ООО «МЕЗОН» НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР «ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ И ПИЩЕВЫХ ТЕХНОЛОГИЙ»

На правах рукописи

СЛОБОДОВА Дара Александровна

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ПЕКТИНОВЫХ ПОЛИСАХАРИДОВ И ПРОДУКТОВ НА ИХ ОСНОВЕ

1.4.4. Физическая химия

ДИССЕРТАЦИЯ на соискание ученой степени кандидата химических наук

Научный руководитель:

доктор технических наук, доцент Горшкова Раиса Михайловна

Дубна - 2024

ОГЛАВЛЕНИЕ

	ВВЕДЕНИЕ	4
Глава 1.	ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР	14
1.1.	Строение пектиновой макромолекулы	14
1.2.	Физико-химические свойства пектиновых полисахаридов	17
1.3.	Растворимость пектиновых полисахаридов	19
1.4.	Вязкость растворов пектиновых полисахаридов	20
1.5.	Гелеобразующая способность пектиновых полисахаридов	24
1.6.	Сорбционная способность пектиновых полисахаридов	26
1.7.	Способы получения пектиновых полисахаридов	29
1.8.	Фракции пектиновых полисахаридов и их физико-химические	42
	свойства	
Глава 2.	МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ	
	ИССЛЕДОВАНИЙ	55
2.1.	Подготовка исходного сырья	55
2.2.	Метод гидролиз-экстракции протопектина в статическом	
	режиме	55
2.3.	Гидролиз-экстракция протопектина методом комбинирован-	
	ного фракционирования	55
2.4.	Гидролиз-экстракция протопектина методом	
	барофракционирования	56
2.5.	Получение микрогеля	56
2.6.	Получение пектиновых веществ	56
2.7.	Получение олигосахаридов	56
2.8.	Определение содержания звеньев галактуроновой кислоты	56
2.9.	Определение степени этерификации	57
2.10.	Определение содержания нейтральных сахаров	58
2.11.	Определение содержания кальция в пектиновых полисахаридах	58
2.12.	Определение вязкости	59
2.13.	Определение молекулярной массы полисахаридов	59
2.14.	Определение реологических характеристик водных растворов	
	пектиновых полисахаридов	60
2.15.	Определение сорбционной активности пектиновых	

	полисахаридов	60
Глава З	РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ	62
3.1.	Гидролиз-экстракция протопектина в потоке реакционного рас-	
	твора	63
3.2.	Комбинированное фракционирование продуктов распада	
	протопектина в потоке реакционного раствора	77
3.3.	Механизм распада протопектина в потоке реакционного рас-	
	твора при атмосферном и повышенном давлении	87
3.4.	Молекулярно-массовая неоднородность пектиновых полисаха-	
	ридов	99
3.5.	Реологические характеристики водных растворов поли- и	
	олигосахаридов в широком диапазоне температур	105
3.6.	Сорбционные свойства изолированных фракций продуктов	
	распада протопектина	110
3.7.	Кинетика процесса сорбции ионов кадмия фракциями	
	протопектина различной фитомассы	121
3.8.	Сорбционная активность фракций пектиновых полисахаридов	
	по отношению к белкам и токсинам	135
3.9.	Практическое применение пектиновых полисахаридов и про-	
	дуктов на их основе	140
	выводы	145
	СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	147
	ЛИТЕРАТУРА	149
	ПРИЛОЖЕНИЕ А	184
	ПРИЛОЖЕНИЕ Б	195

введение

Актуальность темы. Одним из приоритетных направлений научно-технологического развития Российской Федерации является эффективная переработка сельскохозяйственной продукции, а также создание безопасных и качественных, в том числе функциональных, продуктов питания. Решение данного вопроса способно внести вклад в развитие экономики и укрепления здоровья населения страны. Производство отечественной продукции функционального назначения – пектиновых полисахаридов, сырьём для которых являются сельскохозяйственные отходы, вносит вклад не только в решение задачи эффективной переработки сельскохозяйственной продукции, но и способствует реализации политики импортозамещения, вводя на рынок гидроколлоидов высококачественный продукт для пищевой промышленности и медицины.

Пектин широко востребован в различных отраслях промышленности и медицины благодаря своим студне- и комплексообразующим свойствам. Спрос на него ежегодно возрастает в мире, в целом, и в Российской Федерации, в частности. Несмотря на то, что страна располагает обширной сырьевой базой, отечественное производство пектина отсутствует. Потребности пищевой промышленности и медицины в данном продукте удовлетворяются за счет импорта зарубежной продукции. Отсутствие собственного производства во многом объясняется сложностью и несовершенством существующих технологий, затрудняющих получение целевого продукта в виде чистого вещества с определенными физико-химическими параметрами, а не неоднородных по молекулярной массе полимеров, что затрудняет их дальнейшее практическое применение, особенно в медицине и фармацевтике. Помимо молекулярной неоднородности для пектиновых веществ присуща неоднородность по составу и структуре, характеризующаяся зависимостью распределения остатков этерифицированных и неэтерифицированных звеньев галактуроновой кислоты, нейтральных сахаров в основной и боковых цепях макромолекулы. Для получения высокомолекулярных пектиновых полисахаридов, обогащенных звеньями галактуроновой кислоты, необходимо включение в производственный

процесс их получения стадий очистки и фракционирования от сопутствующих низкомолекулярных фракций и балластных веществ. Но в настоящее время в мировой практике отсутствуют методы получения пектина со стабильной структурой. В связи с этим изучение неоднородности пектиновых полисахаридов различного сырья путём их фракционирования актуально с точки зрения развития физической химии природных полимеров, а также практически значимо, являясь основой эффективной и экономичной технологии получения высокоочищенных пектиновых полисахаридов.

Диссертационная работа соответствует Приоритетам и перспективам научно-технологического развития Российской Федерации до 2035 г. (п.20, г.), а также миссиям Национального проекта «Демография» (2019 – 2024 гг.) и Федеральных проектов «Укрепление общественного здоровья» и «Здоровое питание» (2019 – 2024 гг.), что также подтверждает её актуальность.

Степень разработанности темы. Значительный вклад в изучение процесса получения и физико-химических свойств пектиновых полисахаридов из различного сырья внесли своими фундаментальными исследованиями З.Д. Ашубаева, Л.В. Донченко, В.Ф. Миронов, Л.Б. Сосновский, Г.Б. Аймухамедова, В.А. Миронов, Ю.С. Оводов, Н.П. Шелухина, С.Т. Минзанова, О.Г. Архипова, Г.М. Зайко, В.Н. Голубев, Н.К. Кочетков, И.А. Ильина, С.Ш. Рашидова, Д.Х. Халиков, Р.М. Горшкова и многие другие. Но до настоящего времени, проблема получения высокоочищенного пектина с высокими эксплуатационными свойствами не решена окончательно.

Под руководством Р.М. Горшковой проводятся исследования процесса распада протопектина (ПП) под воздействием параметров различных методов, в том числе в динамическом режиме. Например, ранее было изучено влияние параметров гидролиз-экстракции при атмосферном давлении (pH, температуры и скорости потока) на выход пектиновых полисахаридов, содержание в них звеньев галактуроновой кислоты (ГК) и степень этерификации карбоксильных групп ГК, определены условия, приводящие к получению целевых продуктов с высоким выходом и оптимальными физико-химическими параметрами. Показано, что недостатком данного метода является длительность

процесса. Способом, приводящим к решению данной проблемы, является проведение гидролиз-экстракции под воздействием повышенного давления. Однако подобных установок для получения пектина не существовало ранее и не было известно влияние высокого давления на выход, физико-химические параметры целевых продуктов и механизм распада протопектина в потоке реакционного раствора.

Ранее для компонентов распада протопектина подсолнечника было проведено фракционирование, позволившее выявить высокоэтерифицированные фракции с наибольшим содержанием галактуроновой кислоты. Была установлена энергетическая неоднородность разрыва связей ГК с компонентами клеточной стенки и кальциевых мостиков при формировании продуктов распада ПП подсолнечника. Но физико-химические свойства и молекулярно-массовые параметры полученных фракций не были достаточно изучены, а также не была выявлена взаимосвязь структуры и свойств пектиновых полисахаридов, что и определило цель настоящей работы.

Развитие современных технологий получения пектиновых полисахаридов направлено на экологическую чистоту производственного процесса, увеличение выхода и обогащение целевого продукта уронидными составляющими, регулирование молекулярно-массовых характеристик, в совокупности обеспечивающими высокую геле- и комплексообразующую способность пектина и его производных. В связи с этим, изучение структурных, молекулярномассовых и сорбционных характеристик изолированных фракций пектиновых полисахаридов, полученных непосредственно в процессе гидролиз-экстракции, является актуальным направлением физической химии в плане изучения сложнейших природных полимеров и выявления взаимосвязи их структуры со свойствами, а также основой перспективных химических технологий, отвечающим современным требованиям.

Цель и задачи исследования. Основной целью работы является изучение процесса распада протопектина различного сырья в потоке реакционного раствора под воздействием атмосферного и высокого давления и температуры с формированием однородных химически чистых изолированных фракций пектина с высокими сорбционными свойствами.

Для достижения цели были определены следующие задачи:

 Изучить влияние параметров гидролиз-экстракции в потоке реакционного раствора на выход и физико-химические свойства пектиновых полисахаридов различного происхождения.

2. Провести фракционирование пектиновых полисахаридов различного происхождения в потоке реакционного раствора под воздействием атмосферного и повышенного давления, оценить численные значения выходов и физико-химические параметры полученных изолированных фракций.

3. Изучить структурные особенности изолированных фракций микрогеля и пектиновых веществ, полученных в потоке реакционного раствора при атмосферном и повышенном давлении.

4. Оценить кинетические параметры процесса распада протопектина различного сырья в условиях комбинированного фракционирования при атмосферном и повышенном давлении.

5. Изучить свойства изолированных фракций протопектина, оценить численные значения характеристической вязкости [η] и молекулярной массы (MM), использовать полученные данные для составления взаимосвязи [η] с MM в рамках уравнений Марка-Куна-Хаувинка.

6. Выявить кинетико-термодинамические закономерности сорбции ионов тяжёлых металлов, белков и токсинов изолированными фракциями пектиновых полисахаридов, полученными методом комбинированного фракционирования.

7. Установить взаимосвязь структуры изолированных фракций микрогеля и пектиновых веществ с сорбционной способностью по отношению к ионам тяжёлых металлов, белкам и токсинам.

Научная новизна работы:

- Впервые изучен процесс распада протопектина (ПП) с одновременным фракционированием продуктов реакции в потоке реакционного раствора при атмосферном и повышенном давлении. Установлено, что распад протекает по

идентичному механизму трансформации ПП – микрогель (МГ) – пектиновые вещества (ПВ), с образованием нерастворимых и растворимых фракций пектиновых полисахаридов. При повышении давления и температуры распад ПП смещается в сторону формирования водорастворимых продуктов реакции.

- Принимая содержание галактуроновой кислоты в МГ и ПВ равным содержанию ГК в клеточной стенке, экспериментальные данные обработаны на основе уравнения гидродинамики, что позволило оценить основные кинетические параметры и рассчитать кажущиеся константы скорости общей реакции распада ПП в потоке реакционного раствора.

- Учитывая образование МГ как промежуточного соединения реакции распада ПП, оценены кажущиеся константы скорости для каждой изолированной фракции микрогеля и пектиновых веществ с использованием уравнения последовательной реакции, протекающей в потоке.

- Установлена высокая корреляция кажущихся констант скоростей общей и последовательной реакций распада протопектина в координатах Аррениуса, что позволило оценить значения энергий активации в потоке реакционного раствора. Установлено, что распад ПП вначале процесса завершается образованием высокомолекулярных компонентов и последующим фракционированием линейных и разветвлённых биополимеров по механизму гель-хроматографии.

- Впервые методом комбинированного фракционирования в потоке реакционного раствора получены изолированные фракции МГ и ПВ, отличающиеся по составу, структуре, и молекулярной массе (ММ), что дало возможность измерением величин характеристической вязкости и ММ, составить взаимосвязь между ними в рамках уравнений Марка-Куна-Хаувинка. Впервые в широком диапазоне температур изучены реологические характеристики изолированных фракций продуктов распада ПП и выявлены вещества с криофилактическими свойствами, доказана их безопасность и эффективность при включении в рецептуры жизненно важных лекарственных препаратов, а также функциональных пищевых продуктов. - Впервые изучены кинетико-термодинамические закономерности сорбции ионов тяжёлых металлов и токсинов изолированными фракциями пектиновых полисахаридов различного происхождения. Установлено, что сорбционный процесс в изученных случаях представляет собой совокупность параллельно и последовательно идущих процессов с диффузией в качестве скоростьопределяющей стадии и химической реакцией, определяющей эффективность процесса.

- Выявлена взаимосвязь структуры пектиновых полисахаридов с сорбционными свойствами. Установлено, что максимальная сорбционная ёмкость, напрямую зависит от концентрации свободной галактуроновой кислоты.

Теоретическая и практическая значимость работы. Полученные результаты легли в основу разработки технологий получения пищевого и медицинского пектинов в жидкой и порошкообразной форме. Технологии внедрены в производство на базе ООО «МЕЗОН» и выведены на рынок Российской Федерации.

Полученные данные могут являться основой для разработки технологий производства препаратов нового поколения — носителей лекарственных средств для терапии заболеваний различной этиологии, в том числе для оказания первой и доврачебной помощи, в том числе в экстремальных климатических условиях.

Методология и методы исследования. Объектами исследований являлись: свекловичный жом (Св), альбедо помело (Пмл), корзинки подсолнечника (КП), выжимки: апельсинов (АВ), лимонов (ЛВ), яблок (ЯВ), тыквы (ТВ) и бананов (БнВ).

В процессе выполнения работы применялись современные методы спектрофотометрического, кондуктометрического, титриметрического, вискозиметрического, комплексонометрического анализа, газожидкостной хроматографии, высокоэффективной жидкостной хроматографии и др.

Основой теории и методологии работы являлись работы современных отечественных и зарубежных учёных в области физической химии пектиновых веществ.

Основные положения, выносимые на защиту.

1. Совмещение процессов гидролиз-экстракции и фракционирования приводит к выделению высокоочищенных компонентов распада протопектина в виде микрогеля и пектиновых веществ, различающихся по структуре, физико-химическим и молекулярно-массовым параметрам, а также по сорбционным и криопротекторным свойствам. Непрерывный поток реакционного раствора обеспечивает неизменность концентрации гидролизующего агента, что позволяет получать пектиновые полисахариды с высоким выходом и оптимальными физико-химическими параметрами и свойствами в широком диапазоне pH.

2. Содержание галактуроновой кислоты в продуктах реакции распада протопектина может быть использовано в качестве маркера при расчёте кинетических параметров процесса гидролиз-экстракции ПП, как при атмосферном, так и при повышенном давлении. При этом наблюдается высокая корреляция логарифма кажущихся констант распада связей, образованных остатками кислых и нейтральных моносахаридов в протопектине и в микрогеле, в координатах Аррениуса. Правильность данного подхода подтверждается высоким совпадением экспериментальных и расчётных данных.

3. Механизм распада протопектина в потоке реакционного раствора, независимо от вида сырья, представляет собой двухступенчатый процесс экстрагирования набухшего микрогеля из растительной клеточной стенки и последующее его фракционирование.

4. При повышенном давлении и температуре в режиме барофракционирования максимальный выход микрогеля наблюдается в начале процесса с последующим резким снижением. Выход пектиновых веществ и олигосахаридов увеличивается с последующей стабилизацией, что свидетельствует об ускорении процесса распада протопектина и смещении реакции в сторону образования водорастворимых компонентов.

5. Зависимость Lg[η] от LgM изолированных фракций микрогеля и пектиновых веществ, независимо от происхождения, в рамках уравнения Марка-Куна-Хаувинка описывается прямой линией с коэффициентом корреляции, близком к единице, что подтверждает успешность совмещения стадий гидролиз-экстракции и фракционирования с получением однородных по структуре веществ.

6. Изолированные фракции ПВ и ОС хорошо совместимы с декстраном, являющимся полимером-основой крове- и плазмозамещающих препаратов, а также обладают криопротекторными свойствами: снижают температуры замерзания жидких лекарственных форм на его основе и улучшают их терапевтические свойства и безопасность, что обуславливает возможность применения препаратов в экстремальных климатических условиях.

7. Сорбционные процессы в изолированных фракциях МГ и ПВ носят смешанный характер. Наиболее благоприятный диапазон рН при этом составляет 3,5-6,0. Сорбционные свойства всех изученных фракций превышают нефракционированные образцы, что указывает на зависимость сорбционной ёмкости от концентрации свободной галактуроновой кислоты.

Публикации. Основные результаты диссертационной работы получили полное отражение в 19 публикациях, из которых 8 работ опубликовано в журналах Перечня ВАК и приравненных к ним, а также 45 материалах и тезисах конференций, симпозиумов, семинаров и 1 патенте.

Степень достоверности и апробация работы. Достоверность результатов подтверждается достаточной воспроизводимостью экспериментальных данных, полученных с использованием сертифицированных приборов и оборудования с привлечением современных физико-химических методов исследования, методов системного анализа, а также успешным масштабированием разработанной технологии в промышленных масштабах.

Основные положения диссертационной работы были представлены: на XII Международной конф. (МК) молодых уч. (МолУ) по нефтехимии (Звенигород, 2018 г); 5-ой МК «Конкурентоспособные материалы и технологические процессы» (Мишкольц, Венгрия, 2018 г.); Международном симпозиуме «Интеграция и интеграция науки и образования» (Ташкент, 2018 г.); Всерос. науч. конф. (НК) МолУ «Инновации молодежной науки» (Санкт-Петербург, 2019 г.); 5-ой МНК «Успехи синтеза и комплексообразования» (Москва, 2019 г.); VI Всерос. конф. (ВК) с межд. участием (МУ) «Техническая химия. От теории к практике» (Пермь, 2019 г.); XI ВНК МУ и школе МолУ «Химия и технология растительных веществ» сателлитной конференции XXI Менделеевского съезда по общей и прикладной химии, посвященного 150-летию Периодической системы химических элементов (Сыктывкар, 2019 г.); 15-й МК МолУ «Современные проблемы науки о полимерах» (Санкт-Петербург, 2019 г.); ВНПК МУ «Современные достижения химической технологии в производстве текстиля, синтеза и применения химических продуктов и красителей» (Санкт-Петербург, 2019 г.); VIII конференции МУ «Новые достижения в химии и химической технологии растительного сырья» (Барнаул, 2020 г.); МНК «Инновационные направления развития науки о полимерных волокнистых и композиционных материалах» (Санкт-Петербург, 2020 г.); XVII МНПК «Новые полимерные композиционные материалы» «Микитаевские чтения» (Эльбрус, 2021 г.); ВК МУ «Теоретические и практические аспекты действия естественной и искусственной гипотермии на организм» (Махачкала, 2021 г.); 5-й Рос. конф. МедХим-Россия 2021 (Волгоград, 2021 г.); VII Междисциплинарной конференции «Молекулярные и Биологические аспекты Химии, Фармацевтики и Фармакологии» (Грозный, 2021 г.); МНК «Природные и синтетические полимеры для медико-технических целей» (Минск, Беларусь, 2022 г.); XVIII МНПК «Новые полимерные композиционные материалы Микитаевские чтения» (Нальчик, 2022 г.); II ВНПК «Перспективные направления медицины будущего» (Дубна, 2022 г.); XIX МНПК «Новые полимерные композиционные материалы Микитаевские чтения» (Нальчик, 2023 г.).

Соответствие диссертации паспорту научной специальности. Диссертационная работа соответствует паспорту научной специальности 1.4.4. – физическая химия (химические науки), в частности: п.12. - физико-химические основы процессов химической технологии и синтеза новых материалов; п.3 – Определение термодинамических характеристик процессов на поверхности, установление закономерностей адсорбции на границе раздела фаз и формирования активных центров на таких поверхностях; п.7 – макрокинетика, механизмы сложных химических процессов, физико-химическая гидродинамика, растворение и кристаллизация.

Личное участие автора заключается в подготовке и проведении экспериментальных исследований. Сбор литературных источников, их обработка и анализ выполнены лично автором. Написание основных трудов осуществлены совместно с соавторами, а обобщение результатов работ в диссертации и формулирование основных идей - совместно с научным руководителем.

Объём и структура работы. Диссертация представляет собой рукопись объёмом 202 страницы, состоит из введения и 3 глав, посвященных литературному обзору, методикам эксперимента, результатам исследований и их обсуждению, выводов и приложений, включающих экспериментальные данные по выходу, составу и свойствам пектиновых полисахаридов, сведения о внедрении результатов диссертационной работы в производство, отчёт об исследовании эффективности и безопасности применения жидкого протопектина. Иллюстрирована 44 рисунками, 43 таблицами. Список использованной литературы включает 299 наименований.

Глава 1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

1.1. Строение пектиновой макромолекулы

Пектиновые полисахариды (ППс) локализованы в оболочке клеточной стенки практически всех растений в виде полисахаридного матрикса – протопектина (ПП), представляющего собой нативный макромолекулярный биополимер с сетчатой структурой. ПП, находясь в прочной связи с гемицеллюлозами, образует каркас растительной клеточной стенки и является неотъемлемой частью жизнедеятельности клетки, обеспечивая тургор, растяжимость и устойчивость к критическим температурам. При воздействии температуры и гидролизующих агентов различной природы на фитомассу, ПП распадается на компоненты: растворимые и нерастворимые фракции пектиновых полисахаридов [1, 2]. Изучению процесса распада протопектина посвящено достаточно много исследований, но при этом его структура еще недостаточно изучена. Сложности в идентификации продуктов распада ПП обусловили тенденцию к изучению ППс в обобщенном виде, как пектин, без разделения на структурные фракции, значительно отличающиеся по физико-химическим свойствам.

Присущие пектиновым полисахаридам комплексообразующая, хелатирующая, гелеобразующая, антиоксидантная способность, а также ряд других полезных свойств делает их незаменимыми компонентами пищевой промышленности, медицинских средств не только в качестве ингредиентов, вспомогательных веществ, но и ценными пищевыми волокнами с собственной биологической активностью [2 -6]. Функциональные свойства ППс во многом зависят от их состава и структуры. Основной составляющей пектиновых полисахаридов является полигалактуроновая кислота, представляющая собой звенья α -D-галактуроновой кислоты в пиранозной форме, соединенные связями типа $1 \rightarrow 4$ [2, 4] (рис. 1). До обнаружения в составе узла разветвления полисахаридных молекул в виде L-рамнозы, соединенной 1-2 связями с соседними мономерными звеньями, ППс относили к полигалактуронанам. На сегодняшний день установлено, что в состав ППс из различных видов фитомассы входят пятнадцать сахаров [5]. В современной научной литературой пектиновые полисахариды подразделяют на следующие классы: 1) гомогалактуронаны; 2) рамногалактуронан I; 3) рамногалактуронан II; 4) апиогалактуронаны; 5) ксилогалактуронаны; 6) кислые арабино-3,6-галактаны [2, 6].



Рисунок 1 – Химическая структура пектина

Пектиновые полисахариды, вне зависимости от класса, имеют молекулярную массу в пределах от 20 до 300 тысяч Da, при линейных размерах молекулы порядка 1600 Å. Пектиновые полисахариды обладают высокой водонабухающей способностью, чем и объясняется медленная растворимость и образование вязких слизистых растворов, застывающих до консистенции студня [7]. От вида сырья и способа выделения из него целевых продуктов значительно зависит выход, структура, физико-химические свойства и прочие параметры ППс [2]. Например, пектиновые полисахариды первичной и вторичной фитомассы подсолнечника, моркови, сахарной свеклы, лимонов, яблок, люцерны, капусты, еловой хвои, семён рапса состоят из линейных галактуронанов, содержащих в точках разветвления макромолекул рамнозу [8].

Рамногалактуронан I (РГ-I) присутствует в первичной оболочке клеточных стенок практически всех растений, за исключением злаковых. Вид фитомассы не оказывает влияния на строение рамногалактуронана I. Структура его образцов, выделенных из разных растений, имеет лишь незначительные различия [9]. РГ-I – молекула с сильно разветвленной структурой. В среднем каждый второй остаток рамнозы, содержащейся в РГ-I, включает линейную или 1-15 звеньев разветвленной олигосахаридной цепочки, состоящей из остатков L-арабинозы и D-галактозы [10]. Также отмечается наличие остатка ксилозы в окончании цепи РГ-I некоторых видов растительного сырья [11]. Звенья α-D- галактопиранозилуроновой кислоты и α-L-рамнопиранозы, связанные между собой 1-2 гликозидными связями, составляют основную цепь РГ-I (кор) [9, 11].

Самой сложной по строению макромолекулой пектиновых полисахаридов является рамногалактуронан II (РГ-II), содержащий в своём составе более сорока мономерных звеньев [5, 9, 12]. 1-4-α-галактопиранозилуронан составляет основную цепь РГ-II. Состав боковых цепей достаточно разнообразен и содержит: D-галактуроновую кислоту, L-рамнозу, D-галактозу, L-арабинозу, D-ксилозу, D-глюкозу, L-фруктозу, D-маннозу и D-глюкуроновую кислоту. Также отмечается наличие: D-апиозы с разветвленной углеродной цепью, а также различных высших сахаров, содержащих больше шести атомов углерода (ацеровая кислота или 3-С-карбокси-5-дезокси-L-ксилофураноза, 3-дезокси-D-ликсогептулозаровая и 2-кето-3-дезокси-D-маннооктоновая кислоты) и эфиры сахаров (2-О-метил-L-фукоза, 2-О-метил-D-ксилоза). Следует отметить, что наличием большинства из перечисленных сахаров характеризуется исключительно рамногалактуронан II [5, 12]. Несмотря на наличие большого количества литературного материала, структура РГ-II до сих пор полностью не установлена. В фитомассе рамногалактуронан II содержится в виде димера, имеющего в составе мономеры, соединенные боратдиольными эфирными связями [9, 13, 14].

Апиогалактуронаны содержатся в клеточных стенках водных растений [15]. Галактуроновая кислота и апиоза в пектиновых полисахаридах ряски находятся в соотношении 5:4 [16]. Из таких морских трав как Zostera и Phyllospadix (сем.Zosteraceae) выход апиогалактуронана может достичь (15 – 17) %.

Ксилогалактуронан содержится в такой фитомассе, как сосновая пыльца, соевые бобы, лимонные корки, стручки гороха и яблоки определенных сортов. Галактуроновая кислота и остатки ксилозы в нём находятся в соотношении 9 : 22 [14, 17]. Кислые арабино-3-6-галактаны имеют в составе основной цепи молекулы β-1-6 и β-1-3-остатки D-галактопиранозы, а в составе боковых цепей остатки арабинозы, остатки D-глюкуроновой и D-галактуроновой кислот [9, 16], а также остатки D-ксилозы, β-1,3-D-глюкозы, α-1,2-L-рамнозы [13]. Таким образом, от вида сырья зависит состав и структура

макромолекулы пектиновых полисахаридов, а они, в свою очередь, влияют на основные свойства ППс.

1.2. Физико-химические свойства пектиновых полисахаридов

Свойства пектиновых полисахаридов зависят от их физико-химических характеристик [5, 18 - 22]. Например, растворимость высокоэтерифицированных ППс (C \Im > 50 %), значительно выше низкоэтерифицированных (C \Im < 50 %). Сами по себе пектиновые полисахариды достаточно хорошо растворяются в дистиллированной воде. При этом, соли двух- и трехвалентных металлов уже малорастворимы или вовсе нерастворимы в воде. Пектиновые полисахариды, переведённые в порошкообразное состояние, при попадании воды, имеют способность к быстрой гидратации, образуя прочные комки, которые представляют собой полусухую полисахаридную массу в оболочке из сильно гидратированных полисахаридов и их дальнейшее растворение сильно затруднено. Для предотвращения гидратации в процессе растворения порошкообразные пектиновые полисахариды смешивают с сухим водорастворимым материалом-носителем, либо используют специально обработанные ППс. Разбавленный растворы пектиновых полисахаридов являются ньютоновскими жидкостями, однако, в случае умеренной концентрации, они проявляют псевдопластические свойства неньютоновских жидкостей. Растворимость пектиновых полисахаридов напрямую зависит от молекулярной массы, степени этерификации, концентрации, значения pH среды и наличия противоионов в растворе. Такие свойства пектиновых полисахаридов, как растворимость, вязкость и гелеобразование, обычно взаимосвязаны. Например, факторы, влияющие на повышение прочности геля, будут способствовать увеличению склонности к гелеобразованию, уменьшению степени растворимости, повышению вязкости, и наоборот. Взаимосвязь данных свойств объясняется их зависимостью от структуры пектиновых полисахаридов. Таким образом, соли одновалентных металлов гомогалактуронана в растворе сильно ионизированы по всей длине макромолекулы. Возникающее кулоновское взаимодействие приводит к расширению формы молекулы и удерживанию её в таком состоянии. Кулоновское взаимодействие между карбоксильными группами также препятствует агрегации полимерных цепей. Количество отрицательных зарядов молекулы пектиновых полисахаридов определяется значением степени этерификации. Каждая пектиновая цепь гидратирована, вытянута и независима, что обуславливает стабильную вязкость растворов солей одновалентных металлов гомогалактуронана. Увеличение кислотности среды приводит к подавлению карбоксильных групп, и, соответственно, понижению их гидратации. В результате уменьшения ионной силы пектиновые макромолекулы не могут отталкиваться друг от друга по всей длине цепи, что приводит к их связыванию и образованию гелей. Кажущиеся значения рК варьируются в зависимости от степени этерификации остатков звеньев галактуроновой кислоты. Так, пектиновые полисахариды с СЭ = 65% имеет pK=3,55, а пектовая кислота с СЭ = 0% - pK = 4,10. Пектиновые полисахариды с более высокой степенью этерификации склонны к гелеобразованию в средах с более высоким значением рН, так как имеют меньше анионов карбоксилов при любом значении рН. Зачастую наблюдается самопроизвольная деградация физико-химических параметров раствора пектиновых полисахаридов, из-за их самопроизвольного разложения путем деэтерификации и деполимеризации. Скорость процесса разложения при этом зависит от значения рН среды, активности воды и температуры среды. В большинстве случаев стабильность физико-химических параметров раствора может быть достигнута при pH = 4. При этом присутствие моносахаридов в растворе пектиновых полисахаридов может оказать защитный эффект, а, повышение температуры, наоборот, увеличивает скорость процесса разложения. При высокой кислотности среды и повышенных температурах в растворе происходит гидролиз гликозидных связей, как раз и приводящий к деградации. Повышенная кислотность также способствует процессу деэтерификации, что обуславливает изменение характеристик высокоэтерифицированных пектиновых полисахаридов и приобретение схожести с характеристиками низкоэтерифицированных пектиновых полисахаридов. В средах с нейтральным значением рН и комнатной температуре высокоэтерифицированные пектиновые полисахариды сохраняют стабильность. При повышении температуры или изменения значения рН среды начинается процесс отщепления,

приводящий к полному разрыву цепи, потере вязкости и способности к гелеобразованию. Низкоэтерифицированные пектиновые полисахариды обладают более высокой стабильностью при данных условиях. Значения pH среды в щелочной области также приводят к довольно быстрой деэтерификации даже при комнатной температуре. Следует отметить, что при хранении во влажных и теплых условиях высокоэтерифицированные пектиновые полисахариды в порошкообразной форме медленно теряют способность к гелеобразованию, тогда как низкоэтерифицированные ППс сохраняют свои свойства [23].

Доказано [24], что пектиновые полисахариды вторичной фитомассы более высокоэтерифицированы, чем полисахариды первичной фитомассы. Степень этерификации пектина, полученного из первичной фитомассы кожуры грейпфрута, составляла 71,72 % в случае экстракции серной кислотой и 70,73 % в случае экстракции лимонной кислотой. Использование вторичной фитомассы в условиях экстракции серной и лимонной кислотами приводило к значениям 74,49% и 75,53%, соответственно. Аналогичная зависимость наблюдалась и для фитомассы кожуры апельсинов.

1.3. Растворимость пектиновых полисахаридов

Авторами работы [25-27] было проведено обширное исследование растворимости образцов пектиновых полисахаридов джекфрута, переведенных в порошкообразную форму разными методами: лиофильной сушкой, распылительной сушкой, сушкой в вакуумной и обычной печи. В качестве сравнения были взяты коммерческие образцы полисахаридов пищевого и аналитического назначения. Было показано, что процесс сушки оказывает значительно влияние на степень растворимости пектиновых полисахаридов p < 0,05. Самая низкая растворимость наблюдалась у образца, переведенного в порошкообразное состояние посредством сушки в вакуумной печи. Наибольшую степень растворимости показал коммерческий образец полисахарида аналитического назначения. Степень растворимости для коммерческого полисахарида пищевого назначения была практически идентична аналогичной у порошков, полученных методами распыления и лиофилизации, что обусловлено наличием более мелких частиц. Порошок, полученный при помощи распылительной сушки, показал лучшую растворимость по сравнению с лиофилизованным, что также связано с большим количеством мелких частиц, образующихся в результате высокоскоростного распыления. Показано, что значение pH среды, варьируемое от 2 до 10, также оказывают значительное влияние на растворимость порошкообразных образцов. Все образцы имели наименьшую степень растворимости при pH = 2. С уменьшением кислотности растворимость возрастала. Полученные данные хорошо согласовывались с литературными, подтверждая влияние pH на стабильность и скорость гидратации высокоэтерифицированных пектиновых полисахаридов [25].

В работе [26] также приведены данные плохой растворимости образцов пектина в воде при pH < 4,0, и показано значительное увеличение растворимости при pH > 7,0. Авторами [27] было обнаружено, что количество отрицательно заряженных свободных карбоксильных групп в высокоэтерифицированных пектиновых полисахаридах увеличивается вместе с увеличением значения pH, что, в свою очередь, приводит к повышению силы отталкивания и образованию слабого геля.

1.4. Вязкость растворов пектиновых полисахаридов

Вязкость растворов пектиновых полисахаридов зависит от молекулярной массы (MM), степени этерификации галактуроновой кислоты, температуры, концентрации, pH, растворителя и др. При увеличении молекулярной массы вязкость, соответственно, возрастает. Макромолекулы пектинов, обладающие большим количеством свободных карбоксильных групп (Кс) способны образовывать ассоциаты, что приводит к увеличению вязкости. При этом наиболее благоприятным является диапазон pH 6,0 -7,0. Минимальные значения вязкости наблюдаются при pH 4,0. Воздействие температуры способно разрушить образовавшиеся ассоциаты, что приводит к снижению вязкости [9, 22].

В работах [28-31] показано, что пектиновые полисахаридов, извлекаемые стандартными методами из таких источников, как корзинки подсолнечника, шелуха какао, кожура папайи, обладают нативным низким значением степени этерификации. Как отмечалось ранее, низко- и высоэтерифицированные пектиновые полисахариды обладают разными реологическими характеристиками, и, соответственно, по-разному проявляют себя в водных растворах и гелеобразном состоянии, что сказывается и на применении. Так, авторы [32] делают упор на несомненную перспективность разработки новых видов пектиновых полисахаридов с новыми реолологическими свойствами для расширения ряда областей применения. Однако, при этом отмечается трудность в исследованиях в данной области. В работе [28] показано, что на реологические характеристики пектиновых полисахаридов влияет не только значение степени этерификации, но и характер распределения свободных и этерифицированных групп основной цепи. Таким образом, наиболее простым подходом к изменению реологических свойств считается деэтерификация пектиновых полисахаридов щелочью или пектинметилэстеразой. Показано [28], что воздействие гидроксильных ионов на атом углерода в карбоксильной группе приводит к распределению свободных и этерифицированных групп остатков звеньев галактуроной кислоты в области гомогалактуронана. Деэтерификация щелочью сопровождается не только реакцией бета-элиминирования, но и реакцией деполимеризации. В отличие от щелочной обработки, обработка пектинметилэстеразой показала более упорядоченный механизм, зависящий от источника фермента [33]. Воздействие пектинметилэстеразы, полученной из растительного сырья, приводило к блочному избирательному распределению остатков звеньев галактуроновой кислоты на гомогалактуронане, а полученной из грибов – к гомогенному распределению.

Авторами [34] показано, что молекулы низкоэтерифицированных пектиновых полисахаридов в водном растворе могут иметь линейную конформацию, что обуславливает зависимость вязкости раствора от длин макромолекулярной цепи. В работе [28] была исследована вязкость низкоэтерифицированных, высокоэтерифицированных и деэтерифицированных пектиновых полисахаридов. При разбавлении увеличение значения приведенной вязкости образцов низкоэтерифицированных пектиновых полисахаридов носило псевдогиперболический характер. Данная зависимость хорошо согласовывается с ранее проведенными работами [34]. Характеристическая вязкость высокоэтерифицированных пектиновых полисахаридов составила 1650 мг/л, а приведенная вязкость увеличивалась по мере разбавления, что связано с увеличением расстояния между молекулами. В случае пектиновых полисахаридов, деэтерифицированных щелочной обработкой при 4 °C до степени этерификации 48,10%, приведённая вязкость резко снижалась на 50%, что объясняется уменьшением молекулярной массы. Дальнейшая деэтерификация до значений 37,83 % и 26,47 % привела к увеличению приведённой вязкости благодаря расширению пектиновой цепи. Однако, дальнейшая деэтерификации до 14,51% приводила к снижению приведенной вязкости. Значения характеристической вязкости деэтерифицированных пектиновых полисахаридов находились в диапазоне от 900 мг/л до 1400 мг/л.

Аналогичный характер наблюдался и для щелочной деэтерификации при 20 °C. В данном случае значения приведённой вязкости были схожи и меньше, по сравнению с высокоэтерифицированными пектиновыми полисахаридами, что обуславливалось снижением межмолекулярных взаимодействий между цепями молекулы пектина из-за их деградации. Дальнейшая обработка привела к снижению значения приведённой вязкости до диапазона 600–1000 мг/л. Так, кривые образцов со степенью этерификации 27,44% и 38,44% представляли собой плоские сигмовидные кривые, что соответствовало их молекулярно-массовым характеристикам.

Приведённая вязкость деэтерифицированных ферментацией пектиновых полисахаридов при каждом разбавлении была близка к вязкости высокоэтерифицированного пектина, что свидетельствовало о том, что возрастающее меж- и внутримолекулярное электростатическое взаимодействие в каком-то роде может компенсировать снижение вязкости, вызванное изменением молекулярной массы. Пектиновые полисахариды деэтерефицированные до 14,67% имели большую приведённую вязкость по сравнению с высокоэтерифицированными. Таким образом, ферментативно деэтерифицированные пектиновые полисахариды в растворе имеют длинные жесткие цепи.

Авторами [35] было проведено исследование влияния модификации пектиновых полисахаридов фенолами на их вязкостные характеристики. Измерения проводили на ротационном реометре. Увеличение скорости сдвига приводило к уменьшению вязкости раствора обычного и модифицированного пектина, что было связано с наличием полисахаридного клубка. Согласно [36] обычный и модифицированный пектины рассматривались как псевдопластические жидкости. Обычный пектин показывал большую вязкость по сравнению с модифицированным при любом сдвиге и концентрации. Следует отметить, что модификация оказала положительное влияние на устойчивость к сдвигу. Поведение модифицированных пектинов было схоже с ньютоновской жидкостью при сдвиге больше 0,0511 с⁻¹, тогда как для обычного пектина данный эффект наблюдался при сдвиге выше 0,0325 с⁻¹. В конкретном случае такое поведение объясняется наличием фенольных соединений в структуре пектина, взаимодействующих друг с другом.

Авторами [37] были исследованы вязкостные характеристики водных растворов низкоэтерифицированных пектинов (СЭ = 45,21 - 50,14 %), полученных кислотным и ферментативным методами из свекловичного прессованного жома, свекловичного силосованного жома, свекловичного высушенного жома, в сравнении с коммерческим цитрусовым пектином. Растворы свекловичных полисахаридов обладали более низким значением вязкостных характеристик, чем раствор полисахаридов из фитомассы цитрусов. Следует отметить, что пектиновые полисахариды, полученные из свекловичного жома ферментативным способом, независимо от вида обработки исходного сырья, имели более высокие вязкостные характеристики. Данный эффект связан с наличием полиэлектролитов, так как они влияют на конформацию макромолекулы и характер взаимодействия противоионов [38]. Наибольшее значение вязкости было отмечено у пектина, полученного ферментативным методом из силосованного свекловичного жома - 40 мПа с и у пектина, полученного ферментативным способом из высушенного свекловичного жома - 18 мПа.с. Наименьшее значение показал пектин, полученный методом кислотной экстракции из высушенного свекловичного жома - 4 м Па·с. Меньшее значение вязкости у полисахаридов, полученных из высушенного сырья может быть обусловлено негативным воздействием процесса сушки [39]. Концентрационзависимость сохраняется и при дальнейшем фракционировании ная

пектиновых полисахаридов [40]. Увеличение концентрации щелочнорастворимой фракции пектиновых полисахаридов выше 0,1 % приводит к возрастанию значения вязкости от 0,002 Па·с до 0,020 Па·с.

Авторами [41] также показано существенное влияние метода получения на вязкостные характеристики пектиновых полисахаридов из джекфрута. Исследования проводились на реометре при скорости сдвига 50 с-1, при постоянной температуре 20 °C. Из исследованных образцов наиболее высоким значением вязкости обладал пектин, полученный при помощи экстракции оксалатом аммония - 0,884 Па·с. Наименьшее значение было отмечено у пектина, экстрагированного при помощи гексаметафосфата натрия – 0,005 Па·с. Следует отметить, что данный образец обладал наименьшей степенью этерификации. Вязкость пектина, полученого кислотным гидролизом, составила 0,347 Па·с. В качестве контрольного образца использовался коммерческий пектин со значением вязкости 0,191 Па·с.

1.5. Гелеобразующая способность пектиновых полисахаридов

Благодаря студнеобразующей способности пектиновые полисахариды широко применяются в пищевой промышленности при производстве мармелада, зефира, конфет, соков, нектаров, йогуртов и т.д. Основным фактором, влияющим на прочность студня и его термостабильность, является степень этерификации (СЭ). Пектиновые вещества с высокой СЭ образуют водородные связи с участием недиссоциированных Кс, формируя студень. Низкоэтерифицированные ППс способны к гелеобразованию в присутствии сшивающего агента (ионов поливалентных металлов). Образование студня при этом происходит путём взаимодействия Кс с ионами кальция или цинка [42, 43, 44].

Гелеобразующая способность пектиновых полисахаридов зависит не только от их структуры, но и от множества других факторов, таких как концентрация полисахарида, концентрация и наличие других сахаров, присутствие сшивающих агентов, температура и pH среды. Структура пектиновых гелей зависит от степени этерификации, процента остатков галактуроновой кислоты, содержащих одну ацетильную группу, степени амидирования, молекулярной массы и гетерогенности полимерных цепей. В ходе процесса гелеобразования происходит формирование трехмерных сетей, удерживающих молекулы воды и растворенных пектиновых веществ [45].

Гелеобразование для высокоэтерифицированных и низкоэтерифицитрованных пектиновых полисахаридов протекает по разным механизмам. Высокоэтерифицированные пектиновые полисахариды склонны к гелеобразованию при pH < 3,5 и при высоких концентрациях сахарозы (> 55%) [45, 46]. Кислая среда способствует снижению диссоциации карбоксильных групп остатков звеньев галактуроновой кислоты, что приводит к уменьшению электростатических сил отталкивания между полимерными цепями. При высоких концентрациях сахарозы снижается гидратации пектиновых макромолекул. Немаловажную роль в процессе гелеобразования играют водородные и гидрофобные силы [45].

Низкоэтерифицированные пектиновые полисахариды образуют гели в присутствии катионов двухвалентных металлов, например, Ca²⁺. В этом случае оптимальное значение pH находится в диапазоне от 2 до 6, и процесс протекает без присутствия сахарозы. Уменьшение концентрации ионов Ca²⁺ возможно за счет повышения ионной силы системы [45]. Авторами [47] был изучен процесс гелеобразования низкоэтерифицированных пектиновых полисахаридов в щелочной среде. Показано, что твердость геля увеличивалась по мере увеличения значения pH с 3,5 до 8,5, что обусловлено увеличением степени диссоциации остатков звеньев галактуроновой кислоты и последующего процесса деэтерификации карбоксильных групп. Однако, при pH = 9,5, твердость геля снижалась из-за уменьшения молекулярной массы в результате реакции β -элиминирования.

Механизм гелеобразования у низкоэтерифицированных пектиновых полисахаридов практически аналогичен модели «egg-box», описывающей сшивку ионами Ca²⁺ полисахаридов [45]. Было предложено несколько моделей, описывающих структуру в гелях. Первая модель описывает энтропийный гель, представляющий собой сетку с протяжённой сшивкой. Вторая модель описывает энтальпийный гель, представляющий собой разветвленную волокнистую структуру.

Было изучено влияние деэтерификации пектиновых полисахаридов с разной степенью этерификации и абсолютной степенью блочности на

характеристики пектиновых гелей, сшитых ионами кальция в разной концентрации. Степень блочности связана с количеством свободных остатков звеньев галактуроновой кислоты по сравнению с её общим количеством. Установлено, что полисахариды с очень низкой степенью этерификации, порядка 10,1 -14,9% и степенью блочности 64,4 - 79,4% образовывают достаточно прочные гели при различных концентрациях Ca²⁺. На процесс гелеобразования также влияет распределение заряженных карбоксильных групп [45].

Был исследован процесс гелеобразования низкоэтерифицрованных пектиновых полисахаридов в кислой среде без присутствия ионов Ca²⁺. Было предположено, что гелеобразование связано с димеризацией антипараллельных полимерных цепей, образующих тройные спирали. Данная связь имеет очень важное значение в средах с высокой кислотностью, так как в кислых средах происходит протонирование карбоксильных групп, обуславливающее уменьшение электростатического отталкивания. Незаряженные карбоксильные группы при этом могут образовывать водородные связи внутри молекулы полимера между двумя соседними цепями [45]. Пектиновые полисахариды обладают комплексообразующей способностью по отношению к ионам радионуклидов и тяжёлых металлов, что обуславливает их широкое применение в медицине в качестве безопасных и высокоэффективных энтеросорбентов [9, 22, 48, 49]. Наибольшей сорбционной активностью обладают ППс с низкой степенью этерификации, т.к. она влияет на линейную плотность зарядов макромолекул пектиновых полисахаридов. В высокоэтерифицированных пектиновых полисахаридах, имеющих степень этерификации более 50%, свободные карбоксильные группы, содержащие атомы С₆, удалены друг от друга на значительное расстояние. Увеличение количества свободных карбоксильных групп и, соответственно, увеличение макромолекулярного заряда, приводит к возрастанию катионной связи ППс [9, 22].

1.6. Сорбционная способность пектиновых полисахаридов

Присущие пектиновым полисахаридам уникальные свойства позволяют им образовывать комплексы с ионами тяжёлых металлов и органическими катионами. Для органических катионов ключевую роль играет

26

электростатическое взаимодействие и индуцированная им сила Ван-дер-Ваальса. На процесс связывания ионов тяжёлых металлов могут влиять как электростатическое притяжение, так и координация функциональных групп. Диссоциированные карбоксильные группы в первую очередь связывают ионы тяжелых металлов за счет электростатического взаимодействия, но также могут выступать в роли координационных центров. Заряженные гидроксильные группы также могут быть задействованы как центры координационных соединений. Координационная способность зависит, как от содержания гидроксильных и карбоксильных групп, так и от радиуса внешней занятой орбитали ионов тяжелых металлов. Авторами [50] было показано, что сорбционная способность пектиновых полисахаридов модифицированных акриламидом-2-метилпропансульфонатом и акриламидом с включением серебра по отношению к ионам меди и свинца составила 1,747 ммоль/г и 0,627 ммоль/г. соответственно. Данные значения могут быть обусловлены тем, что радиус внешней орбитали свинца значительно больше такового у меди, что приводит к большему электростатическому отталкиванию. В другом случае [51] аналогичный образец без включения серебра, использовался для селективного связывания ионов серебра в среде с присутствием 27 видов ионов металлов. Более высокая плотность активных центров, по сравнению с ионами Cd²⁺, Ba²⁺, Pb²⁺ и Bi³⁺, наблюдалась у ионов серебра Ag⁺, координационное число которых было равно 2. Исследования конфигурации и
онов $\rm Cu^{2+},\, Cr^{3+},\, Mn^{2+},\, Co^{2+}$ и $\rm Ni^{2+}$ методом ЭПР [52] показали, что координационные числа равны 6, 4, 4, 5 и 4 соответственно. Сама вероятная конфигурация координационных комплексов ионов металлов представляла собой искажённую квадратно-плоскую, тетрагонально-пирамидальную и тетраэдрическую конфигурации. Было установлено, что атомы поливалентных металлов были координированы с кислородом в гидроксильных и карбоксильных группах пектиновой молекулы, а также с кислородом в гидроксильной группе молекулы воды. Также, была отмечено наличие межцепочечного двуядерного мостика карбоксильных групп у координационных комплексов Cu(II), Co(II), Ni(II), Cr(III), Mn(II) и присутствие молекул воды. Показана важность карбоксильных групп для координации в сорбционных процессах. Отмечено [52] процесс ЧТО формирования

комплексов на основе пектиновых полисахаридов может происходить за счет реакции этерификации, амидирования, силанизации, этерификации, окисления и прививки, приводящих к уменьшению количества гидроксильных и карбоксильных групп и ухудшению координации.

Также было установлено [53, 54], что пектиновые полисахариды, полученные из свекловичного жома, цитрусовых, топинамбура и морской травы по сравнению с модифицированными пектинами из аналогичных источников, обладают большей сорбционной ёмкостью по отношению к Hg^{2+} , Pb^{2+} и Cd^{2+} . Данный эффект может быть связан с образованием оболочки, блокирующей контакты между активными центрами и ионами тяжелых металлов. Аналогичный эффект наблюдался в работе [55], в которой пектиновые полисахариды выступали эталоном по сравнению с модифицированными. Модификация посредством деэтерификации, повлиявшей не только на степень этерификации, но и молекулярную массу, позволила повысить сорбционную способность по отношению к ионам Cd^{2+} и Pb^{2+} с 183,44 мг/г до 268,30 мг/г и с 598,39 мг/г до 652,27 мг/г соответственно. Данные результаты подтверждают, что способность связывать ионы в основном обеспечивается неэтерифицированными группами остатков галактуроной кислоты увеличивая вероятность образования зон соединения [56, 57].

Авторами [58] показано, что ферментативная модификация пектиновых полисахаридов позволяет в наибольшей степени повысить сорбционную ёмкость по отношению к ионам Fe^{2+} за счет увеличения числа неэтерифицированных групп. Однако, авторами [59] был получен противоречивый результат на примере связывания ионов Pb^{2+} . В работе [60] показана возможность увеличения сорбционной способности пектиновых полисахаридов по отношению к ионам Pb^{2+} от 163,93 мг/г до 263,15 мг/г. за счет ферментативной модификации под давлением. Таким образом, можно предположить, что пектиновые полисахариды с более низким значением молекулярной массой имеют большее количество свободных карбоксильных и гидроксильных групп, что способствует формированию нативной модели «egg box». Более длинная молекулярная цепь пектина приводит к формированию твердой гелевой сетки,

представляющей собой оболочку, оказывающую меньшее воздействие на центры адсорбции [61].

Возрастание комплексообразующей способности ППс пропорционально числу неэтерифицированных карбоксилов и увеличению pH. Таким образом, подсолнечный пектин при значении pH 1,8-2,0 способен связывать ионы стронция в количестве 28,5%. Понижение кислотности до pH равного 7,6-7,7 значительно увеличивает сорбционную ёмкость по отношению к стронцию, позволяя сорбировать уже 72% ионов. Металлосвязывающая активность находится в обратно пропорциональной зависимости от его концентрации, так в растворе при взаимодействии 1 части ионов кобальта с 10-ю частями пектина, полученного из подсолнечника, связывается около 7,8% металла, а при соотношении 1:100 – 80,2%. У цитрусовых и яблочных пектинов, имеющих более высокую СЭ, по сравнению с подсолнечным пектином, способность связывать ионы металлов на 20-30% ниже [62]. Сорбционную, гипохолестеринемическую, антиоксидантную. антигипоксическую активность, а также радионуклидсвязывающую способность пектиновых полисахаридов возможно увеличить путём деминерализации и деметоксилирования [63].

На химическое строение и, соответственно, на физико-химические свойства пектиновых полисахаридов влияет не только вид фитомассы, но также способ и условия его получения [64-85]. В следующем разделе дан краткий обзор существующих на сегодняшний день методов получения ППс.

1.7. Способы получения пектиновых полисахаридов

В настоящее время существует ряд методов получения ППс, основанных на экстрагировании измельченной высушенной фитомассы горячей водой, растворами органических и неорганических кислот, фильтрации, упаривании экстракта в вакууме, осаждении пектина из экстракта, с последующим отделением или сушкой [86].

Экстракционный процесс определяется видом сырья, гидролизующим агентом и технологическими параметрами ведения процесса гидролиза-экстракции ППс (pH реакционного раствора, температура и время обработки, гидромодуль и др.). ППс в фитомассе могут содержаться в растворимой форме, входящей в состав клеточного сока и составляющей 25 % от общего содержания пектина, и нерастворимой форме (75 % от общего содержания) [86]. Этим обуславливается двухстадийный процесс получения целевых продуктов из растительной клеточной стенки. Первая стадия представляет собой гидролиз ПП, переводящий нерастворимую форму ППс в растворимую. Вторая стадия включает процессы экстракции и диффузии из клеточной стенки в раствор молекул растворимой формы ППс.

Зачастую технология получения пектиновых полисахаридов подразумевает объединение процессов гидролиза и экстрагирования, означающее одновременный разрыв связей протопектина и диффузию молекул ППс в раствор. Исключением является технология производства ППс из свекловичного жома, подразумевающая гидролиз и экстрагирование как две самостоятельные стадии [87].

На процесс извлечения пектиновых полисахаридов, вне зависимости от происхождения сырья, значительное влияние оказывает кислотность среды (pH), температура (T), гидромодуль (q) (соотношение объема твердой и жидкой фаз), продолжительность процесса (t) и используемый гидролизующий агент. Процесс гидролиза ПП начинается при 60°С и продолжает значительно интенсифицироваться при дальнейшем возрастании температуры [5, 9, 22, 87]. Процесс разрушения молекулы ППс начинается при температуре выше 105°С [88, 89]. Процесс гидролиз-экстракции протопектина зависит от вида фитомассы и соответственно протекает по-разному, из-за особенностей структуры клеток, энергии активации эфирной связи между пектиновыми макромолекулами и клетчаткой. Необходимо подобрать ионную силу раствора, так как извлечение ППс из сырья возможно только в случае разрушения надмолекулярной комплексной структуры клеточной стенки, которое происходит при определенных значениях рН. Самой эффективной является экстракция, проходящая в сильнокислой среде (pH 0.6-2.0) при зависящей от типа сырья температуре в пределах $(50 - 90)^{\circ}$ С, при продолжительности процесса от 20 минут до 3,5 ч и гидромодуле (сырье/гидролизующий агент) 1 : 5 – 1 : 30.

Критериями эффективности процесса извлечения ППс являются значения основных физико-химических свойств (степень этерификации, содержание звеньев галактуроновой кислоты, молекулярная масса, полидисперсность) и значение выхода целевого продукта. Большинство научных работ рассматривает в качестве целевого продукта пищевой пектин, соответствующий по физико-химическим свойствам нормативной документации.

Кислотная гидролиз-экстракция

Кислотная гидролиз-экстракция является стандартной классической методикой извлечения ППс и пектина, ставшей не только эталоном сравнения, но и основой для более эффективных и «зелёных» методов.

Кислотная гидролиз-экстракция поздразумевая создание в растворе соответствующего значения pH, для чего, в качестве гидролизующего агента, применяются разбавленные водные кислоты различных концентраций: щавелевая, соляная, азотная, молочная, ортофосфорная, серная, сернистая, уксусная, лимонная, винная [90-91]. Экстрагирование в раствор и превращение ПП в растворимую форму происходит благодаря воздействию гидролизующего агента. Данный механизм представляет собой предмет споров, так как одни исследователи полагают, что под воздействием кислоты из ПП удаляются многовалентные катионы, а другие, что происходит гидролиз комплекса целлюлоза-пектин [87-93].

Вид химических реагентов и режим процесса гидролиз-экстракции подбирают в зависимости от вида пектинсодержащей фитомассы. Минимальный выход целевых продуктов наблюдается при использовании лимонной кислоты. Использование минеральных кислот показало больший выход, но данный метод приводит к большой загазованности помещения. Серная и сернистая кислоты обладают весьма высокой корродирующей способностью. Например, наиболее оптимальный выход пектиновых полисахаридов из сульфитированных яблочных выжимок был достигнут при помощи соляной кислоты при pH 1,6-1,8, температуре 95°С и продолжительности 1 ч. Было выявлено, что природа кислоты и значения pH не оказывают такого сильного влияния на качественные и количественные характеристики целевого продукта в отличие от величины и времени воздействия температуры [22]. Оптимальным гидролизующим агентом для экстрагирования из хлопковой створки является 0,5%-ная щавелевая кислота [94], позволяющая извлекать высокоэтерифицированные пектиновые полисахариды с максимальной массовой долей метоксильных групп (5,2%). Оптимальными параметрами процесса экстрагирования из хлопковой створки являются: щавелевая кислота с концентрацией 0,5 %, гидролиз при температуре 80-85°C и гидромодуль процесса в соотношении 1:(8÷10) [94].

Для получения свекловичного пектина применяют 1,1-1,5% соляную кислоту [95, 96], а гидролиз-экстракцию проводят в течение 120 минут при гидромодуле 1:(15÷16) и температуре 75-76°С. Установлено, что деградацию макромолекулы пектина и снижение значения степени этерификации возможно предотвратить при использовании в качестве гидролизующего агента уксусной кислоты [9, 22].

Экстракцию пектиновых полисахаридов из корзинок подсолнечника возможно проводить при помощи соляной кислоты, щавелевокислого аммония, смеси фосфорной и щавелевой кислот [97-99]. Экстрагирование пектиновых полисахаридов из выжимок цитруса эффективно при использовании в качестве гидролизующего агента азотной, соляной, серной, лимонной, сернистой, фосфорной и уксусной кислот [100-102], при температуре от 60 до 95°C, продолжительности 60-120 минут, pH от 1,6 до 2,0.

Сырье, содержащее высокий процент катехинов, подвергается предварительной экстракции 3% водным раствором хлорида натрия, для полного их удаления. При проведении кислотной экстракции наблюдается выраженная склонность пектиновых полисахаридов к кислотному гидролизу, что отрицательно сказывается на степени их желирования. Данный факт ограничивает возможности снижения значения pH, роста температуры и времени продолжительности экстракции. Гидролизующая способность наиболее сильно проявляется у соляной кислоты, наименее у лимонной. Применение таких нейтральных экстрагентов, как водный оксалат аммония, возможно при лабораторных условиях, однако данная концепция требует повышения температуры до 100°С, что оказывает явственный отрицательный эффект на качество пектина. Эффективным оказался гидролиз соляной кислотой яблочных выжимок, предварительно подвергнутых набуханию в растворе уксусной кислоты с pH (4,0-4,5) [22, 103]. Эффективным является способ получения пектиновых полисахаридов при котором исходное сырье промывают раствором соляной кислоты с pH (5,6-6,0), а кислотное гидролиз-экстрагирование проводится путём внесения в него (0,1-0,15)% растворов азотной и соляной кислот до значения pH смеси, равного 4,0. Смесь выдерживают (10 - 15) минут и вносят (0,2 - 0,3)% раствор фосфорной кислоты, доводя значение pH до (2,0-2,5). Для концентрирования и очистки полученного экстракта применяют ультрафильтрацию до (5-6) %-го пектинового концентрата со значением чистоты не менее 90%, и значением молекулярной массы – 20 кДа. Для высушивания используется распылительная сушка [104].

Солевая экстракция

По сравнению с методами кислотного гидролиза, существующие способы солевой экстракции крайне ограничены. Наиболее известен метод, используемый для получения очищенных пектиновых полисахаридов из фруктовых выжимок, подразумевает одновременное проведение экстракции 1%ым водным раствором оксалата аммония и измельчение сырья продолжительностью 10 минут при соотношении гидромодуля 1 : 20, с последующей фильтрацией и вакуумным концентрированием полученного экстракта. Осаждение пектиновых полисахаридов из раствора производят этанолом, после чего высушивают. Далее следует обработка водным раствором аммиака при значении рН 10,5 и соотношении гидромодуля 1 : 10 с продолжительностью 2 ч. Реакционную смесь доводят до рН 2, путём добавления соляной кислоты, далее выдерживают в течение часа при температуре 18°С, после чего выделяют пектиновые полисахариды, имеющий комплексообразующую способность по отношению к ионам свинца 922,77 мг/г [22].

Гидролиз-экстракция методом механохимии

Механохимический метод [105] подразумевает водную экстракцию фитомассы путем пропускания через роторно-вальцовый аппарат, при температуре 25 – 75°С, гидромодуле - 1:8 – 1:30. Смесь обрабатывают в течение 30-60 минут до равновесного набухания, далее обрабатывают по традиционной схеме. Результатом механоактивационной сырьевой обработки является повышенная, по сравнению с кислотным гидролизом, эффективность процесса гидролиза ПП в растворимый пектин и экстракция обычной водой пектиновых веществ [106].

Применение электроактивированной воды для получения пектина

Применение воды в качестве гидролизующего агента остаётся актуальной проблемой. Электроактивированная вода является довольно эффективным экстрагентом. Ряд технологий экстрагирования пектиновых веществ предусматривает обработку сырья ультразвуковыми волнами. Такой метод позволяет сократить время продолжительности экстрагирования до 2-5 минут. Благодаря ультразвуку в жидкой среде создаётся эффект кавитации, означающий образование мельчайших пузырьков, при схлопывании совершающих механическую работу, в том числе и разрушение клеточных стенок сырья [107-109]. Оптимальные значения проведения всего процесса гидролиз-экстракции с целью получения пектина с помощью электроактивированной воды (ЭАВ). имеют следующий вид: pH 1,5, t=80°C, продолжительность гидролиза - 1,5 ч, продолжительность экстракции - 0,5 ч, гидромодуль гидролиза 1:10, гидромодуль экстракции 1:6. Повышение значения соотношения твёрдой и жидкой фаз (q) выше оптимального приводит к разбавлению общего экстракта, что затрудняет выделение пектиновых веществ и отрицательно влияет на их выход. Двухстадийный процесс извлечения с использованием ЭАВ, позволяет получить пектин из яблочных выжимок с увеличенным выходом и повышенной студнеобразующей способностью [110, 111]. Исследовалась электрохимическая активация (ЭХА) при униполярной (катодной или анодной) обработке воды электрохимическим способом в электрохимическом реакторе диафрагменного типа. В результате католит был насыщен продуктами катодных электрохимических реакций, а анолит - продуктами окисления, что позволяло использовать его в качестве гидролизующего агента. Авторами установлено, что наиболее благоприятно использование анолита с pH 2 при температуре 353 К и продолжительности гидролиза 90 минут [112-114].

Ферментативный гидролиз

Ферментолиз позволяет проводить процесс гидролиз-экстракции в мягких условиях, обеспечивающих высокий выход пектиновых полисахаридов. Ферментные препараты подразделяются на три группы [115]: - препараты, гидролизующие целлюлозы и гемицеллюлозы, тем самым освобождая полисахарид от структурных связей и увеличивая его выход;

- ферменты, мацерирующие структуру пектиновой молекулы, переводя нерастворимую форму полисахарида в растворимую;

- группа ферментов, способствующих отщеплению в молекулах пектиновых веществ метоксильных групп, тем самым способствуя накоплению карбоксильных групп. Данная группа ферментов, значительно понижающая степень этерификации, улучшая тем самым комплексообразующую способность пектиновых веществ, относится к пектинэстеразам, широко используемым для получения пектиновых веществ медицинского назначения [115, 116]. Традиционным источником получения ферментных препаратов являются плесневые грибы [116, 117].

Технология получения пектиновых веществ позволяет использовать ферментные препараты на различных стадиях. Ферменты первой группы (по вышеприведенной классификации) обычно применяются на стадии подготовки сырья к извлечению. Дополнительную обработку сырья продолжительностью (30-60) мин. при температуре в диапазоне от 35 до 45°С перед гидролизом проводили при помощи (0,1-0,3) % водного раствора ферментного препарата пектолитического типа [117]. На стадии гидролиза обычно вводят мацерирующие ферменты (второй группы) [118, 119]. Применение ферментных препаратов на этапе гидролиза подразумевает его проведение в более щадящем режиме: при температуре (35-45)°С, рН – (4,5-4,6), и продолжительности (6-12) часов [120]. Такие параметры позволяют получить пектины с разной молекулярной массой и степенью этерификации, с выходом продукта на (20-25)%. Третья группа ферментных препаратов применяется для получения модифицированных пектинов. Возможно получение низкометоксилированного пектина из высокометоксилированного при помощи пектинэстеразы [121, 122]. Обработка пектина из яблочных выжимок пектинэстеразой общей продолжительностью (3-5) часов понижает степень метоксилирования до 39 %, никак не влияя на значения молекулярной массы и желирующей способности [122]. Оптимальными условиями деэтерификации при помощи грибной пектинэстеразы являются: температура - 40°С, pH - 5,0, продолжительность -60

35

мин., доза препарата 30 ед./100 см³ экстракта. Пектин, полученный данным методом, в пересчете на полигалактуроновую кислоту отличается повышенной степенью чистоты и повышенной комплексообразующей способностью. Метод получения модифицированного пектина, заключающийся в двухстадийной обработке ферментными препаратами исходного сырья показал хорошую эффективность [123].

Получение модифицированного пектина по методу, подразумевающим двухстадийную обработку ферментными препаратами [115, 124], позволяет избежать использования кислотоустойчивого оборудования, т.к. метод исключает этап воздействия жестких химических реагентов, протекающий в режимах высоких температур с использованием органических кислот. Ферментативный метод извлечения пектина из растительного сырья является весьма перспективным, так как не требует использования сложного и дорогостоящего оборудования, протекает при более мягких условиях. Однако, несмотря на свою перспективность, не получил широкого внедрения в производство ввиду высокой стоимости ферментных препаратов и трудности их получения. Ферменты можно получать непосредственно из растений, однако наиболее широкое применение получили микробиологические ферменты, основными представителями которых являются Aspergillus niger, Kluyveromyces marxianus, Trychoderma spp. и др.

Данный метод предполагает использование витаминов, некоторых минеральных солей и ферментативных кофактров в качестве активирующих добавок [120, 121]. Активация пектинэстеразы происходит под воздействием ионов Ca²⁺ и Mg²⁺ [122, 123]. Ферментативная обработка пектинсодержащего сырья способствует сохранению нативных свойств пектина [123, 124]. Комплексную обработку ферментными препаратами в сочетании с высокой температурой применяют для повышения степени извлечения пектиновых веществ, входящих в состав арабаногалактуронового комплекса, и их очистки от полисахаридных примесей [123, 124-126].

Гидролиз-экстракция в кавитационном режиме

Явление кавитации представляет большой интерес для получения пектиновых веществ и может эффективно применяться для их извлечения из

36
растительного сырья. Эффективному извлечению целевых продуктов с помощью кавитации может способствовать применение роторно-кавитационых аппаратов различной конструкции, включающей цилиндрическую ёмкость, выполняющую роль статора и ротора. Скорость вращения ротора в диапазоне (40-100) с⁻¹ ((2400-6000) об/мин.) приводит к возникновению в объёме кавитационных пузырьков и микрокумулятивных потоков, под действием которых происходит измельчение обрабатываемого материала. Быстрое чередование совмещенных и не совмещенных отверстий вызывает пульсацию, что, в свою очередь, и приводит к кавитации [127-131].

Роторно-кавитационный аппарат даёт возможность одновременного протекания процессов измельчения растительного сырья, гидролиза фракции протопектина и экстракции пектина в раствор в оптимальных условиях. В качестве гидролизующего агента и экстрагента выступает вода, с приобретенными благодаря активации под действием кавитации каталитическими свойствами.

Кинетические параметры процесса экстракции зависят от природы сырья, гидромодуля, температуры, pH среды, и интенсивности кавитации. Максимально эффективная экстракция пектиновых веществ (80-95%) возможна при гидромодуле (1:6 ÷ 1:10), pH - 4, интенсивности кавитации (1,1-1,9) времени (15-20) мин. и температуре – (45-50)°C [129]. Нейтральная среда способствует повышению качества продукта, в чём и заключается преимущества данного метода.

Гидролиз-экстракция в электрическом поле

Преимуществом получения пектина при помощи электрического поля является возможность работы с разнообразными видами сырья (выжимки яблок, цитрусовых, мандаринов) и отказ от применения в процессе химических реагентов, однако возникающая необходимость в использовании довольно высокого напряжения (400 В) ограничивает возможность её промышленного применения [132-136].

Гидролиз-экстракция в динамическом режиме

Большое количество современной научной литературы посвящено совершенствованию методов извлечения пектиновых полисахаридов,

37

направленных на повышение эффективности, без изменения их нативной структуры. Разработанные на сегодняшний день методы объединяет концепция предотвращения разрушения проэкстрагированных пектиновых макромолекул от излишнего воздействия на них температуры и pH гидролизующего агента посредством вывода их из системы фитомасса : гидролизующий раствор.В данном аспекте наиболее перспективными являются методы, основанные на процессах, протекающих в движущемся реакционном растворе.

Авторами [137] был разработан метод для одновременного извлечения пектина и каррагинана. В результате удалось получить продукт с относительно высокой степень чистоты, не требующий дальнейшей стадии фильтрации всего объёма полученного раствора гидролизата. Было установлено [137, 138], что зачастую низкая температура процесса извлечения в потоке раствора-гидролизата не позволяет добиться полного извлечения пектиновых полисахаридов. Применение растворов щелочи в качестве гидролизующего агента инициирует механизм β-элиминирования и деэтерификации, и, следовательно, к деградации пектиновой макромолекулы и ухудшению качества целевого продукта. В работах [138, 139] показана возможность получения олигогалактуронида – пектина с низкой молекулярной массой. Извлечение проводили в аппарате проточного типа, состоящего из системы термостатирования, загрузочного узла, трёхсекционную рабочую камеру. Секции в рабочей камере разделяются перегородками на отделение для ввода гидролизующего агента раствора минеральной кислоты, отделение гидролиза и отделение вывода раствора-гидролизата. Температурный диапазон процесса составляет от 70 до 100 ^оС. Раствор-гидролизат нейтрализуют до рН = 4,0. Далее из раствора-гидролизата осаждают низкомолекулярную фракцию плимеров. Доказана технологичная эффективность предложенного метода для получения низкомолекулярных нативных олигогалактуронидов с молекулярной массой 1 – 5 кДа – выход целевого продукта составляет 87,5 – 93,1 % .

Авторами [138, 139] доказана принципиальная возможность увеличения выхода качественного целевого продукта благодаря существенному снижению времени пребывания исходного сырья в гидролизующем агенте благодаря движению реакционной среды в аппарате проточного типа. Молекулярная масса менее 5 кДа олигогалактуронидов обеспечивает большую скорость диффузии через полисахаридный гель, по сравнению с веществами, обладающими большей молекулярной массой, что в свою очередь и увеличивает выход целевого продукта. Ещё одним преимуществом является моделирование условий процесса хроматографии, возникающее из-за разности скорости процессов сорбции и десорбции низкомолекуляных олигогалактуронидов на высокомолекулярных пектиновых полисахаридах и пектиновом геле.

Доказано [137-139], что поток гидролизующего агента при гидролизэкстракции пектиновых полисахаридов приводит к существенному изменению диффузионных процессов, происходящих в системе растительная клетка : гидролизующий агент, влияя тем самым на выход и структуру целевого продукта. Методы на основе потока реакционного раствора открывают большие перспективы в изучении механизма процесса распада нативного протопектина и его строения, являющиеся недостаточно изученными на сегодняшний день.

Комбинированные методы извлечения пектиновых полисахаридов

Большинство новых методов получения базируется на комбинации различных процессов и ранее известных методов. Данный подход объясняется как особенностью фитомассы, так и выраженной эффективностью совмещения двух или более процессов. Например, доказана эффективность комбинирования ультразвуковых процессов с микроволновым излучением и ферментативной экстракцией. Данные комбинации способны значительно улучшить техно-функциональное качество пектиновых полисахаридов, повышая их терапевтическую функцию.

Комбинированный метод был применен для экстракции пектиновых полисахаридов из фитомассы сизаля и показал наилучшие результаты по сравнению с другими. В данном подходе фитомасса подвергалась ультразвуковому облучению после обработки ферментативным раствором (Celluclast). Метод позволил увеличить выход пектина на 31,1% по отношению к комбинированному методу последовательной обработки ферментом облученной ультразвуком фитомассы. Содержание остатков галактуроновой кислоты в полученном пектине составило 62,88% со степенью этерификации 49,64%. Также, у полученных образцов была отмечена высокая чувствительность вязкоупругих свойств к температуре.

Частым случаем в мировой научной практике является использование разнообразных методов моделирования для постановки эксперимента и комбинации различных процессов в одном методе. Например, методом трёхуровневого планирования эксперимента Бокса-Бенхена авторами был оптимизирован комбинированный метод экстракции пектина сурфатантами под воздействием микроволнового излучения. Были смоделированы оптимальные условия протекания процесса (время облучения, гидромодуль, концентрация гидролизующего агента). Данный подход позволил получить целевые продукты с выходом 32,8% и содержанием звеньев галактуроновой кислоты 78,1% со степенью этерификации 69,8%, что было максимально приближено к расчетным данным и значительно экономичнее по времени и затратам, чем проведение серии экспериментов. Тот же метод применялся для постановки эксперимента по извлечению пектина из вторичной фитомассы сахарной свеклы с заданным содержанием белка.

Метод моделирования Бокса-Бенхена также использовался для поставноки исследований по извлечению, сопутствующих пектиновым полисахаридам, полифенолам из фитомассы чёрной шелковицы. Оптимизированные условия позволили получить пектин с выходом около 10,95% и фенольные соединения с выходом 12,11%. Содержание звеньев галактуроновой кислоты составило 70,15% со степенью этерификации 62,21% со средней молекулярной массой 620,489 кДа.

Одновременное извлечение сопутствующих пектинам полтифенолов также является частой научной практикой. Авторами был продемонстрирован комбинированный метод извлечения пектина, полифенолов и жиных кислот из вторичной фитомассы томатов под высоким гидростатическим давлением и облучением ультразвуком.

Методом исследования поверхности отклика авторами были оптимизированы параметры процесса извлечения пектина из вторичной фитомассы банана. Данный метод моделирования использовался и для оптимизации комбинации экстракции пектина докритической водой под воздействием микроволнового излучения из фитомассы свеклы. Выход пектина составил 24,63%, содержание галактуроновой кислоты 59,12%. Полученный продукт обладал способностью к повышению температуры склеивания в различных исследуемых системах.

Авторами был успешно применен комбинированный метод физико-ферментной экстракции вторичной фитомассы юзы. В данном подходе в качестве физического метода подразумевалась фильтрация суспензии измельченной фитомассы юзы в дистиллированной воде через фильтр Miracloth, состоящий из вискозно-полиэфирного волокна с акриловым связующим, предназначенный для фильтрации очищенных нейтрализованных лизатов во время среднеи крупномасштабной очистки плазмид. После фильтрации суспензия подвергалась автоклавированию при 121 °C в течение 5 минут с последующей ферментативной обработкой Viscozyme® L. Выход низкоэтерифицированного пектина составил 7,3% с содержанием звеньев галактуроновой кислоты 55%. Полученный продукт обладал высокой пастообразующей способностью в системах пшеничная мука-вода, а также обладал пониженной вязкостью.

Авторами было продемонстрирован большой массив данных, полученых при исследовании комбинаций гидролизующих агентов. В данном подходе исследовали влияние кислотно-целлюлазной и щелочно-целлюлазной смесей на выход, структуру и конформацию пектина цитрусовых. Большой массив данных был получен при изучении влияния комбинаций различных процессов для получения пектиновых полисахаридов из цитрусовых. Авторами был продемонстрирован комбинированный метод экстракции кислотной ионной жидкостью Бренстеда под воздействием микроволнового излучения. Данный подход был применён к фитомассе помело для одновременного извлечения пектина, с выходом 291,60 мг/г, и нарингина с выходом 8,38 мг/г.

Следует отменить, что большинство научных работ, упоминающих комбинированный метод извлечения ППс подразумевают многостадийность самого процесса, но не совмещение двух процессов в одном [123-139].

Таким образом, существующие методы получения пектиновых полисахаридов требуют адаптации под определенный вид сырья и требуемые физико-химические параметры целевых продуктов. Поэтому большинство новых методов получения базируется на комбинации различных процессов и ранее известных методов. Например, ультразвуковых процессов с микроволновым излучением и ферментативной экстракцией и т.д. Данный подход объясняется как особенностью фитомассы, так и выраженной эффективностью совмещения двух или более процессов. Учитывая тот факт, что пектиновые полисахариды являются смесью полимергомологов - полимеров одинаковых или обладающих неким сродством по химическому составу и строению молекул (линейные или разветвленные, характер концевых групп и т.д.), для их изучения и практического применения требуется проведение фракционирования. Ввиду практически полной идентичности индивидуальных физических свойств полимергомологов и невозможности применения таких стандартных методов органической химии как возгонка, кристаллизация и фракционная разгонка, это является достаточно сложной задачей.

1.8. Фракции пектиновых полисахаридов и их физико-химические свойства

Несмотря на довольно большой объём проведенных исследований в области изучения структуры пектиновых полисахаридов и разделения их на структурные фракции, в современной литературе отсутствует точное определение фракции пектиновых полисахаридов. Неопределенность номенклатуры в данном случае обусловлена сложностью состава не только самой пектиновой макромолекулы, но и строением стенки растительной клетки.

Традиционное представление об архитектуре растительной клеточной стенки и области локализации протопектина в виде сетчатого матрикса базируется на модели, продемонстрированной в работах [140 - 143], на примере сшивки целлюлозы посредством связи ксилоглюкана с поверхностью её микрофибрилл целлюлозы. Однако, авторы [144] на примере различных покрытосеменных растений предположили, что рамногалактуронан I связан с ксилоглюканом. Что, в свою очередь, согласуется с моделью растительной клеточной стенки, в которой боковые цепи рамногалактуронана I связаны с концами цепи ксилоглюкана, представленной авторами в работе [145]. Также, в работах [146, 147] было показано, что существуют взаимодействия между целлюлозой и пектином, особенно с боковыми цепями нейтральных сахаров в области рамногалактуронана I.

Авторы работ [148,149] уделили большое внимание идентификации наличия существования ксилоглюкановых связей между микрофибриллами целлюлозы. Было предположено, что ксилоглюкан, участвующий в формировании несущей сети, не образует связку, а переплетается с целлюлозой, в результате чего образуются «биомеханические горячие точки» - точки контакта между микрофибриллами целлюлозы, опосредованные ксилоглюканом. Исследования методом автоэмиссионной сканирующей электронной микроскопии позволили визуализировать фибриллы, сшивающие микрофибриллы целлюлозы. Специфичность использованных в исследовании ферментов позволила установить, что микрофибриллы представляют собой именно целлюлозу, а не кислоглюкан [150].

Такая локализация протопектина в клеточной стенке говорит о наличии трёх структурных фракций полисахаридов с различным типом связи [151], расположенных в зависимости от растворимости. Показано [152], что поэтапное воздействие на исходную фитомассу нескольких видов гидролизующих агентов (вода, хелатирующие агенты, щелочь), позволяет избирательно экстрагировать структурные фракции протопектина, используя определенные взаимодействия. Воздействие воды на растительную клеточную стенку позволяет извлечь нерастворимую в спирте, водорастворимую фракцию ППс, связанную с клеточной стенкой неионными и нековалентными связями [153, 154]. Воздействие хелатирующего агента, например циклогексан-транс-1,2-диаминтетрауксусной кислоты (ЦДТА), разрушает связующие кальциевые мостики, что дает возможность извлечь фракцию ППс, взаимодействующую с разбавленными кислотами, и имеющую более низкое значение степени этерификации [153-156]. Воздействие щелочи, например, 0,05–0,1 М Na₂CO₃ или 0,1 М NaOH, позволяет извлечь фракцию ППс, взаимодействующую с другими компонентами клеточной стенки за счёт сложноэфирных и водородных связей [154–160].

Помимо структурных различий, фракции значительно отличаются по содержанию остатков звеньев галактуроновой кислоты, как в зависимости от вида, так и от физиологического развития фитомассы. В работе [161] было установлено, что для моркови сразу после сбора урожая содержание галактуроновой кислоты в водорастворимой фракции составило 20 мг/г, в хелаторастворимой фракции – 65 мг/г и в щелочнорасторимой фракции – 95 мг/г, по отношению к общей массы извлечённой спиртонерастворимой фракции. В течение пяти месяцев хранения при температуре 2 °С содержание галактуроновой кислоты в хелаторастворимой фракции увеличивалось, в водорастворимой фракции увеличивалось только до третьего месяца хранения, после чего уменьшалось, в щелочнорастворимой фракции содержание изменялось незначительно. Увеличение общего содержания галактуроновой кислоты в процессе хранения может быть связано с образованием в растительной клеточной стенки новых полисахаридов [161, 162]. Исследование плодов сливы [163] показало, что содержание галактуроновой кислоты, определяемое как содержание ангидроуроновой кислоты, в аналогичных фракциях намного выше: 523-665 в водорасторимой фракции, 536-845 в хелаторастворимой фракции и 469-780 мг/г в щелочнорастворимой от общей массы спиртонерастворимой фракции. В выжимках сливы содержание галактуроновой кислоты составило 478-690 в водорастворимой фракции, 641-690 в хелаторастворимой фракции и 617-858 мг/г в щелочнорастворимой фракции.

Авторами [164] было исследовано содержание галактуроновой кислоты в структурных фракция голубики, составившее 516 мг/г для водорастворимой фракции, 627 мг/г в хелаторастворимой фракции и 580 мг/г для щелочнорастворимой фракции. Сравнительные исследования содержания галактуроновой кислоты в разных видах фитомассы затруднено из-за применения разных типов растворителей. В работе [165] спиртонерастворимую фракцию ППс получали из свежей сливы с помощью воды, имидазола и карбоната натрия при температуре 4 и 20°С, содержание галактуроновой кислоты составило 48–51, 64–76, 85–87 и 59–61% в пересчёте на общее содержание сахаров в клеточной стенке. В работе [166] для выделения фракций пектиновых полисахаридов из черной смородины и черники использовали натрий-ацетатный буфер, ЭДТА, 0,05 М гидроксид натрия и 6 М гидроксид натрия. Содержание галактуроновой кислоты в черной смородине составило 84, 88, 58 и 6% от общего количества сахаров, соответственно. В чернике содержание галактуроновой кислоты составило 83, 83, 70 и 5 % от общего количества сахаров, соответственно. Степень этерификации остатков звеньев галактуроновой кислоты в структурных фракциях также отличается в зависимости от вида и срока хранения фитомассы. Так значение степени этерификации для водорастворимой фракции пектиновых полисахаридов, полученных из зрелой моркови, составило 71,8–78,8% [161]. Авторами [164] были изучены структурные фракции пектиновых полисахаридов лиофилизованного порошка черники, степень этерификации составила 36%, 28% и 26% для водорастворимой, хелаторастворимой и щелочнорастворимой фракции, соответственно. Изученная в работе [167] степень этерификации структурных фракций свежей и вторичной фитомассы сливы для водорастворимой фракции составила 43-69% и 53-57% соответственно. Для хелаторастворимой фракции значение степени этерификации составило 24–38 % для первичной и 18–39 % для вторичной фитомассы. В работе [165] степень этерификации водорастворимой фракции пектиновых полисахаридов первичной фитомассы сливы составила 36–51 %, а фракции отделенной имидозолом - 65–75 %, 28% для хелаторастворимой фракции и 26% для щелочнорастворимой фракции. Полученные данные также говорят о влиянии используемого для фракционирования агента на степень этерификации пектиновых полисахаридов.

Большое количество работ было посвящено исследованию молекулярной массы структурной фракции пектиновых полисахаридов методами вискозиметрии [168], анализа концевых групп [169] и высокоэффективной эксклюзионной хроматографии (ВЭЖХ) [170]. Метод ВЭЖХ обычно используется для определения молекулярной массы пектина пищевого назначения [171]. На величину молекулярной массы влияет выбранный метод гидролиз-экстракции и вид фитомассы. Молекулярная масса пектиновых полисахаридов, полученных из картофеля различными гидролизующими агентами (уксусная кислота, лимонная кислота, азотная кислота, серная кислота), находилось в диапазоне 2,3-3,2x10⁵ г/моль [172]. Широкий диапазон данных значений обусловлен различным воздействием гидролизующих агентов на растительную клеточную стенку. Среднечисленная молекулярная масса фракций пектиновых

полисахаридов из корзинок подсолнечника, извлеченных с применение оксалата аммония, составила 6х10⁵ г/моль [173]. Исследование молекулярной массы пектиновых полисахаридов из яблочных выжимок [174] показало, что пиковая молекулярная масса хелаторастворимой фракции составила 15х10⁵ г/моль и для щелочнорастворимой 24х10⁵ г/моль, тогда как для коммерческого яблочного пектина молекулярная масса составила 6х10⁵ г/моль.

Методом атомно-силовой микроскопии (АСМ) была исследована молекулярная структура водорастворимой, хелаторастворимой и щелочнорастворимой фракций пектиновых полисахаридов. Водорастворимая фракция, полученная из фитомассы моркови, отличалась высоким содержанием мелкодисперсных пектиновых частиц, с диаметром 22 нм и максимальной высотой 0,2-0,4 нм с редкими вкраплениями вытянутых структур [175]. Короткие пектиновые частицы также включены в структуру водорастворимой фракции пектиновых полисахаридов фитомассы груши [176]. Крупнодисперсные пектиновые частицы и блоки были отмечены в водорастворимой фракции первичной фитомассы персика [177]. Было установлено изменение размера полимерных частиц в водорастворимой фракции пектиновых полисахаридов из фитомассы моркови от продолжительности хранения до 24 нм. В хелаторастворимой фракции пектиновых полисахаридов из корневой фитомассы моркови наблюдалась смесь обеих цепочек и коротких пектиновых частиц. Длина основной цепи пектиновых полисахаридов составила более 400 нм, также отмечалось сильное разветвление пектиновой молекулы. Среднее значение высоты цепочек составило 0,21 нм. Авторами [178] было предположено, что рамногалактуронан I соединяется с цепями гомогалактуронана, тем самым образуя разветвленную структуру хелаторастворимой фракции, о чем свидетельствуют спектры ИК Фурье, с полосами поглощения при 1040, 975 и 945 см⁻¹. Наличие данных полос поглощения связано с присутствием остатков галактозы и арабинозы в рамногалактуронане I. Разветвлённая структура также была отмечена в щелочнорастворимой фракции пектиновых полисахаридов фитомассы груши [176]. Исследование показало [175], что спустя 3 месяца хранения длина боковых цепей щелочнорастворимой фракции пектиновых полисахаридов фитомассы моркови постепенно уменьшалась с увеличением линейных и

коротких цепей. Аналогичные разветвления были обнаружены в щелочнорастворимой фракции пектиновых полисахаридов, полученных из незрелой фитомассы томатов [179]. Длина молекул в данной структуре находилась в диапазоне 20 - 540 нм. Авторами работы [175] было обнаружено, что свежевыделенная щелочнорастворимая фракция пектиновых полисахаридов, нанесенная на подложку из слюды, самоорганизовывалась в регулярную сеть. Высота большинства молекул составила 0,8 нм, среднее значение высоты - 1,2 нм. Метод атомно-силовой микроскопии показал [175] преобладание прямых длинных молекул с боковыми ответвлениями. При этом угол между основной цепью и ветвью был равен 119°. Длинные молекулы имели места изгибов с углом 118° С, образовавшие упорядоченную сеть в щелочнорастворимой фракции. Авторами работы [175] на основании данных ИК Фурье было предположено, что в щелочнорастворимой фракции встречаются звенья арабинозы и галактозы. В работе [176] также была отмечена самоорганизация на подложке щелочнорастворимой фракции пектиновых полисахаридов, полученная из фитомассы груши, в сетку. На рисунке 2 представлены полученные авторами [176] методом атомно-эмиссионной спектроскопии снимки водорастворимой, хелаторастворимой и щелочнорастворимой фракций пектиновых полисахаридов, полученных из фитомассы яблок сорта Айдаред.

Обнаруженные авторами [180] полосы поглощения с высокой интенсивностью в области 1075 и 1047 см⁻¹ дали возможность предположить наличие в щелочнорастворимой фракции рамногалактуронана І. Аналогичные максимумы наблюдались в работе [181] на спектрах ИК Фурье рамногалактуронана І. С увеличением срока хранения фитомассы моркови наблюдалась деградация сетчатой структуры щелочнорастворимой фракции пектиновых полисахаридов до коротких пектиновых полимеров [175]. Авторами [180] методом атомно-эмиссионной спектроскопии были обнаружены линейные и разветвленные структуры в хелаторастворимой и щелочнорастворимой фракциях пектиновых полисахаридов, полученных из первичной фитомассы плодов земляники. Степень разветвленности для обеих фракций составила порядка 9%, в случае щелочнорастворимой фракции наблюдалось более высокое содержание разветвленных молекул.



Рисунок 2 – Снимки атомно-эмиссионной спектроскопии структурных фракций пектиновых полисахаридов фитомассы яблок сорта Айдаред: водорастворимая фракция (WSP) с мелкодисперсными пектиновыми частицами (small pectin polymers), хелаторастворимая фракция (CSP) с цепями (chains) и короткими полимерами (short polymers), щелочнорастворимая фракция (DASP) с самоорганизованной сеткой (self-organized network).

Таким образом, проведенные исследования позволяют сделать вывод о возможности фракционирования пектиновых полисахаридов путем применения разных растворителей. В работе [182] было проведено сравнительное исследование процесса извлечения и фракционирования пектиновых полисахаридов из нерастворимой в спирте вторичной фитомассы томатов. Параллельно проводились поэтапное фракционирование пектинсодержащей массы горячей водой, хелатирующим агентом и слабой щелочи и классическая одностадийная экстракция азотной кислотой при pH = 1,6. Подготовка спиртонерастворимой фракции разработанная авторами [183, 184] и заключалась в трёхкратной минутной обработке 60 г просеянной фитомассы томатов 192 мл технического этанола, дальнейшей фильтрацией под вакуумом и диспергированием в течение 10 минут в техническом ацетоне. Ацетон удалялся вакуумной фильтрацией и осадок высушивался. Метод последовательного фракционирования основывался на работах [155, 159]. После каждой стадии фракционирования целевые продукты разделяли методом центрифугирования на экстрагируемую и неэкстрагируемую фракции. Таким образом авторами было получено 11 фракций пектиновых полисахаридов. Спиртонерастворимая фракция пектинсодержащей фитомассы, была разделена далее методом поэтапного фракционирования на пять фракций пектиновых полисахаридов: спиртонерастворимую пектинсодержащую фитомассу, экстрагируемую водорастворимую фракцию, экстрагируемую хелаторасторимую фракцию, неэкстрагируемую хелаторастворимую фракция, эктрагируемую щелочнорастворимую фракцию, неэкстрагируемую щелочнорастворимую фракцию. Также спиртонерастворимая фракция пектинсодержащей фитомассы была разделена методом кислотной экстракции на экстрагируемую кислотную фракцию и неэкстрагируемую кислотную фракцию, разделенную далее с применением баропроцесса на неэкстрагируемую бароводорастворимую фракцию, экстрагируемую барокислотную фракцию и неэкстрагируемую барокислотную фракцию. Исследования показали, что содержание уроновых кислот и рамногалактуронана I в неэкстрагируемой хелаторастворимой фракции практически идентично неэкстрагируемой кислотной фракции и составляет порядка 23%. Однако, кислотная фракция из-за более жестких условий гидролиза характеризовалась большим содержанием остатков рамногалактуронана I из-за разрыва связей по боковым цепям. Фракции пектиновых полисахаридов, прошедшие все стадии фракционирования, характеризовались наименьшим содержанием уроновых кислот и рамногалактуронана I – около 6%. Разрушающее действие баропроцесса на неэкстрагируемую кислотную фракцию улучшило экстрагируемость фракций пектиновых полисахаридов. Однако остаточное содержание уроновых кислот и рамногалактуронана I, обнаруженное в неэкстрагируемой барокислотной фракции, было выше (10 %), чем в неэкстрагируемой щелочнорастворимой фракции, что указывает на то, что повышение эффективности процесса фракционирования возможно за счет разрыва низкощелочнолабильных связей, чем путем механического разрушения с помощью баропроцесса и кислотной экстракции. Было показано, что после фракционирования слабощелочной средой, а также после водной и кислотной экстракции, интенсифицированной баропроцессом, экстрагированный пектин богаче рамногалактуронаном I и имеет меньшую степень разветвления.

Отмеченные высокие значения молекулярных масс фракций пектиновых полисахаридов, связаны с более сильным взаимодействием. По сравнению со средним значением молекулярной массы пектиновых полисахаридов экстрагируемых фракций, аналогичное значение для пектиновых макромолекул, полученных с применением баропроцесса, значительно выше, что указывает на высвобождение длинных пектиновых макромолекул из пектинсодержащих остатков клеточной стенки томата. Помимо остатков звеньев уроновых кислот, спиртонерастворимая фракция характеризовалась довольно высоким содержанием таких моносахаридов как глюкоза, ксилоза и манноза, которые в основном относятся к остаткам целлюлозы и гемицеллюлозы. Содержание данных полисахаридов в спиртонерастворимой фракции оценивается примерно в 56%. Обширные исследования в работе [182], позволили выявить содержание остатков целлюлозы и гемицеллюлоз до 87–89 %.

От структуры пектиновых полисахаридов зависит их гелеобразующая способность и вязкость, определяющая их применение в пищевой промышленности. Данные параметры во многом зависят от метода гидролиз-экстракции, дальнейшего фракционирования и вида исходной фитомассы. Функциональные свойства фракций пектиновых полисахаридов также зависят от ряда факторов. Было установлено [185, 186], что растворимость в воде зависит от степени этерификации, величины молекулярной массы, количества противоионов в растворе, значения температуры и рН. Авторами показано [187], что пектиновые полисахариды с большей степенью этерификации лучше растворяются в воде, однако, степень растворимости значительно падает при увеличении размера пектиновой макромолекулы. В работе [188, 189] установлено, что повышение температуры в слабокислых и нейтральных условиях приводит к деградации пектиновой макромолекулы, и как следствие, изменение растворимости ввиду инициации реакции β-элиминирования, механизм которой сопряжен с разрывом гликозидных связей в положении С-4 и отщеплением атома водорода в положении С-5 звена галактуроновой кислоты. Результатом данной реакции является образование двойной связи. В работе [187] показано, что увеличение температуры и значения рН, наличие одновалентных солей и ЭДТА, а также высокие значения степени этерификации приводят к увеличению скорости реакции β-элиминирования. Авторами [190] установлено, что водорастворимая фракция пектиновых полисахаридов предварительно обработанной фитомассы моркови больше подвержена реакции β-элиминирования, чем хелаторастворимая и щелочнорастворимая фракции. Данное явление может быть объяснено тем, что степень этерификации остатков звенье

галактуроновой кислоты в водорастворимой фракции значительно превышает значения других фракций. Термическое воздействие при значении pH среды больше 4,5 приводит к потере структуры продукта из-за снижения вязкости.

Как отмечалось ранее, вязкость и способность к гелеобразованию зависят от ряда факторов, в том числе и растворимости. Установлено, что факторы, влияющие на снижение растворимости, увеличивают значения вязкости и способность к гелеобразованию. Авторами [191] показано влияние концентрации и температуры на вязкость растворов пектиновых полисахаридов, полученных из вторичной фитомассы апельсиновых корок. С увеличением концентрации пектиновых полисахаридов наблюдался рост значения вязкости, однако, повышение температуры оказывало обратный эффект. Увеличение концентрации пектиновых полисахаридов приводит к уменьшению межмолекулярных расстояний и усилению таких межмолекулярных взаимодействий, как водородные связи. С ростом температуры возрастает и кинетическая энергия макромолекул, что приводит к увеличению расстояния между ними и снижению вязкости. В работе [192] были представлены три фазы зависимости увеличения вязкости от концентрации пектиновых полисахаридов: разбавленная, полуразбавленная и концентрированная. Такие фазовые состояния являются обычными для любого полимера [193]. В первой фазе концентрация пектиновых полисахаридов находилась в диапазоне от 0 до 1,0 % и, как показано автором [192], межмолекулярные расстояния были слишком велики для макромолекулярного взаимодействия, что и обусловило отсутствие существенных изменений в значениях вязкости. Увеличение концентрации пектиновых полисахаридов во второй фазе в диапазоне значений от 1,0 до 2,5% приводило у уменьшению расстояния между молекулами, и, как следствие, отмечалось значительное увеличение вязкости. Третья фаза концентрационной зависимости в диапазоне значений от 2,5 до 3,5 % приводила к агрегации цепей пектиновых полисахаридов с образованием сети, чем и было обусловлено значительное увеличение вязкости.

В работе [194] были проведены исследования реологических характеристик спиртонерастворимой фракции, водорастворимой фракции, хелаторастворимой фракции и щелочнорастворимой фракции пектиновых

51

полисахаридов, полученных из вторичной фитомассы моркови. Для водорастворимой и хелаторастворимой фракции пектиновых полисахаридов кривые «восходящего» и «нисходящего» потока имели схожий плавный характер, что говорит об отсутствии явления гистерезиса. Щелочнорастворимая фракция, наоборот, характеризовалась образованием петли между «восходящей» и «нисходящей» линией, имеющих при этом достаточно неровный ход. Также, напряжение сдвига для водорастворимой и хелаторастворимой фракции было выше, чем для щелочнорастворимой фракции.

Обработка экспериментальных данных показала, что текучесть фракций хорошо описывается уравнением степенного закона вязкости жидкости. При этом хелаторастворимая фракция показала большую значение коэффициента корреляции. По показателю текучести п в зависимости от времени хранения в диапазоне от 1 до 5 месяцев, пектиновые фракции проявляли как псевдопластические (n<1), так и дилантные (n>1) свойства. Щелочнорастворимая фракция характеризовалась псевдопластическим поведением на протяжении всего срока хранения, тогда как водорастворимая фракция только на протяжении второго и пятого месяца. Вязкостные характеристики водорастворимой фракции из свежей первичной фитомассы демонстрировала дилантный характер. При хранении в течение месяца индекс принимал значения 1,16 и 0,66 в потоке восходящей и исходящий кривой, соответственно, что говорит взаимосвязи дилантного поведения от скорости сдвига. Аналогично водорастворимой фракции, на четвертом месяце хранения хелаторастворимая фракция характеризовалась индексом текучести равном 1,94 и 0,99 на восходящей кривой и нисходящей, соответственно, что обуславливает более низкую псевдопластичность на восходящей кривой. Дилантное поведение наблюдалось у хелаторастворимой фракции из свежей первичной фитомассы, а также на протяжении трёх месяцев хранения. На пятом месяце у хелаторастворимой фракция проявлялось явное псевдопластическое поведение. При этом все фракции пектиновых полисахаридов характеризовались положительной связью между скоростью сдвига и напряжением сдвига, также наблюдалась тенденция к сдвигу вверх с увеличением срока хранения. Данное явление объясняется изменением молекулярной структуры пектиновых полисахаридов при хранении [175] и образованием новых высокоэтерифицированных и разветвленных пектиновых цепей на протяжении всего срока хранения [195].

Показано [194] что срок хранения оказывает значительное влияние на вязкость фракций пектиновых полисахаридов. Наибольшим значением вязкости характеризовалась водорастворимая фракция, особенно на четвертом месяце хранения. У щелочнорастворимой фракции значения увеличивалось на протяжении всего срока хранения. Значения вязкости хелаторастворимой фракции оставались неизменной в течение первых трёх месяцев хранения, а затем резко увеличивалась. Изменения вязкости обусловлены увеличением активность ферментов, в том числе β-Gal и α-Af. Увеличение вязкость хелаторастворимой и щелочнорастворимой фракции пектиновых полисахаридов также может быть связано с активностью арабиназы и галактаназы, модифицирующих боковые цепи. Активность данных ферментов также приводит к формированию более линейной структуры. Также изменение вязкость хелаторастворимой и щелочнорастворимой фракции может быть связано с отсутствием кальциевых мостиков, удалённых при экстракции, наличием водородных связей между линейными остатками основных пектиновых цепей и гидрофобными взаимодействиями метильных групп остатков пектиновых цепей [196]. В щелочнорастворимой фракции наблюдался выраженный тиксотропный эффект. При этом методом дисперсионного анализа не обнаружилось явного влияния срока хранения на величину гистерезиса. Однако, резкий рост значений гистерезиса от 3 до 14% на протяжении пяти месяцев хранения и характер петель, говорит об явной зависимости поведения фракции от структуры и межмолекулярных взаимодействий. Щелочнорастворимая фракция состоит в основном из полисахаридов, связанных с остатками клеточной стенки посредством ковалентных связей, что обуславливает более быстрое восстановление нативной гелевой структуры [197].

В работе [198] показана высокая влагоудерживающая способность спиртонерастворимой пектинсодержащей фракции фитомассы черники, составившая порядка 9,97 мкл/мг, что превышает таковую способность гиалуроновой кислоты (9,61 мкл/мг). Практически идентичные значения показаны авторами [199] для фитомассы цитрусовых - 9,95 мкл/мг, обогащенной пектиновыми полисахаридами [200]. Авторами [198] показан эффект разжижения при сдвиге, связанный с высокой концентрацией спиртонерастворимой фракции пектиновых полисахаридов. А в работах [200, 201] доказано, что пектин и ксилоглюкан способствуют разжижению сдвига.

Таким образом, современные методы фракционирования пектиновых полисахаридов основаны на применении растворителей различного типа в процессах экстракции, дробного растворения, осаждения и т.д. Результаты, полученные рядом исследователей, демонстрируют неоднородность пектиновой макромолекулы, чувствительной к воздействию внешних и внутренних факторов. При этом в настоящее время не существует метода, позволяющего детально изучить, как процесс гидролиз-экстракции компонентов распада протопектина из растительной клеточной стенки, формирования экстрагируемых веществ, так и физико-химические параметры, структуру и свойства полученных продуктов реакции, а также выявить взаимосвязь «структура-свойство», что в значительной мере пролило бы свет на строение одного из представителей сложнейшего класса биополимеров – пектиновых полисахаридов. Решению этой задачи и посвящена настоящая работа.

Глава 2. МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

2.1. Подготовка исходного сырья

Растительное сырьё: альбедо помело, свекловичный жом, корзинки подсолнечника, выжимки яблок различных сортов, выжимки апельсинов, выжимки лимонов, тыквенные выжимки, банановые выжимки тщательно промывают 5-7 раз и высушивают при 30-40°С [202].

2.2. Метод гидролиз-экстракции протопектина в статическом режиме

Измельчённое сырьё помещается в среду гидролизующего агента, отвечающего требованиям по значению pH, с соблюдением гидромодуля 1:20. Продолжительность процесса варьируют при температуре 358 К. Остатки клеточной стенки (КС) отделяют от раствора-гидролизата, промывая её до полного удаления хлорид-ионов, и подвергают процессу сушки при температуре 55-60°С. Охлажденный до 25 °С раствор-гидролизат нейтрализуют до pH=3,5, после чего последовательно разделяют на фракции ППс: микрогель (МГ), пектиновые вещества (ПВ) и олигосахариды (ОС) [202, 203].

2.3. Гидролиз-экстракция протопектина методом комбинированного фракционирования

Измельчённое сырье после набухания помещается в реактор колонного типа. Гидролиз-экстракция проводится при скорости потока 6 мл/мин, продолжительности 60 минут, варьируя pH и температуру в зависимости от требований. Раствор-гидролизат вытекает из системы со скоростью, равной скорости поступления в реактор гидролизующего агента, последовательно собираясь в 8 фракций по 50 мл. Далее фракции разделяются на МГ, ПВ и ОС, аналогично методу гидролиз-экстракции в статическом режиме [203].

2.4. Гидролиз-экстракция протопектина методом барофракционирования

Подготовленное измельчённое и набухшее сырье массой 20 г загружается в экстракционную колонну, аналогичную методу комбинированного

фракционирования, сверху подключается термоблок, в который с помощью нагнетательного насоса под давлением 152 кПа, подаётся гидролизующий агент с необходимым значением рН. Достигая необходимой температуры, пароводяная смесь под давлением поступает в колонну и выводится из системы в виде восьми фракций по 50 мл. Далее каждая фракция разделятся на МГ, ПВ и ОС, аналогично методу гидролиз-экстракции в статическом режиме [204].

2.5. Получение микрогеля

Сетчатый полимер микрогель отделяют от нейтрализованного растворагидролизата на центрифуге (t = 30 мин, v = 4000-7000 об/мин). Полученный набухший гель отделяют от раствора при помощи полиамидного фильтра, трижды промывают 96%-ным спиртом и высушивают при 35-40°C [202-204].

2.6. Получение пектиновых веществ

Раствор-гидролизат после удаления микрогеля осаждают трёхкратным объёмом спирта и оставляют на сутки. Образовавшийся пектиновый гель фильтруют при помощи полиамидного фильтра, промывают этанолом и подвергают процессу сушки, аналогичным для получения микрогеля [203, 204].

2.7. Получение олигосахаридов

Оставшийся после выделения пектиновых веществ водно-спиртовый раствор упаривают на роторном испарителе. Полученный осадок – олигосахариды (низкомолекулярные сахара – моно- и олигосахариды) высушивают при температуре 40-50°C [203, 204].

2.8. Определение содержания звеньев галактуроновой кислоты

Пектиновые полисахариды деметоксилируют при 25 °С. К раствору образца (V = 0,5 мл; C= 0,5 мг/мл) приливают раствор NaOH (V = 2 мл; C= 0,05н), инкубируют (t = 30 минут), затем добавляют раствор HCl (V = 2 мл; C= 0,05н). К деметоксилированному раствору полисахаридов (V = 0,5 мл) добавляют раствор H₃NSO₃ (V = 40 мкл; C = 4M). Готовят раствор тетрабората натрия в серной кислоте (Na₂B₄O₇. 10H₂O х.ч. в 100 мл H₂SO₄ ρ =1,84. Пробирки помещают в сосуд со льдом и приливают по каплям раствор Na₂B₄O₇. 10H₂O х.ч. в

100 мл H₂SO₄ (V = 2,5 мл). Далее пробирки помещают в кипящую водяную баню на 15 минут. После охлаждают пробирки в сосуде с водой и льдом (t = 60 - 90 мин). К охлажденным смесям приливают раствор метагидроксибифенила (V = 80 мкл), инкубируют (t = 3 мин), осторожно перемешивают до появления стабильной окраски (t = 10 – 15 мин). Измеряют оптическую плотность ($\lambda = 525$ нм) [205]. Для расчета процентного содержания остатков галактуроновой кислоты используют формулу (1):

$$X = \frac{a \cdot V \cdot V_2}{H \cdot V_1 \cdot 1000000} \, 100 \quad , \tag{1}$$

где а – содержание ГК в пробе, опрределённое по калибровочной кривой, мкг; Н – масса навески, г; V – объём экстракта, полученного из навески, мл; V₁ – объём пробы, взятый для разведения, мл; V₂ – объём пробы, полученный после разведения, мл; 100 – коэффициент перевода в проценты; 1000000 - коэффициент перевода в граммы.

2.9. Определение степени этерификации

Навеску полисахарида (m = 20 г) смачивают этанолом, приливают воду (V = 20 мл) и перемешивают до полного растворения (t = 90-120 мин). Отбирают аликвоту (V = 10 мл), добавляют индикатор фенолфталеин, титруют раствором NaOH (C = 0,1 н) до изменения цвета раствора на ярко-розовый [206]. Используя формулу (2), определяют содержание свободных карбоксильных групп (кислотное число Кс):

$$Kc = \frac{N_{NaOH} \cdot V_{NaOH} \cdot 0,0045}{0,1 \cdot q} 100 \%$$
 (2)

где V_{NaOH} – объём раствора NaOH нормальности N, израсходованного на титрование пробы, мл; q – масса образца пектинового полисахарида, содержащегося в аликвоте (1 мл 0,1н раствора NaOH соответствует 0,0045 карбоксильных групп), г.

К полученному ранее раствору приливают раствор NaOH (V = 2,5 мл; C = 0,1н), инкубируют для омыления групп (t = 2 ч). Параллельно проводя холостой опыт, титруют образец раствором HCl (C = 0,1н). Используя формулу (3), определяют содержание этерифицированных карбоксильных групп (эфирное число Кэ).

$$K_{\vartheta} = \frac{N_{HCl}(V_{HCl} - V'_{HCl}V) \cdot 0,0045}{0,1 \cdot q} 100\% \quad , \tag{3}$$

где V_{HCI} – объём раствора HCI нормальности N, израсходованного на титрование холостого опыта, мл; V'_{HCI} – объём раствора HCI, израсходованного на титрование пробы, мл; q – масса пектинового полисахарида, содержащегося в аликвоте, г.

Полученные ранее образцы титруют 0,1н раствором NaOH (V'_{NaOH}) (C = 0,1 н) и вычисляют степень этерификации по формуле (4):

$$C\Im = \frac{V'_{NaOH}}{V_{NaOH} + V'_{NaOH}} 100\%$$
(4)

2.10. Определение содержания нейтральных сахаров

Для количественного определения нейтральных сахаров используют метод газовой хроматографии, используя в качестве внутреннего стандарта 2дезокси-D-глюкозу [207, 208]. Для калибровки применяется стандартный набор сахаров. Образцы полисахаридов переводят в ацетаты полиолов, после чего хроматографируют на газовом хроматографе с пламенно-ионизационным детектором. Концентрацию анализируемого компонента Ci (мас .%) определяют по формуле:

$$Ci = \frac{Si \cdot fi \cdot Mst}{Sst \cdot Mm} \cdot 100, \quad (5)$$

где Si – площадь пика компонента і анализируемой смеси; fi- относительный поправочный коэффициент, определяемый по отношению к стандарту; Sst -площадь пика стандарта; Mst, Mm- массы внутреннего стандарта и анализируемой смеси соответственно.

2.11. Определение содержания кальция в пектиновых полисахаридах

Образец (m = 50 г) полностью растворяют в дистиллированной воде (V = 5000 мл). Из отфильтрованного раствора отбирают вытяжку (V = 50 мл), и

добавляют раствор NaOH (V = 2,5 мл; C = 2 н) раствора NaOH, добавляют семь хлорида натрия с индикатором мурексидом (m = 30-40 мг) и титруют в трёх повторностях раствором Трилона Б (C = 0,05н) до видимого стабильного (t = 2-3 мин) изменения окраски раствора на сине-фиолетовую. Титрование повторяют 2-3 раза и берут среднее значение [209]. Взяв среднее значение и используя формулу (6), определяют содержание ионов Ca^{2+} (%):

$$X = \frac{a \cdot V \cdot V_2}{H \cdot V_1 \cdot 1000000} \, 100 \qquad , \tag{6}$$

где А – количество Трилона Б, пошедшее на титрование, мл; Н – нормальность трилона Б; V₁ – исходный объем анализируемого раствора, мл; V₂ – объём анализируемого раствора, взятый для титрования, мл; С – масса навески, г; 0,020 – значение миллиэквивалента кальция, г; 100 – коэффициент пересчета, %.

2.12. Определение вязкости

Образец полисахарида растворяют в водном растворе KCl (C = 1%). Нерастворимую часть отделяют при помощи центрифугирования (7000 об/мин), ее масса учитывается при расчете концентрации. Далее в вискозиметре Уббелоде измеряют время течения серии разбавленных растворов (C = 0,20 до 0,06 г/дл; T = 25°C; t течения растворителя = 55 сек). Рассчитывают привиденную вязкость и, далее, экстраполируют первый параметр к нулевой концентрации для определения характеристической вязкости [210].

2.13. Определение молекулярной массы полисахаридов

Для определения молекулярной массы полисахаридов используют метод высокоэффективной эксклюзионной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Образцы полисахаридов растворяют в растворе NaNO₃ (C = 0,05M) до необходимой концентрации (C = 1-2 мг/мл). Растворы центрифугируют (t = 20 мин; 20000 об/мин), отфильтровывают, вводят в хроматограф (V = 0,1-0,2 мл) и хроматографирую при заданной скорости элюанта (v = 0,8 мл/мин) на двух колонках, наполненных PL-Aquagel OH40 и PL-Aquagel OH40, и калиброванных по стандарту Пуллулана (Showa Denko K.K., Japan) [211].

2.14. Определение реологических характеристик водных растворов пектиновых полисахаридов

Температура замерзания и реологические характеристики растворов изучены на реометре MCR301 фирмы «Anton Paar» в двойном цилиндрическом измерительном узле DG26.7-SN4044 (DIN 54453) и простом цилиндрическом измерительном узле CC17-SN11329 (ISO 3219) в сдвиговом и динамическом режимах [212].

2.15. Определение сорбционной активности пектиновых полисахаридов

Исследуемый образец (m = 50 мг) помещают в раствор сорбата требуемой концентрации (V = 3 мл) в присутствии буфера (V = 1 мл; C = 1M) с требуемым значением pH, добавляют воду для восполнения объёма (V = 5 мл), перемешивают и инкубируют. Отбирают пробу (V = 2,5 мл). Для определения связавшегося сорбата используют формулу (7).

$$q=V(Q-C_f)/M \qquad , \qquad (7)$$

где V - объём раствора в инкубационной ёмкости (л); Q - исходная концентрация сорбата (ммоль/л); C_f - равновесная концентрация сорбата; М – масса образца пектинового полисахарида (г).

Полученные результаты обрабатывают при помощи уравнений сорбции: 1. Уравнение Лэнгмюра:

$$q = q_{\max} \frac{bC_f}{1 + bC_f} \qquad , \tag{8}$$

где q – сорбционная ёмкость; q_{max} – максимальная сорбционная ёмкость; b – коэффициент аффинитета между сорбентом и сорбатом; C_f –остаточная концентрация металла в растворе.

Для расчета параметров изотермы Лэнгмюра был использован метод линеаризации:

$$\frac{C_e}{q_e} = \frac{C_e}{q_{\max}} + \frac{1}{q_{\max}}$$
⁽⁹⁾

2. Уравнение Фрейндлиха:

$$logq_e = \log K_F + \frac{1}{n} \log C_e$$
, (10)

где q_e – сорбционная емкость при данной равновесной концентрации; C_e – равновесная концентрация; K_F – коэффициент Фрейндлиха, отражающий количество и прочность образующихся связей между сорбатом и сорбентом; n – коэффициент, отражающий интенсивность течения сорбционных процессов [213-215].

Концентрацию ионов металлов в надосадочной жидкости определяли комплексонометрическим методом [216], а белка – методом Сэдмака [217].

Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В последние годы в научной литературе отмечается повышенный интерес к материалам природного происхождения, в том числе и к пектиновым полисахаридам (ППс), вызванный потребностью промышленности и медицины в высокоочищенных компонентах. Физико-химические, молекулярно-массовые параметры пектиновых полисахаридов, их структура и конформация пектиновой макромолекулы оказывают прямое влияние на качество, функциональные свойства и чистоту ППс и зависят от происхождения фитомассы, её биохимических показателей и от самого способа извлечения пектиновых полисахаридов. В связи с этим требуется комплексный подход и детальное изучение влияния внутренних (происхождение, вид, качество фитомассы, метод её предварительной подготовки) и внешних факторов (продолжительность процесса извлечения, температурный режим, водородный показатель гидролизующих агентов и фитомассы, их соотношение и концентрация) на характеристики целевых продуктов [1, 2]. В процессе извлечения пектиновых полисахаридов, включающих стадии подготовки фитомассы, гидролиз-экстракции, отделения клетчатки, фильтрации, очистки, фракционирования, высушивания, модификации [218, 219], ключевым этапом является гидролиз-экстракция. Именно от способа экстрагирования, от подбора параметров на данном этапе, зависит качество и свойства целевых продуктов.

В наших исследованиях процесс получения пектиновых полисахаридов рассматривается как поэтапный распад нативного макромолекулярного полисахаридного комплекса - протопектина на его компоненты, отличающиеся по структуре, молекулярно-массовым и физико-химическим параметрам. Все существующие методы извлечения пектиновых полисахаридов основываются на обработке сырья раствором гидролизующего агента, способного оказать разрушающее воздействие на клеточную стенку и экстрагировать пектиновые макромолекулы. Проходящий при этом процесс, особенно с точки зрения физической химии, является достаточно сложным, ввиду параллельного протекания нескольких стадий, сопряжённых с разрывом связей в нативном протопектине и экстракцией пектиновых полисахаридов в раствор. Параметры гидролиз-экстракции существенно воздействуют на состав, структуру и свойства целевых продуктов, определяющих их качество и чистоту, из которых вытекает дальнейшая сфера их применения.

Таким образом, изучение процесса распада протопектина, формирования структуры и состава продуктов реакции в процессе гидролиз-экстракции и на последующих стадиях, изучение взаимосвязи свойств пектиновых полисахаридов с их физико-химическими параметрами необходимо и актуально. Подобные исследования вносят вклад в изучение сложнейшего природного макромолекулярного комплекса – протопектина и являются основой создания новых высокоэффективных способов получения пектиновых полисахаридов, обеспечивающих их максимальное извлечение из растительной клеточной стенки и оптимальные физико-химические свойства.

3.1. Гидролиз-экстракция протопектина в потоке реакционного раствора

Процесс распада протопектина (рис. 3) был изучен в статическом режиме, в потоке реакционного раствора при атмосферном и повышенном давлении. Принцип метода гидролиз-экстракции в статическом режиме является базой для большинства существующих методов получения пектиновых полисахаридов. Процесс распада ПП в данном случае происходит в закрытых системах в температурном диапазоне 80-100 °C и непрерывном перемешивании продолжительностью от одного до четырех часов. Статический режим при данных условиях позволяет извлечь достаточное количество ППс, однако, длительное воздействие температуры и кислот приводит к разрыву пектиновой макромолекулы по основной цепи и, соответственно, потере основных свойств пектина.

В данной работе статический режим (СР) был использован в качестве метода сравнения. Гидролиз-экстракцию в СР проводили при продолжительности процесса 60 минут; отделение раствора-гидролизата от остатков клеточной стенки (КС) и дальнейшее его разделение на микрогель (рис. 4), пектиновые вещества (рис. 5) и олигосахариды (рис. 6) проводили методами, описанными в Главе 2. Суммарное содержание фракций для каждой фиксированной

продолжительности гидролиз-экстракции, принимается за содержание протопектина в клеточной стенке [203, 204, 220, 221].



Рисунок 3 - Структура протопектина.



Рисунок 4 - Структура микрогеля.





Рисунок 5 - Структура пектиновых Рисунок 6 - Структура олигосахаривеществ. дов.

Для предотвращения деградации пектиновых макромолекул необходимо своевременно изолировать проэкстрагированные молекулы от гидролизующего агента. С этой целью был разработан метод гидролиз-экстракции в потоке реакционного раствора, названный комбинированным фракционированием (КФр) [222-231]. При этом предварительно набухшее растительное сырье загружается в реактор колонного типа с нагревательным элементом (рис. 7). Выбор данного типа реактора обусловлен возможностью воспроизведения в процессе гидролиз-экстракции принципа хроматографии, являющегося одним из самым эффективных методов разделения путём фракционирования полимеров по молекулярным массам, а также очистки от сопутствующих веществ. Подача гидролизующего агента с необходимым значением pH осуществляется в верхнюю часть реактора с определённой скоростью. При достижении в системе требуемой температуры в нижней части экстрактора открывается кран, из которого со скоростью, равной скорости подачи гидролизующего агента, поступает пектиновый гидролизат, разделённый на восемь фракций пектиновых полисахаридов, отличающихся по составу, структурным и физико-химическим характеристикам.

Доказанная эффективность применения баропроцессов в методах извлечения пектиновых полисахаридов [232-237], позволила разработать новый метод гидролиз-экстракции в динамическом потоке реакционного раствора под воздействием высокого давления, основанный на методе комбинированного фракционирования, названный барофракционированием (Бфр). Метод барофракционирования позволяет проводить процесс гидролиз-экстракции в потоке реакционного раствора под действием давления за короткий промежуток времени (5-7 мин.). Установка для проведения гидролиз-экстракции под давлением представлена на рисунке 8. Метод Бфр заключается в следующем: равновесно набухшее сырьё загружают в экстракционную колонну, сверху подключают термоблок, в который с помощью нагнетательного насоса под давлением 152 кПа, подаётся гидролизующий агент с необходимым рН. Достигая требуемой температуры, пароводяная смесь под давлением поступает в колонну и последовательно выводится из системы в виде восьми фракций объёмом по 50 мл. Далее каждая фракция разделятся на микрогель, пектиновые вещества и олигосахариды [202, 204, 238-241].

65

В таблице 1 представлены численные значения суммарного распада протопектина для свекловичного жома (Св), альбедо помело (Пмл), корзинок подсолнечника (КП), апельсиновых выжимок (АВ), лимонных выжимок (ЛВ), яблочных выжимок (ЯВ), тыквенных выжимок (ТВ) и банановых выжимок (БнВ). Доказано, что на суммарный выход всех фракций пектиновых полисахаридов влияет не только вид фитомассы, но и метод получения. Поток реакционного раствора в динамических режимах гидролиз-экстракции позволяет значительно увеличить суммарный распад ПП.





Рисунок 7 – Установка для проведения КФр: 1 – экстракционная колонка; 2 – фильтр;3 – нагревательный элемент; 4 – набухшее сырьё; 5 – гидролизующий агент; 6, 7, 8 – сосуды с растворами; 9 – регулятор скорости подачи раствора; 10 – датчик температуры; 11 – регулятор скорости течения элюата-гидролизата; 12 – ёмкость для сбора экстракта; 13 – пектиновый раствор.

Рисунок 8 - Установка для проведения Бфр: 1 – экстракционная колонна; 2 – фильтр; 3 – нагревательный элемент; 4 – нагнетательный насос; 5 – сырье; 6, 7, 8 – сосуды с растворами для предварительной обработки, гидролиз-экстракции и промывки; 9 – кран для выпуска пара; 10 – датчик давления; 11 – датчик температуры; 12 – ёмкость для сбора экстракта; 13 – пектиновый раствор.

Для всех видов сырья выход микрогеля значительно выше при гидролизэкстракции в потоке реакционного раствора (табл. 1). Содержание пектиновых веществ варьируется от 8,2 до 25,09 % по отношению к массе сухого сырья. Наиболее высокий выход наблюдается у яблочных выжимок, цитрусов и корзинки подсолнечника. Также высокий выход характерен для нового вида сырья – помело. Для одного и того же сырья значения выхода различны в зависимости от метода получения. При этом метод сравнения является наименее эффективным.

Свойства пектиновых полисахаридов зависят от ряда физико-химических параметров, таких как содержание звеньев галактуроновой кислоты, свободных (Кс) и этерифицированных карбоксильных групп (Кэ), степень этерификации (СЭ), моносахаридный состав и молекулярная масса (ММ). Присутствие балластных веществ (БВ) (красителей, низкомолекулярных фракций, жиро-восковых веществ и т.д.) значительно ухудшает качество целевых продуктов, что требует введения дополнительной стадии очистки перед их практическим использованием, что требует дополнительного оборудования и временных затрат. При гидролиз-экстракции в потоке реакционного раствора извлекаются наиболее чистые пектиновые полисахариды, обогащённые звеньями галактуроновой кислоты (табл. 1).

Степень этерификации особенно важна для разветвленного полимера пектиновых веществ, так именно она определяет сферы применения. ПВ с высокой степенью этерификации (более 50 %), широко применяется в пищевой промышленности в качестве студнеобразующего, желирующего и стабилизирующего компонента. ПВ с низкой степенью этерификации особенно ценны для медицины и фармацевтики, так как обладают более высокой сорбционной ёмкостью и повышенной стимулчувствительностью к вредным метаболитам и тяжелым металлам. Наиболее сильное воздействие на степень этерификации (табл. 1), количество свободных и этерифицированных карбоксильных групп оказывает природа сырья.

Таким образом, применение гидролиз-экстракции в потоке реакционного раствора, как при атмосферном, так и при повышенном давлении, даёт возможность увеличить выход пектиновых полисахаридов, содержание в них звеньев галактуроновой кислоты и степень чистоты, независимо от сырья.

				_		_				
Содержание, %		Вид сырья								
		КП	Св	ПМл	ЯВ	AB	ЛВ	TB	БнВ	
ПП	СР	69,66	57,34	58,37	42,94	48,76	43,43	77,18	69,48	
	КФр	57,09	59,88	72,43	53,84	53,83	62,97	83,74	79,34	
	БФр	68,09	66,91	83,54	64,92	58,17	75,64	82,75	79,7	
МΓ	СР	4,41	1,00	4,27	3,81	0,81	2,18	1,21	0,33	
	КФр	15,79	2,70	14,30	4,60	2,55	4,56	7,10	3,70	
	БΦр	7,25	1,23	7,91	3,01	1,87	2,67	2,81	1,60	
ПВ	СР	10,46	8,20	19,36	14,32	20,82	18,95	2,25	1,83	
	КФр	15,99	12,60	25,09	22,09	22,16	28,34	3,44	3,44	
	БФр	17,31	17,61	27,12	29,76	24,76	33,25	4,24	3,98	
OC	CP	15,48	48,14	34,74	24,81	27,13	22,3	73,72	67,32	
	КФр	25,32	44,58	33,30	27,15	29,12	30,07	73,20	72,20	
	БΦр	43,53	48,07	48,51	32,15	31,54	39,72	75,70	74,12	
КС	СР	30,34	42,66	41,63	57,06	51,24	56,57	22,82	30,52	
	КФр	42,91	40,12	27,57	46,16	46,17	37,03	16,26	20,66	
	БФр	31,91	33,09	16,46	35,08	41,83	24,36	17,25	20,30	
ГК	СР	63,60	75,60	77,40	70,00	77,76	77,24	64,8	56,40	
	КФр	68,40	81,60	78,00	72,00	76,80	75,60	78,00	60,60	
	БФр	82,8	87,00	78,70	74,07	78,70	78,00	78,70	67,20	
Кс	СР	9,18	9,36	5,04	7,98	5,04	3,60	1,80	2,58	
	КФр	8,64	9,00	4,68	7,74	4,68	3,42	2,16	2,20	
	БФр	9,00	8,10	2,88	6,96	3,38	3,34	1,73	2,13	
Кэ	СР	6,84	6,30	14,40	8,60	9,36	11,88	10,80	11,42	
	КФр	6,84	5,76	14,76	8,28	10,98	11,52	10,44	11,20	
	БФр	5,40	6,48	6,30	9,62	11,02	12,14	10,87	12,87	
СЭ	СР	42,69	38,10	74,07	52,00	74,07	76,74	85,71	81,54	
	КФр	44,19	39,01	75,93	51,69	70,11	77,11	83,33	83,56	
	БФр	41,86	44,44	75,76	58,00	76,56	78,45	86,24	85,78	
БВ	СР	23,21	2,21	3,68	6,80	3,90	12,21	5,92	7,96	
	КΦр	44,19	1,24	2,01	4,15	1,80	4,50	3,74	5,23	
	БФр	41,86	5,61	2,34	3,05	1,20	2,50	1,67	2,36	

Таблица 1 – Сравнительные значения выходов и физико-химических параметров пектиновых полисахаридов, полученных различными методами

Однако, для полного понимания процесса распада протопектина, зависимости выхода и физико-химических параметров пектиновых полисахаридов от условий того или иного метода, необходимо более детальное исследование и оценка кинетических параметров каждого процесса.

Процесс извлечения пектиновых полисахаридов из клеточной стенки фитомассы сопряжён с расходом ионов водорода гидролизующего агента на разрыв межмолекулярных связей. При увеличении времени процесса, особенно в реакционной среде без динамичного течения, ионная сила раствора

уменьшается, что, в свою очередь, приводит к уменьшению скорости распада протопектина фитомассы и значительному снижению эффективности процесса извлечения всех целевых продуктов. Постоянный поток реакционного раствора позволяет сохранить значение pH гидролизующего агента, что оказывает существенное влияние на процессы диффузии, сорбции и десорбции, проходящие в системе, и ведёт к изменению численных значений выхода всех целевых продуктов, их физико-химических и структурных параметров, а, следовательно, и свойств. В связи с этим, целью данной части работы являлось сравнительное исследование процесса распада ПП в статическом режиме, в потоке реакционной среды (Кфр) и в потоке реакционного раствора с применением баропроцесса (БФр).

В качестве сырья были использованы: корзинки подсолнечника (КП), свекловичный жом (Св), альбедо помело (Пмл), лимонные выжимки (ЛВ), апельсиновые выжимки (АВ), яблочные выжимки сорта Голден Делишес (ЯВГ), тыквенные выжимки (ТВ), банановые выжимки (БнВ) и корзинки подсолнечника (КП). В качестве экстрагента был выбран раствор соляной кислоты с варьируемым значением pH от 1,05 до 5,6. Была выбрана прямоточная экстракционная колонка общей высотой 78 см, высотой нагревательного элемента 44 см и диаметром 3,3 см. Максимальная загрузка сырья в экстрактор составляла 20 г. В процессе гидролиз-экстракции раствор-гидролизат выводился из системы со скоростью, равной скорости поступления гидролизующего агента в экстрактор. Для системы с введенным баропроцессом процесс был аналогичным с учётом сокращения продолжительности гидролиз-экстракции. Давление при этом составляло 152 кПа.

Непрерывный поток реакционного раствора позволяет сохранить концентрацию ионов водорода гидролизующего агента, о чём свидетельствует неизменное значение pH-среды раствора-гидролизата, как в системе с атмосферным давлением, так и с повышенным (табл. 2). Согласно полученным данным, суммарный распад протопектина в потоке реакционного раствора и значения выходов микрогеля, пектиновых веществ и олигосахаридов значительно превышают аналогичные параметры веществ, полученных методом сравнения. При этом зависимости суммарного распада ПП, выхода структурных фракций пектиновых полисахаридов и их основных физико-химических параметров от значения pH носят схожий характер для альбедо помело, свекловичного жома и корзинок подсолнечника [220]. В связи с этим далее результаты приведены на примере альбедо помело (табл. 3).

Таблица 2 – Значение исходного (pH_{исх}) и конечного (pH_{кон}) pH гидролизующего агента

	рН кон СР							рН кон	рНкон
рписх	Св	Пмл	КП	ЛВ	AB	ЯВ	БнВ	КФр	БΦр
1,05	1,23	1,60	1,45	1,18	1,34	1,42	1,80	1,05	1,05
1,20	1,42	2,40	1,82	1,99	2,15	1,63	2,11	1,20	1,20
1,60	1,72	2,60	1,95	2,14	2,31	1,92	2,91	1,60	1,60
2,00	3,40	2,90	3,90	2,67	2,97	3,52	3,56	2,00	2,00
3,50	4,10	4,30	4,80	3,21	3,14	4,12	4,48	3,60	3,60
5,60	5,20	5,34	5,00	4,87	5,03	5,15	5,80	5,30	5,30

При рН в диапазоне от 1,05 до 1,2 распад протопектина в потоке реакционного раствора увеличивается в среднем на 12% для альбедо помело, 2,5 % для свекловичного жома, 27% для корзинки подсолнечника, 30% для лимонных выжимок, 6% для апельсиновых выжимок, 10% для яблочных выжимок, 7% для тыквенных выжимок и 10% для банановых выжимок. Введение баропроцесса повышает значения распада в среднем на 31% для Пмл, 10% для Св, 38% для КП, 33% для ЛВ, 12% для АВ, 24% для ЯВГ, 10% для ТВ и 12% для БВ. Увеличение рН реакционного раствора (3,5-5,6) позволяет сохранить высокие значения суммарного распада протопектина всех сырьевых источников, по сравнению с традиционным методом получения, что свидетельствует о возможности проведения эффективного процесса в щадящих режимах.

Поток реакционной среды положительно влияет на динамику выхода структурных фракций протопектина, увеличивая данные параметры в среднем в 2-2,5 раз для всех исследуемых образцов. Максимальный выход фракций отмечается при pH 1,05 и 1,2, независимо от метода гидролиз-экстракции и вида сырья. Выход сетчатого полимера микрогеля значительно выше в потоке реакционного раствора, однако, введение баропроцесса сокращает его выход в два раза по отношению к атмосферному давлению. Выход пектиновых веществ в потоке реакционного раствора при pH в диапазоне от 1,05- до 1,2 превышает аналогичный показатель при методе сравнения на 5-8%. Существенный разрыв данных значений продолжает увеличиваться, сохраняя высокие значение до pH 3,5 и значительно превышая выход ПВ в статическом режиме вдвое. В СР, при pH в диапазоне от 1,6- до 5,6 наблюдается резкое снижение выхода пектиновых веществ. В потоке реакционного раствора снижение данных значений носит более плавный характер.

Выход линейных полимеров – олигосахаридов значительно выше в потоке реакционного раствора, особенно с введённым баропроцессом, что свидетельствует о распаде боковых цепей пектиновой макромолекулы, состоящей в основном из остатков мономерных звеньев нейтральных сахаров. Однако, с ростом значения pH, как и следовало ожидать, выход ОС уменьшается, как в режиме без динамичного потока, так и в потоке, независимо от давления.

Выход, %		рНисх							
		1,05	1,20	1,60	2,00	3,50	5,60		
ПП	СР	65,06	58,37	54,49	49,25	33,40	14,71		
	КФр	77,97	72,43	67,46	63,82	48,63	29,54		
	БФр	91,10	83,54	77,87	72,20	54,58	42,37		
МΓ	СР	5,46	4,27	3,37	2,54	0,92	0,14		
	КФр	20,27	14,3	11,89	8,62	2,47	0,16		
	БФр	11,19	7,91	6,53	4,71	1,35	0,08		
ПВ	СР	22,49	19,36	16,74	13,14	9,12	3,27		
	КФр	27,27	25,09	22,26	20,46	18,17	14,42		
	БФр	28,97	27,12	24,00	22,70	21,09	17,53		
OC	СР	36,49	34,74	33,90	33,15	24,06	12,26		
	КФр	34,97	33,30	32,50	30,74	22,06	10,75		
	БФр	50,94	48,51	47,34	44,79	32,14	24,76		
КС	СР	34,94	41,63	45,51	50,75	66,60	85,29		
	КФр	22,03	27,57	32,54	36,18	51,37	70,46		
	БФр	8,90	16,46	22,13	27,80	45,42	57,63		

Таблица 3 – Выход фракций протопектина помело

Для всех видов сырья основные физико-химические показатели пектиновых полисахаридов (содержание звеньев галактуроновой кислоты, нейтральных сахаров (HC) и степень этерификации) обуславливающие их качество, выше в режимах с динамическим потоком реакционного раствора. При увеличении величины pH, независимо от давления, содержание остатков галактуроновой кислоты и её степени этерификации, как в микрогеле, так и в пектиновых веществах, снижается. Однако, в потоке реакционного раствора темп снижения менее выражен (рис. 9). Наиболее высокое содержание звеньев галактуроновой кислоты наблюдается в образцах, полученных в потоке реакционного раствора, сохраняя высокое значение до pH=3,5 и далее. В статическом режиме содержание ГК в пектиновых веществах и микрогеле начинает снижаться начиная с pH=1,6, до 55-60 % и ниже, тем самым, практически исключая возможность извлечения высококачественных конечных продуктов при pH гидролизующего агента выше значения 1,2. Увеличение содержания звеньев галактуроновой кислоты при гидролиз-экстракции в потоке реакционного раствора может быть обусловлено неизменностью величины pH, что приводит к распаду протопектина по боковым участкам макромолекулы, образованным нейтральными сахарами. Устойчивость основной цепи, образованной звеньями галактуроновой кислоты, также объясняется наличием прочных «мостиков», образованных свободными карбоксильными группами ГК и ионами кальция, что особенно характерно для микрогеля.



Рисунок 9 – Содержание звеньев ГК в микрогеле (а) и ПВ (б) помело при различных значениях рН гидролизующего агента: 1 – СР; 2 – КФр; 3 – БФр.

Степень этерификации как в пектиновых веществах, так и в микрогеле, полученных в режимах динамического потока реакционного раствора, превышает аналогичный показатель в статическом режиме (рис. 10). Данный факт объясняется тем, что при возрастании СЭ увеличивается растворимость продуктов распада протопектина и они из микрогеля трансформируются в пектиновые вещества. Действительно, для всех исследованных видов сырьевых
источников степень этерификации микрогеля ниже аналогичного показателя ПВ. На рисунке 11 представлено общее содержание нейтральных сахаров в микрогеле и в пектиновых веществах помело. Очевидно, что, независимо от природы сырья и способа получения пектиновых полисахаридов, при значениях pH гидролизующего агента в диапазоне 1,05 - 1,60 выделяются пектиновые вещества и микрогель, обогащенные звеньями галактуроновой кислоты и нейтральных сахаров. За исключением микрогеля помело и пектиновых веществ подсолнечника, наибольшее содержание моносахаридных остатков наблюдается в статическом режиме гидролиз-экстракции протопектина, а наименьшее – в потоке реакционного раствора под воздействием повышенного давления. Данный факт является закономерным, учитывая высокое содержание звеньев галактуроновой кислоты в МГ и ПВ, полученных при бароэкстракции.

Пектиновые полисахариды, полученные методом гидролиз-экстракции в статическом режиме, содержат значительно большее количество балластных веществ (БВ), содержание которых возрастает при смещении значения pH в нейтральную область (рис. 12). Повышенное содержание БВ исключает возможность применения данных целевых продуктов для медицины и фармацевтики, из-за несоответствия требованиям по химической чистоте веществ. Образцы, полученные в потоке реакционного раствора, напротив, демонстрируют пример высокоочищенных биополимеров при всех исследуемых значениях pH. Наличие давления также положительно сказывается на степени чистоты продуктов.

Таким образом, независимо от метода получения и происхождения сырья, pH раствора-гидролизата является одним из главных параметров, приводящим к получению пектиновых полисахаридов с регулируемой структурой и свойствами. Установлено, что роль кислоты заключается в ее действии в качестве катализатора [221]. Действительно, снижение pH раствора приводит к увеличению выходов, как микрогеля, так и пектиновых веществ (табл. 3).



Рисунок 10 – Степень этерификации микрогеля (а) и ПВ (б) помело в зависимости от значения pH гидролизующего агента: 1 – CP; 2 – КФр; 3 – БФр.



Рисунок 11 – Содержание НС в микрогеле (а) и ПВ (б) Пмл в зависимости от значения pH гидролизующего агента: 1 – CP; 2 – КФр; 3 – БФр.



Рисунок 12 – Содержание БВ в микрогеле (а) и ПВ (б) Пмл в зависимости от значения рН гидролизующего агента: 1 – СР; 2 – КФр; 3 – БФр.

При этом происходит увеличение содержания остатков галактуроновой кислоты в обеих фракциях (рис. 9). Таким образом, процесс каталитического действия кислоты на распад ПП можно описать следующими уравнениями [221]:

$$\Pi\Pi + K \xleftarrow{k_1, k_2} \Pi\Pi K * \qquad , \qquad (11)$$

$$\Pi\Pi K^* \xrightarrow{k_3} M\Gamma + \Pi B + K \qquad , \tag{12}$$

$$-\frac{d[M\Gamma]}{dt} = \frac{k_3 k_1 [\Pi\Pi]}{k_2 [\Pi B] + k_1 [\Pi\Pi]} [K]$$
⁽¹³⁾

при

$$k_1[\Pi\Pi] \ll k_2[\Pi B] \qquad , \qquad (14)$$

$$-\frac{d[M\Gamma]}{dt} \approx \frac{k_3 k_1 [\Pi\Pi]}{k_2 [\Pi B]} [K] \qquad , \tag{15}$$

Из представленных уравнений (11-15) следует, что вначале образуется активный комплекс протопектина с ионом водорода, который далее распадается на микрогель и пектиновые вещества. По этой схеме между скоростью распада ПП и концентрацией катализатора должна быть прямая зависимость. Действительно, в области максимума выходов продуктов распада ПП наблюдается прямая пропорциональность между скоростью образования продуктов распада ПП (МГ, ПВ и ОС) и концентрацией ионов водорода. Соответствующие зависимости описываются уравнениями прямой линии: v(МГ) = 1,258[H⁺] + 0,009, v(ПВ) = 0,313[H⁺] + 0,005 и v(ОС) = 0,018[H⁺] + 0,015 при коэффициенте корреляции (R²) соответственно 0,9981, 1,0000 и 0,9644. Таким образом, изменением кислотности среды при гидролизе протопектина удается не только направить процесс в сторону увеличения выхода отдельных фракций целевых продуктов, но и существенно обогатить макромолекулы звеньями галактуроновой кислоты, тем самым создавая условия для получения пектиновых полисахаридов с оптимальными физико-химическими свойствами.

Ещё одним аспектом действия кислотности раствора в процессе гидролиза протопектина является извлечение ими ионов металлов из состава продуктов реакции, приводящее к возрастанию содержания карбоксильных групп в макромолекулах пектиновых полисахаридов, что в свою очередь, приводит к возрастанию сорбционной и комплексообразующей способности целевых продуктов. Изменение pH раствора в процессе гидролиз-экстракции протопектина в статическом режиме свидетельствует об участии кислоты, помимо её каталитического действия, в химической реакции с ионами металлов, в частности с Ca²⁺ (табл. 2). Действие кислоты на извлечение ионов кальция из ПП, можно представить с помощью уравнения:

$$-COO - Ca - OOC - +2H_3O^+ \rightarrow 2 - COOH + Ca^{2+} + 2H_2O$$
, (16)

Прямая зависимость содержания ионов кальция от концентрации ионов водорода на примере микрогеля в статическом режиме и в потоке реакционного раствора наглядно подтверждает правильность данного предположения (рис. 13, 14).





Рисунок 13 – Содержание ионов Ca²⁺ в микрогеле, полученном в статическом режиме, в зависимости от концентрации ионов водорода: 1 – Пмл; 2 – Св; 3 – КП.

Рисунок 14 – Содержание ионов Ca²⁺ в микрогеле, полученном методом КФр, в зависимости от концентрации ионов водорода: 1 – Пмл; 2 – Св; 3 – КП.

Значительное накопление микрогеля в процессе реакции распада протопектина указывает на низкую скорость выделения ионов кальция из протопектина и продуктов его распада, обеспечивающую стабилизацию структуры пектиновых полисахаридов. Удаление ионов кальция приводит к увеличению выхода водорастворимых пектиновых веществ.

Таким образом, действие кислотности гидролизующего агента на процесс гидролиз-экстракции протопектина, независимо от вида сырьевого источника и режимов получения, представляет собой комбинацию ряда параллельно протекающих процессов, включающих как каталитические реакции, так и извлечение ионов кальция из макромолекулярного комплекса с сетчатой структурой с образованием полисахаридов с линейной и разветвленной структурой.

В целом, полученные результаты указывают на преимущество применения динамического потока реакционного раствора в процессе гидролиз-экстракции. Применение данного подхода позволяет при высоком численном выходе сохранить нативную полимерную структуру, чистоту и определенные физико-химические параметры за счёт своевременного изолирования проэкстрагированных макромолекул целевых продуктов. Возможность введения в поточную систему баропроцесса позволяет регулировать извлечение в сторону определенных структурных фракций целевых продуктов. Также неотъемлемым преимуществом гидролиз-экстракции в потоке реакционного раствора является возможность получения высокоочищенных пектиновых полисахаридов в широком диапазоне pH, что приведёт к значительному сокращению затрат на промышленное производство пектина. Непрерывный поток реакционного раствора влияет на формирование структуры компонентов распада протопектина различной фитомассы, на моносахаридный состав, молекулярно-массовые характеристики и физико-химические свойства макромолекул. В связи с этим необходимо изучение изолированных фракций пектиновых полисахаридов, чему и посвящен следующий раздел.

3.2. Комбинированное фракционирование продуктов распада протопектина в потоке реакционного раствора

Несмотря на явное преимущество получения пектиновых полисахаридов в потоке реакционного раствора перед существующими традиционными методами гидролиз-экстракции, продукты распада протопектина, полученные как в режимах комбинированного и барофракционирования, так и в статическом режиме, представляют собой не химически индивидуальное чистое вещество, а набор неких полимергомологов с усредненной молекулярной массой и широким молекулярно-массовым распределением. Помимо молекулярной неоднородности для пектиновых полисахаридов присуща неоднородность по составу и структуре, характеризующаяся зависимостью распределения остатков этерифицированных и неэтерифицированных звеньев галактуроновой кислоты, нейтральных сахаров и их перераспределения в основной и боковых цепях макромолекулы. Регулирование этих параметров в процессе гидролиз-экстракции представляет собой сложную задачу ввиду влияния ряда факторов (вид и сорт сырья, степень его зрелости, агроклиматические условия произрастания, условия хранения, условия получения и др.). Для изучения свойств пектиновых полисахаридов, а также для их практического применения особенно в медицине и биологии, требуется получение однородных по составу, структуре и молекулярной массе веществ. В настоящее время единственным способом решения данной задачи является фракционирование: дробное осаждение, дробное растворение, седиментация, турбидиметрическое титрование. Эффективным является метод хроматографического фракционирования. Для хроматографического фракционирования пектиновых полисахаридов, как и для любого другого метода, вещество необходимо выделить из растительной клетки, высушить, затем растворить и подвергнуть разделению на фракции тем или иным способом, что приводит к временным и экономическим затратам. Разработанные методы комбинированного и барофракционирования, основанные на принципе гельхроматографирования, позволяют исключить стадии выделения и повторного растворения пектиновых полисахаридов. Разработанные методы позволяют одновременно экстрагировать ППс из растительной клеточной стенки и разделять их на фракции, отличающиеся по физико-химическим и молекулярно-массовым параметрам.

В связи с этим целью данной части работы является изучение состава, структуры, гидродинамических и молекулярно-массовых параметров изолированных фракций пектиновых полисахаридов, полученных методами комбинированного и барофракционирования в потоке реакционного раствора.

Процесс комбинированного фракционирования проводили следующим образом: подготовленную, измельчённую и равновесно набухшую фитомассу помещали в реактор колонного типа и подвергали гидролиз-экстракции при T=358 К, скорости потока 6 мл/мин в течение 60 мин, используя в качестве

гидролизующего агента раствор соляной кислоты с pH=1,2. Элюат-гидролизат (ЭГ) выводился из системы со скоростью, равной скорости поступления гидролизующего агента в реактор колонного типа и разделялся. Элюат-гидролизат разделяли на восемь фракций, последовательно собирая раствор в отдельные ёмкости по 50 мл, после чего отделяли микрогель, пектиновые вещества и олигосахариды. Процесс барофракционирования проводили по аналогичной методике, включив в установку термоблок и нагнетальный насос, подающий пароводяную смесь гидролизующего агента под давлением 152 кПа при температуре 373 К (рис. 7, 8). Схема фракционирования представлена на рисунке 15. На рисунке 16 (а), на примере альбедо помело, представлен суммарный распад протопектина, принятый как сумма содержания микрогеля, пектиновых веществ и олигосахаридов в полученных фракциях. Закономерность изменения распада протопектина при методе комбинированного и барофракционирования носит схожий характер и описывается уравнением прямой линии. При этом для распада протопектина под воздействием повышенного давления характерно более высокое значение выхода, но более плавный характер.

Наличие давления в системе существенно влияет на закономерность распределения МГ, ПВ и ОС во фракциях (рис. 16 (б)), однако, наблюдается явная схожесть в последовательности извлечения пектиновых полисахаридов. Начало процесса КФр и БФр характеризуется высвобождением сетчатого полимера - микрогеля, при этом в методе КФр наблюдается максимум, приходящийся на третью фракцию (V элюата-гидролизата = 150 мл, t = 18 минут).

Далее, выход МГ резко снижается, достигая при объёме элюата-гидролизата нулевого значения. При барофракционировании влияние повышенного давления проявляется в смещении максимума выхода микрогеля в область первой фракции (V элюата-гидролизата = 50 мл, t=37,5 секунд) и его последующем резком снижении. В области пятой фракции выделение микрогеля прекращается (V элюата-гидролизата = 250 мл, t = 187,5 секунд). Область снижения выхода МГ, независимо от давления, характеризуется увеличением выхода разветвлённого полимера – пектиновых веществ, содержание которых в первых трёх фракциях при КФр и первой фракции БФр было практически незначительным. При комбинированном фракционировании резкое увеличение

79

выхода пектиновых веществ наблюдается до пятой фракции (V элюата-гидролизата = 250 мл, t = 35 минут), после чего выход стабилизируется, оставаясь практически постоянным в течение всего последующего процесса.



Рисунок 15 - Схема комбинированного фракционирования продуктов распада протопектина при атмосферном и повышенном давлении.

Под воздействием повышенного давления выход ПВ резко возрастает ко второй фракции (V элюата-гидролизата = 100 мл, t = 75 секунд) и продолжает плавно увеличиваться до конца процесса. Выход линейного полимера – олигосахаридов, при КФр, остается практически неизменным до пятой фракции, после чего непрерывно увеличивается. При барофракционировании отмечается непрерывное увеличение выхода ОС на протяжении всего процесса. Таким образом, последовательное увеличение численных значений выходов пектиновых веществ и олигосахаридов, появление максимума на кривой выхода фракций микрогеля при комбинированном фракционировании, а также его смещение в сторону начала координат при барофракционировании, указывает на факт протекания сложной химической реакции поэтапного превращения протопектина в МГ, затем в пектиновые вещества и далее в олигосахариды.



Рисунок 16 - Суммарное содержание продуктов распада протопектина в полученных фракциях помело: 1 - КФр, 2 – Бфр (а). Содержание МГ, ПВ и ОС во фракциях ПП Пмл: 1 - МГ (КФр), 2 - МГ (Бфр), 3 - ПВ (КФр), 4 - ПВ (Бфр), 5 - ОС (КФр), 6 - ОС (Бфр) (б).

Аналогичные исследования были проведены для изучения процесса распада протопектина свекловичного жома (Св), корзинки подсолнечника (КП), выжимок: апельсинов (АВ), лимонов (ЛВ), яблок (ЯВ), тыквы (ТВ) и бананов (БнВ) (рис. 17). Как видно, для всех исследованных видов фитомассы сохраняется схожая закономерность выхода компонентов распада протопектина, за исключением их численных значений, как при атмосферном, так и при повышенном давлении. В таблицах 4 и 5, на примере помело, свеклы и корзинки подсолнечника. представлено содержание звеньев галактуроновой кислоты во фракциях микрогеля, пектиновых веществ и олигосахаридов, полученных в потоке реакционного раствора при атмосферном и повышенном давлении. Полученные результаты наглядно подтверждают факт поэтапного превращения протопектина в МГ, ПВ и ОС.

Начало процесса гидролиз-экстракции протопектина фитомассы, характеризуется относительно невысоким содержанием ГК в микрогеле и пектиновых веществах. Следующими выделяются вещества, обогащенные звеньями галактуроновой кислоты. Во фракциях олигосахаридов, полученных при комбинированном фракционировании, содержание ГК относительно стабильно. Под воздействием повышенного при барофракционировании содержание звеньев галактуроновой кислоты несколько снижается. При этом фракции микрогеля, независимо от природы фитомассы, характеризуются высоким содержанием ГК. В пектиновых веществах данный показатель несколько ниже, но сохраняет высокие значения, особенно в точках максимумов, совпадающих с максимальными значениями выхода компонентов распада протопектина.



Рисунок 17 – Содержание МГ и ПВ во фракциях протопектина при комбинированном (а) и при барофракционировании (б).

В олигосахаридах содержание звеньев галактуроновой кислоты в тричетыре раза ниже аналогичного показателя фракций МГ и ПВ, что указывает на факт протекания гидролиз-экстракции по основной цепи. Изменение степени этерификации также проходят через максимум, как при комбинированном, так и при барофракционировании (табл. 6), совпадая с областью максимумов выходов фракций.Учитывая изменение степени этерификации, как микрогеля, так и пектиновых веществ в зависимости от объёма гидролизатаэлюата, можно предположить, что при комбинированном фракционировании происходит не только разделение по молекулярной массе, но и по структуре. При максимальном выходе фракций удается получить высококачественные образцы микрогеля и пектиновых веществ с очень высоким содержанием галактуроновой кислоты и степенью её этерификации.

Таблица 4 – Содержание звеньев галактуроновой кислоты во фракциях микрогеля, пектиновых веществ и олигосахаридов при комбинированном фракционировании, %

V	Ν	Ликрогел	ГЬ	Пекти	новые ве	щества	Олигосахариды		
v эг, мл	Пмл	Св	КП	Пмл	Св	КП	Пмл	Св	КП
50	-	-	-	63,6	76,8	43,6	25,8	24,6	25,2
100	82,2	85,8	65,3	66,6	77,4	60,1	26,4	25,2	25,8
150	86,4	86,4	84,1	73,2	79,2	67,9	26,4	25,2	25,8
200	81,6	85,2	72,3	81,6	82,2	77,3	27,0	25,8	26,4
250	80,4	84,6	68,8	85,8	85,8	81,5	27,6	24,6	27,0
300	79,8	84,0	-	86,4	84,6	79,4	28,2	27,0	27,6
350	79,2	83,4	-	83,4	83,4	72,9	25,8	24,0	24,0
400	-	-	-	79,8	82,2	64,4	21,0	19,2	22,8

Таблица 5 – Содержание звеньев ГК во фракциях микрогеля, пектиновых веществ и олигосахаридов при барофракционировании, %

Variation	Ν	Ликрогел	Б	Пекти	новые ве	щества	Олигосахариды		
v эг, мл	Пмл	Св	КП	Пмл	Св	КП	Пмл	Св	КП
50	83,4	88,2	88,2	73,8	78,6	61,2	28,8	27,0	30,6
100	82,8	87,0	87,0	74,4	79,2	63,0	28,2	27,0	29,4
150	82,2	85,8	86,4	75,6	80,4	63,6	27,6	26,4	29,4
200	79,8	84,6	85,2	76,2	82,8	64,8	26,4	25,8	28,2
250	-	-	-	76,8	84,6	84,6	26,4	25,2	27,6
300	-	-	-	78,0	85,2	83,4	25,8	25,2	26,4
350	-	-	-	78,7	85,8	82,8	25,2	24,0	25,8
400	-	-	-	79,2	86,4	82,2	24,0	22,8	25,2

	КФр						Бфр					
		МΓ			ΠВ		МΓ			ПВ		
Vэг, мл	Пмл	Св	КП									
50	-	-	-	59,5	23,1	28,7	46,0	54,3	51,3	69,7	41,5	39,7
100	40,0	14,3	29,3	62,6	27,8	30,6	43,1	51,4	49,7	70,3	43,2	41,2
150	50,5	16,7	38,8	65,8	30,8	32,1	43,0	46,8	48,8	70,4	46,8	43,7
200	46,6	14,7	35,4	72,1	33,3	42,7	41,2	43,1	44,5	71,4	49,1	49,3
250	42,6	12,9	26,2	75,9	39,0	44,2	-	-	-	72,1	54,4	53,5
300	40,7	10,5	-	74,8	38,8	43,7	-	-	-	73,5	58,8	58,2
350	39,5	9,7	-	73,9	37,7	38,1	-	-	-	75,0	64,3	62,8
400	-	-	-	72,8	36,4	34,5	-	-	-	75,8	66,9	65,7

Таблица 6 – Степень этерификации фракций микрогеля и пектиновых веществ при комбинированном фракционировании и барофракционировании, %

В формировании структуры макромолекул продуктов распада протопектина важное участие принимают звенья нейтральных сахаров (HC): арабинозы (Ara), рамнозы (Rha), глюкозы (Glc), маннозы (Man), ксилозы (Xyl) и галактозы (Gal). Моносахаридный состав фракций микрогеля, пектиновых веществ и олигосахаридов, полученных методами КФр и БФр, изучали при помощи газожидкостной хроматографии, используя в качестве внутреннего стандарта 2дезокси–D-глюкозу (табл. 7-9 – Пмл; табл. 1-6 – Св и КП (Приложение А)).

Вне зависимости от метода получения, в микрогеле, пектиновых веществах и олигосахаридах помело состав нейтральных сахаров представлен, в основном арабинозой, галактозой и рамнозой. В продуктах распада протопектина свеклы преобладают звенья галактозы, рамнозы и арабинозы, при полном отсутствии ксилозы. Для фракций МГ, ПВ и ОС корзинки подсолнечника характерно высокое содержание рамнозы. При этом в пектиновых веществах и олигосахаридах КП наблюдается полное отсутствие маннозы. Как и для фракций микрогеля, пектиновых веществ и олигосахаридов помело и свеклы, в КП присутствуют звенья арабинозы, что указывает на лабильность связей Rha и Ara в протопектине и продуктах его распада всех исследованных видов фитомассы. Присутствие рамнозы указывает на ее локализацию в боковых цепях рамногалактуронана и возможность разрыва связей по данным участкам, что существенно улучшает физико-химические свойства целевых продуктов.

			К	⊅р			Бфр					
Vэг, мл	Rha	Glc	Ara	Man	Xyl	Gal	Rha	Glc	Ara	Man	Xyl	Gal
50	-	-	-	-	-	-	1,86	0,92	6,99	0,33	0,71	2,47
100	1,23	0,61	4,61	0,21	0,47	1,63	1,88	0,93	7,08	0,33	0,72	2,50
150	1,04	0,52	3,92	0,18	0,40	1,39	1,91	0,95	7,17	0,33	0,73	2,54
200	1,61	0,80	6,06	0,28	0,61	2,14	2,09	1,04	7,86	0,37	0,80	2,78
250	1,76	0,87	6,62	0,31	0,67	2,34	-	-	-	-	-	-
300	1,72	0,85	6,45	0,30	0,65	2,28	-	-	-	-	-	-
350	1,76	0,87	6,62	0,31	0,67	2,34	-	-	-	-	-	-

Таблица 7 – Моносахаридный состав фракций микрогеля помело, полученных при комбинированном фракционировании и барофракционировании, %

Таблица 8 – Моносахаридный состав фракций ПВ помело, полученных при комбинированном фракционировании и барофракционировании, %

			Кđ	Ďр			Бфр					
Vэг, мл	Rha	Glc	Ara	Man	Xyl	Gal	Rha	Glc	Ara	Man	Xyl	Gal
50	3,83	1,90	14,41	0,67	1,46	5,10	3,34	1,65	12,54	0,58	1,27	4,44
100	3,49	1,73	13,10	0,61	1,33	4,63	3,33	1,65	12,52	0,58	1,27	4,43
150	2,67	1,32	10,04	0,47	1,02	3,55	3,28	1,62	12,31	0,57	1,25	4,35
200	1,63	0,81	6,12	0,28	0,62	2,16	3,18	1,58	11,97	0,56	1,21	4,23
250	1,20	0,59	4,50	0,21	0,46	1,59	3,09	1,53	11,60	0,54	1,17	4,10
300	1,04	0,52	3,91	0,18	0,40	1,38	2,92	1,44	10,96	0,51	1,11	3,88
350	1,38	0,68	5,18	0,24	0,52	1,83	2,82	1,40	10,59	0,49	1,07	3,74
400	1,67	0,83	6,29	0,29	0,64	2,22	2,72	1,35	10,22	0,48	1,04	3,62

Таблица 9 – Моносахаридный состав фракций ОС помело, полученных при комбинированном фракционировании и барофракционировании, %

			Кđ	р			Бфр					
Vэг, мл	Rha	Glc	Ara	Man	Xyl	Gal	Rha	Glc	Ara	Man	Xyl	Gal
50	9,60	4,76	36,09	1,68	3,65	12,76	9,18	4,55	34,51	1,61	3,49	12,20
100	9,48	4,70	35,64	1,66	3,61	12,61	9,10	4,51	34,20	1,59	3,46	12,09
150	9,42	4,67	35,41	1,65	3,58	12,52	9,10	4,51	34,21	1,59	3,46	12,10
200	9,29	4,60	34,92	1,62	3,53	12,35	9,28	4,60	34,87	1,62	3,53	12,33
250	9,19	4,55	34,53	1,61	3,50	12,21	9,13	4,52	34,33	1,60	3,48	12,14
300	9,08	4,50	34,11	1,59	3,45	12,06	9,03	4,47	33,92	1,58	3,43	12,00
350	9,35	4,63	35,15	1,64	3,56	12,43	9,03	4,47	33,94	1,58	3,44	12,00
400	10,02	4,96	37,66	1,75	3,81	13,32	10,56	5,23	39,70	1,85	4,02	14,04

Содержание ионов кальция во фракциях микрогеля, пектиновых веществ и олигосахаридов, полученных в потоке реакционного раствора при атмосферном и повышенном давлении (табл. 10, 11) находится в обратной зависимости от содержания звеньев галактуроновой кислоты и численных значений выходов соответствующих фракций. Данный факт еще раз подтверждает важную роль ионов кальция в стабилизации структуры протопектина. Разрушение кальциевых «мостиков» соответственно приводит к накоплению компонентов распада протопектина в образовавшихся фракциях.

Таблица 10 – Содержание ионов Са²⁺ в продуктах распада протопектина при комбинированном фракционировании, %

V MT		Пмл			Св		КП		
V ЭГ, MJI	МΓ	ПВ	OC	МΓ	ПВ	OC	МΓ	ПВ	OC
50	0,00	0,88	0,23	0,00	1,22	0,22	0,00	1,10	0,35
100	2,67	0,70	0,21	2,87	0,67	0,17	3,10	1,02	0,26
150	1,47	0,52	0,17	2,00	0,51	0,11	2,40	0,81	0,24
200	2,04	0,20	0,16	2,30	0,40	0,09	3,00	0,25	0,18
250	2,45	0,08	0,09	2,50	0,08	0,08	3,60	0,20	0,13
300	2,87	0,21	0,08	2,71	0,10	0,07	0,00	0,24	0,09
350	3,04	0,34	0,05	2,92	0,26	0,02	0,00	0,48	0,02
400	0,00	0,89	0,04	0,00	0,73	0,01	0,00	1,04	0,02

Таблица 11 – Содержание ионов Са²⁺ в продуктах распада протопектина при барофракционировании, %

Vэг. мл		Пмл			Св		КП		
vэг, мл	МΓ	ПВ	OC	МΓ	ПВ	OC	МΓ	ПВ	OC
50	1,43	0,73	0,23	2,15	0,93	0,23	2,61	1,15	0,25
100	1,67	0,34	0,14	2,64	0,54	0,14	2,39	1,04	0,21
150	2,09	0,13	0,13	3,27	0,17	0,07	2,11	0,23	0,18
200	2,21	0,18	0,08	3,83	0,27	0,07	1,74	0,26	0,16
250	0,00	0,32	0,02	0,00	0,54	0,04	0,00	0,31	0,11
300	0,00	0,43	0,02	0,00	0,57	0,04	0,00	0,38	0,05
350	0,00	0,56	0,01	0,00	0,68	0,01	0,00	0,54	0,05
400	0,00	0,79	0,01	0,00	0,98	0,01	0,00	0,61	0,01

Таким образом, несмотря на некоторое различие, обусловленное влиянием природы сырьевого источника, в распределении остатков нейтральных сахаров в продуктах распада протопектина различного сырья, полученных в потоке реакционного раствора, моносахаридный состав микрогеля, пектиновых веществ и олигосахаридов достаточно однороден. Соответственно, несмотря на то, что в протопектине звенья одних и тех же нейтральных сахаров могут быть одновременно локализованы и в основной, и в боковых цепях макромолекулы, в отличие от существующих методов получения пектиновых полисахаридов, комбинированное фракционирование, как и при атмосферном, так и при повышенном давлении, позволяет получить вещества однородные по структуре, что решает одну из основных проблем физической химии пектиновых полисахаридов. В связи с этим необходимо детальное изучение механизма процессов, протекающих в динамическом режиме, чему и будет посвящен следующий раздел.

3.3. Механизм распада протопектина в потоке реакционного раствора при атмосферном и повышенном давлении

Для понимания механизма распада необходимо учитывать влияние всех факторов, влияющих на физико-химические параметры продуктов реакции. Наибольший интерес представляет влияние температуры на процесс распада протопектина, выход, качество и физико-химические параметры пектиновых полисахаридов, их распределение по фракциям.

Комбинированное фракционирование проводили в аналогичных условиях для всех видов сырья при значениях температур 333 К, 348 К, 358 К, 368 К, согласно методике, описанной ранее. Параллельно проводили барофракционирование в аналогичных для всей фитомассы условиях при постоянном давлении 152 кПа и различных температурах 373 К, 393 К, 403 К, 413 К, согласно вышеописанной методике. Установлено, что для всех исследованных сырьевых источников влияние температуры и давления на распад протопектина, численные значения выходов фракций и их физико-химические параметры носит схожий характер. При увеличении температуры процесса комбинированного фракционирования от 333 К до 368 К значение суммарного распада протопектина всех видов фитомассы постепенно возрастает на протяжении всего процесса. При этом максимальное значение распада отмечается при 358 К, после чего несколько стабилизируется. При барофракционировании значения распада ПП увеличиваются. Повышение температуры от 373 К до 413 К под воздействием давления приводит к незначительному увеличению суммарного распада ПП. Зависимость выхода микрогеля при КФр при всех исследуемых температурах носит экстремальный характер. Повышение температуры приводит к смещению области максимума в сторону начала оси координат, и увеличению значений выхода. При Бфр максимальное содержание МГ отмечается в первой фракции, независимо от температуры, далее стремительно падает, достигая практически нулевых значений к пятой фракции. Увеличение температуры приводит к уменьшению численных значений выхода МГ, не влияя на характер зависимости (табл. 12 – Пмл; табл. 7, 9 (Приложение А) – Св и КП, соответственно).

Выход ПВ при КФр увеличивается с ростом температуры, несколько стабилизируясь с четвертой по восьмую фракции. При 368 К отмечено снижение выхода ПВ, начиная с седьмой фракции. Аналогичная зависимость наблюдается и в методе БФр. При температуре 373 К выход пектиновых веществ резко возрастает ко второй фракции, продолжая постепенно повышаться. Увеличение температуры с 393 К до 413 К приводит к смещению области резкого роста на третью и четвертую фракции, продолжая повышаться (табл. 13 – Пмл; табл. 8, 10 (Приложение А) – Св и КП, соответственно).

Повышение температуры процесса комбинированного фракционирования положительно сказывается на содержании остатков звеньев галактуроной кислоты и её степени этерификации как в микрогеле, так и в пектиновых веществах, сохраняя экстремальную зависимость до температуры 368 К. Обратная зависимость отмечена при наличии давления в процессе барофракционирования. Увеличение температуры приводит к снижению содержания галактуроновой кислоты и уменьшению значений степени этерификации. При барофракционировании содержание галактуроновой кислоты и её степень этерификации в пектиновых веществах возрастает с числом фракций, однако, уменьшается с повышением температуры. Максимальное содержание отмечается при T=373 K и T=393 К. При этих же значениях температуры отмечается и максимальное содержание галактуроновой кислоты в микрогеле, носящее экстремальный характер в первых двух фракциях и уменьшающееся при дальнейшем повышении температуры (табл. 12, 13 – Пмл; табл. 7-10 (Приложение A) – Св и КП). Полученные данные дают возможность оценить механизм распада ПП различной фитомассы в широком диапазоне температур, как при атмосферном, так и повышенном давлениях. Выявленная зависимость содержания остатков звеньев галактуроной кислоты от суммарного выхода пектиновых полисахаридов позволила определить дальнейший метод обработки данных, используя содержание галактуроновой кислоты в качестве индикатора распада протопектина. Следует отметить, что выбранный подход не обозначает распад протопектина, как исключительное разрушение связей с остатками ГК.

Vэг, мл				Темпер	атура, К			
		К	Фр			Б	фp	
	333	348	358	368	373	393	403	413
			Галакту	роновая к	ислота			
50	-	-	-	-	83,40	83,40	82,20	82,80
100	37,80	36,60	82,20	59,40	82,80	82,80	81,00	81,60
150	40,80	39,60	86,40	73,20	82,20	82,20	80,40	80,40
200	42,60	48,00	81,60	61,80	79,80	79,20	79,80	78,00
250	46,80	43,20	80,40	59,40	-	-	-	-
300	44,40	40,80	79,80	58,80	-	-	-	-
350	42,00	39,60	79,20	-	-	-	-	-
400	39,60	37,80	-	-	-	-	-	-
			Степен	ь этерифи	кации			
50	-	-	-	-	41,19	40,09	39,36	39,11
100	35,80	37,13	40,00	38,89	43,01	41,97	41,54	41,17
150	42,43	45,08	50,49	49,79	43,11	42,86	42,21	42,07
200	45,08	47,95	46,60	45,88	45,98	45,62	44,89	44,28
250	45,08	45,08	42,59	33,88	-	-	-	-
300	31,83	34,47	40,74	31,36	-	-	-	-
350	30,49	33,15	39,45	-	-	-	-	-
400	29,17	31,83	-	-	-	-	-	-
				Выход				
50	-	-	-	-	3,09	2,91	2,81	2,52
100	0,25	0,61	0,68	1,28	2,38	2,43	2,24	1,80
150	0,31	1,42	6,39	4,02	1,64	1,52	1,35	1,18
200	0,77	3,65	3,42	3,26	0,81	0,59	0,54	0,48
250	2,51	2,96	2,07	1,08	-	-	-	-
300	1,87	1,58	1,23	0,17	-	-	-	-
350	1,32	1,04	0,52	-	-	-	-	-
400	0,67	0,67	-	-	-	-	-	-

Таблица 12 - Физико-химические параметры фракций МГ Пмл

Для оценки механизма распада протопектина, учитывая то, что основным физико-химическим параметром, независимо от вида фитомассы, является галактуроновая кислота, определяющая структуру, основные свойства и т.д., динамику выхода пектиновых полисахаридов по фракциям в диапазоне температур 333 – 368 К пересчитывали на содержание остатков галактуроновой кислоты (n(ГК)) на единицу исходной фитомассы, принимая количество ГК за количество ПП.

Vэг, мл	Температура, К								
		Ko	⊅р			Бо	þр		
	333	348	358	368	373	393	403	413	
			Галакту	роновая к	ислота				
50	39,00	38,40	63,60	42,00	73,80	73,20	72,00	73,20	
100	56,40	55,80	66,60	56,40	74,40	73,60	73,80	75,00	
150	63,60	63,00	73,20	63,60	75,60	74,40	74,40	75,60	
200	70,20	70,80	81,60	72,00	76,20	79,20	76,20	76,20	
250	74,40	74,40	85,80	75,60	76,80	78,60	79,20	79,20	
300	76,80	75,60	86,40	72,60	78,00	78,00	78,60	78,60	
350	71,40	69,60	83,40	67,20	78,70	77,40	78,00	78,00	
400	61,80	61,80	79,80	59,40	79,20	76,80	77,40	76,80	
			Степен	ь этерифи	кации				
50	54,44	56,61	59,50	56,78	40,67	38,76	33,78	33,12	
100	57,31	60,97	62,60	62,12	43,98	43,56	37,99	37,14	
150	59,50	63,14	65,83	66,14	48,76	50,79	39,98	38,54	
200	62,47	67,50	72,07	81,21	53,67	54,39	43,56	41,15	
250	74,04	76,22	75,93	79,22	60,84	57,42	49,89	47,37	
300	83,92	86,08	74,77	77,24	69,24	62,21	60,47	50,84	
350	83,92	83,92	73,87	71,29	72,12	67,83	68,13	58,16	
400	81,78	81,78	72,81	63,38	75,76	71,79	70,34	68,28	
				Выход					
50	0,13	0,22	0,23	0,24	0,64	0,31	0,34	0,41	
100	0,22	0,56	0,53	0,63	3,04	0,99	0,92	1,02	
150	0,41	0,75	0,78	1,54	3,37	3,26	3,49	3,46	
200	0,58	1,74	2,41	2,57	3,76	4,12	4,10	4,15	
250	1,08	2,83	4,70	2,89	3,84	4,53	4,51	4,45	
300	2,19	3,32	5,05	3,05	4,03	4,84	4,76	4,78	
350	2,94	3,70	5,49	1,91	4,17	5,04	5,09	5,34	
400	3,51	4,02	5,90	1,73	4,28	5,34	5,53	5,58	

Таблица 13 - Физико-химические параметры фракций ПВ Пмл

Обработку полученных данных распада протопектина помело, свеклы и подсолнечника проводили с использованием уравнения скорости химической реакции, протекающей в потоке [203, 231]:

$$n_0 x = -n_0 \frac{1+\beta}{\beta} \ln(1-x) - k \frac{PV}{\beta RT}$$
(16)

$$n_0 x = Z$$
 , (17)

$$-n_0 \ln(1-x) = Y , \qquad (18)$$

$$Z = \frac{1+\rho}{\beta}Y - k\frac{IV}{\beta RT} \qquad , \tag{19}$$

где: n₀ – содержание остатков галактуроновой кислоты в протопектине на один грамм исходной фитомассы, принятое как сумма ГК МГ и ГК ПВ, мэкв/г-сырья; x – доля остатка ГК в ПП после распада; P – давление; V – объём колонки см³; R – газовая постоянная, см³ атм/моль-град; T – температура, K.

Уравнение (16) позволяет оценить параметры реакции, проходящей по схеме $\Pi\Pi \rightarrow M\Gamma + \Pi B$, подразумевающей распад протопектина на компоненты реакции: микрогель и пектиновые вещества. Значение суммарных выходов микрогеля и пектиновых веществ помело в пересчёте на содержание остатков галактуроновой кислоты в исходной фитомассе при комбинированном фракционировании при температуре 358 К представлены в таблице 14, в качестве примера. Аналогично были обработаны экспериментальные данные распада протопектина помело в режиме барофракционирования, а также распада ПП свекловичного жома и корзинок подсолнечника при атмосферном и повышенном давлении. Необходимо отметить, что зависимости данных, выраженных в содержании остатков ГК в сырье сохраняют свой характер, идентичный численным значениям выходов полученных веществ.

Таблица 14 – Данные для расчёта кинетики распада ПП помело при КФр (T=358 K)

Кинетические			Объём	элюата-	гидроли	зата, мл			Σ
параметры	50	100	150	200	250	300	350	400	Δ
n ₀ · 10 ⁻³ , мэкв/г-сырья	8,2	51,9	348,3	271,9	325,3	305	285,3	269,2	1865,2
x · 10 ⁻³	4,4	27,8	186,7	145,8	174,4	163,5	153,0	144,3	1000,0
$Z \cdot 10^{-3}$	8,2	52,0	349,2	272,6	326,1	305,8	286,1	269,9	-
$Y \cdot 10^{-3}$	8,2	52,6	385,5	293,9	357,5	333,1	309,7	290,7	-

При обработке полученных результатов не учитывалось содержание линейных полимеров олигосахаридов, ввиду их малых молекулярных масс и низкого содержания звеньев галактуроновой кислоты, что позволило существенно упростить проведённые расчёты, не искажая конечный результат установления закономерности распада протопектина. Общее содержание ПП в растительном сырье было принято равным сумме фракций микрогеля и пектиновых веществ после завершения процесса распада протопектина.

Для оценки величины β и k, были рассчитаны значения Z и Y, а уравнение 16 было преобразовано в уравнение 19, что дало возможность получить графическую линейную зависимость с отрезком на оси ординат, равным – $k(PV/\beta RT)$, и тангенсом угла наклона $tg\varphi = (1+\beta)/\beta$ [203, 231]. При этом долю остатка галактуроновой кислоты в протопектине рассчитывали по формуле:

$$x = \frac{n_0}{\sum n_0} \qquad , \tag{20}$$

Как видно из графиков для метода комбинированного фракционирования и для метода барофракционирования, зависимость величины Z от Y хорошо описывается уравнением прямой линии. Высокие значения коэффициентов корреляции (R²) свидетельствуют о правильном подходе к описанию процесса распада протопектина в потоке реакционного раствора при помощи уравнения (16). Полученные данные были использованы для расчета значений β и k (табл. 15 – Пмл; табл. 11, 12 (Приложение А) - Св и КП, соответственно).

Используя полученные данные, были построены зависимости логарифма константы общей реакции распада протопектина на сумму микрогеля и пектиновых веществ от обратной температуры.



Рисунок 18 - Зависимость Z от Y для распада протопектина альбедо помело при различной температуре Кфр 333 К (1), 348 К (2), 358 (3), 368 (4) (а) и Бфр: 373 К (1), 393 К (2), 403 (3), 413 (4) (линии 1 и 4 расположены по основной вертикальной оси, 2 и 3 – по вспомогательной).

Для всех исследованных сырьевых источников зависимости хорошо описываются уравнениями прямой линии с коэффициентами корреляции,

близкими к единице (рис. 19-21), что дало возможность по уравнению Аррениуса оценить кажущуюся энергию активации процесса распада протопектина. В условиях комбинированного фракционирования при атмосферном давлении E_a составляет 35 кДж/(моль (ГК)) для помело, 38 кДж/(моль (ГК)) для свекловичного жома и 63 кДж/(моль (ГК)) для корзинок подсолнечника. При барофракционировании, вклад давления и температуры не меняет общего характера процесса, ускоряя распад протопектина до линейных полимеров. Энергия активации процесса распада протопектина при этом составила E_a=9 кДж/моль(ГК) для альбедо помело, E_a=6 кДж/моль(ГК) для свеклы, E_a=9 кДж/моль(ГК) для корзинок подсолнечника. Снижение энергии активации обусловлено ускорением процесса распада протопектина, вызванным воздействием повышенного давления и температуры.

Таблица 15 – Параметры кинетического уравнения (16) распада ПП Пмл при атмосферном и повышенном давлении

Т, К	Уравнение корреляции	\mathbb{R}^2	β	k
	КФр			
333	Z=0,8679Y+0,003	0,9995	-1,1522	0,3919
348	Z=0,8877Y+0,0043	0,9997	-1,1265	0,5739
358	Z=0,8455Y+0,0089	0,9993	-1,1131	0,8546
368	Z=0,8984x+0,0063	0,9995	-1,1827	1,3187
	Бфр			
373	Z = 0,8691Y + 0,0097	0,9999	-1,1506	0,5669
393	Z = 0,6033Y + 0,0077	1,0000	-1,6576	0,6829
403	Z = 0,609Y + 0,0077	0,9999	-1,6420	0,6938
413	Z = 0,6191Y + 0,0074	0,9999	-1,6152	0,6722



Рисунок 19 - Зависимость lnk от 1/Т для реакции распада протопектина Пмл (а) и Св (б) при Кфр.



Рисунок 20 - Зависимость lnk от 1/Т для реакции распада ПП КП при Кфр (а) и ПП Пмл при Бфр (б).

Таким образом, процесс распада протопектина, протекающий в режимах с динамическим потоком реакционного раствора, независимо от величины давления, хорошо описывается согласно общей закономерности кинетики химической реакции, протекающей в потоке растворителя. Необходимо отметить, что полученные экспериментальные данные свидетельствуют о последовательном характере реакции распада протопектина с образованием сетчатого полимера микрогеля, как промежуточного соединения. Таким образом, необходима оценка параметров процесса распада на основе последовательной реакции, протекающей в потоке растворителя.



Рисунок 21 - Зависимость lnk от 1/Т для реакции распада протопектина Св (а) и КП (б) при Бфр.

Для оценки параметров реакции, протекающей по схеме $\Pi\Pi \rightarrow M\Gamma \rightarrow \Pi B$, предполагающей последовательный распад протопектина на микрогель и, далее, на пектиновые вещества, экспериментальные данные ((табл. 12, 13; табл. 7-10 (Приложение А)), полученные для альбедо помело, свекловичного жома

и корзинок подсолнечника, были обработаны с использованием уравнения последовательной необратимой реакции, протекающей в потоке гидролизующего раствора:

$$k_{1} = n_{o} \frac{RT}{PV(1-K)} \{-v_{2}(1-K)\ln(1-x) - [v_{1}-1+K(1-v_{2})]x + \frac{v_{2}-v_{1}}{K}(1-x)^{K} - \frac{v_{2}-v_{1}}{K}\}, \quad (21)$$

где: n_o – содержание остатков галактуроновой кислоты в протопектине на один грамм исходной фитомассы, мэкв/г-сырья; х – доля остатка ГК в ПП после распада, R – газовая постоянная (см³·атм/моль-град), T – температура, К; P – давление (атм.); V – объём колонки (см³).

Величина К уравнения (21) вычисляется по уравнению:

$$(1 - x_m)^{K-1} = \frac{1}{K}$$
 (22)

где *x_m* – количество распавшегося протопектина, рассчитанное по максимальному выходу МГ.

Логарифмируя выражение (22):

$$(1-K)\ln(1-x_m) = \ln K$$
 , (23)

Принимая:

$$(1-K)\ln(1-x_m) = Z,$$

$$\ln K = U \qquad , \qquad (24)$$

Построив график зависимости (24), по точке пересечения Z с U были определены значения величины К. Принимая общий распад ПП, как максимальный выход микрогеля, и применив уравнение (21), становится возможным определить значения константы скорости реакции распада ПП на МГ (k₁) [242].

Используя полученные данные, константа скорости реакции распада МГ на ПВ (k₂), рассчитывалась по уравнению:

$$K = \frac{k_2 \nu_1}{k_1 \nu_2} , (25)$$

На рисунке 22 приведены графики зависимости параметров Z и U от величины K, построенные с использованием уравнения (24) для пектиновых полисахаридов помело, полученных при различной температуре. Для КФр и Бфр при всех значениях температуры процессов, кривые Z и U пересекаются. Увеличение температуры процесса смещает точки пересечения в область начала координат, как при атмосферном давлении, так и при повышенном. Схожая зависимость наблюдается для всех исследованных сырьевых источников.



Рисунок 22 - Зависимость параметров Z и U от величины K для реакции распада ПП Пмл (а) при KФр и температуре 333 K (1), 348 K (2), 358 K (3) и 368 K (4) и при Бфр и температуре 373 K (1), 393 K (2), 403 K (3) и 413 K (4) (6).

Максимальный суммарный выход остатков звеньев галактуроновой кислоты является её общим содержанием в фитомассе, т.е. величиной n_o (20) (табл. 14). Значение n_o принято равным: 0,6276 мэкв/г-сырья (T=333 K), 0,9654 мэкв/г-сырья (T=348 K), 1,8652 мэкв/г-сырья (T=358 K), 0,9414 мэкв/г-сырья (T=368 K). При барофракционировании значение максимального суммарного выхода остатков звеньев галактуроновой кислоты n_o принято равным: 0,1542 мэкв/г-сырья (T=373 K), 0,1458 мэкв/г-сырья (T=393 K), 0,1536 мэкв/г-сырья (T=403 K), 0,1560 мэкв/г-сырья (T=413 K).

Установив численные значения n_0 и К и вычислив величину x_m , для определения величины k_1 необходимо найти значения v_1 и v_2 по формулам: $v_1 = n(\Gamma K)_{M\Gamma}/n_o$, $v_2 = n(\Gamma K)_{\Pi B}/n_o$, где $n(\Gamma K)_{M\Gamma} - u - n(\Gamma K)_{\Pi B}$, – отношение массы галактуроновой кислоты в микрогеле и пектиновых веществах к молекулярной массе (М(ГК)_{ост}) остатков ГК, равной 175 Дал [243].

В таблице 16 в качестве примера приведены параметры расчёта констант k₁ и k₂ по уравнениям (17) и (25) для распада протопектина помело при КФр при T=358 К. Аналогичные расчёты были проведены для протопектина свеклы и корзинок подсолнечника под воздействием параметров методов

комбинированного и барофракционирования. Установлено, что во всех случаях константы не являются постоянными величинами, а изменяются аналогично значениям выходов фракций, содержания в них галактуроновой кислоты и молекулярной массы. Данный факт доказывает правильность выбранного подхода к оценке параметров реакции последовательного распада протопектина в потоке реакционного раствора, что позволило провести обработку экспериментальных данных в пределах каждой изолированной фракции, как сетчатого, так и линейного полимеров. Значения констант реакций были использованы для расчёта кажущейся энергии активации процесса с использованием уравнения Аррениуса.

Рассчитанные значения кажущейся энергии активации первой и второй реакции разрыва химических связей остатков галактуроновой кислоты в зависимости от объёма элюата-гидролизата позволили установить, что при атмосферном давлении энергия активации первой реакции в области от 100 до 200 мл для альбедо помело составляет 63; 83; 57 кДж/моль, соответственно (рис. 23). Для элюата-гидролизата свекловичного жома - 59; 75; 53 кДж/моль. Для корзинок подсолнечника – 55; 98; 59 кДж/моль. Далее, величина кажущейся энергии активации резко уменьшается и стабилизируется в области 250-400 мл, принимая усредненные значения для Пмл – 21 ± 2 кДж/моль; для Св - 21 ± 5 кДж/моль; для КП – 20 ± 1 кДж/моль.

Кинетические	Объём элюата-гидролизата, мл							
параметры	50	100	150	200	250	300	350	400
x · 10 ⁻³	4,4	27,8	186,7	145,8	174,4	163,5	153	144,3
$v_1 \cdot 10^{-3}$	0,0	17,1	169,2	85,5	50,9	30,0	12,5	0,0
$v_2 \cdot 10^{-3}$	4,4	10,8	17,6	60,2	123,5	133,5	140,5	144,3
\mathbf{k}_1	1,0006	6,3268	43,0283	33,3521	39,9169	37,3628	34,9002	32,8912
k ₂	-	0,63	0,1038	0,7042	2,4272	4,4531	11,2075	-

Таблица 21 – Параметры уравнений (17) и (25) для Пмл при КФр (Т=358 К)

Значение E(k₂) второй реакции при атмосферном давлении составляет $6 \cdot 10^{-7} \pm 1 \cdot 10^{-7}$ кДж/моль для альбедо помело, $-2 \cdot 10^{-6} \pm 1 \cdot 10^{-6}$ кДж/моль для свеклы, и $-9 \cdot 10^{-8} \pm 1 \cdot 10^{-8}$ кДж/моль для корзинок подсолнечника. При повышенном давлении кажущаяся энергия активации первой реакции для ПП

помело в области 50-100 мл составляет 5; 17 кДж/моль, для свеклы – 7; 27 кДж/моль, для подсолнечника – 3; 14 кДж/моль. Далее данная величина резко снижается для всех видов исследованного сырья, принимая отрицательные значения. В области 50-100 мл E(k₂) принимает значения 15; 47 кДж/моль для протопектина помело, 34; 72 кДж/моль для свекловичного жома, 12; 42 кДж/моль – для ПП КП. Далее величина резко снижается для всех видов сырья, достигая отрицательных значений. Оценённые значения энергии активации, свидетельствуют, что при барофракционировании реакция протекает настолько быстро, что момент разрыва химических связей остатков звеньев галактуроной кислоты с ионами кальция и остатками клеточной стенки практически не удается зафиксировать.



Рисунок 23 - Зависимость кажущейся энергии активации процесса последовательного распада ПП ПМл от объёма элюата-гидролизата при КФр (а) и Бфр (б): 1 - E(k₁), 2 - E(k₂).

Полученные данные демонстрируют неоднородность макромолекулы пектиновых полисахаридов по структуре, что подтверждает моделирование распада протопектина как при атмосферном, так и при повышенном давлении, протекающем идентично, независимо от природы фитомассы. В начале процесса гидролиз-экстракции происходит химическая реакция разрушения ковалентной связи остатков компонентов ПП с растительной клеточной стенкой, включая связи со звеньями галактуроновой кислоты и ионные связи карбоксильных групп с ионами кальция, приводя к получению продуктов распада в виде высокомолекулярных и сетчатых полимеров. Последующий процесс является диффузией проэкстрагированных макромолекул микрогеля из зоны реакции в поток гидролизата, с низкими значениями энергии активации. Воздействие высокого давления при барофракционировании приводит к резкому ускорению процесса гидролиз-экстракции, что приводит к смещению реакции в сторону формирования водорастворимых биополимеров, обогащенных звеньями галактуроновой кислоты.

3.4. Молекулярно-массовая неоднородность пектиновых полисахаридов

Одним из важнейших коллоидно-химических свойств пектиновых полисахаридов является вязкость их разбавленных растворов. Она необходима для определения молекулярно-массовых характеристик и изучения особенностей формирования структуры пектиновых гелей в зависимости от значения pH, температуры и концентрации.

Для изучения вязкостных характеристик в качестве фонового электролита был использован 1% раствор КСІ. Измерения проводили на вискозиметре Уббелоде с диаметром капилляра 0,78 мм. Время течения растворителя составляло 31,02 сек при 298 К. Из концентрационных зависимостей приведенной вязкости экстраполяционным методом определяли значение характеристической вязкости фракций пектиновых полисахаридов. На рисунке 24 показана зависимость приведенной вязкости (η_{ya} /C) от концентрации раствора (C) изолированных фракций пектиновых веществ и микрогеля помело, а в таблице 22 представлены уравнения, описывающие эти прямые и коэффициенты корреляции (\mathbb{R}^2) для каждой линии тренда фракций МГ и ПВ Пмл.



Рисунок 24 - Зависимость величины приведённой вязкости от концентрации для фракций ПВ (а) и МГ (б) помело.

Аналогичные исследования были проведены для изолированных фракций микрогеля и пектиновых веществ свекловичного жома и корзинки подсолнечника [244-248]. Все экспериментальные данные хорошо укладываются в прямолинейную зависимость η_{пр} от C, что подтверждают величины R², значения которых во всех случаях близки к единице.

Vэг, мл	Уравнение	\mathbb{R}^2					
ПВ							
50	$\eta_{\pi p} = 3,3966C + 0,8741$	0,9952					
100	$\eta_{\pi p} = 4,2903C + 1,3875$	0,9934					
150	$\eta_{np} = 5,9745C + 2,1229$	0,9963					
200	$\eta_{np} = 13,253C + 3,7539$	0,9952					
250	$\eta_{\pi p} = 13,322C + 4,0876$	0,9991					
300	$\eta_{\pi p} = 13,442C + 3,9234$	0,9942					
350	$\eta_{\pi p} = 13,201C + 3,4681$	0,9985					
400	$\eta_{np} = 7,2706C + 2,668$	0,9961					
Исходный образец	$\eta_{np} = 7,0993C + 2,8282$	0,9972					
	ΜΓ						
100	$\eta_{\pi p} = 16,908C + 2,119$	0,9975					
150	$\eta_{\pi p} = 30,035C + 4,9557$	0,9995					
200	$\eta_{\pi p} = 28,685C + 4,5302$	0,9994					
250	$\eta_{\pi p} = 23,473C + 3,6352$	0,9997					
300	$\eta_{np} = 17,079C + 2,9186$	0,9973					
350	$\eta_{\pi p} = 16,368C + 1,7917$	0,9997					
Исходный образец	$\eta_{np} = 20,957C + 3,2304$	0,9967					

Таблица 22 – Уравнения зависимости η_{np} от С для фракций ПВ и МГ Пмл

На рисунке 25 представлены значения характеристической вязкости фракций микрогеля и пектиновых веществ помело, свеклы и корзинок подсолнечника. Установлено, что изменение данного параметра происходит по закономерности, аналогичной изменениям выхода, содержания галактуроновой кислоты и степени этерификаци, т.е. проходит через максимум, приходящийся для микрогеля на третью, а для пектиновых веществ на пятую фракции. Данные, приведенные в таблице 23, указывают на достаточно высокое совпадение значение характеристической вязкости исходного полимера со средним значением величины [η] по всем фракциям, что доказывает разделение целевых продуктов по молекулярной массе. Критерий разбавленности растворов и взаимодействие растворителя с полимером являются определяющими факторами измерения характеристической вязкости.



Рисунок 25 - Значение характеристической вязкости МГ (1) и ПВ (2) помело (а), свеклы (б), КП (в).

В таблице 24 представлены соответствующие данные для изолированных фракций микрогеля и пектиновых веществ помело. Аналогичные результаты для фракций МГ и ПВ свеклы и корзинок подсолнечника представлены в таблицах 13, 14 (Приложение А). Как видно, во всем диапазоне концентраций значения 1/[η]>>C, что доказывает достаточную разбавленность растворов микрогеля и пектиновых веществ до отдельных молекул при всех измерениях продолжительности течения исследуемых веществ. По уравнению Хаггинса (26) была охарактеризована интенсивность взаимодействия макромолекул пектиновых полисахаридов с растворителем в области концентраций от 0,035 до 0,177 г/дл (для ПВ) и от 0,019 до 0,098 г/дл (для МГ).

$$\frac{\eta_{\mathrm{y}\mathrm{d}}}{\mathrm{C}} = [\eta] + \mathrm{K} \cdot [\eta]^2 \cdot \mathrm{C} \qquad , \qquad (26)$$

где К – константа Хаггинса.

Касательно второго критерия растворения, значение константы К для пектиновых веществ и микрогеля для всех видов фитомассы превышает 0,5, что свидетельствует о «плохом» качестве растворителя, т.е. о его взаимодействии с макромолекулами полимера, несмотря на их раздробленность (табл. 24 -Пмл; табл. 13, 14 (Приложение А – Св и КП, соответственно).

На основании представления о взаимосвязи [η] и молекулярной массы полимеров в растворителе, описанной уравнением Марка-Куна-Хаувинка (27): [η]=КМ^α , (27)

Молекулярная масса фракций микрогеля и пектиновых веществ различной фитомассы, полученных при комбинированном фракционировании в потоке реакционного раствора, была определена на жидкостном хроматографе LC-20 фирмы «Shimadzu» (Киото, Япония). Используя значения величин характеристической вязкости (табл. 24 -Пмл; табл. 13, 14 (Приложение А – Св и КП, соответственно) и молекулярной массы (табл. 25) фракций МГ и ПВ, согласно уравнению Lg[η] = LgK+αLgM, были построены соответствующие зависимости (рис. 26) и оценены величины К и α (табл. 26). Значения константы α, позволяющие оценить форму и степень свертывания макромолекул, хорошо согласовываются с литературными данными и представлением о конформации пектиновых макроколекул в разбавленных растворах.

Таблица 23 – Характеристическая вязкость исходного полимера и среднего значения величины [η] фракций

КП									
[η] сред. ПВ	[η] исх. ПВ	[η] сред. МГ	[η] исх. МГ						
1,37	1,34	4,44	4,40						
	Св								
[η] сред. ПВ	[η] исх. ПВ	[η] сред. МГ	[η] исх. МГ						
1,72	1,70	3,75	3,70						
	Пмл								
[η] сред. ПВ	[η] исх. ПВ	[η] сред. МГ	[η] исх. МГ						
2,76	2,80	3,30	3,25						

Таблица 24 – Параметры уравнения Хаггинса и критерии разбавленности растворов фракций пектиновых веществ и микрогеля помело

Vэг, мл	С1, г/дл	С2, г/дл	Сз, г/дл	С4, г/дл	С5, г/дл	[η]	К	1/[η], г/дл	
ПВ									
50	0,177	0,146	0,108	0,071	0,035	0,88	4,386	1,136	
100	0,177	0,147	0,109	0,072	0,035	1,38	2,253	0,725	
150	0,176	0,146	0,108	0,071	0,035	2,10	1,355	0,476	
200	0,177	0,146	0,108	0,071	0,035	3,70	0,968	0,270	
250	0,175	0,145	0,107	0,071	0,035	4,10	0,793	0,244	
300	0,174	0,143	0,106	0,070	0,035	3,90	0,884	0,256	
350	0,176	0,145	0,108	0,071	0,035	3,40	1,142	0,294	
400	0,177	0,146	0,108	0,071	0,035	2,60	1,076	0,385	
Исх.	0,177	0,146	0,109	0,072	0,035	2,80	0,906	0,357	
				МΓ					
100	0,097	0,080	0,060	0,039	0,019	2,1	3,834	0,476	
150	0,096	0,079	0,059	0,039	0,019	4,8	1,304	0,208	
200	0,098	0,081	0,060	0,040	0,020	4,5	1,417	0,222	
250	0,098	0,081	0,060	0,039	0,020	3,7	1,715	0,270	
300	0,098	0,081	0,060	0,040	0,020	2,9	2,031	0,345	
350	0,098	0,081	0,060	0,040	0,020	1,8	5,052	0,556	
Исх.	0,097	0,080	0,060	0,039	0,019	3,25	1,984	0,308	

	Микрогель						Пектиновые вещества					
V _{ЭГ} ,	Пмл		Св	КП		Пмл		Св		КП		
МЛ	M _w ,		M _w ,		M _w ,		M _w ,		M _w ,		M _w ,	
	кДа	W_W/W_n	кДа	IVI_W/IVI_n	кДа	W_W/W_n	кДа	W_W/W_n	кДа	W_W/W_n	кДа	IVI_W/IVI_n
50	-	-	-	-	-	-	30,4	1,9	34,3	2,5	38,0	1,8
100	219,0	3,8	301,5	2,9	382,7	3,9	44,3	1,6	45,8	2,4	52,2	1,7
150	832,8	2,6	1076,0	2,0	1592,7	3,2	77,4	1,3	80,3	1,8	71,8	1,6
200	708,8	2,9	898,3	2,2	1250,3	3,4	164,2	1,1	151,9	1,6	125,4	1,4
250	523,2	3,1	603,8	2,5	834,1	3,7	188,2	1,1	182,5	1,5	155,0	1,3
300	-	-	461,6	2,7	-	-	176,1	1,1	161,9	1,6	142,9	1,3
350	-	-	334,0	2,6	-	-	146,8	1,2	109,8	1,7	131,2	1,4
400	-	-	-	-	-	-	102,8	1,2	66,3	1,8	87,6	1,7

9,0

0,75

0.7

0.65

0.5

0,45

0.4 0,35

0,3

5,2

5,4

Таблица 25 – Молекулярная масса фракций микрогеля и пектиновых веществ, кДа

б а Рисунок 26 – Зависимость $\log [\eta]$ от $\log MM M\Gamma$ (а) и ПВ (б): 1 – Пмл; 2 – Св; 2 – КП.

Как видно из рисунка 26 зависимость $Lg[\eta]$ от LgM хорошо описывается уравнением прямой линии при коэффициенте корреляции (R²), близком к единице. В таблице 26 представлены параметры уравнения Марка-Куна-Хаувинка для микрогеля и пектиновых веществ различной фитомассы, а также рассчитанные по уравнению значения молекулярной массы и значения ММ МГ и ПВ, полученных в потоке реакционного раствора в идентичных условиях, но без фракционного разделения (ММ_{эксп.}). Необходимо отметить достаточно высокое совпадение экспериментальных и расчетных значений. Данный факт демонстрирует успешность применения разработанного подхода к совмещению процессов гидролиз-экстракции и хроматографического разделения пектиновых полисахаридов с получением однородных, чистых веществ. Достаточно однородный моносахаридный состав фракций, как микрогеля, так и пектиновых веществ, указывает на однородность полученных веществ не только по

0,7 0,6 0.5 0,4 0,3 I 0g 0.2 0.1 -0,1 5,8 log MM 5,6 6,2

-0.2

log MM

составу, но и по структуре основных цепей макромолекул, что хорошо согласуется с данными ИК-спектроскопии в сравнении с D-галактуроновой кислотой. Таблица 26 – Параметры уравнения Марка-Куна-Хаувинга для микрогеля и пектиновых веществ различной фитомассы

Параметр	МΓ			ПВ			
	Пмл	Св	КП	Пмл	Св	КП	
[η] сред,	3,30	3,75	4,44	2,76	1,72	1,37	
дл/г							
ММэксп.,	468,86	620,75	1028,37	116,35	105,98	100,38	
кДал							
MM _{расч.} ,	466,00	625,96	1031,32	118,08	96,28	101,41	
кДал							
K·10 ⁻⁴	8,86	8,36	8,30	2,15	4,98	4,29	
α	0,63	0,63	0,62	0,81	0,71	0,70	
\mathbb{R}^2	0,9974	0,9973	0,9965	0,9942	0,9982	0,9927	

Спектры сухих образцов пектиновых полисахаридов и их фракций записаны с использованием Spectrum 65 FT-IR (Perkin Elmer, Шейцария) в области 4000 см⁻¹ - 600 см⁻¹. На ИК Фурье-спектрах фракций микрогеля и пектиновых веществ (рис. 27) наблюдается наличие полос поглощения в области 1740-1700 см⁻¹, относящихся к валентным колебаниям карбонилов недиссоциированных и метилированных карбоксильных групп, а также наличие характерных полос поглощения в области 1200-900 см⁻¹, относящихся к колебаниям пиранозных циклов, характерным для гомогалактуронана и рамногалактуронана.



Рисунок 27 – ИК-Фурье спектры 2, 3, 4 фракций микрогеля помело: 1 – 2-я фракция; 2 – 3-я фракция, 3 – 4-я фракция (а) и фракций ПВ Пмл: 1 – ГК (стандартный образец); 2 – 5-я фр-я; 3 – 6-я фр-я; 4 – 4-я фр-я; 5 – 7-я фр-я; 6 – 8-я фр-я; 7 – 3-я фр-я (б).

Полосы поглощения в области 1650-1550 см⁻¹ свидетельствуют о наличии ионизированных карбоксильных групп. В области 3600-3000 см⁻¹ присутствуют полосы, относящиеся к валентными колебаниям гидроксильных групп. В области 2850 см⁻¹ 2920 см⁻¹ наблюдаются полосы, соответствующие валентным и симметричным колебаниям С-Н группы, соответственно. Полосы поглощения в области 1236-1200 см⁻¹ указывают на наличие ацетильных групп.

Таким образом, полученные данные демонстрируют молекулярно-массовую и конформационную неоднородность пектиновых полисахаридов исследованных сырьевых источников и обуславливают актуальность применения фракционирования для получения чистых веществ с однородной структурой и составом. Разработанный метод комбинированного фракционирования позволяет изучить структурные особенности пектиновой макромолекулы, а также предотвратить получение целевых продуктов в виде смеси молекул, отличающихся по составу, структурным и молекулярно-массовым характеристикам. Извлечение пектиновых полисахаридов в потоке реакционного раствора направлены на совмещение в одной стадии гидролиз-экстракции и фракционирования с одновременным получением целевых продуктов, пригодных по физико-химическим параметрам для нескольких отраслей промышленности. Разработанные для новых методов установки базируются на принципе хроматографической колонки. При этом метод комбинированного фракционирования предполагает проведение процесса при атмосферном давлении. Метод барофракционирования вводит в систему повышенное давление с целью сокращения времени экстракции и направления процесса в сторону формирования разветвленных и линейных полимеров. В результате применение комбинированного фракционирования в потоке реакционного раствора позволяет получать высокоочищенные продукты распада протопектина с регулируемыми физико-химическими параметрами и вязкостными характеристиками, что особенно актуально для медицины и фармацевтики.

3.5. Реологические характеристики водных растворов полии олигосахаридов в широком диапазоне температур

В настоящее время, несмотря на большое количество работ, посвященных реологии пектиновых полисахаридов и их производных, нет достоверных данных о реологических характеристиках ППс при пониженных или повышенных температурах, что обуславливает актуальность данного исследования. Это важно и для практического применения пектинов, т.к. особую актуальность в медицине все больше приобретают препараты в жидкой лекарственной форме на основе природных полимеров, обладающие специальными свойствами, а именно стабильностью при повышенных и пониженных температурах.

В промышленной практике зачастую сырьевым источником для получения пектиновых полисахаридов служат яблоки и цитрусовые. Для соответствия техническим регламентам крупных фармацевтических предприятий, в качестве объектов данного исследования была выбрана фитомасса альбедо помело и яблочные выжимки.

Исследования были проведены с использованием реометра MCR301 фирмы «Anton Paar» в двойном цилиндрическом измерительном узле DG26.7-SN4044 (DIN 54453) и простом цилиндрическом измерительном узле CC17-SN11329 (ISO 3219) в сдвиговом и динамическом режимах в широком диапазоне температур.

Объектами данного исследования являлись пектиновые вещества яблочных выжимок сорта Голден Делишес (ЯВГ) (молекулярная масса (ММ) 120000 Da, содержание звеньев галактуроновой кислоты (ГК) 78,6%, степень этерификации (СЭ) 62,74%) и альбедо помело (Пмл) (ММ 140000 Da, ГК – 74,2 %, СЭ – 48,63%), а также изолированные фракции олигосахаридов, полученных в потоке реакционного раствора.

Изучение зависимости вязкости 1%-х водных растворов пектиновых веществ и олигосахаридов от скорости деформации проводили при температуре 20 °C: в режиме снижения скорости деформации (Down, 5 шагов на десятичную декаду) и в режиме роста скорости деформации (Top, 5 шагов на десятичную декаду) (рис. 1, 2 (Приложение А)). Температурная зависимость вязкости при постоянной скорости деформации (1 Па·с) исследована при постоянной скорости охлаждения (0,5 °C/мин) от +20 °C до момента замерзания и при постоянной скорости нагрева (0,5 °C/мин) от момента замерзания до +20 °C (рис. 3, 4).

Согласно полученным данным, условный предел текучести, характеризующий прочность полимерной структуры, для водных растворов пектиновых веществ равен 0,08 Па и для олигосахаридов - 0,01÷0,07 Па, что свидетельствует о неньютоновской природе и слабой надмолекулярной структуре исследуемых образцов растворов. Установлено, что изменение скорости деформации не приводит к гистерезису, так как не было отмечено явной зависимости от предыстории нагружения образца. Для растворов олигосахаридов наблюдается рост вязкости в технологическом диапазоне скоростей деформации (1 с⁻¹ и выше), что может быть вызвано расслоением состава при исследовании, однако, явления гистерезиса при этом не наблюдалось.

Данные, представленные на рисунках, свидетельствуют о соответствии температурной зависимости растворов пектиновых веществ и олигосахаридов уравнению Аррениуса. Температура замерзания раствора ПВ составляет минус 6,1 °C, а ОС - минус 9,8 °C. Температура плавления пектиновых веществ составляет +3,1 °C. Для олигосахаридов данного параметра получить не удалось так, как переход сопровождался многократными скачками, вызванными возможно частичным плавлением и обратным замерзанием компонентов олигосахаридов – нейтральных сахаров. Энергия активации вязкого течения раствора пектиновых веществ при снижении температуры составляет 38 кДж/моль ($R^2 = 0,997$), раствора олигосахаридов – 19 кДж/моль ($R^2 = 0,997$). При повышении температуры для раствора ПВ энергия активация принимает значение, равное 36 кДж/моль ($R^2 = 0,961$) [249].

Таким образом, температура замерзания раствора олигосахаридов ниже аналогичного параметра пектиновых веществ. Учитывая их выраженную собственную биологическую активность, биодеградируемость, способность подавлять рост патогенной микрофлоры, хелатировать токсины и др., они могут быть использованы в качестве компонентов лекарственных препаратов специального назначения, предназначенных для эксплуатации в экстремальных климатических условиях. На сегодняшний день одними из наиболее востребованных лекарственных препаратов данного типа являются инфузионные растворы (ИР), коммерческие образцы которых, требуют специальных условий хранения и эксплуатации, ввиду быстрой потери физико-химической стабильности. Обеспечение стабильности инфузионных растворов возможно за счёт введения в состав крио- и термопротекторов, однако, данный подход затруднён ввиду их высокой токсичности для человеческого организма. Введение в состав олигосахаридов может решить данную проблему. В связи с этим была изучена реология фармакологических активных криофилактических сред на основе олигосахаридов [250-255].

Для создания фармакологически активной криофилактической среды (КриоС) были взяты 6,0 % растворы ОС седьмой и восьмой фракций, полученные методом КФр (ЯВ: Rha - 4,08, Ara - 2,61, Man - 0,45, Gal - 0,12; ПМЛ: Rha - 0,44, Ara - 2,26, Xyl - 0,32, Man - 0,97, Gal - 0,06). В качестве основного действующего вещества был выбран декстран с молекулярной массой 40000 Da. Для придания криофилактической среде осмолярности, схожей с осмолярностью крови, в качестве вспомогательных веществ были выбраны растворы хлорида натрия в различных концентрациях. Полученные криофилактические среды позволили создать образцы растворов, отвечающие требованиям, предъявляемым к инфузионным растворам.

Изучение реологических характеристик образцов инфузионных растворов на основе полученных криофилактических сред позволило установить, что результаты всех проведенных динамических тестов полностью коррелируют со сдвиговыми тестами в соответствии с правилом Кокса-Мерца – динамическая вязкость (действительная часть комплексной вязкости) равна сдвиговой при условии равенства значений скорости деформации (с⁻¹) и круговой частоты (рад/с) (рис. 28 (а)).

Для всех составов после замораживания и незначительной выдержки реологические характеристики не изменяются, что может говорить о неизменности состава. Почти все составы в диапазоне скоростей деформации от 10 до1000 с⁻¹ ведут себя как ньютоновские жидкости с постоянной вязкостью (табл. 27).

Вязкость растворов практически не изменяется. В некоторых случаях равновесное состояние при прогреве устанавливается не сразу после достижения комнатной температуры – первый контрольный тест дает слегка более высокие значения вязкости, особенно при больших скоростях деформации. Второй контрольный тест через несколько минут после первого даёт хорошее
совпадение с исходным, что говорит о неизменности как состава, так и распределения компонентов по объему.

Состав	Вязкость (мПа·с) при $\dot{\gamma} = 10 \div 1000, c^{-1}$	T3, °C				
CryoS -7,5-p-60	$5,5 \pm 1\%, 2$ теста	-9,8				
CryoS -7,5-p-150	$6,66 \pm 4\%, 2$ теста	-11,7				
CryoS -7,5-a-15	$6,58 \pm 3\%, 2$ теста	-12,2				
CryoS -7,5-p-30	$6,57 \pm 3\%, 2$ теста	-9,7				
CryoS -7,5-p-180	$6,83 \pm 1,4\%, 2$ теста	-11,8				
CryoS -7,5-p-120	$7,00 \pm 1,8\%, 2$ теста	-10,5				
CryoS -7,5-p-15	$6,38 \pm 40\%, 1$ тест	-9,1				
CryoS -7,5-a-30	$6,15 \pm 3,5\%, 3$ теста	-12,3				
CryoS -7,5-a-90	$7,17 \pm 1,8\%$, 2 теста	-14,0				
CryoS -7,5-p-90	$7,10 \pm 12\%, 2$ теста	-10,5				
CryoS -7,5-a-150	$8,7 \pm 3,5\%, 4$ теста	-15,9				
CryoS -7,5-a-180	$8,7 \pm 4\%, 11$ тестов	-16,3				
CryoS -7,5-a-60	$9,96 \pm 2,5\%$, 2 теста	-12,5				
CryoS -7,5-a-120	$9,65 \pm 1\%, 2$ теста	-14,3				
* CryoS – криофилактическая среда (декстран 7,5 %), а – яблочные выжимки, р – альбедо						
помело, 15-180 – продолжительность гидролиз-экстракции, мин;						
** B	** В процентах - относительное стандартное отклонение					

Таблица 27 – Температура замерзания композиций на основе КриоС

При высоких скоростях деформации наблюдается рост вязкости с ростом скорости деформации (реопексия), что может быть проявлением турбулентности. Больший разброс при малых скоростях деформации объясняется приближением к пределу измерения реометра.

Рост при скоростях деформации ниже 10 c^{-1} объясняется наличием надмолекулярных структур, которые никак не могут помешать ни производству, ни использованию готового продукта, более того они повышают седиментационную стабильность состава при хранении в широком диапазоне температур, что особенно важно для препаратов в жидкой лекарственной форме.

Была изучена стабильность инфузионных растворов на основе криофилактических сред при прохождении многократных циклов замораживания (223 К) – оттаивания – нагревания 323 К). Ёмкости с растворами помещали в морозильную камеру и охлаждали до температуры 223 К, после чего оттаивали при комнатной температуре. После отбора проб ёмкости помещали в термостат и нагревали до 323 К, после чего вновь оттаивали при комнатной температуре, отбирали пробы и измеряли параметры. Растворы подвергли 10-ти циклам охлаждения. Один цикл составлял 24 ч. Аналогичному исследованию подвергнуты инфузионные растворы «Реополиглюкин» и «Гемостабил». В качестве примера на рисунке 28 (б) представлена зависимость молекулярной массы разработанных растворов и препаратов сравнения от количества циклов.



Рисунок 28 - Реологические характеристики композиций на основе КриоС (а) и зависимость молекулярной массы ИР на основе КриоС, а также препаратов сравнения от количества циклов замораживания – оттаивания – нагревания. 1 – Реополиглюкин; 2 – Гемостабил; 3 – ИтИР-1 КриоС; 4 – ГоИР-1 КриоС; 5 – ГоИР-2 КриоС; 6 – ГоИР-3 КриоС; 7 – ИтИР-2 КриоС; 8 – ГоИР-4 КриоС; 9 – ГоИР-5 КриоС; 10 – ГоИР-6 КриоС (б).

Установлено, что воздействие низких и высоких температур на препараты сравнения, действующим веществом которых является декстран, приводит к резкому снижению основного параметра, отвечающего за свойства плазмозаменителей – молекулярной массы, что ограничивает условия их хранения и делает невозможным их применение в экстремальных климатических условиях. Растворы на основе криофилактической среды сохраняют постоянное значение молекулярной массы на протяжении многократных циклов замораживания – оттаивания – нагревания [256].

3.6. Сорбционные свойства изолированных фракций продуктов распада протопектина

Одними из наиболее важных свойств пектиновых полисахаридов медицинского применения является их способность связывать, образовывая прочные комплексы, и выводить из организма ионы тяжелых металлов, радионуклидов и токсинов. Традиционно считается, что если в случае с металлами и радионуклидами в основе данных процессов лежит механизм гелеобразования низкоэтерифицированных пектинов в присутствии ионов поливалентных металлов посредством образования ионных и водородных связей, то в случае с токсинами характерны иные механизмы сорбционных процессов: гидрофильно-гидрофобное взаимодействие, конкурентная сорбция и др. Очевидно, что при этом важное значение имеют физико-химические параметры пектиновых полисахаридов, но, несмотря на большое количество работ в данной области, до настоящего времени чёткой закономерности влияния состава, структуры и конформации на сорбционные свойства пектинов, термодинамику и кинетику сорбционных процессов выявлено не было. Традиционно считается, что способность связывать ионы тяжелых металлов зависит от степени этерификации галактуроновой кислоты (ГК). Но экспериментальные исследования зачастую указывают на гораздо более сложный характер зависимости, особенно в отношении токсинов. В связи с этим необходимо детальное изучение кинетико-термодинамических закономерностей сорбции ионов тяжелых металлов и токсинов пектиновыми полисахаридами различного происхождения.

Коэффициенты сорбции различных веществ пектиновыми полисахаридами, их термодинамические и кинетические параметры, полученные разными авторами, существенно отличаются друг от друга, даже для пектинов, идентичных по происхождению и методу получения. Одной из причин данного явления является тот факт, что ввиду конформационной неоднородности данный биополимер является гетерогенной полидисперсной системой, что значительно усложняет термодинамическое описание равновесий и кинетики сорбционного процесса. Учитывая то, что методами комбинированного фракционирования и барофракционирования выделяются изолированные высокоочищенные фракции пектиновых полисахаридов, однородные по структуре, составу, молекулярно-массовым характеристикам и конформации, изучение их сорбционных способностей представляет научный и практический интерес.

В качестве сырьевых источников использованы свекловичный жом, альбедо помело и корзинки подсолнечника. Из каждого объекта были получены 8 фракций полимера с сетчатой структурой – микрогеля и 8 фракций линейного – пектиновых веществ.

Сорбционная способность пектиновых полисахаридов, как и любых других сорбентов, по отношению к какому-либо сорбату, не является постоянной величиной, а изменяется в зависимости от значений рН среды, продолжительности контакта молекул, температуры процесса, продолжительности, соотношения сорбент/сорбат и др. Совокупность данных факторов определяет кинетику и термодинамику сорбционного процесса. В зависимости от состава, структуры и конформации пектиновых полисахаридов сорбционные системы могут быть, как равновесными, так и неравновесными. Во втором случае понимание закономерностей сорбционных процессов возможно с позиции неравновесной термодинамики и при этом кинетические аспекты рассматриваемых процессов приобретают лимитирующую роль. При этом равновесная термодинамика применима только к малым локальным объемам. При этом исследование краевого случая «нулевого» заполнения сорбента целевым сорбатом, благодаря возможности введения ряда существенных упрощений, поддается строгому описанию и служит отправной точкой при исследовании полной изотермы сорбции. Для описания сорбционных процессов необходимо знание термодинамического фактора – полной изотермы сорбции, а в случае с пектиновыми полисахаридами, как макромолекулярными объектами, необходимо учитывать кинетические параметры процесса, включающие текстуру сорбента. Термодинамика и кинетика сорбции при этом не являются оторванными друг от друга понятиями, а составляют единую картину общего кинетико-термодинамического описания, которое является основой функционирования высокоэффективных сорбентов, а также систем адресной доставки лекарственных веществ перорального и трансдермального применения, основы для создания тест-систем для диагностики заболеваний различной этиологии и ряда других средств, которые нами были получены и успешно испытаны на безопасность и эффективность [256-273]. В связи с этим была изучена сорбционная способность изолированных фракций микрогеля и пектиновых веществ различного происхождения, полученных методом комбинированного

фракционирования, в широком диапазоне pH, при различной температуре, продолжительности и концентрации сорбатов [274-279].

В настоящее время, ввиду ухудшения экологической обстановки, отравления ление тяжелыми металлами, наряду с пищевыми отравлениями, отравлениями ядовитыми растениями и грибами, пестицидами, нитратами и другими удобрениями, отнесены к пищевым угрозам для человека. Среди них, согласно данным Роспотребнадзора, наибольшую опасность представляют мышьяк, кадмий, свинец и ртуть. В связи с этим, в качестве модельных сорбатов были выбраны соли кадмия и свинца. В организм человека они могут попасть, как из окружающей среды на производствах с вредными условиями труда, при проживании в экологически неблагоприятных районах, так и из пищи. Ионы кадмия способны накапливаться в грибах, стручковых, какао-бобах, почках животных и др. Свинец – в морепродуктах, в консервах в жестяной таре и др.

Высокие концентрации ионов тяжелых металлов при поступлении в организм человека приводят к острому или хроническому отравлению, а избыточные концентрации приводят к их накоплению в органах-депо человека. Кадмий преимущественно содержится в водной среде, попадая туда из промышленных сточных вод, удобрений, захоронений бытовых отходов и, соответственно, накапливается в организмах биообъектов, служащих пищей человеку. Он не поддается биологическому разложению, обладает высокой аккумулирующей способностью в организме человека, поражая органы дыхания, вызывая рак, повышенное артериальное давление, разрушая эритроциты, способствуя образованию камней в почках и другим заболеваниям [280-284]. При отравлении свинцом наблюдается поражение нервной системы, развитие анемии, нарушение в работе сердечно-сосудистой и мочевыводящей систем и др.

Одним из важнейших параметров, влияющих на интенсивность сорбционных процессов, является кислотность раствора. pH среды оказывает воздействие на поверхностный заряд сорбента, степень его ионизации, активность центров и т.д. Изучение влияния кислотности среды на сорбционную способность изолированных фракций микрогеля и пектиновых веществ различного происхождения, полученных методом комбинированного фракционирования, по отношению к ионам тяжелых металлов проводилось в диапазоне значений

113

рН от 1,2 до 10,0 при температуре 298 К и продолжительности 120 минут в присутствии буферных растворов.

Количество связавшегося металла вычисляли по формуле:

$$q = V(C_i - C_f)/M$$
,

где q – сорбционная ёмкость (мг/г), V – объем раствора в инкубационной емкости (л), C_i – начальная концентрация металла в растворе (мг/л), C_f – конечная (равновесная) концентрация металла в растворе, М – масса фракции полисахарида (г).

Независимо от происхождения фракций пектиновых полисахаридов, максимальная сорбционная активность наблюдалась в диапазоне рН 4,0-7,0. При низких значениях рН сорбционная емкость сохраняет достаточно высокие значения, что является перспективным при применении полученных продуктов в качестве энтеросорбента при острой интоксикации в случае перорального поступления, позволяя связать ионы тяжелых металлов непосредственно в среде желудка. Резкое снижение сорбционной ёмкости фракций пектиновых полисахаридов помело, свеклы и корзинки подсолнечника наблюдается при сдвиге рН в сильнощелочную область, но при этом сохраняет значения выше нуля. На рисунке 29 представлена зависимость сорбционной ёмкости от рН на примере изолированных фракций микрогеля и пектиновых веществ помело. Аналогичный характер зависимости наблюдается и для МГ и ПВ свеклы и корзинок подсолнечника. Для микрогеля Св наибольшие значения сорбционной ёмкости характерны для третьей фракции. При pH=1,2 данная величина составляет 230,02 мг/г. Далее, с увеличением рН, сорбционная ёмкость несколько увеличивается, достигая в области значений рН 4,0-7,0 350,08 – 360,23 мг/г, после чего снижается и составляет в области рН 9,0-10,0 200,12 и 65,32 мг/г, соответственно. Наименьшие значения q наблюдаются для второй фракции (300,05-310,10 мг/г в области максимума при рН 4,0-7,0). Для пектиновых веществ свеклы наибольшей сорбционной ёмкостью обладает пятая (328,15-344,45 мг/г в диапазоне pH 4,0-7,0), а наименьшей – восьмая (255,65-305,04 мг/г в диапазоне рН 4,0-7,0). Для микрогеля корзинок подсолнечника максимальная q характерна для второй фракции (215,74-220,08 мг/г в диапазоне рН 4,0-7,0). Наименьшая сорбционная ёмкость наблюдается для второй фракции (140,32-146,02 мг/г в диапазоне pH 4,0-7,0). Для пектиновых веществ КП наибольшей q обладает четвёртая фракция (270,41-280,85 мг/г в диапазоне pH 4,0-7,0), а наименьшей – первая (160,09-166,92 мг/г в том же диапазоне pH). Необходимо отметить, что во всём исследованном диапазоне pH, за исключением сильнощелочной области, значения сорбционной ёмкости фракций, как микрогеля, так и пектиновых веществ всех исследованных сырьевых источников, находились в прямой зависимости со значениями содержания галактуроновой кислоты, т.е. проходили через максимум, аналогичный содержанию ГК.

Аналогичные исследования были проведены для фармакопейных препаратов сравнения: активированного угля, Полифепана, микрогеля и пектиновых веществ помело, свеклы и подсолнечника, полученных традиционным способом. Значения максимальной сорбционной ёмкости при этом составили 45,63; 64,21; 142,02; 95,02; 315,24; 296,04; 138,02; 227,04 мг/г, соответственно. Диапазон pH, в котором наблюдалась максимальная сорбционная активность, неочищенных пектинов при этом практически совпадал с изолированными очищенными фракциями. Для активированного угля данный диапазон составил 3,0 - 8,0, а для Полифепана – 6,0 - 8,0.

Таким образом, наиболее благоприятный диапазон pH для протекания сорбционных процессов во фракциях микрогеля и пектиновых веществ – 3,5-7,0. Данный факт объясняется тем, что при значении pH менее 3,5 карбоксильные группы галактуроновой кислоты находятся в протонированном состоянии, затрудняющем процесс сорбции. При pH более 7,0, происходит омыление карбоксильных групп ГК.



Рисунок 29 - Сорбционная ёмкость фракций МГ (а) и ПВ (б) помело по отношению к ионам кадмия в зависимости от кислотности среды

Изучение зависимости величины сорбционной ёмкости изолированных фракций микрогеля и пектиновых веществ от равновесной концентрации сорбата проводили при температуре 298 К, продолжительности процесса инкубации 120 минут, pH = 6,0 (рис. $30 - \Pi M \pi$; рис. 5, 6 (Приложение A) – Cв, KП). Выявлено, что во всем диапазоне концентраций, наибольшую сорбционную способность проявляют фракции МГ и ПВ, обладающие наибольшими молекулярной массой и содержанием галактуроновой кислоты. При этом фракции протопектина свеклы более однородны по металлсвязывающим свойствам. Фракции ПП помело сильнее отличаются друг от друга, особенно в отношении микрогеля, сорбционная ёмкость которого значительно превышает аналогичный показатель фракций пектиновых веществ. Для корзинок подсолнечника, напротив, металлсвязывающая активность фракций ПВ превышает МГ, за исключением его первой фракции (рис. 30 – Пмл; рис. 5, 6 (Приложение А) – Св, КП). При этом образцы микрогеля и пектиновых веществ, полученных в потоке реакционного раствора, но без фракционирования, независимо от вида фитомассы, обладают наименьшей сорбционной ёмкостью по отношению к ионам тяжелых металлов, за исключением первой фракции (объем элюата-гидролизата 50 мл). Сорбционная ёмкость данного образца имеет меньшее значение по сравнению с исходным полимером и остальными фракциями. Выявление зависимости физико-химических параметров фракций пектиновых полисахаридов, их структуры и сорбционной способности представляет особый интерес.



Рисунок 30 - Изотермы сорбции ионов кадмия фракциями МГ (a) и ПВ (б) помело.

Полученные экспериментальные данные были обработаны при помощи уравнений Лэнгмюра и Фрейндлиха, приведённых в Главе 2. При помощи уравнения Лэнгмюра определили коэффициент q_{max}, отражающий количество сорбционных центров в молекуле сорбента, активно взаимодействующих с сорбатом, и коэффициент b, указывающий на степень аффинитета между сорбентом и сорбатом. Уравнение Фрейндлиха позволило оценить прочность связывания и интенсивность химических связей между сорбентом и сорбатом. Для оценки релевантности использования уравнений был рассчитан коэффициент аппроксимации (R²). На рисунке 31 приведены графики линеаризации полученных данных для микрогеля помело. Обработка экспериментальных данных для фракций пектиновых веществ Пмл, а также МГ и ПВ свеклы и подсолнечника была проведена аналогично.



Рисунок 31 - Линеаризация изотерм сорбции ионов кадмия фракциями МГ помело при помощи уравнения Лэнгмюра (а) и Фрейндлиха (б).

В таблице 28 (МГ Пмл) и в таблицах 15-19 Приложения А (МГ свеклы, подсолнечника и ПВ Пмл, Св и КП) приведены результаты расчёта констант Лэнгмюра и Фрейндлиха, характеризующие взаимодействие изолированных фракций микрогеля и пектиновых веществ с ионами кадмия. Из представленных результатов видно, что процесс сорбции протекает в соответствии с моделью Лэнгмюра. Наибольшее значение максимальной сорбционной ёмкости (q_{max}) характерно для фракций микрогеля и пектиновых вещестя и пектиновых веществ свеклы. Для продуктов распада протопектина данной фитомассы характерны наиболее высокие показатели прочности образовавшихся связей (K_F) и интенсивности

сорбционных процессов (n). Для фракций пектиновых веществ корзинки подсолнечника также характерны высокие показатели сорбционной активности.

Образец	Уравнение Лэнгмюра			Уравнение Фрейндлих		ейндлиха
_	b	$q_{max}, M\Gamma/\Gamma$	\mathbb{R}^2	KF	n	\mathbb{R}^2
МГ-Пмл-2ф	0,0043	277,78	0,9947	3,07	1,46	0,9811
МГ-Пмл-3ф	0,0047	322,58	0,9938	3,21	1,38	0,9725
МГ-Пмл-4ф	0,0041	270,27	0,9955	3,03	1,47	0,9854
МГ-Пмл-5ф	0,0042	263,16	0,9940	3,14	1,50	0,9774
МГ-Пмл-6ф	0,0050	217,39	0,9973	3,61	1,62	0,9772
МГ-Пмл-7ф	0,0050	212,77	0,9976	3,65	1,64	0,9788
МГ-Пмл-исх.	0,0058	172,41	0,9978	3,88	1,76	0,9629

Таблица 28 – Коэффициенты связывания ионов кадмия фракциями микрогеля помело

Еще одним важным параметром, влияющим на интенсивность сорбционных процессов и их термодинамические характеристики, является температура инкубирования. Для понимания механизма сорбции металлсвязывающая активность была изучена в диапазоне температур от 298 К до 318 К, продолжительности процесса инкубирования 120 минут, pH=6,0 и максимальной концентрацией сорбата.

Термодинамические параметры: энтальпию (ΔH°), энтропию (ΔS°) и свободную энергию Гиббса (ΔG°) оценивали по следующим уравнениям:

$$K_D = \frac{q_e}{C_e} \cdot 1000 \qquad , \tag{28}$$

$$\ln K_D = \frac{\Delta S^{\circ}}{P} - \frac{\Delta H^{\circ}}{P + T} \qquad , \tag{29}$$

$$\Delta G^{\circ} = \Delta H^{\circ} - T \cdot \Delta S^{\circ} \qquad , \tag{30}$$

где q_e – сорбционная ёмкость сорбента в состоянии равновесия (мг/г); С_e - равновесная концентрация (мг/л); R - постоянная закона идеального газа (8 Дж/моль·К); T - температура (К), К_D - константа распределения сорбата в сорбенте (л/г).

В графической форме уравнения 29 зависимость $\ln K_D = f(1/T)$ представляет собой прямую, тангенс угла наклона которой позволяет найти $\Delta H^{\circ}/R$, а

отсечение на графике дает $\Delta S^{\circ}/R$. Изменение свободной энергии Гиббса ΔG° вычисляли по уравнению (30).

Зависимость константы распределения сорбата в сорбенте (K_D) от обратной температуры хорошо описывается уравнениями прямой линии с коэффициентом корреляции > 0,99, как для фракций микрогеля, так и для пектиновых веществ, независимо от происхождения (рис. 32 – на примере МГ и ПВ Пмл).

Установлено, что с повышением температуры сорбционная способность изолированных фракций микрогеля и пектиновых веществ помело, свеклы и корзинок подсолнечника снижается. При этом во всех случаях сорбция ионов кадмия представляет собой экзотермический процесс, что является характерным для сорбентов на основе пектиновых полисахаридов [285, 286].



Рисунок 32 - Зависимость константы распределения ионов кадмия во фракциях МГ (а) и ПВ (б) помело от обратной температуры.

	A LI0	450	$\Delta { m G}^{ m o},$ кДж/моль			
Образец	$\Delta \Pi$, $\kappa \Pi \kappa / MOH$	ΔS , $\Pi_{\rm W}/MOHL \cdot K$		T,	, К	
	кдж/моль	Дж/моль к	298	303	313	318
МГ-Пмл-2ф	-24,47	-33,56	-14,46	-14,29	-13,96	-13,79
МГ-Пмл-3ф	-33,44	-61,00	-15,25	-14,95	-14,34	-14,03
МГ-Пмл-4ф	-24,79	-35,08	-14,34	-14,16	-13,81	-13,64
МГ-Пмл-5ф	-23,45	-30,95	-14,22	-14,06	-13,75	-13,60
МГ-Пмл-6ф	-20,37	-22,52	-13,66	-13,55	-13,32	-13,21
МГ-Пмл-7ф	-20,39	-22,79	-13,59	-13,48	-13,25	-13,14
МГ-Пмл-исх	-22,05	-30,89	-12,84	-12,69	-12,38	-12,23

Таблица 29 - Термодинамические параметры сорбции ионов кадмия фракциями микрогеля помело

В качестве примера, в таблице 29 представлены термодинамические параметры сорбции ионов кадмия фракциями микрогеля помело, а в таблице 20

(Приложение А) – фракциями пектиновых веществ Пмл. Для микрогеля свеклы, полученного в потоке реакционного раствора, но без фракционирования, значение ∆Н° составляет -22,26 кДж/моль, ∆S°=-24,11 Дж/моль К. ∆Н° изолированных фракций составляет от -21,92 до -23,77 кДж/моль. ∆S° – от -22,28 до -27,02 Дж/моль К. Для нефракционированных пектиновых веществ свеклы значение ∆Н° составляет -22,86 кДж/моль, ∆S°=-27,23 Дж/моль·К. В изолированных фракциях ПВ Св значения ∆Н° варьируются от -22,64 до -24,61 кДж/моль, ∆S° – от -25,19 до -30,66 Дж/моль К. Для образцов микрогеля корзинок подсолнечника, полученных без фракционирования, значение ΔH° составляет -23,04 кДж/моль, ΔS° =-34,66 Дж/моль К. Для изолированных фракций МГ КП Δ Н° составляет от -22,52 до -31,03 кДж/моль, Δ S° – от -32,06 до -52,34 Дж/моль К. Для нефракционированных пектиновых веществ корзинок подсолнечника значение ΔH° составляет -26,48 кДж/моль, ΔS° =-43,19 Дж/моль К. В изолированных фракциях ПВ КП значения ΔH° варьируются от -22,44 до -27,57 кДж/моль, ΔS° – от -33,71 до -43,39 Дж/моль К. При этом для всех исследованных сырьевых источников изменение значений ΔH° и ΔS° аналогично изменению содержания звеньев галактуроновой кислоты в изолированных фракциях микрогеля и пектиновых веществ.

Для всех исследованных образцов поверхностная свободная энергия имеет отрицательные значения ($\Delta G^{\circ} < 0$). Данные для микрогеля помело представлены в таблице 29, для пектиновых веществ Пмл – в таблице 20 (Приложение A). Для нефракционированных образцов МГ свеклы значение ΔG° составляет -14,83±0,18 кДж/моль. Для изолированных фракций варьируется от -14,74±0,19 до -15,45±0,21 кДж/моль. Для пектиновых веществ Св, полученных без применения комбинированного фракционирования, значение ΔG° составляет -14,47±0,21 кДж/моль. Для изолированных фракций – от -14,62±0,20 до -15,17±0,23 кДж/моль. ΔG° нефракционированных образцов микрогеля корзинок подсолнечника составляет -12,37±0,26 кДж/моль. ΔG° изолированных фракций МГ КП – от -12,64±0,24 до -14,90±0,39 кДж/моль. Для пектиновых КП, комбинированного веществ полученных без применения

фракционирования, значение ∆G° составляет -13,17±0,32 кДж/моль. Для изолированных фракций – от -12,05±0,25 до -14,20±0,33 кДж/моль.

Отрицательное значение ΔG° свидетельствует о смещении равновесия в сторону перехода ионов кадмия из водного раствора в фазу сорбента. Энтропия системы имеет отрицательные значения, что может быть обусловлено тем, что ионы кобальта снижают лабильность пектиновой макромолекулы, приводя к компактизации биоматриц.

Термодинамические параметры всех изолированных фракций микрогеля и пектиновых веществ, а также образцов, полученных в аналогичных условиях, но без фракционирования, имеют относительно близкие значения. Данный факт свидетельствует о том, что независимо от физико-химических параметров пектиновых полисахаридов и интенсивности процесса сорбции, термодинамические параметры определяются типом взаимодействия, который, в данном случае, идентичен. Максимальная эффективность процесса сорбции наблюдается для фракций, обладающих наибольшим содержанием звеньев галактуроновой кислоты и численными значениями выходов.

Таким образом, сорбция ионов кадмия представляет собой экзотермический процесс. При этом оптимальной температурой, позволяющей достичь максимальные значения сорбционной емкости, является 298 К.

3.7. Кинетика процесса сорбции ионов кадмия фракциями пектиновых полисахаридов

Каждая стадия сорбционного процесса может быть охарактеризована не только термодинамическими, но и кинетическими параметрами, отражающими динамику сорбции в процессе приближения системы в равновесное состояние. Для пектиновых полисахаридов и их производных при описании сорбционных процессов наиболее часто используют кинетические модели псевдо-первого и псевдо-второго порядка. В первом случае рассматривается модель физической сорбции [287, 288]. Во втором – взаимодействие сорбата с функциональными группами сорбента, т.е. хемосорбции [289, 290]. Ряд исследователей рассматривает модель псевдо-второго порядка, как наиболее корректно описывающую процесс сорбции ионов тяжёлых металлов пектиновыми полисахаридами [291-296]. Соответственно, в данном случае химическая сорбция должна быть лимитирующим процессом, что не согласуется с термодинамическими параметрами сорбционных процессов. В связи с этим необходимо детальное изучение кинетики сорбции ионов тяжёлых металлов изолированными фракциями протопектина различного происхождения.

Изучение скорости протекания сорбционных процессов изолированными фракциями микрогеля и пектиновых веществ помело, свеклы и корзинок подсолнечника проводилось при температуре 298 К, pH=6,0, максимальной концентрацией сорбата при продолжительности процесса инкубирования от 5 до 120 минут. Кинетические кривые сорбции ионов тяжелых металлов, на примере кадмия, фракциями микрогеля и пектиновых веществ, а также МГ и ПВ, полученными в аналогичных условиях, без фракционирования, представлены на рисунке 33 (Пмл); на рисунках 7, 8 Приложения А (Св, КП). Как видно, скорость связывания ионов кадмия выше практически для всех фракций, по сравнению с исходным полимером. При этом максимальную скорость проявили фракции, обладающие наибольшим количеством звеньев галактуроновой кислоты.



Рисунок 33 - Зависимость сорбционной ёмкости фракций МГ (а) и ПВ (б) помело по отношению к ионам кадмия от времени.

Наибольшая интенсивность сорбционных процессов наблюдается в течение первых 30-40 минут, после чего скорость связывания ионов кадмия фракциями микрогеля и пектиновых веществ замедляется. Причиной этого могут являться как быстрый перенос молекул сорбата к активным центрам сорбента, так и химическая реакция между свободными карбоксильными группами галактуроновой кислоты и ионами металла.

Учитывая выявленный смешанный механизм сорбции, характерный для изолированных фракций микрогеля и пектиновых веществ различной фитомассы, процесс можно разделить на три стадии: 1) внешнюю диффузию – перенос ионов металла из водного раствора через внешнедиффузионную пленку к поверхности сорбента; 2) внутреннюю диффузию – перемещение иона металла вглубь сорбента к его активным центрам; 3) взаимодействие иона со свободными карбоксильными группами.

Для определения лимитирующей стадии процесса диффузии экспериментальные данные обрабатывали при помощи уравнения Бойда-Адамсона, учитывающего, как внешнюю, так и внутреннюю диффузию [297]:

$$F = \frac{6}{\pi^2} \sum_{n=1}^{n=\infty} \frac{1}{n^2} exp\left(\frac{-D \cdot n^2 \cdot \pi^2 \cdot t}{r^2}\right) , \qquad (31)$$

где F - степень завершенности процесса сорбции, равная q_t/q_{max}; q_t – количество сорбированного катиона металла в момент времени t (мг/г); q_{max} - количество сорбированного катиона металла в состоянии равновесия (мг/г); t – время (мин); D - эффективный коэффициент диффузии вещества внутри зерна сорбента (см²/мин); *n* - число слагаемых - целые числа 1, 2, 3 и т.д.; *r* - средний радиус зерна сорбента (см); $D \cdot \pi/r^2 = B$ - кинетический коэффициент, мин⁻¹.

После подстановки кинетического коэффициента в уравнение (31) зависимость принимает следующий вид:

$$F = 1 - \frac{6}{\pi^2} \sum_{n=1}^{n=\infty} \frac{1}{n^2} \exp(-Btn^2)$$
(32)

где Bt – безразмерный параметр, предложенный Бойдом. Представляет собой решение задачи диффузии в твердом теле определённой формы. Величины Bt рассчитаны для любых значений степени завершенности процесса (F) и приведены в таблицах как Bt=f(F) [298].

По экспериментально найденным значениям F по справочной таблице находят соответствующие им величины Bt и строят зависимость Bt=f(t). Линейная зависимость Bt от t указывает на внутридиффузионный механизм сорбционных процессов, а линейный характер –ln(1-F) от t – на внешнедиффузионный, либо на кинетику сорбции.

На рисунке 34 на примере фракций микрогеля помело представлены зависимости –ln(1-F) и Bt от времени при сорбции ионов кадмия.



Рисунок 34 - Зависимость –ln(1-F) (а) и В·t (б) от времени при сорбции ионов кадмия фракциями микрогеля помело.

Аналогичная обработка экспериментальных данных была проведена для изолированных фракций пектиновых веществ помело, а также МГ и ПВ свеклы и корзинок подсолнечника Во всех случаях зависимости –ln(1-F) и Вt от времени носят прямолинейный характер с коэффициентом корреляции близком к единице, что свидетельствует о смешанно диффузионном характере лимитирующей стадии общей скорости сорбции. Полученные данные дали возможность оценить эффективные коэффициенты внешней (k_{d1}) и внутренней диффузии (k_{d2}), представленные в таблице 30 (МГ Пмл) и в таблице 21 Приложения А (ПВ Пмл).

Для описания сорбционных процессов со смешанным диффузионным режимом лимитирующих стадий использована модель Морриса-Вебера:

$$q_t = k_d \cdot t^{1/2} + C$$
 (33)

где k_d – константа скорости диффузии, мг·г⁻¹·мин^{-1/2}, С – параметр, характеризующий толщину пограничного слоя, мг/г.

При применении данной модели характеристику внутридиффузионного лимитирования дает линеаризация данных на участке со степенью насыщения субстрата *F* более 0,5. На рисунке 35 представлены зависимости степени завершённости процесса сорбции ионов кадмия фракциями микрогеля и пектиновых веществ помело в координатах уравнения Морриса-Вебера. Аналогичная обработка экспериментальных данных была проведена для изолированных

фракций МГ и ПВ свеклы и корзинок подсолнечника. Установлено, что независимо от источника получения, кривые зависимостей степени завершенности сорбционных процессов изолированными фракциями микрогеля и пектиновых веществ, являются мультилинейными и не выходят из области начала координат. Данный факт еще раз подтверждает смешаннодиффузионный механизм сорбции. При этом начальный линейный участок, при малых степенях заполнения, описывает диффузию ионов тяжелых металлов через слой раствора к поверхности макромолекулы пектиновых полисахаридов, а второй – внутридиффузионный процесс. Полученные результаты использовали для оценки значений кажущихся констант скоростей внешней (k_{d1}) при малых степенях заполнения и внутренней, внутрипористой (k_{d2}) диффузии (табл. 31 (МГ Пмл); табл. 22 (Приложение А) (ПВ Пмл)) при $F \rightarrow \infty$, путем разделения кривой на два участка. Величина k_d определяется с учетом тангенса угла наклона соответствующего участка и достигаемого в эксперименте значения равновесной сорбционной ёмкости.



Рисунок 35 - Зависимость степени завершенности процесса сорбции ионов кадмия фракциями МГ (а) и ПВ (б) помело в координатах уравнения Морриса-Вебера.

Таблица 30 - Кинетические параметры	диффузионной кине	тики ионов
кадмия изолированными фракциями МГ Пмл	(модель Бойда-Адам	ісона)

Образец	k _{d1} , см ² /мин	\mathbb{R}^2	k _{d2} , см ² /мин	\mathbb{R}^2
МГ-Пмл-2ф	0,0444	0,9866	0,0396	0,9927
МГ-Пмл-3ф	0,0394	0,9989	0,0356	0,9955
МГ-Пмл-4ф	0,0459	0,9921	0,0399	0,9929
МГ-Пмл-5ф	0,0440	0,9971	0,0402	0,9935
МГ-Пмл-6ф	0,0385	0,9973	0,0351	0,9961
МГ-Пмл-7ф	0,0394	0,9985	0,0353	0,9941
МГ-Пмл-исх	0,0366	0,9987	0,0344	0,9950

Образец	k _{d1} , мг·г ⁻¹ ·мин ^{-1/2}	С1, мг/г	\mathbb{R}^2	k _{d2} , мг·г ⁻¹ ·мин ^{-1/2}	С2, мг/г	\mathbb{R}^2
МГ-Пмл-2ф	0,1649	0,0951	0,9975	0,0508	0,5184	0,9919
МГ-Пмл-3ф	0,1766	0,1568	0,9970	0,1076	0,1354	0,9920
МГ-Пмл-4ф	0,1675	0,1072	0,9975	0,0754	0,3406	0,9973
МГ-Пмл-5ф	0,1633	0,1622	0,9946	0,0669	0,3914	0,9992
МГ-Пмл-6ф	0,1550	0,0117	0,9983	0,0508	0,6220	0,9919
МГ-Пмл-7ф	0,1461	0,0803	0,9998	0,0385	0,6122	0,9983
МГ-Пмл-исх	0,1508	0,0454	0,9989	0,0315	0,6742	0,9906

Таблица 31 - Кинетические параметры диффузионной кинетики ионов кадмия изолированными фракциями МГ Пмл (модель Морриса-Вебера)

Анализ представленных в таблицах данных показывает, что эффективные константы внешней и внутренней диффузии, оцененные по уравнению Бойда-Адамсона достаточно близки между собой, с некоторым преобладанием численных значений k_{d1}. Данный факт, а также значения коэффициента корреляции, близким к единице, еще раз подтверждают смешанно диффузионный механизм сорбционных процессов. Константы скорости внешней и внутренней диффузии, рассчитанные по уравнению Морриса-Вебера достаточно сильно различаются между собой. Это вполне закономерно, учитывая разницу в значениях параметра C, характеризующего толщину пограничного слоя. Данный параметр, оцененный при $F \rightarrow \infty$, в 2-3 раза превышает аналогичный показатель при малых степенях заполнения и хорошо коррелирует со значениями констант скоростей внутрипористой диффузии, как для фракций микрогеля, так и для фракций пектиновых веществ всех видов сырья.

Модель Морриса-Вебера позволяет наглядно продемонстрировать влияние структурных особенностей продуктов распада протопектина на кинетику сорбционных процессов. Для изолированных фракций пектиновых веществ резкое замедление сорбции наблюдается при достижении степени насыщения $F \ge 0,5$. А для полимера с сетчатой структурой – микрогеля – при $F \ge 0,7-0,8$. При этом важное значение приобретает физико-химический смысл констант скоростей сорбционного процесса. В частности, k_{d1} характеризует не только степень подвижности ионов тяжёлых металлов. На ее величину влияние, скорее всего, способны оказывать и химические реакции взаимодействия сорбата с активными центрами, как и для k_{d2} . Важное значение имеет величина соотношения k_{d1} и k_{d2} . Для изолированных фракций микрогеля помело соотношение констант составляет от 1,64 до 3,79. Для образца, полученного в аналогичных условиях, но без применения комбинированного фракционирования, соотношение равно 4,79. Минимальное значение приходится на фракцию МГ помело, отличающуюся высоким содержанием звеньев галактуроновой кислоты и молекулярной массы. Для фракций пектиновых веществ помело соотношение констант варьируется в пределах от 1,33 до 2,76, а для исходного полимера составляет 3,30. Для фракций микрогеля свеклы данный параметр составляет от 2,21 до 5,60. Соотношение для образца без фракционирования составляет 8,60. Для фракций ПВ свеклы соотношение составляет 1,83 - 4,02. Для пектиновых веществ свеклы, полученных в динамическом потоке реакционного раствора без применения фракционирования значение соотношения констант скоростей равно 5,16. Для микрогеля КП соотношения варьируются в диапазоне от 3,11 до 5,57, а для нефракционированных образцов МГ КП – 7,07. Для фракций пектиновых веществ подсолнечника значения соотношений составляют от 1,82 до 2,61. Для образцов ПВ КП соотношение равно 5,04.

Полученные результаты демонстрируют влияние химического строения и надмолекулярной структуры пектиновых полисахаридов на интенсивность сорбционных процессов. Образцы фракций микрогеля всех исследованных видов фитомассы обладают большими значениями соотношений констант скоростей реакций, по сравнению с образцами фракций пектиновых веществ. Значения данного показателя для МГ и ПВ, полученных в потоке реакционного раствора, но без применения метода комбинированного фракционирования, намного превышают аналогичные значения изолированных фракций микрогеля и пектиновых веществ. Данный факт находит свое объяснение, если предположить, что увеличение значений соотношения констант свидетельствует о повышении сопротивления для протекания внутридиффузионных процессов и об отсутствии препятствий для поддержания концентрации сорбата в поверхностном слое. Это наиболее выраженно проявляется для нефракционированных образцов микрогеля и пектиновых веществ. Неоднородность пектиновой макромолекулы, различные размеры пор ячеек её сетчатых доменов приводят к снижению эффективного коэффициента внутренней диффузии и, соответинтенсивности сорбционных процессов. Для изолированных ственно,

фракций микрогеля более высокие значения соотношения констант скоростей реакций обусловлены сетчатой структурой данных образцов. Повышенная уплотненность макромолекулярной сетки приводит к снижению или полному отсутствию зон собственной структуры растворителя и сильному структурированию его молекул в зонах ближней и дальней гидратации полимерных цепей, что осложняет перемещение сорбата в объеме микрогеля. Необходимо отметить, что, в отличие от нефракционированных образцов, для изолированных фракций микрогеля и пектиновых веществ изменение значений соотношения констант скоростей реакций не приводит к снижению эффективных коэффициентов диффузии, что может свидетельствовать о протекании параллельных химических реакций.

Для оценки вклада химической реакции, как составляющей стадии в общую скорость сорбционных процессов, полученные результаты обрабатывали с использованием формальных уравнений сорбции Лагергрена (псевдо-первого порядка) и Хо-Маккея (псевдо-второго порядка).

Уравнение псевдо-первого порядка:

$$\log(q_e - q_t) = \log q_e - k_1 \cdot t \qquad , \qquad (34)$$

Уравнение псевдо-второго порядка:

$$\frac{t}{q_t} = \frac{1}{k_2 \cdot q_e^2} + \frac{1}{q_e} \cdot t \qquad , \tag{35}$$

где k_1 - константа скорости сорбции по модели псевдо-первого порядка (мин⁻¹); k_2 - константа скорости сорбции по модели псевдо-второго порядка (г/мг·мин), t – время (мин); qt – сорбционная емкость при фиксированной продолжительности инкубирования (мг/г).

Модели сорбционных процессов Лагергрена и Хо-Маккея предполагают, что сорбцию лимитирует взаимодействие сорбата с сорбционными центрами сорбента. В первом случае рассматривается случай, когда диффузия предшествует сорбции. Вторая модель описывает процессы с протеканием химического взаимодействия между сорбатом и функциональными группами сорбента. Применимость моделей к каждому конкретному случаю определяется возможностью линейной аппроксимации кинетических зависимостей корреляционными соотношениями. Для модели Лагергрена экспериментальные данные выражают графически в координатах ln(q_e – q_t) от t. Для модели Хо-Маккея – в координатах t/qt от t. В случае с уравнением псевдо-первого порядка величина константы k₁ рассчитывается по углу наклона аппроксимирующей зависимости, а расчётное значение предельной сорбции материала q_p определяется экстраполяцией на начальный момент сорбционного процесса. Для уравнения псевдо-второго порядка расчёт значений показателя q_p осуществляется по тангенсу угла наклона линейной зависимости, а константу k₂ определяют исходя из величины свободного члена.

Графические формы уравнений псевдо-первого и псевдо-второго порядка для системы «фракции МГ Пмл – ионы кадмия» представлены на рисунке 36. Аналогичная обработка проведена для пектиновых веществ помело, свеклы и подсолнечника, а также для микрогеля Св и КП. Установлено, что во всех случаях кинетика сорбции хорошо укладывается в прямолинейную зависимость при коэффициенте корреляции (R²), близком к единице, что дало возможность оценить значения констант скорости по соответствующим моделям, а также расчётные значения максимальной сорбционой ёмкости, представленные в таблице 32 (Мг Пмл) и в таблице 23 Приложения А (ПВ Пмл).



Рисунок 36 - Кинетика сорбции ионов кадмия фракциями МГ Пмл по модели псевдо-первого порядка (а) и по модели псевдо-второго порядка (б).

Полученные данные показывают, что сорбционные процессы в изолированных фракциях микрогеля и пектиновых веществ хорошо описываются, как уравнением псевдо-первого, так и псевдо-второго порядка. Модели Лагергрена и Хо-Маккея применимы для описания вклада химической стадии процесса сорбции, а также для возможности учета межмолекулярных взаимодействий в системе пектиновые полисахариды – ионы кадмия. Данный факт, а также рассчитанные термодинамические параметры соответствующих процессов, еще раз указывают на смешанный механизм сорбции.

Значения констант скорости по уравнению псевдо-второго порядка значительно превышают аналогичный параметр для модели псевдо-первого порядка, что указывает на более интенсивный характер протекания реакции образования химических связей. При этом наибольшие величины констант наблюдаются для фракций микрогеля и пектиновых веществ свеклы (для третьей фракции МГ максимальное значение k_2 составляет 42,55 10⁵, г/мг мин, для пятой фракции ПВ $k_2 = 39,70 \ 10^5$, г/мг мин), обладающих также максимальной сорбционной ёмкостью.

Таблица 32 – Параметры обработки кинетических моделей сорбции ионов кадмия фракциями микрогеля помело

	Уравнение псевдо-первого			Уравнение псевдо-второго		
05	порядка			порядка		
Ооразец	$n M\Gamma/\Gamma$	$k_1 \ 10^{-2}$,	\mathbf{R}^2	$\sigma_{\rm p} M \Gamma/\Gamma$	$k_2 \ 10^5$,	\mathbf{R}^2
	q p, m 71	МИН ⁻¹	K	q p, m /1	г/мг мин	K
МГ-Пмл-2ф	188,89	4,46	0,9923	222,22	6,30	0,9994
МГ-Пмл-3ф	200,83	4,12	0,9945	243,90	9,18	0,9992
МГ-Пмл-4ф	184,46	4,51	0,9933	217,39	6,44	0,9992
МГ-Пмл-5ф	181,17	4,39	0,9979	217,39	5,78	0,9986
МГ-Пмл-6ф	165,45	3,99	0,9944	200,00	3,70	0,9972
МГ-Пмл-7ф	162,68	4,05	0,9970	196,08	3,84	0,9987
МГ-Пмл-исх.	128,59	4,11	0,9974	161,29	3,28	0,9996

В изменении значений констант скоростей, а также расчётной сорбционной ёмкости, четко проявляется закономерность, выявленная для основных физико-химических параметров продуктов распада протопектина, полученных в потоке реакционного раствора, а именно наличие максимума, совпадающего с максимальными значениями выходов фракций микрогеля и пектиновых веществ, их молекулярной массы и содержания в них звеньев галактуроновой кислоты. В таблице 33 представлены значения кажущейся энергии активации процесса сорбции ионов кадмия изолированными фракциями микрогеля, а также образцов, полученных в аналогичных условиях в потоке реакционного раствора, но без применения комбинированного фракционирования, определенные по уравнению (36):

$$\Delta E_a = \Delta H^\circ + R \cdot T \qquad , \qquad (36)$$

где ΔH° - энтальпия (Дж/моль); R - постоянная закона идеального газа (8,314 Дж/моль·К); T - температура (К).

Значения ΔЕа изолированных фракций пектиновых веществ достаточно близки к фракциям МГ. Необходимо отметить, что значения кажущейся энергии активации во всех случаях совпадают с максимальными значениями выходов фракций, содержанием в них звеньев галактуроновой кислоты и молекулярной массы и не превышают 50 кДж/моль, что указывает на смешанный механизм сорбции [299] с диффузией в качестве скоростьопределяющего фактора и химической реакцией взаимодействия сорбата с сорбентами. Таким образом, сорбционный процесс представляет собой совокупность параллельно и последовательно идущих диффузионных и химических процессов.

No theory	Микрогель помело Микрогель свекл		Микрогель КП
л⁰ фракции	∆Еа, кДж/моль	-∆Ea, кДж/моль	-∆Ea, кДж/моль
2	22	20	20
3	31	21	29
4	22	21	23
5	21	20	21
6	18	20	-
7	18	19	-
исх. МГ	20	20	21

Таблица 33 – Значения кажущейся энергии активации сорбции ионов кадмия фракциями микрогеля различного происхождения

В аналогичных условиях была изучена свинецсвязывающая активность изолированных фракций микрогеля и пектиновых веществ помело, свеклы и корзинок подсолнечника. Установлено, что механизм процесса сорбции ионов свинца всеми исследованными образцами носит характер, идентичный для ионов кадмия. На рисунке 37 (Пмл); на рисунках 9, 10 Приложения A (Св, КП) представлены значения сорбционной ёмкости фракций микрогеля и пектиновых веществ для ионов Cd²⁺ и Pb²⁺. Во всех случаях изменение сорбционной емкости, как уже было отмечено выше, сохраняет зависимость, идентичную изменению численных значений выходов фракций, содержанию звеньев

галактуроновой кислоты, молекулярной массы, а также степени этерификации. Данный факт находит свое объяснение при учете структурных особенностей галактуроновой кислоты.



Рисунок 37 - Сорбционная ёмкость фракций МГ (а) и ПВ (б) помело по отношению к ионам: 1 – кадмия (основная ось), 2 – свинца (вспомогательная ось).

Взаимодействие ионов металлов с макромолекулой пектиновых полисахаридов в основном осуществляется по свободным карбоксильным группам звеньев галактуроновой кислоты. При этом активные центры звеньев ГК могут быть блокированы ионами кальция, а также эфирными группами. Используя экспериментальные данные, представленные в предыдущих разделах по содержанию галактуроновой кислоты, её степени этерификации, а также содержанию ионов кальция во фракциях микрогеля и пектиновых веществ, были рассчитаны концентрации этерифицированных (ЭГК), кальцийсвязанных (СаГК), свободных (СГК) звеньев ГК и общей галактуроновой кислоты (ГК), представленные в таблице 34 на примере микрогеля помело, выраженные в мэкв на один грамм сухого образца.

Анализируя полученные данные, четко видно, что величины сорбционной ёмкости микрогеля и пектиновых веществ помело, свеклы, корзинок подсолнечника находятся в прямой зависимости от концентрации свободных звеньев галактуроновой кислоты, обогащенных свободными, реакционноспособными карбоксильными группами (рис. 38 – Пмл; рис. 11, 12 (Приложение А) -Св, КП).

Образац	С(ГК),	С(ЭГК),	С(СаГК),	С(СГК),
Образец	мэкв/г	мэкв/г	мэкв/г	мэкв/г
МГ-Пмл-2ф	4,70	1,88	1,33	1,49
МГ-Пмл-3ф	4,94	2,49	0,73	1,71
МГ-Пмл-4ф	4,66	2,17	1,02	1,47
МГ-Пмл-5ф	4,59	1,96	1,22	1,41
МГ-Пмл-6ф	4,56	1,86	1,43	1,27
МГ-Пмл-7ф	4,53	1,79	1,52	1,22
МГ-Пмл-исх.	4,66	2,35	1,26	1,05

Таблица 34 – Содержание производных галактуроновой кислоты во фракциях микрогеля помело

Уравнения зависимости сорбционной ёмкости фракций протопектина по отношению к ионам кадмия и свинца от концентрации свободных звеньев галактуроновой кислоты во фракциях микрогеля и пектиновых веществ различного происхождения представлены в таблицах 35, 36.



Рисунок 38 - Зависимость величины сорбционной ёмкости фракций протопектина помело по отношению к ионам кадмия (а) и свинца (б) от концентрации свободных звеньев ГК (1 – МГ (вспомогательная ось); 2 – ПВ (основная ось)).

Таблица 35 – Уравнения зависимости сорбционной ёмкости фракций протопектина по отношению к ионам кадмия от концентрации свободных звеньев ГК

Фракции	Уравнение	R ²
МГ помело	$q_{\text{max}} = 109,42 \text{C}(\text{C}\Gamma\text{K}) + 29,537$	0,9934
ПВ помело	$q_{\text{max}} = 107,95 \text{C}(\text{C}\Gamma\text{K}) + 31,061$	0,9949
МГ свеклы	$q_{\text{max}} = 100,56C(C\Gamma K) + 47,537$	0,9984
ПВ свеклы	$q_{\text{max}} = 126,15C(C\Gamma K) - 26,153$	0,9961
МГ КП	$q_{\text{max}} = 110,85 \text{C}(\text{C}\Gamma\text{K}) + 26,904$	0,9988
ПВ КП	$q_{\text{max}} = 94,128C(C\Gamma K) + 56,253$	0,9911

Фракции	Уравнение	R ²
МГ помело	$q_{\text{max}} = 284,01 \text{C}(\text{C}\Gamma\text{K}) + 129,83$	0,9935
ПВ помело	$q_{\text{max}} = 272,83C(C\Gamma K) + 144,87$	0,9981
МГ свеклы	$q_{\text{max}} = 190,73C(C\Gamma K) + 362,52$	0,9989
ПВ свеклы	$q_{\text{max}} = 211,6C(C\Gamma K) + 306,43$	0,9965
МГ КП	$q_{\text{max}} = 290,9C(C\Gamma K) + 119,16$	0,9980
ПВ КП	$q_{\text{max}} = 288,78C(C\Gamma K) + 124,33$	0,9935

Таблица 36 – Уравнения зависимости сорбционной ёмкости фракций ПП по отношению к ионам свинца от концентрации свободных звеньев ГК

Во всех случаях коэффициент корреляции (\mathbb{R}^2) близок к единице, что указывает на правильность принятого подхода. На рисунке 39 представлены прямые зависимости сорбционной способности по отношению к ионам кадмия и свинца от концентрации свободных звеньев ГК в пектиновых полисахаридах с коэффициентом корреляции (\mathbb{R}^2) близким к единице. Как видно, вне зависимости от источника и метода получения, знание концентрации свободной галактуроновой кислоты и, соответственно, количества свободных реакционноспособных карбоксильных групп, позволяет прогнозировать одни из важнейших свойств пектиновых полисахаридов – их сорбционную способность по отношению к ионам тяжёлых металлов [278].

Таким образом, проведенные исследования вносят вклад в изучение кинетико-термодинамических закономерностей сорбционных процессов, характерных для пектиновых полисахаридов, а также дают возможность, используя предложенный способ оценки содержания свободной галактуроновой кислоты, прогнозировать эффективность при создании новых энтеросорбентов.



Рисунок 39 - Прямая зависимости сорбционной способности по отношению к ионам кадмия (а) и свинца (б) от концентрации свободных звеньев ГК в пектиновых полисахаридах.

3.8. Сорбционная способность фракций пектиновых полисахаридов по отношению к белкам и токсинам

Способность пектиновых полисахаридов к связыванию с образованием прочных комплексов может быть использована не только для создания высокоэффективных сорбентов, но и для получения белок-полисахаридных соединений, широко востребованных в пищевой промышленности, медицине и фармацевтике. Образование комплексов пектиновых полисахаридов, являющихся природными полиэлектролитами, и белками обычно протекает за счет влияния электростатического взаимодействия. В некоторых случаях движущей силой комплексообразования становится выделение противоионов из двойного слоя как белка, так и полиэлетролита. Необходимо отметить, что образование белок-полисахаридного комплекса происходит в среде со значением pH, ниже изоэлектрической точки белка.

Изучение сорбционной способности пектиновых полисахаридов по отношению к белкам, а также кинетико-термодинамических параметров данного процесса особенно актуально в медицинском аспекте. Особенности взаимодействия в системе белок-полисахарид в среде масло-вода и вода-масло открывают большие возможности по созданию безопасных и эффективных систем доставки лекарственных веществ, обладающих такими дополнительными свойствами как стимулчувствительность, усиление свойств и пролонгирование высвобождения действующего вещества. Достижение данных параметров эффективности возможно при правильном подборе соотношения белок-полисахарид, а также условий среды связывания.

Исследование сорбционной способности пектиновых полисахаридов по отношению к ионам тяжёлых металлов позволило определить фракции МГ и ПВ, обладающие наибольшей сорбционной ёмкостью, а, следовательно, наиболее перспективных для медико-биологического назначения. В качестве образцов был выбран микрогель, изолированный из третьих фракции элюатагидролизата альбедо помело, свекловичного жома и корзинок подсолнечника.

Для изучения сорбционной ёмкости от равновесной концентрации лактоглобулина, МГ Пмл, МГ Св, МГ КП инкубировали в течение 120 минут при температуре 298 К. К навеске МГ, массой 50 г, при постоянном перемешивании добавляли лактоглобулин, варьируя концентрацию от 101,67 мкмоль/мл до 1525,10 мкмоль/мл (рис. 40 (а)). Кинетику сорбции лактоглобулина фракциями микрогеля трёх видов фитомассы инкубировали в растворе сорбата, варьируя от 1 до 120 минут. Полученные кинетические кривые представлены на рисунке 40 (б).

Следует отметить, что все образцы показали максимальную белоксвязывающую способность при концентрации лактоглобулина от 838,81 мкмоль/мл. Однако, наибольшая сорбционная ёмкость отмечена у МГ Св, наименьшая у МГ КП (рис. 40 (а)). Данный факт обусловлен повышенным содержанием в микрогеле свекловичного жома и пониженным в микрогеле корзинок подсолнечника нейтральных сахаров арабинозы и галактозы, в первую очередь образующих связи с белками.



Рисунок 40 – Изотерма сорбции лактоглобулина микрогелем (а) и зависимость сорбционной ёмкости фракций МГ по отношению к лактоглобулину от времени (б): Пмл (1), Св (2) и КП (3).

Построенные на основе полученных данных изотермы сорбции лактоглобулина были обработаны по моделям Лэнгмюра и Фрейндлиха, с применением соответствующих уравнений (рис. 41, табл. 37). Наличие у лактоглобулина аминных групп и гидрофобных у микрогеля обуславливает образование достаточно прочных белок-полисахаридных комплексов. МГ СВ характеризуется наибольшей сорбционной ёмкостью, а также интенсивностью процесса и прочностью связи. МГ Пмл и МГ КП близки по значениям сорбционной ёмкости, однако, образование связи МГ Пмл с лактоглобулином характеризуется большей интенсивностью и крепостью связи.



Рисунок 41 - Линеаризация изотерм связывания молекул лактоглобулина микрогелем при помощи уравнения Лэнгмюра (а) и Фрейндлиха (б): 1 – Пмл; 2 – Св; 3 – КП.

Таблица 37 – Коэффициенты связывания лактоглобулина фракциями микрогеля

Образец	Уравнение Лэнгмюра			Уравнение Фрейндлиха		
	b	b q_{max} , R^2		KF	n	\mathbb{R}^2
		мкмоль/г				
МГ Пмл	0,008	169,492	0,9965	6,136	1,975	0,9739
МГ Св	0,009	181,818	0,9946	6,571	1,960	0,9772
МГ КП	0,006	172,414	0,9978	3,911	1,765	0,9616

Используя значения константы распределения KD, были оценены энтальпийный и энтропийный вклады в процесс связывания лактоглобулина (табл. 38). В данном случае возникновение энтальпийного вклада в процесс обусловлено электростатическим взаимодействием между пектиновыми полисахаридами и лактоглобулином, а энтропийного – высвобождением противоионов из двойного электрического слоя лактоглобулина и ионных групп пектина. Явное преобладание энтальпийного вклада говорит о высокой плотности заряда пектиновой макромолекулы. Ассоциация метиловых эфиров микрогеля с гидрофобным фрагментом лактоглобулина также влияет на увеличение энтропийного вклада в процесс.

Образец	ΔН°, кДж/моль	∆S°, Дж/моль∙К	ΔG° , кДж/моль				
			Т, К				
			298	303	313	318	
МГ Пмл	-26,24	-44,46	-12,95	-12,77	-12,38	-12,04	
МГ Св	-28,17	-49,96	-13,27	-13,02	-12,52	-12,27	
МГ КП	-21,77	-30,31	-12,74	-12,59	-12,29	-12,13	

Таблица 38 – Термодинамические параметры сорбции

Как видно из приведенных данных, все образцы проявили достаточно хорошую скорость связывания, связав более 60% за 20-30 минут. Интенсивность процесса, отмеченная в первые 30 минут, далее снижается, что может быть связано как с заполнением активных центров сорбента молекулами сорбата, так и с химической реакцией свободных карбоксильных и азотных групп. Для выявления механизма белоксвязывающего процесса полученные результаты были обработаны аналогично данным по сорбции металла, с использованием уравнений псевдо-первого (Лагергрена) и псевдо-второго порядка (Хо и Маккея) (рис. 42, 43 (а)). Оценка вклада диффузионной составляющей в сорбционный процесс были применены модели Бойда-Адамсона и Морриса-Вебера (рис. 43 (а), 44).



Рисунок 42 – Кинетические кривые связывания молекулы лактоглобулина микрогелем Пмл (а) и Св (б): 1 – координаты Лагергрена; 2 – координаты Хо и Маккея.



Рисунок 43 — Кинетические кривые связывания молекулы лактоглобулина микрогелем КП: 1 — координаты Лагергрена; 2 — координаты Хо и Маккея (а) и кинетические кривые диффузии молекулы лактоглобулина в микрогеле Пмл: 1 — координаты Морриса-Вебера; 2 — координаты Бойда-Адамсона (б).



Рисунок 44 — Кинетические кривые диффузии молекулы лактоглобулина в микрогеле Св (а) и КП (б): 1 — координаты Морриса-Вебера; 2 — координаты Бойда-Адамсона.

Таблица 39 – Параметры обработки кинетических моделей сорбции лактоглобулина фракциями микрогеля

Образец	Уравнение псевдо-первого			Уравнение псевдо-второго		
	порядка			порядка		
		$k_1 \ 10^{-2}$,	D ²		$k_2 \ 10^5$,	R ²
	q , м171 [*]	мин ⁻¹	ĸ	q, м171 [°]	г/мг мин	
МГ Пмл	143,71	4,20	0,9994	166,67	3,01	0,9976
МГ Св	153,13	4,33	0,9990	181,82	3,76	0,9957
МГ КП	138,71	4,16	0,9993	161,29	2,63	0,9977

Как видно из полученных данных, представленных в таблицах 39-41 и на рисунках 42-44, процесс связывания белка микрогелем различного происхождения хорошо описывается уравнениями псевдо-первого и псевдо-второго порядка, что, как и рассчитанные ранее термодинамические параметры соответствующих процессов, говорит о смешанном характере механизма связывания. Учитывая выявленный характер механизма связывания белка, описывающийся тремя стадиями: 1) внешней диффузией – перенос молекул белка через внешнедиффузионную пленку к поверхности микрогеля; 2) внутреннюю диффузию – перемещение молекул белка к активным центрам микрогеля; 3) взаимодействие амино групп белка со свободными карбоксильными группами галактуроновой кислоты микрогеля.

Таким образом, полученные результаты, позволяющие оценить механизм белоксвязывающей активности, позволят разработать подходы к созданию устойчивой матрицы-носителя, способной не только к пролонгированному, а также стимулчувствительному и дозированному высвобождению внедренного вещества [246-253].

Таблица 40 - Кинетические параметры диффузионной кинетики лактоглобулина микрогелем помело, свеклы и корзинки подсолнечника (модель Бойда-Адамсона)

Образец	k _{d1} , см ² /мин	\mathbb{R}^2	k _{d2} , см ² /мин	\mathbb{R}^2
МГ Пмл	0,0423	0,9866	0,0389	0,9954
МГ Св	0,0439	0,9990	0,0419	0,9961
МГ КП	0,0419	0,9993	0,0372	0,9967

Таблица 41 - Кинетические параметры диффузионной кинетики лактоглобулина микрогелем Пмл, Св и КП (модель Морриса-Вебера)

Образец	k _{d1} , мг·г ⁻¹ ·мин ^{-1/2}	С1, мг/г	R ²	k _{d2} , мг·г ⁻¹ ·мин ^{-1/2}	С2, мг/г	R ²
МГ Пмл	0,1607	0,1425	0,9991	0,0426	0,5632	0,9959
МГ Св	0,1790	0,2161	0,9992	0,0360	0,6527	0,9935
МГ КП	0,1623	0,1521	0,9999	0,0317	0,6790	0,9906

Продемонстрированная белоксвязывающая активность дает возможность предположить эффективность связывания токсинов, содержащих аминогруппы, что было подтверждено исследованиями in vivo.

3.9. Практическое применение пектиновых полисахаридов и продуктов на их основе

Жидкий протопектин

Полученные результаты легли в основу создания инновационного продукта – протопектина в жидкой форме для предотвращения возникновения ряда заболеваний, т.к. залогом успешного здоровьесбережения является организация правильного питания (Приложение Б). Неотъемлемой его частью является насыщение организма необходимым количеством пищевых волокон, оказывающих положительный дозозависимый эффект на функционирование желудочнокишечного тракта, улучшение обмена веществ, ведущего к предупреждению избытка массы тела, ожирения, гиперлипидемии, снижение риска онкологических заболеваний и заболеваний сердечно-сосудистой системы. Население Российской Федерации страдает от существенных нарушений структуры питания, выраженных в резком снижении потребления свежих овощей и фруктов в пользу сахара и кондитерских изделий. Результатом стало устойчивое формирование несбалансированного рациона у 77% населения, в том числе детей. Решением проблемы коррекции питания является разработка новых продуктов пищевой индустрии, содержащих в составе функциональные пищевые волокна. Оптимальной формой функционального питания признаны жидкие напитки, содержащие пектин.

В условиях in vivo была доказана высокая селективная сорбционная активность полученных субстанций по отношению к солям тяжёлых металлов, радионуклидам, продуктам распада этанола и билирубину. Было отмечено, что субстанции остаются нечувствительными к минералам и веществам, полезным для человеческого организма (Приложение Б). Созданный на основе проведённых исследований продукт выведен на рынок в виде безалкогольного натурального пектинсодержащего напитка «ТеЗиС» - сокращенное от Технологий здоровья и совершенства. Продукт прошел государственную регистрацию и имеет декларацию о соответствии Техническому Регламенту Таможенного Союза под номером ЕАЭС N RU Д-RU.PA02.B.32512/22. Состав пектиновых напитков «ТеЗиС» приведен в Приложении Б. Установлено, что сорбционная ёмкость по отношению к ионам тяжёлых металлов (табл. 42) и токсинам (табл. 43) превышает аналогичные значения препаратов сравнения более чем в 3,5 раза.

Согласно исследованиям, проведенным в Клинике ФГБНУ «Научно-исследовательского института Медицины Труда имени академика Н.Ф. Измерова», «ТеЗиС» при регулярном приёме достоверно снижает содержание билирубина, гаптоглобина, холестерина, глюкозы, мочевой кислоты до референтных значений и рекомендуется применять в качестве безопасного лечебно-профилактического средства при заболеваниях желудочно-кишечного тракта, гепато-билиарной системы, диабете, воспалительных процессах, у лиц с повышенным содержанием мочевой кислоты в сыворотке крови, а также при работе предприятиях С вредными условиями труда. на Учитывая

тонизирующий, детоксикационный, противовоспалительный, восстанавливающий и адаптогенный эффект напитков «Te3uC», его применение целесообразно для спортсменов, военнослужащих и людей, ведущий активный образ жизни. Безопасность и эффективность напитков «Te3uC» позволяет применять его для периодической очистки организма от шлаков, токсинов и других вредных метаболитов.

Таблица 42 - Металлосвязывающая способность напитков «ТеЗиС»

Сорбционная ёмкость, мг/г							
Образец Свинец Цинк Кадмий Ртуть Стронций Кобал							
ТеЗиС А	932,06	364,62	468,27	396,48	798,36	624,12	
ТеЗиС Б	864,56	356,83	412,54	296,70	774,32	518,94	
ТеЗиС Т	892,48	338,64	432,49	358,31	802,15	573,65	

Таблица 43 - Токсинсвязывающая способность напитков «ТеЗиС»

Сорбционная ёмкость, мкмоль/г							
Образец	Билирубин	Креатинин	Мочевина	Холестерин			
ТеЗиС А	0,1500	0,0058	0,6452	54,2400			
ТеЗиС Б	0,1300	0,0062	0,6231	49,1876			
ТеЗиС Т	0,1100	0,0047	0,5827	44,3100			

Инфузионные плазмозамещающие растворы

Полученные результаты позволили разработать эффективные изотонические и гиперосмолярные инфузионные растворы (ИР) на основе декстрана и криофилактических сред, описанных в разделе 3.5 [256]. Данные ИР могут быть использованы, как для оказания неотложной помощи гражданскому населению и военнослужащим на догоспитальных этапах в экстремальных климатических условиях (температуре окружающего воздуха в диапазоне температур от минус 50 °C до + 50 °C, и влажности от 30 до 95 %), так и при проведении заместительной инфузионной терапии в условиях клиники.

На основе предварительных испытаний оценены и выбраны оптимальные составы изотонического и гиперосмолярного инфузионных растворов. В результате разработана рецептура изотонического инфузионного раствора с температурой замерзания минус 13,0°С и гиперосмолярного ИР с температурой замерзания минус 17,20°С, сохраняющих физико-химическую стабильность при прохождении многократных циклов замораживания и нагревания в диапазоне температур от -50°С до +50°С.

В условиях in vivo на модели тяжёлого геморрагического шока у лабораторных животных проведено исследование по определению эффективных доз опытных образцов инфузионного раствора. Установлено преимущество разработанного раствора над препаратами сравнения (Реополиглюкина 10,0% и NaCl 0,9%). Показано, что при меньшей дозе введения изотонического ИР (в дозе 1/2:1 восполнения объема циркулирующей крови (ОЦК)) наблюдается быстрая стабилизация гемодинамических показателей и благоприятное течение метаболических процессов в органах и тканях, свидетельствующее о восстановлении микроциркуляции и эффективности противошоковых мероприятий. В результате определены эффективные дозы для изотонического инфузионного раствора 14,9±0,3 мл/кг. Доказано, что инфузия вышеуказанных объемов опытных образцов инфузионного раствора обеспечивает быстрое наступление устойчивой стабилизации гемодинамики у биообъектов с острой массивной кровопотерей, превышающей 40,0% ОЦК.

В условиях in vivo на модели тяжёлого геморрагического шока у крупных лабораторных животных проведено исследование по определению эффективных доз опытных образцов гиперосмолярного инфузионного раствора. Установлено преимущество испытуемого раствора над препаратами сравнения (Гемостабил и ГиперХаес). Показано, что при меньшей дозе введения разработанного гиперосмолярного ИР (в дозе 1/6:1 восполнения объема циркулирующей крови (ОЦК)) наблюдается быстрая стабилизация гемодинамических показателей и благоприятное течение метаболических процессов в органах и тканях, свидетельствующее о восстановлении микроциркуляции и эффективности противошоковых мероприятий. В результате определены эффективные дозы: для гиперосмолярного инфузионного раствора – 4,6±0,3 мл/кг (1/6:1 восполнения ОЦК с болюсным введением раствора). Доказано, что инфузия вышеуказанных объемов опытных образцов инфузионного раствора обеспечивает быстрое наступление устойчивой стабилизации гемодинамики у биообъектов с острой массивной кровопотерей, превышающей 40,0% ОЦК. При этом образцов растворов (внутрикостный путь введения опытных ИЛИ

143

внутривенный) не влиял на эффективность проводимой инфузионной терапии. Результаты экспериментальных исследований свидетельствуют о высокой эффективности применения малого объема опытных образцов гиперосмолярного раствора в дозе 1/6:1 восполнения ОЦК с болюсным введением раствора (210 мл. в течение 90 сек.). Для устойчивой стабилизации гемодинамики вышеуказанные дозы опытных образцов ИР оказались достаточными. Данный факт имеет важное значение с точки зрения скорости стабилизации гемодинамики на фоне кратковременности инфузии и возможности поддержания управляемой гипотонии, на догоспитальном этапе у раненых и пострадавших на фоне продолжающегося кровотечения.

Таким образом, проведённые исследования вносят вклад в физическую химию пектиновых полисахаридов, проливая свет на строение сложнейшего природного макромолекулярного комплекса – протопектина, демонстрируя неоднородность пектиновой молекулы, давая возможность получить чистые изолированные фракции однородные по структуре и молекулярной массе. А также полученные результаты имеют важное практическое значение, являясь основой для новых импортозамещающих технологий производства пектинов и продуктов с высокими эксплуатационными характеристиками и специальными свойствами, направленными на улучшение здоровья и качества жизни населения Российской Федерации.
выводы

1. Впервые изучены структурные, молекулярно-массовые И сорбционные характеристики изолированных фракций пектиновых полученные комбинированным полисахаридов различного сырья, фракционированием в потоке реакционного раствора при атмосферном давлении, а также в условиях повышенного давления и температуры. Установлено, что данные процессы приводят к получению химически чистых веществ с однородной структурой и более выраженными сорбционными свойствами по сравнению с нефракционированными образцами.

2. Установлен механизм распада протопектина различного сырья в потоке реакционного раствора при атмосферном давлении, а также в условиях повышенного давления и температуры. На основе необратимой реакции первого порядка распада протопектина на сумму микрогеля и пектиновых веществ (ПП \rightarrow MГ+ПВ) и последовательной реакции распада ПП с образованием промежуточного соединения – микрогеля (ПП \rightarrow МГ \rightarrow ПВ) в потоке, оценены кинетические параметры и значения кажущейся энергии активации обоих процессов в режимах комбинированного фракционирования и барофракционирования. Показана высокая корреляция зависимости lnk от обратной температуры по двум механизмам.

3. Установлен факт резкого снижения значений энергии активации E(k₁) распада протопектина в начале гидролиз-экстракции с последующей стабилизацией, что связано с двухступенчатым процессом: экстрагированием набухшего микрогеля и последующим его фракционированием по гельхроматографическому механизму.

4. Установлено, что, независимо от вида сырья, повышение давления и температуры в режиме барофракционирования приводит к смещению реакции распада ПП в сторону формирования пектиновых веществ и олигосахаридов с оптимальными физико-химическими свойствами.

5. Показано, что для изолированных фракций микрогеля и пектиновых веществ, независимо от происхождения, наблюдается высокая корреляция

зависимости Lg[η] от LgM, что свидетельствует о структурной однородности полученных веществ.

6. Впервые в широком диапазоне температур изучены реологические характеристики фракций пектиновых полисахаридов и композиций на их основе. Выявлена способность низкомолекулярных продуктов реакции распада протопектина снижать температуры замерзания их водных растворов до -20°C, что даёт возможность рассматривать их в качестве перспективных компонентов лекарственных средств.

7. Впервые изучены кинетико-термодинамические закономерности сорбционных процессов в изолированных фракциях пектиновых полисахаридов различного происхождения. Рассчитанные термодинамические и кинетические параметры позволили установить, что скорость сорбции на полученных пектиновых сорбентах определяют диффузионные процессы, а эффективность – химическая реакция взаимодействия сорбатов с микрогелем и пектиновыми веществами, а сам процесс носит смешанный характер. Установлена взаимосвязь структуры пектиновых полисахаридов с сорбционными свойствами, которые зависят от концентрации свободной галактуроновой кислоты.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

а	-	Олигосахариды яблочных выжимок
AB	-	Апельсиновые выжимки
ACM	-	Атомно-силовая микроскопия
БВ	-	Балластные вещества
БнВ	-	Банановые выжимки
Бфр	-	Барофракционирование
ВЭЖХ	-	Высокоэффективная эксклюзионная хроматография
ГК	-	Галактуроновая кислота
ГоИР	-	Гиперосмолярные инфузионные растворы
ИР	-	Инфузионные растворы
ИтИР	-	Изотонические инфузионные растворы
КП	-	Корзинки подсолнечника
КриоС	-	Криофилактическая среда
Кс	-	Количество свободных карбоксильных групп
КС	-	Клеточная стенка
КФр	-	Комбинированное фракционирование
Кэ	-	Количество этерифицированных карбоксильных групп
ЛВ	-	Лимонные выжимки
МΓ	-	Микрогель
MM	-	Молекулярная масса
HC	-	Нейтральные сахара
OC	-	Олигосахариды
ПВ	-	Пектиновые вещества
Пмл	-	Альбедо помело
ПП	-	Протопектин
ППс	-	Пектиновые полисахариды
РГ-І	-	Рамногалактуронан I
PΓ-II	-	Рамногалактуронан II
СаГК	-	Кальцийсвязанные звенья галактуроновой кислоты
Св	-	Свекловичный жом

СГК	-	Свободные звенья галактуроновой кислоты
СР	-	Статический режим
СЭ	-	Степень этерификации
ТВ	-	Тыквенные выжимки
ЦДТА	-	Циклогексан-транс-1,2-диаминтетрауксусная кислота
ЭАВ	-	Электроактивированная вода
ЭГ	-	Элюат-гидролизат
ЭГК	-	Этерифицированные звенья галактуроновой кислоты
ЭДТА	-	Этилендиаминтетрауксусная кислота
ЭПР	-	Электронный парамагнитный резонанс
ЭХА	-	Электрохимическая активация
ЯВ	-	Яблочные выжимки
ЯВГ	-	Яблочные выжимки сорта Голден Делишес
Ara	-	Арабиноза
CryoS	-	Криофилактическая среда (декстран 7,5 %)
CSP	-	Хелаторастворимая фракция пектиновых полисахаридов
DASP	-	Щелочнорастворимая фракция пектиновых полисахаридов
Gal	-	Галактоза
Glc	-	Глюкоза
Man	-	Манноза
р	-	Олигосахариды альбедо помело
Rha	-	Рамноза
WSP	-	Водорастворимая фракция пектиновых полисахаридов
Xyl	-	Ксилоза
α-Af	-	α-L-арабинофуранозидаза
β-Gal	-	β-Галактозидаза

ЛИТЕРАТУРА

1. Оводова, Р.Г. Новейшие сведения о пектиновых полисахаридах / Р.Г. Оводова, В.В. Головченко, С.В. Попов, Ю.С. Оводов // Известия Коми научного центра УРО РАН. - 2010. - №3. - С.37-45.

2. Оводов, Ю.С. Современные представления о пектиновых веществах /
Ю.С. Оводов //Биоорган. Химия. - 2009. - Т. 35. - №3. - С. 293-310.

3. Gloaguen, V. Structural characterization and cytotoxic properties of an apiose-rich pectic polysaccharide obtained from the cell wall of the marine phanerogam Zostera marina / V. Gloaguen, V. Brudieux, B. Closs, A. Barbat, P. Krausz, O. Sainte-Catherine, M. Kraemer, E. Maes, Y. Guerardel // J. Nat. Prod. - 2010. - Vol. 73. - P. 1087-1092.

4. Neill, M.A. The Plant Cell Wall / M.A. Neill, W.S. York // Ed. Rose J.K.C. Oxford: Blackwell Publ. Ltd. Ann. Plant Rev. - 2003. - Vol. 8. - P. 1-54.

5. Zhang, H. Extraction and characterization of RG-I enriched pectic polysaccharides from mandarin citrus peel / H. Zhang, J. Chen, J. Li, L. Yan, S. Li, X.Ye, D. Liu, T. Ding, R.J. Linhardt, C. Orfila, S.Chen // Food Hydrocolloids. - 2018. -Vol 79. - P. 579 - 586.

6. Оводов, Ю.С. Биогликаны и природные гликозиды как перспективные объекты биоорганической химии / Ю.С. Оводов // Acta Naturae. - 2010. - Vol. 2. - № 2. (5). - С. 29-37.

7. Masuelli, M.A. Viscometric study of pectin. Effect of temperature on the hydrodynamic properties / M.A. Masuelli // International Journal of Biological Macromolecules. - 2011. - Vol. 48. - № 2. - P. 286-291.

8. Sun, Y. Structural features of pectic polysaccharide from Angelica sinensis
(Oliv.) Diels / Y. Sun, S.W. Cui, J. Tang, X. Gu // Carbohydrate Polymers. - 2010.
- Vol. 80. - P. 544-550.

9. Sabu, T. Handbook of Biopolymer-Based Materials: From Blends and Composites to Gels and Complex Networks / T. Sabu, D. Durand, C. Chassenieux // Jyotishkumar John Wiley & Sons. - 2013. - 988 p.

10. Duan, J. Structural features of a pectic arabinogalactan with immunological activity from the leaves of Dios - pyros kaki / J. Duan, X. Wang, Q. Dong, J.N. Fang, X. Li // Carbohydr. Res. - 2003. - V. 338. - № 12. - P. 1291-1297.

11. Fan, Y. The roles and mechanisms of homogalacturonan and rhamnogalacturonan I pectins on the inhibition of cell migration / Y. Fan, L. Sun, S. Yang, C. He, Y. Zhou // International Journal of Biological Macromolecules. - 2018. - Vol. 106. - P. 207-217.

12. Erdmann do Nascimento, G. New findings on green sweet pepper (Capsicum annum) pectins: Rhamnogalacturonan and type I and II arabinogalactans / G. Erdmann do Nascimento, M. Iacomini, L.M.C Cordeiro // Carbohydrate Polymers. - 2017. - Vol. 171. - P. 292-299.

13. Park, H.-R. Structural elucidation of anti-metastatic rhamnogalacturonan II from the pectinase digest of citrus peels (Citrus unshiu) / H.-R. Park, S.B. Park, H.-D. Hong, H.J. Suh, K.-S. Shin // International Journal of Biological Macromole-cules. - 2017. - Vol. 94. - Part A. - P.161-169.

14. Hilz, H. The pectic polysaccharide rhamnogalacturonan II is present as a dimer in pectic populations of bilberries and black currants in muro and in juice / H. Hilz, P. Williams, T. Doco, H.A. Schols, A.G.J. Voragen // Carbohydrate Polymers. - 2006. - Vol. 65. - Issue 4. - P. 521-528.

15. Popov, S.V. Characterisation of the oral adjuvant effect of lemnan, a pectic polysaccharide of Lemna minor / S.V. Popov, V.V. Golovchenko, R.G. Ovodova, V.V. Smirnov, Y.S. Ovodov // Vaccine. - 2006. - Vol. 24. - Issue 26. - P. 5413-5419.

16. Chauvin, L. Synthesis of an apiose-containing disaccharide fragment of rhamnogalacturonan-II and some analogues / L. Chauvin, S.A. Nepogodiev, R.A. Field // Carbohydrate Research. - 2004. - Vol. 339. - Issue 1. - P 21-27.

17. Doco, T. Polysaccharides from grape berry cell walls. Part II. Structural characterization of the xyloglucan polysaccharides / T. Doco, P. Williams, M. Pauly, M.A. O'Neill, P. Pellerin // Carbohydrate Polymers. - 2003. - Vol. 53. - Issue 3. - P. 253-261.

18. Kim, Y. Structural and functional effects of manipulating the degree of methylesterification in a model homogalacturonan with a pseudo-random fungal pectin methylesterase followed by a processive methylesterase / Y. Kim, R.G. Cameron, M.A.K. Williams, G.A. Luzio // Food Hydrocolloids. 2018. Vol. 77. - P. 879-886.

19. Bedouet, B. Rapid quantification of O-acetyl and O-methyl residues in pectin extracts / B. Bedouet, B. Courtois, J. Courtois // Carbohydr. Res. - 2003. - Vol. 338. - № 4. - P. 379-383.

20. Mort, A. Characterization of a methyl-esterified tetragalacturonide fragment isolated from a commercial pectin with a medium degree of methyl-esterification / A. Mort, G. Bell-Eunice, X. Wu // Carbohydrate Research. - 2013. - Vol. 380. - P.108-111.

21. Родионова, Л.Я. Расширение классификации пектиносодержащего сырья / Л.Я. Родионова, Л.В. Донченко, И.В. Соболь, А.В. Степова // Труды Кубанского государственного аграрного университета. - 2015. - № 52. - С. 199-206.

22. Минзанова, С.Т. Пектины из нетрадиционных источников: технология, структура, свойства и биологическая активность / С.Т. Минзанова, В.Ф. Миронов, А.И. Коновалов, А.Б. Выштакалюк, О.В.Цепаева, А.З.Миндубаев, Л.Г.Миронова, В.В.Зобов. - Казань: Изд-во «Печать Сервис XXI век». - 2011. -С. 224.

23. Srivastava, P. Sources of pectin, extraction and its applications in pharmaceutical industry / P. Srivastava, R. Malviya // Indian Journal of Natural Products and Resources. - 2011. - Vol. 2. - №1. - P. 10-18.

24. Sayah, M.Y. Yield, Esterification Degree and Molecular Weight Evaluation of Pectins Isolated from Orange and Grapefruit Peels under Different Conditions. / M.Y. Sayah, R. Chabir, H. Benyahia, Y.R. Kandri, C.F. Ouazzani, H. Touzani // PLoS ONE. - 2016. - Vol. 11(9). - P. 1-16.

25. Begum, R. Structural and functional properties of pectin extracted from jackfruit (Artocarpus heterophyllus) waste: Effects of drying / R. Begum, Y.A. Yusof, M.G. Aziz, M.B. Uddin // International Journal of Food Properties. - 2017. - Vol. 20. - P.190-201.

26. Liu, L. Pectin-Based Systems for Colon-Specific Drug Delivery via Oral Route / L. Liu, M.L. Fishman, J. Kost, K.B. Hicks // Biomaterials. - 2003. - Vol. 24. - P. 3333–3343.

27. Vaidya, A. Metronidazole Loaded Pectin Microspheres for Colon Targeting / A. Vaidya, A. Jain, P. Khare, R.K. Agrawal, S.K. Jain // Journal of Pharmaceutical Science. - 2009. - Vol. 98(11). - P. 4229-4236. 28. Hua, X. Rheological properties of deesterified pectin with different methoxylation degree / X. Hua, H. Yang, P. Ding, K. Chi, R. Yang // Food Bioscience. -2018. - Vol. 23. - P. 91-99.

29. Kang, J. Characterization of natural lowmethoxyl pectin from sunflower head extracted by sodium citrate and purified by ultrafiltration / J. Kang, X. Hua, H. Yang, Y. Chen, R. Yang // Food Chemistry. - 2015. - Vol. 80. - P. 98-105.

30. Yapo, B. M. Extraction and characterization of gelling and emulsifying pectin fractions from cacao pod husk / B.M. Yapo, K.L. Koffi // Journal of Food and Nutrition Research. - 2013. - Vol. 1(4). - P. 46-51.

31. Koubala, B.B. Isolation and structural characterisation of papaya peel pectin / B.B. Koubala, S. Christiaens, G. Kansci, A.M. Van Loey, M.E Hendrickx. // Food Research International. - 2014. - Vol. 55. - P. 215-221.

32. Chen, J. Pectin modifications: A review / J. Chen, W. Liu, C. Liu, T. Li, R. Liang, S. Luo // Critical Reviews in Food Science and Nutrition. - 2015. - Vol. 55(12). - P. 1684-1698.

33. Jolie, R.P. Pectin methylesterase and its proteinaceous inhibitor: A review.
/ R.P. Jolie, T. Duvetter, A.M. V. Loey, M.E. Hendrickx // Carbohydrate Research.
- 2010. - Vol. 345. - P. 2583-2595.

34. Wang, K. Hydrodynamic behavior and gelling properties of sunflower head pectin in the presence of sodium salts / K. Wang, X. Hua, R. Yang, J. Kang, W. Zhang // Food Hydrocolloids. - 2014. - Vol. 36. - P. 238-244.

35. Karaki, N. Physicochemical characterization of pectin grafted with exogenous phenols / N. Karaki, A. Aljawish, L. Muniglia, C. Humeau, J. Jasniewski // Food Hydrocolloids. - 2016. - Vol. 60. - P.486-493.

36. Liu, L. Extraction of pectins with different degrees of esterification from mulberry branch bark / L. Liu, J. Cao, J. Huang, Y. Cai, J. Yao // Bioresource Technology. - 2010. - Vol. 101(9). - P. 3268-3273.

37. Pacheco, M. T. Structural and Rheological Properties of Pectins Extracted from Industrial Sugar Beet By-Products / M.T. Pacheco, M. Villamiel, R. Moreno, F.J. Moreno // Molecules. - 2019. - Vol. 24. - №.392. - P. 1-16.

38. Wyatt, N.B. Increasing viscosity in entangled polyelectrolyte solutions by the addition of salt / N.B. Wyatt, C.M. Gunther, M.W. Liberatore. // Polymer. - 2011.
- Vol. 52. - P. 2437-2444.

39. Huang, X. Characterization of pectin extracted from sugar beet pulp under different drying conditions / X. Huang, D. Li, L. Wang // Journal of Food Engineering. - 2017. - Vol. 211. - P. 1-6.

40. Gawkowska, D. The Effect of Concentration on the Cross-Linking and Gelling of Sodium Carbonate-Soluble Apple Pectins // D. Gawkowska, J. Ciesla, A. Zdunek, J. Cybulska // Molecules. - 2019. - Vol. 24. - P. 1635.

41. Beguma, R. Characterization of Jackfruit (Artocarpus heterophyllus) Waste Pectin as Influenced by Various Extraction Conditions / R. Beguma, M.G. Aziz, M.B. Uddin, Y.A. Yusof // Agriculture and Agricultural Science Procedia. -2014. - Vol. 2. - P. 244-251.

42. Agoda-Tandjawa, G. Rheological behaviour and microstructure of microfibrillated cellulose suspensions/low-methoxyl pectin mixed systems. Effect of calcium ions / G. Agoda-Tandjawa, S. Durand, C. Gaillard, C. Garnier, J.-L. Doublier // Carbohydrate Polymers. - 2012. - Vol. 87. - Issue 2. - P. 1045-1057.

43. Slavov, A. Gelation of high methoxy pectin in the presence of pectin metylesterases and calcium / A. Slavov, C. Garnier, M.-J. Crepeau, S. Durand, E. Bonnin // Carbohydrate Polymers. - 2009. - Vol. 77. - Issue 4. - P. 876-884.

44. Wehr, J.B. Alkali hydroxide-induced gelation of pectin / J.B. Wehr, N.W Menzies, F.P.C. Blamey // Food Hydrocolloids. - 2004. - Vol. 18. - Issue 3. - P. 375-378.

45. Gawkowska, D. Structure-Related Gelling of Pectins and Linking with Other Natural Compounds: A Review / D. Gawkowska, J. Cybulska, A. Zdunek // Polymers. - 2018. - Vol. 10. - N.7 (762). - P 1-25.

46. Kastner, H. Structure formation in sugar containing pectin gels-Influence of Ca²⁺ on the gelation of low-methoxylated pectin at acidic pH / H. Kastner, U. Einhorn-Stoll, B. Senge // Food Hydrocoll. - 2012. - Vol. 27. - P. 42-49.

47. Yang, X. Low methoxyl pectin gelation under alkaline conditions and its rheological properties: Using NaOH as a pH regulator / X. Yang, T. Nisar, D. Liang, Y. Hou, L. Sun, Y. Guo // Food Hydrocolloid. - 2018. - Vol. 79. - P. 560-571.

48. Хотимченко, М.Ю. Эффективность никзоэтерифицированного пектина при токсическом поражении печени, вызванном введением свинца / М.Ю. Хотимченко, Е.А. Коленченко // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 2007. - Т. 144. - № 7. - С. 65-67. 49. Khozhaenko, E.V. Metal binding activity of pectin isolated from seagrass zostera marina and its derivatives / E.V. Khozhaenko, M.Y. Khotimchenko, R.Y. Khotimchenko, V.V. Kovalev, E.A. Podkorytova // Russian Journal of Marine Biology. - 2015. - T. 41. - № 6. - C. 485-489.

50. Kodoth, A. K. Silver nanoparticle-embedded pectin-based hydrogel for adsorptive removal of dyes and metal ions / A.K. Kodoth, V. Badalamoole // Polymer Bulletin. - 2020. - Vol. 77(2). - P. 541-564.

51. Bhuyan, M.M. Pectin-(3-acrylamidopropyl) trimethylammonium chloride-co-acrylic acid hydrogel prepared by gamma radiation and selectively silver (Ag) metal adsorption / M.M. Bhuyan, H. Okabe, Y. Hidaka, K. Hara // Journal of Applied Polymer Science. - 2018. - Vol. 135(8). - № 45906. - P. 1-14.

52. Li, D. Pectin in biomedical and drug delivery applications: A review / D. Li, J. Li, H. Dong, X. Li, J. Zhang, S. Ramaswamy, F. Xu // International Journal of Biological Macromolecules. - 2021. - Vol. 185. - P. 49-65.

53. Koksharov, S.A. Description of adsorption interactions of lead ions with functional groups of pectin-containing substances / S.A. Koksharov, S.V. Aleeva, O.V. Lepilova // Journal of Molecular Liquids. - 2019. - Vol. 283. - P. 606-616.

54. Ma, X. Mercury removal by adsorption on pectin extracted from sugar beet pulp: Optimization by response surface methodology / X. Ma, D. Li, Z Wu., H. Zhang, X. Chen, Z. Liu // Chemical Engineering & Technology. - 2016. - Vol. 39(2). - P. 371-377.

55. Khozhaenko, E. Removal of the metal ions from aqueous solutions by nanoscaled low molecular pectin isolated from seagrass Phyllospadix iwatensis / E Khozhaenko, V. Kovalev, E. Podkorytova, M. Khotimchenko. // Science of the Total Environment. - 2016. - Vol. 565. - P. 913-921.

56. Basak, R. Formation and rupture of Ca²⁺ induced pectin biopolymer gels / R. Basak, R. Bandyopadhyay // Soft Matter. - 2014. - Vol. 10(37). - P. 7225-7233.

57. Cao, L. Egg-box model-based gelation of alginate and pectin: A review / L. Cao, W. Lu, A. Mata, K. Nishinari, Y. Fang // Carbohydrate Polymers. - 2020. - Vol. 242 - № 116389. - doi.:10.1016/j.carbpol.2020.116389.

58. Celus, M. Fe²⁺ adsorption on citrus pectin is influenced by the degree and pattern of methylesterification / M. Celus, C. Kyomugasho, Z.J. Kermani, K.

Roggen, A.M. Van Loey, T. Grauwet, M.E. Hendrickx // Food Hydrocolloids. - 2017. - Vol. 73. - P. 101-109.

59. Liang, R. Effects of citrus pectin with different degree of esterification on adsorption of Pb²⁺ and its mechanism / R. Liang, P. Li, X. He, M. Kuang, J. Chen, C. Liu // Science & Technology of Food Industry. - 2018. - Vol. 39(6). - P. 13-18.

60. Arachchige, M.P.M. Effect of high hydrostatic pressure-assisted pectinase modification on the Pb²⁺ adsorption capacity of pectin isolated from sweet potato residue / M.P.M. Arachchige, T. Mu, M. Ma // Chemosphere. - 2021. - Vol. 262. - N_{2} . 128102. - doi:10.1016/j.chemosphere.2020.128102.

61. Li, J. The role of surface functional groups of pectin and pectin-based materials on the adsorption of heavy metal ions and dyes / J. Li, Z.-L. Yang, T. Ding, Y.-J. Song, H.-C. Li, D.-Q. Li, S. Chen, F. Xu // Carbohydrate Polymers. - 2022. -Vol. 276. - №. 118789. - doi: 10.1016/j.carbpol.2021.118789.

62. Sobol, I.V. Peculiarities of analytical characteristics of pectins extracted from sunflower hearts / I.V. Sobol, L.V. Donchenko, L.Y. Rodionova, A.G. Koshchaev, A.V Stepovoy // Asian Journal of Pharmaceutics. - 2017. - T. 11. - № 1. - C. 97-100.

63. Михалева, Н.Я. Влияние последовательного кислотного и ферментативного гидролиза на структуру и антиоксидантную активность пектинов / Н.Я. Михалева, М.Ф. Борисенков, Е.А. Гюнтер, О.В. Попейко, Ю.С. Оводов // Химия растительного сырья. - 2010. - №3. - С. 29-36.

64. Hayaza, S. Dual role of immunomodulation by crude polysaccharide from okra against carcinogenic liver injury in mice / S. Hayaza, S.P.A. Wahyuningsih, R.J.K. Susilo, S.A. Husen, D. Winarni, R.-A. Doong, W. Darmanto // Heliyon. - 2021. - № 7. - P. 1-7.

65. Saeidy, S. Plants arabinogalactans: From structures to physico-chemical and biological properties / S. Saeidy, B. Petera, G. Pierre // Biotechnology Advances. - 2021. - Vol. 53. - P. 1-21.

66. Choct, M. Soy oligosaccharides and soluble non-starch polysaccharides: a review of digestion, nutritive and anti-nutritive effects in pigs and poultry / M. Choct, Y. Dersjant-Li, J. McLeish, M. Peisker // Asian Austal J. Anim. - 2010. - Vol. 23. - P. 1386-398. 67. Аджиахметова, С.Л. Изучение реологических свойств растворов пектиновых веществ, полученных из растительного сырья / С.Л. Аджиахметова, Л.П. Мыкоц, Н.Н. Степанова, Н.М Червонная // Медикофармацевтический журнал Пульс. - 2020. - Т. 22. - № 6. - С. 88-92.

68. Альмова, И.Х. Опыт применение пектина при заболеваниях, связанных с вредными факторами производства / И.Х. Альмова, А.С. Берикетов, А.М. Инарокова, Ж.Х. Сабанчиева // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. - 2014. - № 5-2. - С. 62-65.

69. Ашинова, А.А. Антиоксидантные свойства разных пектиносодержащих растворов / А.А. Ашинова // Вестник ВГУИТ. - 2018. - Т. 80. - № 4. - С. 199-202.

70. Рябинина, Е.И. Изучение адсорбционной активности энтеросорбентов различной природы по отношению к катионам свинца / Е.И. Рябинина, Е.Е. Зотова, Н.И. Пономарева // Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация. - 2016. - № 1. - С. 21-24.

71. Созаева, Д.Р. Физико-химические и физиологические свойства пектинов / Д.Р. Созаева, А.С. Джабоева, Л.Г. Шаова, М.Т. Беждугова // Проблемы развития АПК региона. - 2017. - Т. 30. - № 2 (30). - С. 80-86.

72. Кукин, М.Ю. Усовершенствование технологии получения пектина из яблок / М.Ю. Кукин // Научный журнал НИУ ИТМО. - 2017. - № 2. - С. 9-17.

73. Хатко, З.Н. Влияние комбинирования пектиновых веществ на вязкость их водных растворов / З.Н. Хатко, С.А. Титов, А.А. Ашинова, Е.М. Колодина // Вестник Воронежского государственного университета инженерных технологий. - 2019. - Т. 81. - № 2 (80). - С. 133-138.

74. Шахматов, Е.Г. Строение пектина и углеводной части арабиногалактановых белков (HERACLEUM SOSNOVSKYI): дисс. канд. хим. наук : 02.00.10 / Шахматов Евгений Геннадьевич. - Новосибирск, 2016. - 178 с.

75. Юсова, А.А. Свойства гидрогелей на основе смесей альгината натрия с другими полисахаридами природного происхождения / А.А. Юсова, И.В. Гусев, И.М. Липатова // Химия растительного сырья. - 2014. - № 4. - С. 59-66.

76. Alba, K. Pectin at the oil-water interface: Relationship of molecular composition and structure to functionality / K. Alba, V. Kontogiorgos // Food hydrocolloids. - 2017. - Vol. 68. - P. 211-218.

77. Babbar, N. Enzymatic pectic oligosaccharides (POS) production from sugar beet pulp using response surface methodology / N. Babbar, W.S. Dejonghe, Sforza, K. Elst // Journal of food science and technology. - 2017. - Vol. 54. - № 11. - P. 3707-3715.

78. Cornuault, V. Disentangling pectic homogalacturonan and rhamnogalacturonan-I polysaccharides. Evidence for sub-populations in fruit parenchyma systems / V. Cornuault, S. Pose, J.P. Knox // Food Chemistry. - 2018. - Vol. 246. - P. 275-285.

79. Jiang, Y. Properties of high-methoxyl pectin extracted from «Fuji» apple pomace in China / Y. Jiang, J.H. Du // Journal of food process engineering. - 2017. - Vol. 40. - № 3. - P. 1-11.

80. Klaassen, M.T. RG-I galactan side-chains are involved in the regulation of the water-binding capacity of potato cell walls / M.T. Klaassen, L.M. Trindade // Carbohydrate Polymers. - 2020. - Vol. 227. - № 115353. - P. 1-7.

81. Kpodo, F.M. Structure-Function Relationships in Pectin Emulsification / F.M. Kpodo, J.K. Agbenorhevi, K. Alba, I.N. Oduro, G.A. Morris, V. Kontogiorgos // Food biophysics. - 2018. - Vol. 13. - №1. - P. 71-79.

82. Maxwell, E.G. Pectin - An emerging new bioactive food polysaccharide /
E.G. Maxwell, N.J. Belshaw, K.W. Waldron, V.J. Morris // Trends in Food Science
& Technology. - 2012. - Vol. 24. - P. 64-73.

83. Noguchi, M. Determination of chemical structure of pea pectin by using pectinolytic enzymes / M. Noguchi, Y. Hasegawa, S. Suzuki, M. Nakazawa, M. Ueda, T. Sakamoto // Carbohydrate Polymers. - 2020. - Vol. 231. - № 115738 - doi: 10.1016/j.carbpol.2019.115738.

84. Paniagua, C. Structural changes in cell wall pectins during strawberry fruit development / C. Paniagua, N. Santiago-Domenech, A.R. Kirby, A.P. Gunning, V.J. Morris, M.A. Quesada, A.J. Matas, J.A. Mercado // Plant Physiology and Biochemistry. - 2017. - Vol. 118. - P. 55-63.

85. Sukhenko, Y. Production of Pumpkin Pectin Paste / Y. Sukhenko, M. Mushtruk, V. Vasyliv, V. Sukhenko, V. Dudchenko // 2nd International Conference on Design, Simulation, Manufacturing - The Innovation Exchange (DSMIE). - 2020. - P. 805-812.

86. Горшкова, Р.М. Пищевые волокна растительного сырья Республики Таджикистан / Р.М. Горшкова, З.К. Мухидинов, Д.Х. Халиков, С. Халикова, А.С. Насриддинов, А.С. Джонмуродов // Здравоохранение Таджикистана. - 3(303). - 2009. - С.14-17.

87. Соболь, И.В. Разработка технологии гидратопектина из свекловичного жома / И.В. Соболь, Л.В. Донченко, Л.Я. Родионова, Д.Ю. Дьяченко // Инновационное развитие аграрной науки и образования: сборник научных трудов Международной научно-практической конференции. - 2016. - С. 266-274.

88. Basanta, M.F. Effect of extraction time and temperature on the characteristics of loosely bound pectins from Japanese plum / M.F. Basanta, N.M.A. Ponce, A.M. Rojas, C.A. Stortz //Carbohydrate Polymers. - Vol. 89. - Issue 1. - 2012. - P. 230-235.

89. Халиков, Д.Х. Кинетика распада протопектина различных источников под действием высокой температуры и давления / Д.Х. Халиков, М.В. Валиев, Р.М. Горшкова, З.К. Мухидинов, С. Халикова // Доклады АН Республики Таджикистан. - 2013 - Т. 56. - № 11. - С. 882-889.

90. Горшкова, Р.М. Влияние давления и температуры на выход и свойства пектиновых веществ, полученных из различного растительного сырья / Р.М. Горшкова, З.К. Мухидинов, А.С. Насриддинов, М.В. Валиев, С. Халикова, Д.Х. Халиков, Л.Ш. Лиу. // Известия Академии Наук Республики Таджикистан Отделение физико-математических, химических, геологических и технических наук. - №4 (141). - 2010. - С. 45-50.

91. Миндубаев, А.З. Выделение и структурная идентификация амарантина, сквалена и полисахаридов из новых сортов растений рода Amaranthus L. Химическая модификация пектиновых полисахаридов : автореф. дис. ... кандидата хим. наук: 02.00.03 / А.З. Миндубаев. - Казань, 2005. - 24 с.

92. Клешнёва, Е.В. Амарант – перспективный сырьевой источник пектиновых вещест / Клешнёва Е.В., Донченко Л.В., Щеколдина Т.В.// Устойчивое развитие, экологически безопасные технологии и оборудование для переработки пищевого сельскохозяйственного сырья; импортоопережение: сборник материалов международной научно-практической конференции. - 2016. - С. 202-204. 93. Vriesmann, L.C. Optimization of nitric acid-mediated extraction of pectin from cacao pod husks (Theobroma cacao L.) using response surface methodology / L.C. Vriesmann, R.F. Teyfilo, C.L. de O. Petkowicz // Carbohydrate Polymers. -2011. - Vol. 84. - № 4. - P. 1230-1236.

94. Wang, Q. Degradation kinetics of pectins by an alkaline pectinase in bioscouring of cotton fabrics / Qiang Wang, Xuerong Fan, Zhaozhe Hua, Weidong Gao, Jian Chen // Carbohydrate Polymers. - 2007. - Vol. - 67. - Issue 4. - P. 572-575.

95. Jayani, R.S. Microbial pectinolytic enzymes: A review / R.S. Jayani, S. Saxena, R. Gupta // Process Biochemistry. - 2005. - Vol. 40. - Issue 9. - P. 2931-2944.

96. Peng, X. Effects of pH and high hydrostatic pressure on the structural and rheological properties of sugar beet pectin / X. Peng, T. Mu, M. Zhang, H. Sun, M. Yu // Food Hydrocolloids. - 2016. - Vol. 60. - P. 161-169.

97. Донченко Л.В. Влияние сорта подсолнечника на выход и качество пектиновых веществ. / Л.В. Донченко, И.В. Соболь // Труды Кубанского государственного аграрного университета. - 2006. - № 4. - С. 204-216.

98. Способ выделения пектина из корзинок подсолнечника [Текст]: пат. 2247731 Рос. Федерация: МПК С 08 В 37/06. Квасенков О.И., Надыкта В.Д., Родионова Л.Я., Квасенков И.И., Донченко Л.В., Соболь И.В.; заявитель и патентообладатель Кубанский государственный аграрный университет. - №2003113714/04; заявл. 13.05.2003; опубл. 20.03.2005, Бюл. № 7.

99. Способ выделения пектина из корзинок подсолнечника [Текст]: пат. 2248361 Рос. Федерация: МПК С 08 В 37/06 Донченко Л.В., Соболь И.В., Квасенков О.И., Надыкта В.Д., Родионова Л.Я., Квасенков И.И.; заявитель и патентообладатель Кубанский государственный аграрный университет. -№2003113714/04; заявл. 13.05.2003; опубл. 20.03.2005, Б.юл. № 8

100. Baldino, N. Rheological surface properties of commercial citrus pectins at different pH and concentration / N. Baldino, O. Mileti, F.R. Lupi, D. Gabriele // LWT. - 2018. - Vol. 93.- P. 124-130.

101. Tamaki, Y. Isolation and structural characterisation of pectin from endocarp of Citrus depressa / Y. Tamaki, T. Konishi, M. Fukuta, M. Tako // Food Chemistry. - 2008. - Vol. 107. - Issue 1. - P. 352-361. 102. Colodel, C. Cell wall polysaccharides from Ponkan mandarin (Citrus reticulata Blanco cv. Ponkan) peel / C. Colodel, L.C. Vriesmann, C. Lucia de Oliveira Petkowicz // Carbohydrate Polymers. - 2018. - Vol. 195. - P. 120-127.

103 Serena, A. Chemical and physicochemical characterisation of coproducts from the vegetable food and agro industries // A. Serena, K.E. Bach Knudsen // Animal Feed Science and Technology. -2007 - Vol. 139. - Issues 1-2. - P. 109-124.

104. Донченко, Л.В Фракционный состав пектиновых веществ айвы и дикорастущего сырья / Л.В. Донченко, С.Н. Едыгова, Т.Б. Колотий, Арутюнова Г.Ю. // Известия высших учебных заведений. Пищевая технология. - 2008. - № 2-3. - С. 118-119.

105. Ильина, И.А Механохимический метод получения модифицированных пектинов / И.А. Ильина, З.Г. Земскова, О.П. Миронова, А.М. Богус. // Конференция грантодержателей регионального конкурса Российского фонда фундаментальных исследований и администрации Краснодарского края «Юг России. Вклад фундаментальных исследований в развитие современной инновационной экономики Краснодарского края»: сборник тезисов. - 2006. - С. 134.

106. Ильина, И.А. Выявление оптимальных условий получения модифицированных пектинов механохимическим методом / И.А. Ильина, З.Г. Земскова, А.М. Богус, О.П. Миронова. // Вклад фундаментальных исследований в развитие современной инновационной экономики Краснодарского края. -2007. - С. 70-73.

107. Almohammed, F. Pectin recovery from sugar beet pulp enhanced by high-voltage electrical discharges / F. Almohammed, M. Koubaa, A. Khelfa, M. Na-kaya, E. Vorobiev // Food and Bioproducts Processing. - 2017. - Vol. 103. - P. 95-103.

108. Wang, X. Pectin extracted from apple pomace and citrus peel by subcritical water / X. Wang, Q. Chen, X. Lu // Food Hydrocolloids. - 2014. - Vol. 38. - P. 129-137.

109. Islam, M.S. Effects of low hydrostatic pressure and moderate heat on texture, pectic substances and color of carrot / M.S. Islam, N. Igura, M. Shimoda, I. Hayakawa // Eur. Food Res. Technol. - 2003. - Vol. 217. - № 1. - P. 34-38.

110. Донченко, Л.В. Пектин: основные свойства, производство и применение / Л.В. Донченко, Г.Г. Фирсов. - М.: ДеЛи принт. - 2007. - С. 276.

111. Соболь, И.А. Изучение возможности получения пектиновых экстрактов высокой чистоты / И.А. Соболь, Л.Я. Родионова, И.Н. Барышева // Научный журнал КубГАУ. - №123 (09). - 2016. -(http://ej.kubagro.ru/2016/09/pdf/04.pdf).

112. Тыщенко, В.М. Разработка экологически чистой технологии переработки растительного сырья на основе ультразвуковой кавитации / В.М. Тыщенко, А.В. Быков // Вестник ОГУ. - №12(118). - 2010. - С.82-86.

113. Жиров, В.М. Исследование процесса ультрафильтрационного концентрирования пектина / В.М. Жиров, Н.И. Белов // Пищевая промышленность. - 2005. - № 4. - С. 70-71.

114. Кузнецова, Е.А. Ультрафильтрационное концентрирование и очистка экстрактов подсолнечного пектина / Е.А. Кузнецова, А.Л. Лукин, В.В. Котов // Хранение и переработка сельхозсырья. - 2008. - № 6. - С. 23-27.

115. Maric, M. An overview of the traditional and innovative approaches for pectin extraction from plant food wastes and by-products: Ultrasound-, microwaves, and enzyme-assisted extraction / M. Maric, A.N. Grassino, Z. Zhu, F.J. Barba, S.R. Brncić // Trends in Food Science & Technology. - 2018. - Vol. 76. - P. 28-37.

116. Dominiak, M. Application of enzymes for efficient extraction, modification, and development of functional properties of lime pectin / M. Dominiak, K.M. Sondergaard, J. Wichmann, S. Vidal-Melgosa, J.D. Mikkelsen // Food Hydrocolloids. - 2014. - Vol. 40. - P. 273-282.

117. Espinal-Ruiz, M. Inhibition of digestive enzyme activities by pectic polysaccharides in model solutions / M. Espinal-Ruiz, F. Parada-Alfonso, L.-P. Restrepo-Sanchez, C.-E. Narvaez-Cuenca // Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre. - 2014. - Vol. 4. - Issue 1. - P. 27-38.

118. Jamsazzadeh, Z. The effect of exogenous enzymes and mechanical treatment on mango puree: Effect on the molecular properties of pectic substances / Z.J. Kermani, A. Shpigelman, T.M.M. Bernaerts, A.M. Van Loey, M.E. Hendrickx // Food Hydrocolloids. - 2015. - Vol. 50. - P.193-202.

119. Fissore, E.N. Commercial cell wall hydrolytic enzymes for producing pectin-enriched products from butternut (Cucurbita moschata, Duchesne ex Poiret) / E.N. Fissore, N.M. Ponce, E.A. Wider, C.A. Stortz, A.M. Rojas // Journal of Food Engineering. - 2009. - Vol. 93. - Issue 3.– P. 293-301.

120. Cameron, R.G. Demethylation of a model homogalacturonan with a saltindependent pectin methylesterase from citrus: I. Effect of pH on demethylated block size, block number and enzyme mode of action / R.G. Cameron, G.A. Luzio, K.Goodner, M.A.K. Williams // Carbohydrate Polymers. 2008. - Vol. 71. - Issue 2.-P. 287-299.

121. Castro, S.M. Identification of pressure/temperature combinations for optimal pepper (Capsicum annuum) pectin methylesterase activity / S.M. Castro, A. Van Loey, J.A. Saraiva, C. Smout, M. Hendrickx // Enzyme and Microbial Technology. - 2006. - Vol. 38. - Issue 6. - P. 831-838.

122. Guzman, P. Localization of polysaccharides in isolated and intact cuticles of eucalypt, poplar and pear leaves by enzyme-gold labelling / P. Guzman, V. Fernandez, M.L. Garcia, M. Khayet, L. Gil // Plant Physiology and Biochemistry. -2014. - Vol. 76.- P. 1-6.

123. Van Dyk, J.S. Food processing waste: Problems, current management and prospects for utilisation of the lignocellulose component through enzyme synergistic degradation / J.S. Van Dyk, R. Gama, D. Morrison, S. Swart, B.I. Pletschke // Renewable and Sustainable Energy Reviews. - 2013. - Vol. 26. - P. 521-531.

124. Нетрусов, А.И. Практикум по микробиологии / Нетрусов А.И. - М.: Академия. - 2005. - С.607.

125. Kermani, Z.J. The effect of exogenous enzymes and mechanical treatment on mango puree: Microscopic, mesoscopic, and macroscopic evaluation / Z.J. Kermani, A. Shpigelman, T.M.M. Bernaerts, A.M. Van Loey, M.E. Hendrickx // Innovative Food Science & Emerging Technologies. - 2016. - Vol. 33. - P. 438-449.

126. Rodriguez-Nogales, J.M. Pectin hydrolysis in a free enzyme membrane reactor: An approach to the wine and juice clarification / J.M. Rodriguez-Nogales, N. Ortega, M. Perez-Mateos, M.D. Busto // Food Chemistry. - 2008. - Vol. 107. - Issue 1. - P. 112-119.

127. Богус, А.М. Физические способы получения пектина / А.М. Богус, Р.И. Шаззо // Краснодар: Экоинвест. - 2003. - С.127.

128. Промтов, М.А. Перспективы применения кавитационных технологий для интенсификации химико-технологических процессов / М.А. Промтов // Вестник ТГТУ. - 2008. - Т. 14. - № 4. - С.861-869. 129. Wang, W. Acoustic cavitation assisted extraction of pectin from waste grapefruit peels: A green two-stage approach and its general mechanism / W. Wang, X. Wu, T. Chantapakul, D. Wang, D. Liu // Food Research International. - 2017. - Vol. 102. - P.101-110.

130. Тыщенко, В.М. Разработка экологически чистой технологии переработки растительного сырья на основе ультразвуковой кавитации / В.М. Тыщенко // Известия ВУЗов. Пищевая технология. - 2011. - №2-3. - С.50-52.

131. Ильина, И.А. Электрокоагуляция кислых полисахаридов из пектинсодержащих экстрактов в импульсном вращающемся электрическом поле / И.А. Ильина, А.М. Богус, М.В. Филимонов, И.А. Мачнева // Технологии пищевой и перерабатывающей промышленности АПК – продукты здорового питания. - 2015. - № 3 (7). - С. 70-77.

132. Устройство для осаждения пектина из экстракта с помощью импульсного вращающегося электрического поля [Текст]: пат. на полезную модель11008 Рос. Федерация: МПК С 08 В 37/06 Филимонов М.В., Богус А.М., Ильина И.А.; заявитель и патентообладатель СКЗНИИСиВ. - № 2011116585/13; заявл. 26.04.2011; опубл. 10.11.2011, Бюл. № 31.

133. Фирсов, Г.Г. Теоретические основы и экспериментальное моделирование процессов экстрагирования пектиновых веществ из растительной ткани / Г.Г. Фирсов, Л.В. Донченко, Г.Г. Фирсов (Мл.) // Новые технологии. -2008. - С. 36-40.

134. Богус, А.М Закономерности процесса коагуляции пектинов в высокочастотном импульсном электрическом поле / А.М. Богус, И.А. Ильина, В.В. Кондратенко // Вестник Российской академии сельскохозяйственных наук. -2009. - № 6. - С. 41-42.

135. Ильина, И.А. Выявление закономерностей протекания процесса коагуляции пектинов в высокочастотном импульсном электрическом поле / И.А. Ильина, А.М. Богус, М.В. Филимонов // В сборнике: Вклад фундаментальных исследований в развитие современной инновационной экономики Краснодарского края: сборник научных трудов. - 2008. - С. 128-129.

136. Шаззо, Р.И. Электрокоагуляция свекловичного пектина и его свойства / Р.И. Шаззо, А.М. Богус, А.Д. Ачмиз, Г.А. Купин // Хранение и переработка сельхозсырья. - 2006. - № 12. - С. 30. 137. Andersen, N.M. Dynamic modelling of pectin extraction describing yield and functional characteristics / N.M. Andersen, T. Cognet, P.A. Santacoloma, J. Larsen, I. Armagan, F.H. Larsen, K.V. Gernaey, J. Abildskov, J.K. Huusom // Journal of Food Engineering. - 2017. - Vol. 192. - C.61-71.

138. Способ получения низкомолекулярного пектина [Текст]: пат. 2478649 Рос. Федерация: МПК С 08 В 37/06 Ковалев В.В., Хотимченко М.Ю., Хотимченко Ю.С.; заявитель и патентообладатель Общество с ограниченной ответственностью «Научно-производственная фирма «Востокфарм»». - №2011136168/1; заявл.01.09.2011; опубл. 10.04.2013, Бюл. №10.

139. Способ получения низкомолекулярного пектина [Текст]: пат. 2478650 Рос. Федерация: МПК С 08 В 37/06 Ковалев В.В., Хотимченко М.Ю., Хотимченко Ю.С.; заявитель и патентообладатель Общество с ограниченной ответственностью «Научно-производственная фирма «Востокфарм»». - № 2011136204/13; заявл. 01.09.2011; опубл. 10.04.2013, Бюл. №10.

140. Fry, S.C. The structure and functions of xyloglucanv/ S. C. Fry // Journal of Experimental Botany. - 1989. - Vol. 40. - №1. - P. 1-11.

141. Hayashi, T. Xyloglucans in the Primary Cell Wall / T Hayashi // Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology. -1989. - Vol. 40. - №1. - P. 139-168.

142. Carpita, N.C. Structural models of primary cell walls in flowering plants: Consistency of molecular structure with the physical properties of the walls during growth / N.C. Carpita, D.M Gibeaut // Plant Journal. - 1993. - Vol. 3. - P. 1-30.

143. Cosgrove, D.J. Wall Structure and Wall Loosening. / D.J. Cosgrove // A Look Backwards and Forwards. Plant Physiology. - 2001. - Vol. 125. - P. 131-134.

144. Popper, Z.A. Widespread Occurrence of a Covalent Linkage between Xyloglucan and Acidic Polysaccharides in Suspension-cultured Angiosperm Cells. / Z.A. Popper, S.C. Fry // Annals of Botany. - 2005. - Vol. 96. - P. 91-99.

145. Keegstra, K. The Structure of Plant Cell Walls III. A Model of the Walls of Suspension-Cultured Sycamore Cells Based on the Interconnections of the Macromolecular Components / K. Keegstra, K.W. Talmadge, W.D. Bauer, P. Albersheim // Plant Physiology. - 1973. - Vol. 51. - P. 188-197.

146. Zykwinska, A. Organization of pectic arabinan and galactan side chains in association with cellulose microfibrils in primary cell walls and related models envisaged. / A. Zykwinska, J.F. Thibault, M.C. Ralet // Jornal of Experimental Botany. - 2007. - Vol. 58. - P. 1795-1802.

147. Zykwinska, A.W. Evidence for In Vitro Binding of Pectin Side Chains to Cellulose / A.W. Zykwinska, M. C. J. Ralet, C.D. Garnier, J.F.J. Thibault // Plant Physiology. - 2005 - Vol. 139. - P. 397-407.

148. Cosgrove, D.J. Re-constructing our models of cellulose and primary cell wall assembly / D.J. Cosgrove // Curr. Opin. Plant Biol. - 2014. - Vol. 22. - P. 122-131.

149. Park, Y.B. A revised architecture of primary cell walls based on biomechanical changes induced by substratespecific endoglucanase. / Y.B. Park, D.J. Cosgrove // Plant Physiol. - 2012. - Vol.158. - P. 1933-1943.

150. Zheng, Y. Xyloglucan in the primary cell wall: Assessment by FESEM, selective enzyme digestions and nanogold affinity tags / Y. Zheng, X. Wang, Y. Chen, E. Wagner, D.J. Cosgrove // Plant J. - 2018. - Vol. 93. - P. 211-226.

151. Gawkowska, D. Structure-Related Gelling of Pectins and Linking with Other Natural Compounds: A Review / D. Gawkowska, J. Cybulska, A. Zdunek // Polymers. - 2018. - Vol. 10. - N. 7 (762). - P 1-25.

152. Chan, S.Y. Pectin as a rheology modifier: Origin, structure, commercial production and rheology. / S.Y Chan, W.S. Choo, D.J. Young, X.J. Loh // Carbo-hydr. Polym. - 2017. - Vol.161. - P. 118-139.

153. Fry, S.C. Cross-Linking of Matrix Polymers in the Growing Cell Walls of Angiosperms / S.C. Fry // Annu. Rev. Plant Physiol. - 1986. - Vol. 37. - P. 165-186.

154. Christiaens, S. Towards a better understanding of the pectin structure– function relationship in broccoli during processing: Part I - Macroscopic and molecular analyses / S. Christiaens, S. Van Buggenhout, K. Houben, I. Fraeye, A. M. Van Loey, M. E. Hendrickx // Food Res.Int. - 2011. - Vol. 44. - P. 1604-1612.

155. Houben, K. Comparative study of the cell wall composition of broccoli, carrot, and tomato: Structural characterization of the extractable pectins and hemicelluloses / K. Houben, R.P. Jolie, I. Fraeye, A.M. Van Loey, M.E. Hendrickx // Carbohydr. Res. - 2011. - Vol. 346. - P. 1105-1111.

156. Christiaens, S. Pectin characterization in vegetable waste streams: A starting point for waste valorisation in the food industry / S. Christiaens, D.

Uwibambe, M. Uyttebroek, B. Van Droogenbroeck, A.M. Van Loey, M.E Hendrickx // LWT Food Sci. Technol. - 2015. - Vol. 61. - P. 275-282.

157. Renard, C.M.G.C. Studies on Apple Protopectin: I. Extraction of Insoluble Pectin by Chemical Means / C.M.G.C Renard, A.G.J. Voragen, J.F. Thibault, W. Pilnik // Carbohydr. Polym. - 1990. - Vol. 12. - P. 9-25.

158. Broxterman, S.E. Interactions between pectin and cellulose in primary plant cell walls / S.E. Broxterman, H.A. Schols // Carbohydr. Polym. - 2018. - Vol. 192. - P. 263-272.

159. Renard, C.M.G.C. Comparison of the cell wall composition for flesh and skin from five different plums / C.M.G.C. Renard, C. Ginies // Food Chem. - 2009. - Vol. 114. - P. 1042-1049.

160. Seymour, G.B. Composition and structural features of cell wall polysaccharides from tomato fruits / G.B. Seymour, I.J. Colquhoun, M.S. DuPont, K.R. Parsley, R.R. Selvendran // Phytochemistry. - 1990. - Vol. 29. - P. 725-731.

161. Lin, Z. Intermolecular binding of blueberry pectin-rich fractions and anthocyanin / Z. Lin, J. Fischer, L. Wicker // Food Chem. - 2016. - Vol. 194. - P. 986-993.

162. Nunes, C. Effect of candying on cell wall polysaccharides of plums (Prunus domestica L.) and influence of cell wall enzymes / C. Nunes, J.A. Saraiva, M.A. Coimbra // Food Chem. - 2008. - Vol. 111. - P. 538-548.

163. Xiao, C. Roles of pectin in biomass yield and processing for biofuels. / C. Xiao, C.T. Anderson // Front. Plant Sci. - 2013. - Vol. 4. - P. 67.

164. Chylinska, M. FT-IR and FT-Raman characterization of non-cellulosic polysaccharides fractions isolated from plant cell wall / M. Chylinska, M. Szyman-ska-Chargot, A. Zdunek // Carbohydr. Polym. - 2016. - Vol. 154. - P. 48-54.

165. Hilz, H. Cell wall polysaccharides in black currants and bilberries - Characterisation in berries, juice, and press cake / H. Hilz, E.J. Bakx, H.A. Schols, A.G.J. Voragen // Carbohydr. Polym. - 2005. - Vol. 59. - P. 477-488.

166. Pals, D.T.F. Sodium salts of pectin and of carboxy methyl cellulose in aqueous sodium chloride / D.T.F Pals, J.J. Hermans // I. Viscosities. Recl. Trav. Chim. Pays-Bas. - 1952. - Vol. 71. - P. 433-457.

167. Kosmala, M. Dietary fiber and cell wall polysaccharides from plum (Prunus domestica L.) fruit, juice and pomace: Comparison of composition and functional properties for three plum varieties. / M. Kosmala, J. Milala, K. Kolodziejczyk, J. Markowski, M. Zbrzezniak, C.M.G.C. Renard // Food Res. Int. -2013. - Vol. 54. - P. 1787-1794.

168. Albersheim, P. Splitting of pectin chainmolecules in neutral solutions /P. Albersheim, H. Neukom, H. Deuel // Arch. Biochem. Biophys. - 1960. - Vol. 90.- P. 46-51.

169. Fishman, M.L. Studies of pectin solution properties by high-performance size exclusion chromatrography / M.L. Fishman, P.E. Pfeffer, R.A. Barford, L.W. Doner // J. Agric. Food Chem. - 1984. - Vol. 32. - P. 372-378.

170. Corredig, M. Molecular characterization of commercial pectins by separation with linear mix gel permeation columns in-line with multi-angle light scattering detection / M. Corredig, W. Kerr, L. Wicker // Food Hydrocoll. - 2000. - Vol. 14. - P. 41-47.

171. Yang, J.-S. Extraction, structure, and emulsifying properties of pectin from potato Pulp / J.-S. Yang, T.-H. Mu, M.-M. Ma, // Food Chem. - 2018. - Vol. 244. - P. 197-205.

172. Ponmurugan, K. Ultrasound assisted pectic polysaccharide extraction and its characterization from waste heads of Helianthus annus / K. Ponmurugan, N.A. Al-Dhabi, J.P. Maran, K. Karthikeyan, I.G. Moothy, N. Sivarajasekar, J.J. B. Manoj // Carbohydr. Polym. - 2017. - Vol. 173. - P. 707-713.

173. Hua, X. Rheological properties of natural low-methoxyl pectin extracted from sunflower head / X. Hua, K. Wang, R. Yang, J. Kang, J. Zhang // Food Hydro-coll. - 2015. - Vol. 44. - P. 122-128.

174. Ramos-Aguilar, A.L. Physicochemical properties of apple juice during sequential steps of the industrial processing and functional properties of pectin fractions from the generated pomace / A.L. Ramos-Aguilar, C.I. Victoria-Campos, E. Ochoa-Reyes, J. de Jesus Ornelas-Paz, P.B. Zamudio-Flores, C. Rios-Velasco, J. Reyes-Hernandez, J.D. Perez-Martínez, V. Ibarra-Junquera. // LWT Food Sci. Technol. - 2017. - Vol. 86. - P. 465-472.

175. Cybulska, J. The self-assembled network and physiological degradation of pectins in carrot cell walls / J. Cybulska, A. Zdunek, A. Koziol // Food Hydrocoll. - 2015. - Vol. 43. - P. 41-50.

176. Zdunek, A. Evaluation of the nanostructure of pectin, hemicellulose and cellulose in the cell walls of pears of different texture and firmness / A. Zdunek, A. Koziol, P.M. Pieczywek, J. Cybulska // Food Bioprocess Technol. - 2014. - Vol. 7. - P. 3525-3535.

177. Zhang, L. Effects of temperature and cultivar on nanostructural changes of water-soluble pectin and chelate-soluble pectin in peaches / L. Zhang, F. Chen, H. Yang, X. Ye, X. Sun, D. Liu, B Yang, H. An, Y. Deng // Carbohydr. Polym. - 2012. - Vol. 87. - P. 816-821.

178. Coimbra, M.A. Multivariate analysis of uronic acid and neutral sugars in whole pectic samples by FT-IR spectroscopy /M. A. Coimbra, A. Barros, M. Barros, D. N. Rutledge, I. Delgadillo // Carbohydr. Polym. - 1998. - Vol. 37. - P. 241-248.

179. Kirby, A.R. Atomic force microscopy of tomato and sugar beet pectin molecules. / A.R Kirby, A.J. MacDougall, V.J Morris // Carbohydr. Polym. - 2008. - Vol. 71. - P. 640-647.

180. Pose, S. Structural characterization of cell wall pectin fractions in ripe strawberry fruits using AFM / S. Pose, A.R. Kirby, J.A Mercado, V.J. Morris, M.A. Quesada // Carbohydr. Polym. - 2012. - Vol. 88. - P. 882-890.

181. Kacurakova, M. FT-IR study of plant cell wall model compounds: Pectic polysaccharides and hemicelluloses / M. Kacurakova, P. Capek, V. Sasinkova, N. Wellner, A. Ebringerova // Carbohydr. Polym. - 2000. - Vol. 43. - P. 195-203.

182. Van Audenhove, J. The Structure and Composition of Extracted Pectin and Residual Cell Wall Material from Processing Tomato: The Role of a Stepwise Approach versus High-Pressure Homogenization-Facilitated Acid Extraction / J. Van Audenhove, T. Bernaerts, V. De Smet, S. Delbaere, A.M. Van Loey, M.E. Hendrickx. // Foods. - 2021. - Vol. 10. - №. 5(1064). - P. 1-23.

183. Neckebroeck, B. Structural and emulsion stabilizing properties of pectin rich extracts obtained from different botanical sources / B. Neckebroeck, S.H.E. Verkempinck, J. Van Audenhove, T. Bernaerts, H. Destmael de Wilde, M.E Hendrickx, A.M. Van Loey, // Food Res. Int. - 2021. - Vol. 141. - №. 110087 - doi: 10.1016/j.foodres.2020.110087.

184. McFeeters, R.F. Measurement of pectin methylation in plant cell walls / R.F. McFeeters, S.A. Armstrong // Anal. Biochem. - 1984. - Vol. 139. - P. 212-217.

185. Sriamornsak, P. Chemistry of pectin and its pharmaceutical uses: A review / P. Sriamornsak // SUIJ. - 2003. - Vol. 2. - P. 206-228.

186. Thibault, J.-F. Physico-chemical properties of pectins in the cell walls and after extraction / J.-F. Thibault., M.-C. Ralet // In Advances in Pectin and Pectinase Research, Voragen F., Schols H., Visser, R., Eds.; Springer: Dordrecht, The Netherlands, - 2003. - P. 91-105.

187. Sila, D.N. Pectins in processed fruits and vegetables: Part II – Structurefunction relationships. / D.N. Sila, S. Van Buggenhout, T. Duvetter, I. Fraeye, A. De Roeck, A. Van Loey, M. Hendrickx // Compr. Rev. Food Sci. Food Saf. - 2009. -Vol. 8. - P. 86 - 104.

188. Keijbets, M.J.H. β-elimination of pectin in the presence of anions and cations /, M.J.H. Keijbets, W. Pilnik // Carbohydr. Res. - 1974. - Vol 33. - P. 359-362.

189. Diaz, J.V. Nonenzymatic degradation of citrus pectin and pectate during prolonged heating: Effects of pH, temperature, and degree of methyl esterification / J.V Diaz, G.E. Anthon, D.M. Barrett // J. Agric. Food Chem. - 2007. - Vol. 55. - P. 5131-5136.

190. Sila, D.N. Nonenzymatic depolymerisation of carrots pectin: Towards a better understanding of carrot texture during thermal processing / D.N. Sila, C. Smout, F. Elliot, A. van Loey, M. Hendrickx // Journal of Food Science. - 2006. - Vol 71. - P. 1-9.

191. Kar, F. Effect of temperature and concentration on viscosity of orange peel pectin solutions and intrinsic viscosity-molecular weight relationship / F. Kar, N. Arslan // Carbohydr. Polym. - 1999. - Vol. 40. - P. 277-284.

192. Hua, X. Rheological properties of natural low-methoxyl pectin extracted from sunflower head / X. Hua, K Wang, R. Yang, J. Kang, J. Zhang // Food Hydro-coll. - 2015. - Vol. 44. - P. 122-128.

193. Graessley, W.W. Polymer chain dimensions and the dependence of viscoelastic properties on concentration, molecular weight and solvent power / W.W. Graessley // Polymer. - 1980. - Vol. 21. - P. 258-262.

194. Mierczynska, J. Effect of Storage on Rheology of Water-Soluble, Chelate-Soluble and Diluted Alkali-Soluble Pectin in Carrot Cell Walls / J. Mierczynska, J. Cybulska, P.M. Pieczywek // Food Bioprocess Technol. - 2015. - Vol. 8. - P. 171-180.

195. Fisher, M. Changes in the pectic substances of apples during development and postharvest ripening. Part 1: analysis of alcohol-insoluble residue / M. Fisher, R. Amado. // Carbohydrate Polymers. - 1994. - Vol. 25. - P. 161-166.

196. Van Buren, J. P. Function of Pectin in Plant Tissue Structure and Firmness. In R.H. Walter (Ed.), The chemistry and technology of pectin. / J. P. Van Buren // San Diego: Academic. - 1991. - P. 12-13.

197. Zhang, L.M. Thickening, shear thinning and thixotropic behavior of a new polysaccharide-based polyampholyte in aqueous solutions. Colloids and Surfaces / L.M. Zhang, J.F. Zhou, P.S. Hui // A: Physicochemical and Engineering Aspects. - 2005. - Vol. 259. - P. 189-195.

198. Hotchkiss, A.T. Structure and composition of blueberry fiber pectin and xyloglucan that bind anthocyanins during fruit puree processing / A.T. Hotchkiss, H.K. Chau, G.D. Strahan, A. Nunez, S. Simon, A.K. White, S. Dieng, E.R. Heuberger, M.P. Yadav, J. Hirsch // Food Hydrocolloids. - 2021. - Vol. 116. - № 106572. - P. 1-14.

199. Lundberg, B. Using highly expanded citrus fiber to improve the quality and nutritional properties of foods / B. Lundberg // Cereal Foods World. - 2005. - Vol. 50. - P. 248-252.

200. Lundberg, B. Rheology and composition of processed citrus fiber / B. Lundberg, X. Pan., A. White., H. Chau., A.T. Hotchkiss // Journal of Food Engineering. - 2014. - Vol.125. - P. 97-104.

201. Chan, S.Y. Pectin as a rheology modifier: Origin, structure, commercial production and rheology / S.Y. Chan, W.S. Choo, D.J. Young, X.J. Loh // Carbohy-drate Polymers. - 2017. - Vol. 161. - P. 118-139.

202. Горшкова, Р.М. Физико-химические и технологические основы получения продуктов распада протопектина растительного сырья: дисс. докт. тех. наук : 02.00.04 / Горшкова Раиса Михайловна. – Душанбе, 2016. – 370 с.

203. Slobodova, D.A. Combined Fractionation of Protopectin Degradation Products / D.A. Slobodova, R.M. Gorshkova, N.P. Novoselov et al. // Fibre Chemistry. - 2020. - Vol. 51. - No. 5. - P. 333 - 339. 204. Slobodova, D. Barofractionation as an Innovative Method to Obtain Pectic Polysaccharides / D. Slobodova, R. Goshkova, N. Novoselov, S. Pankov // Key Engineering Materials. - 2021. - Vol. 899. - P. 599-605.

205. Filisetti-cozzi, C. Метод определения уроновых кислот без учёта нейтральных сахаров. / C. Filisetti-cozzi, N.C. Carpita // Anal. Biochem. - 1991. - P. 197.

206. Kelko, C.P. Determination of DE / C.P. Kelko // Control metod. - 2001. - P. 3.

207. Столяров, Б.В. Руководство к практическим работам по газовой хроматографии / Б.В. Столяров, И.М. Савинов, А.Г. Витенберг // Л. Химия, 1988. - 200 с.

208. Зайцева, Н.Е. Полисахариды из сердцевины стеблей Alcea Flavovirens / Н.Е. Зайцева, И.С. Кожина // Химия природных соединений. - 1980. - № 1. - С. 32-33.

209. Логинов, Н.Я. Аналитическая химия / Н.Я. Логинов, А.Г. Воскресенский, И.С. Солодкин // М: Просвещение. 1975. - 478 С.

210. Халиков, Д.Х. Влияние молекулярной массы на желирующие свойства пектина. / Д.Х. Халиков, А.Ш. Штанчаев, З.М. Мухиддинов // Аналитическое ультрацентрифугирование в химии и биологии: сб. тр. науч.-практич. конф. - Душанбе: «Дониш», 1987. - С. 140-145.

211. Горшкова, Р.М. Влияние параметров бароэкстракции в статическом режиме на выход, физико-химические и молекулярно-массовые параметры пектиновых веществ / Р.М. Горшкова, Д.А. Слободова, М.В. Валиев, Д.Х. Халиков, Н.П. Новосёлов, Е.Ф. Панарин // Вестник СПГУТД. Серия 1. Естественные и технические науки». - 2019. - N 3. - С. 80-86.

212. Слободова, Д.А. Реология водных растворов олиго- и полисахаридов в широком диапазоне температур / Д.А. Слободова, Р.М. Горшкова, С.А. Панков, Б.С. Ёрова, В.Ю. Елоховский, Е.Ф. Панарин, Н.П. Новоселов, Д.Х. Халиков // «Вестник СПГУТД. Серия 1. Естественные и технические науки». - 2020. - N 2. - С. 102-106.

213. Хотимченко, Ю.С. Фармакология некрахмальных полисахаридов / Ю.С. Хотимченко, И.М. Ермак, А.Е. Бедняк, Э.И. Хасина, А.В. Кропотов // Вестник ДВО РАН. - 2005. - № 1. - С. 72-82.

214. Khon, R. Binding of divalent cations to oligomeric fragments of pectin / R. Khon // Carbohydrate Research. - 1987. - №160. - P. 343-353.

215. Фролов, Ю.Г. Поверхностные явления и дисперсные системы / Ю.Г. Фролов - М., 1982. - 400 с.

216. Пилипенко, А.В. Аналитическая химия. Учеб. пособие для хим. и хим.-технол. спец. вузов : в 2 томах / А.В. Пилипенко, И.Т. Пятницкий - М.: Химия, 1990. - 480 с.

217. Sedmak, J.J. A rapid, sensitive, and versatile assay for protein using Coomassie brilliant blue G250 / J.J. Sedmak, S.E. Grossberg //Analytical biochemistry. - 1977. - Vol. 79. - №. 1-2. - P. 544-552.

218. Слободова, Д.А. Новый метод модификации пектиновых полисахаридов / Д.А. Слободова, Р.М. Горшкова, Е.Ф. Панарин // Сборник тезисов XII Международной конференции молодых ученых по нефтехимии. - Звенигород, 2018. - С. 685-687.

219. Горшкова, Р.М. Оптимизация процесса получения пектиновых полисахаридов с высокими сорбционными свойствами / Р.М. Горшкова, Д.А. Слободова, А.М. Бочек, Н.П. Новоселов, Ю.И. Золотова, Панарин Е.Ф.// International Symposium on Innovative scientific conference «Integration and Integration of Science and Education» Dedicated to: «The year of Entrepreneurship, Innovative Ideas and Technological Support». - Tashkent, 2018. - P. 3-5.

220. Горшкова, Р.М. Влияние рН гидролизующего агента на распад протопектина в статическом и динамическом режимах гидролиз-экстракции / Р.М. Горшкова, Д.Х. Халиков, Д.А. Слободова, А.Б. Успенский, А.А. Слободов // Известия СПбГТИ(ТУ). - 2017. - №40 (66). - С.80-83.

221. Горшкова, Р.М. Распад протопектина под действием кислотных катализаторов / Р.М. Горшкова, Д.Х. Халиков, Д.А. Слободова, А.Б. Успенский, А.А. Слободов // Известия СПбГТИ(ТУ). - 2018. - №43(68). - С. 7-11.

222. Слободова, Д.А. Хроматографическая очистка и фракционирование пектиновых полисахаридов / Д.А. Слободова, Р.М. Горшкова, Е.Ф. Панарин // Сборник тезисов XII Международной конференции молодых ученых по нефтехимии. - Звенигород, 2018 - С. 659-662.

223. Slobodova, D. Highly purified pectin polysaccharides from the food industry waste obtained by a new method / D. Slobodova, R. Gorshkova, A. Slobodov // The 5th International Conference on Competitive Materials and Technology Processes: Book of Abstracts. - Miskolc, 2018. - P. 144.

224. Slobodova, D. Decomposition of polysaccharid matrix in a column type reactor / D. Slobodova, R. Gorshkova, A. Slobodov // The 5th International Conference on Competitive Materials and Technology Processes: Book of Abstracts. - Miskolc, 2018. - P. 145-146.

225. Слободова, Д.А. Инновационные технологии получения полисахаридных наноматериалов / Д.А. Слободова, Р.М. Горшкова, А.М. Бочек, Н.П. Новоселов // Материалы всероссийской научной конференции молодых ученых «Инновации молодежной науки». - Санкт-Петербург, 2019. - С.146-147.

226. Слободова, Д.А. Получение пектиновых полисахаридов в реакторе колонного типа / Слободова Д.А., Р.М. Горшкова, Е.Ф. Панарин // Тезисы VI Всероссийской конференции с международным участием «Техническая химия. От теории к практике», посвященной 85-летию со дня рождения чл.-корр. РАН Ю.С. Клячкина (1934 - 2000). - Пермь, 2019. - С. 26.

227. Горшкова, Р.М. Инновационные методы получения пектиновых полисахаридов / Р.М. Горшкова, Д.А. Слободова, Е.Ф. Панарин // Материалы XI Всероссийской научной конференции с международным участием и школа молодых ученых «Химия и технология растительных веществ». Сателлитная конференция XXI Менделеевского съезда по общей и прикладной химии, посвященного 150-летию Периодической системы химических элементов. - Сыктывкар, 2019. - С. 10.

228. Slobodova, D.A. Combined fractionation of protopectin decomposition products / D.A. Slobodova, R.M. Gorshkova, N.P. Novoselov, E.F. Panarin // The Fifth International Scientific Conference «Advances in Synthesis and Complexing». - Moscow, 2019. - Vol. 1. - P. 245.

229. Slobodova, D.A. Pretreatment of secondary phytomass as a new method of obtaining highly purified pectin polysaccharides / D.A. Slobodova, R.M. Gorshkova, E.F. Panarin // 15th International Saint Petersburg Conference of Young Scientists «Modern problems of polymer science». - Saint Petersburg, 2019. - P. 200.

230. Слободова, Д.А. Реализация принципов зеленой химии в производстве пектиновых полисахаридов / Д.А. Слободова, Р.М. Горшкова, М.В. Валиев, Д.Х. Халиков, Новоселов Н.П. // Материалы всероссийской научнопрактической конференции с международным участием «Современные достижения химической технологии в производстве текстиля, синтеза и применения химических продуктов и красителей», посвященная 185-летию кафедры химических технологий им. проф. А.А. Хархарова СПГУПТД. - Санкт-Петербург, 2019. - С. 68.

231. Слободова, Д.А. Кинетика распада протопектина вторичной фитомассы в потоке реакционной среды / Д.А. Слободова, Р.М. Горшкова, Н.П. Новоселов, Д.Х. Халиков, Н.Ф. Уварова // «Вестник СПГУТД. Серия 1. Естественные и технические науки». - 2020. - № 2. - С. 81-86.

232. Gorshkova, R. Physico-chemical and molecular-mass parameters of pectin polysaccharides obtained under high temperatures and pressures / R. Gorshkova, D. Khalikov, D Slobodova., A. Uspensky, A. Slobodov // IOP Journal of Physics: Conference Series. - 2018. - Vol. 1045 (2018) 012014. - doi:10.1088/1742-6596/1045/1/012014.

233. Gorshkova, R. Influence of the parameters of hydrolysis-extraction hightemperature process on epy yield, physico-chemical and molecular mass characteristics of pectin substances / R. Gorshkova, D. Slobodova, A. Uspensky, A. Slobodov // IOP Journal of Physics: Conference Series. - 2018. - Vol. 1045 (2018) 012015. doi:10.1088/1742-6596/1045/1/012015.

234. Gorshkova, R. Kinetics of protopectin decomposition in vegetable raw material under high temperatures and pressures / R. Gorshkova, D. Khalikov, D. Slobodova, A. Slobodov // IOP Journal of Physics: Conference Series. - 2018. - Vol. 1045 (2018) 012012. - doi:10.1088/1742-6596/1045/1/012012.

235. Gorshkova, R. Mathematical modeling of protopectin decomposition under high temperatures and pressures / R. Gorshkova, D. Khalikov, D. Slobodova, A. Slobodov // IOP Journal of Physics: Conference Series. – 2018. - Vol. 1045 (2018) 012013. - doi:10.1088/1742-6596/1045/1/012013.

236. Слободова, Д.А. Физико-химические и молекулярно-массовые параметры пектиновых полисахаридов, полученных методом бароэкстрации в статическом режиме / Д.А. Слободова, Р.М. Горшкова, М.В. Валиев, Д.Х. Халиков, Н.П. Новосёлов, Е.Ф. Панарин // Вестник СПГУТД. Серия 1. Естественные и технические науки». - 2019. - № 3. - С. 92-98.

237. Слободова, Д.А. Кинетика распада протопектина растительного сырья в процессе бароэкстракции в статическом режиме / Д.А. Слободова, Р.М. Горшкова, М.В. Валиев, Д.Х. Халиков, Н.П. Новоселов, Е.Ф. Панарин // Вестник СПГУТД. Серия 1. Естественные и технические науки». - 2019. - № 3. - С. 87-91.

238. Слободова, Д.А. Перспективы применения барофракционной технологии биополимеров / Д.А. Слободова, Р.М. Горшкова, Е.Ф. Панарин // Материалы XI Всероссийской научной конференции с международным участием и школа молодых ученых «Химия и технология растительных веществ». Сателлитная конференция XXI Менделеевского съезда по общей и прикладной химии, посвященного 150-летию Периодической системы химических элементов. - Сыктывкар, 2019. - С. 209.

239. Слободова, Д.А. Физико-химические основы зеленых технологий получения пектиновых полисахаридов /Д.А. Слободова, Р.М. Горшкова, Б.С. Ёрова, Д.Х. Халиков, Е.Ф. Панарин // Материалы VIII конференции с международным участием «Новые достижения в химии и химической технологии растительного сырья». - Барнаул, 2020. - С. 118-119.

240. Слободова, Д.А. Барофракционирование, как инновационный способ получения пектиновых полисахаридов / Д.А Слободова., Р.М. Горшкова, Н.П. Новоселов // XVII Международная научно-практическая конференция «Новые полимерные композиционные материалы Микитаевские чтения» «Modern problems of polymer science». - Эльбрус, 2021. - С. 210.

241. Слободова, Д.А. Получение высокоочищенных пектиновых полисахаридов и биологически активных комплексов на их основе / Д.А. Слободова, Р.М. Горшкова, П.П. Гладышев // Тезисы докладов XII Всероссийской научной конференции с международным участием и школой молодых ученых «Химия и технология растительных веществ», г. Киров, 2022 г., - С. 178.

242. Slobodova, D.A. Kinetics of Sequential Protopectin Degradation in a Flowing Reaction Solution / D.A. Slobodova, R.M. Gorshkova, N.P. Novoselov, D.Kh. Khalikov // Fibre Chemistry. - 2020. - Vol. 52. - P. 291-296.

243. Фармакологическая композиция для повышения адаптационных возможностей организма в условиях физических нагрузок [Текст]: пат. 2564949 Рос. Федерация: МПК А61К 31/732; А61Р 39/00 Минзанова С.Т., Миронов В. Ф., Выштакалюк А. Б., Назаров Н. Г., Миронова Л. Г., Зобов В. В.; заявитель и патентообладатель Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт органической и физической химии им. А.Е. Арбузова Казанского научного центра Российской академии наук. -№ 2014140328; заявл. 06.10.2014; опубл. 10.10.2015, Бюл. №28.

244. Слободова, Д.А. Термообратимое гелеобразование пектиновых полисахаридов, полученных методом комбинированного фракционирования / Д.А. Слободова, Р.М. Горшкова, С.А. Панков, Н.П. Новоселов, Д.Х. Халиков // «Вестник СПГУТД. Серия 1. Естественные и технические науки». - 2020. -N 2. - С. 95-98.

245. Панков, С.А. Термообратимое гелеобразование пектиновых полисахаридов / С.А. Панков, Р.М. Горшкова, Д.А. Слободова // Материалы XI Всероссийской научной конференции с международным участием и школа молодых ученых «Химия и технология растительных веществ». Сателлитная конференция XXI Менделеевского съезда по общей и прикладной химии, посвященного 150-летию Периодической системы химических элементов. - Сыктывкар, 2019. - С. 171.

246. Горшкова, Р.М. Новые подходы к созданию термообратимых гидрогелей на основе пектиновых полисахаридов / Р.М. Горшкова, Д.А. Слободова, С.А. Панков, Н.П. Новоселов, Д.Х. Халиков // The International Scientific Conference «Natural and Synthetic Polymers for Medical and Technical Purposes». - Minsk, 2022. - P. 34.

247. Слободова, Д.А. Высокочистые пектиновые полисахариды для медицины / Д.А. Слободова, Р.М. Горшкова, П.П. Гладышев // Сборник материалов II Всероссийской науч.-практ. конф. «Перспективные направления медицины будущего». - Дубна, 2022. - С. 54.

248. Слободова, Д.А. Изучение неоднородности пектиновых полисахаридов методом комбинированого фракционирования / Д.А. Слободова, Р.М. Горшкова, С.А. Панков, А.В. Басалаев, Н.П. Новоселов // Материалы XIX Международной научно-практической конференции «Новые полимерные композиционные материалы Микитаевские чтения». - Нальчик, 2023. - С. 378. 249. Goshkova, R. Cryophylactic Solution Based on Pectic Oligosaccharides for the Creation of New Dosage Forms / R. Gorshkova, D. Slobodova, N. Novoselov, S. Pankov // Key Engineering Materials. - 2021. - Vol. 899. - P. 585-598.

250. Горшкова, Р.М. Получение, физико-химические и медико-биологические свойства пектиновых олиго- и полисахаридов /Р.М. Горшкова, Д.А. Слободова, Б.С. Ёрова, Д.Х. Халиков, Е.Ф. Панарин // Материалы VIII конференции с международным участием «Новые достижения в химии и химической технологии растительного сырья». - Барнаул, 2020. - С. 119-120.

251. Горшкова, Р.М. Криофилактические среды на основе пектиновых олигосахаридов для создания новых лекарственных препаратов / Р.М. Горшкова, Д.А. Слободова, Н.П. Новоселов // XVII Международная научно-практическая конференция «Новые полимерные композиционные материалы Микитаевские чтения» «Modern problems of polymer science». - Эльбрус, 2021. - С. 64.

252. Слободова, Д.А. Перспективы применения криофилактических сред на основе пектиновых олигосахаридов при гипотермии / Д.А. Слободова Д.А., Р.М. Горшкова, Н.М. Захарова // Всероссийская конференция с международным участием «Теоретические и практические аспекты действия естественной и искусственной гипотермии на организм». - Махачкала, 2021. - С. 76-77.

253. Горшкова, Р.М. Инновационные лекарственные препараты на основе пектиновых олигосахаридов / Горшкова Р.М., Д.А. Слободова, Н.М. Комбарова, С.А. Панков // 5-я Российская конференция МедХим-Россия 2021. - Волгоград, 2021. - С. 142.

254. Слободова, Д.А. Некоторые аспекты практического применения криофилактических сред на основе олигосахаридов / Д.А. Слободова, Р.М. Горшкова, В.Ю. Елоховский, Е.Ф. Панарин, Н.П. Новоселов // «Вестник СПГУТД. Серия 1. Естественные и технические науки». - 2020. - № 3. - С. 91-97.

255. Горшкова, Р.М. Новые подходы к получению биополимеров и лекарственных средств со специальными свойствами на их основе / Р.М. Горшкова, Д.А. Слободова, П.П. Гладышев // Тезисы докладов XII Всероссийской научной конференции с международным участием и школой молодых ученых «Химия и технология растительных веществ». - Киров, 2022, - С. 44.

256. Инфузионные плазмозамещающие растворы на основе декстрана [Текст]: пат. 2794489 Рос. Федерация: МПК А61К 31/721, А61К 33/14, А61К 47/36, А61Р 7/08 Бояринцев В.В., Трофименко А.В., Кударов М.А., Фильков Г.И., Бирюков С.А., Антюфриева Д.А., Волкова М.В., Горшкова Р.М., Слободова Д.А., Рогов О.А., Шперлинг И.А., Крупин А.В., Шперлинг Н.В., Швец А.О., Матвеева Н.Н., Комягин С.Е.; заявитель и патентообладатель Российская Федерация, от имени которой выступает Министерство обороны Российской Федерации. - № 2021125045; заявл. 23.08.2021; опубл. 19.04.2023, Бюл. № 11.

257. Slobodov A. Hydrogel Composition Based on Biopolymers for Creation of Wound Coverings / A.Slobodov, R. Gorshkova, Dara Slobodova, Stanislav Pankov et all. // The 5th International Conference on Competitive Materials and Technology Processes: Book of Abstracts. - Miskolc, 2018. - P. 68.

258. Горшкова, Р.М. Мультиплексная иммунохроматографическая система для экспресс-диагностики острой сердечной недостаточности / Р.М. Горшкова, Д.А. Слободова, А.М. Бочек, Н.П. Новоселов, Панарин Е.Ф. // International Symposium on Innovative scientific conference «Integration and Integration of Science and Education» Dedicated to: «The year of Entrepreneurship, Innovative Ideas and Technological Support». - Tashkent, 2018. - P. 19-21.

259. Слободова, Д.А. Биополимерные дисперсионные системы для тканевых перевязочных материалов / Д.А. Слободова, Е.С. Абрамова, Р.М. Горшкова, С.А. Панков и др. // Материалы всероссийской научной конференции молодых ученых «Инновации молодежной науки». - Санкт-Петербург, 2019. - С. 145-146.

260. Горшкова, Р.М. Инновационные технологии получения биополимеров, а также лекарственных средств и медицинских изделий на их основе / Р.М. Горшкова, Д.А. Слободова, Н.П. Новосёлов // Международная научная конференция «Инновационные направления развития науки о полимерных волокнистых и композиционных материалах». - Санкт-Петербург, 2020. - С. 59.

261. Горшкова, Р.М. Углеродные волокна, модифицированные пектиновыми полисахаридами, для экстракорпоральной гемокоррекции / Р.М. Горшкова, Д.А. Слободова, Н.П. Новосёлов // Международная научная конференция «Инновационные направления развития науки о полимерных волокнистых и композиционных материалах». - Санкт-Петербург, 2020. - С. 60.

262. Слободова, Д.А. Гемостатический гидрогель на основе биополимерной матрицы / Д.А. Слободова, Р.М. Горшкова, П.П. Гладышев, Н.П. Новоселов // Proceedings of the 1st International Scientific and Practical Conference recent scientific investigation. - Oslo, 2020. - Р. 940.

263. Горшкова, Р.М. Создание инновационных лекарственных форм на основе биополимеров для применения в условиях гипотермии / Р.М. Горшкова, Д.А. Слободова, Н.М. Захарова // Всероссийская конференция с международным участием «Теоретические и практические аспекты действия естественной и искусственной гипотермии на организм». - Махачкала, 2021. - С. 73-74.

264. Слободова, Д.А. Инновационный подход к созданию систем доставки лекарственных веществ на основе биополимеров / Д.А. Слободова, Р.М. Горшкова, Я.В. Гаврилюк, С.А. Панков // 5-я Российская конференция МедХим-Россия. - Волгоград, 2021 г.- С.198.

265. Слободова, Д.А. Композиционные депо-материалы медико-биологического назначения с низкотемпературным фазовым переходом / Д.А Слободова., Р.М. Горшкова, С.А. Панков, Н.П. Новоселов // VII Междисциплинарная конференция «Молекулярные и Биологические аспекты Химии, Фармацевтики и Фармакологии». - Грозный, 2021. - С. 50.

266. Горшкова, Р.М. Ранозаживляющие гидрогелевые композиции на основе пектиновых полисахаридов / Р.М. Горшкова, Д.А. Слободова, С.А. Панков, К.Ф. Муродов, Н.П. Новоселов // VII Междисциплинарная конференция «Молекулярные и Биологические аспекты Химии, Фармацевтики и Фармакологии». - Грозный, 2021. - С.15.

267. Слободова, Д.А. Сорбенты на основе углеродных волокон, модифицированные пектиновыми полисахаридами / Д.А. Слободова, Р.М. Горшкова, Д.А. Харебина, Н.П. Новоселов, Д.Х. Халиков // The International Scientific Conference "Natural and Synthetic Polymers for Medical and Technical Purposes". - Minsk, 2022. - P. 78.

268. Слободова, Д.А. Инновационный метод получения полисахаридных стимулчувствительных субстанций / Д.А. Слободова, Р.М. Горшкова //

Материалы XVIII международной научно-практической конференции «Новые полимерные композиционные материалы Микитаевские чтения», приуроченной к 80-летию Абдулаха Касбулатовича Микитаева. - Нальчик, 2022 - С. 323.

269. Горшкова, Р.М. Новые лекарственные формы на основе пектиновых поли- и олигосахаридов / Р.М. Горшкова, Д.А. Слободова, С.А. Панков, Е.Ю. Белькова, А.В. Басалаев // Сборник материалов II Всероссийской науч.-практ. конф. «Перспективные направления медицины будущего». - Дубна, 2022. - С. 29.

270. Slobodova, D. Perspective of biopolymer matrices application as hemostatics / D. Slobodova, R. Gorshkova, N. Novoselov // Proceedings of the 8th International Scientific and Practical Conference science and practice: implementation to modern society. - Manchester, 2020. - P. 1288.

271. Gorshkova, R. Biopolymer Dispersion Systems for Bound Materials / R. Gorshkova, D. Slobodova, S. Pankov et all. // The 5th International Conference on Competitive Materials and Technology Processes: Book of Abstracts. - Miskolc, 2018, P. 71.

272. Gorshkova, R.M. Multiplexed Immunochromatographic Test-System for Rapid Diagnosis of Acute Heart Failure / R.M. Gorshkova, D.A. Slobodova, N.P. Novoselov, P.P. Gladyshev // Fibre Chemistry. - 2020. - Vol. 52 - P. 247–250.

273. Slobodova, D. Perspective of Multiplex Assay / D. Slobodova, R. Gorshkova, P. Gladyshev // The 5th International Conference on Competitive Materials and Technology Processes: Book of Abstracts. - Miskolc, 2018. - P. 72.

274. Gorshkova, R.M. Metal and toxin-binding ability of pectin polysaccharides obtained by the method of combined fractionation / R.M. Gorshkova, D.A. Slobodova, N.P. Novoselov, E.F. Panarin // Book of abstracts. The Fifth International Scientific Conference «Advances in Synthesis and Complexing». Volume 2. - Moscow, 2019. - P. 126.

275. Горшкова, Р.М. Сорбционные и протекторные свойства водорастворимых и водонабухающих пектиновых полисахаридов, полученных методом комбинированного фракционирования / Р.М. Горшкова, Д.А. Слободова, Е.Ф. Панарин // Тезисы VI Всероссийской конференции с международным участием «Техническая химия. От теории к практике», посвященной 85-летию со дня рождения чл.-корр. РАН Ю.С. Клячкина. - Пермь, 2019. - С. 25.
276. Слободова, Д.А Инновационный подход к получению энтеросорбентов на основе пектиновых полисахаридов / Д.А. Слободова, Р.М. Горшкова, М.В. Валиев, Д.Х. Халиков, Н.П. Новоселов // Материалы всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Современные достижения химической технологии в производстве текстиля, синтеза и применения химических продуктов и красителей», посвященная 185-летию кафедры химических технологий им. проф. А.А. Хархарова СПГУПТД. -Санкт-Петербург, 2019. - С. 69.

277. Горшкова, Р.М. Энтеросорбенты на основе пектиновых полисахаридов для терапии заболеваний гепатобилиарной системы / Р.М. Горшкова, Д.А. Слободова, И.Ф. Рахимов, Д.Х. Халиков Н.П. Новоселов // Материалы XVIII международной научно-практической конференции «Новые полимерные композиционные материалы Микитаевские чтения», приуроченной к 80летию Абдулаха Касбулатовича Микитаева. - Нальчик, 2022. - С. 101.

278. Горшкова, Р.М. Кинетико-термодинамические закономерности сорбции ионов тяжелых металлов и токсинов пектиновыми полисахаридами, полученными методом комбинированного фракционирования / Р.М. Горшкова, Д.А. Слободова, С.А. Панков, Е.Ю. Белькова, Н.П. Новоселов// Материалы XIX Международной научно-практической конференции «Новые полимерные композиционные материалы Микитаевские чтения». - Нальчик, 2023 - С. 115.

279. Слободова, Д.А. Термодинамика сорбционных процессов в сорбентах на основе пектиновых полисахаридов / Д.А. Слободова, Р.М. Горшкова, П.П. Гладышев // Химические волокна. - 2023. - № 5. - С. 18-26.

280. Tellez-Plaza, M. Cadmium Exposure and Clinical Cardiovascular Disease: A Systematic Review / M. Tellez-Plaza, M. R. Jones, A. Dominguez-Lucas, E. Guallar, A. Navas-Acien // Current Atherosclerosis Reports. - 2013. - Vol. 15(10). - P. 1-22.

281. Митциев, К.Г. Гемодинамические эффекты хронической кадмиевой интоксикации в условиях измененного кальциевого гомеостазиса / К.Г. Митциев, В.Б. Брин, А.К. Митциев // Кубанский научный медицинский вестник. - 2013. - Т. 5.- С.142-145.

282. Aharthi, W. Selenium and L-Carnitine Ameliorate Reproductive Toxicity Induced by Cadmium in Male Mice / W. Aharthi, R. Z. Hamza, M. M. Elmahdi, H. S. Abuelzahab, H. E. Saleh // Biological Trace Element Research. - 2019. - Vol. 1. - №1. - P. 1-8.

283. ElSafty, I.A.M. Effects of smoking and lead exposure on proximal tubular integrity among Egyptian industrial workers / I.A.M ElSafty, A.M.H. Afifi, A. E. Shouman, A.K.R ElSady. // Archives of Medical Research. - 2004. - Vol. 35. - №1. - P. 59-65.

284. Poirier, L.A. The prospective role of abnormal methyl metabolism in cadmium toxicity / L.A. Poirier, T.I. Vlasova // Environmental Health Perspectives. - 2002. - V.110. -№5. - P. 793-795.

285. Schiewer, S. Modeling the effect of pH on biosorption of heavy metals by citrus peels / S. Schiewer, S. Patil // Journal of Hazardous Materials. - 2008 - Vol. 157. - P. 8-17.

286. Hawari, A. Equilibrium and thermodynamic analysis of zinc ions adsorption by olive oil mill solid residues / A. Hawari, Z. Rawajfih, N. Nsour // Journal of Hazardous Materials. - 2009. - Vol. 168. - P. 1284-1289.

287. Romantsova, I.V. Liquid-phase adsorption of an organic dye on nonmodified and nanomodified activated carbons: equilibrium and kinetic analysis / I.V. Romantsova, A.E. Burakov, A.E. Kucherova, E.A. Neskoromnaya, A.V. Babkin, A.G. Tkachev // Advanced Materials Technologies. - 2016. - Vol. 1. - P. 42-48.

288. Petrova, Y.S. Dynamics of the sorption of copper (II) and silver (I) by materials based on sulfoethylchitosan with various degrees of crosslinking / Y.S Petrova, A.V. Pestov, L.M. Alifkhanova, L.K. Neudachina // Russian Journal of. Physical Chemistry A. - 2017. - Vol. 91. - $N_{2}4$. - P. 766-770.

289. Parab, H. Determination of kinetic and equilibrium parameters of the batch adsorption of Co (II), Cr(III) and Ni(II) onto coir pith / H. Parab, S. Joshi, N. Shenoy, A. Lali, U, Sarma, M. Sudersanan // Process Biochem. - 2006. - Vol. 41. - №3. - P. 609-615.

290. Ngah, W.S. Biosorption of copper ions from dilute aqueous solutions on base treated rubber (Hevea brasiliensis) leaf powder: kinetics, isoterm, and biosorption mechanisms / W.S. Ngah, M.A. Hanafiah // Journal of Environmental Science. -2008. - Vol. 20. - №10. - P. 1168-1176.

291. Koksharov, S.A. Description of adsorption interactions of lead ions with functional groups of pectin-containing substances / S.A. Koksharov, S.V. Aleeva, O.V. Lepilova // Journal of Molecular Liquids. - 2019. - Vol. 283. - P. 606-616.

292. Ho, Y.S. Citation review of Lagergren kinetic rate equation on adsorption reactions / Y.S. Ho // Scientometrics. - 2004. - Vol. 59. - P. 171-177.

293. Ho, Y.S. Kinetics of pollutant sorption by biosorbents: review / Y.S. Ho, J.C. Ng, G. McKay // Separation and Purification Methods. - 2000. - Vol. 29. - №2. - P. 189-232.

294. Douven, S. The range of validity of sorption kinetic models / S. Douven, C. Paez, C. Gommes // J. Colloid Interface Science. - 2015. - Vol. 448. - P. 437-450.

295. Jakobik-Kolon, A. Hybrid pectin-based biosorbents for zinc ions removal / A. Jakobik-Kolon, J. Bok-Badura, K. Karon, K. Mitko, A. Milewski // Carbohydrate Polymers. - 2017. - Vol. 169. - P. 213-219.

296. Jakobik-Kolon, A. Zinc sorption studies on pectin-based biosorbents / A. Jakobik-Kolon, K. Mitko, J. Bok-Badura // Materials. - 2017. - Vol. 10. - P. 844.

297. Boyd, G.E. The exchange adsorption of ions from aqueous solutions by organic zeolites. II. Kinetics / G.E. Boyd, A.W. Adamson, L.S. Myers // Journal of the American Chemical Society. - 1947. - Vol. 69. - I. 10. - P. 2836-2848.

298. Полянский, Н.Г., Горбунов Г.В., Полянская Н.Л. Методы исследования ионитов / Н.Г. Полянский. - М.: Химия. - 1976. - С. 208.

299. Гельферих, Ф. Иониты: Основы ионного обмена / Ф. Гельферих. - М.: Изд-во иностр. лит-ры. - 1962. - с. 490.

ПРИЛОЖЕНИЕ А

(Справочное)

Таблина 1 – Моносаха	рилный состав фр	акний МГ Св. г	полученных пр	и КФр і	и Бфр.%
	F				

Variation	КΦр						Бфр					
V ЭГ, MJI	Rha	Glc	Ara	Man	Xyl	Gal	Rha	Glc	Ara	Man	Xyl	Gal
100	2,50	1,18	2,22	0,27	-	3,02	0,75	0,35	0,66	0,08	-	0,90
150	2,75	1,30	2,44	0,29	-	3,32	0,91	0,43	0,81	0,10	-	1,09
200	2,90	1,37	2,58	0,31	-	3,50	1,06	0,50	0,94	0,11	-	1,28
250	3,04	1,43	2,70	0,32	-	3,67	1,21	0,57	1,07	0,13	-	1,46
300	3,16	1,49	2,81	0,34	-	3,81	-	-	-	-	-	-
350	3,25	1,54	2,89	0,35	-	3,93	-	-	-	-	-	-

Таблица 2 – Моносахаридный состав фракций ПВ Св, полученных при КФр и Бфр,%

		КФр						Бфр				
Vэг, мл	Rha	Glc	Ara	Man	Xyl	Gal	Rha	Glc	Ara	Man	Xyl	Gal
50	4,95	2,34	4,40	0,53	-	5,98	3,82	1,80	3,40	0,41	-	4,62
100	4,86	2,30	4,32	0,52	-	5,87	3,79	1,79	3,37	0,40	-	4,59
150	4,51	2,13	4,01	0,48	-	5,45	4,10	1,93	3,64	0,44	-	4,95
200	3,88	1,83	3,45	0,41	-	4,69	3,39	1,60	3,01	0,36	-	4,09
250	3,06	1,44	2,72	0,33	-	3,69	2,74	1,29	2,44	0,29	-	3,31
300	3,32	1,57	2,95	0,35	-	4,01	2,48	1,17	2,20	0,26	-	2,99
350	3,51	1,66	3,12	0,37	-	4,24	2,19	1,04	1,95	0,23	-	2,65
400	3,58	1,69	3,18	0,38	-	4,33	1,75	0,83	1,56	0,19	-	2,12

Таблица 3 – Моносахаридный состав фракций ОС Св, полученных при КФр и Бфр,%

		КФр						Бфр				
Vэг, мл	Rha	Glc	Ara	Man	Xyl	Gal	Rha	Glc	Ara	Man	Xyl	Gal
50	18,72	8,84	16,64	1,99	-	22,62	17,88	8,45	15,9	1,90	-	21,61
100	18,40	8,69	16,36	1,96	-	22,23	17,86	8,43	15,88	1,90	-	21,58
150	18,37	8,67	16,32	1,96	-	22,19	18,03	8,51	16,02	1,92	-	21,78
200	18,04	8,52	16,04	1,92	-	21,80	18,17	8,58	16,15	1,93	-	21,95
250	18,23	8,61	16,21	1,94	I	22,03	18,33	8,66	16,29	1,95	-	22,15
300	17,40	8,22	15,47	1,85	I	21,03	18,16	8,57	16,14	1,93	-	21,94
350	18,20	8,59	16,17	1,94	-	21,99	18,43	8,70	16,38	1,96	-	22,27
400	19,30	9,11	17,16	2,06	-	23,32	18,61	8,79	16,54	1,98	-	22,49

Таблица 4 – Моносахаридный состав фракций МГ КП, полученных при КФр и Бфр,%

			Ko	₽p			Бфр					
Vэг, мл	Rha	Glc	Ara	Man	Xyl	Gal	Rha	Glc	Ara	Man	Xyl	Gal
50	-	-	-	-	-	-	1,59	1,03	0,23	0,60	0,11	0,50
100	9,61	6,23	1,38	3,63	0,66	3,04	1,67	1,08	0,24	0,63	0,11	0,53
150	3,49	2,26	0,50	1,32	0,24	1,10	1,70	1,10	0,24	0,64	0,12	0,54
200	7,60	4,93	1,09	2,87	0,52	2,41	1,85	1,20	0,26	0,70	0,13	0,59
250	8,79	5,70	1,26	3,32	0,60	2,79	-	-	-	-	-	-

		КФр						Бфр				
Vэг, мл	Rha	Glc	Ara	Man	Xyl	Gal	Rha	Glc	Ara	Man	Xyl	Gal
50	28,42	7,87	6,26	-	1,65	5,88	17,88	4,95	3,94	-	1,04	3,70
100	19,30	5,34	4,25	-	1,12	3,99	17,19	4,76	3,79	-	1,00	3,56
150	15,12	4,19	3,33	-	0,88	3,13	17,40	4,82	3,83	-	1,01	3,60
200	10,39	2,88	2,29	-	0,60	2,15	17,38	4,81	3,83	-	1,01	3,59
250	8,38	2,32	1,85	-	0,49	1,73	6,74	1,87	1,49	-	0,39	1,39
300	9,41	2,60	2,07	-	0,55	1,95	6,44	1,78	1,42	-	0,37	1,33
350	12,75	3,53	2,81	-	0,74	2,64	6,55	1,81	1,44	-	0,38	1,35
400	16,97	4,70	3,74	-	0,98	3,51	6,36	1,76	1,40	-	0,37	1,32

Таблица 5 – Моносахаридный состав фракций ПВ КП, полученных при КФр и Бфр,%

Таблица 6 – Моносахаридный состав фракций ОС КП, полученных при КФр и Бфр,%

		КФр						Бфр				
Vэг, мл	Rha	Glc	Ara	Man	Xyl	Gal	Rha	Glc	Ara	Man	Xyl	Gal
50	38,40	10,63	8,46	-	2,23	7,94	34,06	9,43	7,50	-	1,98	7,05
100	37,65	10,42	8,29	-	2,19	7,79	34,41	9,52	7,58	-	2,000	7,12
150	37,44	10,36	8,25	-	2,17	7,74	35,12	9,72	7,74	-	2,04	7,26
200	36,81	10,19	8,11	-	2,14	7,61	35,59	9,85	7,84	-	2,07	7,36
250	36,13	1,00	7,96	-	2,10	7,47	35,82	9,92	7,89	-	2,08	7,41
300	35,33	9,78	7,78	-	2,05	7,31	36,44	10,09	8,03	-	2,12	7,54
350	37,20	10,30	8,19	-	2,16	7,69	36,28	10,04	7,99	-	2,11	7,50
400	37,61	10,41	8,28	-	2,18	7,78	35,95	9,95	7,92	-	2,09	7,44

<u>Таблица 7 – Физико-химические параметры фракций МГ Св, %</u>

V _{ЭГ} , мл		Температура, К						
		Ke	Þр			Бо	þp	
	333	348	358	368	373	393	403	413
			Галакт	уроновая ки	слота			
50	-	-	-	-	88,22	88,23	87,04	87,62
100	63,01	58,84	85,82	84,61	87,01	87,02	85,22	85,83
150	67,21	63,63	86,43	86,42	85,81	85,80	84,01	84,00
200	70,24	77,41	85,24	85,81	84,60	84,00	84,61	82,84
250	76,83	69,03	84,61	85,23	-	-	-	-
300	73,20	65,42	84,02	82,80	-	-	-	-
350	68,43	63,60	83,41	-	-	-	-	-
400	67,81	63,00	-	-	-	-	-	-
			Степе	нь этерифик	ации			
50	-	-	-	-	54,32	55,08	55,32	55,43
100	10,84	11,25	14,29	11,78	51,39	52,32	53,07	52,78
150	12,85	13,65	16,67	15,08	46,78	47,54	48,67	48,95
200	13,65	14,52	14,73	13,90	43,12	44,21	44,87	45,12
250	13,65	13,65	12,88	10,26	-	-	-	-
300	9,64	10,44	10,45	9,50	-	-	-	-
350	9,24	10,04	9,70	-	-	-	-	-
400	8,83	9,64	-	-	-	-	-	-
				Выход				
50	-	-	-	-	0,48	0,45	0,44	0,39
100	0,05	0,12	0,13	0,32	0,37	0,38	0,35	0,28
150	0,06	0,47	1,21	1,61	0,25	0,24	0,21	0,18
200	0,15	0,85	0,65	0,65	0,13	0,09	0,08	0,07
250	0,47	0,57	0,39	0,24	-	-	-	-
300	0,35	0,32	0,23	0,05	-	-	-	-
350	0,25	0,26	0,09	-	-	-	-	-
400	0,13	0,09	-	-	-	-	-	-

V _{ЭГ} , мл	Температура, К								
	222	K	Фр	2.00	070	Бо	þp	410	
	333	348	358	368	3/3	393	403	413	
50	40.22	41.41	Талак 76.91	туроновая кі	78 60	78.02	76.81	78.00	
100	57.61	58 84	70,81	49.23	79.24	78,02	78.63	79.83	
150	65.43	65.40	79.24	54.03	80.42	79.22	79.20	80.41	
200	73,81	74,41	82,22	61,20	82,81	85,84	82,84	82,84	
250	77,44	77,44	85,80	65,43	84,63	86,43	87,02	87,03	
300	80,42	80,43	84,61	60,62	85,24	85,21	85,81	85,82	
350	74,43	74,42	83,43	58,21	85,80	84,53	85,14	85,13	
400	64,21	64,80	82,24 Crow	<u> </u>	86,40	84,02	84,62	84,01	
50	26.05	27.09	23.08	ень этерифи 27 18	кации 41.51	41.30	41.12	40.56	
100	27.43	29.18	27.78	29.73	43.20	43.17	43.08	44.17	
150	28,48	30,22	30,77	31,66	46,82	46,56	46,58	46,14	
200	29,9	32,30	33,33	38,87	49,11	49,07	48,07	48,34	
250	35,44	36,48	39,02	37,92	54,41	54,29	53,87	53,13	
300	40,16	41,20	38,75	36,96	58,82	58,39	57,9	57,23	
350	40,16	40,16	37,66	34,12	64,33	64,13	65,87	62,78	
400	59,14	39,14	30,30	30,35 Buxon	00,90	00,25	00,05	03,78	
50	0.06	0.09	0.12	0.44	0.42	0.20	0.22	0.26	
100	0,11	0,28	0,27	0,73	1,97	0,64	0,60	0,66	
150	0,20	0,58	0,39	1,14	2,19	2,12	2,27	2,25	
200	0,29	1,07	1,21	1,95	2,44	2,68	2,67	2,69	
250	0,54	1,77	2,36	2,08	2,49	2,94	2,93	2,89	
300	1,10	1,81	2,53	2,15	2,61	3,14	3,09	3,10	
330	1,48	1,89	2,70	1,97	2,71 2.77	3,28	3,51	3,47	
-+00 Таблица 0	<u>1,70</u> Физико			1,95 TDU doaru		,47 Геля КП %	5,59	3,02	
	$-\Psi$ ISHKU	Тампаратира К							
		Va	Ър.	Темпер	атура, к	E	hn		
V	222	249	250	269	272	202	402	412	
у ЭГ, МЛ	555	540	Балак	300 Tupouopag w	373	373	403	415	
50			1 алак	Туроновая кі	00 01	00 22	97.61	88.20	
100	-	-	-	-	00,21 97.00	00,23 97.01	87,01	86,20 86,42	
100	55,74	66 57	03,51	00,55	87,00	87,01	80,45	00,43 95.22	
200	60,29	00,37 90.75	04,00 72.25	62,33	00,42 95 22	00,42	84.04	83,23 82,42	
200	62,37	80,75	12,23	69,89	83,25	02,01	84,04	03,42	
230	65,41	/1,31	00,70	07,57	-	-	-	-	
300	65,41	07,81	-	05,08	-	-	-	-	
350	61,43	00,57	-	-	-	-	-	-	
400	60,29	65,34	-	- 1	-	-	-	-	
50	[Степе	ень этерифи	кации	50.97	49.22	47.70	
50	-	-	-	-	51,32	50,87	48,32	47,79	
100	1/,80	18,52	29,27	38,89	49,6/	49,13	4/,/8	45,68	
150	21,17	22,49	38,82	49,79	48,76	47,34	45,65	43,98	
200	22,49	23,92	35,37	45,88	44,51	43,11	40,34	40,29	
250	22,49	22,49	26,19	33,88	-	-	-	-	
300	15,88	17,20	-	31,36	-	-	-	-	
350	15,21	16,54	-	-	-	-	-	-	
400	14,55	15,88	-		-	-	-	-	
				Выход					
50	-	-	-	-	2,83	2,67	2,58	2,31	
100	0,28	0,53	1,71	1,81	2,18	2,23	2,05	1,65	
150	0,34	1,97	8,55	10,43	1,50	1,39	1,24	1,08	
200	0,86	4,91	4,53	5,72	0,74	0,54	0,49	0,44	
250	2,77	3,16	1,01	1,74	-	-	-	-	
300	2,06	1,49	-	0,37	-	-	-	-	
350	1,46	0,93	-	-	-	-	-	-	
400	0.74	0.52	_	_	_	-	-	-	

Таблица 8 – Физико-химические параметры фракций ПВ Св, %

V∋г, мл	Температура, К							
		К	Фр			Бо	þp	
	333	348	358	368	373	393	403	413
			Галак	туроновая к	ислота			
50	33,91	39,32	43,63	43,05	61,22	60,62	59,41	61,82
100	48,26	56,52	60,08	59,51	63,00	61,24	61,24	63,03
150	54,85	62,66	67,95	65,84	63,60	63,02	61,82	64,82
200	61,56	71,27	77,25	74,71	64,83	65,42	64,81	65,44
250	64,63	74,95	81,54	78,5	84,64	82,21	83,44	83,43
300	66,6	76,18	79,4	74,71	83,42	81,02	82,83	82,23
350	61,74	71,27	72,96	69,64	82,81	80,43	81,62	81,62
400	53,47	61,44	64,38	62,04	82,23	79,22	79,81	79,21
			Степе	ень этерифи	кации			
50	26,29	27,34	28,74	56,78	39,71	39,43	39,06	39,89
100	26,84	28,55	30,59	62,12	41,23	41,71	42,34	43,98
150	27,44	29,12	32,14	66,14	43,74	43,87	44,56	45,54
200	29,82	32,23	42,7	81,21	49,31	48,67	49,57	50,34
250	35,02	36,02	44,19	79,22	53,51	49,34	52,34	51,89
300	40,08	41,11	43,68	77,24	58,22	56,21	57,46	60,67
350	39,55	39,55	38,1	71,29	62,80	61,65	60,34	63,48
400	39,00	39,02	34,48	63,38	65,71	62,23	64,38	65,46
				Выход				
50	0,09	0,19	0,25	0,24	0,41	0,20	0,22	0,26
100	0,17	0,36	0,35	0,36	1,94	0,63	0,59	0,65
150	0,31	0,55	0,39	0,74	2,15	2,08	2,23	2,21
200	0,45	1,54	2,19	1,89	2,40	2,63	2,62	2,65
250	0,83	2,73	2,89	1,92	2,45	2,89	2,88	2,84
300	1,69	3,32	3,10	2,15	2,57	3,09	3,04	3,05
350	2,27	3,69	3,30	2,21	2,66	3,22	3,25	3,41
400	2,70	3,92	3,49	2,13	2,73	3,41	3,53	3,56

Таблица 10 – Физико-химические параметры фракций ПВ КП, %

Таблица 11 – Параметры кинетического уравнения (10) распада ПП Св и ПП КП в диапазоне температур 333 К – 368 К

Т, К	Уравнение корреляции	\mathbb{R}^2	β	k
	Св			
333	Z=0,8364Y+0,0015	0,9992	-1,1738	0,1996
348	Z=0,8831Y+0,0023	0,9995	-1,1324	0,3086
358	Z=0,8615Y+0,005	0,9993	-1,1348	0,4841
368	Z=0,8812Y+0,0035	0,9993	-1,1608	0,7271
	КП			
333	Z=0,862Y+0,003	0,9995	-1,1601	0,3945
348	Z=0,8642Y+0,0085	0,9984	-1,1571	1,1652
358	Z=0,8042Y+0,0201	0,9983	-1,2435	3,0461
368	Z=0,7713Y+0,0214	0,9972	-1,2965	3,4758

Таблица 12 –	араметры кинетического уравнения (10) распада ПП Св и ПП КП в
диапазоне температ	373 K – 413 K

Т, К	Уравнение корреляции	\mathbb{R}^2	β	k				
	Св							
373	Z=0,9019Y+0,0044	0,9998	-1,1738	0,1996				
393	Z=1,0409Y+0,0045	0,9997	-1,1324	0,3086				
403	Z=1,0348Y+0,0045	0,9996	-1,1348	0,4841				
413	Z=1,0266Y+0,0046	0,9996	-1,1608	0,7271				
	КП							
373	Z=0,8671Y+0,0099	0,9999	-1,1533	0,0621				
393	Z = 0.8584Y + 0.0088	1,0000	-1,1650	0,0730				
403	Z=0,8654Y+0,009	1,0000	-1,1555	0,0778				
413	Z=0,8884Y+0,0088	0,9999	-1,1256	0,0823				

V	С1, г/дл	С2, г/дл	С ₃ , г/дл	С4, г/дл	С5, г/дл	[η]	К	1/[η],
элюата-								г/дл
гидро-								
лизата,								
МЛ								
		-		ПВ				
50	0,179	0,148	0,110	0,072	0,036	0,78	4,225	1,282
100	0,178	0,147	0,109	0,072	0,036	1,00	2,763	1,000
150	0,177	0,146	0,108	0,071	0,035	1,50	1,638	0,667
200	0,177	0,147	0,109	0,072	0,035	2,30	1,075	0,435
250	0,176	0,146	0,108	0,071	0,035	2,60	1,078	0,385
300	0,176	0,145	0,108	0,071	0,035	2,40	1,107	0,417
350	0,176	0,146	0,108	0,071	0,035	1,85	1,269	0,541
400	0,177	0,147	0,109	0,072	0,035	1,32	1,838	0,758
Исх.	0,175	0,144	0,107	0,071	0,035	1,70	1,428	0,588
				МΓ				
100	0,098	0,080	0,060	0,039	0,019	2,4	2,930	0,417
150	0,098	0,081	0,060	0,040	0,020	5,5	0,978	0,182
200	0,097	0,080	0,060	0,039	0,019	4,9	1,260	0,204
250	0,097	0,080	0,060	0,039	0,019	3,8	1,785	0,263
300	0,098	0,081	0,060	0,040	0,020	3,2	1,987	0,313
350	0,099	0,081	0,060	0,040	0,020	2,7	2,453	0,370
Исх.	0,097	0,080	0,059	0,039	0,019	3,7	1,602	0,270

Таблица 13 – Параметры уравнения Хаггинса и критерии разбавленности растворов фракций пектиновых веществ и микрогеля свеклы

Таблица 14 – Параметры уравнения Хаггинса и критерии разбавленности растворов фракций пектиновых веществ и микрогеля подсолнечника

V	С1, г/дл	С2, г/дл	С ₃ , г/дл	С4, г/дл	С ₅ , г/дл	[ŋ]	К	1/[η], г/дл
элюата-								
гидро-								
лизата,								
МЛ								
				ПВ				-
50	0,177	0,147	0,109	0,072	0,035	0,73	3,192	1,370
100	0,177	0,146	0,108	0,071	0,035	0,82	2,526	1,220
150	0,175	0,144	0,107	0,071	0,035	1,12	1,439	0,893
200	0,177	0,147	0,109	0,072	0,035	1,63	0,989	0,613
250	0,177	0,147	0,109	0,072	0,035	1,88	0,728	0,532
300	0,177	0,146	0,109	0,072	0,035	1,78	0,845	0,562
350	0,175	0,145	0,108	0,071	0,035	1,68	0,950	0,595
400	0,177	0,146	0,108	0,071	0,035	1,28	1,059	0,781
Исх.	0,177	0,146	0,109	0,072	0,035	1,34	1,378	0,746
				МΓ				
100	0,099	0,082	0,061	0,040	0,020	2,52	1,776	0,397
150	0,098	0,081	0,060	0,040	0,020	6,10	0,799	0,164
200	0,098	0,081	0,060	0,040	0,020	5,25	1,014	0,190
250	0,098	0,081	0,060	0,040	0,020	3,90	1,523	0,256
Исх.	0,095	0,078	0,058	0,038	0,019	4,40	1,504	0,227



Рисунок 1 - Зависимость вязкости раствора пектиновых веществ (а) и олигосахаридов (б) от скорости деформации в режимах её снижения (Down) и роста (Top).



Рисунок 2 - Зависимость напряжения сдвига раствора пектиновых веществ (а) и олигосахаридов (б) от скорости деформации в режимах её снижения (Down) и роста (Top).



Рисунок 3 - Зависимость вязкости раствора пектиновых веществ от температуры при постоянной скорости деформации (1 с⁻¹). Линии – расчет по Аррениусу.







Рисунок 5 - Изотермы сорбции ионов кадмия фракциями МГ (а) и ПВ (б) свеклы.

а





Ofmanau	Урав	нение Лэнг	мюра	Уравнение Фрейндлиха		
Образец	b	$q_{max}, M\Gamma/\Gamma$	\mathbb{R}^2	KF	n	\mathbb{R}^2
ПВ-Пмл-1ф	0,0058	172,41	0,9978	3,91	1,77	0,9616
ПВ-Пмл-2ф	0,0083	169,49	0,9965	6,14	1,97	0,9739
ПВ-Пмл-3ф	0,0086	181,82	0,9946	6,57	1,96	0,9772
ПВ-Пмл-4ф	0,0084	188,68	0,9939	6,43	1,92	0,9774
ПВ-Пмл-5ф	0,0071	181,82	0,9941	5,41	1,87	0,9774
ПВ-Пмл-6ф	0,0069	181,82	0,9934	5,36	1,87	0,9788
ПВ-Пмл-7ф	0,0070	169,49	0,9947	5,19	1,90	0,9721
ПВ-Пмл-8ф	0,0081	131,58	0,9963	5,60	2,13	0,9712
ПВ-Пмл-исх.	0,0095	105,26	0,9929	6,57	2,49	0,9859

Таблица 15 – Коэффициенты связывания ионов кадмия фракциями ПВ Пмл

Образец	Уравнение Лэнгмюра			Уравнение Фрейндлиха		
	b	q_{max} , мг/г	\mathbb{R}^2	KF	n	\mathbb{R}^2
МГ-Св-2ф	0,0047	384,62	0,9900	7,11	1,70	0,9760
МГ-Св-3ф	0,0052	454,55	0,9920	7,76	1,62	0,9788
МГ-Св-4ф	0,0049	454,55	0,9924	7,46	1,62	0,9765
МГ-Св-5ф	0,0049	434,78	0,9934	7,26	1,62	0,9781
МГ-Св-6ф	0,0045	454,55	0,9934	6,90	1,61	0,9813
МГ-Св-7ф	0,0050	416,67	0,9932	7,58	1,67	0,9779
МГ-Св-исх.	0,0025	400,00	0,9935	6,79	1,65	0,9735

Таблица 16 – Коэффициенты связывания ионов кадмия фракциями МГ Св

Таблица 17 – Коэффициенты связывания ионов кадмия фракциями ПВ Св

Образец	Уравне	Уравнение Лэнгмюра			Уравнение Фрейндлиха		
	b	q_{max} , мг/г	\mathbb{R}^2	KF	n	\mathbb{R}^2	
ПВ-Св-1ф	0,0056	400,00	0,9979	7,08	1,63	0,9692	
ПВ-Св-2ф	0,0062	416,67	0,9965	9,44	1,74	0,9764	
ПВ-Св-3ф	0,0064	416,67	0,9952	9,67	1,74	0,9707	
ПВ-Св-4ф	0,0065	416,67	0,9960	9,76	1,74	0,9788	
ПВ-Св-5ф	0,0065	416,67	0,9959	9,70	1,73	0,9790	
ПВ-Св-6ф	0,0065	416,67	0,9945	10,00	1,76	0,9772	
ПВ-Св-7ф	0,0056	416,67	0,9990	7,89	1,66	0,9716	
ПВ-Св-8ф	0,0057	370,37	0,9985	7,93	1,72	0,9726	
ПВ-Св-исх.	0,0027	370,37	0,9973	7,91	1,74	0,9735	

Таблица 18 – Коэффициенты связывания ионов кадмия фракциями МГ КП

Образец	Уравнение Лэнгмюра			Уравнение Фрейндлиха		
	b	$q_{max}, M\Gamma/\Gamma$	\mathbb{R}^2	KF	n	\mathbf{R}^2
МГ-КП-2ф	0,0069	172,41	0,9945	5,16	1,89	0,9733
МГ-КП-3ф	0,0077	285,71	0,9949	5,67	1,57	0,9742
МГ-КП-4ф	0,0086	181,82	0,9946	6,57	1,96	0,9772
МГ-КП-5ф	0,0074	175,44	0,9943	5,48	1,89	0,9745
МГ-КП-исх.	0,0062	161,29	0,9949	5,47	1,97	0,9748

Таблица 19 – Коэффициенты связывания ионов кадмия фракциями ПВ КП

Образец	Уравне	Уравнение Лэнгмюра			Уравнение Фрейндлиха		
-	b	$q_{max}, M\Gamma/\Gamma$	\mathbb{R}^2	KF	n	\mathbb{R}^2	
ПВ-КП-1ф	0,0041	204,08	0,9905	5,29	1,95	0,9845	
ПВ-КП-2ф	0,0050	285,71	0,9917	7,48	1,90	0,9842	
ПВ-КП-3ф	0,0067	312,50	0,9978	9,52	1,92	0,9703	
ПВ-КП-4ф	0,0066	333,33	0,9966	9,70	1,89	0,9740	
ПВ-КП-5ф	0,0066	344,83	0,9964	9,86	1,87	0,9712	
ПВ-КП-6ф	0,0064	333,33	0,9967	9,20	1,85	0,9759	
ПВ-КП-7ф	0,0065	322,58	0,9972	9,40	1,89	0,9747	
ПВ-КП-8ф	0,0064	277,78	0,9961	9,04	1,98	0,9735	
ПВ-КП-исх.	0,0037	270,27	0,9908	7,99	1,98	0,9856	

			$\Delta { m G}^{ m o},$ кДж/моль				
Образец	∆Н°, кДж/моль	ΔS°, Дж∕моль∙К	Т, К				
			298	303	313	318	
ПВ-Пмл-1ф	-21,78	-30,31	-12,74	-12,59	-12,29	-12,13	
ПВ-Пмл-2ф	-26,24	-44,46	-12,98	-12,76	-12,31	-12,09	
ПВ-Пмл-3ф	-28,17	-49,96	-13,27	-13,02	-12,52	-12,27	
ПВ-Пмл-4ф	-28,38	-50,19	-13,42	-13,17	-12,67	-12,42	
ПВ-Пмл-5ф	-25,56	-41,45	-13,20	-12,99	-12,58	-12,37	
ПВ-Пмл-6ф	-25,18	-40,37	-13,14	-12,94	-12,54	-12,34	
ПВ-Пмл-7ф	-21,88	-29,99	-12,94	-12,79	-12,49	-12,34	
ПВ-Пмл-8ф	-17,88	-19,97	-11,93	-11,83	-11,63	-11,53	
ПВ-Пмл-исх	-20,41	-30,83	-11,22	-11,06	-10,75	-10,60	

Таблица 20 - Термодинамические параметры сорбции ионов кадмия фракциями ПВ Пмл



Рисунок 7 - Зависимость сорбционной ёмкости фракций МГ (а) и ПВ (б) свеклы по отношению к ионам кадмия от времени.



Рисунок 8 - Зависимость сорбционной ёмкости фракций МГ (а) и ПВ (б) КП по отношению к ионам кадмия от времени.

Таблица 21 - Кинетические параметры диффузионной кинетики ионов кадмия изолированными фракциями ПВ Пмл (модель Бойда-Адамсона)

Образец	k _{d1} , см ² /мин	R ²	k _{d2} , см ² /мин	R ²
ПВ-Пмл-1ф	0,0419	0,9992	0,0372	0,9967
ПВ-Пмл-2ф	0,0423	0,9993	0,0389	0,9954
ПВ-Пмл-3ф	0,0439	0,9989	0,0419	0,9961
ПВ-Пмл-4ф	0,0414	0,9982	0,0351	0,9958
ПВ-Пмл-5ф	0,0439	0,9989	0,0412	0,9915
ПВ-Пмл-6ф	0,0460	0,9979	0,0418	0,9949
ПВ-Пмл-7ф	0,0423	0,9993	0,0412	0,9958
ПВ-Пмл-8ф	0,0393	0,9964	0,0326	0,9952
ПВ-Пмл-исх	0,0385	0,9939	0,0271	0,9943

Образец	k _{d1} , мг·г ⁻¹ ·мин ^{-1/2}	С1, мг/г	\mathbb{R}^2	k _{d2} , мг·г ⁻¹ ·мин ^{-1/2}	С2, мг/г	\mathbb{R}^2
ПВ-Пмл-1ф	0,1513	0,1129	0,9993	0,0549	0,4863	0,9918
ПВ-Пмл-2ф	0,1246	0,1730	0,9943	0,0499	0,4391	0,9918
ПВ-Пмл-3ф	0,1471	0,1029	0,9993	0,0728	0,3606	0,9999
ПВ-Пмл-4ф	0,1222	0,0052	1,0000	0,0918	0,1939	0,9999
ПВ-Пмл-5ф	0,1565	0,1154	0,9943	0,0864	0,2461	0,9992
ПВ-Пмл-6ф	0,1156	0,0379	0,9999	0,0527	0,4759	0,9996
ПВ-Пмл-7ф	0,1214	0,1507	0,9943	0,0490	0,4479	0,9918
ПВ-Пмл-8ф	0,1451	0,0879	0,9993	0,0526	0,5072	0,9918
ПВ-Пмл-исх	0,1656	0,1754	0,9943	0,0502	0,5413	0,9918

Таблица 22 - Кинетические параметры диффузионной кинетики ионов кадмия изолированными фракциями пектиновых веществ помело (модель Морриса-Вебера)

Таблица 23 – Параметры обработки кинетических моделей сорбции ионов кадмия фракциями пектиновых веществ помело

	Уравнение п	тсевдо-перво	ого	Уравнение псевдо-второго			
Ofmanau	порядка			порядка			
Ооразец	q _p , мг/г	k ₁ 10 ⁻² , мин ⁻¹	R ²	q_p , мг/г	k₂ 10 ⁵ , г/мг мин	\mathbb{R}^2	
ПВ-Пмл-1ф	138,71	4,16	0,9993	169,49	2,35	0,9977	
ПВ-Пмл-2ф	143,71	4,20	0,9993	175,44	2,69	0,9976	
ПВ-Пмл-3ф	153,13	4,33	0,9983	188,68	3,27	0,9957	
ПВ-Пмл-4ф	165,10	4,18	0,9985	192,31	3,53	0,9985	
ПВ-Пмл-5ф	152,56	4,32	0,9984	188,68	3,05	0,9945	
ПВ-Пмл-6ф	152,46	4,46	0,9954	188,68	3,05	0,9940	
ПВ-Пмл-7ф	142,69	4,20	0,9993	172,41	2,48	0,9971	
ПВ-Пмл-8ф	112,69	3,94	0,9975	135,14	1,25	0,9982	
ПВ-Пмл-исх.	107,90	3,89	0,9955	119,05	0,61	0,9962	



Рисунок 9 - Сорбционная ёмкость фракций МГ (а) и ПВ (б) свеклы по отношению к ионам: 1 – кадмия (основная ось), 2 – свинца (вспомогательная ось).



Рисунок 10 - Сорбционная ёмкость фракций МГ (а) и ПВ (б) корзинки подсолнечника по отношению к ионам: 1 –кадмия (основная ось), 2 – свинца (вспомогательная ось).



Рисунок 11 - Зависимость величины сорбционной емкости фракций ПП свеклы по отношению к ионам кадмия (а) и свинца (б) от концентрации свободных звеньев ГК (1 – МГ (основная ось); 2 – ПВ (вспомогательная ось).



Рисунок 12 - Зависимость величины сорбционной емкости фракций ПП КП по отношению к ионам кадмия (а) и свинца (б) от концентрации свободных звеньев ГК (1 – МГ (основная ось); 2 – ПВ (вспомогательная ось).

ПРИЛОЖЕНИЕ Б



Общество с ограниченной ответственностью «МЕЗОН» 141983, Московская область, г. Дубна, ул. Программистов, д. 4с3 офис 206 р/сч. № 40702810140080002244 ПАО Сбербанк г. Москва к/сч. № 3010181040000000225, БИК 044525225 ИНН 5010036710 КПП 501001001 mezon-dubna.com

info@mezon-dubna.com

РЖДАЮ» ектора ПО КОМ 11MM 000 **BOH**» "ME30 BE 022 г.

АКТ о внедрении результатов диссертационной работы

Мы, нижеподписавшиеся, начальник производства Панков С.А., начальник ОТК Белькова Е.Ю., ведущий технолог Басалаев А.В. и соискатель Слободова Д.А. составили настоящий акт о том, что научные и практические результаты диссертационной работы Слободовой Д.А. на тему: «Физикохимические свойства функциональных пектиновых полисахаридов и продуктов на их основе», представленной на соискание ученой степени кандидата технических наук по специальности 1.4.4 – Физическая химия (химические науки), использованы в производственной деятельности ООО «МЕЗОН» при получении жидкого медицинского протопектина в виде безалкогольного натурального пектинсодержащего напитка «ТеЗиС», а также линейки пищевых пектинов в порошкообразной форме мощностью 240 тонн в год.

Медицинский протопектин

Исходным сырьем для получения напитков «ТеЗиС» являются свежие натуральные фрукты, овощи и ягоды. Процесс производства напитков исключает применение химических реагентов. В качестве гидролизующего агента используется высокоочищенная вода.

Процесс представляет двухстадийную гидролиз-экстракцию пектинсодержащего плодоовощного сырья, основанную на «зелёном» гидролизе сырья одного вида и его продолжении при добавлении второго вида сырья. Сырье для второй стадии подбирается с учетом возникновения эффекта

синергизма, способного завершить процесс «зелёной» экстракции без потерь целевых продуктов.

2

Инновационный метод производства позволил получить низкоэтерифицированный жидкий комбинированный пектин.

Напитки «ТеЗиС» представлены в 3-х линейках комбинированного пектина:

- ТеЗиС А – Абсолют - яблочно-цитрусовый пектин.

- ТеЗиС Б – Баланс бананово-цитрусовый пектин

- ТеЗиС Т – Тонус тыквенно-цитрусовый пектин

Таблица 1 – Состав пектиновых напитков «ТеЗиС»

Наименование	Исходица	Coorer Theorem		
полисто	ИСХОДНЫЕ	Состав продукта		
продукта	компоненты	(оутылка 200 мл)		
ТезиС А – Абсолют	вода, яблоки,	Клетчатка: не менее 4,8 г		
в ассортименте	апельсины, лимоны,	Пектиновые вещества: не		
	стабилизатор вкуса	менее 5,0 г		
	(лимонная кислота)	Пектиновые олигосахариды: не		
		менее 6,2 г		
		Витамины: не менее 104,94 мг		
		Макроэлементы: не менее		
		460,38 мг		
		Микроэлементы: не менее		
		641,00 мг		
ТеЗиС Б – Баланс в	вода, бананы,	Клетчатка: не менее 3,6 г		
ассортименте	апельсины, лимоны,	Пектиновые вещества: не		
	стабилизатор вкуса	менее 4,0 г		
	(лимонная кислота)	Пектиновые олигосахариды: не		
		менее 8,4 г		
	Sec. 1.	Витамины: не менее 111,32 мг		
a		Макроэлементы: не менее		
		540,38 мг		
and the second		Микроэлементы: не менее		
Caleforni Ma		1610,00 мг		
ТеЗиС Т – Тонус в	вода, тыква,	Клетчатка: не менее 4,2 г		
ассортименте	апельсины, лимоны,	Пектиновые вещества: не		
	стабилизатор вкуса	менее 4,5 г		
and the second second	(лимонная кислота)	Пектиновые олигосахариды: не		
		менее 7,3 г		
and the second of		Витамины: не менее 89,28 мг		
		Макроэлементы: не менее		
		394,78 мг		
		Микроэлементы: не менее		
		162,00 мг		

Таблица 2 - Физико-химические параметры пектиновых веществ, содержащихся в напитках «ТеЗиС»

3

	ГК, %	СЭ, %	Mw∙e⁻³, kD
ТеЗиС А – Абсолют в ассортименте	76,0-80,0	26,0 - 38,0	140,0 - 160,0
ТеЗиС Б – Баланс в ассортименте	74,0-78,0	36,0-42,0	100,0 - 120,0
ТеЗиС Т – Тонус в ассортименте	75,0-80,0	40,0-48,0	620,0 - 660,0
TOMO I TONYO B decoprimente			ap

* ГК – содержание галактуроновой кислоты; СЭ – степень
 этерификации; Мw – молекулярная масса

Таблица 3 - Компонентный состав и физико-химические характеристики пектиновых олигосахаридов, содержащихся в напитках «ТеЗиС»

	Ara, %	Rha, %	Man, %	Gal, %	Xyl. %	ГК, %	Mw∙e⁻³, kD
ТеЗиС А – Абсолют в	0,02 - 0,03 -	0,13- 0,14	0,03- 0,04	0,02- 0,03	0,01- 0,02	25,0- 35,0	14,0- 16,0
ТеЗиСБ-Баланс в ассортименте	0,03-	0,11- 0,12	0,04- 0,05	0,03- 0,04	0,02- 0,03	20,0- 30,0	10,0- 12,0
ТеЗиС Т – Тонус в ассортименте	0,03-0,04	0,12- 0,13	0,05-0,06	0,04- 0,05	0,04- 0,05	20,0- 25,0	12,0-15,0

* Ara - арабиноза, Rha - рамноза, Man - манноза, Gal - галактоза, Xyl - ксилоза

Ассортимент пектиновых напитков «ТеЗиС» состоит из более 50-ти позиций с идеально подобранным составом, обеспечивающим готовому продукту ряд полезных свойств, а именно:

 выводить из организма токсины, тяжелые металлы, радионуклиды и другие вредные вещества;

- снижать содержание билирубина, холестерина;

- нормализовывать давление и содержание сахара в крови;

- регулировать энергетическую ценность принимаемой пищи, контролировать и снижать вес, препятствовать его набору;

 оказывать защитное действие при приёме лекарственных препаратов с нежелательными побочными эффектами;

 подавлять патогены и стимулировать развитие полезной микрофлоры кишечника;

- оказывать иммуностимулирующее действие;

- оказывать онкопротекторное действие.

Эффективность напитков клинически подтверждена и превышает аналоги в 4-5 раз.

Пищевые пектины в порошкообразной форме

Для получения широкого спектра высококачественных пектинов, предназначенных для применения в пищевой промышленности, на базе ООО «МЕЗОН» внедрен метод гидролиз-экстракции в динамическом потоке реакционной среды (комбинированное фракционирование (КФр)). Метод позволяет провести непрерывное фракционирование продуктов гидролиза по молекулярным массам, а также очистку от сопутствующих веществ, обладающих несоответствующими требованиям характеристиками. В результате получен широкий спектр продукции с содержанием галактуроновой кислоты от 65% до 95%, с требуемой молекулярной массой и гелеобразующей способностью от 150-250° USASAG, охватывая все классы пектина, востребованные на рынке (ЕАЭС N RU Д-RU.PA03.B.22046/22):

4

Пектины для производства джемов, конфитюров, кондитерских изделий

Высокоэтерифицированный яблочный пектин медленной садки Высокоэтерифицированный яблочный пектин быстрой садки Высокоэтерифицированный яблочный пектин средней садки Высокоэтерифицированный цитрусовый пектин медленной садки Высокоэтерифицированный цитрусовый пектин быстрой садки Высокоэтерифицированный цитрусовый пектин средней садки Низкоэтерифицированный цитрусовый пектин Низкоэтерифицированный яблочный пектин Низкоэтерифицированный амидированный цитрусовый пектин Низкоэтерифицированный амидированный яблочный пектин Пектины для производства молочных и кисломолочных продуктов Высокоэтерифицированный яблочный пектин Высокоэтерифицированный цитрусовый пектин Низкоэтерифицированный амидированный цитрусовый пектин Низкоэтерифицированный амидированный яблочный пектин Пектины для производства напитков Высокоэтерифицированный яблочный пектин Высокоэтерифицированный цитрусовый пектин Низкоэтерифицированный цитрусовый пектин Низкоэтерифицированный яблочный пектин Низкоэтерифицированный амидированный цитрусовый пектин

Низкоэтерифицированный амидированный яблочный пектин

Таким образом, внедренные результаты диссертационной работы Слободовой Д.А. способствуют укреплению продовольственной

независимости Российской Федерации, укреплению здоровья населения и вносят вклад в развитие экономики страны.

5

_Панков С.А.

Белькова Е.Ю. Басалаев А.В.

Слободова Д.А.

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ «НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ МЕДИЦИНЫ ТРУДА ИМЕНИ АКАДЕМИКА Н.Ф. ИЗМЕРОВА» (ФГБНУ «НИИ МТ»)

УТВЕРЖДАЮ Директор ФГБНУ «НИМ МТ», Академик РАН, д.м.н., профессор И.В. Бухтияров июля 2022 г. (21)

ОТЧЕТ О НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЙ РАБОТЕ

ИССЛЕДОВАНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПЕКТИНОСОДЕРЖАЩЕГО НАПИТКА ТеЗиС (ПРОГРАММА СОВЕРШЕНСТВО)

Руководитель НИР: Зам. директора по научной работе, Заслуженный деятель науки РФ, д.б.н., профессор,

Л.П. Кузьмина

выводы

На основании проведенных исследований по изучению безопасности и эффективности использования пектинсодержащего напитка «Te3иC» (программа Совершенство)» можно сделать выводы:

1. Продукт обладает высокими органолептическими и вкусовыми свойствами.

2. Продукт не вызывал аллергических реакций, что является важным для длительного его применения.

 Продукт не вызывает изменений показателей клеток крови, не влияет на показатели функции печени, что свидетельствует о безопасности применения напитка.

4. Обследованные, принимавшие пектинсодержащий напиток отметили положительное влияние на состояние желудочно-кишечного тракта и отсутствие признаков обострения какой-либо патологии в течение срока приема напитка.

5. В течение всего срока приема обследованные отмечали тонизирующий и энергетический эффект пектинсодержащего напитка и быстрое восстановление сил.

6. После 1 и 2 месяцев приема напитка отмечена тенденция к снижению показателей воспаления (лейкоциты, гаптоглобин и СРБ).

7. Наиболее важным эффектом влияния пектинсодержащего напитка является достоверное снижение содержания мочевой кислоты как через 1, так и через 2 месяца приема напитка. Выявленные изменения данного показателя свидетельствуют о необходимости дальнейшего изучения влияния употребления пектинсодержащего напитка у пациентов с болезнями, связанными с повышенным содержанием мочевой кислоты.

28

Заключение

Безалкогольный натуральный пектинсодержащий напиток «Te3uC» производства ООО «ME3OH» рекомендуется применять в качестве безопасного лечебно-профилактического средства при заболеваниях желудочно-кишечного тракта, гепато-билиарной системы, диабете, воспалительных процессах, у лиц с повышенным содержанием мочевой кислоты в сыворотке крови, а также при работе на предприятиях с вредными условиями труда.

Учитывая тонизирующий, детоксикационный, противовоспалительный, восстанавливающий и адаптогенный эффект напитков «Te3uC», его применение целесообразно для спортсменов, военнослужащих и людей, ведущий активный образ жизни.

Безопасность и эффективность напитков «ТеЗиС» позволяет применять его для периодической очистки организма от шлаков, токсинов и других вредных метаболитов.