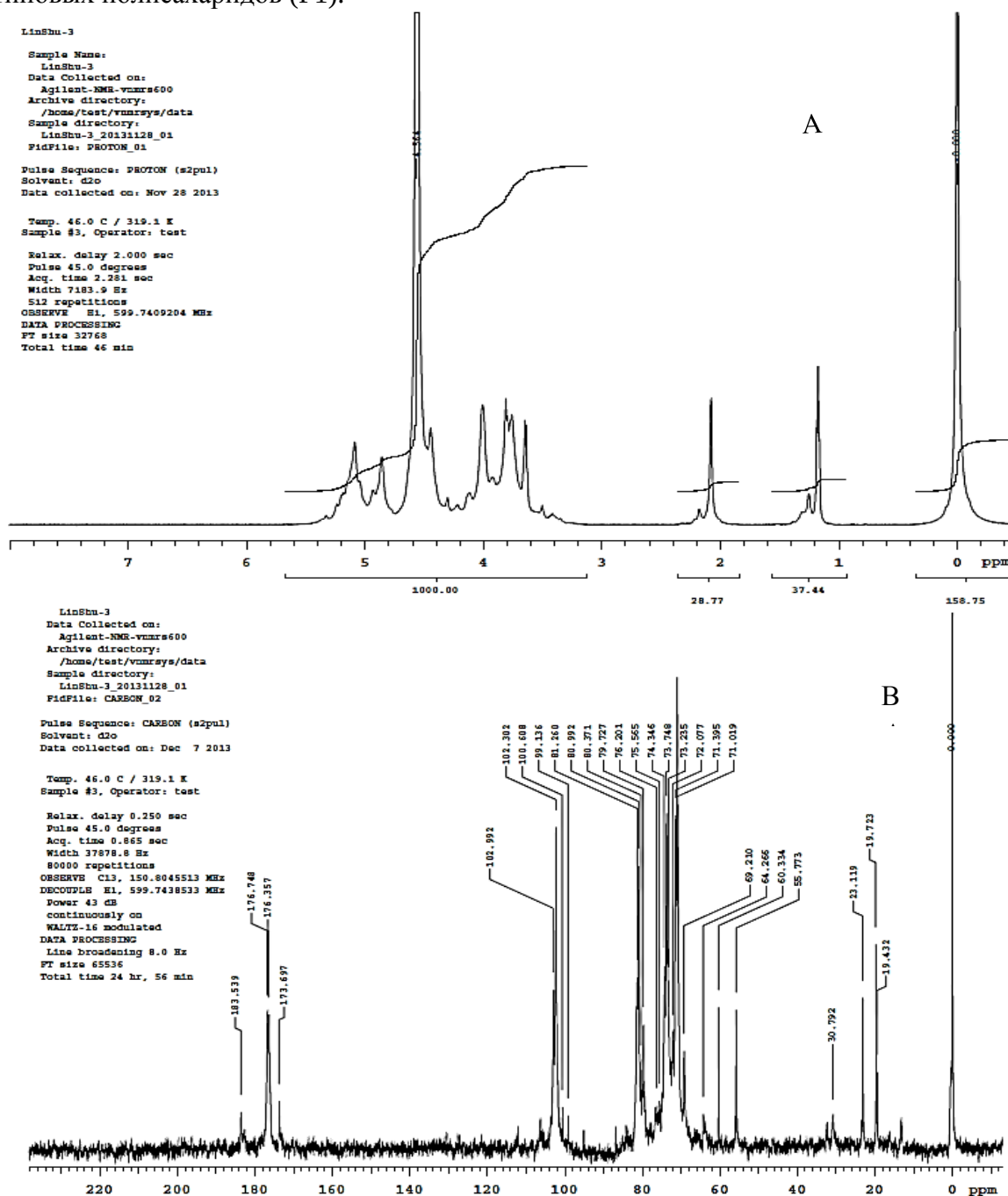


Рисунок 9. Спектры ЯМР ^1H (А) и ^{13}C (В) солерастворимой фракции пектиновых полисахаридов (F1-нижняя фракция).

В спектрах ^1H протонов метильных групп обнаружены сигналы между 1 ~ 1.4 м.д., в то время протоны ацетильных групп проявились при 1.5 ~ 2.5 м.д. Интегрируя

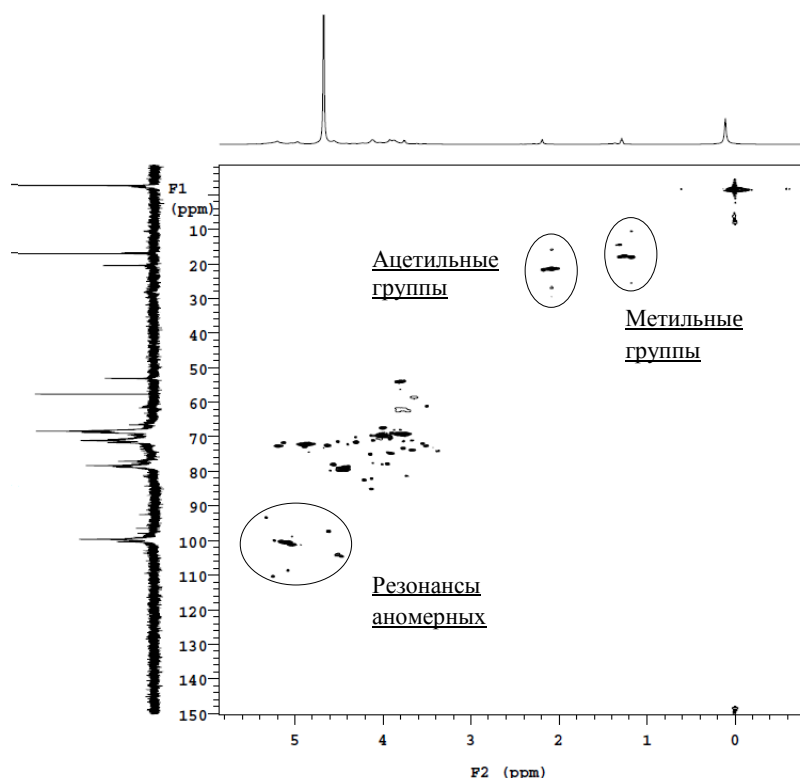
интенсивность сигнала в этих областях и сравнивая с оставшимися протонами сахарных остатков можно определить процентное содержание этих групп во фракциях ПП.

Например, для нижней части фракции, представленной на рис. 9 (А) интегрированная сумма сигналов протонов, кроме метильных и ацетильных групп составляет 1000, а относительная интенсивность метильных и ацетильных групп равна 37.44 и 28.77 соответственно. Так как эти группы имеют по 3 протона, а остальные протоны в сахарных остатках пектина представлены метиновыми группами (С-Н), то при расчётах учтен вклад интенсивности протонов других присутствующих сахарных остатков. Как видно из ^1H и ^{13}C ЯМР спектров они отличаются как по сигналам протонов сахарных остатков, так и сигналам соответствующих углеродных атомов.

Также четко видно, как резонансы карбоксильных групп ПП у данных фракций заметно отличаются (табл. 11).

Таблица 11. Анализ содержания функциональных групп

Фракция ПП	Метильные группы, %	Количество сигналов метильных групп *	Ацетильные группы, %	Количество сигналов ацетильных групп *	Резонансы карбоксильных групп	Количество аномерных атомов в gHSQC*
F1 (NaCl) нижняя часть	1.17	4	0.90	3	173.7 176.4 176.7 183.5	10
F1 (NaCl) верхняя часть	0.91	4	0.91	3	170.5 172.9 173.6 181.0	10



Спектры gHSQC (рис. 10) дают ясную картину наличия аномерных резонансов макромолекул ПП для солерастворимой фракции ПП подсолнечника.

Рисунок 10. Спектры gHSQC нижней части солерастворимой фракции ПП подсолнечника.

Из анализа ЯМР ^1H , ^{13}C и gHSQC спектров солерастворимой фракции ПП становится ясно, что данная фракция представляет гетерополимер, образованный минимум из пяти сахарных остатков, в основе которых лежат цепи галактуриновых кислот, карбоксильные группы, которые этерифицированы метильными и ацетильными группами.

С помощью количественного анализа ЯМР спектров определено процентное содержание этих групп во фракциях пектиновых полисахаридов подсолнечника.

3.4. Мембранная очистка пектинового гидролизата

Одним из сложных и дорогостоящих процессов в производстве пектина является концентрирование и очистка пектиновых экстрактов. В связи с этим возникает задача разработки методов очистки и концентрирования пектиновых растворов с применением энергосберегающих технологий, исключающих применение химических реагентов и не нарушающих нативную структуру и свойства молекул пектина. Метод диаультраfiltrации (ДУФ) объединяет оба процесса в одном цикле, а также позволяет проводить процесс при комнатной температуре, что существенно сокращает энергозатраты при производстве пектина. Основные параметры процесса ДУФ пектиновых растворов полученных из яблок и корзинок подсолнечника при различном режиме гидролиза приведены в табл. 12.

Таблица 12. Основные параметры процесса ДУФ пектиновых растворов, полученных из яблок и подсолнечника при различном режиме гидролиза

Пектин	Исх. конц. раст. пектина, %.	Тип мембраны	Р, атм	Производительность мембраны, л/м ² ч			
				ДУФ 1		ДУФ 2	
				К=1.5	К=4.0	К=1.5	К=4.0
ЯП(Ф)100-7	0.32	ВПУ-100	1.0	31.30	15.79	23.25	13.95
ЯП(Ф)120-7	0.33	ВПУ-100	0.9	17.47	8.69	13.09	8.53
ЯП(Ф)130-5	0.18	АРПС-100	0.9	22.50	13.91	20.00	15.15
КП120-7	0.32	АРПС-100	1.0	45.71	29.09	31.64	12.68
КП120-7	0.49	ВПУ-100	0.9	83.18	56.25	71.80	39.13

В табл. 13 представлен выход фракций пектинов, содержание ГК, СЭ и количество балластных веществ в конечном продукте, в зависимости от процесса очистки и концентрирования исходных растворов гидролизата.

Таблица 13. Выход пектина и микрогеля, содержание галактуроновой кислоты, степени этерификации образцов пектина

Образцы пектина	Вых. фракции, %			ГК, %	СЭ, %	Балласт. вещ-ва
	МГ	ПВ	ОС			
ЯП(Ф)100-7-2.0-Спирт	2.26	22.37	31.87	50.4	68.60	12.00
ЯП(Ф)100-7-2.0-ВПУ-1д	2.26	18.69	44.55	64.8	81.40	5.80
ЯП(Ф)100-7-2.0-ВПУ-2д	2.26	14.23	47.01	67.2	82.56	3.20
ЯП(Ф)120-7-2.0- Спирт	1.52	25.63	31.69	52.8	68.60	11.20
ЯП(Ф)120-7-2.0-ВПУ-1д	1.52	14.33	49.99	69.6	76.47	3.80
ЯП(Ф)130-5-2.0-Спирт	1.15	26.83	31.82	57.6	69.77	10.80
ЯП(Ф)130-5-2.0-ПС-1д	1.15	14.43	51.22	68.4	78.16	5.60
ЯП(Ф)130-5-2.0-ПС-2д	1.15	12.80	51.85	73.2	76.74	2.80
КП120-7-2.0-Спирт	6.40	28.62	9.98	64.4	22.73	29.23
КП120-7-2.0-ВПУ-1д	6.12	10.32	28.36	81.6	26.19	5.40
КП120-7-2.0-ПС-1д	6.40	10.22	28.75	85.2	25.88	4.62

Эксперименты на опытной установке показывают эффективность использования процесса ДУФ в производстве пектина, на что указывает расход спирта и энергии (табл. 14). Из данных табл. 14 видно, что количество этанола для получения концентрированного

пектина методом ДУФ, по сравнению с вакуум - испарением по традиционной технологии, требуется в два раза меньше.

Таблица 14. Расход спирта и электроэнергии для получения 1 кг пектина традиционным способом и методом ДУФ

Пектины	Раствор гидролизата, л	Конц. раствор, л	Расход этанола, л	Расход электроэнергии, кВт/ч
ЯП(Ф)100-7-2.0 Спирт	55.0	32.5	73.0	4.8
ЯПФ100-7-2.0-ВПУ	55.0	16.1	32.2	3.5
ЯПФ120-7-2.0-Спирт	27.6	19.6	54.6	4.5
ЯПФ120-7-2.0-ВПУ-д2	26.0	9.40	18.8	3.8
ЯПФ130-5-2.0-Спирт	28.6	21.0	56.3	4.5
ЯПФ130-5-2.0-ПС	26.2	12.3	24.6	3.2
КП120-7-2.0-Спирт	28.0	20.0	65.0	4.7
КП120-7-2.0-ВПУ	27.8	12.5	23.7	3.1
КП120-7-2.0-ПС	26.4	12.6	23.8	3.2

Кроме того, качество пектина в полученных образцах при использовании процессов диаультраfiltrации, по сравнению с традиционным способом значительно превосходит. В предложенном, нами, процессе энергия расходуется только при гидролизе и работе насоса, в то время как в традиционном процессе значительное количество энергии требуется для концентрирования раствора гидролизата пектина в энергоемких - вакуум выпарных системах и длительного времени гидролиза. Установлено, что применение диаультраfiltrации обуславливает внедрение при производстве пектина энергосберегающего технологического процесса для получения целевого продукта, отвечающего требуемому качеству и экологической безопасности производства.

3.5. Потребительские свойства ПП, полученные новыми способами

3.5.1. Желирующие свойства ПП

Известно, что гелеобразование высокомолекулярных соединений вызвано состоянием агрегации их молекул в растворе, когда цепные молекулы связаны друг с другом через функциональные группы ионными, водородными или дипольными связями, образуют непрерывную твердую фазу, сохраняя ту или иную степень сольватации под действием полярных атомов, а внутри своей структурной сетки могут содержать наибольшее количество раствора низкомолекулярных веществ.

Механизм гелеобразования ВМ- и НМ- пектинов отличается: ВМ пектины образуют гелевую структуру в присутствии сахаров и при низкой кислотности за счет водородных связей, в то время НМ- пектины формируют структуру геля посредством ионов кальция.

3.5.2. Факторы, влияющие на гелеобразование ПП

Для проведения исследований пектиновые экстракты были получены из корзинок подсолнечника (КрП), апельсиновых корок (АП), стеблей и листьев ревеня скального (РП), айвовых (АйП), абрикосовых (АбП), персиковых (ПрП) и яблочных выжимок центральных (Варзоб – ЯП (В), Файзабад – ЯП (Ф) и южных регионов (Муминабад – ЯП (М)) Республики Таджикистан. Гидролиз проводился как в традиционном ($T=85^{\circ}\text{C}$, pH 1.5-1.8 и при 60-120 мин) режиме, так и новым флеш-способом в автоклаве при температуре $100-120^{\circ}\text{C}$, pH 2.0. Отфильтрованный раствор затем подвергался ДУФ с последующим концентрированием на одной и той же установке. Для сравнения студнеобразующей способности НМ-пектинов,

полученные в данной работе, приведены также основные параметры коммерческого пектина марки LM12-CG компании CP Kelco США.

Желе для ВМ-пектинов готовили по стандартной методике. Значения прочности гелей (ПГ) пектиновых образцов, в присутствии сахаров и винной кислоты (рН 3.2), были проверены методом Тарр-Бейкера (ТБ).

Результаты исследований студнеобразования для различных ВМ-пектинов представлены в табл. 15. Образцы пектинов отличались по содержанию ГК, СЭ, молекулярной массе и гидродинамическим свойствам в растворе.

Таблица 15. Влияние способа очистки на основные параметры и прочность студня ВМ-пектинов

Пектины	ГК, %	СЭ, %	$M_w \cdot 10^{-3}$, КД	$M_z \cdot 10^{-3}$, КД	η_w , мл/г	$Rh_{(w)}$, нм	ПГ, °ТБ
ЯП (В)85-60-2С*	64.8	77.5	260.0	1305	335.0	20.2	215
ЯП(Ф)85 -60-2.0С	49.8	71.5	120.0	513	140.0	11.6	160
ЯП(Ф)120 -7-2.0М	64.8	81.4	118.0	899	161.2	11.9	169
ЯП(Ф)100 -7-2.0М	67.2	82.5	165.7	771	148.8	13.5	174
АП120-10-2.0 М	54.6	84.3	115.0	641	115.0	10.7	172
ПрП 85-60-2.0С	65.3	94.0	350.0	4975	420.0	22.3	190

*Цифры после буквенных обозначений указывают: температуру, продолжительность времени и значение рН гидролиза; последняя буква в шифрах указывает на способ выделения и очистку пектина: С - спиртовое переосаждение; М - ультрафильтрация.

Результаты испытаний показали, что яблочный ВМ-пектин, полученный традиционным способом, и образец, экстрагированный гидролизом при температуре 120°С в течение 7 мин, по показателю прочности студней не удовлетворяет требованиям, предъявляемым к ним при использовании в пищевой промышленности (табл.16).

Таблица 16. Влияние способа очистки на основные параметры и прочность геля НМ-пектинов

Пектины	ГК, %	СЭ, %	$M_w \cdot 10^{-3}$, КД	$M_z \cdot 10^{-3}$, КД	η_w , мл/г	$Rh_{(w)}$, нм	ПГ, °ТБ
КП85-60-1.5 С	74.0	26.6	49.2	154	29.5	5.4	125
КП120-7-2.0 М	76.0	32.0	58.0	181	34.5	6.3	167
LM 12-CG	69.0	35.0	136.0	596	180.0	14.0	192
РП-120-7-2.0 С	85.2	40.2	152.0	1633	182.0	14.2	168
ЯП(М)85-60-1.8	68.0	52.4	134.0	1133	148.6	13.3	172
ЯП(М)120-5 -2	73.5	53.7	199.0	5673	115.3	12.3	180
ЯП(М)120-10 -2 М	78.0	52.8	193.0	2820	132.0	12.1	183
АйП 85 -60-2.0 С	66.0	58.2	188.0	12030	205.5	13.7	153

С целью выявления влияния исходных характеристик НМ-пектинов на ПГ, при приготовлении студня по выше описанной методике, нами, были использованы ионы кальция, вместо винной кислоты при значении рН 4.0. Количество ионов кальция брали из расчета 25-40 мг на 1 г пектина, в области эквимольных соотношений ионов кальция и карбоксильных групп, найденных для НМ - пектинов. Как видно из табл. 17, наибольшее значение ПГ у цитрусового (LM12-CG, CP Kelco США) и яблочного пектинов ЯП (М) 120 из Муминабадского района Республики Таджикистан, экстрагированного и очищенного новым способом.

Несмотря на то, что разные образцы пектинов имеют стандартные параметры, у потребителей пектинов возникают трудности в оценке качества пектинов по содержанию ГК, СЭ и значения M_w . Однако, сравнительная оценка данных, представленных в табл. 15 и 16, позволила, нам, выявить четкую закономерность влияния молекулярной массы или гидродинамических параметров как для ВМ-пектинов, так и для НМ-пектинов, выделенных из различных источников, на ПГ. Высокие значения молекулярной массы, характеристической вязкости и радиуса инерции пектинов могут значительно усилить ПГ, в то время как значение M_z противоположно влияет на ПГ. Для определения факторов влияющих на прочность студней, кроме вышеприведенных параметров, в табл. 17 приведено отношение M_z/M_w .

Таблица 17. Влияние отношения M_z/M_w на прочность пектиновых гелей

Пектины	АГК, %	СЭ, %	$M_w \cdot 10^{-3}$, КД	$M_z \cdot 10^{-3}$, КД	M_z/M_w	ПГ, °ТБ
АйП 85 -60-2.0 С	66.0	58.2	188	12030	63.99	153
РП-120-7-2.0 С	85.2	40.2	152	2433	16.01	168
ЯП(М)85-60-1.8	68.0	52.4	134	2133	15.92	172
ЯП(М)120-5 -2	73.5	53.7	199	2673	13.43	180
ЯП(М)120-10 -2 М	78.0	52.8	193	2820	14.61	183
ПрП 85-60-2С	65.3	94.0	350	4975	14.21	190
LM 12-CG	69.0	35.0	136	596	4.38	192
ЯП (В)85-60 2С*	64.8	77.5	260	1305	5.02	215

Найдено, что значение M_z полимеров показывает степень агрегации макромолекулы. Из литературных данных известно, что пектины, даже в разбавленных растворах, образуют агрегаты посредством водородных связей. Ранее, нами, было показано, что пектиновые макромолекулы, особенно НМ-пектины, могут находиться в агрегированном состоянии при высоких температурах. Вышеприведенный аргумент хорошо согласуется со свойствами студней пектинов, выделенных из айвы и ревеня скального с высоким значением M_w , не способны к образованию прочных студней, по сравнению с пектинами из яблок и цитруса, с относительно низким значением M_w .

Таким образом, представленные данные продемонстрировали эффективность использования новых технологий в производстве пектина, т.е. ускоренную экстракцию и диаультрафилтрационную очистку, способствующих получению пектинов с высокими желеобразующими свойствами. Важно отметить, что при оценке качества студней - необходимо принимать во внимание также отношение M_z/M_w , указывающего на степень агрегации молекул, препятствующей формированию студней независимо от природы пектина.

ВЫВОДЫ

1. Исследована применимость новой технологии получения пектина при высокой температуре и давлении (флэш-способ) за короткий период гидролиза и диаультрафилтрации для эффективной очистки пектиновых полисахаридов различного вида сырья. Изучены физико-химические, гидродинамические и потребительские свойства пектиновых полисахаридов из корзинок подсолнечника и плодов тыквы, установлены их структуры с использованием ИК- и ЯМР-спектроскопии.
2. Пектиновые полисахариды были фракционно экстрагированы из корзинок подсолнечника различными реагентами. Анализ физико-химических и гидродинамических свойств, выделенных фракций показал, что эти фракции мономодальные по молекулярно-массовому распределению отличаются как по составу, так и по конформации макромолекул.

3. Исследованы структурные особенности пектиновых полисахаридов из корзинок подсолнечника и плодов тыквы с использованием ИК-Фурье спектроскопии, ^1H -, ^{13}C - и двумерной gHSQC ЯМР-спектроскопии. Показано, что пектиновые полисахариды из данных источников представляют гетерополимер, образованный минимум из 5 сахарных остатков. Во фракциях обнаружено наличие 4 вариантов структуры, где карбоксильные группы окружены различными группами.
4. Отличие значений молекулярной массы, найденных методом эксклюзионной жидкостной хроматографии с использованием многоугольного лазерного светорассеивания и вискозиметрического детектора, указывает на тенденцию пектинов к агрегации, что может привести к снижению величины M_w и увеличению M_z .
5. Определены значения параметров (a) и (b), найденных из логарифмической зависимости характеристической вязкости $[\eta]$ вискозиметрического радиуса (Rh) от M_w , установлены формы и размеры макромолекул пектиновых полисахаридов изученных объектов.
6. Выявлена эффективность использования ускоренной экстракции и диаультраfiltrационной очистки в технологическом процессе производства пектина, способствующих получению продуктов с высокими желеобразующими свойствами.
7. Путем систематического анализа значений M_z найдена взаимосвязь степени агрегации молекул и отношения M_z/M_w , позволившая впервые установить факторы, влияющие на прочность студней.

Список работ, опубликованных по теме диссертации:

1. **Джонмуродов, А.С.** Строение пектиновых полисахаридов солерастворимых фракции подсолнечника / А.С. Джонмуродов, Х.И. Тешаев, Ш.Ё. Холов, С.Р. Усманова, З.К. Мухидинов, G.D. Strahan, L.S. Liu // ДАН РТ. – 2015. – Т. 58. - № 4. - С. 320-325.
2. **Джонмуродов, А.С.** Физико-химические и гидродинамические свойства пектиновых полисахаридов подсолнечника / А.С. Джонмуродов, Х.И. Тешаев, Ш.Ё. Холов, С.Р. Усманова, З.К. Мухидинов, G.D. Strahan, L.S. Liu // Изв. АН РТ. Отд. физ-мат, хим., геол. и техн. н. – 2015. – Т. 58. - № 3. - С. 241-247.
3. Тешаев, Х.И. Характеристика пектина полученного новым методом гидролиза-экстракции из корзинок подсолнечника / Х.И. Тешаев, З.К. Мухидинов, Р.М. Горшкова, **А.С. Джонмуродов** // Вестник Воронежского гос. университета инженерных технологий. - 2012. – Т. 52. - № 2. - С. 162-168.
4. Мухидинов, З. К. Диаультраfiltrационное концентрирование и очистка пектиновых полисахаридов / З. К. Мухидинов, Р. М. Горшкова, **А. С. Джонмуродов**, Д. Х. Халиков, Х. И. Тешаев, L. S. Liu, M. L. Fishman // Изв. Вузов. Химия и хим. Технология. - 2011. - Т. 54. - вып. 2. - С.121-125
5. **Джонмуродов, А.С.** Концентрирование и очистка пектиновых полисахаридов на полупромышленной диаультраfiltrационной установке / А.С. Джонмуродов, Х.И. Тешаев, Р.М. Горшкова и др. // Известия АН РТ. - 2010. – Т. 141. - № 4. - С. 45-49.
6. **Dzhonmurodov, A.S.** Pectic polysaccharides from pumpkin fruit / A.S. Dzhonmurodov, Z.K. Muhidinov, G.D. Strahan, S.E. Kholov, Kh.I. Teshaev, M.L. Fishman, L.S. Liu // 18th Gum and Stabilizer for the Food Industry Conference. - Wareham, UK. - 2015.
7. Усманова, С.Р. Исследование ИК-Фурье спектров пектина тыквы / С.Р. Усманова, **А.С. Джонмуродов**, Х.И. Назирова, З.К. Мухидинов // Материалы 12 Нумановских чтений посвящ. 55-летию со дня рождения д.х.н., профессора Куканиева М.А. – Душанбе, 2015. - С. 143-145.
8. **Dzhonmurodov A.S.** A new factor effecting gel strength of pectin / A.S. Dzhonmurodov, Kh.I. Teshaev, Z.K. Mukhidinov, D. Khalikov, M. Fishman // Conference programme and Abstracts. Hof van Wageningen Hotel and Conference centre, the Netherlands. - 2011.
9. **Джонмуродов, А.С.** Молекулярная масса пектинов полученных с использованием универсальной калибровки / А.С. Джонмуродов, Ш.Ё. Холов, Р.М. Горшкова, Х.И. Тешаев,

- З.К. Мухидинов // Материалы международной науч.- практ. конф. посвящ. 1150 летию персидско-тадж. ученого Абубакра Рази. Душанбе, - 2015 г. - С. 115-117.
10. Мухидинов, З.К. Новые технологические процессы в производстве пектина. / З.К. Мухидинов, **А.С. Джонмуродов**, А.С. Насриддинов, Р.М. Горшкова, Д.Х. Халиков, M.L. Fishman // Materiály VII mezinárodní vědecko - praktická konference «Vědecký pokrokná přelomutysyachalety - 2011» Díl 18. Lékařství. – Praha, 2011. - 88 s.
11. Muhidinov, Z.K. Physico-chemical characterization of pectic polysaccharides from various sources obtained by steam assisted flash extraction (SAFE) / Z.K. Muhidinov, Kh.I. Teshaev, **A.S. Dzhonmurodov**, D.Kh. Khalikov, M. Fishman // Macromol. Symp. - 2012. - V. 317 - № 318. - P. 142-148.
12. **Джонмуродов, А.С.** Динаульфильтрационная очистка и концентрирование пектиновых полисахаридов / А.С. Джонмуродов, Х.И.Тешаев, Р.М. Горшкова, Д.Х. Халиков, L.S. Liu // Пятая Всероссийская Каргинская конференция «Полимеры-2010». Москва, - 2010 г. - С.146.
13. Касимова, Г.Ф. Биологические активные продукты из отходов производства / Г.Ф. Касимова, З.К. Мухидинов, С.Р. Усманова, **А.С. Джонмуродов** // Материалы международной научной конференции «Инновационные технологии комплексной переработки природных богатств Туркменистана». Ашгабат, - 2012 г. - С. 343-346.

Разрешено в печать 02.03.2016. Подписано в печать
03.03.2016. Формат 60x84 1 /16. Бумага офсетная.
Гарнитура литературная. Печать офсетная.
Усл. печ. л. 1,0. Тираж 100 экз. Заказ № 22

Отпечатано в типографии ООО «Андалеб-Р».
734036, г. Душанбе, ул. Р. Набиева 218.
E-mail: andaleb.r@mail.ru