

ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ТАДЖИКИСТАНА

УДК 664.292; 664.6:614

На правах рукописи

**Икром И Хуршед Икром
(Тешаев Хуршед Икромович)**

**ИННОВАЦИОННЫЕ ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ
ПОЛУЧЕНИЯ ПЕКТИНОВ И ИХ ПИЩЕВЫХ КОМПОЗИТОВ
С БЕЛКАМИ**

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени

доктора технических наук по специальности

05.18.12 – Процессы и аппараты пищевых производств

Научный консультант: д.х.н., профессор Мухидинов З. К.

Душанбе, 2024

ОГЛАВЛЕНИЕ

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ.....	7
ВВЕДЕНИЕ.....	9
ГЛАВА 1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР.....	22
1.1 Новые источники получения пектиновых полисахаридов	22
1.2 Традиционные методы производства пектиновых полисахаридов	25
1.3 Инновационные технологические процессы выделения пектиновых полисахаридов	27
1.4 Моделирование технологических процессов в производстве пектина	35
1.5 Проблема рационального использования молочной сыворотки.....	38
1.6 Характеристика, свойства и применение зеина	42
1.6.1 Характеристика и свойства зеина.....	42
1.6.2 Применение зеина	44
1.7 Пектин как гелеобразующий биополимер.....	45
1.7.1 Механизм гелеобразования пектинов	49
1.7.1.1 Поведение пектинов в концентрированных растворах.....	49
1.8 Функциональные продукты на основе пектина и белков	57
1.8.1 Микрокапсулирование биоактивных веществ для создания функциональных пищевых продуктов.....	64
1.8.2 Пектин как основа для создания носителей лекарственных средств	71
ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	75
2.1 Сырье и реагенты	75
2.1.1 Сбор и подготовка исходного сырья.....	75
2.1.2 Характеристика реагентов и рабочих растворов	77
2.1.3 Приготовление исходных растворов.....	77
2.1.3.1 Приготовление растворов пектинов.....	77
2.1.3.2 Приготовление раствора концентрата сывороточных белков.....	78
2.1.3.3. Приготовление буферных растворов	78
2.2 Способы производства пектиновых полисахаридов	78
2.2.1 Выделение пектина из растительного сырья	78
2.2.2 Очистка и концентрирование пектиновых веществ	80
2.2.3 Сушка пектиновых концентратов на распылительной сушилке	83

2.3 Количественные методы анализа пектиновых полисахаридов.....	88
2.3.1 Модифицированный титриметрический метод	88
2.3.2 Определение количества свободных и этерифицированных карбоксильных групп с помощью ИК-Фурье спектроскопии	89
2.3.3. Фотометрическое определение метоксильных групп	90
2.3.4. Определение уроновых кислот метагидроксидифенильным методом	90
2.3.5. Эксклюзионная жидкостная хроматография	92
2.3.6. Определение моносахаридного состава пектинов газожидкостной хроматографией.....	93
2.4 Количественное определение содержания ионов кальция в пектине	93
2.5 Определение студнеобразующей способности низкометилованного пектина	94
2.6 Определение прочности пектинового студня по Риджелиметру.....	96
2.7 Методы исследования гидродинамических свойств.....	98
2.7.1 Определение характеристической вязкости.....	98
2.7.2 Определение гидродинамических свойств пектинов методом эксклюзионной жидкостной хроматографии	99
2.8 Методы исследования структуры полисахаридов.....	99
2.8.1 ИК-Фурье спектроскопия.....	99
2.8.2 ЯМР-спектроскопия.....	100
2.9 Выделение и методы анализа белков.....	101
2.9.1 Выделение β -лактоглобулина из молочной сыворотки	101
2.9.2 Определение белка методом Седмака.....	102
2.9.3 Методы выделения зеина из кукурузной муки	102
2.9.4. Определение белков спектрофотометрическим методом.....	103
2.9.5 Определение белков молочной сыворотки электрофоретическим методом	104
2.9.6 Методика разделения белков молочной сыворотки на капиллярном электрофорезе	105
2.9.7 Электрофорез зеина в 7.5% ПААГ	106
2.9.8 Электрофорез зеина в ПААГ, содержащем SDS-Na	106
2.9.9 Турбидиметрическое титрование зеина кукурузы	106

2.10 Приготовление микрокапсул в эмульсионной системе масло в воде (м/в)	108
2.11 Выделение и очистка пироксикама	108
2.12 Получение гидрогелевых микросфер на основе пектина и зеина.....	109
2.13 Исследование высвобождения модельного лекарственного вещества из системы доставки лекарств в опытах <i>in vitro</i>	110
2.14 Ферментативный гидролиз пермеата творожной сыворотки	111
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	112
3.1 Пектиновые полисахариды и технологические особенности их получения	112
3.1.1 Флеш-способ гидролиза пектинов из фруктовых отходов	112
3.1.2 Флеш-способ гидролиза пектинов из плодов тыквы.....	115
3.1.3 Флеш-способ гидролиза пектинов из ревеня	118
3.1.4 Динамический метод получения пектинов	120
3.1.5 Использование мембранной технологии в производстве пектиновых полисахаридов	124
3.1.5.1 Мембранная технология очистки и концентрирования пектинового гидролизата	124
3.1.5.2 Применение тангенциального потока при диаультрафилтрации пектинового гидролизата.....	125
3.1.5.3 Сравнительная оценка структуры и качества пектина, очищенного традиционным методом и диаультрафилтрацией с тангенциальным потоком	131
3.1.5.4 Оценка качества пектина и изменение его структуры при очистке по спектрам ЯМР.....	132
3.1.6 Сравнительный анализ молекулярных масс и молекулярно-массового распределения образцов пектина	136
3.1.7 Расход спирта и электроэнергии при выделении пектина спиртовым осаждением и диаультрафилтрационными методами	140
3.1.8 Расчёт экономической эффективности производства пектинов традиционным и инновационными методами	141
3.2 Моделирование технологических процессов в производстве пектина	145
3.2.1 Математические методы моделирования технологических процессов производства пектина	145

3.2.1.1 Моделирование и оптимизация физико-химических параметров процесса гидролиз-экстракции пектина флеш-способом.....	145
3.2.1.2 Моделирование процесса УФ-концентрирования и очистки пектиновых полисахаридов	151
3.2.1.3 Моделирование технологических процессов на примере производства пектиновых веществ из выжимок яблок.....	157
3.2.2 Построение общей модели технологических процессов производства пектина	158
3.3 Выделение и концентрирование белков и их идентификация	160
3.3.1 Выделение сывороточных белков с применением мембранных методов	160
3.3.2 Концентрирование сывороточных белков молочной сыворотки низкометилованным пектином	166
3.3.3 Характеристика зеина и его применение.....	170
3.3.3.1 Методы выделения зеина из кукурузной муки	170
3.3.3.2 Определение молекулярного состава зеина кукурузы	171
3.4 Гелеобразующие свойства пектинов.....	175
3.4.1 Желеобразование низкометилованных пектинов с ионами кальция в концентрированных растворах	183
3.4.2 Определение факторов, влияющих на реологические свойства желе.....	187
3.4.3 Новые факторы, влияющие на гелеобразование пектинов.....	193
3.4.4 Влияние молекулярно-массовых характеристик на прочность студней..	199
3.4.6 Результаты применения пектиновых растворов на предприятиях пищевой промышленности Республики Таджикистан.....	201
3.5 Функциональные продукты на основе композитных гелей и лактозы	204
3.5.1 Гидрогелиевые микросферы пектина с зеином как носители лекарственных веществ и пищевых ингредиентов.....	204
3.5.2 Микросферы на основе яблочного пектина и зеина.....	212
3.5.3 Микросферы на основе пектина из корзинок подсолнечника и зеина.....	213
3.5.4 Кинетика высвобождения пироксикама из пектин-зеиновых микросфер в условиях, имитирующих среду ЖКТ	215
3.5.5 Получение глюкозо-галактазного сиропа из молочной сыворотки.....	222
ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ	226
4.1 Инновационные технологические процессы выделения и очистки пектиновых полисахаридов.....	227

4.1.1 Флеш-способ гидролиза пектинов из фруктовых отходов	227
4.1.2 Флеш-способ гидролиза пектина из плодов тыквы.....	228
4.1.3 Флеш-способ гидролиза пектина из ревеня	230
4.1.4. Динамический метод получения пектинов	232
4.1.5 Использование мембранной технологии в производстве пектиновых полисахаридов	234
4.1.6 Моделирование технологических процессов в производстве пектина	240
4.1.7 Моделирование технологических процессов на примере производства пектиновых веществ из выжимок яблок.....	242
4.2 Выделение и идентификация белков – лактоглобулинов из молочной сыворотки и зеина из кукурузы	243
4.2.1 Выделение сывороточных белков и лактозы с применением мембранных методов	243
4.2.2 Выделения зеина из кукурузной муки и его характеристика	244
4.3 Гидрогели на основе пектинов и их комплексы с белками.....	244
4.3.1 Гелеобразования низкометилированных пектинов с ионами кальция в разбавленном и концентрированном растворах.....	244
4.3.2 Систем доставки лекарственных веществ и пищевых ингредиентов.....	245
ВЫВОДЫ	248
РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ПРАКТИЧЕСКОМУ ИСПОЛЬЗОВАНИЮ РЕЗУЛЬТАТОВ	250
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ.....	253
ПРИЛОЖЕНИЯ.....	303

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

АГ – апиогалактуронан

АФ – агрегированная фракция

БАВ – биологические активные вещества

БВ – балластные вещества

ВМ-пектин – высокометилованный пектин

ГГС – глюкозо-галактозный сироп

ГК – галактуроновая кислота

ДВ – диетические волокна

ДУФ – диа-ультрафильтрация

Ig – иммуноглобулин

α -La – α -лактальбумин

β -Lg – β -лактоглобулин

LgC – концентрат лактоглобулинов

ЖКТ – желудочно-кишечный тракт

КП – корзинки подсолнечника

КС – клеточная стенка

ЛВ – лекарственные вещества

МГ – микрогель

ММ – молекулярная масса

ММР – молекулярно-массовое распределение

МС – молочная сыворотка

МУЛС – многоугловое лазерное светорассеяние

M_z, z – средняя молекулярная масса

M_w – среднемассовая молекулярная масса

M_n – среднечисловая молекулярная масса

$M_w/M_n, M_z/M_w$ – показатели полидисперсности

НМ-пектин – низкометилованный пектин

ОС – олигосахариды

ПВ – пектиновые вещества

ПГ – прочность геля

ПМ – полисахаридный матрикс

ПОС – пектиновые олигосахариды

ПП – пектиновые полисахариды

РХ – пироксикам

СДЛ – система доставки лекарств

СБ – сывороточный белок

СЭ – степень этерификации

ТДМ – трансмембранное давление

ТДУФ – диа-ультрафильтрация с тангенциальным потоком

ТМ – традиционный метод

УФ – ультрафильтрация

ЭЖХ – эксклюзионная жидкостная хроматография

НГ – гомогалактуронан

RG-I – рамногалактуронан-I

RG-II – рамногалактуронан-II

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования. Обеспечение экономической и продовольственной безопасности страны наряду с индустриализацией, энергетической независимостью, строительством коммуникаций и дорог на ближайшее десятилетие – одна из стратегических целей Правительства Республики Таджикистан, сроки достижения которой возможно уменьшить в разы при подключении и грамотном использовании как уже имеющихся научных и технических достижений, так и находящихся в стадии исследования и апробации на лабораторном уровне. Поэтому внедрение и использование инновационных технологий переработки отходов, которые позволят производить из вторичного сырья продукцию желаемого качества и низкой себестоимостью, – направление важное и перспективное. В данном случае речь идёт о производстве функциональных пищевых продуктов на основе полисахаридов и белков из вторичных ресурсов растительного и животного происхождения.

В мировой практике «...функциональное питание признают, как альтернативу медикаментозной терапии и определяют, как Food for Specific Health Use (FOSHU)...»¹, так как функциональная пища – это пища, которая имеет дополнительную функцию за счет добавления новых ингредиентов или нескольких существующих ингредиентов.

Применение в пищевой промышленности природных биоразлагаемых полимеров, ПП, которые в настоящее время широко изучаются для применения в фармацевтической промышленности и косметике, как известно, имеет богатую историю.

Многочисленными исследованиями доказано, что пектин играет важную роль в организме человека: связывает липопротеиды низкой плотности и

¹ https://en.wikipedia.org/wiki/Functional_food

снижает риск развития атеросклероза, инсульта и ряда сердечно-сосудистых заболеваний, влияет на всасывание глюкозы, кальция и магния, стабилен в желудке и тонкой кишке и разрушается ферментами бактерий толстой кишки – продукты разложения пектинов могут рассматриваться как пребиотики. Олигогалактурониды различной ММ и СЭ могут использоваться в детских смесях для укрепления здоровья (микрофлоры кишечника и иммунной системы) младенцев и для защиты как уже больных, так и здоровых людей от ядовитых веществ, патогенных бактерий и токсических метаболитов. На загрязненных территориях пектины и ПОС могут быть использованы в профилактических целях в качестве антидотов для предотвращения отравления работников тяжелыми металлами.

Иными словами, и пектины, и продукты на их основе являются потенциальным профилактическим средством для применения и в медицинской практике.

Все это объясняет возрастающую потребность в пектинах и продуктах на их основе. Так, согласно данным из «... доклада представителя информационного центра производителей гидроколлоидов «IMR International», на мировом рынке наблюдается устойчивый рост потребления пектина в среднем на 3-3,5% в год ...»². В 2021 году объем производства пектинов достиг 70 тысяч тонн, их продажа составила 1.25 млрд. долларов США, из этого на долю Стран СНГ приходится около 100 млн. долларов. Эта тенденция продолжает возрастать и в 2025 году достигнет 1.75 млрд. долларов³. Основными центрами реализации пектина являются рынки пищевой и фармацевтической промышленности.

«...Мировой рынок пектина сосредоточен в таких странах, как Аргентина, Бразилия, Южная Африка, Китай, Иран, СНГ и др., и составляет приблизительно 55–60 тыс. т. На долю пектина из цитрусовых культур приходится 70% производимого пектина, на долю яблочных пектинов – 30% ...» [1].

² Food Hydrocolloid Market 2020. IMR International/ www.hydrocolloid.com

³ <https://www.winmarketresearch.com>

В настоящее время традиционная технология производства ПП у подавляющего большинства производителей основана на гидролизе растительного сырья кислотой при длительном воздействии высоких температур и осаждением из концентрата большим количеством этилового спирта. Технологические процессы данного производства состоят из следующих этапов: гидролиз пектиновых биополимеров при температуре 80-100°C, pH 1.2-2.0 и продолжительностью процесса от 1 до 3 часов; выделение пектина из раствора гидролизата; концентрирование на вакуум-выпарных установках; осаждение этиловым спиртом. Длительность производственного цикла данной технологии составляет от 12 и более часов.

«...Технологии получения пектинов являются закрытыми и специально разрабатываются основными производителями этого продукта...» [1] – компаниями CPKelco (Дания, США), Herbstright & Fox KG, и Degussa (Германия), Danisco (DuPont) (USA, Чехия), Cargill (США, Германия, Франция), Yantai Andre Pectin (Китай) и др.

В сельскохозяйственном секторе Республики Таджикистан основное место занимает производство фруктов и овощей, отходы от которых идут в основном на кормление скота. Согласно официальным статистическим данным Республики Таджикистан, в 2021 году в стране выращено фруктовых культур в количестве 444,440 тыс. тонн, что на 38,0% больше по сравнению с 2012 годом. Кроме того, в республике выращивается более 818 тыс. тонн (по данным 2021 года) бахчевых культур, отходы от которых выбрасываются [2], хотя содержат ценные БАВ – полисахариды, белки, полифенольные вещества и т. д.

Учитывая вышесказанное, наряду с поиском новых потенциально перспективных источников ПП крайне актуальным считается разработка инновационных технологий, которые позволят регулировать процесс получения полисахаридов растительного сырья для производства функциональной пищи. Однако коммерческое применение, при наличии огромного количества источников сырья, получили лишь цитрусовые отходы и выжимки яблок.

Налицо необходимость исследовать другие источники получения пектина или модифицировать существующие способы получения пектина желаемого качества из других источников.

Перспективным направлением использования пектина является его применение в качестве пищевой добавки при производстве новых пищевых продуктов и продуктов функционального назначения. Пектиновые гели и их композиты с белками находят свое применение в пищевой промышленности и биомедицине для высокоэффективной доставки пищевых ингредиентов и ЛВ. В этой связи, изучение научных основ создания пищевых композитов на основе пектина и белков с инкапсулированными БАВ для возможного их применения в качестве функциональных пищевых продуктов является актуальной задачей.

Степень научной разработанности изучаемой проблемы. Важнейшим направлением развития современной промышленности является внедрение инновационных технологий, что позволит производить по низкой себестоимости продукцию из отходов, которые можно будет использовать либо взамен первичного сырья, либо как принципиально новый вид сырья без существенной обработки и подготовки к применению. В наибольшей степени данным требованиям отвечает всё еще остающееся сложным и малорентабельным производство полисахаридов из вторичных растительных сырьевых ресурсов – фруктовых выжимок, бахчевых культур и корзинок подсолнечника, остающихся в многотоннажных количествах при производстве фруктовых соков и подсолнечного масла. Основной причиной этого является специфика технологических факторов процесса гидролиз-экстракции ПП (ресурсо- и энергозатраты, экологичность производства и т.д.), что существенно увеличивает себестоимость целевых продуктов, и, тем самым, ограничивает их доступность широкому кругу потребителей.

Результаты проведенного литературного анализа по использованию мембранных процессов для очистки и концентрирования пектиновых растворов, в частности, возможность концентрирования ПП диа- и ультрафильтрацией,

оценка воздействия различных параметров (трансмембранное давление, скорость потока, подача смеси и т.д.) на загрязнение мембраны, а также основных факторов, ограничивающих производительность мембранных процессов с поперечным потоком, позволяют сделать вывод о том, что наиболее перспективным является очистка и концентрирование пектиновых растворов ДУФ, что подтверждается в данной работе. Этот метод значительно снижает энергозатраты при производстве, так как оба процесса осуществляются в одном цикле, а сам процесс может проводиться при комнатной температуре.

Не менее важным на настоящий момент является создание и использование различного функционального назначения биополимерных, биоразлагаемых и биосовместимых носителей. Пектин – один из таких носителей: благодаря его длительному удержанию в ЖКТ и почти полной деградации бактерий, живущих в толстой кишке.

Таким образом, данная работа посвящена разработке новых методов гидролиз-экстракции ПП с использованием местных сырьевых ресурсов, усовершенствованию способов очистки и концентрирования ПП с применением энергосберегающих технологий и изучению гелеобразующих свойств НМ-пектинов, в том числе получению композитов на основе пектина и белков с инкапсулированными БАВ, устойчивых к действию среды желудка, для возможного их применения в качестве функциональных пищевых продуктов, что является новым направлением в научных исследованиях в нашей республике.

Связь работы с научными темами и проектами. Разработка технологии получения пектина и белков из отходов пищевой промышленности и композиционных материалов на их основе была включена в Стратегию Республики Таджикистан в области науки и технологий на 2011–2015 гг. и Программу инновационного развития Республики Таджикистан на 2011 – 2020 гг., а также реализована в рамках международных проектов МНТЦ (Т-1419, Т-1420).

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Цель настоящей работы: (1) разработка новых методов гидролиз-экстракции ПП с использованием местных сырьевых ресурсов, (2) усовершенствование способов очистки и концентрирования ПП с применением энергосберегающих технологий, (3) создание пищевых композитов на основе комплекса пектинов с белками.

Задачи исследования. Для достижения поставленной цели необходимо было решить следующие задачи:

1. Разработать инновационные технологические процессы получения пектинов, обеспечивающие эффективность и экологическую безопасность производства из различных источников растительного сырья.
2. Оптимизировать параметры процесса гидролиз-экстракции ПП из различных источников для получения продуктов с оптимальными структурными параметрами и их применение в различных областях пищевой промышленности и биомедицине.
3. Разработать информационно-логическую модель технологического процесса производства пектина новыми способами, разработать способы управления технологическими процессами производства для автоматизации процессов производственного цикла в целом в зависимости от вида и качества исходного сырья.
4. Выделить и охарактеризовать образцы белков (зеина и Lg) и ОС из кукурузной муки и МС.
5. Изучить основные свойства полученных пектинов (ММ, содержание ГК и СЭ карбоксильных групп) и их гидродинамические характеристики.
6. Исследовать процессы комплексообразования различных пектинов с белками и разработать в качестве носителей ЛВ и пищевых ингредиентов стабильные композиты.
7. Найти оптимальные условия получения инкапсулированного лекарственного комплекса на основе природных биополимеров, пектина и зеина, и изучить влияние основных факторов на стабильность комплексов в условиях среды ЖКТ.

8. Изучить кинетические процессы высвобождения ЛВ в условиях, имитирующих среду ЖКТ.

Научная новизна работы:

1. Разработаны новые способы гидролиз-экстракции пектинов из фруктовых выжимок и КП: флеш и динамический методы.
2. Предложены ДУФ очистка и концентрирование пектинового гидролизата. На основе структурных данных и гидродинамических свойств полученных пектинов доказано, что предлагаемый метод, в отличие от известных, позволяет полностью очистить пектиновый гидролизат от нейтральных полисахаридов и других низкомолекулярных веществ с одновременным улучшением качества пектина.
3. Научно обоснованы и предложены методы выделения LgC и лактозы из МС с использованием сочетания методов центрифугирования и УФ, что позволит производить функциональные продукты, обогащённые комплексом необходимых БАВ, обеспечивающих физиологические потребности различных групп населения.
4. Методом вискозиметрии и МУЛС определены гидродинамические свойства пектинов. Установлено, что конформационные изменения пектиновых макромолекул в значительной степени зависят от СЭ карбоксильных групп: с уменьшением СЭ спиральная структура макромолекул переходит в форму клубка, причем существенное влияние на этот процесс оказывает распределение свободных и этерифицированных карбоксильных групп.
5. Изучена гелеобразующая способность НМ-пектина и показано, что в присутствии поливалентных металлов, за исключением кальция, происходят внутримолекулярные конформационные изменения, связанные с образованием димеров и полимерных агрегатов вплоть до фазового разделения сильно набухшего геля. Предложено использовать значения показателя полидисперсности (M_z/M_w), отражающего степень молекулярной агрегации, что позволило впервые определить новый фактор, влияющий на прочность студня.

6. Применено инотропное гелеобразование пектинов в присутствии двухвалентных катионов с целью разработки условий получения комплексов на основе пектина и зеина с инкапсулированными лекарствами, устойчивыми к действию среды желудка. Показано, что ионы Zn^{2+} способствуют формированию более компактной структуры с пектином в качестве сшивающего металла по сравнению с ионами Ca^{2+} , что является важным при создании носителей лекарственных препаратов, устойчивых к преждевременному высвобождению ЛВ в верхних отделах ЖКТ.
7. Дана оценка кинетики высвобождения лекарства: РХ из СДЛ в условиях, моделирующих ЖКТ, что позволило установить некоторые особенности кинетики данных систем. Доказано, что полученные комплексы способны подавлять набухание пектина в желудке и препятствовать разрушению лекарства в верхней части ЖКТ.

Теоретическая и научно-практическая значимость работы состоит в следующем:

- разработаны инновационные технологические процессы получения пектинов, обеспечивающие эффективность и экологическую безопасность производства из различных источников растительного сырья с определенными физико-химическими свойствами: флеш-способ гидролиз-экстракции пектинов из фруктовых выжимок и динамический метод гидролиз-экстракции пектина из КП;
- разработана и внедрена в производство ДУФ очистка пектина и концентрирование пектинового гидролизата;
- разработана информационно-логическая модель технологического процесса производства пектина из яблочных выжимок новым методом на основе отдельных процессов технологической цепочки и расхода потоков масс между звеньями и схема управления технологическим процессом производства пектинов, что позволяет автоматизировать процессы производственного цикла в зависимости от вида и качества исходного сырья;

- предложены методы выделения LgC и лактозы из МС с использованием сочетания методов центрифугирования и УФ, что позволит производить функциональные продукты, обогащённые комплексом необходимых БАВ, обеспечивающих физиологические потребности различных групп населения;
- определены оптимальные условия получения инкапсулированного лекарственного комплекса на основе природных биополимеров – пектина и зеина. Показано, что на процесс комплексообразования и степень насыщения ЛВ влияют природа биополимеров, их пропорции, а также наличие и тип двухвалентного металла;
- проведены испытания над желирующими и стабилизирующими свойствами яблочного пектина, полученного флеш-способом при производстве кондитерских изделий на фабрике «Ширин» (ОАО, г. Душанбе) и при производстве кисломолочных продуктов (кефира и фруктового йогурта) на «Комбинате шири Душанбе» (АОЗТ, г. Душанбе);
- предложено применение СДЛ на основе биополимеров для создания новых лекарственных форм и функциональных продуктов питания.

Объекты исследования. Объектами исследования являлись технологические процессы традиционной технологии получения пектина, основанной на кислотном гидролизе растительного сырья с последующим выделением пектина этиловым спиртом из концентрированного раствора, способы выделения и концентрирования белков, процессы гелеобразования ПП, процессы формирования гидрогелевых микросфер пектина с белком, кинетические процессы высвобождения ЛВ в условиях, имитирующих среду ЖКТ, и пектины из различного растительного сырья.

Предмет исследования. Предметом исследования являлись параметры процессов получения пектина и его количественные и качественные показатели, оптимизация структурных параметров ПП, автоматизация процессов производства пектина, селективность методов выделения, концентрирования и идентификации белков, их количественные характеристики, конформационные изменения ПП в разбавленных растворах с ионами поливалентных металлов,

факторы, влияющие на реологические свойства желе на основе пектина, параметры процессов комплексообразования различных пектинов с белками, условия формирования композитов носителей ЛВ и их стабильность в условиях среды ЖКТ и механизмы кинетики высвобождения ЛВ в условиях, имитирующих среду ЖКТ.

Методы исследований. Теоретической и методологической основой данного исследования являются труды зарубежных ученых, направленные на изучение технологии получения растительных полисахаридов и методов формирования композиционных материалов на их основе, а также статистических методов обработки экспериментальных данных.

Методы исследования физико-химических свойств ПП включали: содержание свободных и этерифицированных карбоксильных групп и СЭ – модифицированные титриметрические методы и ИК-Фурье спектроскопию; характеристическую вязкость, гидродинамический радиус, молекулярные массы и показатель полидисперсности – метод ЭЖХ. Моносахаридный состав пектинов определяли методом газожидкостной хроматографии. Для установления структуры ПП использовали методы ИК-Фурье спектроскопии и ЯМР-спектроскопии. Студнеобразующую способность пектинов определяли по методу Тарр-Бейкера, прочность пектинового студня – по Риджеллиметру. Для выделения и анализа белков использовали методы спектрофотометрии, электрофореза белков на полиакриламидных гелях в присутствии додецилсульфата натрия и капиллярного электрофореза. Полидисперсность макромолекул белка (зеина) определяли методом турбидиметрического титрования.

Личный вклад соискателя. Общая концепция диссертации, ее структура, уровень понимания рассматриваемых в ней проблем, полученные результаты и сделанные выводы, положения, выносимые на защиту, отражают конкретный творческий вклад автора и исключительно его точку зрения на рассматриваемую проблему. Основные результаты, отраженные в разделе «Научная новизна» и в основе положений, выносимых на защиту, получены автором в соавторстве с коллективом авторов под руководством научного консультанта. Разработка

методов исследования, алгоритмов численных расчетов и интерпретация результатов также осуществлены автором диссертации совместно с коллективом авторов.

Практические испытания пектина как студнеобразователя и стабилизатора пищевых продуктов на пищевых предприятиях Республики Таджикистан проведены лично автором.

Автор выражает особую благодарность научному консультанту д.х.н., профессору Мухидинову З. К. за предложенную перспективную тематику исследования, формулировку идеи работы и участие в обсуждении важнейших результатов и оформлении диссертации. Автор сердечно благодарит д.х.н., профессора, академика НАНТ, зав. лабораторией химии ВМС Института химии им. В. И. Никитина НАНТ Халикова Д. Х. за ценные консультации, поддержку и помощь в работе, а также благодарит соавторов опубликованных работ.

Автор выражает признательность др. Лиу Лин Шу и др. Маршалу Фишману, коллабораторам партнерских проектов МНТЦ Т-1419 и Т-1420, благодаря которым исследованиям были обеспечены финансовая и организационная поддержка, а также сотруднику лаборатории Восточного регионального научного центра Государственного департамента США по сельскому хозяйству др. Гари Страхану за регистрацию ЯМР-спектров пектинов.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности. Диссертация по своему содержанию и полученным результатам соответствует паспорту специальности 05.18.12 – Процессы и аппараты пищевых производств (пунктов 1-3).

Положения, выносимые на защиту:

1. Способы производства пектинов из различных источников: флеш-способ гидролиз-экстракции пектина из фруктовых выжимок и динамический метод гидролиз-экстракции пектина из КП.
2. ДУФ очистка и концентрирование пектинового гидролизата.
3. Информационно-логическая модель технологического процесса и схема управления технологическим процессом производства пектинов.

4. Конформационные изменения пектиновых макромолекул в зависимости от СЭ карбоксильных групп с использованием вискозиметрии и метода МУЛС.
5. Применение нового параметра M_z/M_w для характеристики степени молекулярной агрегации при оценке качества студней.
6. Способ формирования гидрогелевых микросфер для создания СДЛ.
7. Демонстрация кинетики высвобождения ЛВ из СДЛ в условиях, имитирующих среду ЖКТ.
8. Практическая значимость результатов исследования пектина как студнеобразователя и стабилизатора пищевых продуктов.

Степень достоверности результатов. Достоверность полученных результатов подтверждается использованием таких взаимодополняющих современных физико-химических методов, как ЯМР-спектроскопия (методы 1D и 2D), ИК-Фурье спектроскопия и МУЛС, выполненные на уникальных приборах известных компаний (Waters, Tesla, Wyatt Technology (США), Perkin Elmer (Швейцария) и др.), и хорошим воспроизведением результатов исследований и статистических методов анализа.

Апробация диссертации. Основные результаты работы докладывались и обсуждались на более чем 33 международных и республиканских конференциях и симпозиумах, в том числе на Первой международной научно-практической конференции «Перспективы развития исследований в области химии координационных соединений и аспекты их применения» (Душанбе, 2022); XII Национальной научно-практической конференции с международным участием «Технологии и продукты здорового питания» (Саратов, 2021); ACS Spring 2020 National Meeting & Expo (Philadelphia, USA, 2020); Международной научно-практической конференции «Технологии и продукты здорового питания» (Саратов, 2019); 19th Gum and Stabiliser for Food Industry Conference (Berlin, Germany, 2017); 18th Gums & Stabilisers for the Food Industry Conference (Wrexham, UK, 2015); Международной научно-практической конференции, посвященной 1150-летию персидско-таджикского учёного Абубакра Рази (Душанбе, 2015); 14th International Symposium on Macromolecular Complexes (Helsinki, Finland, 2012); XX International

conference on Chemical Reactors CHEMREACTOR-20 (Luxemburg, 2012); Международной научно-практической конференции «Проблемы устойчивого развития пищевой промышленности в Центральной Азии» (г. Худжанд, 2012); 3rd International Congress on Biohydrogels (Florence, Italy, 2011); 4th International Workshop on Specialty Polymers for Environment protection, Oil Industry, Bio-,nanotechnology and medicine (Almaty, Kazakhstan, 2011); The 16th Gum and Stabilisers for the Food Industry (Wageningen, the Netherlands, 2011); Международной конференции «Стимулирование потенциала общества, науки и НПО к сохранению биоразнообразия и охраны окружающей среды» (Душанбе, 2011); Международной научно-практической конференции «Подготовка научных кадров и специалистов новой формации в свете инновационного развития государств» (Душанбе, 2010); Пятой Всероссийской Каргинской конференции «Полимеры-2010» (Москва, 2010); Второй Республиканской конференции с международным участием «Здоровое питание – здоровая нация» (Душанбе, 2009); Республиканских научно-практических конференциях: Нумановских чтениях (Душанбе 2009, 2017, 2021); The 9th International Hydrocolloids Conference (Singapore, 2008); III Международной научно-практической конференции «Перспективы развития науки и образования в 21 веке» (Душанбе, 2008); Международной конференции «Современная химическая наука и ее прикладные аспекты» (Душанбе, 2006); 5th International Symposium on the Chemistry of Natural Compounds (Tashkent, Uzbekistan, 2003) и др.

Публикации по теме диссертации. Основное содержание диссертации опубликовано в 72 печатных работах: 37 статьях в изданиях, рекомендованных ВАК при Президенте Республики Таджикистан (из них 10 статей в журналах, индексируемых в международные базы данных (Web of Science, Scopus и иностранные издания); 2 малых патентах РТ; 28 тезисах докладов на международных конференциях, 5 тезисах докладов на республиканских конференциях.

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из введения, четырех глав, выводов и библиографии из 335 источников, содержит 310 страниц, 54 рисунка и 41 таблицу.

ГЛАВА 1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

1.1 Новые источники получения пектиновых полисахаридов

В настоящее время основными источниками производства ПП являются выжимки яблок, кожура и альbedo цитрусовых, свекловичный жом и КП. ПП содержатся во всех высших цветковых растениях, они входят в состав КС и составляют примерно одну треть от сухого вещества КС (таблица 1.1.1). Наибольшее количество пектина находится в кожуре, ламелях и сердцевине фруктах.

Таблица 1.1.1 – Источники получения пектина

Источник пектина	Выход, %	СЭ, %	Источник литературы
1	2	3	4
Абрикос	7-10	43–65	[3-А, 4]
Алоэ	5	3	[5, 6]
Банан	2–15	49–80	[7]
Горох	8	67	[8]
Грейпфрут	13–32	75-76	[9]
Дуриан (плоды)	2–10	>50	[10]
Морковь	7–19	34–58	[11, 12]
Картофель	5–10	11	[13]
Какао (шелуха)	4–11	57	[14]
Манго	9–29	49–86	[15, 16]
Маракуйя (плоды)	4–70	10	[17, 18]
Плоды дерева «красный дракон»	4–15	51–75	[19]
Персик	4–18	20–94	[3, 4, 20, 21]
Подсолнечник (корзинки)	4–16	34–39	[3, 22, 24]
Ревень скальный	47	40	[23-А, 24]

Продолжение таблицы 1.1.1

1	2	3	4
Тыква	7–22	53–81	[25, 26-А]
Соя (шелуха)	18–28	53–60	[27]
Сахарная свёкла	10–11	14–48	[28, 29]
Цикорий (корень)	3-5	35–56	[30]
Цитрусовые	6–26	56–80	[3, 31-33]
Яблоко	2–19	22–80	[3, 34–36]

Значительно меньшую пропорцию этих веществ можно найти в КС трав [37]. Они связаны с другими полисахаридами КС растений ковалентными связями через свои боковые олиго- и полисахариды различной структуры. ПП входящие в состав ПМ КС растений, по своей структуре являются сложными гидрофильными биополимерами, состоящие из линейного гомогалактуронана (HG) и разветвленные рамногалактуронана-I (RG-I), рамногалактуронана-II (RG-II), АГ и ксилогалактуронана [38-43]. "...Неэтерифицированные и неразветвленные блоки ПП, встречающихся в КС многих растений, образуют волокнистые пучки (агрегаты) посредством ионов кальция [43] и выделяются из раствора гидролизата при экстракции в виде МГ..." [44].

Поэтому разработка условий проведения гидролиза ПП растений представляет собой достаточно сложную задачу, ибо для получения ПВ с определёнными физико-химическими свойствами необходимо очень тонкое регулирование многочисленных параметров реакции гидролиза. "... Сложность проблемы усугубляется ещё и тем обстоятельством, что оптимизация процесса гидролиза ПМ существенно зависит от вида растений, сорта и степени его зрелости ..." [38].

Несмотря на то, что ПВ имеются в большинстве растений, число источников, которые могут быть использованы для коммерческого производства пектинов являются очень ограниченными (таблица 1.1.1). В настоящее время

сырьём для получения ПВ чаще всего служат свежие фрукты и овощи, что увеличивает себестоимость целевых продуктов. Между тем, перспективным источником пектина могут стать вторичные ресурсы пищевой промышленности. Ежегодно в Таджикистане при производстве соков остаётся огромное количество яблочных выжимок, вторичная переработка которых может принести значительный экономический эффект [3, 23, 24, 26].

Пектины, в которых СЭ галактуроновых остатков $>50\%$, известны как ВМ-пектины, а $<50\%$ как НМ-пектины. ПВ, полученные из различных растительных источников, отличаются как по структуре, так и по ММ и ММР [3, 23, 24, 26]. Кроме того, ПП могут различаться и по физико-химическим свойствам [3, 39, 40-43, 45, 46].

Имеются многочисленные сырьевые базы для получения НМ-пектинов, среди которых можно отметить свекловичный жом, КП и плоды тыквы. Наличие перечисленной сырьевой базы ставит на повестку дня вопрос о возможности упрощения технологии получения НМ-пектинов и изучение их применимости, в первую очередь, в пищевой промышленности и медицине [46].

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

гелеобразующей способности при варьировании компонентного состава раствора и параметров системы является актуальной задачей. КП являются перспективным источником для получения НМ-пектина, но процесс извлечения ПВ из данного сырья является крайне специфичным, из-за их структуры и особой природы связей, удерживающих макромолекулы пектина в КС [45, 47, 48].

Пектины обладают высокой гелеобразующей способностью. Способность пектинов образовывать гели зависит от размера молекул и степени их этерификации (таблица 1.1.1). Из-за различий в этих параметрах пектины, полученные из различных источников, не обладают одними и теми же гелеобразующими способностями. Альтернативными источниками производства пектина являются также отходы сахарной свеклы в производстве сахара [49].

1.2 Традиционные методы производства пектиновых полисахаридов

«...Производство пектина относится к активно развивающейся сфере бизнеса с ежегодным увеличением производства на 3-4 %. Современное производство пектина сосредоточено в основном в таких странах, как Аргентина, Бразилия, Южная Африка, Китай, Иран...» [1]. Объем ежегодного производства пектина в мире составляет приблизительно 70 тыс. тонн в год. Ведущими мировыми производителями этого продукта являются такие компании, как SPKelco (Дания, США), Herbstright & Fox KG, и Degussa (Германия), Danisco (DuPont) (USA, Чехия), Cargill (США, Германия, Франция), Yantai Andre Pectin (Китай) и др. [44].

В настоящее время, мировое потребление пектина постоянно возрастает в связи с расширяющимися возможностями использования пектинов в фармацевтике и медицине [5, 45, 50]. По оценкам [51], «...начиная с 1991 г. на мировом рынке наблюдается устойчивый рост потребления пектина в среднем на 3,0-3,5% в год, главным образом за счет роста потребления пектина кондитерской и консервной промышленностью...» [51]. В 2020 продажа пектинов составил 1.25 млрд.

долларов США, из этой суммы на долю Стран СНГ приходится около 100 млн. долларов. Эта тенденция продолжает возрастать и в 2025 году достигнет 1.75 млрд. долларов. Все это свидетельствует о постоянном увеличении объема мирового производства пектина. В настоящее время отечественный рынок потребления пектинов чрезвычайно широк. Это кондитерская, молочная и консервная промышленности.

В настоящее время технология получения ПП основана на кислотном гидролизе растительного сырья с последующим выделением пектина из раствора гидролизата путем концентрирования на вакуум-выпарных установках и осаждением из концентрата большим количеством этилового спирта. Технологические процессы данного производства состоят из следующих этапов: гидролиз пектиновых биополимеров в растворе с рН 1.2-2.0 при температуре 80-100°C, продолжительностью процесса гидролиза 1-3 часа; выделение пектина из раствора гидролизата; концентрирование на вакуум-выпарных установках; осаждение из концентрата большим количеством этилового спирта. Длительность производственного цикла данной технологии составляет от 12 и более часов (рисунок 1.2.1) [49, 50, 52-54].

Воздействие высоких температур и продолжительность обработки на пектиновые макромолекулы приводит к деградации их молекул, в результате чего пектин теряет гелеобразующую способность. Также следует учесть, что в данной технологической схеме основные процессы производства пектина – концентрирование и его очистка являются энергоемкими и дорогостоящими.

В этой связи разработка новых методов и способов производства ПП, снижающих или практически исключающих применение химических реагентов, а также внедрение энергосберегающих технологий и использование местных сырьевых ресурсов для производства ПВ являются перспективным направлением технологии ПП.

С учетом вышеупомянутого, в Институте химии им. В.И. Никитина Национальной Академии наук Таджикистана нами были разработаны новые способы гидролиз-экстракции ПВ из различных местных сырьевых ресурсов [48,

55-58] и методы эффективной очистки и концентрировании пектиновых гидролизатов с использованием мембранных методов разделения [54].

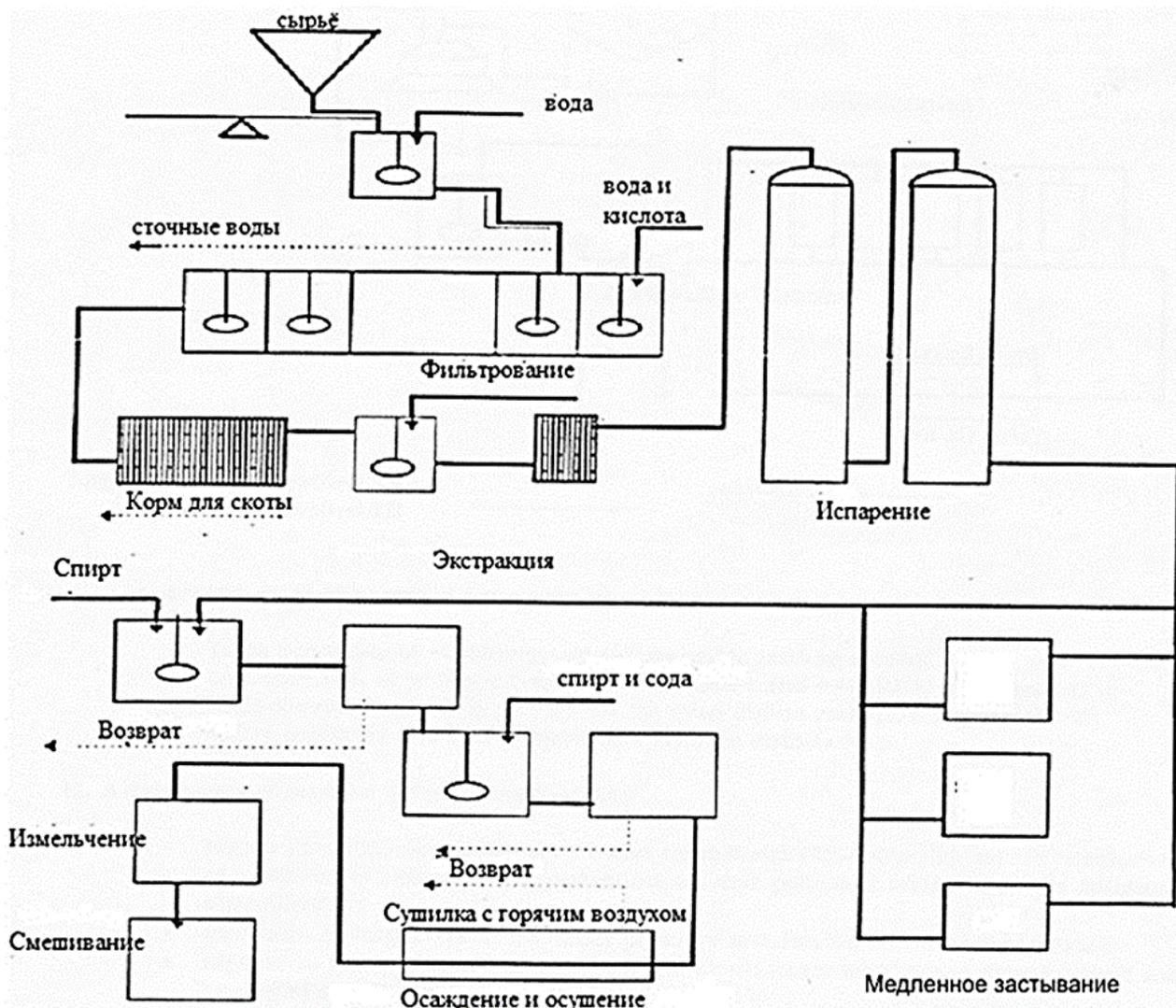


Рисунок 1.2.1. – Технологическая схема производства пектина [52]

Также нами проведена сравнительная оценка структуры и качества пектина, очищенного существующим и предлагаемым способами, и оценка экономической эффективности применения разработанной технологии, которая позволит улучшить качество и снизить себестоимость производства [58].

1.3 Инновационные технологические процессы выделения пектиновых полисахаридов

«...Известен способ производства пектина, предусматривающий смешивание пектинсодержащего сырья с водой, обработку смеси в роторно-

кавитационном экстракторе, разделение фаз и выделение пектина из жидкой фазы...» [59]. Суть данного способа заключается в обработки содержащего пектин сырья с водой «...в ступенчатом роторно-кавитационном экстракторе при постоянных параметрах гидромодуля и индекса кавитации, в зависимости от которых изменяется выход ПВ и их концентрация в жидкой фазе. Авторами было выявлено, что максимальный выход пектина из образцов различного вида сырья, приблизительно соответствующий равновесной концентрации в жидкой и твердой фазах, достигается при гидромодуле от 1:7 до 1:11. Недостатком данного способа считается низкая концентрация пектина в жидкой фазе, высокие энергозатраты на его выделение и сложность аппаратуры...» [44].

Авторами [60] разработан способ быстрого кислотного гидролиза пектина под воздействием сверхвысокочастотного излучения. Данный способ предусматривает «...смешивание пектинсодержащего сырья с кислым раствором в соотношении 1:25 (г/мл), гидролиз смеси в закрытом сосуде под действием микроволнового излучения с частотой 2450 МГц и энергией 630 Вт при температуре 80-125°C в течение 2-3 минут с последующим охлаждением, фильтрованием смеси для отделения пектинового экстракта 70%-ным изопропиловым спиртом (в соотношении 1:5) и дальнейшей 3-кратной промывкой 70%-ным тем же спиртом и 3-кратным 100%-вым спиртом, отжимом и высушиванием. К недостаткам рассматриваемого способа относятся: негативное воздействие сверхвысокочастотного излучения, приводящее к деградации компонентов КС растений, с образованием облученных и токсических веществ, в конечном итоге способствующие ухудшению качества ПП; использование спирта в большом количестве, что отрицательно воздействует на экологию окружающей среды и значительно повышает стоимость готового продукта...» [44].

В настоящее время спрос на пектин на мировом рынке постепенно растет. Традиционных источников содержащего пектин сырья – цитрусовых корок и выжимок яблок уже не достаточно для удовлетворения спроса на него. «...Пектин

из сахарной свеклы и КП является потенциальным источником для получения НМ-пектина, однако из-за отсутствия научно обоснованной технологической линии производства, коммерциализация их производства не налажена. С этой точки зрения очень интересным и перспективным сырьём могут являться также плоды тыквы...» [25, 26, 61].

«...Огромные сырьевые запасы и относительно низкая стоимость сырья дают предпосылки для разработки технологии получения тыквенного пектина. К настоящему времени, к сожалению, состав и свойства полисахаридов этого ценного сырья являются малоизученными...» [62, 44].

Несмотря на обилие традиционного сырья, ежегодно ухудшающаяся экологическая обстановка, резко возросшее количество заболеваний желудочно-кишечного тракта, нарушений обмена веществ и других органов и систем организма обуславливают увеличение потребности в производстве природных детоксикантов, одним из которых является пектин. В связи с этим проблема поиска новых потенциально перспективных источников ПВ является крайне актуальной. Одним из таких источников может стать ревеня скальный (*Rheum rurestre*) – многолетнее травянистое растение семейства Гречишных. Данный вид ревеня в больших количествах произрастает в горных районах Республики Таджикистан [23].

Традиционно, гидролиз-экстракцию КП проводят как с помощью хелатных агентов (0.75% раствор гексаметафосфата натрия (ГМФН)) [63, 64] при температуре 75°C, рН 3.5 в течение 1 часа, так и с использованием минеральных кислот в статическом режиме, при температуре 85°C в течение 1 часа с низкими значениями рН-среды от 1.05 до 1.6, соотношения твердой и жидкой фазы в обоих случаях одинаковы и равны 1:20. Полученный экстракт отделяют от остатков КС, нейтрализуют и из раствора выделяют пектин осаждением спиртом или кислотой. Осаждение раствора спиртом проводят трехкратным количеством этилового спирта для выделения пектина. Оставшийся водно-спиртовой раствор упаривают на ротаторном испарителе, отделяя ОС.

Для выделения ПП перспективными способами являются мембранные процессы разделения смесей. Учитывая, что в процессе разделения производительность мембраны со временем может значительно измениться в сторону падения потока над мембраной, необходимо правильно подобрать полупроницаемую мембрану с целью создания выгодных условий для проведения процессов. «...Во время микро- и ультрафильтрации технологических жидкостей на поверхности мембраны происходит образование слоя гелиевых отложений, что неизбежно приводит к уменьшению удельной скорости процесса (проницаемости мембраны), вплоть до его полной остановки. Для восстановления пропускающей способности мембраны необходимо проводить ее периодическую регенерацию, что является неотъемлемым элементом при осуществлении любого мембранного процесса. В конечном итоге эффективность регенерации определяет срок службы мембран в установках микро- и ультрафильтрации, а, следовательно, и экономическую составляющую используемого мембранного процесса...» [65-70].

«...В процессах микро- и ультрафильтрации падение потока часто сопровождается ситуацией, когда в процессе разделения смесей поток составляет менее 5% от потока чистой воды, причиной которого может быть концентрационная поляризация и адсорбция на поверхности мембран с образованием слоя гелиевых отложений и блокировки пор... » [38, 66-70, 71, 72, 73]. Данные факторы, величина которых «...сильно зависит от типа мембранного процесса и свойств раствора (потока), подающегося на мембрану, оказывают дополнительное сопротивление транспорту веществ через мембрану... » [44, 72, 73]. «...Это явление особенно характерно для растворов высокомолекулярных соединений и белков. В случае пористых мембран некоторые компоненты могут проникать внутрь мембраны и блокировать поры. Это дополнительное сопротивление называют сопротивлением заблокированных пор...» [44, 66-70]. Как было отмечено выше, одним из факторов в результате которого происходит дополнительное сопротивление на мембране являются адсорбционные явления,

происходящие как на поверхности мембраны, так и на стенках пор. Уменьшение потока также отрицательно влияет на технико-экономические показатели мембранного процесса разделения, в связи с этим, для предотвращения данного негативного явления нужно принять определённые необходимые меры по устранению причин и созданию наиболее благоприятных условий для проведения процесса [70, 72, 74].

«...Процессы мембранного разделения имеют большое значение в пищевой промышленности, из-за их способности осуществляться в обычных условиях, и не сопровождаются фазовыми изменениями или воздействиями химических агентов. В работе [66] приводятся результаты использования мембранных процессов для депектинизации при очистке фруктовых соков. Изучено, что процесс оптимизации и очистки сока яблока происходит при использовании мембранного ферментсодержащего реактора в лабораторных условиях и на полупромышленном оборудовании. В качестве характеристики мембранной системы исследована проникающая способность вещества и степень депектинизации. Была проведена оценка воздействия различных параметров (трансмембранное давление, скорость потока, подача смеси и т.д.) на загрязнение мембраны и механизм загрязнения интерпретировался в терминах полного блокирования пор или фильтрационной пробки. Поток растворенного вещества улучшается с увеличением процентного содержания фермента в подаваемой смеси...» [44, 66].

«...Запатентован способ очистки пектинсодержащего раствора УФ через мембраны, пропускающие вещества с ММ 6 000-20 000 Да [74] 75. Предварительно отфильтрованный пектиновый гидролизат кислотность которого устанавливается NH_4OH до pH 3.5 ультрафильтруют через коммерческую мембрану (IL-100 Ayahi Kasei Co) при 60°C в течение 3 часов под давлением 1 кг/см². При этом получают пектиновый препарат с градусом студнеобразования 1900 SAG...» [44, 75].

«...Предложен способ осветления плодово-ягодных и овощных соков (яблочного, цитрусового, виноградного, морковного, земляничного, свеклового) с последующим выделением пектина на УФ мембране...» [44, 74]. К примеру, в данной работе «...фруктовые или овощные соки из яблок, клубники и свеклы, обрабатывали 2 и более циклами УФ с получением очищенного сока и чистого пектина. Например, сырой яблочный сок нагревали до 57-59°C, pH поддерживали в пределах 3.5-4.0 и подвергали УФ через трубчатую мембрану, задерживающую вещества с ММ 20000, с выходом очищенного сока и сырого пектинового концентрата. Концентрат разбавляли и вновь ультрафильтровали с получением более чистого пектина и вторичного сока...» [44, 74].

Известен «...способ экстракции пектина и других органических веществ из растительных отходов [76], предусматривающий гидролиз-экстракцию сырья, разделение пульпы на жидкую и твердую фазы в поле центробежных сил, микрофильтрацию жидкой фазы, концентрирование фильтрата на ультрафильтрационных мембранах на твердой подложке, последующее сгущение в вертикальном двухкорпусном прямоточном вакуум-выпарном аппарате циркуляционно-пленочного типа и сушку. Причем сырье предварительно измельчают до крупности частиц не более 1 мм, смешивают с водой при гидромодуле 1:8-10 и проводят гидролиз-экстракцию в аппарате вихревого слоя ферромагнитных частиц в течение 1-3 мин при частоте электромагнитного поля 50 Гц...» [76].

В работе [77] для выделения свекловичного пектина из свежего и высушенного свекловичного жома методом кавитационно-кислотной экстракции была исследована возможность концентрирования ПВ диа- и УФ из солянокислых экстрактов. Для чего, «...полученные экстракты центрофугировали и фильтровали через фильтр-ткани (бельтинг) и далее подвергали процессу концентрированию на УФ установке с использованием полуволоконных мембранах ВПУ-15 с фильтрующей поверхностью 6 м². Были установлены оптимальные режимы процессов концентрирования и очистки

экстрактов УФ: температура – 40-45°C, давление – 0,2 МПа...» [44]. Авторами также было отмечено, что концентрат после УФ наряду с ПВ содержал такие побочные вещества, как минеральные вещества, сахар, соли, красящие вещества, что свидетельствует о частичной очистке пектинов УФ концентрированием. В связи с чем, при концентрировании и очистки ПВ для отделения высокомолекулярных фракций от низкомолекулярных рекомендуется применять диафильтрацию.

В работе [78] исследована микрофильтрация растворов цитрусового и яблочного пектинов с иммобилизованной пектиназой. В качестве мембраны была использована трубчатая макропористая титановая мембрана диаметром 1,6 см, а скорость поперечного потока через мембрану достигала до 1,64 м/с. Также было проведено сравнительное изучение скорости потока через мембрану без иммобилизованной пектиназы и установлено, что при значениях скорости поперечного потока, равным 0,80 и 1,2 м/с, величина потока была значительно выше через мембрану в случае с использованием иммобилизованной пектиназы. Полученные результаты в данной работе свидетельствуют о том, что использование иммобилизованной пектиназы в процессе микрофильтрации способствует увеличению промежуточной области скорости поперечного потока через мембрану. Следует отметить, что в целях создания условий к увеличению потока в процессе с иммобилизованной пектиназой была уменьшена поляризационная концентрация с отводом поляризационного слоя. [78].

В работе [79], «...для депектинизации непрозрачного сока, полученного в результате прессования яблок было использовано различное количество коммерческой пектиназы Pectinex 3XL (0-400 ppm). Процесс осуществлялся в пакетном реакторе при 55°C в течение 2 часов. Далее полученная смесь поступал в УФ установку с мембраной покрытой окисью циркония (ZrO_2) с пропускной способностью 15 000 Да. Установлено, что выход растворенного вещества после мембранного разделения был пропорционален содержанию пектина в растворе подаваемого в установку УФ...» [38, 44, 79].

«...Известно, что в процессе УФ концентрировании высокие значения вязкости растворов отрицательно влияют на массообмен, снижая его эффективность [70]. В работе [71] показано, что увеличение объёмной вязкости, при концентрировании растворов, может увеличить или уменьшать коэффициент массообмена в зависимости от режима потока. При ламинарных потоках увеличение объёмной вязкости усиливает скалывающее напряжение в мембранной поверхности, которое приводит к улучшению массообмена. При турбулентном потоке, сопровождающем увеличением объёмной вязкости, происходит падение коэффициента массообмена...» [38, 70, 71]. Влияние этих режимов на массообмен демонстрировалось при изучении взаимосвязи скорости потока и концентрации для полисахаридов камеди, ксантана и пектина.

Интерес исследователей к пониманию основных факторов, ограничивающих производительность мембранных процессов с поперечным потоком, и поиск решений явления снижения потока из-за поляризации концентрации и загрязнения мембраны привело к модификации поверхности мембран и потока с целью уменьшения образования вторичного или гелевого слоя [72].

Модификация потока в мембранной фильтрации с поперечным потоком считается как один из наиболее многообещающих методов. Концепция периодического включения обратной подачи потока в трубчатых УФ модулях для усиления производительности мембран была исследована в лабораторной установке для концентрирование яблочного сока. Результаты показали, что за счёт изменения направления потока возможно значительное увеличение производительности по пермеату, и это можно «...использовать в качестве эффективного средства для смягчения вредного воздействия мембранного загрязнения и концентрационной поляризации...» [72, 80].

Кассано и соавт. [81] осветлили свежий депектинизированный сок киви с использованием УФ-установки с мембраной мембранным модулем (MWCO), пропускающей вещества с молекулярным весом 15 кДа и обнаружили, что поток

увеличивается при температурах от 20 до 30°C и давлении 90 кПа при скорости подачи в осевом направлении от 300 до 700 л/час. Авторы [82] использовали мембрану MWCO 15 и 50 кДа для осветления яблочного сока с тангенциальным потоком 2 и 7 м/с и трансмембранным давлением (ТМД) 150 и 400 кПа. Средний поток пермеата варьировался от 56 до 157 л/(м²ч), и было обнаружено, что набор переменных (цвет, прозрачность и мутность сока) значительно улучшился после УФ. Эти же авторы [82] сообщили о влиянии скорости поперечного потока, ТМД и MWCO на загрязнение мембраны в процессе УФ яблочного сока. Результаты показали, что мембранное загрязнение было низким при высокой скорости подачи (7 м/с) и низком ТМД (150 кПа). Оптимальные условия концентрирование сока составляли 400 кПа и 2 м/с. При высоком давлении высокая скорость потока снижала скорость загрязнения, улучшая средний поток пермеата, но при этом потребление энергии несколько увеличивался.

Основным ограничивающим фактором в процессах мембранной фильтрации является уменьшение скорости потока со временем из-за загрязнения мембраны, что снижает эффективность процесса [73]. Загрязнение также влияет на уменьшение скорости потока, что является необратимым явлением и может быть удалено ферментативной [83, 84] или химической очисткой [85]. Нонг-Сюэ и соавт. [86] изучали условия УФ разделения яблочного пектина и взаимосвязи между относительными молекулярными массами, а также их структурой и параметрами УФ. Содержание ГК, СЭ и гелеобразование пектина увеличиваются с увеличением его ММ и относительным составом моносахаридов, но содержание ГК в пектинах с ММ 5-10 кДа было только ниже, чем в пектинах с ММ 100-300 кДа и более 300 кДа.

1.4 Моделирование технологических процессов в производстве пектина

«...Компьютерные информационные технологии расширили возможности моделирования, и сегодня трудно представить научно-исследовательскую и серьезную проектную деятельность без использования методологии и

современных средств построения и использования моделей. В рыночных условиях успешное ведение бизнеса требует оптимизации всего производственного цикла для минимизации расходов производства...» [80]. На перерабатывающих пищевых предприятиях при разработке новых продуктов питания все больше используется системное моделирование, основным принципом которого является декомпозиция сложной биосистемы, каковыми, в частности, являются технологические процессы производства.

В работе [80] «...при расчете математических моделей стадии технологического процесса производства пектина были использованы модели авторегрессии с проинтегрированным скользящим средним на основе построенного данных натурального эксперимента. Предложена принципиальная схема управления технологическим процессом производства пектина на основе разработанных алгоритмов...» [80].

В технологии производства ПП одним из основных процессов является гидролиз-экстракция, от чего напрямую зависит качество конечного продукта и его выход.

Например, авторы [87] рассматривают оптимизацию параметров «...экстракции пектина из морковной выжимки раствором лимонной кислоты с использованием метода центрального эксперимента с композитным дизайном (ЦЭЖД) с четырьмя переменными: рН, температурой, временем и соотношением жидкости и твердого вещества (Ж:ТВ) экстракции пектина...» [80, 87].

В работе [88] построена математическая модель процесса экстракции яблочного НМ-пектина и определено «...влияние концентрации кислоты на время проведения процесса и выход пектина. Установлено, что проводимая экстракция и качества получаемого пектина напрямую зависят от типа и концентрации кислоты и его времени воздействия и температуры процесса...» [88]. Предлагаемые математические модели должны хорошо предсказывать улучшение таких параметров, как количество получаемого пектина и его СЭ.

В работе [89] представлены результаты математического моделирования процесса виброэкстракции ПВ из свекловичного жома. «...Скорость процесса

экстрагирования зависит от следующих факторов: величины движущей силы процесса; скорости каждой из стадий процесса; размера и формы частиц; вида слоя частиц, который они образуют (подвижный, неподвижный); соотношения масс экстрагента и твердых частиц; характера относительного движения твердых частиц и экстрагента (прямоток, противоток, рециркуляция жидкости); скорости движения фаз; температуры...» [89].

Считается, что «...в тех случаях, когда лимитирующей стадией процесса является массоотдача от поверхности частиц к экстрагенту, возникает необходимость применять перемешивание, вибрацию и другие средства, интенсифицирующие массоотдачу...» [90]. Перенос вещества диффузией и конвекцией описывается с помощью дифференциальных уравнений параболического типа.

Однако, для систематизации всего производства необходима модель отдельного процесса и управление в рамках единого технологического цикла.

Для исследования технологических процессов и оптимизации режимов их проведения используются математические модели, представляющие собой системы дифференциальных уравнений, критериальные уравнения и уравнение регрессии. Особенно часто при моделировании применяют решение системы дифференциальных уравнений, при этом по экспериментальным данным определяют константы уравнений и их зависимость от различных факторов. Однако, данный вид моделирования относится к одному из наиболее сложных и подробно изложен в [91].

В технологии производства ПП при проведении гидролиз-экстракции протекают сложные физико-химические процессы и при этом свойства полученных продуктов, главным образом, зависят от условий проведения процесса с учетом регулирования всех технологических параметров (температуры, продолжительности, величины рН, гидролиза, и др.) [80].

Следует отметить, что отсутствие аналитических моделей, позволяющих быстро и точно оценивать те закономерности, которые происходят в процессах гидролиза и экстракции, вызвало необходимость моделирования

технологических процессов и проведения инженерных расчетов для выделения ПП из растительного сырья и их дальнейшей очистки, что способствовало установлению оптимальных технологических параметров в сторону повышения качества и выхода конечного продукта [92, 93].

Таким образом, моделирование и проведение инженерных расчетов для оптимизации параметров более сложных процессов технологии ПП позволяют не только установлению оптимальных технологических параметров в сторону повышения качества и выхода конечного продукта, но и исследованию и прогнозированию протекания контролируемых физико-химических процессов.

В производстве пектина процессы концентрирования и очистки пектиновых экстрактов являются наиболее сложными и дорогостоящими. В связи с этим возникает задача разработки методов очистки и концентрирования пектиновых растворов с применением энергосберегающих технологий, не нарушающих нативную структуру и свойства молекул пектина. «...Наиболее перспективным способом в этом плане является сочетание процессов очистки пектиновых растворов методом ДУФ и их концентрирование УФ в лабораторных и полупромышленных условиях...» [54, 94]. Этот метод значительно снижает энергозатраты при производстве, поскольку оба процесса осуществляются в одном цикле, а сам процесс может проводиться при комнатной температуре.

1.5 Проблема рационального использования молочной сыворотки

МС занимает особое место среди различных видов молочного сырья. В настоящее время в молочной промышленности для создания малоотходной и ресурсосберегающей технологии из МС вырабатывают молочно-белковые концентраты, которые используются для обогащения молочных продуктов белками. Данная тенденция связана с нехваткой пищевого белка в питании человека, которая, вероятно, сохранится – являясь незаменимой частью пищи, белки не накапливаются в резерве и не образуются из других пищевых веществ [95]. Увеличение производства творога и творожных изделий, а также сыров

приводит к значительному увеличению количества МС как побочного продукта переработки молока. МС имеет высокую пищевую и биологическую ценность. Она содержит около 50% сухих веществ молока. Энергетическая ценность, за счёт высокого содержания лактозы, составляет 35% от цельного молока [96]. Основная часть белков молока представлена казеином (78-85%). Массовая доля казеина в молоке 2,1-2,8%. Компонентами (фракциями) казеина являются: α -, β -, и κ -казеины. Сывороточными белками молока являются β -Lg, α -La, иммуноглобулины (Ig), лактоферрин, альбумин, лизоцим, лактопероксидаза, подсырная сыворотка содержит еще и гликомакропептид [97, 98].

«...Сывороточные белки (~3г/л), которые являются важным компонентом МС, оптимально сбалансированы по аминокислотному набору, особенно серосодержащих аминокислот цистина и метионина, что создает возможности для регенерации белков печени, гемоглобина и белков плазмы крови...» [99]. «...Аминокислотный состав сывороточных белков наиболее близок к аминокислотному составу мышечной ткани человека, а по содержанию незаменимых аминокислот и аминокислот с разветвленной цепью: валина, лейцина и изолейцина, они превосходят все остальные белки животного и растительного происхождения. Кроме того, примерно 14% белков МС находится в виде продуктов гидролиза (аминокислот, ди-, три- и полипептидов), которые являются инициаторами пищеварения и участвуют в синтезе большинства жизненно важных ферментов и гормонов. Также белки МС заметно снижают уровень холестерина в крови и обладают защитными функциями, в частности, лактоферрин обладает железосвязывающей способностью...» [100]. «...Лактоферрин имеет большое значение для развития новорожденных детей, так как он предотвращает рост *E. coli*, стафилококков, *Candida albicans* в организме и транспортирует необходимые для ребенка ионы железа...» [97].

Иммуноглобулины обладают активностью антител против соответствующих антигенов. Лизоцим оказывает прямое литическое действие на бактерии, разрушая их оболочку. Кроме того, «...лизоцим способствует антибактериальному действию антител. Альбумин сыворотки крови также

находят в сыворотке молока, куда он попадает из крови в неизменном виде...» [100]. Минеральные соли сыворотки идентичны солям цельного молока и содержат «защитные» комплексы антисклеротического действия [98].

LgC как структурирующая пищевая добавка используется при производстве кисломолочных продуктов (йогуртов, йогуртов с пробиотиками и др.) и продуктов детского питания. β -Lg обладают комплексо- и гелеобразующими свойствами с другими природными полимерами, что дает возможность использовать их в качестве структурирующей добавки. α -La используется как пищевая добавка в питании для детей [95-98, 101].

Проблема использования МС является актуальной во всем мире. Необходимость переработки МС объясняется не только экономической целесообразностью, но также и проблемой ухудшения состояния окружающей среды. Таким образом, проблема использования сыворотки неразрывно связана с проблемой охраны окружающей среды [95, 96].

Основная часть МС в республике продается хозяйствам или попросту сливается. По имеющимся данным на перерабатывающих предприятиях Республики, которых насчитывается около 90, в день вырабатывается около 70 тонн различной сыворотки. Причины, сдерживающие переработку сыворотки, – незначительные инвестиции в молочную промышленность, отсутствие средств на внедрение современных технологий и покупку оборудования, недостаточная информация о преимуществах продуктов из сыворотки.

На сегодня в США и Европейских странах вырабатываются различные продукты из МС. Например, стоимость казеина, полученного из этого сырья, составляет 2750 долларов США за тонну, сухой МС – 1764 долларов США, причем в Европейских странах цена сухой МС достигает 2300 долларов США. Из МС также получают сладкую сыворотку по цене 625-700 долларов США и концентрат сывороточных белков с содержанием сухих веществ 34% по цене 1400 долларов США. Также не следует сбрасывать со счетов и экологический

аспект: 1 т МС, сливаемой в канализацию, загрязняет водоемы так же, как 100 м³ хозяйственно-бытовых стоков [96].

Сывороточные белки, составляющие почти 20% белков молока, являются незаменимым источником высококачественного белка и могут найти применение в производстве спортивных, диетических и безалкогольных напитков. Однако из-за нехватки технологических процессов переработки они не нашли широкого применения. Эти имеющиеся на настоящий момент ограничения требуют разработки новых способов переработки МС и рационального использования различных компонентов данной физиологически значимой пищи с различными функциональными свойствами. Одним из направлений развития отраслевой науки является разработка принципиально новых оригинальных процессов и технологий рациональной переработки молочного сырья на основе глубокого фракционирования его компонентов. На наш взгляд, приоритетным направлением в решении озвученных выше проблем является внедрение мембранных технологий, предусматривающих эффективную переработку МС с целью последующего использования полученных полуфабрикатов в технологии новых пищевых продуктов и медикаментов.

В работе [102] нами изучено комплексообразование LgC с различными пектинами и показано, что между этими биополимерами образуется два вида комплексов – растворимые и нерастворимые. Эти комплексы могут найти применение при создании носителей лекарственных веществ в виде эмульсий и в гелевых формах.

Переработка МС по-прежнему является серьезной проблемой для молочной промышленности. МС содержит 5-6% сухих веществ, в том числе лактозу, содержание которой составляет в среднем около 70% от общего количества сухих веществ [103]. В Таджикистане долгое время из-за отсутствия экономически эффективной технологии переработки МС ее большая часть считалась отходом и сливалась в сточные воды [104]. Следовательно, не только

уничтожался очень ценный пищевой продукт, но и наносился ущерб окружающей среде.

Кроме того, существуют проблемы с производством сахара, а импорт этого продукта в Таджикистан очень дорог. Переработка лактозы для получения ГГС позволяет использовать этот новый продукт в качестве сахарозаменителя, что положительно сказывается на политике импортозамещения в республике.

Поэтому комплексная переработка с использованием и разработкой новых методов получения компонентов МС в республике является актуальной задачей.

1.6 Характеристика, свойства и применение зеина

1.6.1 Характеристика и свойства зеина

«...Зеины относятся к белкам семян злаковых культур и обладают высокой пищевой ценностью и представляют особый интерес для их использования при производстве продуктов питания. Кроме того, они отличаются полиморфизмом и широко используются как эффективные белковые маркеры в генетике и селекции...» [105-107]. Именно, благодаря уникальным физико-химическим, биологическим и механическим свойствам, в последние годы область их применения расширяется с перспективой создания упаковочных материалов и систем направленного транспорта лекарственных средств [108-115].

Исследования показали, что «...зеины, основные белки зерна кукурузы, синтезируются на полисомах, которые прикрепляются на поверхности эндоплазматического ретикулума или вакуолей. Это многокомпонентные белки с высокой агрегирующей способностью состоят из четырёх различных классов: α -, β -, γ - и δ -зеинов, отличающихся по ММ и расположению в белковых тельцах. Растворимость зеинов зависит от последовательности аминокислотных остатков в молекуле белка. α -зеин составляет 75-85% общего количества белка, построен из двух полипептидных цепей массой 23000-24000 и 26500-27000 Да, соответственно, β -зеин (17 500 Да) и γ -зеин (21 800 Да) составляют 10-15% и 5-10% от общего количества белка, соответственно. Белок γ -зеин состоит из трёх доменов: N-

концевого пролина – богатого домена, центральной части и большого С-концевого цистеина – богатого домена. Белок γ -зеин, повторяющийся домен белок кукурузы с N-концевым пролиновым остатком (γ -ZNPRD), расположен на поверхности протеиновых тел. Пептиды в молекуле зеина в водном растворе принимают спиральную конформацию типа полипролин II (РПИ) структуру, в которой спираль имеет длину 15.3 нм и диаметр 1.2 нм (рисунок 1.6.1.1, а) ...» [115, 116].

Предполагают, что «... γ -ZNPRD может быть сформирован амфипатическими спиральями, заряженными гистидином в боковой цепи, который является гидрофильным, а также валином и лейцином в боковой цепи – гидрофобными остатками. Зеин может формировать различные агрегаты диаметрами от 6 до 20 нм цилиндрической формы (рисунок 1.6.1.1, б) ...» [115].

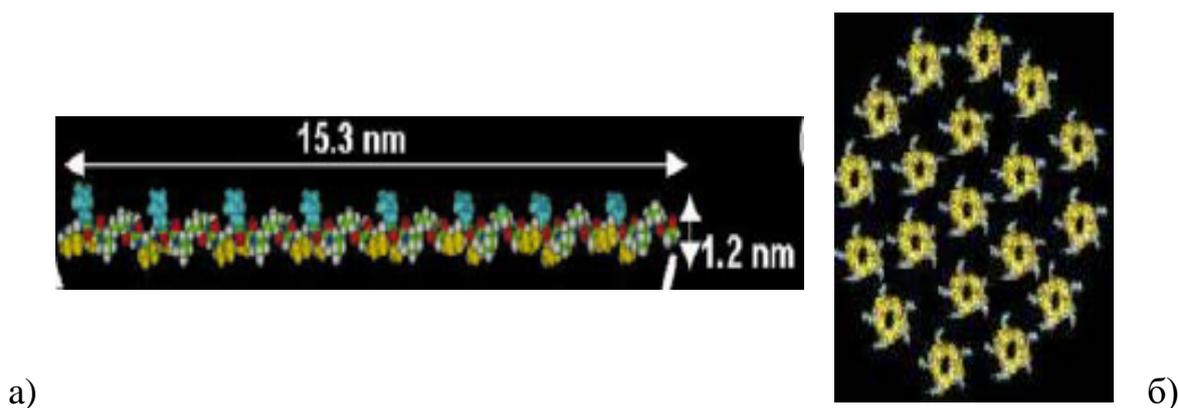


Рисунок 1.6.1.1. – (а) Отдельная молекула октамера смоделирована на основе структуры РПИ. Гидрофобные аминокислоты лейцин и валин, имеющие нелинейные боковые цепи выделены в белые кружочки, а полярные боковые цепи гистидина как лопасти; (б) Схематический наклонный обзор агрегирования мицелл демонстрирует формирование большего диаметра суперструктур в форме цилиндра [115].

В работе [117] «...для исследования полипептидного состава и агрегирующих свойств зеинов был проведён электрофорез белков в 14% ПААГ в присутствии додецилсульфата натрия (SDS-Na), что позволило выявить около 7 компонентов, отнесённых к α -, β -, γ -зеинам и их димерам и тетрамерам...» [117].

1.6.2 Применение зеина

«...На протяжении последних лет белки семян злаковых культур интенсивно исследуются, что связано не только с получением полноценного продукта питания. Спектр их применения значительно вырос. Так спирторастворимые белки кукурузы – зеины – в последние годы используются как альтернатива различным коммерческим пластмассам на основе нефти. Причём упаковочные пленки и биопластики на основе зеина производят стандартным методом – экструзией (выдавливанием)...» [111-114].

Вместе с тем, «...зеины обладают прекрасными плёнкообразующими свойствами. Для этого требуется лишь незначительная модификация, улучшающая свойства зеиновых плёнок с помощью таких сшивающих агентов, как формальдегид, глутаральдегид, эпихлоргидрин, лимонная кислота, крахмал и др. [110-114]. Гибкие зеиновые плёнки в последние годы находят широкое применение в медицине и пищевой промышленности. Исследование свойств этих уникальных по структуре белков может значительно расширить спектр их применения...» [117].

«...Зеин был использован в качестве материала, способствующего постоянному высвобождению биологически активных молекул из микросфер, гидрогели, пленок и таблеток...» [108, 109]. «...Ивермектин и херапин были выбраны в качестве жирорастворимых и водорастворимых лекарственных моделей. Пленка, насыщенная херапином или таблетка, насыщенная ивермектином, приготовлены на основе микросфер зеина, насыщенных лекарством, которые были получены методом разделения фаз и характеризированы сканирующей электронной микроскопией и лазерным световым рассеянием по крупности частиц. Была проведена оценка биосовместимости зеина, включающего аллантаоидную (пупочную) вену человека с эндотелиальными клетками и гемосовместимостью. Затем было определено высвобождение в искусственных условиях лекарств из микросфер, пленок и таблеток. Результаты показали, что зеин и его деградированный

продукт обладали лучшей биосовместимостью; размеры микросфер были 10 мкм и зависели от условий приготовления, концентрации зеина и лекарственных средств. Лекарство в микросферах, пленках и таблетках высвобождалось медленно, по механизму диффузии лекарств через матрикс (межклеточное вещество). Более того, лекарства сохраняли высокую активность. Такая СДЛ к нужному участку стала быстро развиваться и широко используется во многих областях, включая фармацевтику, сельское хозяйство, косметологию, пищевую промышленность и т.д....» [108-111, 116, 117].

Белки растительного происхождения совместно с другими пищевыми полимерами, как вспомогательные вещества, способны значительно увеличить время действия и снизить токсичность вводимых в организм лекарственных веществ [107]. С этой точки зрения особый интерес представляют белки зерна кукурузы, выращенной в условиях Таджикистана. Основную часть белков кукурузы составляет спирторастворимая фракция – зеины. Зеины за счёт высокого содержания аминокислот, лейцина, изолейцина, валина и фенилаланина, обладают высокой гидрофобностью. Низкое содержание основных аминокислот – лизина и аргинина в структуре его молекулы определяет слабое межмолекулярное электростатическое взаимодействие. Зеины, выделенные экстракцией (водным этанолом) из кукурузной муки, представляют смесь, состоящую из ковалентно связанных полимеров и агрегатов высокомолекулярных соединений [118].

1.7 Пектин как гелеобразующий биополимер

«...Известно, что гелеобразование высокомолекулярных соединений вызвано состоянием агрегации их молекул в растворе, когда цепные молекулы, связанные друг с другом через функциональные группы ионными, водородными или дипольными связями, образуют непрерывную твердую фазу, сохраняя ту или иную степень сольватации под действием полярных атомов, и могут

содержать наибольшее количество раствора низкомолекулярных веществ...» [44].

В зависимости от СЭ карбоксильных групп, коммерческие пектины классифицируются как ВМ-пектины (СЭ >50%) и НМ-пектины (СЭ <50%) [52]. В общем, ВМ-пектин образует гель в кислой среде (обычно рН 2.5-3.2) и в присутствии низкомолекулярных веществ, таких как сахароза и кальция [119-121].

Основными продуктами гелеобразования пектинов в пищевой промышленности являются джемы и варенье. Условия с высоким содержанием растворенного сахара и кислоты в растворе благоприятствует образованию межмолекулярных взаимодействий нежели внутримолекулярных. Большинство межцепных взаимодействий в полимерных системах не основано на электростатических взаимодействиях, поэтому гидрофобные и водородные связи оказывают наибольшее влияние при формировании полимерных гелей. Системы с высоким содержанием сахара также способствуют низкой активности воды, что приводит к формированию сетки. Эти явления встречаются в системе ВМ-пектинов быстрой (СЭ ~77) и медленной (СЭ ~60) садки. ВМ-пектины с высоким содержанием гидрофобных групп проявляют медленное гелеобразование, что является удобным для пищевиков при получении желирующих продуктов.

«...Пектины, являясь типичными гелеобразующими агентами, традиционно применяются в производстве различных желе и кондитерских изделий, также нашли применение в других пищевых, профилактических и фармацевтических продуктах, таких как безалкогольные напитки и молочные продукты, детское питание и системы доставки лекарственных средств...» [50-52, 44, 122]. Пектины могут эффективно связываться через боковые цепи и с такими природными компонентами, как целлюлоза и крахмал, образовывать полиэлектролитные комплексы с хитозаном и участвовать в реакциях Майяра с белками. И пектин, и крахмал обычно используются в пищевой промышленности, поэтому применение систем пектин/крахмал с добавлением

сахарозы может быть использовано для улучшения текстурных свойств пищевых продуктов. Комбинация пектина, хитозана и антоциана может быть использована для контроля качества пищевых продуктов. Правильно приготовленные пектин-белковые системы могут применяться для производства пищевых эмульсий благодаря их эмульгирующим свойствам [122].

Пектин представляет собой водорастворимый полисахарид (ВРП), который намеренно добавляется в пищевые системы для улучшения их функциональных свойств. Наиболее важными функциональными свойствами ВРП является их способность связывать воду и повышать вязкость продуктов. ВРП широко используются в качестве стабилизаторов и загустителей для контроля текстуры полутвердых пищевых продуктов [123]. Таким образом, пектин, в пищевых продуктах, ценится благодаря таким функциональным свойствам, как повышение вязкости, образование геля и стабилизация белка [124].

«...Механизм гелеобразования ВМ- и НМ-пектинов отличается: ВМ-пектины образуют гелевую структуру в присутствии сахаров и при низкой кислотности за счет водородных связей [119, 120]; в то время НМ-пектины формируют структуру геля посредством ионов кальция...» [50-52, 44, 124-127] (рисунок 1.7.1).

Механизм формирования гелевой структуры в процессе гелеобразования является сложным, но его принципы хорошо известны и описаны в литературе [128]. Общеизвестно, что при формировании геля и вода может быть включена в сетку геля, когда зоны соединения в гладких областях (HG) молекул пектина образуют трехмерную сеть через специфическую межмолекулярную связь.

Считается, что типичное образование сахарно-кислотного геля ВМ-пектина представляет собой двухстадийный процесс с двумя типами взаимодействий: высокая концентрация сахара снижает взаимодействие пектин-растворителя и способствует образованию гидрофобных связей между метоксильными группами полигалактуроновыми кислотами.

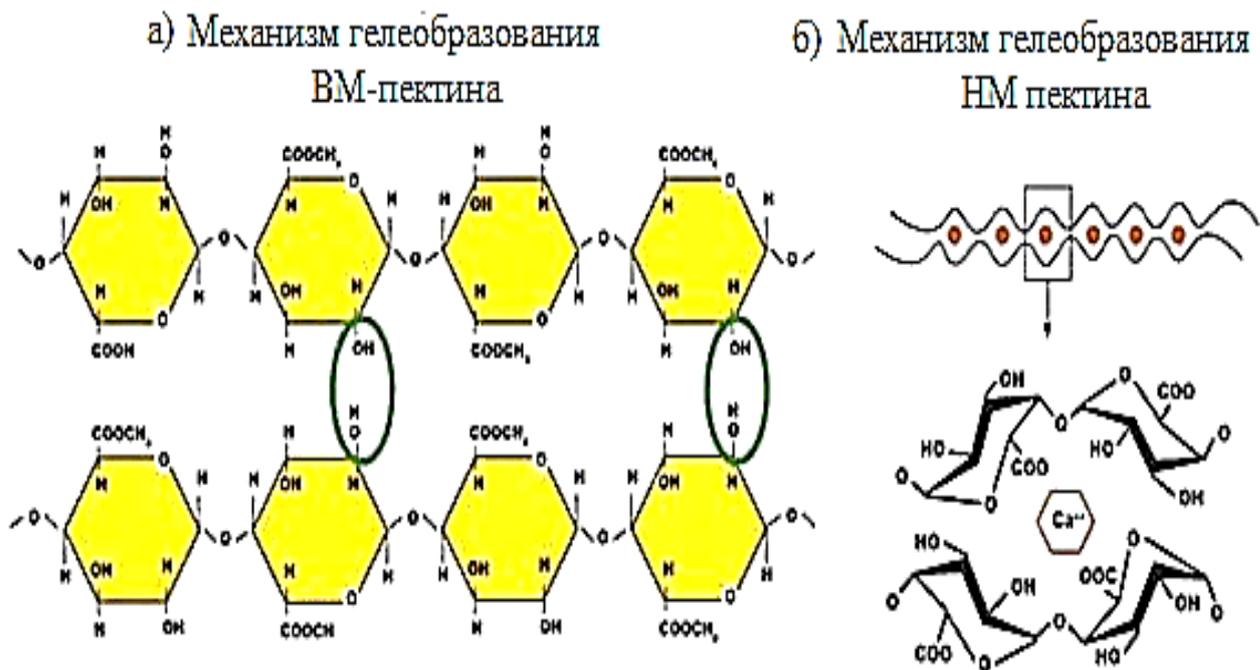


Рисунок 1.7.1. – Механизмы гелеобразования: а) ВМ-пектина и б) НМ-пектина [52].

Эти взаимодействия доминируют при более высокой температуре. Низкое значение pH уменьшает диссоциацию карбоксильных групп. Как следствие, подавляется электростатическое отталкивание между молекулами пектина и могут образовываться водородные связи между недиссоциированными карбоксильными группами и вторичными гидроксильными группами.

Последний процесс доминирует при низких температурах [119, 129-132]. Поэтому наиболее важными факторами процесса структурирования НМ-пектина и свойствами геля являются как внутренние переменные молекул пектина (СЭ, распределение сложноэфирных групп вдоль основной цепи пектина, ММ, боковые цепи нейтрального сахара и плотность заряда), так и внешние факторы (рН, ионная сила, растворимые твердые вещества, количество и температура пектина). Помимо типа пектина и буферной системы, скорость охлаждения влияет на упругие свойства образования пектиновой структуры [119, 129-133].

Поэтому Рао и Кули [134] пришли к выводу, что условия охлаждения должны контролироваться для достижения оптимальной структуры геля.

«...Знание структурирующих свойств, в частности, температуры гелеобразования пектинов имеет существенное технологическое значение и, таким образом, точное определение температуры гелеобразования, т.е. «точка геля», при которой материальные свойства изменяются от жидкости к более твердым, было изучено в течение нескольких десятилетий. Основной механической характеристикой пектиновых гелей, как и чистых высокополимеров, является сочетание высокоэластической деформации с текучестью при напряжениях сдвига, превышающих предел упругости...» [44, 127, 135, 136].

«...Исследователи из CP Kelco [137] определили температуру гелеобразования через проводимость, другие использовали ЯМР-спектры [138], а также относительно простые визуальные тесты...» [139, 140].

1.7.1 Механизм гелеобразования пектинов

1.7.1.1 Поведение пектинов в концентрированных растворах

«...Процесс гелеобразования ПП довольно сложный, его механизм в последние годы был расширен. Наиболее важными факторами, влияющими на прочность пектиновых гелей, все же остаются рН, концентрация Ca^{2+} и содержание растворимых сухих веществ (например, сахара)...» [139-144]. «...Одновалентные катионы, такие как натрий и калий, как полагают, связываются с пектинами только через электростатические взаимодействия и, следовательно, не вызывают образование структурированных гелей...» [145].

«...Специфические свойства пектиновых веществ – полиэлектролиты, проявляются в условиях, в которых их макромолекулы имеют локальные некомпенсированные заряды. Эти свойства в основном определяются взаимодействием заряженных групп полиионов между собой и с окружающими их низкомолекулярными противоионами...» [38].

«...На основании данных потенциометрического титрования НМ-пектина в работах [38, 141, 146] определены величины статической объемной емкости (E), характеристические константы ионизации (pKx) при различных значениях

степени ионизации (α), параметр «n» в уравнении Гендерсона-Гассельбаха и величине свободной энергии ($\Delta G_{\text{эл}}$). Показано, что величина pK_x увеличивается с ростом значения α , а зависимость pH от $\lg(\alpha/(1-\alpha))$, согласно уравнению Гендерсона-Гассельбаха, носит прямолинейный характер при величине $n = 2,1$. Данные по значениям $n > 1$ свидетельствуют о значительном влиянии соседних функциональных групп на ионизацию карбоксильных групп мономерных звеньев полигалактуроновых макромолекул. При ионизации макромолекул НМ-пектина происходят значительные конформационные изменения, обусловленные не только воздействием одноименных зарядов, но и разрушением или перераспределением водородных связей...» [38, 141, 146].

«...Ионизация НМ-пектинов является закономерный процессом, характерным для полимерных электролитов с учетом некоторых структурных особенностей, связанных с наличием внутримолекулярных водородных связей...» [38].

«...Гидродинамические свойства пектиновых веществ в разбавленном растворе были изучены методом вискозиметрии [146]. Следует отметить, что в литературе имеются многочисленные данные по измерению вязкости пектиновых веществ в разбавленном растворе, которые были использованы для расчета молекулярных масс. Однако данные разных авторов существенно отличаются друг от друга даже для одного и того же объекта исследования. Данное расхождение обусловлено несколькими факторами. К ним в основном относятся степень и распределение этерифицированных карбоксильных групп, соотношение гомо- и рамногалактуронановых цепей в макромолекуле и выбор диапазона концентраций при измерении вязкости растворов пектина...» [38].

«...Поэтому при выборе области концентрации и при переходе от разбавленного к умеренно концентрированному и концентрированному раствору и качества растворителя нами учитывались различные критерии, в частности, сравнение концентрации (C) с обратным значением характеристической вязкости ($1/[h]$) и оценка значений констант Хаггинса (K_1). Эти же критерии применялись для

растворов различной ионной силы (J), которая достигалась прибавлением в раствор различных количеств солей NaCl , KCl , CuCl_2 , CaCl_2 , AlCl_3 . Показано [146], что во всей области концентрации пектина и ионной силы достигается критерий $C \propto 1/[\eta]$, что свидетельствует о выполнении всех измерений вязкости в области разбавленных растворов. Величина K_1 увеличивается с ростом ионной силы раствора и в изученном интервале удовлетворяется критерий $K_1 > 0,5$, что соответствует понятию «плохой растворитель». При выполнении измерений в присутствии солей натрия и калия лишь при низких значениях ионной силы качество растворителя удовлетворяет критерию «хорошего растворителя» ($K_1 \geq 0,2-0,3$).

Во всех изученных системах кроме растворов, содержащих ионы кальция, происходит прямолинейное уменьшение величины $[\eta]$ с ростом ионной силы. В присутствии ионов Ca^{2+} величина $[\eta]$ увеличивается с ростом концентрации солей. Полученные результаты указывают на то, что если действие ионов щелочных металлов, меди и алюминия направлено на уменьшение эффекта полиэлектролитического взаимодействия в полимерной цепи вследствие частичного экранирования зарядов, то ионы кальция могут непосредственно взаимодействовать с карбоксильными группами пектиновых макромолекул. В связи с тем, что все измерения проводились в разбавленном растворе, где исключается межцепное взаимодействие, anomальное поведение ионов кальция следует целиком отнести к внутримолекулярному эффекту, который, по-видимому, обусловлен изменением формы полимерного клубка...» [141].

«...Другой подход при описании поведения анионных полисахаридов в концентрированных растворах в присутствии ионов металлов, основанный на ионообменной модели, применили Хоуг и Сидсрод [147], а также Кон с соавторами [148]. На многочисленных образцах, полученных в системе полиуроновых кислот, альгинатов и поликарбоксильных смол, они установили, что селективность взаимодействия полимера с ионами двухвалентных металлов располагается в следующей последовательности: $\text{Ba}^{2+} > \text{Sr}^{2+} > \text{Ca}^{2+} > \text{Mg}^{2+}$. Хотя

эта модель удобна с точки зрения описания физико-химических процессов при гелеобразовании, однако она не дает наглядной картины структурных особенностей образовавшейся полимерной сетки...» [38].

На основании вышеперечисленного авторы многих работ, изучавшие механизмы гелеобразования НМ-пектина предпочитают интерпретировать экспериментальные данные на основании модели «яичной коробки» (рисунок 1.7.1, б), когда в качестве анионного полисахарида НМ-пектина были использованы ОС альгинатов и полигалактуронаты пектинов [149-151]. Такое межмолекулярное связывание ионов кальция с полигалактуроновой кислотой было подтверждено Коном и Лукнармом [150] и Раванатом и Ринаудо [151].

Вместе с тем, «...модель «яичной коробки», хорошо описывающая поведение альгинатов и полигалактуронатов, не может быть в точности применена для описания поведения производных целлюлозы и декстрана...» [38]. Физико-химические методы широко используются для оценки характеристик биополимера, таких как жесткость цепи и размер цепи, которые тесно связаны со склонностью полимера к образованию агрегационных и высоко структурированных систем, таких как гели. Авторы [147] предложили по данным измерений характеристической вязкости при различной концентрации фоновых электролитов оценить параметр жесткости биополимеров «В» по уравнению 1.7.1.1.1:

$$S=B([\eta]_{0,1}) \nu, \quad (1.7.1.1.1)$$

Для чего было проведено «...измерение характеристической вязкости при различном содержании фонового электролита и построен график зависимости $[\eta]$ от $1/\sqrt{J}$, где J – ионная сила раствора. По наклону полученной прямолинейной зависимости была найдена величина (S), которая связана с параметром «В» из уравнения 1.7.1.1.1:

$$S = \frac{\Delta[\eta]}{\Delta(1/\sqrt{I})}, \quad (1.7.1.1.2)$$

где $[\eta]_{0,1}$ – характеристическая вязкость полимера, полученная в 0,1М растворе соли; ν – величина, изменяющаяся от 1,2 до 1,4. Для приближенной оценки величины «В» можно использовать среднюю величину ν , равную 1,3...» [38, 147].

«...Даже в присутствии солей щелочных металлов, где, по всей вероятности, отсутствует специфическое взаимодействие ионов с пектиновой макромолекулой, «В» имеет значение в десять раз меньше, чем для полиакриловой кислоты ($B=0,44$), что свидетельствует о более жесткой структуре цепи первой макромолекулы по сравнению со второй...» [38].

«...В присутствии ионов поливалентных металлов этот эффект еще больше усиливается и «В» принимает минимальное значение в системах, содержащих ионы кальция ($B=0,0035$), которое почти в полтора раза меньше, чем для такой жесткоцепной макромолекулы, как ДНК ($B = 0,0055$)...» [38, 147].

Данные таблицы 1.7.1.1.1 наглядно демонстрируют, что величина «В» в присутствии различных фоновых электролитов имеет небольшие значения, свидетельствующие об относительно высокой жесткости макромолекул НМ-пектина.

Таблица 1.7.1.1.1 – Значения $[\eta]_{0,1}$, S и «В» для НМ-пектина в присутствии различных солей в растворе [147]

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

Следовательно, «...характер изменения параметра «В» и, соответственно, жесткости макромолекул НМ-пектина является симбатным валентности ионов

металлов, за исключением ионов кальция, где имеет место специфическое ионное взаимодействие внутримолекулярного типа, приводящее к резкому увеличению жесткости макромолекул...» [38].

«...Характер зон поперечных связей достаточно хорошо изучен, в то время как природа взаимодействия дальнего порядка в гелях остается мало изученной. На рисунке 1.7.1.1.1 показаны схематические модели связывания пектиновых гелей посредством взаимодействия дальнего порядка...» [44]. Структуры, представленные на рисунке, обычно приведены в работах, посвященных гелеобразованию полисахаридов.

Как показано на рисунке 1.7.1.1.1 (а), эти «...псевдоэластичные сетки относят к энтропийным гелям. В качестве альтернативы (рисунок 1.7.1.1.1, б) приводятся энтальпийные гели, в которых поперечные связи действуют как липкие смазанные участки (пятно) связывания молекул внутри вытянутой разветвлённой волокнистой структуры...» [44, 152].

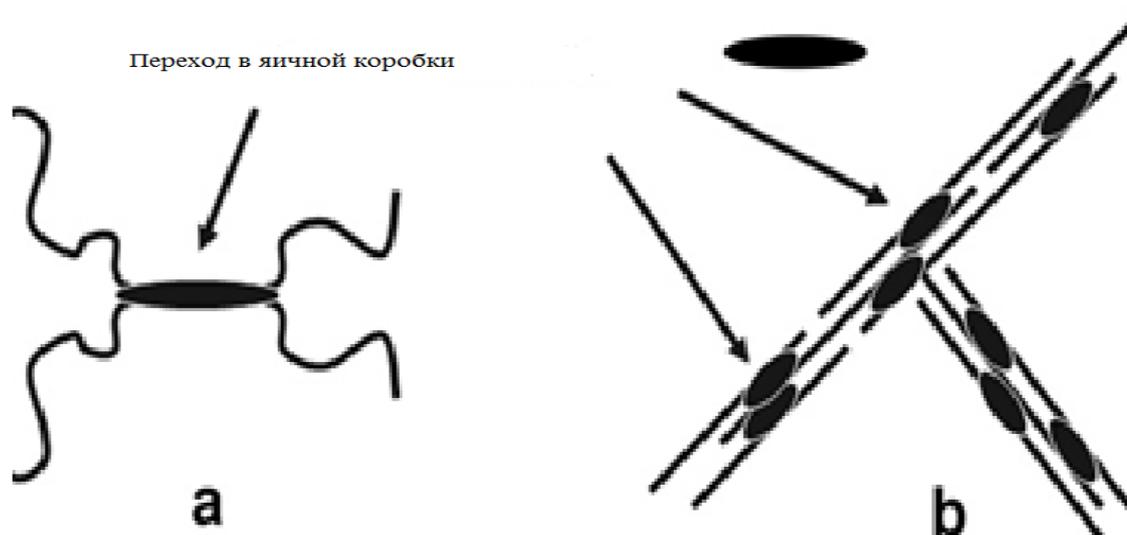


Рисунок 1.7.1.1.1. – Альтернативные структурные модели пектиновых гелей посредством взаимодействия дальнего порядка, полученные в кислой среде или с ионами кальция [44, 153].

«...Учитывая, что полигалактуроновая кислота является заряженной молекулой, неудивительно, что в процессе формирования она скручивается в

волокна, чтобы максимально нейтрализовать заряд. Поэтому, интересно рассмотреть структуры, образованные ВМ-пектинами, которые не содержат чередующихся блоков ГК, в то время они способны кооперативно связывать ионы кальция. Пектиновый экстракт, полученный циклогексан диамин тетрауксусной кислотой (ЦДТУК) из зелёных помидоров, относится к ВМ-пектинам, но они образуют гели с ионами кальция [154], предполагается, что они содержат отдельные блоки ГК. На рисунке 1.7.1.1.2 (b) показано АСМ-изображение фрагментов кальций-индуцированного геля из пектина помидора...» [44, 154].

Эти изображения «...показывают, что даже ограниченные по размеру пектиновые цепи, способны к сшиванию, они действуют как пучки склеиваясь вместе в волокнах: формирование волокон не зависит от непрерывного распределения заряда вдоль полимерной цепи...» [44].

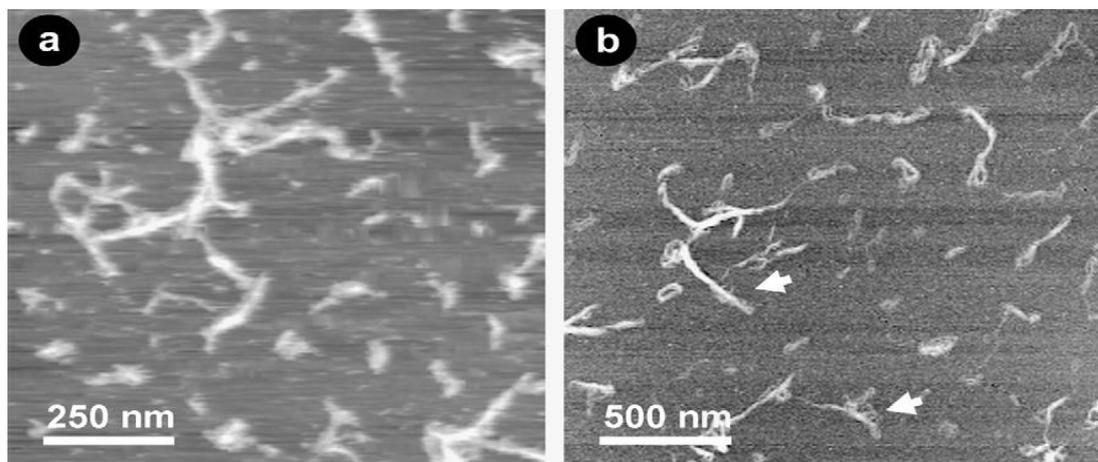


Рисунок 1.7.1.1.2. – АСМ-изображение фрагментов геля пектата кальция. Гелеобразование вызвано добавлением CaCl_2 : (a) Топографическое изображение фрагментов пектата кальция НМ-пектина сахарной свеклы. (b) АСМ-изображение, снятое с использованием режима сборки (tapping mode) из фрагментов пектата кальция, полученных ЦДТУК из зеленого помидора [154].

Недавние исследования [155] механизма гелеобразования альгината и пектина привели к усомнению существующей модели яичной коробки, где ионы кальция в основном одинаково распределены, потому что их места связывания с кальцием имеют зеркально-симметричную конформацию. Однако авторы [155] показали, что образование и структура димеров яичной коробки между альгинатом и пектином отличаются. Поэтому было предложено провести отдельное исследование, чтобы сначала обобщить внутренние и внешние факторы, которые могут влиять на гелеобразование альгината и пектина. Затем обсуждались различия во влиянии этих факторов на гелеобразование альгината и пектина (рисунок 1.7.1.1.3). Между тем, также были обобщены сходство и различие в механизме их гелеобразования. Знания, полученные в этой работе, обеспечат полезную информацию для практического применения альгината и пектина [155].

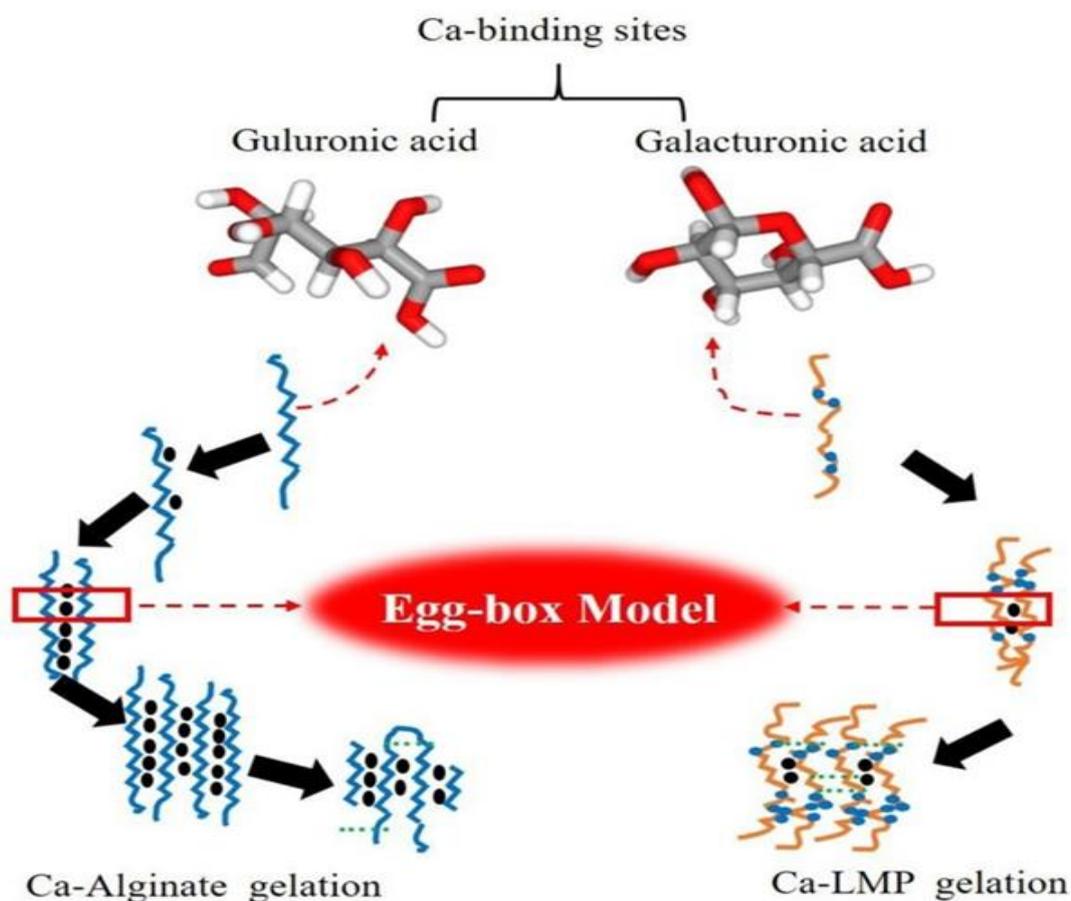


Рисунок 1.7.1.1.3. – Новая модель гелеобразование НМ-пектина, приведенная из работы [155].

1.8 Функциональные продукты на основе пектина и белков

Вне всякого сомнения, цитату великого Гиппократ (Гиппократ Косский, 460–370 до н.э.) почти 2500-летней давности: «Пусть пища будет вашим лекарством, и пусть ваше лекарство будет вашей пищей», можно рассматривать как девиз современной науки о пище. Мухаммад Закария Рази, персидский химик и врач, после появления лекарственных средств в 9 веке нашей эры напомнил, что «Диетическими средствами можно везде достигнуть гораздо большего, чем лекарственными». Даже в эпоху средневековья, когда развивалась фармакотерапия, великий персидско-таджикский ученый Абуали ибн Сино придавал особое значение режиму питания, подразумевая при этом качество, количество пищи и время ее приема. В его работах признается важная роль волокнистой пищи как фактора нормализации функции пищеварительного канала. В настоящее время появилось понятие «функциональная пища», которая отражает вышеизложенные слова великих мыслителей мира. Родиной понятия «физиологически функциональные продукты питания человека» является Япония, которая в 1980 году приняла закон об улучшении питания. Новая система была направлена на то, чтобы помочь продвигать производство продуктов питания, нацеленных на решение серьезных проблем со здоровьем.

В законе республики Таджикистан «О безопасности пищевых продуктов» понятие функциональные пищевые продукты трактуется как «функциональные пищевые продукты – продукты питания натурального или искусственного происхождения, обладающие приятным вкусом и выраженным оздоровительным эффектом, предназначенные для каждодневного и систематического применения». Функциональное питание в некоторых случаях является альтернативой медикаментозной терапии и определяется как продукт для людей со специфическим состоянием здоровья [156].

«...Потребление пищи богатой растительными продуктами, имеющих жизненно важное значение для организма человека, будет способствовать

развитию фитохимии – использованию некалорийных веществ. Орехи, зерновые продукты, фрукты и овощи содержат большое количество фенольных соединений, терпеноидов, пигментов, а также натуральные антиоксиданты, которые непосредственно обеспечивают защиту от сердечно-сосудистых заболеваний, рака, диабета и заболеваний ЖКТ. Пища с наибольшей противораковой активностью включает в себя такие растительные продукты, как чеснок, бобы, капуста, имбирь, солодка и др. Цитрусовые, яблоки и ягоды, кроме известных всем витамина С, фолиевой кислоты и минеральных веществ, содержат пектин и ряд волокнистых веществ, которые играют важную роль в обеспечении нормального функционирования ряда органов человека...» [38, 50, 157-159].

В настоящее время эпидемиологические данные, связанные с диетическим фактором различных заболеваний, таких, как сердечно-сосудистые заболевания, ожирение, гипертония, диабет и даже рак, неуклонно растут. Многие ученые правильное питание считают основным фактором снижения риска и ограничения прогрессирования многих хронических заболеваний [157]. Повышение осведомленности о связи между едой и здоровьем привела к появлению новых терминов: «функциональная пища», «нутрицевтики» и «пребиотики» [160]. В то время как функциональная пища – это вид пищи, которая может обеспечить здоровье преимуществом, выходящим за рамки основного питания [161], нутрицевтики представляют собой полезные для здоровья соединения, выделенные или очищенные из пищевых источников [162, 163]. Термин «пребиотик» используется для обозначения пищевых соединений, которые способствуют росту полезных для здоровья микроорганизмов кишечного микробиома.

В последние годы производство функциональной пищевой продукции, состоящей из пищевых продуктов, напитков и пищевых добавок испытывает быстрый рост [164]. По оценкам, глобальный рынок функциональной пищевой продукции достиг более 400 млрд долларов США в 2022. В 2027 году, при совокупном среднегодовом темпе роста (ССГТР- CAGR) 7,5%, достигнет

550 млрд. В частности, функциональный пищевой сектор будет расти на 6,9%, а функциональный сектор напитков станет самым быстрорастущим сегментом с CAGR в 10,8%. Такой рост стимулируется не только промышленными инновациями и разработкой новых продуктов, которые удовлетворяют спрос со стороны потребителей, но и уровнем качеством питания населения, заботящихся о своем здоровье [165].

Функциональные продукты содержат много БАВ, к которым относятся: молочнокислые бактерии и пробиотики, витамины, пищевые волокна, ОС, полифенолы (антиоксиданты), полиненасыщенные жирные кислоты, эйкозапентаеновая кислота (Омега-3), незаменимые аминокислоты, пептиды, белки, холины и гликозиды.

Пробиотические бактерии, из-за приписываемой им пользы для здоровья, все чаще включаются в йогурты и ферментированное молоко и потребляются в соответствующих количествах и как часть сбалансированного питания. Для достижения терапевтического эффекта рекомендуемый минимальный уровень пробиотических бактерий в ферментированном молоке составляет от 10^6 до 10^7 КОЕ мл^{-1} [166]. Поэтому производители заинтересованы в разработке процессов, которые могли бы обеспечить высокую плотность пробиотических штаммов в продукте. Например, добавление в молоко комбинации белковых гидролизатов, концентрата сывороточного белка фруктозы, томатного сока и мякоти папайи стимулировало *L. acidophilus*, в то время как цистеин, кислотные гидролизаты, триптон, витамины, декстрин и мальтоза улучшали жизнеспособность бифидобактерий.

Пребиотики, такие как ОС, добавляют в пищу главным образом для обеспечения предпочтительного роста пробиотических организмов [167]. Инулин и овсяная клетчатка, неперевариваемый углевод, содержащий встречающиеся в природе фруктоолигосахариды и β -глюкан, соответственно, обладают некоторыми характеристиками пищевых волокон и представляют особый интерес благодаря своим метаболическим свойствам [167-172]. Инулин

и овсяное волокно представляют собой заменители жира, полученные из углеводов, обладают способностью к гелеобразованию с водой и имеют низкую калорийность [171, 172]. Помимо пользы для здоровья, считается, что инулин и овсяная клетчатка обладают пребиотическими свойствами, такими как способность стимулировать пробиотические бактерии, не влияя на вкус [168-172]. Благодаря их пребиотическому эффекту добавление инулина или овсяных волокон может улучшать действие пробиотических бактерий. Абрикос является богатым источником сахаров, клетчатки, минералов, биоактивных фитохимических веществ и витаминов, таких как А, С, тиамин, рибофлавин, ниацин и пантотеновая кислота, и может использоваться для приготовления молочных продуктов. Для этой цели можно использовать абрикосовый пробиотический питьевой йогурт (APDY) [173].

В науке о пище полисахариды разделяют на крахмал и некрахмальные полисахариды (НКП) [174]. Они являются ключевыми компонентами клеточных стенок многих растений, имеют сложные химические структуры и выполняют различные биологические функции. Основными полисахаридами НКП являются целлюлоза, пектины, β -глюканы, пентозаны, гетероксиланы и ксилоглюкан, которые не могут гидролизироваться эндогенными ферментами человека и животных в желудке. НКП вместе составляют основную часть диетических волокон (ДВ). Растительные ингредиенты обычно содержат смесь как растворимых, так и нерастворимых ДВ в соотношении, которое варьируется в зависимости от типа и стадии зрелости растений [50, 157-159, 167, 174]. Растворимые ДВ образуют дисперсии при смешивании с водой и обладают способностью повышать вязкость перевариваемой пищи, что замедляет диффузию пищеварительных ферментов и всасывание питательных веществ [50, 157-159].

ДВ классифицируют на основе источника происхождения, который можно дополнительно разделить на полисахариды растений, полисахариды животного происхождения и полисахариды, полученные из природных или синтетических источников. На основе структуры полисахариды можно разделить на полимеры,

имеющие линейную или нелинейную молекулярную структуру. По растворимости они бывают растворимыми или нерастворимыми. Другие категории ДВ основаны на их свойствах и применении. ДВ можно разделить на 4 основные категории: общие НКП, которые составляют от 11,8 до 16,4 г/сут от общего потребления пищевых волокон. Эта часть в основном поступает из злаков и овощей, которые составляют примерно от 40% до 50% от ДВ. Растворимые и нерастворимые ДВ составляют от 5,3% до 8,7% и от 6,5% до 7,0%, соответственно. Помимо НКП, другими компонентами являются инулин, фруктоолигосахариды (ФОС) и ПОС, устойчивый крахмал и лигнин, которые составляют 2-12, 1,5-15%, 15-30% и от 1,0% до 1,4%, соответственно (рисунок 1.8.1) [175].

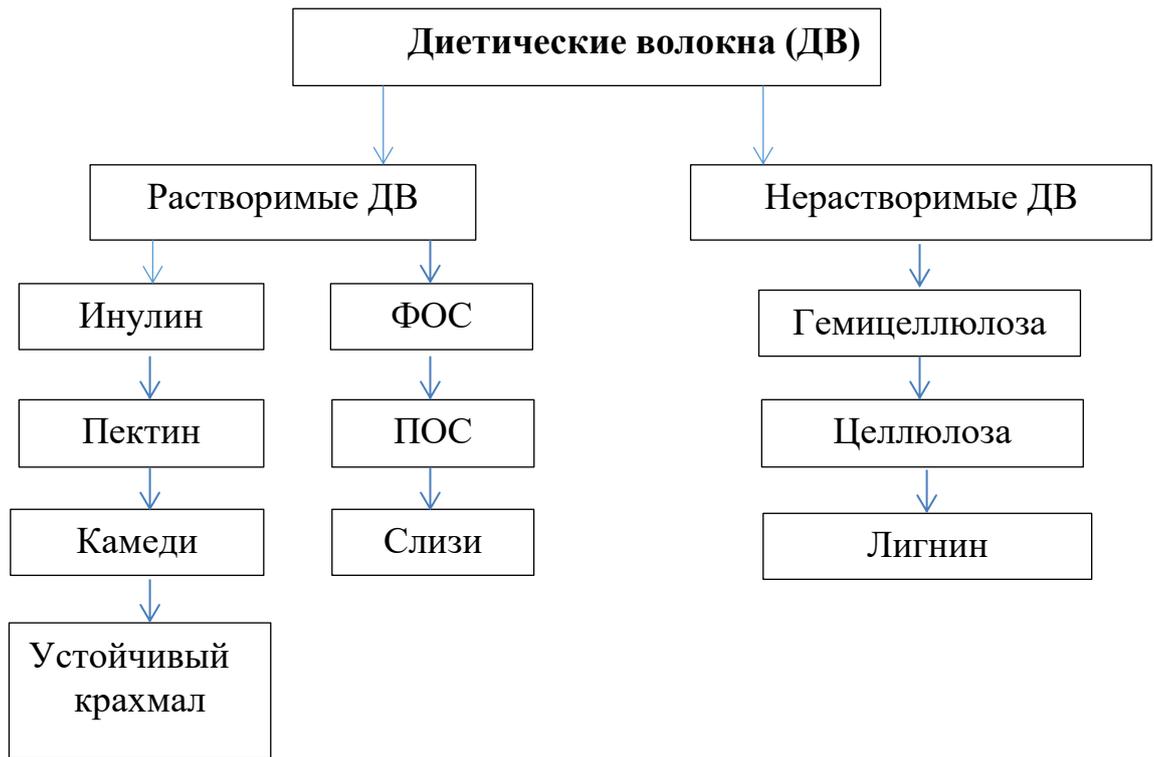


Рисунок 1.8.1. – Классификация ДВ по химической структуре и свойствам [177-А].

Ежедневное потребление ДВ в пищу примерно составляет от 16,3 до 43,4 г/день. Энергия, обеспечиваемая клетчаткой, различается от источника к

источнику, но общепринятое и наиболее часто используемое значение составляет 2 ккал/г [176].

В работе [177] приводится обзор исследований о возможности создания функциональных пищевых продуктов с заданными физико-химическими показателями на основе инулинсодержащего и пектинсодержащего сырья.

Инулин – это природный аналог инсулина растительного происхождения, запасной полисахарид, присутствующий во многих растениях, таких как корень цикория, пшеница, спаржа, лук, чеснок, георгина и топинамбур (*Helianthus tuberosus* L.) [178, 179].

Известно о профилактических свойствах инулинсодержащего сырья среди больных диабетом II типа, продукты переработки которого способны повысить иммунозащитные свойства организма человека [180]. Создание функциональных пищевых продуктов на основе инулинсодержащего растительного сырья позволит обеспечить население функциональным питанием диабетического характера. Важным аспектом при создании рецептуры функционального пищевого продукта является точно смоделированный ингредиентный состав с заданными физико-химическими показателями инулина в них [178-180].

Пектин – одна из самых незаменимых пищевых добавок. «...Его используют в качестве студне- и структурообразователя при производстве кондитерских изделий, мармеладов, пастилы, джемов, конфитюров, желе, фруктовых напитков, соков, майонезов и других масложировых и молочных продуктов...» [50, 159]. «...Исследования, проведенные под руководством ВОЗ позволили раскрыть многоплановость воздействия пектина на организм человека и установить следующее:

- попадая в ЖКТ, пектины образуют гели, которые, продвигаясь по кишечнику, захватывают токсичные вещества и защищают слизистые от раздражения;

- в процессе усвоения пищи пектины, соединяясь с тяжелыми металлами и радионуклидами, образуют нерастворимые комплексы, которые, не всасываясь в слизистую оболочку ЖКТ, выводятся из организма;
- защитное действие пектинов объясняется также их способностью вместе с другими пищевыми волокнами улучшать работу (перистальтику) кишечника, способствуя тем самым более быстрому выведению токсинов и недоокисленных веществ из организма человека;
- попадая в кишечник, ПВ сдвигают рН среды в более кислую сторону, оказывая тем самым, бактерицидное действие на болезнетворные бактерии;
- пектины, связывая желчные кислоты, обеспечивают гипохолестеринемический эффект...» [181].

В настоящее время пектины стали важной частью исследований и разработок натуральных лекарственных средств и продуктов для здоровья из-за их широкой доступности. С другой стороны, исследования сосредоточены на связи между химической структурой и биологической активностью пектинов с целью расширения их использования в медицине и фармакологии.

Приведенные результаты научно-исследовательских и клинических исследований, выполненных при участии высококвалифицированных специалистов, дают основание утверждать, что бактерицидные, детоксикационные и сорбционные свойства пектина должны открыть новую страницу его применения, как в комплексном лечении целого ряда заболеваний, и в фармацевтической промышленности для создания лекарственных форм, так и в диетологии, в качестве компонента ежедневного рациона питания человека [50, 182].

Еще одним биологически важными соединениями, которые стали предметом широкого исследования, являются полифенольные соединения-антиоксиданты, особенно флавоноиды. Следовательно, пищевые продукты, обогащенные флавоноидами, могут использоваться в качестве функциональных пищевых продуктов. Флавоноиды, особенно их глюкозиды, признаны важными полифенолами в рационе человека, поскольку являются физиологически

активными компонентами, способными снижать риск развития хронических заболеваний [183, 184]. Однако известно, что биодоступность флавоноидов из ЖКТ ограничена, что объясняется главным образом их низкой растворимостью в воде и ограниченной прохождению через мембраны [183, 185]. Усвояемость флавоноидов из пищевых продуктов в процессе пищеварения зависит от структуры и состава пищи, в которую входят эти соединения, поскольку в желудочно-кишечной среде могут происходить различные взаимодействия между флавоноидами и компонентами пищи [186], особенно белками [187] и/или микроэлементами [188]. Исследования пищеварения, моделирующие *in vitro*, показали, что пищевая матрица может либо повышать, либо ограничивать биодоступность флавоноидов [188].

В условиях современных экологических проблем пища должна не только удовлетворять голод, но и служить средством укрепления здоровья, так как неполноценное питание определяется специалистами как одна из основных причин заболеваемости. В этом контексте пищевая промышленность сосредоточилась на предотвращении потенциального вреда синтетических пищевых добавок и на разработке новых пищевых продуктов, содержащих полезные для здоровья человека ингредиенты. Таким образом, биоактивные натуральные продукты считаются жизнеспособными и более безопасными заменителями для удовлетворения спроса мирового рынка на новые продукты [189].

1.8.1 Микрокапсулирование биоактивных веществ для создания функциональных пищевых продуктов

В качестве источников дефицитных компонентов могут использоваться пищевые и лекарственные растения, продукты пчеловодства, природные минерально-органические субстраты и др. Использование природных источников в виде БАВ оправдано с научной и экономической точек зрения: содержание в них биологически активных соединений значительно выше, чем в традиционных пищевых продуктах [190]. Эти встречающиеся в природе соединения давно

изучены и будут источником постоянных исследований ученых всего мира. Среди всех важных фитохимических соединений фенольные соединения являются фундаментальными фитоконпонентами с мощным антиоксидантным и антимикробным потенциалом. Известно, что многие из них являются потенциальными средствами против патологических бактерий [191, 192]. Полифенолы представляют собой огромное семейство соединений растительного происхождения со сходной химической структурой (основанной на одном или нескольких фенольных кольцах), отличающейся типом и количеством функциональных групп, присоединенных к углеродной цепи. Диетические полифенолы представлены в основном флавоноидами и фенольными кислотами. Диетологи рекомендуют их среднесуточное потребление в общей популяции примерно около 1 г. За последние десятилетия появилось огромное количество научной литературы, подтверждающей роль полифенолов в лечении ряда хронических дегенеративных заболеваний [191, 192].

Новые «функциональные продукты» возникли на границе между питанием и здоровьем, обеспечивая долгосрочный полезный физиологический и оздоровительный эффект, выходящий за рамки питательных свойств. Понятие функционального питания появилось 40 лет назад, однако растущий интерес к этому виду продуктов как со стороны промышленности (внедрение, изобретение), так и научных кругов (через научно-исследовательские статьи и обзоры) наблюдался только во второй половине 1990-х гг. что указывает на тенденцию к увеличению (рисунок 1.8.1.1) [193].

На состояние 27 августа 2022 г. эти цифры достигли 115 000 статей и 16600 патентных публикаций в ежегодном росте в 100% по статьям и 10% по патентным, соответственно [194].

Проблемы со здоровьем вызывают все большую озабоченность у населения мира, и поэтому пищевая промышленность ищет новые пищевые продукты, содержащие полезные для здоровья БАВ, но практически без синтетических ингредиентов. Однако при разработке функциональных пищевых продуктов с применением непосредственного биоактивных веществ возникают

некоторые проблемы. Они нестабильные под действием света, рН раствора ЖКТ, могут легко реагировать с другими ингредиентами пищевой матрицы или проявляют сильный запах и вкус.

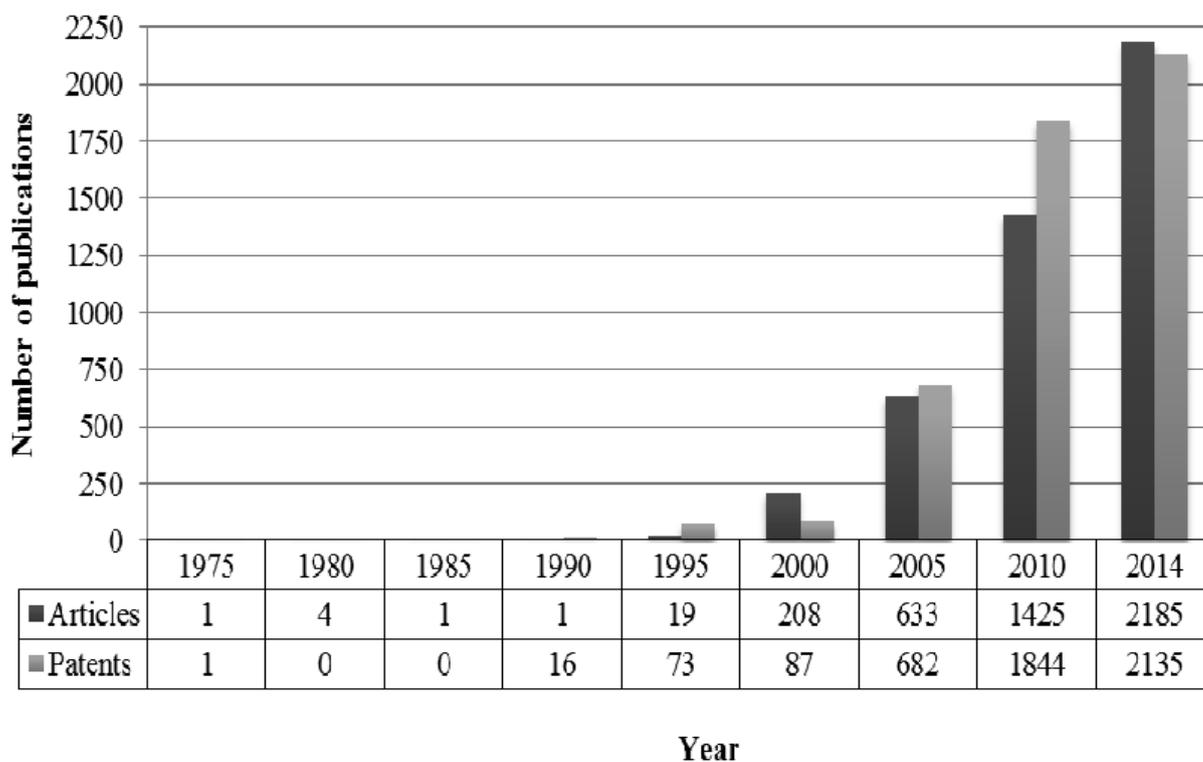


Рисунок 1.8.1.1. – Количество научных публикаций и патентов в периоде с 1975 до 2014 гг. по функциональной пище [193]

Несмотря на огромное влияние натуральных экстрактов и родственных им метаболитов на здоровье, их использование либо непосредственно в качестве пищи, либо их включение в пищевые рецептуры сталкивается с рядом проблем во время хранения и обработки пищевых продуктов, что делает эти БАВ физически, химически и ферментативно нестабильными. Эта нестабильность приводит к деградации и потере функциональности биоактивных экстрактов [193].

В этом контексте микроинкапсуляция выступает как потенциальный подход для преодоления в приведённых выше проблем и, более того, обеспечивает контролируемую или направленную доставку или высвобождения лекарственных веществ и БАВ [193, 195-197]. Микрокапсулирование – это

процесс, который быстро развивается и широко используется в пищевой, косметической и медицинской отраслях [195].

В последнее время появился интерес к разработке нового поколения активных и интеллектуальных упаковочных материалов для пищевых продуктов с улучшенными функциональными свойствами [198, 199]. Активные упаковочные материалы содержат добавки, улучшающие химическую или микробную стабильность пищевых продуктов, такие как антиоксиданты и противомикробные препараты. Причем, новое поколение экологически чистых упаковочных материалов – многофункциональный галохромный упаковочный материал был изготовлен путем иммобилизации антоцианов лепестков шафрана в биополимерной матрице, состоящей из нановолокон хитозана и метилцеллюлозы. Цвет многофункциональных пленок зависел от pH и уровня газообразного аммиака, образующего при порчи продукта в результате изменения молекулярной структуры антоцианов [200].

Вместе с тем многие вопросы эмульсионного инкапсулирования (стабильности эмульсии, количества захваченного ЛВ в единице массы носителя и кинетические параметры высвобождения ЛВ), остаются до настоящего времени недостаточно изученными. Ведутся разработки таких систем на основе биополимеров пектина и белков для инкапсулирования малорастворимых ЛВ и БАВ [50, 201-204].

Исходя из этого, нами был «...изучен процесс формирования микрокапсулирования эмульсии на основе комплексообразования полисахаридов с различной структурой, с концентратом LgC на поверхности эмульсионных частиц масло-в-воде, способных эффективно захватывать ЛВ. Показано что, условие для получения стабильной эмульсии с высоким захватом ЛВ зависит от структуры пектина, молекулярного веса, условий среды (pH и ионная сила) и соотношения белка и пектина...» [205, 206].

Исследования в этом направлении в лаборатории высокомолекулярных соединений института химии НАНТ продолжаются и их дальнейшими целями

являются «...разработка комплексного подхода к получению высокоустойчивых концентрированных эмульсионных микрокапсул, стабилизированных комплексами лактоглобулинов с НМ-пектинами различного происхождения, изучение их устойчивости и адсорбционных свойств по отношению к полифенолам для создания функциональной пищи...» [207].

Технология полимерных биоматериалов, все больше и больше представляя научный интерес, и развивается, и инвестируется. Биополимеры фактически сформировали современный мир и изменили качество жизни в бесчисленных областях человеческой деятельности. Они добавили новые измерения в стандарты жизни и разработку недорогих продуктов. Мир биополимеров затронул их всех: от транспорта до связи, от развлечений до здравоохранения [208-212].

В последние десятилетия большой интерес вызывают функциональные материалы медико-биологического назначения, то есть материалы, предназначенные для создания изделий, устройств и препаратов, применяемых в медицине, биотехнологии, сельском хозяйстве и т.п. и используемые для обеспечения и оптимизации жизнедеятельности человека, животных, растений, микроорганизмов. Полимерные гидрогели привлекают пристальное внимание исследователей, работающих в области создания новых биоматериалов, гидрофильностью, потенциальной биосовместимостью, механическими и эластическими свойствами, близкими свойствам живых тканей, и целым рядом других уникальных характеристик [50, 211-216].

Природные полисахариды из растительных источников давно изучены и широко используются в различных областях, таких как продукты питания, медицина и фармацевтики, а также в производстве бумаги. В последние десятилетия возрос интерес к использованию полисахаридов, особенно биоактивных, для различных новых применений благодаря их биосовместимости, биоразлагаемости, нетоксичности и некоторым специфическим терапевтическим действиям. Отсюда всплеск интереса к природным полисахаридам (в частности, пектину), исследование их биологических свойств и рассмотрение применения в

фармакологии [209-217]. Как уже отмечалось, ПП обладают огромным потенциалом и могут применяться в здравоохранении, пищевой и косметической промышленности благодаря их терапевтическому действию и относительно низкой токсичности [50, 210-114, 218, 182].

Пектин имеет широкое применение в фармацевтической промышленности, так как способствует снижению уровня холестерина в крови [211, 212], действует как природное профилактическое вещество против отравления токсичными металлами. Показано, что пектин эффективен для удаления свинца и ртути из ЖКТ и органов дыхания [216]. Комбинации пектина с другими гидроколлоидами широко использовались для лечения диарейных заболеваний, особенно у младенцев и детей [210].

В недавних обзорах [182, 217, 218, 219-222], обобщены результаты исследования биоактивности ПП, включая их фармакологическое применение.

Химические и структурные особенности этого полисахарида позволяют ему взаимодействовать с широким спектром молекул, формируя новые композитные матрицы для целевой контролируемой доставки терапевтических молекул, генов или клеток. Пектины, считающиеся диетическим волокном и пробиотиком, соответствуют многим нормативам в отношении их применения в здравоохранении в фармацевтической промышленности в качестве сырья [182, 218].

Другой многообещающей особенностью пектина является его очевидный синергизм и химиопротекторное действие на метастазирование рака и рост первичных опухолей при множественных типах рака у человека и животных. Предполагается, что пектин оказывает синергизм в сочетании с обычными противоопухолевыми препаратами. Эти механизмы все еще изучаются и, по-видимому, зависят от структуры пектина, приводящего к образованию различных активных фрагментов, которые могут противодействовать активному сайту или связывать молекулы, которые могут индуцировать клеточный апоптоз и ингибировать метастазирование опухоли [211, 219, 220].

Таким образом, пектин как защитный биополимер ПМ клеточных стенок растений, приобретает большой интерес в исследованиях по созданию функциональной пищи [45, 50, 53, 209, 210-212].

Внеклеточный матрикс клеток животных и растений играет важную роль при вирусных заболеваниях. В клетках животных компоненты внеклеточного матрикса могут использоваться вирусами для распознавания, прикрепления и проникновения, а КС растения действует как физический барьер для проникновения вируса и добавляет более высокий уровень сложности межклеточному перемещению вирусов. Интересно, что как в растительной, так и в животной системах, ПМ может быть тщательно реконструирован во время вирусной инфекции, понимание механизмов моделирования и молекулярных агентов открывает новые перспективы для терапевтического вмешательства.

Не менее актуальны вопросы о роли пищевых волокон в организации здорового питания, пищеварении, профилактике и лечении многих заболеваний. Согласно Комиссии Codex Alimentarius, пищевые волокна, представляя собой пищевые углеводные полимеры с тремя или более мономерными единицами, достаточно устойчивы к эндогенным пищеварительным ферментам в кишечнике и способны регулировать здоровье человека. Учитывая многочисленные типы и источники пищевых волокон и их различные физико-химические и физиологические свойства, трудно, но важно установить ключевые механизмы для полезного воздействия пищевых волокон на здоровье [222].

Пищевые волокна растений играют важную роль в регулировании состава и сложного метаболизма микробиоты кишечника, что может влиять на здоровье [210, 50]. Пектин является основным компонентом КС растений, деградирует при попадании в кишечник грамотрицательными бактериями и, как показали исследования, может быть использован для стимулирования роста полезной микрофлоры толстой кишки [222, 223].

Состав диеты и особенно потребление не перевариваемых полисахаридов, вероятно, окажет серьезное влияние на формирование видового состава

микробных популяций кишечника⁴ [224] и их метаболических продуктов. Однако виды, которые могут оказывать противовоспалительное действие и приносить пользу здоровью, ещё не изучены. Результаты, полученные авторами [222-225] предполагают возможность дальнейшего изучения пребиотического потенциала пектина и его производных для восстановления баланса микробиоты в направлении противовоспалительного профиля.

Пектин обладает легким антимикробным действием в отношении *Escherichia coli*. Пектины и ПОС, полученные путем контролируемого ферментативного гидролиза, оценивали по их способности влиять на токсичность шигелл подобных токсинов из штамма *Escherichia coli* O157:H7. Оба образца обеспечили некоторую степень защиты, но эффективность ОС фракций была значительно выше ($P > 0,01$), что обеспечило выживаемость клеток на 90-100% по сравнению с исходным пектином (70-80%) [22]. Влияние СЭ пектина на защитный эффект был обнаружен при более низких степенях активности. Было показано, что ПОС и галабиоза, аналог рецептора токсина, ингибируют токсичность и проявляют защитные функции при концентрации 10 мг/мл [226].

Таким образом, в этом обзоре перечислено много новых композитных материалов на основе пектина, которые, вероятно, помогут смягчить воздействие ожирения, диабета и сердечных заболеваний, помогут предотвратить реальные эпидемии, расширят круг пищевых добавок и дизайн продуктов питания.

1.8.2 Пектин как основа для создания носителей лекарственных средств

Гидрогели пектина были использованы в составах таблеток в качестве связующего агента [217, 218], а также были использованы в матричных рецептурах таблеток с контролируемым высвобождением [210-214]. Пектин имеет многообещающее фармацевтическое применение и в настоящее время

⁴ ЖКТ человека содержит обильное и разнообразное микробное сообщество, которое насчитывает более 100 триллионов микроорганизмов. Микробиота кишечника состоит из различных видов бактерий, которые классифицируются по роду, семейству, порядку и типу. Тип *Firmicutes* состоит из более чем 200 различных родов, таких как *Lactobacillus*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Enterococcus* и *Ruminococcus*. Роды *Clostridium* представляют 95% типов *Firmicutes*.

рассматривается как материал-носитель в системах доставки лекарств, специфичных для толстой кишки [50, 182, 214]. Пектин используется в качестве носителя множества лекарств для применений с контролируемым высвобождением. Пектин используется в производстве многих медицинских препаратов, таких как лосьоны, кремы для лица и другие виды макияжа [182, 208-213, 218, 219].

В будущих исследованиях крайне необходимо раскрыть молекулярный механизм пектинового полимера в процессах гелеобразования как в растениях, так и в продуктах для большей применимости в различных новых областях. Более того, новый структурно измененный пектин с особыми функциональными возможностями окажет серьезное влияние на переработку фруктов и фармацевтическую промышленность. Следовательно, разработка инновационных, удобных и экологически безопасных технологических производств пектиновых препаратов является перспективным предметом для будущей фармацевтической промышленности.

1.8.3 Гидрогелиевые микросферы пектина с зеином как носители лекарственных веществ и пищевых ингредиентов

Биосовместимые природные материалы – полисахариды и белки находят широкое применение в пищевой промышленности при создании новых продуктов функционального питания и фармацевтической промышленности при создании систем доставки лекарственных средств (СДЛ) – для направленной доставки БАВ и лекарственных форм [50, 53, 117, 214, 218, 227-241]. Направленная доставка ЛВ и/или БАВ в толстую область кишечника посредством перорального введения требует стабильного транзита носителя через верхний отдел ЖКТ без высвобождения. Для некоторых лекарств считается, что толстый кишечник является предпочтительным местом высвобождения ЛВ или БАВ из-за почти нейтрального pH, более длительного времени прохождения, относительно более низкой активности протеолитического фермента и большей чувствительности к усилению всасывания [50, 53, 117, 227-241].

Пектин является потенциальным биополимером и способен обеспечить доставку ЛВ и БАВ в ЖКТ благодаря длительному транзиту по ЖКТ и его полной деградации бактериями, живущих в толстом кишечнике. Кроме того, пектины являются нетоксичными, биоразлагаемыми и биосовместимыми материалами [45, 49-54, 227].

Как природный биоразлагаемый полимер, пектин может иметь ограничения по скорости диффузии и высвобождения из-за высокой растворимости в водной среде [233]. Включив в состав композитов нерастворимые пленкообразующие полимеры, такие как производные целлюлозы, многие авторы [234-238] преодолели проблемы, связанные с высокой растворимостью. Образование пектиновых гидрогелей путем сшивания с гидрофильным акриловым полимером посредством щелочного гидролиза является другим подходом для формирования СДЛ [239].

Инотропное гелеобразование ионных полисахаридов в присутствии определенных двухвалентных катионов также защищает лекарственные средства, образуя нерастворимые гидрогели. Нерастворимые гидрогели приводят к устойчивым профилям высвобождения лекарственного средства в ЖКТ [242, 117, 230, 231]. Инкапсуляция нашла многочисленные применения в пищевой и фармацевтической промышленности в качестве красителей, ароматизаторов и других БАВ в целях увеличения срока их годности. В последнее время природные водорастворимые полимеры были широко исследованы в качестве матрицы для захвата соединений, имеющих биологическое значение. Заполненные гидрогелиевые матрицы затем использовались в качестве иммобилизованных биокатализаторов или для контролируемого высвобождения капсулированных соединений.

«...Способность зеина формировать комплексы с полисахаридами широко используется во многих областях, включая медицину...» [109, 117, 229, 230, 243]. В этой связи, целью данной части работы была разработка новой лекарственной формы с использованием нестероидного противовоспалительного препарата – РХ и пектин-зеинового комплекса (ПЗК) для его транспортировки. "...Такой

подход обусловлен, прежде всего тем, что большинство ЛВ плохо растворимы в воде, что приводит к замедлению их адсорбции при пероральном приеме, что является одной из причин неблагоприятных эффектов в ЖКТ. Контролируемое введение терапевтических доз ЛВ эффективно при длительном поддержании дозы, т.е. подчиняться законам кинетики первого порядка. Спад концентрации ЛВ в крови ниже определенного уровня считается не эффективным. Кроме того, некоторые препараты токсичны при высоких концентрациях в крови, и при быстром падении концентрации препарата очень трудно установить баланс между эффективным и токсичным уровнями. Поэтому, необходимы исследования, направленные на совершенствование методов контроля и поддержания приема ЛВ...» [230].

ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Сырье и реагенты

2.1.1 Сбор и подготовка исходного сырья

Фруктовые выжимки или КП, собирают после выделения сока и сбора урожая подсолнечника. Выжимки промывают водой и сушат. Корзинки нарезают на небольшие куски и сушат на открытом воздухе. После чего растительный материал измельчают с помощью дробилки или в ступке до размера частиц, близких к 100 мкм. Измельченное сырье обрабатывают горячей водой при температуре 85°C в течение 2 минут при гидромодуле сырья-вода (1:20), с последующей трехкратной декантацией. При необходимости водорастворимые компоненты анализируют на содержание пектина. Высушенные остатки растительного материала промывают этиловым или изопропиловым спиртом, при котором дополнительно экстрагируются спирторастворимые компоненты. Остатки сырья сушат при 95-100°C в сушильном шкафу и хранят в полиэтиленовых мешках [141].

Сырьём для получения пектиновых экстрактов являлись яблоки сортов Графенштейнское красное (ЯВГ) и Первенец Самарканда (ЯВП), лимонные корки (ЛК), айвы (Ай), абрикоса (Аб), персика (Пр), стебли и листья ревеня (Рв), плоды тыквы (Ткв) и КП, выжимки яблок из центральных (Варзоб, Файзабада и Шахринав) и южного (Муминобод) регионов Республики Таджикистан.

Для разработки условий получения комплексов на основе пектина и зеина с инкапсулированным средством в работе использовали: низкокомолекулярный коммерческий цитрусовый пектин GENU L/200-CP Kelco (CP Kelco, Дания) с содержанием ГК 69.0% и СЭ 9.0%, имеющий Mw 212 кДа; яблочный высококомолекулярный пектин Муминобадского района (ВМ-ЯПМ), содержащий ГК 68.0% и СЭ 52%, с Mw 134 кДа – ВМ-ЯПМ-120-5-2.0; яблочный НМ-пектин Шахринавского района (НМ-ЯПШ) с содержанием ГК 58.0%, СЭ 43,0% и Mw

119 кДа – НМ-ЯПШ-85-60-1.8, и подсолнечный НМ-пектин, полученный динамическим методом (НМ-КП-Д-2М-2.0) и содержащий ГК 68.0%, СЭ 42.0 и Mw 142 кДа.

Исходным сырьем для получения ГГС в экспериментах явились пермеаты творожной и подсырной сыворотки, полученные ультрафильтрацией МС. В таблице 2.1.1.1 представлены состав и рН использованных пермеатов.

Таблица 2.1.1.1 – Состав и рН пермеатов подсырной и творожной сывороток

Пермеат	Жиры, %	Белки, %	Лактоза, %	Всего твердых веществ, %	рН
Подсырная сыворотка	0	0.2±0.1	3.8±0.1	4,6±0.1	6.1±0.1
Творожная сыворотка	0	0.68±0.1	4.09±0.2	5.09±0.1	4.49±0.2

В начале исследований проводился анализ состава пермеатов с помощью анализатора молока MilkoScan™ Mars (Foss Analytical, Дания) и измерялись значения рН с помощью рН-метра GPH 114 (Германия) [244].

В исследовании была использована коммерческая β-галактозидаза NOLA™ Fit 5500 (Chr. Hansen, Дания) – высокоочищенный фермент, полученный из *Bacillus licheniformis*. Согласно рекомендациям производителей, фермент NOLA™ Fit 5500 активен в кислых условиях (оптимальное значение рН 5.0-7.0, температура 35-50 С), его активность составляет 5500 БЛЕ (бифидолактозных единиц) г.л⁻¹ [245].

Также в работе для создания нового типа лекарственной формы при получении комплексов на основе пектина и зеина с инкапсулированным средством в качестве модельного лекарственного вещества использовался нестероидный противовоспалительный препарат – РХ.

2.1.2 Характеристика реагентов и рабочих растворов

В работе были использованы соляная и серная кислоты марки (хч), гидроксид натрия и калия (чда), кальция и аммония (хч), трилон Б (фиксанал), метанол (хч), этанол (ректификат) и изопропанол (хч). Растворы соляной кислоты с определенным значением рН готовили путем разведения концентрированной кислоты с водой. рН раствора устанавливали на рН-метре. Стандартные растворы соляной кислоты, гидроксида натрия и трилона Б готовили из соответствующих фиксаналов [141].

В работе были использованы очищенные по общепринятым методикам растворители и неорганические соли, кислоты и щелочи марки «хч» или «чда» производства «Реахим».

Для нейтрализации кислого пермиата сыворотки с содержанием сухих веществ (5.09 ± 0.01)% и рН 4.24 в качестве химических реагентов использовали моногидрат D-лактозы, D-глюкозу, D-галактозу с чистотой более 98% (ВЭЖХ) (Sigma-Aldrich, Латвия), NaHCO_3 (Voldemar Ltd.), NH_4OH (Chempur, Латвия), KOH (logiena, Латвия).

2.1.3 Приготовление исходных растворов

2.1.3.1 Приготовление растворов пектинов

На аналитических весах взвешивали точную навеску пектина, добавляли несколько капель этилового спирта для удаления пузырьков воздуха из полимера, затем добавляли небольшое количество дистиллированной воды или буферный раствор, перемешивая на магнитной мешалке при нагревании до 40°C в течение 2 ч. Затем, доводили объем раствора водой до 50 мл и перемешивали до полного растворения пектина. Полученный раствор центрифугировали при 5000 об/мин. в течение 20 минут, осадок отделяли и высушивали при 60-70°C в сушильном шкафу, взвешивали и рассчитывали концентрацию раствора по разнице взятой навески и массы осадка.

2.1.3.2 Приготовление раствора концентрата сывороточных белков

На аналитических весах взвешивали 0.20 гр. белка (LgC), затем добавляли небольшое количество дистиллированной воды (20 мл), перемешивали на магнитной мешалке в течение 1 часа. Затем доводили объем дистиллированной водой до 50 мл и перемешивали до полного растворения белка. Раствор центрифугировали при 5000 об/мин в течение 20 мин, осадок отделяли и высушивали при 60°C в сушильном шкафу. Вес осадка рассчитывали по разнице взятой навески и массы полученного осадка.

2.1.3.3. Приготовление буферных растворов

Буферные растворы: солянокислый (рН 1.5) и фосфатный (рН 6.4) были приготовлены согласно справочнику по аналитической химии [246].

2.2 Способы производства пектиновых полисахаридов

2.2.1 Выделение пектина из растительного сырья

Традиционный метод [52, 54]. Гидролиз-экстракцию КП проводили в течение 60 минут, при температуре 85°C, гидромодуле 1:20 и непрерывном перемешивании, используя в качестве экстрагента раствор соляной кислоты с рН 1.2. Полученный экстракт отделяли от остатков клеточной стенки и разделяли на три фракции, условно названные: МГ, ПВ и ОС.

Получение МГ. После завершения процесса гидролиз-экстракции, раствор пропустили через фильтр, остаток выжимок трижды промывали водой и после высушивания определяли массу. Раствор гидролизата нейтрализовали с помощью аммиака до рН 3.5 и МГ отделяли из раствора центрифугированием в течении 30 минут, при скорости ротора 7 000 об/мин., с последующим промыванием 70% и 96% спиртом до отрицательной реакции на ионы хлора, высушивали при 55-60°C в сушильном шкафу.

Получение ПВ. Высокомолекулярные компоненты, оставшиеся в растворе (гидролизат) после центрифугирования, осаждали добавлением трехкратного объема 96%-го изопропанола. Осадок обрабатывали солянокислым спиртом, после чего промывали 70%-ым спиртом до отрицательной реакции на Cl^- ионы, декантировали спиртом и ацетоном и высушивали при 40-60°C.

Метод быстрой гидролиз-экстракции пектина проводили в автоклаве под давлением за короткий промежуток времени [56]. Набухшее сырье помещали в автоклав, добавляли раствор соляной кислоты с pH 2.0 в соотношении 1:20 и проводили гидролиз при температуре 120°C и давлении 1.5 ат в течение 3–10 минут. Давление в автоклаве автоматически контролировалось паровым генератором (Паровой генератор MVA-20D, США). Пектиновый гидролизат отфильтровывали через плотный лавсан, полученный экстракт охлаждали, нейтрализовали до pH 3.5, отделяли МГ путем центрифугирования при скорости 4000-5000 об/мин. Затем проводили осаждение раствора трехкратным количеством этилового спирта для выделения ПВ. Оставшийся водно-спиртовой раствор упаривали на роторном испарителе, отделяя ОС. Дальнейшую очистку раствора гидролизата проводили по методу [5].

Сырьё, содержащее пектин, подавался в автоклав (рисунок 2.2.1.1) при соотношении твёрдой массы к жидкости как 1:10 и защитная накладка крепко закрывалась.



Рисунок 2.2.1.1. – Установка для быстрой гидролиз-экстракции пектиновых веществ.

Нормированный пар производился генератором МВА-20D (США) и через основной кран подавался в автоклав.

Оснащённая опытная установка может обрабатывать 2 кг сырья в час, при загрузке 180 л гидролизата, содержащего 1,5 кг пектин.

2.2.2 Очистка и концентрирование пектиновых веществ

Очистка этанолом. ПВ обрабатывали смесью 70% C_2H_5OH , концентрированной HCl и воды в соотношении 14:3.6:2.4 в течение 24 часов при комнатной температуре. Затем промывали последовательно: 70% спиртом до отрицательной реакции на Cl⁻-ионы, 96% этанолом, ацетоном и высушивали при температуре 40-60°C.

Для удаления микрогеля, 0.5%-ый раствор пектина центрифугировали при 7.100 g в течение 1.5 ч, или ультрацентрифугировали при 60 000g в течение 1 ч.

Низкомолекулярные фракции ПВ отделяли с помощью ультрафильтрационной мембраны УПМ-100 на лабораторной ячейке при давлении 0.16 МПа [38]. Лиофильно высушенный препарат пектина использовали для анализа.

Мембранная очистка и концентрирования ПВ. Процесс разделения жидкой смеси, а также коллоидной системы через разделительную перегородку основан на проницаемости входящих компонентов в этой системе или смеси. Обычно фазу, прошедшую через мембрану называют фильтратом (пермеатом), а задержанную – концентратом (ретентатом). При концентрировании возрастает вязкость пектинового экстракта и снижается производительность аппарата. Удельная производительность мембраны оценивается следующими показателями:

$$G = V/F \cdot \tau \quad (2.2.2.1)$$

где G – производительность аппарата, л/м²·ч; V – объем смеси, л; F – площадь поверхности перегородки, м²; τ – время прошедшей количество смеси через мембрану, час.

В работе использовали ультрафильтрационные мембраны на основе полиамида с большим диаметром пор, а именно поливолоконные мембраны на основе ароматического полиамида ВПУ-50 и ВПУ-100, пропускающие вещества с молекулярным весом от 50 до 100 кДа. При оптимально выбранных условиях эти мембраны, очевидно, приобретают положительный заряд, когда пектиновые макромолекулы имеют форму цилиндра с локальным отрицательным зарядом. В этом случае создаются условия для эффективной очистки пектиновых макромолекул от нейтральных полисахаридов, красящих и других низкомолекулярных веществ. Кроме того, когда процесс диафильтрации проводится до УФ, то это позволяет очистить пектиновый гидролизат в разбавленном растворе, в котором отсутствуют агрегаты. Причем, во-первых, очищенный пектиновый раствор легко концентрируется, а производительность мембран по фильтру при концентрировании возрастает в два и более раза по сравнению с известными решениями. Во-вторых, с включением стадии центрифугирования (сепарирования) удастся легко удалить гель, который с одной стороны мешает процессу ДУФ, а с другой стороны может найти широкое применение в фармацевтической промышленности (основа для мазей, паст и др.), а также в микробиологии в качестве геля для приготовления питательных средств. В-третьих, с применением предлагаемого способа исключаются из известной технологической линии стадии тонкой фильтрации, обесцвечивания и дополнительного концентрирования под вакуумом, где расходуется большое количество энергии [55]. Наряду с методом осаждения для получения пектиновых веществ был использован метод ДУФ с помощью мембраны УПМ-100 и Kross Flo (30 кДа, 100 кДа) на лабораторной ячейке при давлении 0.16 МПа с последующей лиофилизацией очищенных растворов пектиновых веществ [55, 94, 247]. В результате при разделении пектиновых экстрактов снижаются движущая сила процесса и, соответственно с этим, снижаются селективность, производительность и срок службы мембран. На поверхности мембраны осаждаются труднорастворимые соли и происходит гелеобразование полисахаридов, что приводит к необходимости очистки мембран. Для уменьшения влияния концентрационной поляризации и увеличения производительности мембран применяли метод ДУФ с

дистиллированной водой, что способствовало выравниванию концентраций компонентов у поверхности и в ядре потока и одновременно увеличивали скорость потока до 4-6 м/с. Этот подход был достигнут в результате прогнозирования физико-химических параметров производства пектина путём математического моделирования данного процесса.

На рисунке 2.2.1.1 показан общий вид установки ТДУФ. Данная установка была разработана совместно с учеными из МХТИ им. Д.И. Менделеева и состоит из металлического каркаса, 2 ретентатов и пермеатных труб в сборе с 24 муфтами, центробежным насосом (тангенциальный поток), системой контроля давления, УФ мембран с мест для модулей из полых волокон и двух контейнеров по 100 и 550 литров [83, 248].



Рисунок 2.2.1.1 – Общий вид установки ТДУФ

Система фильтров включает источник подачи, соединенный с насосом для подачи тангенциального потока в мембранный фильтр с полыми волокнами. Затем пермеат собирают в приемную емкость. Система ТДУФ позволяет

простым манипулированием перейти в режим обратной промывки, чтобы восстанавливать мембрану. В данной области техники известно обратная пульсация этой компоновки путем подачи потока материала высокого давления к выпускному отверстию пермеата в направлении, противоположном направлению нормального потока пермеата.

В зависимости от трансмембранного обратного импульса давления, после завершения операции поток автоматически возобновляется в том же направлении от впускного отверстия 1 к выходному впускному отверстию 2.

2.2.3 Сушка пектиновых концентратов на распылительной сушилке

Наиболее распространённым методом, применяемым для получения мелкодисперсной пищевой продукции, является воздушная сушка. Процесс сушки пищевого сырья (раствора) с получением высококачественных порошков осуществляется распылительными сушилками с прямоточным, противоточным и смешанным движением сушильного агента – воздуха.

Конструктивные особенности аппаратного оформления установок распылительной сушки обусловлены технологическими требованиями, физико-химическими свойствами обезвоживаемого материала, требованиями к процессу и параметрам факела распыления, производительностью и т.п. Важным преимуществом распылительной сушки является эффективное и удобное обезвоживание неоднородных жидких систем различной природы.

Распылительная сушка получила распространение при производстве мелкодисперсных порошков сухого молока и молочных продуктов, сухих молочных смесей детского питания, быстрорастворимого кофе, является перспективной при производстве овощных и фруктово-ягодных, яичных порошков [249-251]. Этот метод позволяет значительно интенсифицировать процесс за счет максимального уменьшения размера частиц. В сушилках такого типа происходит распыление жидкого сырья и высушивание его при движении разнонаправленным потоком сушильного агента. Нагретый в

калорифере до 160-200°C воздух поступает в сушильную камеру. Чаще всего она имеет форму цилиндра с плоским или коническим основанием. Способ сушки распылением обладает рядом преимуществ по сравнению с другими методами сушки. Именно поэтому мы использовали этот метод сушки пектиновых концентратов.

Принцип работы сушильного аппарата типа Mini Spray Dryer B-290 приведён на рисунке 2.2.3.1.

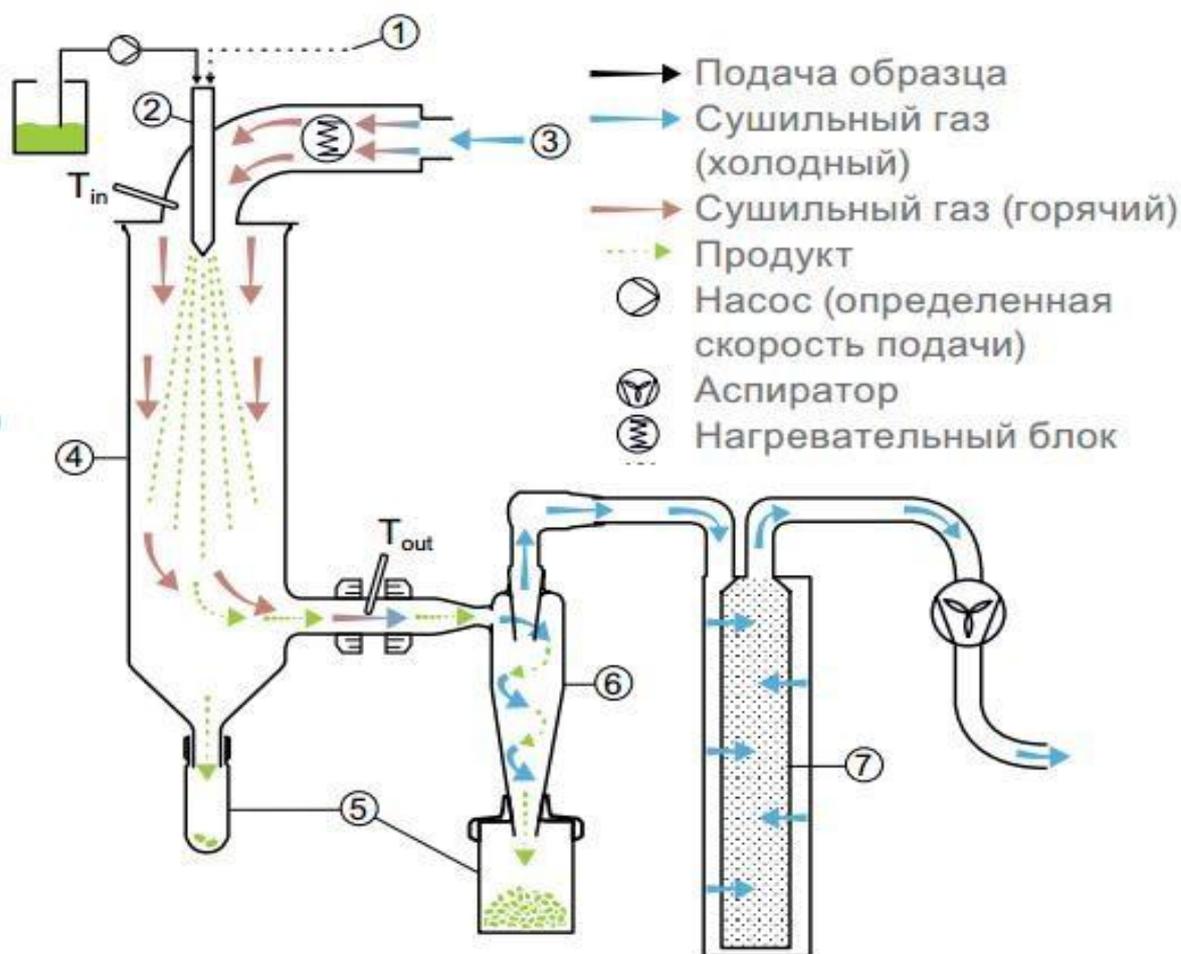


Рисунок 2.2.3.1. – Принципиальная схема работы распылительной сушилки Mini Spray Dryer B – 290: 1 – подача раствора, 2 – распылительная форсунка, 3 – подача сушильного агента (воздуха), 4 – сушильная камера, 5 – сосуд для сбора продукта, 6 – центробежный сепаратор, 7 – выходной фильтр.

Устройство распылительной сушилки состоит из следующих частей: электрического нагревательного блока, двухпоточной распылительной

форсунки, сушильной камеры (цилиндр), сосуд для сбора готового продукта (порошок), циклон фильтра, выходного фильтра, aspirатора, перистальтического насоса.

Температура в сушильной камере автоматически поддерживается на установленном уровне. С помощью двойной распылительной форсунки происходит формирование гранул. В сушильной камере происходит кондуктивный теплообмен между сушильным газом и гранулами образца.

Для переноса результатов экспериментов в опытных установках необходимо соблюдение условий масштабного перехода. Приближенное моделирование сушки следует осуществлять на основе комплексного применения расчетных и экспериментальных методов исследования. Высушенный продукт вместе с потоком горячего воздуха транспортируется в улавливатель (сосуд для сбора порошка). По циклонной технологии в камере осуществляется сбор тяжёлых частиц не подверженных полной сушке. Выходной фильтр осуществляет сбор мельчайших частиц для защиты пользователей и окружающей среды.

Исходные образцы предварительно были исследованы на физико-химические показатели. Характеристики исходных образцов представлены в таблице 2.2.3.1.

Таблица 2.2.3.1 – Исходные характеристики образцов

№ п/п	Показатели	Яблочный концентрат	Подсолнечный концентрат
1	Содержание сухих веществ, %	6	4
2	Значение pH	2.0	1.8
3	ММ, кДа	201	181
4	Прочность пектинового студня, кПа	73	65
5	СЭ, %	52	32

Результаты экспериментов процесса сушки пектиновых концентратов, т.е. влияние входных и выходных температуры аппарата, скорости потока воздуха и раствора на выход пектина приведено в таблице 2.2.3.2. В качестве объекта исследования были выбраны яблочные концентраты пектина: яблочный пектин Варзобского (ЯПВ) и яблочный пектин Файзабадского (ЯПФ) районов Республики Таджикистан.

Для переноса результатов экспериментов в опытных установках необходимо соблюдение условий масштабного перехода. Приближенное моделирование сушки следует осуществлять на основе комплексного применения расчетных и экспериментальных методов исследования.

Таблица 2.2.3.2. – Результаты экспериментов процесса сушки ПВ при различных температурах, потоках воздуха сушильного агента

Наименование образца	Температура на входе камеры (T_{in} , °C)	Температура на выходе камеры (T_{out} , °C)	Скорость подачи воздуха, м ³ /час	Скорость подачи раствора, мл/мин.	Выход пектинового порошка (%) от исходной массы
ЯПФ (120-7-2.0)	173-176	85-90	65-70	12-15	15.1
ЯПВ (120-7-2.0)	166-182	85-90	65-68	10-17	14.9
ЯПФ (120-7-2.0)	152-161	75-80	65-70	10-15	14.5
ЯПВ (120-7-2.0)	173-177	85-90	65-68	13-17	15.2
ЯПФ (120-7-2.0)	141-152	70-75	65-70	10-15	14.1
ЯПВ (120-7-2.0)	152-164	75-80	65-68	10-17	14.7

Эффективность работы сушильной установки оценивается следующими параметрами:

✓ Удельный расход сушильного агента (в килограммах сухого воздуха на килограмм испарённой влаги):

$$I = \frac{L}{W} = \frac{I}{x_2 - x_0}, \quad (2.2.3.1)$$

где x_2, x_0 - влагосодержание сушильного агента на входе и выходе из сушильной камеры соответственно (в килограммах влаги на килограмм сухого воздуха);

L – расход сухого воздуха, кг/с;

W – массовый расход испаренной влаги, кг/с;

✓ Удельный расход теплоты (в килоджоулях на килограмм испаренной влаги):

$$q = \frac{Q}{W} = \frac{i_1 - i_0}{x_2 - x_1}, \quad (2.2.3.2)$$

где i_1, i_0 – соответственно энтальпия сушильного агента на входе в калорифер и в сушильную камеру (в килоджоулях на килограмм испаренной влаги);

✓ Влагосъем с 1 м³ рабочего объема сушильной камеры (в килограммах испаренной влаги на килограмм 1 м³ сушильной камеры в час):

$$A = \frac{W}{V}, \quad (2.2.3.3)$$

где V – объем цилиндрической части сушильной камеры, м³.

Для расчета вышеперечисленных параметров необходимо определить: влажность материала ($U, \%$), массовый расход сушильного агента (кг/с).

$$I = \frac{\pi}{4} d_0^2 \rho \alpha \sqrt{2} \frac{\Delta h g}{\rho}, \quad (2.2.3.4)$$

где d_0 – диаметр отверстия диафрагмы, м;

ρ – плотность воздуха при t_2 , кг/м³, $\rho = 1.293 \frac{273}{273+t}$;

Δh – коэффициент расхода диафрагмы, $\alpha = -0,8$;

$g = 9.81$ – ускорение свободного падения, м/с²;

p – показание дифанометра у диафрагмы.

✓ Массовый расход испаренной влаги в кг/с определяется по формуле:

$$W = G \frac{U_n - U_k}{100 - U_k}, \quad (2.2.3.5)$$

где U_n, U_k – исходная и конечная влажность материала соответственно, %;

✓ Производительность сушилки G_k по сухому материалу (пектиновый порошок) в кг/с определяется по формуле:

$$G_k = G_n - W, \quad (2.2.3.6)$$

где G_n – производительность сушилки по исходному концентрату, кг/с.

2.3 Количественные методы анализа пектиновых полисахаридов

2.3.1 Модифицированный титриметрический метод

Определение свободных карбоксильных групп [141, 252]. Навеску (около 0,1 г) высушенного образца смачивали 96%-ым этанолом (5мл), добавляли 100 мл H₂O и перемешивали на магнитной мешалке до полного растворения (1,5-2,0 часа). Затем аликвоту (10-20 мл) титровали 0,01 н раствором гидроксида натрия потенциометрически до pH 7.5. Содержание свободных гидроксильных групп (K_c) в процентах рассчитывали по формуле:

$$K_c = \frac{N_{NaOH} \cdot V_{NaOH} \cdot 0,0045}{0,1q} \cdot 100, \quad (2.3.1.1)$$

где q – масса очищенного пектина, содержавшегося в аликвоте (1мл 0,1 н раствора NaOH соответствует 0,0045 г карбоксильных групп).

Определение этерифицированных карбоксильных групп [141, 252]. К оттитрованному раствору приливали 5 мл 0,1 н раствора гидроксида натрия,

плотно закрывали и оставляли на два часа при 20-40°C для полного омыления. Избыток щелочи оттитровали 0,1 н раствором HCl потенциометрически до резкого скачка pH. Параллельно проводился холостой опыт. Содержание этерифицированных карбоксильных групп (Кэ) в процентах рассчитывали по формуле:

$$K_{\text{э}} = N_{\text{HCl}} \cdot \frac{(V_{\text{HCl}}^1 - V_{\text{HCl}}^{11}) \cdot 0,0045}{0,1q} \cdot 100, \quad (2.3.1.2)$$

где V_{HCl}^1 – объем раствора HCl нормальности N, израсходованного на титрование холостого опыта; V_{HCl}^{11} – объем раствора HCl, израсходованного на титрование пробы; q – масса ПВ, содержащегося в аликвоте, г.

2.3.2 Определение количества свободных и этерифицированных карбоксильных групп с помощью ИК-Фурье спектроскопии

С помощью ИК-Фурье спектроскопии были записаны спектры сухих образцов пектинов при помощи прибора Spectrum 65 FT-IR (Perkin Elmer, Швейцария). Спектрометр оснащен приставкой нарушенного полного внутреннего отражения (НПВО), (Attenuated total reflection-ATR, MIRACLE) с кристаллом ZnSe [253]. Каждый записанный спектр был получен в среднем из 16-20 сканирований, которые варьировались в диапазоне от 4000 см^{-1} -600 см^{-1} с разрешением 4 см^{-1} . Измерения проводились на предварительно высушенных образцах после снятия фонового спектра, записанного перед каждым анализом. Каждый спектр был проанализирован с помощью программного обеспечения Perkin Elmer Spectrum, версия 10.03.07.

Повторные измерения каждого спектра показали сдвиг от предыдущего не более 2%. Содержание этерифицированных карбоксильных групп в процентах рассчитывалось по формуле:

$$\text{СЭ} = ((455 \pm 20) \cdot (A_{1439}/A_{1015})) + (2 \pm 5), \quad (2.3.2.1)$$

где 455 – постоянное значение; A_{1439} и A_{1015} – площадь под пиками при частоте спектров, 1439 см^{-1} и 1015 см^{-1} ; 2 – процент отклонения при серийной записи, как описано в [254].

2.3.3. Фотометрическое определение метоксильных групп

Для фотометрического определения метоксильных групп [141, 255, 256] 10 мг пектина растворяли в 8 мл 0.1 н NaOH при комнатной температуре. Через 30 минут к щелочному раствору приливали 2 мл 2 н H_2SO_4 , $\text{pH} > 4.0$. К 1 мл фильтрата приливали 1 мл $3 \cdot 10^{-2}$ М KMnO_4 в 4,4 М H_3PO_4 , смесь оставляли на 20 минут, затем приливали 0,5 мл свежеприготовленного 0.15 М водного раствора Na_2SO_3 . К 1 мл обесцвеченного раствора добавляли 0,5 мл раствора хромотроповой кислоты (30 мг/мл) и 3,5 мл H_2SO_4 (82–96%), охлажденной до 0°C . Смесь выдерживали в кипящей водяной бане 10 мин, охлаждали до комнатной температуры и измеряли оптическую плотность при максимуме поглощения (570 нм) относительно нулевого раствора.

Содержание метоксильных групп (CH_3O) в массовых процентах вычисляли по формуле:

$$\text{CH}_3\text{O} = \frac{D \cdot 100}{1,03 \cdot K \cdot L \cdot C_1}, \quad (2.3.2.1)$$

где D – оптическая плотность раствора при 570 нм; L – толщина поглощающего слоя; K – условный коэффициент поглощения, равный $6,1\text{ мл} \cdot \text{мг}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$; C_1 – концентрация пектина в исходном растворе, мг/мл; 1,03 – отношение молекулярных масс $M_{\text{CH}_3\text{O}} / M_{\text{CH}_2\text{O}}$.

2.3.4. Определение уроновых кислот метагидроксифенильным методом

Для определения уроновых кислот [257] без включения нейтральных сахаров (метод Филизетта-Кози) используется готовый стандартный раствор ГК или образца ПВ с концентрацией 100 мкг/мл. Перед растворением стандарта или образца их необходимо поместить в вакуум на сутки. Работать можно максимум

с 10 пробирками. Для построения калибровочной кривой готовят серию растворов: 25%, 50%, 75%, 100%.

Таким образом, в пробирку поместили 0,4 мл раствора и добавили 40 мкл 4 молярного раствора сульфаминовой кислоты. Пробирки закрыли и перемешали, затем поместили в сосуд с водой и льдом и осторожно приливали 2,5 мл раствора тетрабората в серной кислоте.

Пробирки встряхивали в охлажденной смеси и нагревали 15 минут в кипящей водяной бане. После этого пробирки охлаждали в сосуде с водой и льдом в течение 1-1,5 часов.

Далее, в пробирки добавляли 80 мкл 0,5%-го раствора метагидроксифенила, оставляли на 3 минуты, после чего перемешивали до появления окраски. Оптическую плотность измеряли при 525 нм (окраска стабильна в течение 13 минут). Содержание ГК вычисляли по формуле:

$$X = a \cdot V_2 \cdot V \cdot 100 / H \cdot V_3 \cdot V_1 \cdot 1000000, \quad (2.3.3.1)$$

Где а – содержание ГК в пробе, найденное по калибровочной кривой, мкг;

Н – масса навески, г;

V – объем экстракта, полученного из навески, мл;

V₁ – объем, взятый для разведения, мл;

V₂ – объем, полученный после разведения, мл;

V₃ – объем пробы, взятой для реакции, мл;

100 – коэффициент перевода в проценты.

Построение калибровочной кривой ГК по ГК с использованием 3-гидрокси дифенила.

Стандартный раствор ГК готовили следующим образом: 110 мг ГК растворили в 100 мл воды и разбавили до концентрации 100 мкг/мл. Путем разбавления для калибровки готовили серию растворов: 10%, 20%, 40%, 60%, 80%, 100%. Далее эксперимент проводили согласно методу 1. На основании полученных данных строили калибровочную кривую ГК.

2.3.5. Эксклюзионная жидкостная хроматография

Средневесовая (M_w), среднечисленная (M_n), z-средняя (M_z) молекулярные массы и показатель полидисперсности (M_w/M_n) были определены методом ЭЖХ [3]. В зависимости от вязкости раствора пектина высушенный образец растворяли в 0.05M NaNO_3 до конечной концентрации 1 или 2 мг/мл, центрифугировали при 20000 g в течение 20 минут для отделения АФ и фильтровали через мембранный фильтр (0,45 мкм, Millipore Millex – HN). Раствор в количестве 0,1-0,2 мл в хроматограф вводился автоматически. Скорость потока элюента – 0,8 мл/мин. Система доставки растворителя состояла из двухканального вакуумного дегазатора, насоса высокого давления (Waters 1515 Isocratic Pump) и автоинжектора (717 Plus Auto Injector, Waters). Для разделения ПП использовали две колонки, содержащие PL-Aquagel OH40 и PL-Aquagel OH60. ММ пектинов определялась одновременно с помощью программного обеспечения ASTRA 5.3.4.13 (Wyatt Technology) и Breez (Waters). Значения для M_w были получены на ЭЖХ с использованием универсальной калибровки. ЭЖХ колонки калибровались с использованием молекулярных стандартов Пуллулана (Showa Denko K.K., Japan).

Значения M_w , M_w/M_n и RMS радиус очищенных ПП образцов также были определены с помощью ЭЖХ системы в сочетании с детектором многоугольного лазерного светорассеивания (МУЛС, HELEOS II, Wyatt Technology Corp., Santa Barbara, CA, США), УФ (UV, Wyatt Technology), вискозиметрического (Viscostar II, Wyatt Technology) и рефрактометрического (REX, Wyatt Technology) детекторов. Для ЭЖХ разделения ПП в первом методе использовали две колонки, содержащие PL-Aquagel OH40 и PL-Aquagel OH60, а во втором методе колонки фирмы Tosoh GMPWxl columns - TSKgel GMPWxl (7.8 mm ID x 30 cm, 13 M_w в области 5×10^{-2} - 8×10^{-6}). ММ пектинов определялась с помощью программного обеспечения ASTRA 5.3.4.13 (Wyatt Technology). Значения для M_w были получены с использованием универсальной калибровки и Zimm 1st

order для многоугольного лазерного светорассеивания соответственно. ЭЖХ колонки калибровались с использованием молекулярных стандартов Пуллулана (Showa Denko K.K., Japan) и серии декстранов (Т10-Т500). Значение инкремента dn/dc , равного 0.134, было заимствовано из работы [258]. ММ пектинов определялась с помощью программного обеспечения ASTRA 5.3.4.13 (Wyatt Technology).

2.3.6. Определение моносахаридного состава пектинов газожидкостной хроматографией

Моносахаридный состав пектинов определяли методом газожидкостной хроматографии, взятой из работы [141].

Количественный анализ проводили методом внутреннего стандарта [42]. Концентрацию каждого компонента (C_i) в массовых процентах определяли по формуле:

$$C_i = \frac{S_i \cdot f_i \cdot M_{st}}{S_{st} \cdot M_m} \cdot 100, \quad (2.3.4.1)$$

где S_i – площадь пика компонента i анализируемой смеси; f_i – относительный поправочный коэффициент, определяемый по отношению к стандарту; S_{st} – площадь пика стандарта; M_{st} , M_m – массы внутреннего стандарта и анализируемой смеси, соответственно.

2.4 Количественное определение содержания ионов кальция в пектине

Для определения содержания кальция [256] в растительном сырье необходимо привести его из связанного в растворимое состояние. Для растворения кальция необходимы сильные кислоты, например, HCl, H₂SO₄, HNO₃ и др.

Для определения Ca²⁺ в ПВ необходимое количество (100мг) образца обрабатывали 4н раствором соляной кислоты (20 мл) и нейтрализовали 4н раствором NaOH (20 мл). Полученный раствор разбавляли до 100 мл, добавляли

5 мл аммиачного буферного раствора, приготовленного следующим образом: 54 г NH_4Cl и 350 мл концентрированного раствора NH_4OH смешивали и разбавляли дистиллированной водой до общего объема 1 л (NH_4Cl и NH_4OH не должны содержать щелочноземельных, цветных и черных металлов) и 0,5-1,0 мл раствора индикатора эриохрома черного Т (вместо раствора индикатора можно использовать его порошкообразную смесь с NaCl в соотношении 1:100, добавляя ее небольшими порциями до получения винно-розовой окраски раствора). Раствор нагревали до 40°C и титровали 0,05 н раствором трилона Б до перехода окраски в сине-зеленую. Если раствор не содержал заметных количеств солей магния, то перед титрованием вводили 5 г комплексоната магния $(\text{Na}^+)_2[\text{MgY}]$.

Если в растворе имелось небольшое количество тяжелых металлов, то в него добавляли 0,5 г Na_2S . Содержание кальция вычисляли по формуле:

$$X_{\text{Ca}^{2+}} = \frac{V \cdot N \cdot V_1 \cdot 20,04}{V_2}, \quad (2.4.1)$$

где V – объем раствора, полученного после разведения, мл; V_1 – объем раствора трилона Б, мл; V_2 – объем пробы раствора, взятой для титрования, мл; N – нормальность раствора трилона Б; 20,04 – эквивалент ионов кальция.

2.5 Определение студнеобразующей способности низкометилованного пектина

Метод основан на определении максимальной прочности студня на разрыв в серии проб, приготовленных с различным содержанием кислоты [259]. Определение производится на приборе ТАРР-Бейкера. По ТАРР-Бейкеру нормальным считается студень, содержащий 65% сахара, оптимальное количество винной кислоты и такое количество пектина, чтобы прочность его на разрыв по прибору ТАРР-Бейкера соответствовала 50 см столба четыреххлористого углерода. Число градусов ТАРР-Бейкера ($^\circ\text{ТБ}$) показывает,

какое количество сахара в граммах связывает один грамм данного пектина для образования нормального студня.

Для нахождения максимальной величины студнеобразующей способности готовят серию из 5-8 проб, сваренных с различным количеством раствора винной кислоты, в интервале рН 3.4-2.6. Ориентировочное количество кислоты от 0,2 до 2,0 мл с интервалом 0,2 мл.

Навеску 0,36 г пектина, взвешенную с погрешностью 0,01 г, переносят в сухую или ополоснутую спиртом мерную колбу объемом 500 мл, увлажняют 3-4 мл спирта и растворяют в теплой (30-40°C) воде при интенсивном перемешивании. Затем колбу с содержимым охлаждают до 20°C, доливают воду до метки и встряхивают. Отбирают пипеткой 50 мл пектинового раствора и переносят в предварительно взвешенную вместе со стеклянной палочкой-мешалкой емкость для варки студня. Пипетку ополаскивают 25 мл воды, собирая ее в емкость, добавляют 108 г сахара, взвешенного с погрешностью не более 0,1 г. Смесь нагревают до кипения, вносят требуемое количество раствора винной кислоты и продолжают варку при постоянном перемешивании до получения массы нетто 167 г, взвешенной с погрешностью не более 0,1 г. Продолжительность варки не должна превышать 5 минут с момента закипания смеси, что достигается регулированием нагрева. В ходе варки массу проб периодически проверяют взвешиванием. По достижении требуемой величины массы, смесь тот час, выливают в стандартный стеклянный стакан, придерживая образовавшуюся на поверхности пленку мешалкой, стакан заполняют на высоту 65 мм, помеченную чертой. Через 1 мин с поверхности студня осторожно снимают образовавшуюся тонкую пленку, а еще через 10 мин поверхность студня покрывают тонким слоем жидким вазелиновым маслом, нанося его пипеткой (8-10 капель). Пробу охлаждают, помещая стакан в ванну с холодной водой, затем оставляют при комнатной температуре не менее чем на 20 часов. В зоне предполагаемого максимума готовят две пробы студня с одинаковым количеством кислоты.

Из серии определений учитывают максимальный результат и находят студнеобразующую способность в градусах ТАРР-Бейкера по таблице. При этом

пользуются значениями величины столба четыреххлористого углерода от 20 до 50 см, соответствующих пределу наибольшей точности. В случаях, когда высота столба четыреххлористого углерода, определенного в опыте, выходит за указанные пределы, необходимо приготовить новую серию проб студня с увеличенным или уменьшенным количеством пектина, отличным от 0,36 г. Истинную студнеобразующую способность (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{X_1 \cdot 0,36}{m} \text{ } ^\circ\text{ТБ}, \quad (2.5.1)$$

где X_1 – студнеобразующая способность пектина, найденная по таблице;
 m – масса пектина в стандартной пробе, г.

За результат анализа принимают среднее арифметическое двух значений студнеобразующей способности с одинаковым количеством кислоты, допустимое расхождение между которыми не должно превышать 15°ТБ ($P=0,95$).

2.6 Определение прочности пектинового студня по Риджелиметру

Прочность пектинового студня определяют с помощью Риджелиметра [260], который представляет собой прибор с микрометром (рисунок 2.6.1). Стеклянные сосуды для Риджелиметра имеют высоту 79,4 мм по центру. Перед началом определения сосуды подготавливаются следующим образом: ободок из парафинированной бумаги шириной 40 мм прикрепляется при помощи клейкой ленты к верхней части стеклянного сосуда, чтобы увеличить его примерно на 25 мм.

Для приготовления пектинового студня 30 г сахара растворяют в 15 мл дистиллированной воды в химическом стакане емкостью 400 мл. После охлаждения раствора вносят отвешенное количество порошкообразного пектина при непрерывном перемешивании. Массу пектина определяют на основании принятого градуса прочности из расчета: для прочности 100°C SAG масса пектина составляет 4,625 г.

Через 5–10 минут к суспензии пектина приливают 150 мл горячей дистиллированной воды и оставляют на один час. Затем добавляют еще 150 мл воды и доводят рН смеси до 3.10 буферными солями. Полученный раствор с 387 г сахара варят в предварительно взвешенном сосуде емкостью 2-3 л. При уваривании смеси дополнительно вводят буферный раствор (25 мл). Желейную массу уваривают до 600 г. Продолжительность варки 8-12 минут. Содержание сухих веществ 70-71% по рефрактометру, рН 50% раствора (в отношении веса к объему) должно составлять 3.05-3.15.

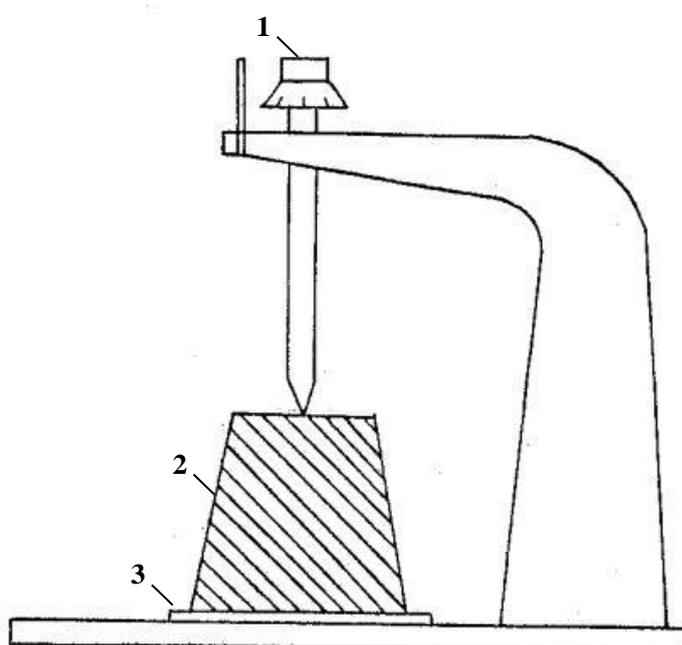


Рисунок 2.6.1. – Риджелметр для исследования качества пектина:
1 – микрометр; 2 – студень; 3 – стеклянная пластина

Полученную массу разливают в два приготовленных сосуда так, чтобы уровень жидкости был примерно на 12,7 мм ниже верхнего края бумаги. Сосуды с охлажденной массой накрывают часовыми стеклами и оставляют для студневания при температуре 15,5-18,5°С на 18 часов.

Перед измерением прочности студня с сосуда снимают бумажный ободок и проволочным резакот срезают верхнюю часть студня на уровне края стакана. Проволоку резака держат туго натянутой с помощью упругой стальной петли. Отрезанную часть студня удаляют, а студень из стакана помещают на

стеклянную пластинку Риджелиметра, опрокидывая и переворачивая понемногу стеклянную форму. Микрометр должен быть установлен таким образом, чтобы расстояние между нижней поверхностью винта микрометра и верхней поверхностью стеклянной пластины было равным 79,4 мм, когда микрометр показывает ноль.

Высота студня, находящегося в стеклянной форме. Винт микрометра откалиброван таким образом, что один поворот равен одному делению шкалы и равен 0,8 мм. Ровно через 1 минуту измеряют высоту неподдерживаемого студня, опуская микрометр до тех пор, пока его острый конец не коснется верхней поверхности студня.

Потеря студнем высоты без поддержки называется «прогибом» и одно деление шкалы равно «прогибу» в 1%. Прибор откалиброван по известному стандартному пектину прочностью 100°SAG, дающему «прогиб» примерно 25%.

Исследуя стандартные студни, приготовленные с различным содержанием пектина, строят график, который должен охватывать диапазон «прогиба» от 10 до 35%. Этот график может быть использован для определения градуса прочности неизвестных видов пектина.

2.7 Методы исследования гидродинамических свойств

2.7.1 Определение характеристической вязкости

Для определения характеристической вязкости [261] к навеске пектина добавляли рассчитанное количество 1%-го раствора КС1 и при интенсивном перемешивании с помощью магнитной мешалки растворяли, небольшое количество нерастворимых остатков отделяли центрифугированием при скорости ротора равной 7000 об/мин., высушивали и учитывали при расчете концентрации раствора. Измерение времени течения растворов различной концентрации (от 0,20 до 0,06 г/дл) проводили в вискозиметре Уббелоде (время течения растворителя 75 сек.) при 25°С с точностью 0,1 сек. По полученным данным рассчитывали приведенные вязкости в зависимости от концентрации

раствора и путем экстраполяции первого параметра к нулевой концентрации определяли значение характеристической вязкости.

Пектин растворяли в 1%-ом водном растворе КС1, фильтровали через фильтр Шотта №2. Характеристическую вязкость ($[\eta]$, дл/г) определяли путем измерения времени течения растворов разной концентрации.

2.7.2 Определение гидродинамических свойств пектинов методом эксклюзионной жидкостной хроматографии

Хроматографию образцов пектина проводили как описано в разделе 2.3.5. Для определения гидродинамических параметров: характеристической вязкости $[\eta]$ и гидродинамического радиуса $[R_h]$ разбавленные растворы вводили трехкратно и в расчетах использовали среднее значение полидисперсности (M_w/M_n , M_z/M_n), среднечисленной ММ (M_n), средневесовой ММ (M_w), z-средней ММ (M_z) [261]. Изменение коэффициента преломления в зависимости от концентрации полимера dn/dc в растворе 50мМ NaNO_3 равно 0.132 было взято из работы [262]. Гидродинамические параметры пектинов определялись с помощью программного обеспечения ASTRA 5.3.4.13 (Wyatt Technology).

2.8 Методы исследования структуры полисахаридов

2.8.1 ИК-Фурье спектроскопия

Образец полисахарида сушили при 110°C в течение 30 минут и анализировали с помощью ИК-Фурье спектроскопии с помощью спектрометра Nicolet TMiSTM50 (Киото, Япония), оснащенного приставкой нарушенного полного внутреннего отражения (Attenuated total reflection-ATR, MIRACLE), монолитным кристаллом алмаза, контролируемым программным обеспечением Omnic. Образец регистрировали в диапазоне сканирования 400-4000 cm^{-1} с 128 сканирований с спектральным разрешением 2 cm^{-1} [248]. Устройство контроля давления обеспечивало хороший контакт между образцом и кристаллом. Фоновый спектр был получен на воздухе.

2.8.2 ЯМР-спектроскопия

Образец пектинов растворили в D_2O с добавлением d4-триметилсилилпропановой кислоты в качестве внутреннего эталонного стандарта. Их спектр был получен на ЯМР-спектрометре 14 Tesla Agilent DD2 (Санта-Клара, Калифорния) с использованием 5-мм зонда OneNMR с градиентами импульсного поля по оси z, работающими при 25-80°C. В ЯМР спектрах сигналы измерения при двух температурах показали очень мало заметных различий. Одномерные ЯМР-спектры $1D-^1H$ были получены с углом импульса 45° , задержкой релаксации 1с и шириной спектра 8 ppm, используя 32 тыс. точек и усреднённые по 64-256 последовательных циклов (режим накопления). Спектры $1D-^{13}C$ были получены с углом импульса 45° , задержкой релаксации 0,2 с и шириной спектра 220-250 м.д. с использованием развязки протонов по всей длине, 32 тыс. точек данных и в среднем составляли более 30000-100000 последовательных циклов. Все 1D ЯМР-спектры обрабатывали с использованием базы данных библиотеки MestReNova [263].

В эксперименте zTOCSY время перемешивания 100 мс. Эксперименты по двумерной гетероядерной корреляции, HSQC, HSQCTOXY и HMBC, были усилены градиентом и использовали адиабатические импульсы. Эти спектры имели спектральную ширину 8 ppm в измерении с прямым обнаружением (1H) и 201 ppm в измерении с косвенным обнаружением (^{13}C) и были получены с углами импульсов 90° , усреднены по 96 последовательных циклов и использовались 2 тыс. точки при измерении с прямым обнаружением. В экспериментах HSQCTOXY время смешивания (t^2) составило 100 мс, и были проведены три эксперимента HMBC с константами взаимодействия 8, 10 и 12 Гц. Все 2D-спектры были обработаны программой VNMRJ (-Клара, Калифорния) и визуализированы Sparky [264].

2.9 Выделение и методы анализа белков

2.9.1 Выделение β -лактоглобулина из молочной сыворотки

Концентрат β -La был выделен из МС молочной фабрики «Саодат». Для выделения β -La из МС был использован метод [265, 266], включающий следующие стадии: подкисление сыворотки до рН 4.0, центрифугирование, УФ горячей сыворотки на мембране, способной пропускать вещества с молекулярным весом ≤ 50 кДа, для удаления остатков казеина и альбумина с последующей ДУФ на мембране, пропускающей вещества с молекулярным весом ≤ 10 кДа, и выделение LgC в ретентанте. Контроль содержания LgC осуществляли методом капиллярного электрофореза (КЭ) на приборе 3D Agilent HPCEG 1600 AX компьютерной программой Agilent ChemStation Software (Rev. B.02.01-SR2) [266].

Полученный концентрат охлаждали до 5°C для удаления примесей, содержащихся в МС, в частности казеина и минеральных солей, и центрифугировали при 5000 об/мин. в течение 20 минут. Далее методом УФ проводили деминерализацию для удаления растворимых минеральных солей и лактозы. УФ при $P = 1.4$ атм проводилась в два этапа: на первом этапе МС пропускали через мембрану диаметром 0,2 мкм, на втором МС концентрировали на мембране УАМ 175 А°. Концентрацию белков определяли методом Седмака по калибровочному графику. Для проведения ионообменной хроматографии брали колонку вместимостью 450 мл, заполняли 300 мл амберлита ИРА-400 (в набухшем виде) и регенерировали 0,1 н раствором NaOH. Промывали колонку дистиллированной водой до нейтральной среды и пропускали 1 л МС ($C=1,02$ мг/мл). Затем колонку промывали дистиллированной водой, элюировали 1М раствором NaCl со скоростью 6 мл/мин., отбирали элюат по 10 мл и определяли концентрацию белка. По окончании колонку регенерировали фосфатным буфером (рН 7), промывали дистиллированной водой и регенерировали 0,1 н раствором NaOH с целью вторичного использования.

Полученные фракции ставили на диализ и контролировали чистоту LgC методом гель-электрофореза [118].

2.9.2 Определение белка методом Седмака

Количественное содержание белков концентрата β -La, выделенного из молочной сыворотки [266], анализировали методом Седмака [258]. 1.5 мл раствора препарата, содержащего 0.010-0.0150 мг испытуемого белка, помещали в пробирку, прибавляли 1.5 мл раствора Кумасси ярко-голубого G-250, перемешивали и оставляли при комнатной температуре в течение от 5 мин до 3 часов. Оптическую плотность измеряли на спектрофотометре при двух длинах волн: 620 и 465 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения [265] использовали раствор без препарата и красителя Кумасси ярко-голубого G - 250. Калибровочный график строили в пределах концентраций от 0.005 до 0.150 мг стандартного образца белка [265] при оптической плотности 620 и 465 нм.

2.9.3 Методы выделения зеина из кукурузной муки

Обезжиривание семян кукурузы и выделение зеина. Семена кукурузы измельчали на мельнице, полученную муку просеивали через сито для муки. Обезжировали муку двухкратной обработкой петролейным эфиром при температуре 0-4 °С и продолжительности каждой обработки 3-4 часа. Обезжиренную муку сушили до достижения постоянного веса на воздухе. Далее для выделения зеина навеску муки смешивали с 5-кратным объёмом водно-спиртового раствора и на магнитной мешалке при комнатной температуре экстрагировали белок в течение 2 часов. Полученный экстракт центрифугировали в течение 15 минут при 4000 об/мин., надосадочную жидкость удалили, а осадок вновь помещали в экстрактор Сокслета. Третью экстракцию проводили при 60°С в течение 2 ч 3-кратным объёмом водного этанола. Полученные экстракты охлаждали, белок высаживали 0.1 М

раствором NaCl в холодильнике в течение ночи, центрифугировали при 4000 об/мин. 5 минут, осадок дважды промывали от ионов хлора и сушили в эксикаторе над KOH.

Для выделения зеина из кукурузной муки последовательной экстракцией вначале извлекали легкорастворимые водой и 0.1 М NaCl белки – альбумины и глобулины, затем спирторастворимые зеины 75% этанолом и глютелины 0.05 Н раствором щёлочи [118].

Выделение кукурузного масла. Просеянную кукурузную муку помещали в бумажный патрон, покрывали тонким слоем ваты и вставляли в экстрактор аппарата Сокслет. В собранный аппарат через холодильник заливали эфир, включали воду и нагревающее устройство. Для полного извлечения масла достаточно 3 ч непрерывной работы аппарата. Полученное масло сушили сульфатом натрия и фильтровали через складчатый фильтр. Дальнейшие процедуры проводили в специальном устройстве для отгонки эфира. Полученное масло фильтровали через стеклянный фильтр и взвешивали.

Определение общего белка в обезжиренной муке кукурузы. Обезжиренную муку кукурузы заливали смесью этанола и 4% раствора щёлочи в соотношении 1:1 в колбе с притёртой пробкой, во избежание испарения этанола. Смесь хорошо взбалтывали и оставляли на ночь при комнатной температуре. Затем центрифугировали при 4000 об/мин. в течение 10 минут. В супернатанте белок определяли биуретовым методом. Для этого отбирали пробы по 1 мл раствора белка, добавляли 4 мл биуретового реактива и смесь оставляли на 30 минут. Интенсивность окраски определяли спектрофотометрически при длине волны 540-650 нм. Содержание белка определяли по величине экстинкции с помощью калибровочного графика, для построения которого использовали сывороточный альбумин.

2.9.4. Определение белков спектрофотометрическим методом

Для определения белков был использован спектрофотометрический метод [267]. Использовали стандартные белки без предварительной очистки, бычий

сывороточный альбумин, яичный альбумин, лизоцим, пепсин, химотрипсин, рибонуклеазу, ингибитор трипсина из сои, пероксидазу из хрена (Реанал, Венгрия), трипсин (Спофа, ЧССР).

Растворы стандартных белков готовили в трех повторностях (концентрация 0,5 мг/мл). Препарат пероксидазы растворяли в ацетатном буфере (рН 5), альбумин яичный и лизоцим – в фосфатном буфере (рН 7,9), остальные белки – в воде.

Оптическую плотность растворов определяли на спектрофотометре Specord M 40 в 1 см кювете, используя программу измерения, состоящую из трех блоков по значениям аналитических длин волн (235, 260 и 280 нм). Расчет концентрации белка и статистическую обработку данных проводили на компьютере по разработанной программе.

Концентрацию белка (мг/мл) по значениям оптической плотности при 260 и 280 нм рассчитывали по формуле (2.9.3.1), а при 235 и 280 нм – по формуле (2.9.3.2):

$$C = 1,45D_{280} - 0,74D_{260} \quad (2.9.3.1)$$

$$C = (D_{235} - D_{280}) / 2,51 \quad (2.9.3.2)$$

2.9.5 Определение белков молочной сыворотки электрофоретическим методом

Для фракционирования белков МС применили наиболее распространенный метод электрофореза белков в полиакриламидном геле (ПААГ) в присутствии додецилсульфата натрия (SDS-Na).

Качественный белковый состав МС определили методом электрофореза [268] в ПААГ (4-14%), содержащем додецилсульфата натрия (SDS-Na). В качестве электродного буферного раствора приготовили 0.025М Трис-глициновый раствор с рН 8.3. Буфер для растворения образцов содержал 0.44 М Трис-ОН, 0.1% мМ ЭДТА, 10% SDS-Na и 20% β-меркаптоэтанол. Электрофорез

проводили при постоянном напряжении 120 В в течение 16-20 часов. После завершения электрофореза гели окрашивали в коллоидном 0,25% растворе Кумасси G-250, затем для обесцвечивания фона отмывали водой и высушивали между слоями целлофана.

Используемая миниэлектрофоретическая система фирмы SIGMA дает существенно лучшие результаты и позволяет идентифицировать большое количество белковых фракций сыворотки, включая минорные компоненты, оценить общую картину белкового спектра и определить молекулярные массы белков.

Молекулярные массы белков определяли по калибровочному графику, построенному в зависимости от подвижности белков – стандартов фирмы SIGMA.

2.9.6 Методика разделения белков молочной сыворотки на капиллярном электрофорезе

Метод мицеллярной электрокинетической хроматографии (МЭКХ) объединяет электрофорез и хроматографию. МЭКХ получил наиболее широкое распространение среди других вариантов капиллярного электрофореза, в первую очередь, за счет способности разделять как ионогенные, так и незаряженные компоненты проб [266].

Разделение белков в капиллярном электрофорезе (3DAgilent HPCE G1600AX, фирмы Agilent Technologies, США) проводили с использованием капилляра из инертного материала с полимерным покрытием. Готовили образец с концентрацией (1мг/мл) в 25% фосфатном буфере. Рабочий буфер содержал 200 тМ натрия фосфат с рН 2.0 и 0.1% SDS-Na.

Исследуемый образец растворяли в соотношении 1:3 в 2.5 тМ Трис-глициновом растворе с рН 8.9, 5% β-меркаптоэтаноле, 1% SDS-Na, 10% глицерине и нагревали 5 минут при температуре кипения. Электрофорез проводили при постоянном напряжении 10 кВ.

2.9.7 Электрофорез зеина в 7.5% ПААГ

Электрофорез зеина был проведён в вертикальном 7.5 % ПААГ (рН 3.1), содержащем 5% уксусную кислоту и 6 М мочевины в 0.026 М уксусной кислоте при напряжении 200 В в течение 1 часа, и при 580 В в течение 45 часов. Перед разделением образцы белка растворяли в буфере, содержащем 6 М мочевины с 6% акриламидом. После завершения электрофореза гели окрашивали в коллоидном растворе Кумасси G-250, затем для обесцвечивания фона отмывали водой и высушивали между слоями целлофана [268].

2.9.8 Электрофорез зеина в ПААГ, содержащем SDS-Na

Для разделения зеина был использован общепринятый метод – электрофорез в ПААГ в присутствии додецилсульфата натрия (SDS-Na). Электрофорез проведен с использованием 14% разделяющего и 4% концентрирующего гелей. В качестве электродного буферного раствора приготовили 0.025М Трис-глициновый раствор с рН 8.3. Буфер для растворения образцов содержал 0.44 М Трис-ОН, 0.1% мМ ЭДТА, 10% SDS-Na и 20% β-меркаптоэтанол. Электрофорез проводили при постоянном напряжении 120 В в течение 16-20 часов. После завершения электрофореза гели окрашивали в коллоидном растворе Кумасси G-250, затем для обесцвечивания фона отмывали водой и высушивали между слоями целлофана [268].

2.9.9 Турбидиметрическое титрование зеина кукурузы

Для определения полидисперсности макромолекул зеина использовали метод турбидиметрического титрования [269].

Сначала проводили грубое титрование. В плоскодонную колбу наливали 15 мл раствора полиметилметакрилата в ацетоне, погружали в раствор стерженек магнитной мешалки, колбу устанавливали на столик магнитной мешалки и при перемешивании титровали раствор водой до появления еле заметной на глаз мутности. Измеряли объем осадителя, израсходованного на грубое титрование.

Точное титрование выполняли в кювете. В кювету наливали 15 мл исходного раствора полимера, погружали в него стерженек магнитной мешалки и при непрерывном перемешивании быстро добавляли в кювету воду (на 2 мл меньше, чем пошло на грубое титрование). В две другие кюветы наливали чистый растворитель. Следили за тем, чтобы стенки кювет, через которые проходят пучки света, всегда были чистыми. Помещали кюветы в кюветдержатели и измеряли оптическую плотность рабочего раствора с помощью ФЭК. Затем, вновь поместив кювету с рабочим раствором на столик магнитной мешалки, продолжали перемешивать после каждого добавления 0,3 мл осадителя до тех пор, пока оптическая плотность раствора не перестала изменяться.

Форма записи результатов: исследуемая система – начальный объем и концентрация раствора: Объем осадителя, израсходованного на грубое титрование: Условные обозначения: V – объем добавленного осадителя; NTU – мутность раствора полимера; NTU_0 – мутность до порога осаждения, т.е. мутность еще прозрачного раствора до начала выделения из него полимера; γ – объемная доля осадителя; NTU_1 – мутность раствора, обусловленная выделенным полимером; NTU_2 – мутность раствора с поправкой на разбавление раствора осадителем.

Обработка результатов: откладывая по оси абсцисс значения γ , а по оси ординат значения D_2 , строили интегральную кривую турбидиметрического титрования. Графическим дифференцированием этой кривой по γ получали дифференциальную кривую титрования. Для этого на оси абсцисс выбирали на равном расстоянии друг от друга точки, из которых восстанавливали перпендикуляр до пересечения с кривой, и из этих точек пересечения проводили прямые, параллельные оси абсцисс, до пересечения со следующей ординатой. Рассчитывали отношение приращений $\Delta D_2 / \Delta \gamma$ для каждой выбранной точки. Строили дифференциальную кривую, откладывая на оси ординат $\Delta D_2 / \Delta \gamma$, а на оси абсцисс γ . Интегральную и дифференциальную кривые строили на одном графике.

2.10 Приготовление микрокапсул в эмульсионной системе масло в воде (м/в)

Микрокапсулы получали двухстадийной процедурой: первичную эмульсию – гомогенизацией 4 мл подсолнечного масла с 10 мл 0.2 % модельного ЛВ РХ в этаноле и соответствующим количеством водного раствора катионактивного эмульгатора – 2 % LgC при перемешивании в течение 15 минут при 1000-2000 об/мин. и температуре 60°C на высокоскоростном гомогенизаторе ИКА Т-25 (ULTRA TURRAX, ИКА-WERKE GMBH & CO.KG, Germany). Затем, в полученную эмульсию, не прекращая мешать, медленно добавляли соответствующий объём водного раствора противоположно заряженного пектина, который, адсорбируясь на поверхности липидных капель, образует вторичную 41 эмульсию. Перемешивание продолжали ещё в течение 20 минут, полученную эмульсию промывали дистиллированной водой для удаления несвязанных ЛВ. 2.6.1.

2.11 Выделение и очистка пироксикама

Химическое название РХ: 4-гидрокси-2-метил-N-2-пиридирил-2H-1,2-бензотиазин-3-карбоксамид-1,1-диоксид. Брутто-формула – $C_{15}H_{13}N_3O_4S$.

РХ был получен из лекарственных капсул (производство ABIDI, Iran) экстракцией с помощью хлороформом и с последующей его перекристаллизацией гексаном.

Степень его очистки контролировали методом КЭ. Электрофоретическое разделение проводили на приборе для капиллярного электрофореза Agilent 3D CE Model G1600 с кварцевым капилляром G1600-61232, эффективной длиной 40 см и внутренним диаметром 50 мкм.

Время электромиграции РХ составило 8,121 мин. (рисунок 2.12.1).

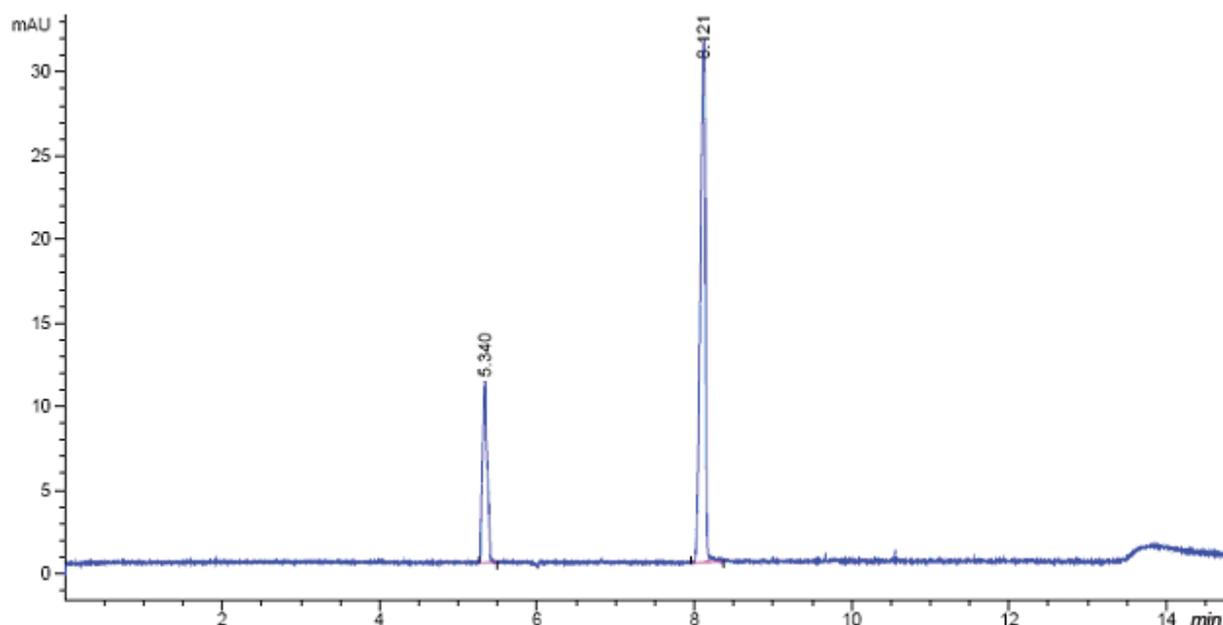


Рисунок 2.12.1. Электрофореграмма РХ при рН 8.5

Перед анализом капиллярную колонку промыли щелочным раствором (1 М NaOH, 0.1 М NaOH), водой и рабочим буфером. В начале каждого рабочего дня, капилляр промывали в течение 10 минут рабочим буфером. Между каждым анализом, капилляр последовательно промывали водой и метанолом в течение 2 минут, затем рабочим буфером в течение 3 минут. Ведущий электролит для разделения РХ состоял из 50 мМ ацетата аммония \pm 13,75 мМ аммиака в метаноле с рН 8.5. Напряжение составляло \pm 25 кВ (полярность к аноду). Детектирование проводилось с использованием диодоматричного УФ-детектора при длине волны 220 нм. Все растворы перед введением в капилляр электрофореза фильтровались через 0.45 мкм мембранный фильтр. Пробу вводили гидродинамически в течение 3 секунд (соответствует 8 нл). Капиллярную колонку термостатировали при 25°C. Анализируемое вещество растворили в метаноле. Электроосмотический поток измеряли нейтральным маркером (0,01% бензиловым спиртом).

2.12 Получение гидрогелевых микросфер на основе пектина и зеина

Пектин-зеиновые микросферы формировались двумя способами: а) путём добавления 12 мл раствора пектина к 75 об. % спиртовому раствору зеина (15мл),

содержащему РХ и CaCl_2 (из расчета 30 мг Ca^{2+} на 1 г пектина) при комнатной температуре при перемешивании; б) путем прикапывания водного раствора пектина (12 мл), содержащего РХ в 3мл 75 об. % спирта к 13 мл смеси 75 об. % спиртового раствора зеина и солей двухвалентных металлов (CaCl_2 , ZnSO_4), причем РХ и сшивающие металлы брали вдвое больше. Концентрация зеина варьировалась от 50 до 1000 мг, пектина от 200 до 350 мг, РХ-20 и 50 мг, во всех экспериментах, за исключением комплекса с соотношением пектин:зеин 1.4:1, где РХ брали в избытке (200 мг). Полученные комплексы промывали водой, 50 об. % этанолом для удаления несвязанных компонентов и высушивали при 25-30°C до постоянного веса [230].

Для определения РХ связанного в комплексы, к 15 мг сухого материала добавляли 10 мл 75 об. % этанола, содержащего 0.4 вес. % NaOH , 0.5 вес. % Твин-20 и термостатировали при 37°C в течение ночи. Общее содержание РХ в супернатанте после центрифугирования определяли по калибровочному графику, построенному по стандартному РХ, на спектрофотометре UV-1 Thermo Spectronic (UK) при 355 нм.

2.13 Исследование высвобождения модельного лекарственного вещества из системы доставки лекарств в опытах *in vitro*

Для исследования кинетики процесса были приготовлены буферы, имитирующие желудочную среду (HCl/KCl 0.2 М, рН 1.2) и кишечную среду (0.2 М фосфатный буфер, рН 6.4). Высушенные комплексы в количествах 50 мг заливали 50 мл буфера рН 1.2 и рН 6.4 в пробирках с притертыми пробками. Пробы помещали в термостат при 37°C и через определенные промежутки времени измеряли на спектрофотометре UV 1 Thermo Spectronic, UK (Индия) экстинкцию растворов при 355 нм. Количество высвободившегося лекарства определяли по калибровочному графику, построенному по стандартному РХ. Общее количество вовлеченного лекарства в гидрогелевые комплексы M_0 и высвобожденное по времени M_t соответствовало объему на грамм комплексов.

2.14 Ферментативный гидролиз пермеата творожной сыворотки

Гидролиз лактозы проводился в соответствии с методом, описанным в работе [270], с внесением некоторых изменений. Коммерческий фермент помещался в коническую колбу на 100 мл, содержащую 50 мл кислого пермеата сыворотки со значением рН 4.24 и содержанием лактозы 20%. Для нейтрализации пермеата значение рН доводилось до значений 6.20 ± 0.03 с помощью 5% и 10% растворов КОН, MgОН, NH₄ОН, NaHCO₃. После нейтрализации субстрат (пермеат сыворотки) пастеризовался при температуре $80.0 \pm 1.0^\circ\text{C}$ с выдержкой 4-5 мин для инактивации микроорганизмов. К одному литру раствора субстрата добавлялся фермент с активностью 7200 БЛЕ, раствор перемешивался в течение 2 минут и помещался в термостат IN55 (Memmert, Германия), где выдерживался в течение 3 часов при температуре $38 \pm 1.0^\circ\text{C}$. Далее каждый час проводился мониторинг значения рН после реакции гидролиза.

Для получения ГГС ферментированный раствор упаривался в вакуум-выпарном испарителе Heidolph Laborota 4000 efficiency (Heidolph Instruments GmbH & Co KG, Германия). Процесс проводился при давлении 4–8 кПа и температуре $51 \pm 9^\circ\text{C}$. Общее содержание сухих веществ в сиропе доводился до $65 \pm 2\%$ и $70 \pm 2\%$. Концентрация сухих веществ определялась с помощью рефрактометра DR301-95 (KRUSS, Германия) [271].

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

3.1 Пектиновые полисахариды и технологические особенности их получения

3.1.1 Флеш-способ гидролиза пектинов из фруктовых отходов

Нами разработан новый способ гидролиз-экстракции ПП – флеш-способ [56], который характеризуется быстрой скоростью экстракции под давлением. Применение данного способа сокращает продолжительность процесса гидролиз-экстракции (от 1-3 часов до нескольких минут) и оптимизирует значение выходов продуктов распада ПП растительного сырья.

Согласно с запатентованным способом [48, 56] пектинсодержащие растительное сырье смешивают с кислым раствором и загружают в автоклав, где проводится процесс гидролиз-экстракции ПВ при температуре 110-140°C, давлении 1.2-1.5 атм. и низком значении рН раствора. Продолжительность процесса 3-10 минут. Процесс гидролиз-экстракции также проводился ТМ [49], чтобы сравнить количественный и качественный состав ПП, полученных этими двумя способами.

Сырьём для получения пектиновых экстрактов являлись яблоки сортов Графенштейнское красное (ЯВГ) и Первенец Самарканда (ЯВП), лимонные корки (ЛК), айва (Ай), абрикос (Аб), персик (Пр), стебли и листья ревеня (Рв), плоды тыквы (Ткв) и КП.

Численные значения выходов фракций ПП различного растительного сырья в зависимости от способа гидролиз-экстракции (ТМ и флеш-способом) приведены в таблице 3.1.1.1. По данной таблице видно, что суммарный выход фракций продуктов распада ПП (МГ, ПВ, ОС) для всех видов применяемого сырья флеш-способом существенно превышает показатель, полученный ТМ. Результаты, представленные в таблице 3.1.1.1, также показывают, что выход МГ наиболее высок при флеш-способе для всех видов применяемого сырья, кроме ЯВГ.

Таблица 3.1.1.1– Выход фракций ПП растительного сырья в зависимости от способа гидролиз-экстракции [49, 56-А]

Выход фракций ПП, %						
Сырьё	МГ		ПВ		ОС	
	ТМ	Флеш-способ	ТМ	Флеш-способ	ТМ	Флеш-способ
ЯВГ	3.60	2.60	14.25	23.60	24.65	28.00
ЯВП	2.00	2.26	22.00	22.37	20.60	31.87
Ай	1.40	4.50	11.40	12.40	25.90	56.50
Аб	1.22	3.76	4.86	7.05	37.92	69.19
ЛК	2.00	2.06	19.00	20.06	23.80	45.84
Рв	1.11	3.18	12.36	17.50	35.03	29.32
Пр	0.86	4.28	6.49	7.20	37.85	43.36
Ткв	1.19	8.68	2.24	3.77	73.71	76.92
КП	4.30	8.20	10.20	24.68	13.40	7.50

Вероятно, в отличие от других видов сырья ЯВГ имеет более рыхлую структуру КС за счет слабой связи ПП с гемицеллюлозой. Низкий выход МГ в случае с ЯВГ объясняется тем, что данная фракция в процессе гидролиз-экстракции под действием повышенной температуры и давления диффундирует из КС в раствор гидролизата, далее происходит ее деградация и трансформация в пектин. Подтверждением правильности этого предположения является значительное увеличение выхода фракций ПВ из ЯВГ при флеш-способе.

Процессы гидролиз-экстракции влияют также на качественные показатели ПВ. Показателями качества ПВ являются содержание ГК, СЭ и ММ [42, 257, 272] и их регулированию в процессе гидролиз-экстракции необходимо уделить особое внимание, чтобы получить продукт с заданными свойствами. В таблице 3.1.1.2 представлены значения содержания звеньев ГК и СЭ ПВ в зависимости от способа гидролиз-экстракции.

Таблица 3.1.1.2 – Содержание звеньев ГК и СЭ ПВ в зависимости от способа гидролиз-экстракции [26-А, 56-А]

Сырьё	ГК, %		СЭ, %	
	ТМ	Флеш-способ	ТМ	Флеш-способ
ЯВГ	70.0	70.7	52.0	52.2
ЯВП	49.8	50.4	71.6	68.6
Ай	66.0	67.2	58.2	57.4
Аб	66.0	67.2	54.65	52.8
ЛК	72.24	74.4	76.74	74.42
Рв	81.0	81.6	50.6	50.0
Ткв	64.80	75.00	85.71	81.69
Пр	65.3	66.0	94.9	94.8

Молекулярная масса ПВ, показатель полидисперсности (M_w/M_n) и содержание агрегированной фракции – МГ пектина представлены на рисунке 3.1.1.1 и в таблице 3.1.1.3.

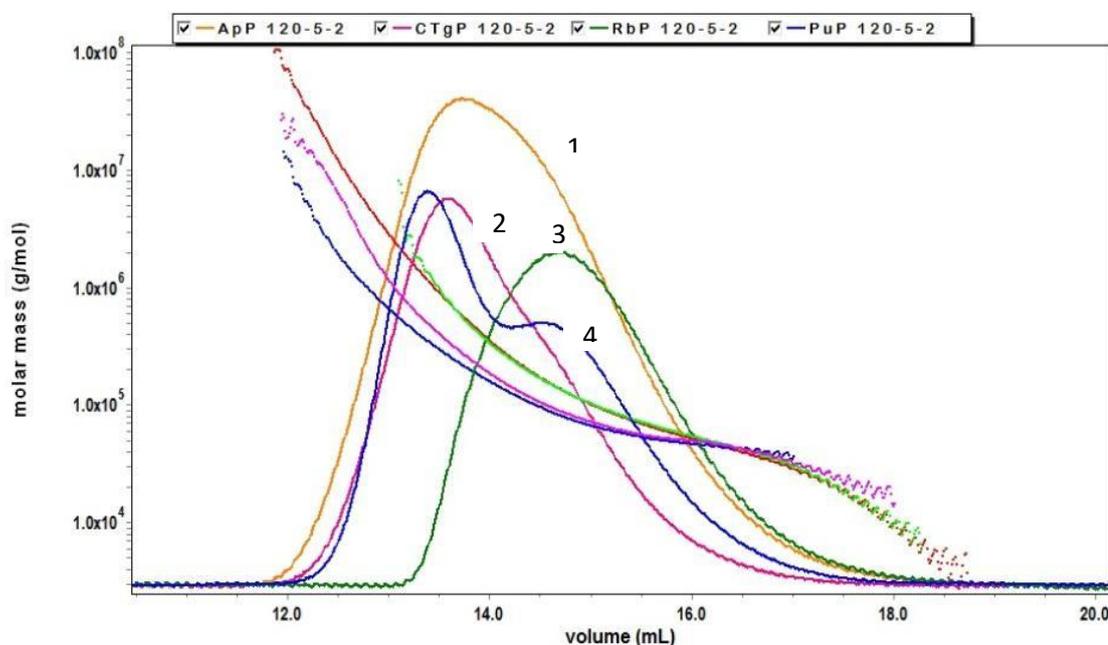


Рисунок 3.1.1.1 – Зависимость ММ от объема элюирования и кривые ММР пектинов (1 – абрикосового; 2 – цитрусового; 3 – ревеня; 4 – тыквы) на эксклюзионной жидкостной хроматографии (ЭЖХ) с использованием сочетания визкозиметрического и рефрактометрического детекторов, полученных флеш-способом [3-А, 26-А]

Таблица 3.1.1.3 – Сравнительные молекулярные характеристики ПВ, полученные различными методами [3-А, 26-А]

Сырьё	$M_w \cdot e^{-3}$, кДа		M_w/M_n		$M_z \cdot e^{-3}$, кДа		МГ, %	
	ТМ	Флеш-способ	ТМ	Флеш-способ	ТМ	Флеш-способ	ТМ	Флеш-способ
ЯВГ	134.00	168.40	3.80	2.50	1133	2820	23.50	20.00
ЯВП	112.00	92.50	5.60	4.50	4743	1558	36.50	18.50
Ай	176.00	66.30	4.35	3.20	7309	153	25.00	8.50
Аб	114.50	713.00	4.70	12.10	755	1479	18.50	8.50
ЛК	107.80	82.00	2.89	9.00	267	426	18.50	16.00
Рв	268.00	107.40	4.80	2.30	1479	325	26.50	49.00
Пр	243.80	65.50	6.30	3.07	2103	145	14.50	23.00
Ткв	673.90	769.50	1.93	3.40	2069	3969	17.70	40.00
КП	142.40	118.60	3.22	4.30	1793	1152	40.00	33.50

3.1.2 Флеш-способ гидролиза пектинов из плодов тыквы

Для исследования использовались свежие плоды тыквы сорта Ленинадская, нарезанные на куски средних размеров, которые после промывки и равновесного набухания были подвергнуты гидролиз-экстракции при помощи модификации традиционного кислотного гидролиза [49, 53, 54] (температура 85°C, продолжительность процесса гидролиза 60 минут, рН 1.6) и флеш-способом [56]. Растворы-гидролизаты отделяли от КС, а полученный экстракт разделяли на три фракции: МГ, пектин и ОС. Суммарное содержание фракций для каждой фиксированной продолжительности процесса гидролиз-экстракции принимали за суммарное содержание ПП, распадающегося в этот же момент времени.

Полученные пектины были охарактеризованы содержанием звеньев ГК [257], СЭ карбоксильных групп ГК [272] и ММ. Кроме значения среднемассовой

ММ (M_w) с помощью программы «ASTRA» (Wyatt Technology, USA) были определены среднечисловая ММ (M_n), z – средняя ММ (M_z) и показатель полидисперсности (M_w/M_n) [273]. Данные, представленные в таблице 3.1.2.1, показывают, что для плодов тыквы характерно предельно высокое значение суммарного распада ПП.

Таблица 3.1.2.1 – Значения выхода продуктов распада ПП (по отношению к массе исходного сырья) и физико-химические параметры пектина тыквы, полученных флеш-способом (120°C, t=3-10 мин.) и ТМ (85°C, t=60 мин.) [26-А, 56-А]

t, мин.	Выход продуктов гидролиза, %					Параметры пектина, %		
	МГ	Пектин	ОС	Распад ПП	КС	ГК	СЭ	БВ
60	1.19	2.24	73.71	77.14	22.86	64.80	85.71	6.02
3	7.16	1.77	72.15	81.08	18.92	72.00	84.51	17.93
5	8.68	3.77	76.92	89.36	10.64	75.00	81.69	14.20
7	7.43	3.92	77.23	88.58	11.42	70.80	82.35	10.74
10	10.81	4.97	77.87	93.65	6.35	61.20	84.29	9.64

В начале процесса быстрой экстракции содержание звеньев ГК в пектине тыквы превышает аналогичный показатель пектина, полученного ТМ (72,00 и 64,80%, соответственно). С ростом продолжительности процесса, изменение содержания звеньев ГК носит экстремальный характер. При этом максимум приходится на 5-и минутную экстракцию. Далее, содержание ГК снижается, достигая в конце процесса 61,20%. Данный факт подтверждает неравномерность процесса распада протопектина тыквы.

В таблице 3.1.2.2 и на рисунке 3.1.2.1 представлены молекулярно-массовые характеристики пектинов, а также содержание МГ, полученные методом ЭЖХ с помощью программного обеспечения «ASTRA» 5.3.4.13 и Breez (Waters).

Таблица 3.1.2.2 – Молекулярно-массовые характеристики ПП плодов тыквы [26-А]

t, мин.	№ пика	$M_w \cdot e^{-3}$, кДа	M_w/M_n	$M_z \cdot e^{-3}$, кДа	$[\eta]$, мл/г	R_h , нм	МГ, %
60	1	673.90	1.93	2069.00	747.0	39.7	17.70
	2	72.02	1.20	82.99	251.0	13.2	17.70
3	1	661.00	1.80	1267.00	689.4	39.0	37.50
	2	65.71	1.15	74.29	162.4	11.2	37.50
5	1	999.70	2.74	4112.00	375.1	33.1	40.00
	2	58.58	1.20	69.01	125.8	10.0	40.00
7	1	622.10	1.86	1317.00	471.8	33.4	21.60
	2	62.61	1.28	77.84	153.3	10.9	21.60
10	1	403.50	1.56	619.40	492.4	33.1	34.95
	2	41.72	1.31	48.64	180.0	10.2	34.95

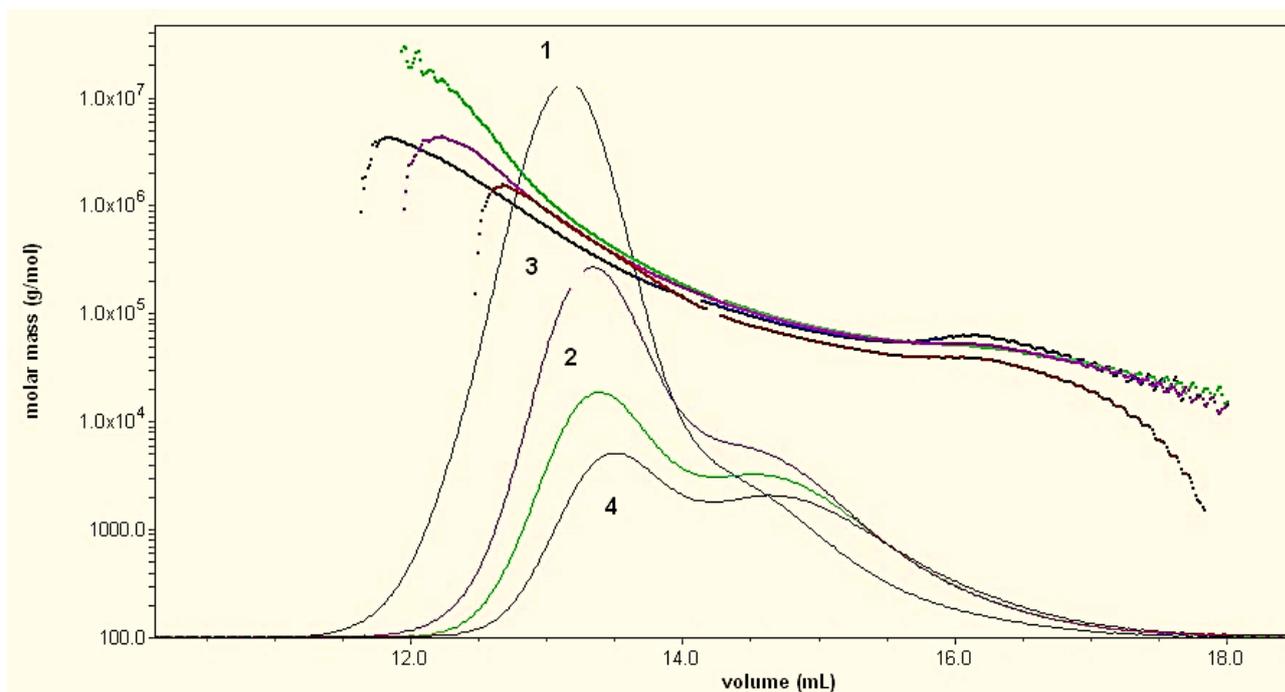


Рисунок 3.1.2.1. – Зависимость ММ от объема элюирования и кривые ММР пектина тыквы, полученного методом быстрой экстракции (1 – t = 3 мин., 2 – t = 5 мин., 3 – t = 7 мин., 4 – t = 10 мин.) [26-А]

В начале процесса быстрой экстракции пектины имеют значения ММ и M_w/M_n , приближенные к аналогичным показателям образцов, полученных при низкой температуре. Но, в то же время, наблюдается практически двукратное снижение показателя M_z . С увеличением продолжительности процесса быстрой экстракции изменение ММ обеих фракций пектина тыквы носит экстремальный характер. При этом максимум приходится на 5 минут. Аналогичным образом изменяется показатель M_z и M_w/M_n образцов. Анализ полученных данных показывает, что распад протопектина тыквы при различной продолжительности процесса протекает неравномерно. Появление максимумов в кинетике выхода МГ, изменении содержания звеньев ГК, молекулярно-массовых характеристик в области 5 минут свидетельствует о том, что до данного временного значения протекает распад КС и экстрагирование нативных макромолекул протопектина. С дальнейшим увеличением продолжительности процесса, наряду с продолжающимся распадом элементов КС, начинается распад высокомолекулярных субъединиц в растворе гидролизата.

3.1.3 Флеш-способ гидролиза пектинов из ревеня

С целью расширения новых видов местных сырьевых источников ПП был проведен процесс гидролиз-экстракции ПП ревеня скального и исследование некоторых физико-химических характеристик полученных продуктов гидролиза.

Процесс гидролиз-экстракции ПП ревеня скального проводился традиционным и флеш-способом как описано ранее. Полученные значения выходов фракций ПП ревеня скального: суммарное содержание МГ, пектина и ОС для каждой фиксированной продолжительности реакции гидролиз-экстракции приведены в таблице 3.3.3.1. Как видно, при 3-х минутном гидролизе в автоклаве распад ПП примерно равен распаду при ТМ. При дальнейшем увеличении продолжительности процесса гидролиз-экстракции в автоклаве

распад ПП закономерно увеличивается. Как следствие этого наблюдается аналогичное снижение массы исходного сырья.

Таблица 3.1.3.1 – Выход продуктов гидролиза и характеристика пектина [23-А]

Время гидролиза, мин.	Выход продуктов гидролиза, %			Характеристика пектина			
	МГ	Пектин	ОС	ГК, %	СЭ, %	$M_w \cdot e^{-3}$, кДа	M_w/M_n
ТМ							
60	1.11	12.36	35.03	81.0	50.57	268.00	4.80
Флеш-способ							
3	3.64	15	27.55	78	49.44	98.00	2.40
5	3.18	17.5	29.32	81.6	50	114.00	2.30
7	2.73	18	31.36	84	51.14	127.00	7.50
10	1.81	18.98	34.85	85.2	52.27	98.00	2.40

Несмотря на непрерывное возрастание суммарного распада ПП, в численных значениях выходов фракций подобной закономерности не наблюдается. Как видно, значения выходов фракций, полученных в автоклаве, существенно отличаются от выходов пектина, полученных ТМ. За минимальное время гидролиза в автоклаве выход МГ более чем втрое превосходит значение выхода МГ, полученного в условиях лаборатории ТМ. С дальнейшим увеличением продолжительности процесса автоклавирования, выход МГ резко снижается, достигая при 10 минутном гидролизе величины, приближенной к значению выхода МГ, полученного ТМ.

Молекулярная масса ПВ ревеня скального, M_w/M_n , выход образцов из колонки ЭЖХ и содержание МГ в пектине также представлены в таблице 3.1.3.1.

На рисунке 3.1.3.1 представлены кривые ММР пектинов, полученных методом ЭЖХ. Как видно, ПВ, полученные ТМ, отличаются большей ММ и

более полидисперсны по сравнению с пектином, полученными в автоклаве при 3-х и 5-ти минутном гидролизе.

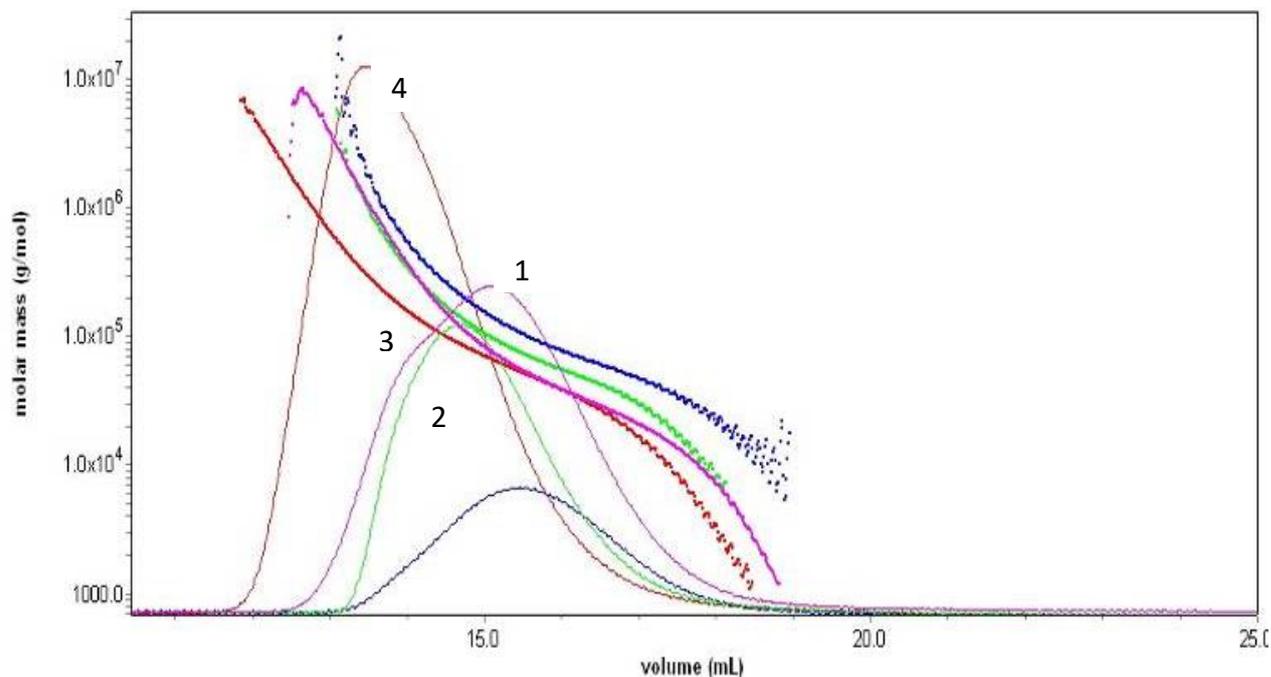


Рисунок 3.1.3.1. – Зависимость ММ от объема элюирования и кривые ММР пектинов ревеня, полученных различными методами: 1 – ТМ; 2,3,4 – флеш-способом за – 3, 5, 7 мин., соответственно [23-А].

3.1.4 Динамический метод получения пектинов

В последние годы в Институте химии им. В.И. Никитина Национальной Академии наук Таджикистана нами под руководством профессора Мухидинова З. К. проводились работы по изучению процессов гидролиз-экстракции и очистки пектинов из подсолнечника [3, 24, 38, 48, 56, 58, 274] с применением различных способов. Был запатентован новый способ экстракции пектина из корзинок и стеблей подсолнечника с предварительной обработки сырья в динамическом режиме, способствующей интенсификации процессов производства с контролируемым выходом и качеством конечного продукта [48, 56]. При этом разработано комплексное использование вторичных отходов подсолнечника, кроме пектина, и использование их в качестве упаковочных материалов [275].

В данной части работы обсуждаются результаты сравнительного изучения основных характеристик пектинов, полученных в потоке гидролизующего раствора с известным методом гидролиза в статическом режиме [63].

Гидролиз КП в динамическом режиме проводился по новой технологии, описанной в [48, 63]. Измельчённые КП подвергаются предварительной обработке для интенсификации процессов диффузии полисахаридов, что позволяет фракционное выделение их по степени связывания в КС. Последующая гидролиз-экстракция ПП происходит в непрерывном процессе, при постоянном значении рН-среды и температуры 85°C.

Для сравнения эффективности предложенного процесса гидролиз-экстракция полисахаридов КС также проводилась в статическом режиме. В таблице 3.1.4.1 представлены значения выхода фракций МГ, пектина, ОС и остатки клеточных стенок полисахаридов. Данные, приведенные в данной таблице, показывают, что применение динамического метода положительно сказывается на численные значения выхода всех фракций полисахаридов, изолированных вместе с пектинами.

Таблица 3.1.4.1 – Выход фракций полисахаридов (в процентах) КП после гидролиза при статическом и динамическом режиме гидролиза [24, 63-А]

рН	МГ		ПЕКТИН		ОС		Остаток КС	
	стат.	динам.	стат.	динам.	стат.	динам.	стат.	динам.
1.05	5.10	15.50	11.10	16.20	15.60	24.80	68.20	43.20
1.20	4.30	15.40	10.20	15.60	15.40	24.00	69.70	45.00
1.60	2.80	14.90	7.40	14.20	13.50	24.20	76.30	46.40
2.00	1.20	14.60	5.80	12.30	12.80	23.50	80.20	49.60
3.50	0.80	3.90	4.60	9.50	10.00	22.20	85.60	64.00
5.60	0.40	0.00	3.00	6.00	9.60	21.00	87.00	72.00
3.5 (ГМФН)	1.08		8.85		19.09		74.00	

Как в статическом, так и в динамическом режимах максимальный выход фракций достигается при минимальном значении рН 1.05. Для растворимых полисахаридов – пектин и ОС, в динамике, выход при рН 1.05 и 1.2 превышает данный показатель в статике на полтора, а с рН 1.60 выход полисахаридов превышает почти в два раза. Это говорит об эффективности использования гидролиза пектина в динамике при низких значениях рН раствора. Несмотря на высокий выход пектина наблюдается увеличение доли нерастворимой фракции пектинов (МГ) в режиме динамики. Это указывает об экстракции высокомолекулярных гомо- и рамногалактуронанов, которые при высокой температуре в статических условиях подвергаются дальнейшему гидролизу. Такой процесс не имеет место у раствора гидролизата при динамическом режиме, так как экстрагированный пектин изолируется из процесса.

Характер изменения выхода полисахаридов от кислотности растворов гидролизата наглядно можно продемонстрировать графически (рисунок 3.1.4.1).

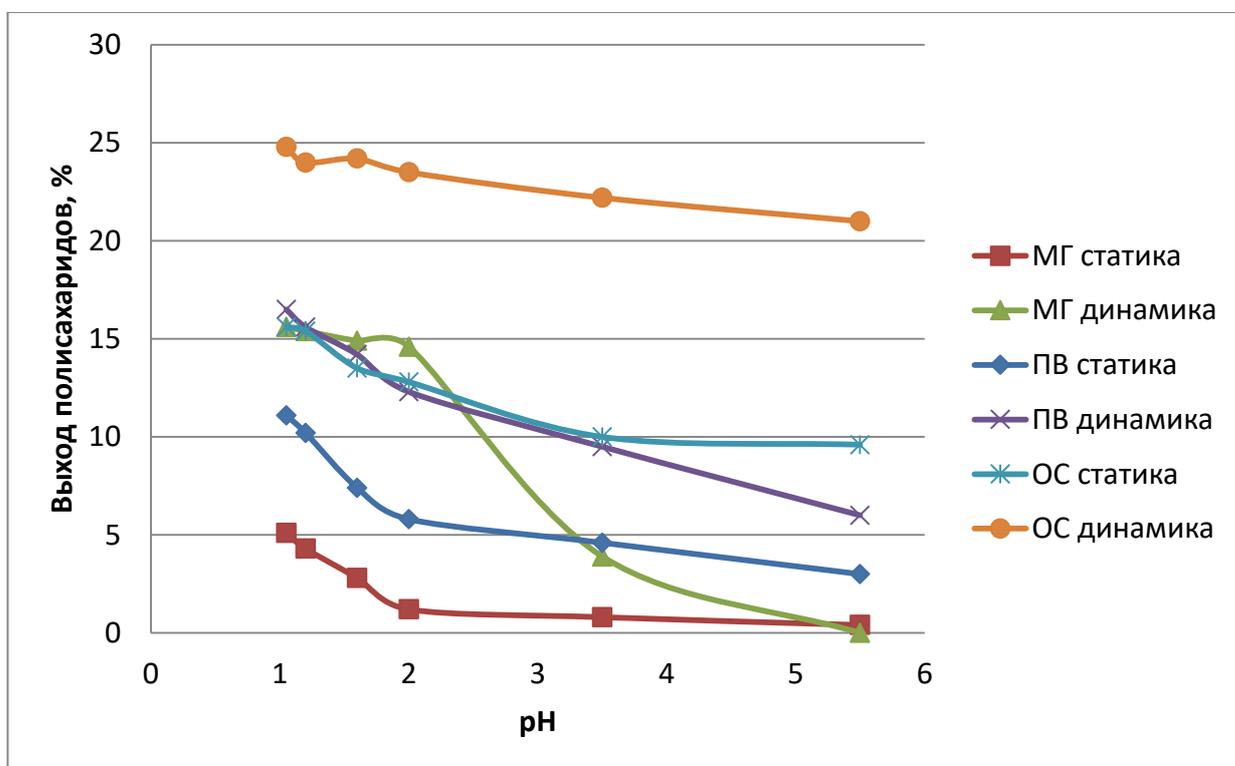


Рисунок 3.1.4.1. – Зависимости выхода полисахаридов КС подсолнечника от pH растворов при гидролизе в режимах статике и динамики [24, 63-А].

Из кривых зависимостей выхода продуктов от pH растворов, отличие характера изменение значение выходов продуктов гидролиза, можно установить путем анализа линейности кривых по соответствующим уравнениям тренда (таблица 3.1.4.2).

Таблица 3.1.4.2 – Линейные уравнения тренда и величины достоверности аппроксимации R^2 выхода продуктов гидролиза в режиме статики и динамики [24, 63-А]

Продукты гидролиза	Режим гидролиза	Уравнение прямой линии	R^2
МГ	Статический	$Y = -0.902pH + 4.681$	0.659
	динамический	$Y = -3.801pH + 20.187$	0.936
ПЕКТИН	Статический	$Y = -1.595pH + 10.990$	0.780
	динамический	$Y = -2.198pH + 17.777$	0.967
ОС	Статический	$Y = -1.344pH + 16.167$	0.843
	Динамический	$Y = -0.791pH + 25.253$	0.958

Молекулярные массы и гидродинамические параметры пектинов, полученных новым (в динамике) и традиционным методами, приведены в таблице 3.1.4.3.

Как видно из данных таблицы 3.1.4.3, минимальное и максимальное значения молекулярных масс, характеристической вязкости ($[\eta]$) и гидродинамического радиуса (R_h) у пектинов, полученных динамическим методом, значительно выше.

Оптимальные значение данных параметров были получены для пектинов, экстрагированных при pH 2.0 в динамическом режиме. Коэффициент, определяющий конформации макромолекулы в растворе и найденный из кривой зависимости гидродинамического радиуса и молекулярной массы, также был высоким для пектина, полученного динамическим методом. Данные параметры еще раз указывают на то, что проведения гидролиза в динамических условиях

позволяет устранить недостатки ТМ и получить качественный пектин с повышенной степенью чистоты.

Таблица 3.1.4.3 – Молекулярные массы и гидродинамические параметры пектинов, полученных новым методом (в динамике) и традиционным (в статике) [24, 63-А]

рН	Гидролиз в динамике					
	$M_w \cdot e^{-3}$, кДа	M_w/M_n	$M_z \cdot e^{-3}$, кДа	$[\eta]$, мл/г	R_h , нм	b^{**}
1.2	72-112*	7-15	157-709	30-48	6.2-7.9	0.41
2.0	76-161*	3-23	138-2022	58-114	8.3-11.2	0.56
3.5	67-159*	7-13	156-998	43-83	6.8-10.1	0.44
Гидролиз в статике						
1.6	63.9	2.2	225	45.6	7.4	0.50

* При динамическом методе даются ММ и минимальные и максимальные значения гидродинамических параметров для 8 фракций пектинов, которые определялись методом ЭЖХ [1] 3.

** Коэффициент, найденный из кривой зависимости гидродинамического радиуса и молекулярной массы, который определяет конформации макромолекулы в растворе.

3.1.5 Использование мембранной технологии в производстве пектиновых полисахаридов

3.1.5.1 Мембранная технология очистки и концентрирования пектинового гидролизата

В последние годы внимание ученых все более привлекает применение мембранных методов разделения и концентрирование натуральных продуктов в том числе и олиго- и полисахаридов [276]. Использование мембранных методов обработки в производстве пищевых продуктов позволяет не только создавать замкнутые, безотходные, экологически чистые производства, но и получать пищевые продукты с пищевой и биологической ценностью и ярко выраженными

вкусовыми качествами [276]. Эты методы особенно важны «...при переработки жидких пищевых продуктов, содержащие ценные термолабильные компоненты, к которым относятся овощные и фруктовые соки, пектиновые экстракты, экстракты лекарственных трав и т.д. С помощью мембранной технологии можно разделять, очищать, фракционировать и концентрировать биологические жидкости, без фазового перехода при минимальных энергетических затратах, что позволяет сохранение нативных свойств сырья...» [44].

Как уже было отмечено, в производстве пектина процессы концентрирования и очистки пектиновых экстрактов являются наиболее сложными и дорогостоящими. «...Наиболее перспективным способом является сочетание очистки и концентрирования пектиновых растворов методом ДУФ ...» [77, 72, 94, 247, 248]. Этот способ позволяет совместить оба процесса в одном цикле, а также может осуществляться при комнатной температуре, что существенно снижает энергозатраты на производство пектина [94].

3.1.5.2 Применение тангенциального потока при диаультраfiltrации пектинового гидролизата

В целях интенсификации мембранного разделения применяют барботажные устройства и турбулизаторы [71, 83, 277, 278]. Аппараты отличаются от представленных выше повышенным гидродинамическим воздействием на разделяемый поток турбулизатора, однако скорость их мала (200-400 об/мин) [277], а использование аппарата приводит к существенным энергозатратам. За счет созданного импульсного режима течения жидкости время при пульсирующем движении, отведенное на отключение для промывки поверхности мембран, будет сводиться к нулю.

Известно, что диафильтрация – вариант баромембранного процесса разделения растворенных высокомолекулярных и низкомолекулярных компонентов, при котором концентрат разбавляют растворителем, в результате чего достигается лучшее разделение компонентов [65, 279]. При применении

сочетания диализа и УФ пектинового гидролизата было достигнуто значительное увеличение скорости процесса [55]. Нужно отметить, что диализ низкомолекулярных компонентов действительно способствует процессу УФ концентрирования пектиновых гидролизатов, способен увеличить скорость фильтрации, снизить скорость осадкообразования [55, 248].

В установках тангенциальной фильтрации циркуляционный насос создает поток, который движется вдоль поверхности мембраны, предотвращая образование осадка, на ее поверхности в процессе фильтрации. Фильтрация в тангенциальном потоке позволяет вести процесс фильтрации в непрерывном режиме, без блокирования пор мембраны, сохраняя стабильность производственного процесса.

Система ТДУФ была разработана совместно с учеными из МХТИ им. Д. И. Менделеева и состоит из металлического каркаса, 2 ретентатов и пермеатных труб в сборе с 24 муфтами, центробежным насосом (тангенциальный поток), системой контроля давления, УФ мембран с мест для модулей из полых волокон и два контейнера по 100 и 550 литров [83, 248].

Система фильтров включает источник подачи, соединенный с насосом для подачи тангенциального потока в мембранный фильтр с полыми волокнами. Затем пермеат собирают в приемную емкость. Система ТДУФ позволяет простым манипулированием перейти в режим обратной промывки чтобы восстанавливать мембрану. В данной области техники известно обратная пульсация этой компоновки путем подачи потока материала высокого давления к выпускному отверстию пермеата в направлении, противоположном направлению нормального потока пермеата. В зависимости от трансмембранного обратного импульса давления, после завершения операции, поток автоматически возобновляется в том же направлении – от впускного отверстия к выходному впускному отверстию.

Данная работа предопределяет также и некоторые общие подходы, позволяющие разработать методы очистки и концентрирования в производстве

пектина, а также улучшить качество и снизить себестоимость целевого продукта [55, 248].

Система ТДУФ была собрана из металлической рамы, линии пермеата и концентрата, состоящих из 24 кранов, центробежного насоса (тангенциального потока), контроля давления, модулей ультрафильтрации с полыми волокнами и двух емкостей по 550 и 100 литров. Принципиальная схема ТДУФ на опытной установке представлена на рисунке 3.1.5.2.

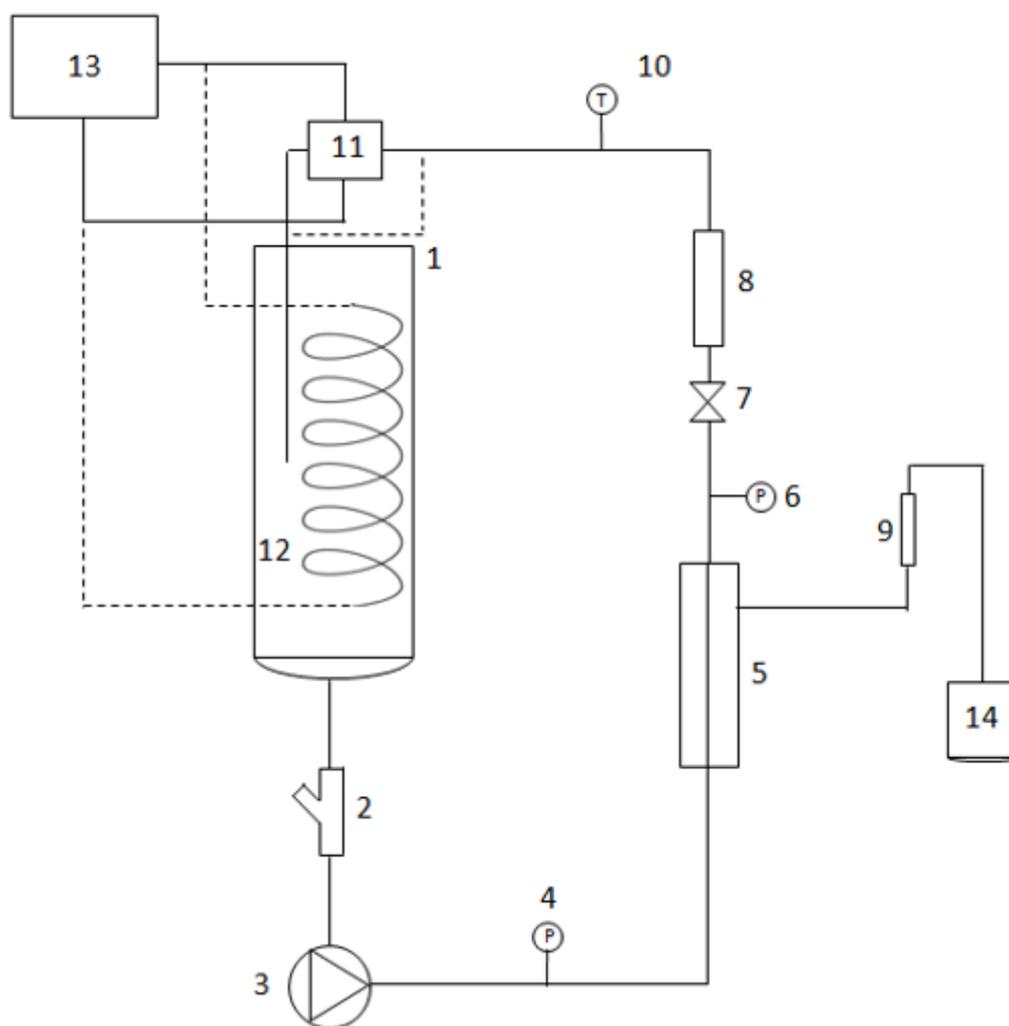


Рисунок 3.1.5.2. – Принципиальная схема опытно-промышленной установки ТДУФ: 1,2 – емкости на 100 и 550 л; 3 – тангенциальный насос; 4 – манометр на входе; 5 – полволоконные мембраны; 6,7 – клапан регулирования давления и байпасная линия; 8 – расходомер ретентата; 9 – расходомер пермеата; 10 – манометр на выходе; 11 – термометр; 12 – теплообменник; 13,14 – емкость-приемники пермеата.

Система фильтрации включает в себя подачу сырья, соединенную с насосом, который обеспечивает тангенциальный поток исходного раствора к фильтру с мембраной из полых волокон. Пермеат собирается в приемный контейнер. Система ТДУФ допускает режим обратной промывки для регенерации мембраны с помощью хорошо известного и простого метода подачи потока материала под высоким давлением к выпускному отверстию пермеата в направлении, противоположном нормальному потоку пермеата. В зависимости от обратной пульсации трансмембранного давления после завершения операции поток может автоматически возобновляться в нормальном направлении от входного штуцера к выходному.

ТДУФ осуществлялась на двух типах полых волоконных мембранных устройствах: полисульфоновой (ПС – Институт физико-органической химии Белорусской Академии Наук, Минск, Белоруссия) и полиамидной (ВПУ – Предприятие Химволокно, г. Мытищи, Российская Федерация). Процесс ТДУФ проводили при температуре 25-27°C и входящем давлении 0.7-1.0 атм [248].

Серия экспериментов с 26-28 л раствора пектиновых гидролизатов, полученных из выжимок яблок Файзабадского района (ЯПФ) и КП, была проведена методом ТДУФ на модуле УФ с двумя полыми волокнами, площадь фильтрации 2 м² (рисунок 3.1.5.2).

Величина ТМД составляла 1.3-1.5 бар, скорость жидкости варьировался в пределах 1.0-6.0 м/с, а число Рейнольдса потока подачи составляло $Re = 3000-6000$. Подробности процесса ТДУФ описаны в патенте [55]. Из полученного раствора гидролизата после концентрирования отбирали пробу 1,2 литра для расчета выхода пектина и определения его параметров: содержание ГК и СЭ карбоксильных групп, ММ и структуры пектина методом ЯМР-спектроскопии, описанные в работе [248]. Повторную ТДУФ проводили разбавлением остатка раствора до 20-30 литров дистиллированной водой и снова концентрировали до минимального объема. В конце процесса (4,0-4,5 часа) 2 л концентрированного раствора извлекали для сушки пектина в распылительной сушилке. Для диализа

от низкомолекулярных ОС и смеси фенолов пробу фильтрата концентрировали до необходимого объёма концентрации и анализировали соответствующие компоненты на спектрофотометре и с помощью метода газожидкостной хроматографии (ГЖХ) [280, 281]. Основные параметры процесса ТДУФ пектиновых растворов, полученных из ЯПФ и КП в зависимости от режимов процесса гидролиза (при температуре 100-130°C, рН 2.0, продолжительностью 5 и 7 минут) представлены в таблице 3.1.5.2.1.

Таблица 3.1.5.2.1 – Основные параметры процесса ТДУФ пектиновых растворов, полученных из яблок и КП при различных режимах гидролиза [281-А]

Пектин*	Исх. конц. раствора пектина, %	Тип мембраны	Р, атм	Производительность мембраны, л/м ² ч			
				ТДУФ 1		ТДУФ 2	
				К=1.5	К=4.0	К=1.5	К=4.0
ЯПФ-100-7	0.32	ВПУ-100	1.0	31.30	15.79	23.25	13.95
ЯПФ-120-7	0.33	ВПУ-100	0.9	17.47	8.69	13.09	8.53
ЯПФ-130-5	0.18	ПС-100	0.9	22.50	13.91	20.00	15.15
КП-120-7	0.32	ПС-100	1.0	45.71	29.09	31.64	12.68
КП-120-7	0.49	ВПУ-100	0.9	83.18	56.25	71.80	39.13

*Цифры после букв – температура и продолжительность времени.

На производительность мембраны влияет как концентрация раствора пектина, так и его степень деградации, M_w , которая зависит от режимов процесса гидролиза (таблица 3.1.5.2.2).

Основными параметрами в процессе ТДУФ являются производительность и селективность выбранных мембран. Селективность выбранных мембран, нами была изучена в работе [94]. Изменение производительности УФ-мембраны ВПУ-100 в процессе ТДУФ представлена на рисунке 3.1.5.2.1.

Производительность мембраны в начале процесса составляет 24.30 л/м²ч, а в конце процесса уменьшается почти в 2 раза. Такая же картина наблюдается

при ТДУФ пектинового гидролизата. Производительность мембраны по ТДУФ раствора пектина в начале первого цикла процесса достигала 17.47 л/м²час и несколько увеличивалась при втором диализе.

Таблица 3.1.5.2.2 – Молекулярные параметры исследуемых пектинов [281-А]

Пектин	M_w , кДа	M_w/M_n	M_z , кДа	R_h , нм
ЯПФ-100-7*	165.0	6.9	771	13.6
ЯПФ-120-7*	105.0	9.8	893	9.0
ЯПФ-130-5*	99.0	9.0	773	9.0
КП-120-7-ВПУ*	58.0	2.6	171	6.3
КП-120-7-ПС*	61.2	3.1	279	6.5

* Цифры после букв – температура и продолжительность времени; буквы после цифр – тип мембраны.

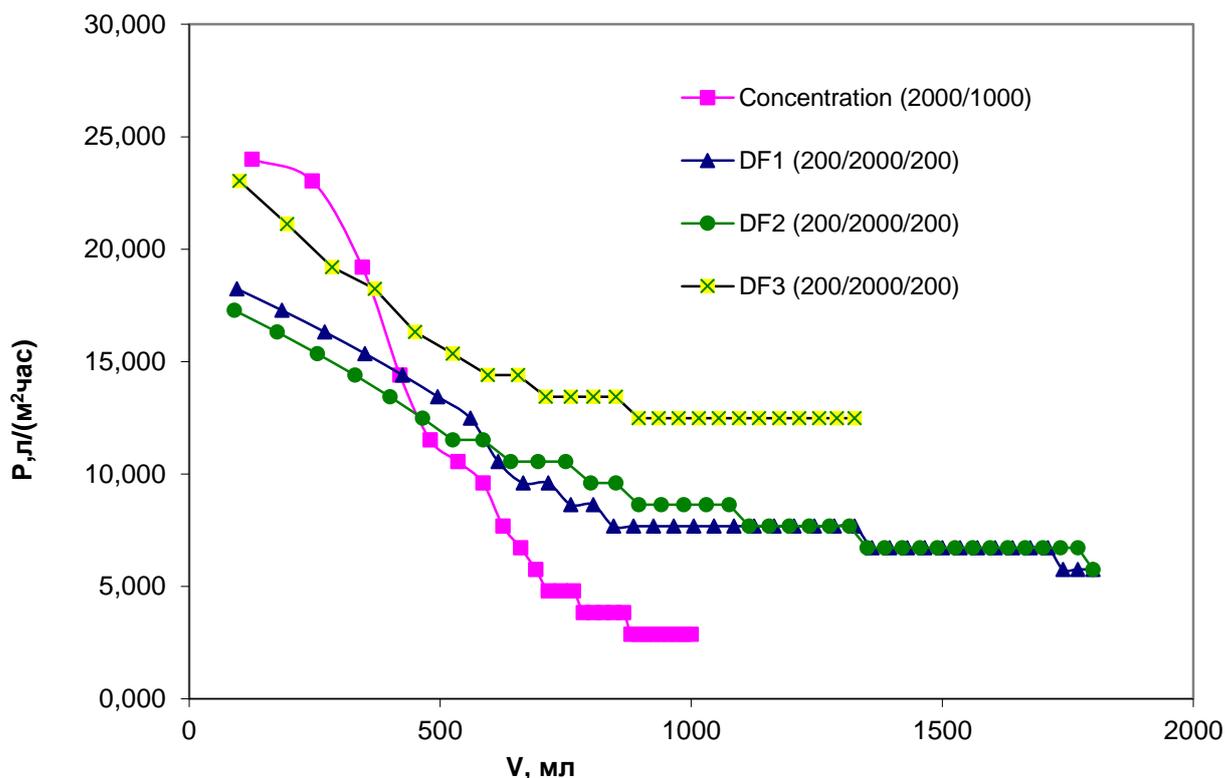


Рисунок 3.1.5.2.1. – Производительность мембраны ВПУ-100 по раствору пектина при однократном (DF1), двукратном (DF2), и трехкратном (DF3) ТДУФ раствора яблочного пектина [248-А]

Среднее значение производительности процесса при полной ТДУФ составляла 8.5-8.7 л/м²ч. Эти данные [248] хорошо согласуются с данными, полученными на лабораторной установке по очистке и концентрированию пектинового гидролизата с применением пульсирующего потока [94].

3.1.5.3 Сравнительная оценка структуры и качества пектина, очищенного традиционным методом и диаультраfiltrацией с тангенциальным потоком

Эксперименты на пилотной установке были спланированы с использованием выжимки яблок и КП в качестве сырья. Пектиновые образцы для анализов были получены флеш-способом [56] и очищены известным спиртовым осаждением (СО) [49] и ТДУФ [248] методами. Семь экспериментов для яблочной выжимки и четыре эксперимента для головки подсолнечника были проведены при различных режимах гидролиза и затем растворы гидролизата очищались на пилотной установке ТДУФ с использованием двух типов полуволоконных мембран.

В таблице 3.1.5.3.1 приведены выход фракции ПП, содержание ГК, СЭ и количество БВ в конечном продукте в зависимости от режимов процесса гидролиз-экстракции и способов очистки и концентрирования с учетом цикла диализа.

Таблица 3.1.5.3.1 – Выходы фракций ПП, содержание ГК, СЭ и количество БВ в образцах [281-А]

Образцы пектина	Выход фракции, %			ГК, %	СЭ, %	БВ, %
	МГ	ПВ	ОС			
1	2	3	4	5	6	7
ЯПФ-100-7-СО*	2.26	22.37	31.87	50.4	68.60	12.00
ЯПФ-100-7-ВПУ-1д*	2.26	18.69	44.55	64.8	81.40	5.80
ЯПФ-100-7-СО*	2.26	22.37	31.87	50.4	68.60	12.00

Продолжение таблицы 3.1.5.3.1

1	2	3	4	5	6	7
ЯПФ-100-7-ВПУ-2д*	2.26	14.23	47.01	67.2	82.56	3.20
ЯПФ-120-7-СО*	1.52	25.63	31.69	52.8	68.60	11.20
ЯПФ-120-7-ВПУ-1д*	1.52	14.33	49.99	69.6	76.47	3.80
ЯПФ-130-5-СО*	1.15	26.83	31.82	57.6	69.77	10.80
ЯПФ-130-5-ПС-1д*	1.15	14.43	51.22	68.4	78.16	5.60
ЯПФ-130-5-ПС-2д*	1.15	12.80	51.85	73.2	76.74	2.80
КП-120-7-СО*	6.40	28.62	9.98	64.4	22.73	29.23
КП-120-7-ВПУ-1д*	6.12	10.32	28.36	81.6	26.19	5.40
КП-120-7-ПС-1д*	6.40	10.22	28.75	85.2	25.88	4.62

* Цифры после букв – температура и продолжительность времени; буквы после цифр – тип мембраны, 1д – первый цикл диализа, 2д – второй цикл диализа.

3.1.5.4 Оценка качества пектина и изменение его структуры при очистке по спектрам ЯМР

Для детального анализа влияния СО и ТДУФ методов на структуру и качество пектина был использован метод 1D и 2D ЯМР-спектроскопии. Для этой цели, принимая во внимание сложность экспериментов ЯМР, были проведены только ЯМР-спектры яблочного пектина (ЯПФ-120-7) и анализирована его структура, так как структурные характеристики этого пектина хорошо описаны в литературе [282-287].

Спектр ЯМР ^{13}C образцов яблочного пектина (рисунок 3.1.5.4.1), полученных обоими методами, показывает сигналы, относящиеся к гликозильным остаткам, которые представляют основной остов макромолекулы пектина, т.е. НG и RG областей [282-287].

В ЯМР-спектрах ^{13}C проявились два интенсивных сигнала при 173,5 м.д. и 184,7 м.д., которые можно отнести к С-6 карбоксильной группы звеньев ГК в этерифицированной и ионизированной формах. При интеграции этих резонансов

63% карбонильных групп, вероятно, находятся в виде сложных эфиров, в то время как оставшиеся 37% свободные карбоксильные группы пектина.

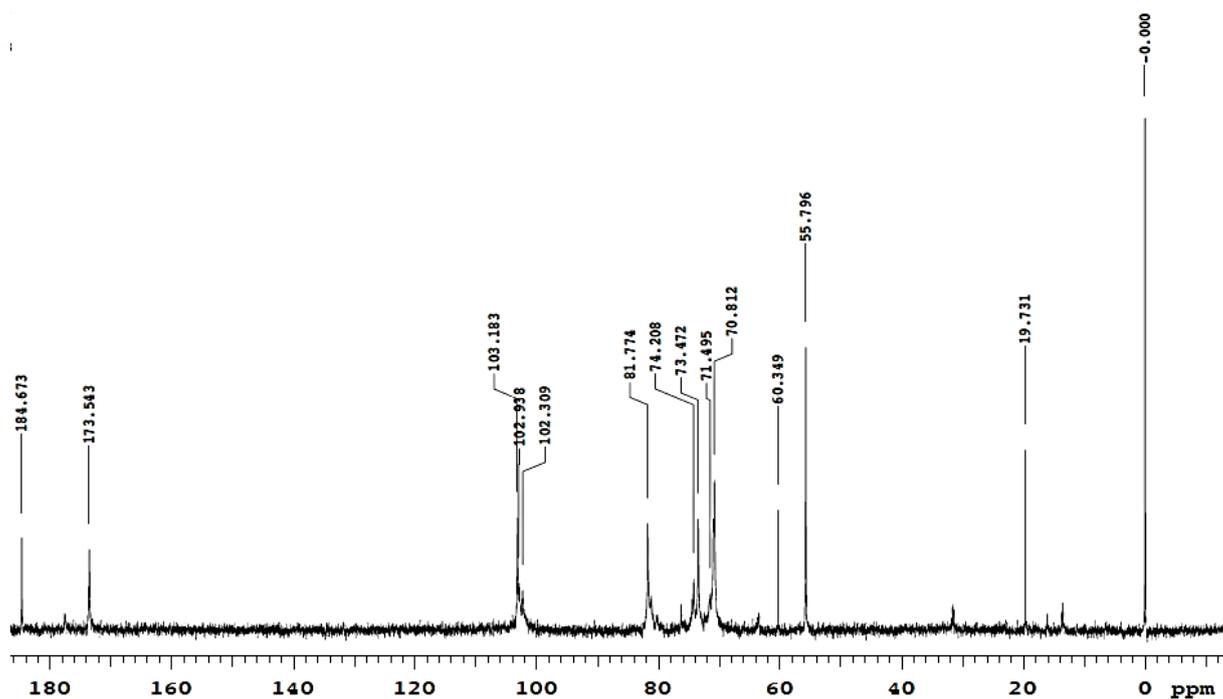
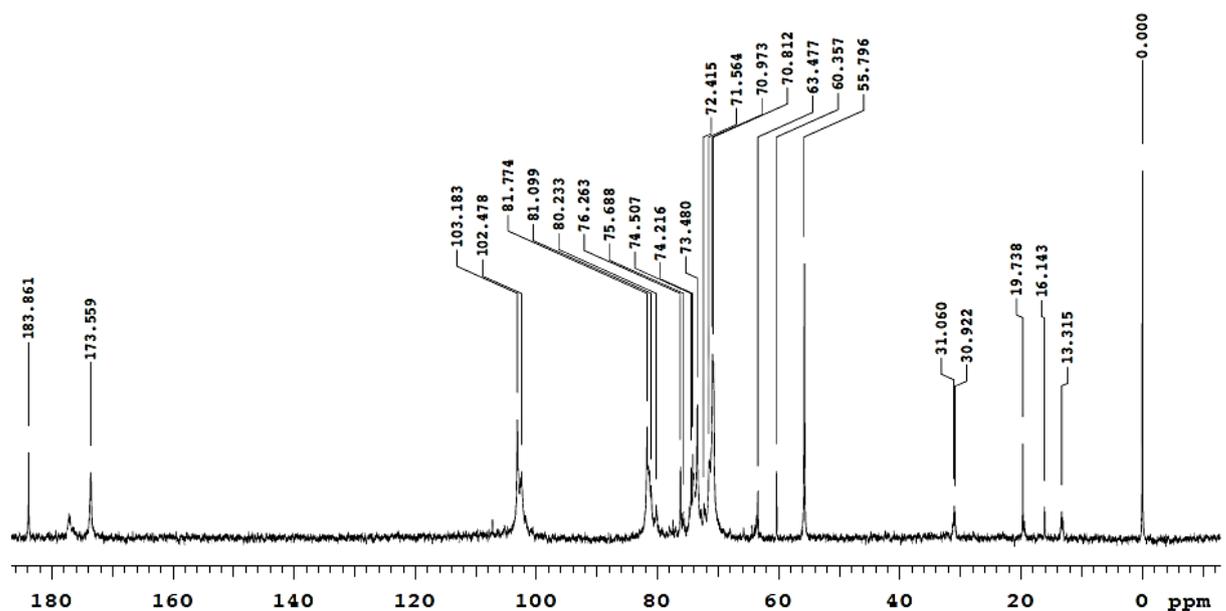


Рисунок 3.1.5.4.1. – ^{13}C ЯМР спектры образцов яблочного пектина, очищенных СО (верхняя) и ТДУФ (нижняя) методами [248-А]

Сравнение ЯМР-спектров ^{13}C (рисунок 3.1.5.4.2) ясно показывает, что число резонансов основных цепей пектина в образцах, очищенных СО методом, сильно отличаются от образцов, очищенных ТДУФ методом.

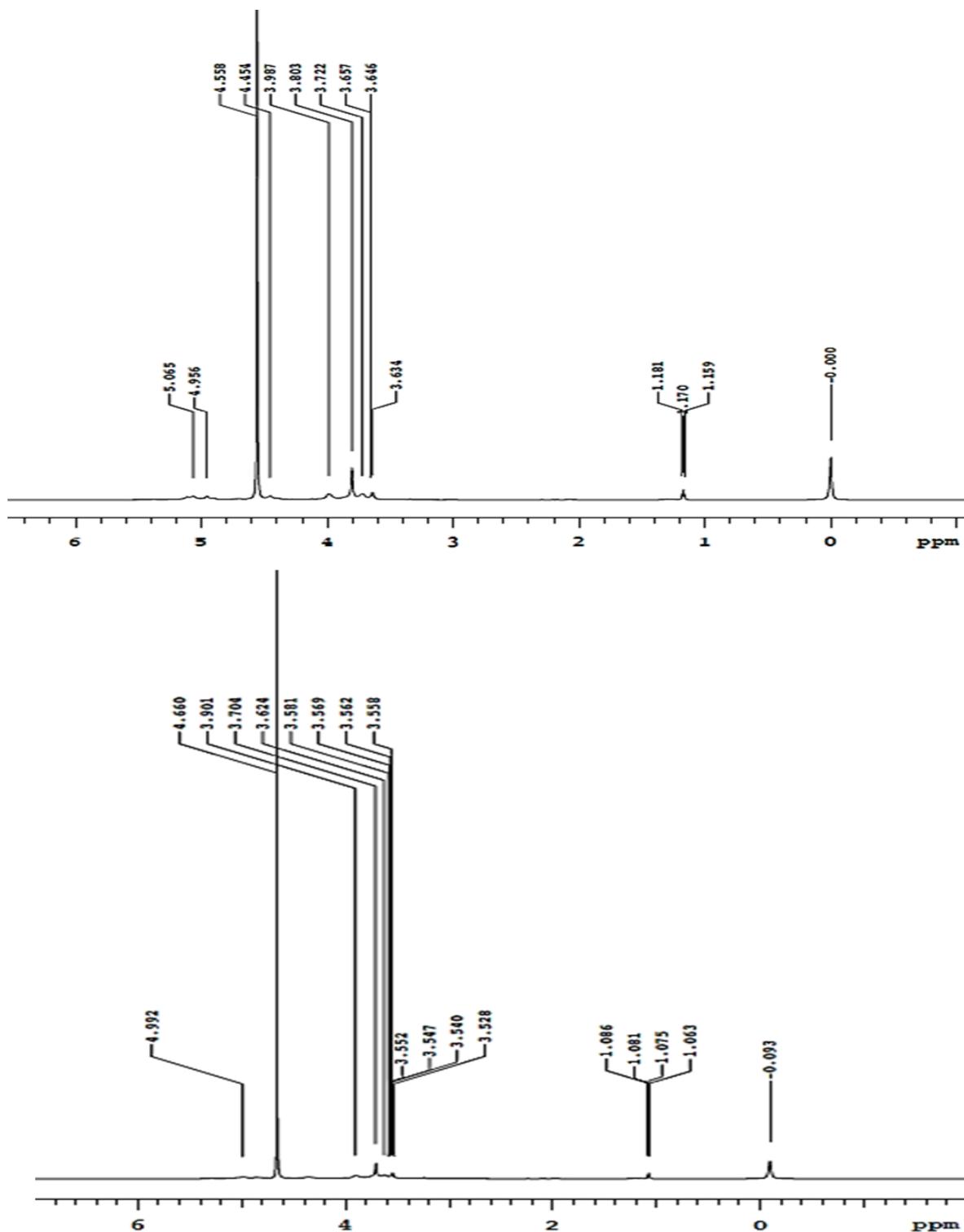


Рисунок 3.1.5.4.2. – Спектры ЯМР ^{13}C образцов яблочного пектина, очищенных СО (верхняя) и ТДУФ (нижняя) методами [248-А].

Двенадцать углеродных резонансов наблюдаются для C-2,3,5 ($\delta \sim 70$ -81 м.д.) в сахарных остатках основной цепи пектина, очищенного спиртом, в то время как в той же области спектра, у пектина, очищенного методом ТДУФ, наблюдается всего 5 сигналов. Соответствующее наблюдение можно сделать путем сравнения ЯМР-спектров протонов (рисунок 3.1.5.4.2).

В области 3,56-3,52 м.д. ^1H ЯМР-спектра образца ЯПФ-120-7-СО наблюдается множества пиков с узкой шириной линии. Это говорит о тонкой структуре и связи, которая обычно возникает из спектра маленьких молекул или очень подвижной части более крупной молекулы. В двумерных корреляционных спектрах HSQC (рисунок 3.1.5.4.3) наблюдается более ясная картина – видны и другие мелкие сигналы, которые детально описываются в работе [248].

AP-VEAP HSQC

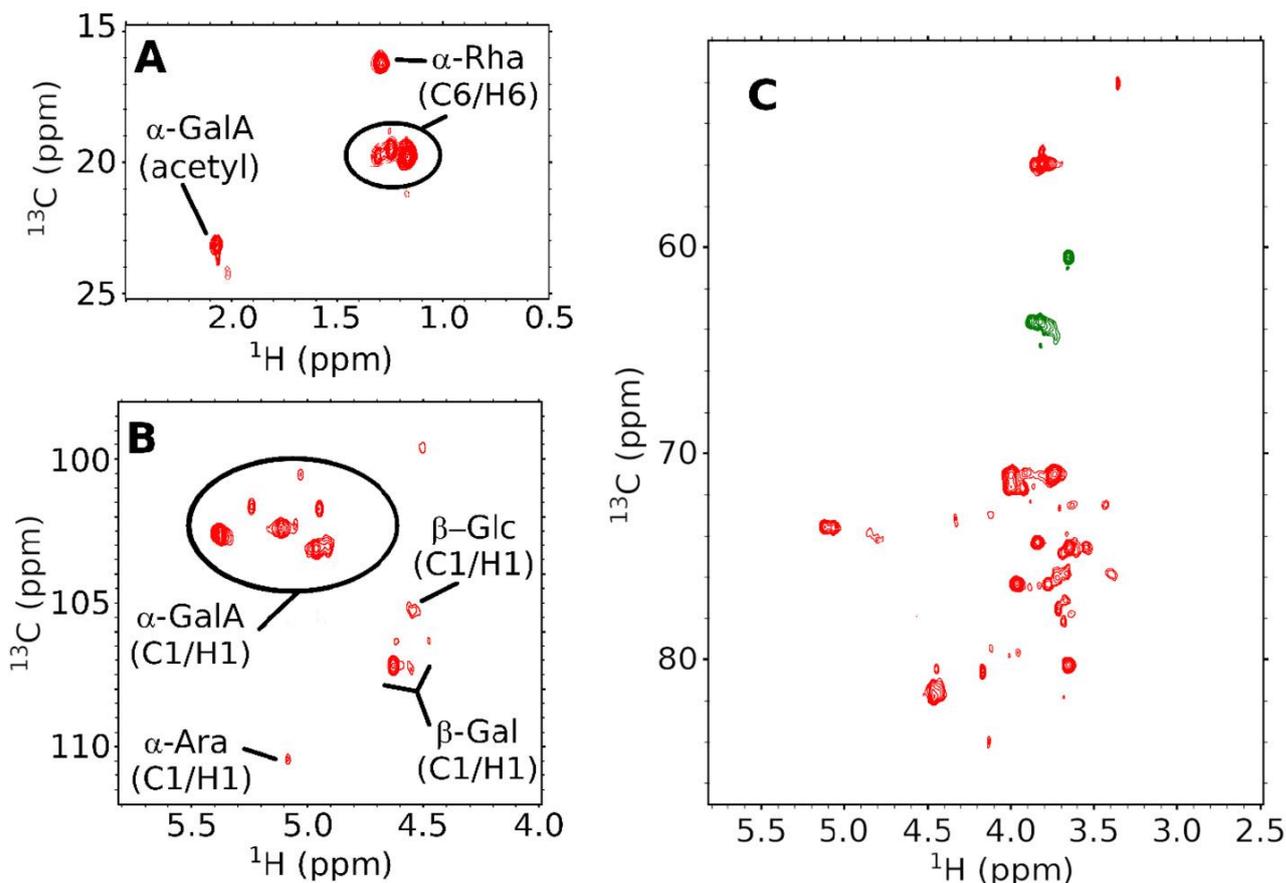


Рисунок 3.1.5.4.3. Спектры ^1H - ^{13}C -HSQC яблочного пектина, полученного методом СО: (А) метильная и ацетильная группы; (В) резонансы аномерных атомов; (С) C/H-2,3,4,5 резонансы [248-А].

Например, в спектре HSQC образца ЯПФ-120-7-СО есть слабый сигнал при δ 107,2/4,62 м.д., который возникает из галактопиранозных (-Galp) остатков, в то время как в образце ЯПФ-120-7-ТДУФ (рисунок 3.1.5.4.4) данный пик смещается в сторону слабых полей и обнаружен при δ 109,9/5,08 м.д., что было отнесено к L-арабинофуранозным (Araf) остаткам, поскольку химические сдвиги фуранозных остатков обычно проявляются при 103-110 м.д. [106] 262. Эти данные в диссертации не приводятся.

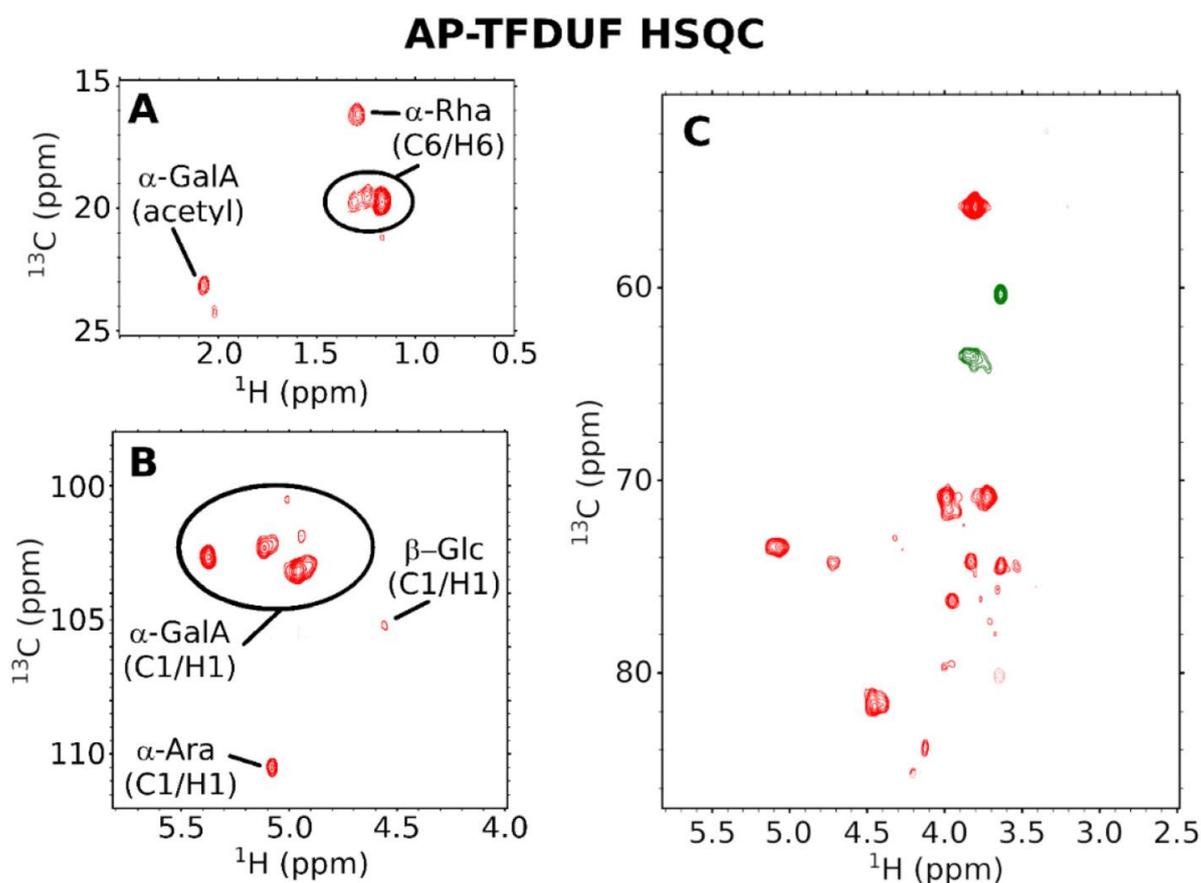


Рисунок 3.1.5.4.4. Спектры ^1H - ^{13}C -HSQC яблочного пектина, полученного методом ТДУФ: (А) метильная и ацетильная группы; (В) резонансы аномерных атомов; (С) C/H-2,3,4,5 резонансы [248-А].

3.1.6 Сравнительный анализ молекулярных масс и молекулярно-массового распределения образцов пектина

ММ и ММР полимеров являются еще одним параметром для оценки качества пектина. ММ и ММР анализировались с помощью ЭЖХ, как описано в

предыдущих работах [3], и методом МУЛС [288]. Значения M_w , M_n и M_z для пектина были получены с использованием универсальной калибровки. Приращение показателя преломления (dn/dc), использованное для расчета ММ в подвижной фазе (0,05 М $NaNO_3$), составило 0,134 мл/г, полученного для цитрусового пектина [287].

Профиль хроматограмм от светорассеивания (LS), ультрафиолетового (UV), визкозиметрического (DP) и рефрактометрического (RI) детекторов образцов ЯПФ-120-7-ТДУФ представлены на рисунке 3.1.6.1.

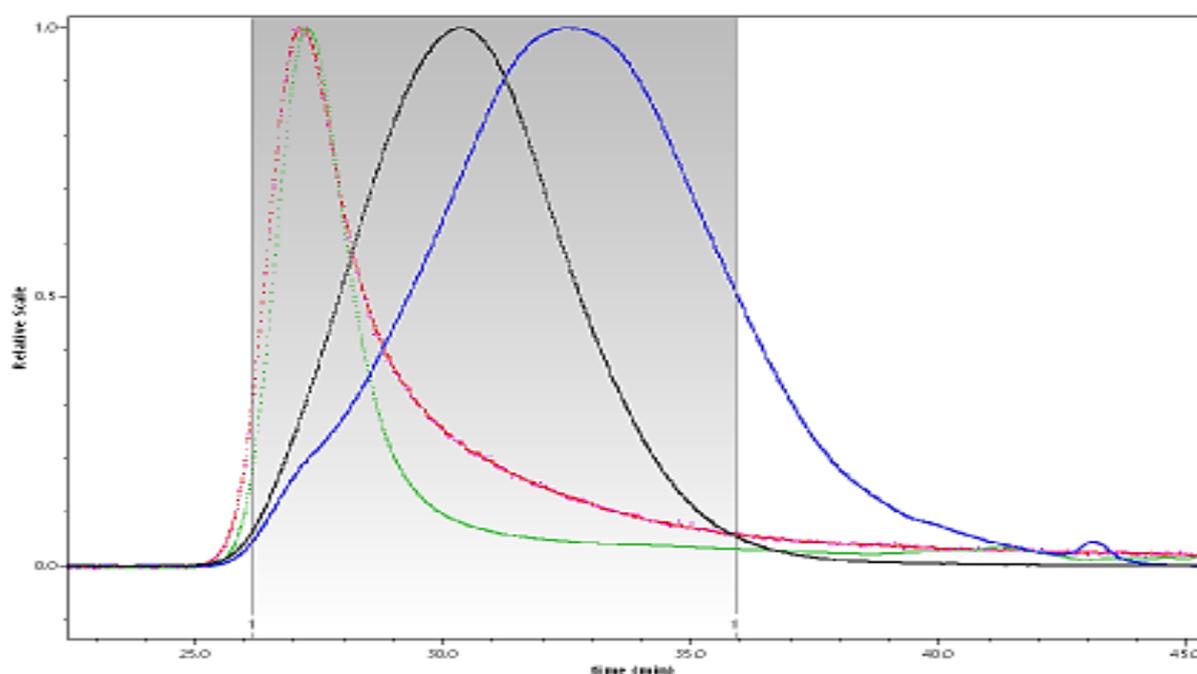


Рисунок 3.1.6.1. – Профиль хроматограмм от светорассеивания (LS-красный), ультрафиолетового (UV-зеленый), визкозиметрического (DP-черный) и рефрактометрического (RI-синий) детекторов образца ЯПФ-120-7-ТДУФ [248-А]

У обоих образцов хроматограммы LS имели один пик 1, элюированный с 26,2 мл до 30,5 мл. Белок, обнаруженный из УФ-поглощения, был связан с обоими образцами и элюировался в одном подобном пике. Хроматограммы LS и кривые ММР в обоих образцах показывают симметричный пик.

В таблице 3.1.6.1 приведены результаты сравнительного анализа полидисперсности (M_w/M_n , M_z/M_n), значения молекулярных масс (M_w , M_n , M_z) и

гидродинамических параметров (характеристической вязкости $[\eta]$, гидродинамического радиуса (R_h)) и параметра, определяющего конформации цепи макромолекулы (a) образцов яблочного пектина, полученных методом МУЛС.

Данные, проанализированные в виде единого пика для общих хроматограмм для пектина, очищенного спиртовым осаждением (ЯПФ-120-7-СО) и пектина, очищенного методом ТДУФ (ЯПФ-120-7-ТДУФ), имеют M_w 483 и 492 кДа, значение $[\eta]$ 230 и 198 мл/мг и R_h 49,5 и 32,9 нм, соответственно.

Таблица 3.1.6.1 – Значения полидисперстости, молекулярных масс, гидродинамических параметров и параметра, определяющего конформации цепи макромолекул яблочного пектина, полученного методом МУЛС [248-А]

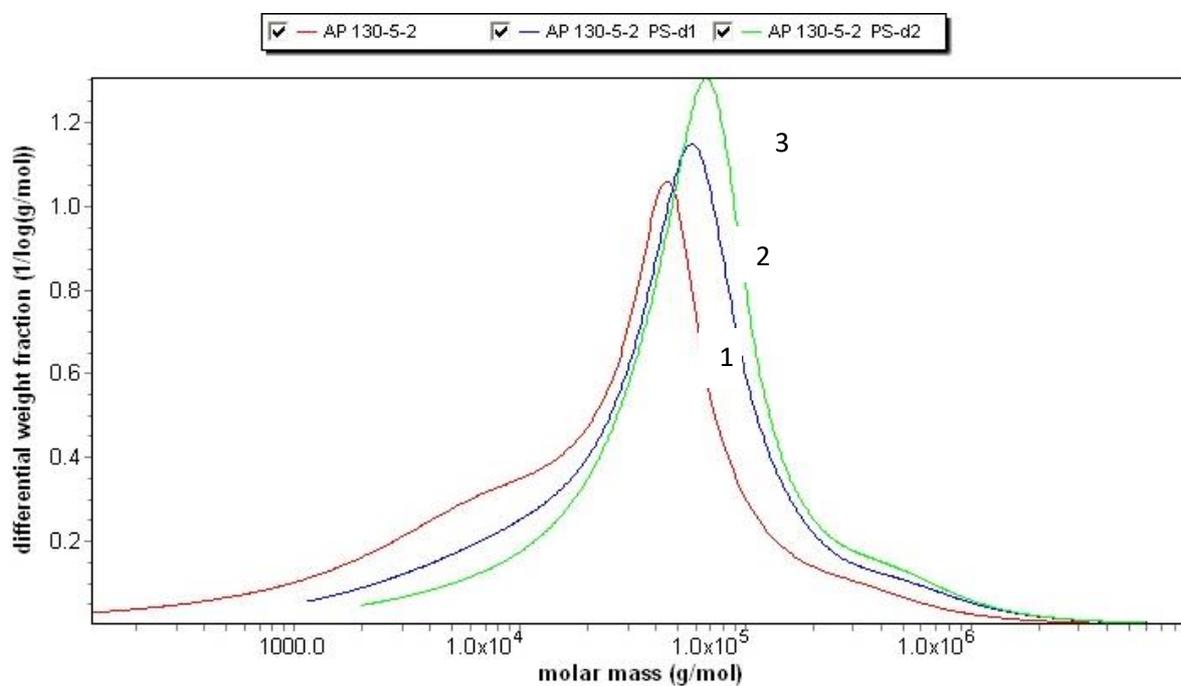
Образцы пектина	% Rec	M_w/M_n	M_w , кДа	$[\eta]$, мл/мг	R_h , нм	a
ЯПФ-120-7-СО	78.4(.1)	3.03(.03)	483(3)	2.30(.01)	34.9(1)	0.557(.02)
ЯПФ-120-ТДУФ	76.8(.3)	3.10(.05)	492(7)	1.98(.01)	32.9(.8)	0.573(.01)

Данные МУЛС показывают, что применение ТДУФ увеличивает ММ пектина, снижает показатель полидисперсности образца и повышает чистоту конечного продукта (таблица 3.1.6.1).

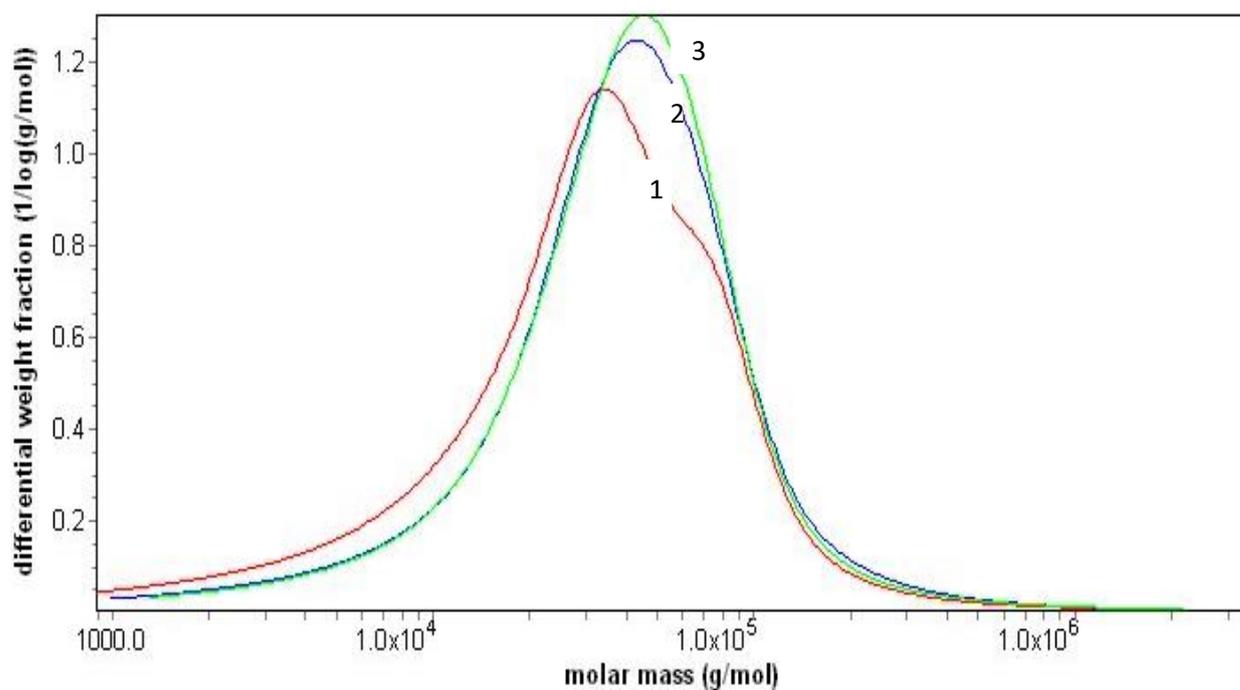
При просмотре зависимости дифференциальное распределение молекул по массе от ММ (рисунок 3.1.6.1) для образцов пектина яблока и подсолнечника, полученных традиционным способом очистки, по сравнению с методами очистки ТДУФ, ясно видно, как кривая ММР пектина имеет тенденцию к мономодальному и симметричному распределению макромолекул путем удаления примесей с низкой молярной массой из пектинового раствора.

Действительно, из анализа данных содержание ГК, 1D и 2D ЯМР-спектроскопии и молекулярных размеров образцов пектина, очищенных ТМ и методом ТДУФ, можно увидеть, что применение метода ДУФ позволяет успешно извлекать низкомолекулярные фракции, что приводит к снижению

полидисперсности образцов (рисунок 3.1.6.2), повышению чистоты конечного продукта (таблица 3.1.5.3.1) и увеличению ММ (таблица 3.1.6.1), что делает этот метод предпочтительным для использования.



а)



б)

Рисунок 3.1.6.2. – Дифференциальная массовая доля в зависимости от ММ яблочного пектина (а) и подсолнечного пектина (б), полученных методами СО (1), ТДУФ1 (2) и ТДУФ2 (3) [248-А]

3.1.7 Расход спирта и электроэнергии при выделении пектина спиртовым осаждением и диаультраfiltrационными методами

Объем этанола, необходимый для осаждения пектина из концентрированного раствора пектина, и мощность, потребляемая соответственно для вышеуказанных демонстрационных способов, представлены в таблице 3.1.7.1. Из таблицы видно, что количество этанола, необходимое для выделения пектина методом СО с вакуумным выпариванием гидролизата, обычно применяемого в традиционной технологии, во всех позициях в два-три раза превышает количество, используемое для выделения пектина методом ТДУФ. Кроме того, ТДУФ потребляет примерно в четыре раза меньше энергии и имеет лучшее качество пектина по сравнению с традиционным методом вакуумного выпаривания с последующим осаждением спиртом.

Таблица 3.1.7.1 – Расход спирта и электроэнергии для получения 1 кг пектина ТМ и методом ТДУФ [248-А]

Пектины	Раствор гидролизата, л	Конц. раствор, л	Расход этанола, л	Расход энергии,	
				кВт·ч	кВт
ЯПФ-120-7-СО	27.6	14.2	55.0	3.0 x 4.5	13.50
ЯПФ-120-7-ТДУФ	26.0	9.4	19.8	4.6 x 0.75	3.45
ЯПФ-130-5-СО	28.6	14.6	56.5	3.0 x 4.5	13.50
ЯПФ-130-5-ТДУФ	26.2	9.3	24.6	4.2 x 0.75	3.15
КП-120-7-СО	28.0	15.5	65.0	3.0 x 4.5	13.50
КП-120-7-ТДУФ	27.8	9.5	20.7	4.8 x 0.75	3.60
КП-120-7-ПС	26.4	9.6	20.8	4.6 x 0.75	3.45

Эксперименты на пилотной установке [248] наглядно демонстрируют эффективность процесса ТДУФ по расходу спирта и энергии в производстве пектина (таблица 3.1.7.1).

К тому же, при ТДУФ качество пектина в полученных образцах значительно выше по сравнению с таковыми при применении ТМ. В предлагаемом нами процессе энергия расходуется только на гидролиз и работу насоса. ТМ, напротив, требует значительных затрат энергии на концентрирование раствора пектинового гидролизата с использованием энергоёмких вакуум-выпарных установок и длительного времени гидролиза.

Результаты эксперимента также показали преимущества использования полуволоконных мембран на основе полиамида перед полисульфоновыми мембранами, ввиду получения высококачественных ПВ при значительном снижении затрат на производство пектина [248].

Таким образом, проведенные эксперименты показали преимущества ТДУФ для получения пектина, а также особенности очистки и концентрирования яблочного и подсолнечного пектина в этом процессе. Установлено, что использование ТДУФ способствует реализации применения энергосберегающих технологий в производстве пектина с целью получения целевых продуктов, отвечающих требуемому качеству и экологической безопасности [248].

3.1.8 Расчёт экономической эффективности производства пектинов традиционным и инновационными методами

Технологическая линия производства пектина с использованием ТДУФ (рисунок 3.1.8.1) была апробирована в экспериментальном пектиновом цехе ПАО «Шахринав» Республики Таджикистан путем выпуска более 20 опытных партий. Преимущества данной технологии были продемонстрированы по сравнению с известными технологиями с использованием методов очистки и концентрирования DE 3041096 A1 (Chisso Corp., Osaka, JP) и EP 0426434 A1 (SBP, INC) [74, 75].

Сравнительные характеристики процесса (производительность мембран) и качества продукта (чистота пектина и его желирующая способность) приводится в таблице 3.1.8.1.

Технологическая схема производства пектина методом диа-ультрафильтрации

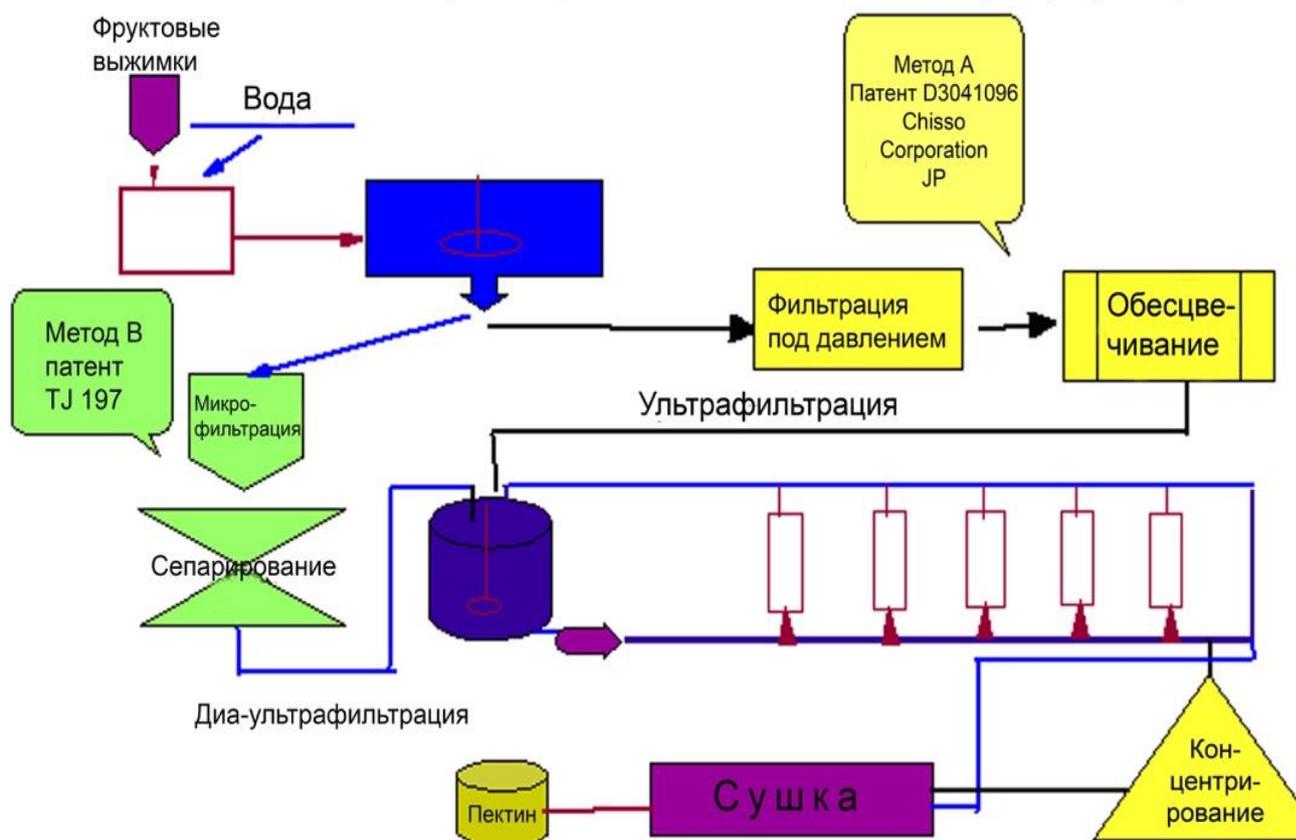


Рисунок 3.1.8.1. – Технологическая линия производства пектина с использованием различных методов очистки и концентрирования: Метод А – по патенту [75], метод В – по патентам [55, 56-А]

Таблица 3.1.8.1 – Основные сравнительные характеристики предлагаемого и известного способов [248-А]

№ примера	Предлагаемый способ			Известный способ		
	Производительность аппарата, P_{cp} , л/м ² ч	Чистота пектина, %	Степень жел-ния, °SAG	Производительность аппарата, P_{cp} , л/м ² ч	Чистота пектина, %	Степень жел-ния, °SAG
1	24,5	58.0	145	17,5	51.0	120
2	37,0	76.0	210	22,0	68.0	190
3	40,0	57.0	130	-	-	-

С применением стадии сепарирования в данном способе исключаются две сложные стадии в производстве – тонкая фильтрация и обесцвечивание раствора гидролизата, а также становится возможным получение еще одного продукта в производстве пектина – пектинового геля.

На последней стадии полученный концентрат высушивают распылением и помещают в полиэтиленовые мешки. Данное производство в сравнении с зарубежным имеет серьезное преимущество на внутреннем рынке, так как себестоимость пектина, полученного в предлагаемом технологическом исполнении в полтора раза ниже идентичного показателя для пектина, произведенного по классической "кислотно-спиртовой" технологии, используемой за рубежом (рисунок 1.2.1).

Таким образом, предлагаемый технологический процесс производства (рисунок 3.1.8.1) основан на применении гидролиз-экстракции под давлением за короткий промежуток времени, где в качестве экстрагента используется раствор азотной кислоты с рН 2.0. Концентрирование и очистка ПВ производится методом ТДУФ. Данный процесс назовем инновационным и обозначим как Технология Б.

В таблице 3.1.8.2 приводится сравнительный анализ расходов сырья, энергии и продолжительности производственного цикла на 1 кг пектина разными технологиями (Технология А – традиционная технология, Технология Б – инновационная технология).

Таблица 3.1.8.2 – Сравнительный анализ расходов сырья, энергии и продолжительности производственного цикла получения пектина разными технологиями [248-А]

Наименование	Технология А		Технология Б	
	Норма расхода	US \$ на 1 кг	Норма расхода	US \$ на 1 кг
1	2	3	4	5
Производственный цикл, час	12 часов		8 часов	
Расходы на электроэнергию, кВт/кг	4.8-5.2	3.48	3.5	0.94

Продолжение таблицы 3.1.8.2

1	2	3	4	5
Расход воды, м ³ /кг	0.7	0.28	0.9	0.36
Расход пара, Гкал/кг	3.40	0.85	1.75	0.45
Расход сырья:				
Выжимки, кг/кг	10	1.0	10	1.0
Аммиак /сода каустическая, кг/кг	0.120	0.1	0.10	0.1
Азотная кислота, кг/кг	0.30	1.2	0.15	0.6
УФ-мембрана, м ² /кг			0.05	5.0
Формалин, л/кг			0.001	0.2
Сток м ³ /на кг готовой продукции	0.55	0.25	0.75	0.4
Расход спирта, л/кг	190.0	7.0	0	0
Адсорбент для водоочистки, кг/кг	0.5	0.5	1.0	1.0
Общая стоимость расходов, US \$	14.66		10.5	

Кроме повышения эффективности производства за счет сокращения продолжительности производственного цикла, рассматриваемый процесс производства пектина осуществляется в мягких режимах, является экологически чистым и ресурсосберегающим. Более того, общая стоимость расходов и сокращение производственного цикла способствуют снижению себестоимости готового продукта (таблица 3.1.8.2).

Основным преимуществом данной технологии является получение пектина за короткий период времени гидролиза 5-10 мин, концентрирования 3-4 часа и сушки 2 часа с общим непрерывным циклом процесса до 8 часов без применения высокой кислотности (pH) и оснований для их нейтрализации на стадии экстракции и гидролиза пектиносодержащего сырья, а также минеральных солей и этилового спирта.

Таким образом, производство отечественного пектина по предлагаемой ресурсосберегающей технологии и эффективностью производственного цикла, а

также по сравнительно низкой себестоимости создает существенные преимущества перед конкурентами из зарубежных стран, поставляющих пектины в нашу республику.

3.2 Моделирование технологических процессов в производстве пектина

3.2.1 Математические методы моделирования технологических процессов производства пектина

В институте химии НАНТ для сушки концентратов пектинового гидролизата применяется энергосберегающая технология на основе энергосберегающего коллектора, использующего возобновляемые источники энергии [93].

В данной работе проанализирована задача идентификации кинетики дисперсионной сушки раствора пектинового концентрата и управление физико-химическими параметрами технологического процесса в распылительной сушильной установке для получения продукта высокого качества и интенсификации процесса сушки с целью увеличения производительности установки. «...Разработана математическая модель процесса сушки пектинового раствора на распылительной сушилке с учетом процессов тепло- и массообмена...» [80]. Исследована система автоматического управления с пропорционально-интегрально-дифференциальным регулятором и предиктором Смита объекта с запаздыванием. Показано, что при малых значениях запаздывания система автоматического управления с предиктором Смита, дает лучшие показатели по качеству переходного процесса.

3.2.1.1 Моделирование и оптимизация физико-химических параметров процесса гидролиз-экстракции пектина флеш-способом

Как показывают анализ и систематизация литературных данных, выбор и оптимизация технологических процессов производства пектина – гидролиз-экстракции, очистки, концентрирования и сушки на основе построения

математической модели процессов с учетом разработки методов, снижающих или практически исключающих применение химических реагентов и получения конечных продуктов с заданными физико-химическими и технологическими свойствами, является важной и актуальной задачей на сегодняшний день.

Для решение данной задачи в работе рассматривается оптимизация параметров процесса гидролиз-экстракции ПП флеш-способом с использованием математических моделей [48, 56-58, 80].

«...Гидролиз-экстракция проводилась в соответствии с запатентованным способом [56], при котором пектинсодержащее сырьё подаётся в автоклав при следующих условиях: температура – 110-130 °С, давления в автоклаве – 1.2-1.6 атм, продолжительность гидролиза – 3-10 минут и низкие значения рН...» [56] (рисунок 3.2.1.1.1).

Гидролиз-экстракцию ПП для 9 образцов проводили при температуре 120°С, давлении 0.152 МПа, гидромодуле 1:20 в течение 3-10 минут. Контроль давления в парогенераторе (МВА-20D, США) осуществляется с помощью автоматической системы поддержания давления.



Рисунок 3.2.1.1.1. – Технологическая схема производства пектина [56-А]

Для оптимизации процесса и сравнения качества пектина гидролиз-экстракцию проводили также ТМ, соответственно для каждого вида сырья [49, 52-54]. Пектиновый гидролизат фильтровали через фильтрующий материал. Полученный экстракт охлаждали, нейтрализовали до рН 3.5 и центрифугировали при 4000-5000 об/мин. для отделения МГ.

«...Оптимизация данного процесса проводилась с использованием пакета математических моделей с последующим анализом взаимосвязи между входными и выходными параметрами и определением оптимальных значений параметров технологических процессов...» [80, 93].

В таблице 3.2.1.1.1 представлены численные значения выхода продуктов гидролиза в зависимости от способа и параметров процесса.

Таблица 3.2.1.1.1 – Влияние способов и параметров процесса гидролиз-экстракции на выход ПП и их физико-химических параметров [56-А]

Т, °С	Время, (мин.)	Выход продуктов гидролиза, (%)			Параметры пектина		
		ПВ+МГ	ОС	Сумма	М _w , кДа	ГК, %	СЭ, %
85	60	5.13	32.61	37.74	673.90	64.80	48.71
120	3	8.93	32.15	41.08	661.00	62.00	52.51
120	5	14.12	45.00	59.12	769.50	71.50	46.79
120	7	15.02	63.84	78.86	622.10	70.80	43.35
120	10	16.8	67.46	84.26	403.50	61.20	41.29

Суммарное содержание ПВ, МГ и ОС в определенный момент времени реакции гидролиз-экстракции представляет собой содержание продуктов гидролиза, разложившихся за это время.

При планировании эксперимента в качестве факторного анализа были взяты основные параметры процесса гидролиза (температура и продолжительность гидролиза) и обозначены: X_1 – температура и X_2 – продолжительность процесса (таблица 3.2.1.1.2). В данной таблице

представлены данные верхнего (переменная со знаком «+»), основного («0»), нижнего («-») и по шагу варьирования уровни факторов в зависимости от переменных входных факторов [80].

Применение данного метода планирования при оптимизации с использованием регрессии полинома второй степени [289] процесса гидролиза ПП позволяет наиболее точно определить зависимость влияющих параметров (температуры и продолжительности процесса) на выход ПВ. Кроме того, «...использование этого метода является экономичным, поскольку позволяет провести минимальное количество экспериментов для получения устойчивых оценок коэффициентов модели...» [80].

Таблица 3.2.1.1.2 – Исходные данные для планирования эксперимента, взятые из работы [80]

Уровень фактора	Входные факторы		
	Переменная	Температура X_1 , °C	Время X_2 , мин.
Верхний	$X_i^{(+1)}$	130	10
Основной	X_i^0	120	7
Нижний	$X_i^{(-1)}$	110	5
Шаг	λ_i	10 и 3	3

В таблице 3.2.1.1.3 приведена матрица планирования двухфакторного эксперимента, в которой символами «+1», «-1», «0» обозначены, соответственно, максимальное, минимальное и среднее значения входных факторов.

Таблица 3.2.1.1.3 – Матрица планирования двухфакторного эксперимента [80]

№ варианта	Кодированные значения факторов		
	x1U	x2U	yU
1	2	3	4
1	+1	+1	y1
2	-1	+1	y2
3	+1	-1	y3

Продолжение таблицы 3.2.1.1.3

1	2	3	4
4	-1	-1	y4
5	+1	0	y5
6	-1	0	y6
7	0	+1	y7
8	0	-1	y8
9	0	0	y9

Структурная матрица планирования двухфакторного эксперимента с учётом принятых обозначений будет иметь следующий вид (таблица 3.2.1.1.4).

Таблица 3.2.1.1.4 – Структурная матрица планирования двухфакторного эксперимента [80]

№ варианта	Параметры		Выходной параметр yU
	Температура X ₁ , °C	Время X ₂ , мин.	
1	130	10	y1
2	100	10	y2
3	130	7	y3
4	110	3	y4
5	130	7	y5
6	110	7	y6
7	120	10	y7
8	120	3	y8
9	120	7	y9

В проведенных экспериментах выявление корреляционной связи между входными параметрами и исследуемыми показателями проводилось с применением программы DataFit 9.1. Результаты проведенных экспериментов приведены в таблице 3.2.1.1.5.

Используя методы двухфакторного регрессионного и дисперсионного анализа, были получены соответствующие математические модели, по данным которых с помощью программы DataFit получено уравнение линейной регрессии, устанавливающее зависимость между параметрами процесса гидролиз-экстракции (температура, продолжительность и давление) и выходом чистого пектина (рисунок 3.2.1.1.2) [80]:

$$Y = 55.28 + 0.24X_1 + 1.32X_2 + 0.73X_3, \quad (3.2.1.1.1)$$

где X_1 – температура процесса, °C; X_2 – продолжительность процесса, мин.; X_3 – давление процесса гидролиз-экстракции; Коэффициенты регрессии: $b_0 = 8.052$, $b_1 = 48.156$, $b_2 = 1.095$, $b_3 = -0.137$, $b_4 = 0.005$. Коэффициент детерминации – 98.65 %, относительная погрешность – 4.91%.

Таблица 3.2.1.1.5 – Матрица планирования двухфакторного эксперимента и результаты опытов (выход пектина) [80]

№ варианта	Выход пектина, %						
	повторности						
	1	2	3	4	5	6	7
1	10.81	8.34	9.53	8.51	19.34	11.14	7.94
2	9.57	7.52	6.64	7.79	7.64	6.06	7.44
3	11.69	8.8	9.77	8.9	20.28	12.03	29.95
4	10.71	8.1	8.48	8.5	17.24	17.95	29.93
5	10.93	8.37	9.67	8.58	19.25	18.06	29.96
6	10.14	10.41	6.56	7.56	7.7	5.68	29.39
7	11.73	16.85	18.82	23.78	26.3	33.11	37.98
8	10.15	10.44	6.6	7.76	7.65	6.08	29.49
9	9.17	7.47	6.64	8.82	9.13	8.01	29.44

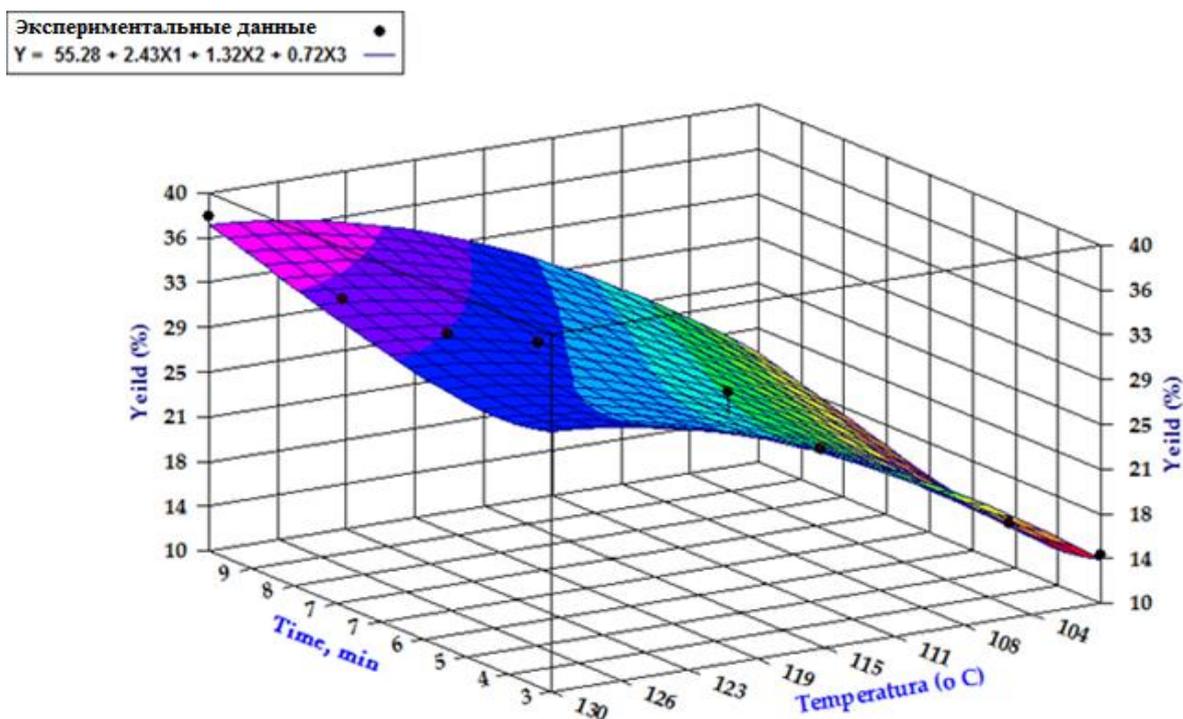


Рисунок 3.2.1.1.2. – Выход пектина в зависимости от влияющих факторов в процессе гидролиз-экстракции (теоретические данные из работы [80]).

По модели значение коэффициента детерминации составляет 98.65%, а относительная погрешность равна 4.91%, поэтому зависимость (3.2.1.1.1) может быть применена как прогнозная модель [80].

Таким образом, на основе составленной математической модели регрессионного и дисперсионного анализа были установлены оптимальные технологические параметры процесса гидролиз-экстракции (температура и продолжительность процесса) для отдельных видов растительного сырья.

3.2.1.2 Моделирование процесса УФ-концентрирования и очистки пектиновых полисахаридов

В процессе УФ происходит падение производительности мембран со временем из-за увеличения количества осадков, которые накапливаются в процессе фильтрации. Такое явление «...может быть вызвано несколькими причинами – концентрационной поляризацией, адсорбцией [64, 65], а также агрегацией пектиновых макромолекул при концентрировании разбавленных

растворов...» [272]. «...Основной вклад в формирование гелевого слоя вносят ПП, а также целлюлоза. Для регенерации мембран авторы [77, 73, 83] рекомендуют применять мощную композицию, содержащую ферментные препараты пектолитического и карбогидразного действия. В технологическом процессе, разработанном совместно с сотрудниками Института химии НАНТ, для периодической очистки мембран используется процесс ДУФ в тангенциальном потоке дистиллированной водой для уменьшения агрегации макромолекулы во время фильтрации, которая промывает мембраны, через байпасную линию попадает в сосуд, содержащий концентрат, что уменьшает осаждение пектинового геля на поверхности мембран...» [77, 73, 83, 80]. Затем цикл УФ концентрирования повторяется до получения раствора нужной концентрации [94, 247, 248, 290]. «...Этот процесс автоматизирован, готовность конечного продукта определяет датчик давления, который установлен на фильтрационной колонке...» [80].

«...Периодическая очистка УФ колонны по указанному технологическому процессу приводит к растворению пектина и уменьшает гелевый слой на мембране. Опыт показывает, что такой метод очистки пектинового раствора позволяет уменьшить частоту проведения промывок. Имеется ряд работ, посвященных математическому моделированию происходящих при этом процессов...» [80, 291-293].

«...Основная часть этих моделей, как правило, описывает процессы, происходящие в случае неизменных внешних параметров, использование промежуточных очисток мембраны такими моделями не отражается. Кроме того, они в основном рассматривают один механизм влияния гелеобразования на процесс УФ – повышение общего гидравлического сопротивления системы «мембрана-гель» за счет увеличения толщины слоя геля...» [80].

Ряд исследователей в настоящее время изучают такой механизм, как блокирование пор мембраны гелевыми «пробками» [72, 293, 294].

«...Математическая модель процесса строится с учетом следующих допущений...» [295]:

1. «...Производительность мембраны ($\text{л}/\text{м}^2\cdot\text{с}$), которая определяется как объёмный расход пермеата в расчёте на единицу площади поверхности мембраны и может быть отождествлена со средней скоростью v ($\text{м}/\text{с}$) движения пермеата в направлении нормали к поверхности, прямо пропорциональна ТМД – p (перепаду давлений, КПа) и обратно пропорциональна сумме сопротивлений мембраны и слоя геля. Сопротивление мембраны в таком случае обратно пропорционально суммарной площади $F(t)$ с учетом постоянства толщины слоя вдоль мембраны за фильтрационный цикл, сечение свободных пор, расположенных в мембране в расчете на единицу площади ее поверхности, а сопротивление слоя геля пропорционально толщине этого слоя. Таким образом, производительность мембраны описывается выражением:

$$v = \frac{p}{\frac{1}{bF} + \frac{\delta}{K_g}}, \quad (3.2.1.2.1)$$

где b – коэффициент пропорциональности; K_g – удельная гидравлическая проницаемость слоя геля, $\text{м}^2/(\text{Па}\cdot\text{с})$; δ – толщина слоя геля...» [295];

2. «...Свойства геля, толщина образующегося слоя геля считаются постоянными вдоль мембраны; предполагается, что образование геля начинается при достижении раствором определенной концентрации c_g при плотности геля равной g (масса пектина в единице объема слоя геля). Тогда уравнение материального баланса для слоя геля можно записать в виде...» [295]:

$$\rho_g \frac{d\delta}{dt} = v c_g, \quad (3.2.1.2.2)$$

3. «...Количество пор мембраны, засоряемых за время dt , пропорционально плотности потока пектина, приносимого раствором к поверхности мембраны, и

количеству свободных (не засоренных на данный момент) пор. В этом случае скорость изменения суммарной площади свободных пор можно описать выражением:

$$\frac{dF}{dt} = -avc_g F + R, \quad (3.2.1.2.3)$$

где a – константа, характеризующая способность сгустков геля блокировать поры мембраны. Она измеряется в $\text{м}^2/\text{кг}$ и имеет смысл суммарной площади сечений пор, блокируемых единицей массы геля, R – остаточная площадь непроницаемых пор, измеряется в $\text{м}^2 \dots$ » [289];

4. «...Промывка поверхности мембраны приводит как к частичному удалению слоя геля, который вновь попадает в исходный фильтруемый раствор так и к частичной очистке пор мембраны...» [295];

5. «...Время, затрачиваемое на очистку поверхности мембраны, не учитывается; считается, что изменение характеристик процесса, связанное с очисткой, происходит скачкообразно...» [295]. Наличие зависимостей $F(t)$ и (t) позволяет рассмотреть функцию $F(\delta)$, заданную при помощи параметра t . Разделив уравнение (3.2.1.2.3) на (3.2.1.2.2), получим:

$$\frac{dF}{d\delta} = -aF\rho_g. \quad (3.2.1.2.4)$$

Получена зависимость площади УФ вдоль толщины гелиевого слоя на поверхности мембраны. После нескольких преобразований можно получить уравнение, описывающее изменение толщины гелевого слоя с течением времени:

$$v_0 = bF_0\rho \quad (3.2.1.2.5)$$

для начального момента времени каждого этапа процесса фильтрации, (параметры с индексом 0), то есть для чистой мембраны получим:

$$c_0 = \frac{bF_0}{K_g} \delta = \frac{v_0}{pK_g} \delta. \quad (3.2.1.2.6)$$

$$A = \frac{a\rho_g pK_g}{v_0}. \quad (3.2.1.2.7)$$

Обозначив толщину гелевого слоя и суммарную площадь открытых пор в начальный момент рассматриваемого этапа процесса (после очередной очистки мембраны) через δ' и F' , соответственно, окончательно получим (3.2.1.2.8). Эти величины являются постоянными параметрами для конкретного этапа – для разных этапов различны:

$$\frac{d c_g}{dt} = \frac{1}{c_0 + k e^{At}}, \quad (3.2.1.2.8)$$

где c_0 – исходная концентрация, $k = F_0/F'$.

Таким образом, процесс характеризуется двумя параметрами, причем A – основной параметр, одинаковый для всех этапов, второй параметр – отношение ($k = F_0/F'$) – характеризует степень промывки пор при общей очистке поверхности мембраны и поэтому является одной из характеристик отдельного цикла. Значения многих параметров были определены экспериментально.

Решение полученной системы дифференциальных уравнений в форме Коши проводилось в среде Matlab/Simulink. На рисунке 3.2.1.2.1 представлена зависимость концентрация раствора пектина и пропускной способности мембраны от времени, на рисунке 3.2.1.2.2 приведен 3D график зависимости производительности мембраны от времени и давления в системе.

Для определения влияния периодической очистки мембран на УФ-концентрирование и очистку пектина из яблок и КП были проведены ряд лабораторных экспериментов [94]. По данным, представленным в таблице, полученным в ходе эксперимента и обработанным с помощью программы DataFit 9.0, были построены графики зависимости производительности

мембраны от времени УФ и входящего давления в системе (рисунки 3.2.1.2.3 и 3.2.1.2.4) [92].

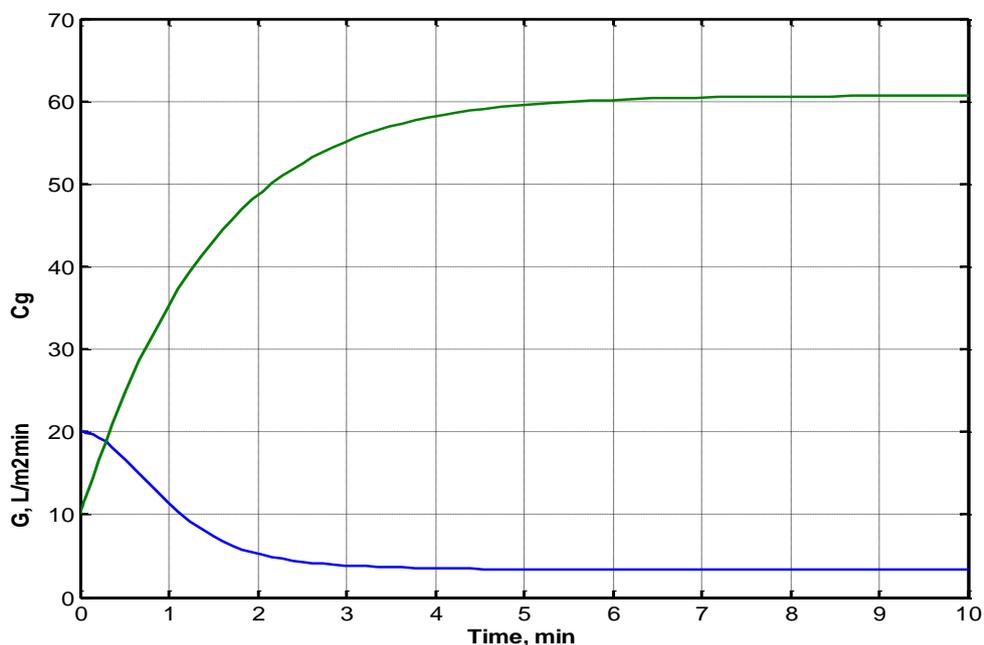


Рисунок 3.2.1.2.1. – Графики зависимости концентрации раствора пектина (C_g) и пропускной способности мембраны (G) от времени [92-А]

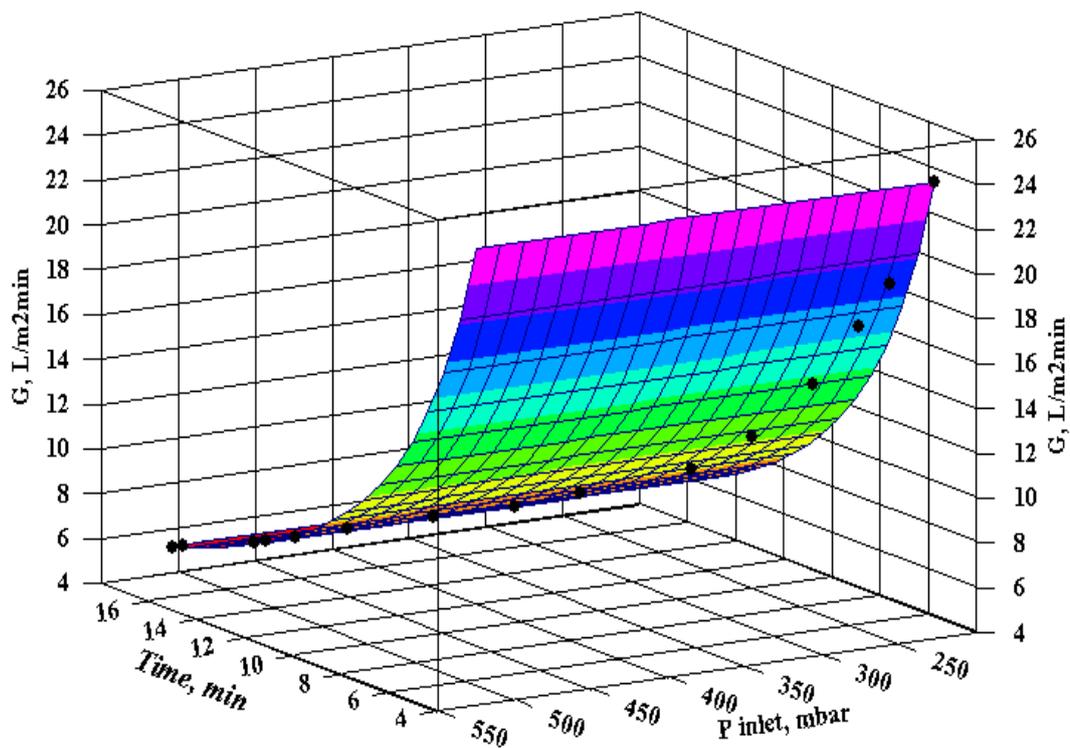


Рисунок 3.2.1.2.2. – 3D график зависимости производительности мембраны от времени и давления в системе [92-А].

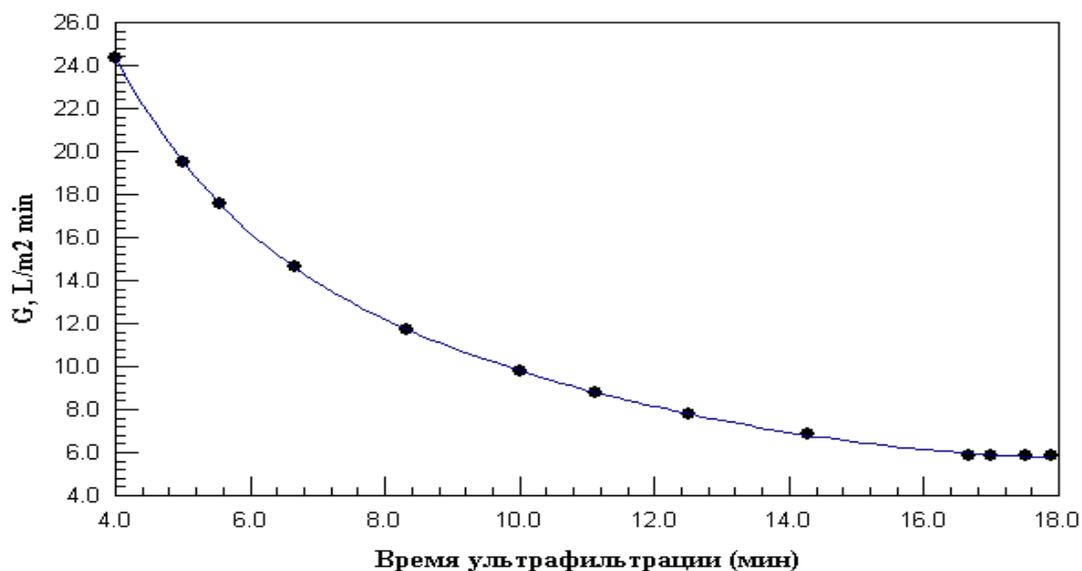


Рисунок 3.2.1.2.3. – График зависимости производительности мембраны от времени УФ [92-А]

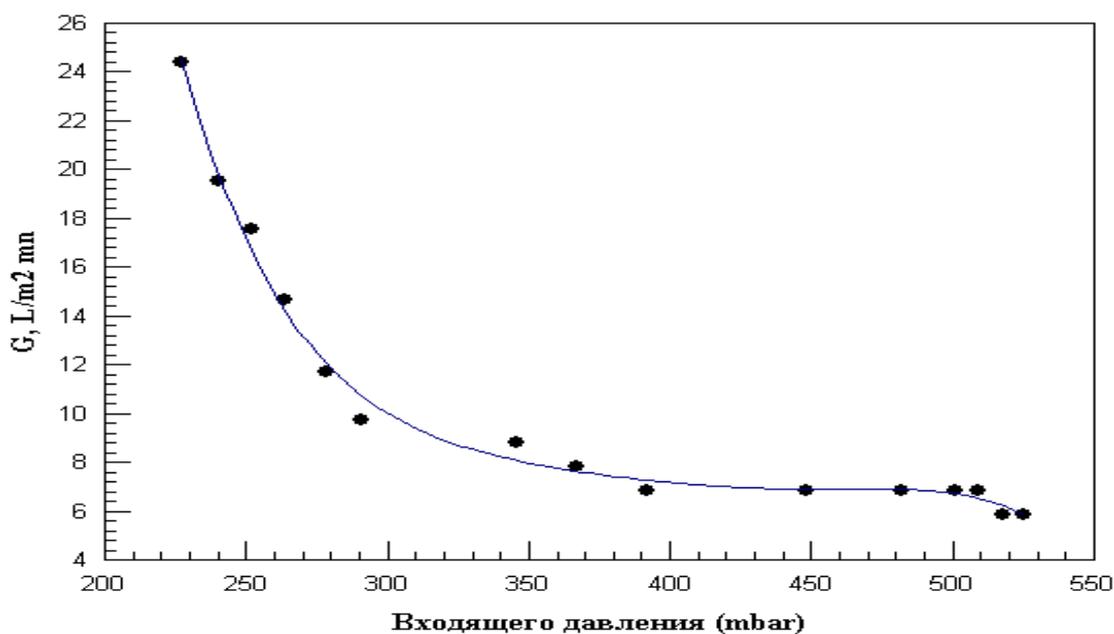


Рисунок 3.2.1.2.4. – График зависимости производительности мембраны от входящего давления [92-А].

3.2.1.3 Моделирование технологических процессов на примере производства пектиновых веществ из выжимок яблок

При моделировании технологических процессов производства ПВ из выжимок яблок в работе [80] были рассмотрены определения параметров основных этапов физико-химических процессов, происходящих при

производстве ПП, расход пектиносодержащего сырья, а также предпринята попытка исследования и раскрытия механизма влияния технологических параметров процесса гидролиз-экстракции на качество получаемого пектина.

3.2.2 Построение общей модели технологических процессов производства пектина

Для построение общей модели технологических процессов производства ПП, как отмечено выше, нами была разработана общая информационно-логическая модель технологии производства пектина из выжимок яблок флеш-способом (рисунок 3.2.1.1.1) [92, 91]. Общая информационно-логическая модель технологических процессов производства пектина включает процесс сушки пектиновых концентратов с применением модернизированной распылительной сушильной установки [93]. В данной работе найдены основные параметры процесса сушки, влияющие на физико-химические свойства ПП. Математическая модель процесса сушки ПП была разработана в соответствии с теорией массо- и теплообмена в виде составления уравнений теплового и материального балансов процесса, на основании которых найдены оптимальные параметры регулирования: расход горячего воздуха – 65 м³/ч; температура на входе в сушильную башню – 170°С; температура на выходе – 85°С; скорость подачи пектинового концентрата – 15 мл/мин. Установлено, что применение данной установки при производстве позволяет получить пектины высокого качества и с низкой себестоимостью, а также способствует сохранению его потребительских свойств.

В соответствии с разработанной общей моделью производства пектина рассчитан выход ПВ из выжимок яблок и другого растительного сырья, содержащего пектин (таблица 3.2.2.1).

Таблица 3.2.2.1 – Физико-химические параметры процессов производства пектина флеш-способом, полученные на основе общей информационно-логической модели при различных входных параметрах [3-А]

Сырьё	Входные параметры				Выходные параметры			
	Время, мин	Т, °С	Р, атм	рН	ПВ, %	ГК, %	$M_w \cdot e^{-3}$, кДа	СЭ, %
Аб	5	130	2.0	2.0	14.43	68.4	125.60	78.2
Ай	5	120	1.5	1.5	26.83	57.6	915.00	69.8
КП	60	85	1.0	1.5	22.2	66.6	151.90	68.3
ЛК	5	130	2.0	2.0	12.8	73.2	131.80	76.7
Рв	7	120	1.5	2.0	22.37	50.4	150.80	68.6
Ткв	10	130	2.0	2.0	27.2	45.3	174.80	60.2
ЯПМ	7	120	1.5	2.0	25.63	52.8	105.20	68.6
ЯПФ	7	120	1.5	2.0	14.33	69.6	167400	76.5

Исследования структуры объекта, отдельных технологических процессов и расхода массового потока между звеньями позволили синтезировать математическую модель технологических процессов производства пектина в виде авторегрессионной интегрированной модели со скользящей средней. Основная идея численного оценивания параметров в моделях авторегрессии со скользящим средним заключается в том, чтобы максимально приблизить эту модель к реальным исходным данным [80].

На основе разработанных алгоритмов предложена принципиальная схема управления технологическим процессом производства пектина с учетом процесса его сушки [80, 92].

Таким образом, на основе моделирования и оптимизации физико-химических параметров отдельных процессов производства ПП и разработанной принципиальной схемы автоматического управления технологических процессов предложена программа для возможного запуска промышленного производства пектина [80]. Интерфейс программы (рисунок 3.2.2.1) состоит из

пяти панелей (разделов), которые служат для выбора исходного сырья и этапов производства. С помощью данных разделов будет происходить контроль, регулирование и управления параметрами отдельных технологических процессов производства, т.е. обеспечения полного контроля хода производства.

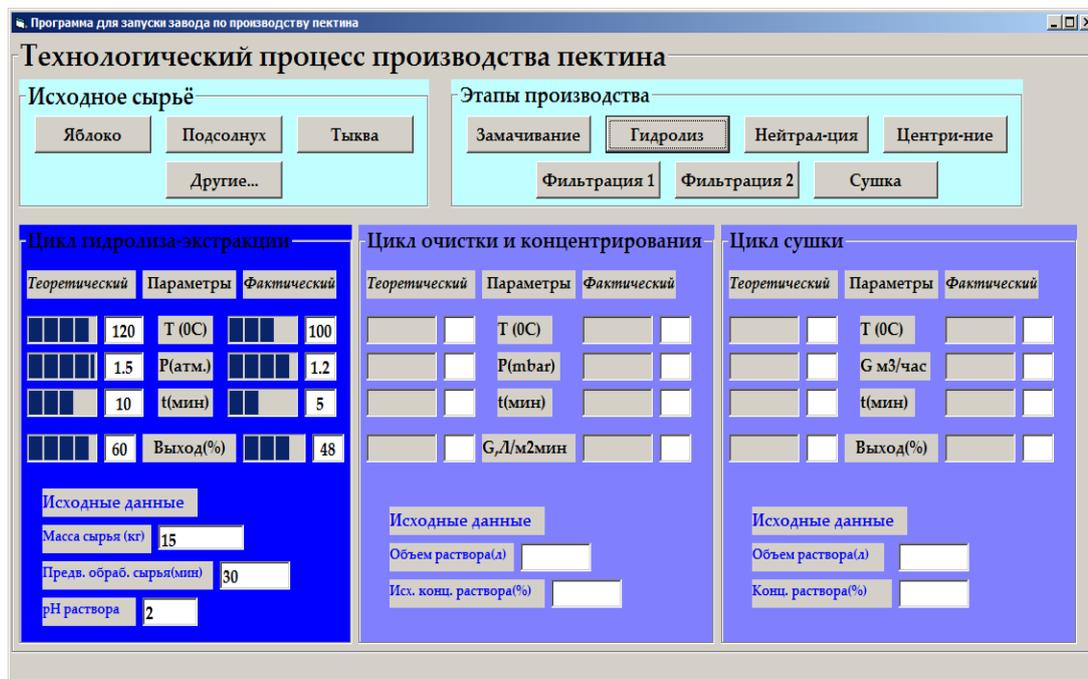


Рисунок 3.2.2.1. – Интерфейс программы для возможного запуска промышленного производства пектина [80].

Проведенные вычислительные эксперименты позволили получить графическое описание динамики состояния технических параметров системы.

3.3 Выделение и концентрирование белков и их идентификация

3.3.1 Выделение сывороточных белков с применением мембранных методов

В последнее время появились принципиально новые способы переработки сыворотки путем фракционирования ее компонентов с применением мембранной техники и использование ее в пищевых продуктах и фармацевтике. Целесообразность применения новых способов выделения белков определяется качеством получаемых белковых концентратов, их функциональными

свойствами, уровнем материальных и энергетических затрат на получение концентратов и величиной потерь белка в процессах концентрирования.

Анализ возможностей мембранных методов был бы неполным без их экологической оценки. Следует обратить внимание на то, что мембранная технология является безреагентной. Помимо высокой экологической целесообразности мембранные методы наиболее экономичны в сравнении с конкурирующими методами разделения веществ [296, 207].

В зависимости от размеров частиц, выделяемых при мембранной фильтрации, подразделяют четыре типа мембранных процессов:

1. *Микрофильтрацию (МФ)*. В этом процессе отделяются частицы размером 0,05-10 мкм. В этот диапазон попадают бактерии, жировые шарики молока и крупные мицеллы казеина. МФ называют «холодной стерилизацией».

2. *Ультрафильтрацию (УФ)*. В этом процессе отделяются частицы и высокомолекулярные вещества (ВМВ) размером 0,001-0,05 мкм или 5-500 кДа. В этот диапазон попадают казеин и сывороточные белки.

3. *Нанофильтрацию (НФ)*. В этом процессе отделяются молекулы размером 0,4-1 кДа или 0,0005-0,001 микрон. В этот диапазон попадают лактоза и аминокислоты.

4. *Обратный осмос (ОО)*. В этом процессе отделяются молекулы и ионы размером менее 0,0005 мкм с молекулярным весом меньше 0,4 кДа. Процессы МФ, УФ и НФ протекают при относительно низком давлении (не более 12 кгс/см²). Для проведения процесса ОО необходимо давление (около 20 кгс/см²) [297].

Процессы мембранного разделения наглядно продемонстрированы на рисунке 3.3.1.1 [297].

Состав бычьего β -Lg, определенного с помощью ЯМР [298] представляет собой относительно небольшую молекулу белка, состоящую из 162 остатков аминокислот с ММ 18,4 кДа.

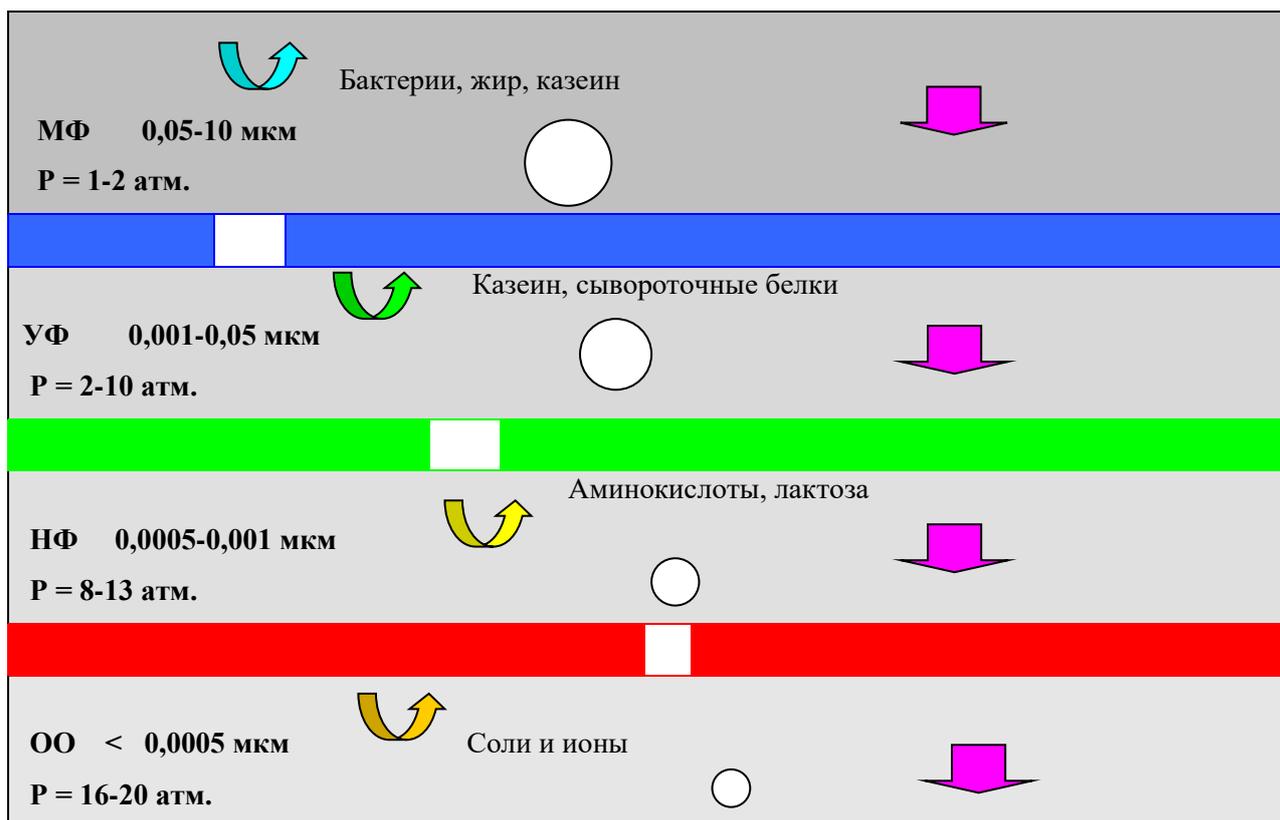


Рисунок 3.3.1.1. – Мембранные процессы и относительный размер частиц молока [297].

Для выделения сывороточных белков молока применяют ионообменную хроматографию [299, 300] и УФ [296, 301], а для изучения их компонентного состава используется метод капиллярного электрофореза [265, 266, 302] широко применяемого в последнее время.

Нами разработан селективный лабораторный метод (ЛМ) выделения LgC из МС молочной фабрики «Саодат» на основе УФ разделение их из концентрата творожной сыворотки [266]. Этим методом можно отделить казеин и альбумины МС от Lg. Стадии: подкисление сыворотки до pH 4,0, центрифугирование, УФ горячей сыворотки на мембране PS/50 (Spectrum Lab., США) или УПМ-П и УАМ-175 (Владипор, Россия).

Для контроля содержания LgC были использованы методы фотокалориметрии (Метод Седмака) [258] и капиллярного электрофореза (КЭ) (3D Agilent HPCE G1600AX, США). Для сравнения выхода и чистоты продукта

проведён сравнительный анализ разработанного метода [265] с известным запатентованным методом выделения LgC [301].

Результаты анализа процесса переработки МС этими методами приведены в таблице 3.3.1.1. Как показано в данной таблице, разработанный нами метод почти полностью задерживает казеины и альбумины и способствует выделению LgC. В то же время при эксплуатации известного метода альбумин и низкомолекулярные фракции казеина переходят в LgC, на что указывает высокий выход концентрата (32-42%) [266].

Таблица 3.3.1.1 – Содержание белков МС, определенное методом колориметрии и капиллярного электрофореза [265, 266-А]

Метод	Количество МС, мл	рН	Концентрация белка по Седмаку, мг/мл	Количество казеина после процесса, мг		LgC после диализа, мг/мл		Масса LgC, мг	Выход белков, %	
				Центрифугирование	УФ	по Седмаку	КЭ		Казеин	LgC
ЛМ	1000	4,6	2,50	930,0	1050,0	15,0	1,512	500	79.20	20.00
ЛМ	1000	4,6	2,60	750,0	1100,0	11,0	2,356	580	71.00	22.30
Сред	1000	4,6	2,55	840,0	1075,0	13,0	1,934	540	75.10	21.15
ЕР Пат	1000	4,6	3,50	-	1800,0*	33,0	3,562	1500	51.40	42.80
ЕР Пат	1000	4,6	4,00	-	2100,0*	27,0	2,053	1300	52.50	32.50
Сред	1000	4,6	3,70	-	1950,0*	30,0	2,807	1400	51.95	37.65

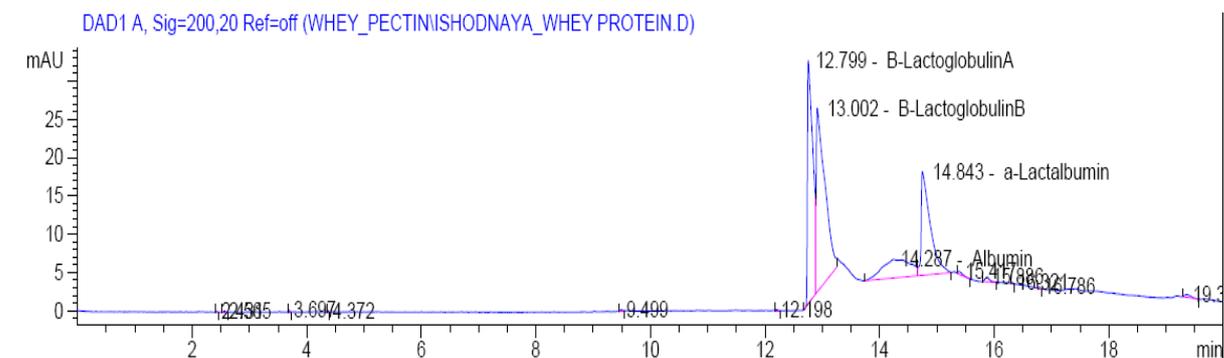
Для оценки применимости разработанного метода был проведён параллельный процесс переработки МС с применением известного метода выделения LgC [301, 266].

Как видно из данных таблицы 3.3.1.1, выбранные нами мембраны селективно отделяют Lg от казеина и других низкомолекулярных компонентов. На первой стадии мембраны PS/50 или УПМ-П отделяют Lg от остатка казеина и альбумина, которые задерживаются в ретентанте. Следующая стадия ДУФ на мембране УАМ-175, пропускающей вещества с ММ меньше 10 кДа, очищает и концентрирует Lg, пропускает лактозу и другие низкомолекулярные вещества в фильтрате.

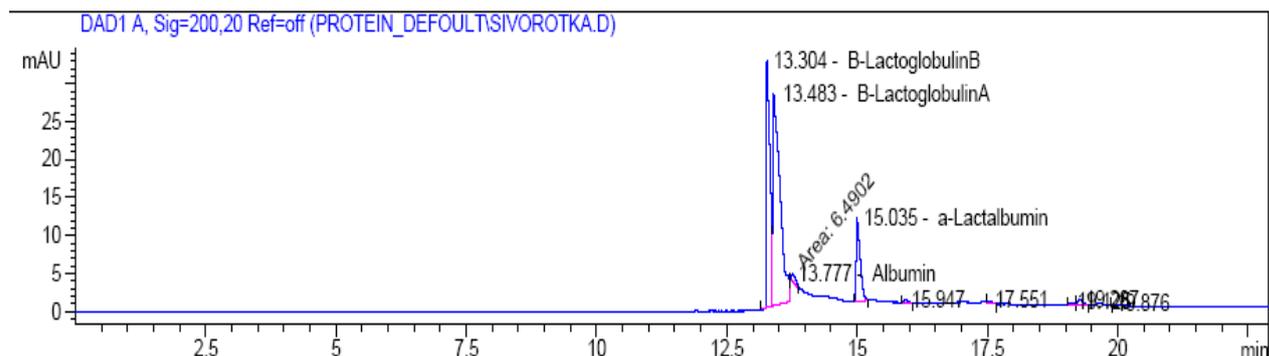
Степень чистоты LgC была анализирована на КЭ (Agilent HPCE G1600AX) при помощи программы конвертации полученных данных Agilent ChemStation Software В.02.01 SR2. Для разделения LgC МС применена кварцевая капиллярная колонка (USIL-WAX) размером 95 см x 50 мкм и эффективной длиной 70.0 см.

Стандартные белки фирмы Sigma (β -LgB, альбумин, α -La, с ММ 18.0 кДа, 66.0 кДа и 14.0 кДа, соответственно) были использованы в качестве контроля. Растворы белков были приготовлены с использованием 5 мМ фосфатного буфера (рН 2.9) с добавлением 1М мочевины. 10 мМ фосфатный буфер с рН 2.9 был использован в качестве ведущего электролита. Все растворы перед введением в капилляр для электрофореза фильтровались через мембранные фильтры диаметром 0.45 мкм [265].

Электрофореграммы стандартного LgC фирмы Sigma и сывороточных белков, выделенного с применением данного метода представлены на рисунке 3.3.1.2 (а и б). Сопоставление представленных рисунков однозначно подтверждает идентичность полученного LgC со стандартом, что говорит о селективности разработанного нами метода [266].



a)



б)

Рисунок 3.3.1.2. – Электрофореграммы стандартных белков фирмы Sigma (а) и сывороточных белков (б). Ввод пробы гидродинамический 50 при мбар в течение 2 секунд, напряжение – 26.5 кВ, температура – 22.0°C, детектирование при 200 нм [266-А].

Количественный состав LgC полученного новым методом представлен в таблице 3.3.1.2. Как видно, концентрация белков по мере очистки в процессе переработки постепенно возрастает и в конце процесса выделяется концентрат с содержанием 99,95% Lg [266].

Нами исследована только пермеатная часть МС для получения LgC, однако в первом ретентанте (концентрате) процесса УФ остаются другие вещества (сывороточный альбумин, лактоферрин, лактопероксидаза и Ig), которые также представляют особый интерес для комплексного применения МС. Например, в работе [303] установлено, что в концентрате присутствуют сывороточный альбумин, лактоферрин, лактопероксидаза и Ig, а в пермеате – α -La и β -Lg.

Получено два белковых образца, один из которых представляет собой смесь Ig, а другой – смесь лактоферрина и пероксидазы.

Таблица 3.3.1.2 – Содержание белков МС, определенное на КЭ в процессе переработки ЛМ [266-А]

Белки МС	Концентрация белка, мг/мл (метод КЭ)			Выход, %
	Пермеат мембраны PS 50 KD	Ретентант мембраны УАМ 175	ДУФ	
β -Lg А	1,85	4,76	20,2	37.35
β -Lg В	1,945	5,61	28,6	52.9
α -La	0,515	1,03	5,24	9.7
Общее содержание белков	4,315	11,40	54,08	99.95

Таким образом, нами разработан метод выделения LgC с использованием сочетания методов центрифугирования и УФ и установлены оптимальные параметры проведения концентрирования лактоглобулинов МС. Показано, что на выход LgC оказывает влияние рН, температура и ММ компонентов МС. Полученные результаты и исследованные образцы молочно-белковых концентратов могут быть использованы в технологии производстве концентрата МС и молочных продуктов в качестве дополнительного компонента для повышения пищевой ценности готового продукта.

3.3.2 Концентрирование сывороточных белков молочной сыворотки низкометилованным пектином

С увеличением объема производства творога, казеина, копреципитатов и других молочно-белковых концентратов молочная промышленность получает всевозрастающее количество МС (до 8%) к массе израсходованного сырья; в

которую переходит до 50% сухих веществ, содержащихся в исходном молоке. Недостаточная степень комплексной промышленной переработки МС приводит к большим потерям ценных питательных веществ, таких как жир, белок и лактоза, что увеличивает расход сырья и снижает эффективность производства в молочной промышленности. Проблема использования МС неразрывна связана с проблемой охраны окружающей среды, поэтому необходимо наметить основные направления промышленной переработки сыворотки, при которых полностью утилизируются ее компоненты.

В литературе имеются сведения о возможности использования пектина в производстве различных молочных продуктов [287, 143, 304-306]. Основным производственно важным свойством пектина является его желирующая способность. Поэтому предложено использовать этот полисахарид в качестве студнеобразователя, стабилизатора, эмульгатора в производстве сметаны, йогурта, мороженого, молочных десертов и др. Кроме того, благодаря способности образовывать довольно прочную пленку пектин используют при получении покрытий для сыра. Целесообразность введения пектина в молочные продукты подтверждается также тем фактом, что это соединение оказывает благотворное влияние на организм человека: выводит ионы тяжелых и радиоактивных металлов, снижает уровень холестерина в крови, связывает желчные кислоты и т. д.

Другим аспектом использования пектина в молочной промышленности является предложенное исследованиями ВНИКИМ разделение обезжиренного молока на две фракции с помощью этого биополимера [307]. В результате обработки пектином обезжиренного молока происходит самопроизвольное разделение на концентрат натурального казеина и безказеиновую часть. Обе фракции предложено использовать в производстве пищевых продуктов для тех или иных целей.

Данный способ базируется на явлении ограниченной термодинамической несовместимости высокомолекулярных биополимеров (основного белка молока-казеина и полисахаридов) в общем водном растворителе. В основе разделения двухфазной системы лежит избирательное распределение при определенных условиях веществ между двумя фазами, причем оба биополимера собираются в различных фазах. Такой процесс концентрирования можно охарактеризовать как безмембранный осмос, в котором функцию мембраны выполняет поверхность раздела фаз (раствор белка – раствор полисахарида). В результате вытеснения белка из той части объема системы, которая занята макромолекулами биополимера, происходит агрегация белка и его концентрирование. При этом раствор белка концентрируется, а раствор полисахарида разбавляется до тех пор, пока не выравняется осмотическое давление в этих растворах.

Было предположено, что аналогичные процессы протекают при добавлении к МС пектина. В данном случае с помощью пектина намечалось выделить наиболее ценные в биологическом отношении сывороточные белки.

С этой целью, нами изучены процессы связывания и осаждения сывороточных белков НМ-пектином яблок. Объектами исследования были МС, получаемая при производстве творога на АОЗТ «Комбинати шири Душанбе», и промышленный яблочный НМ-пектин.

При добавлении к молочной сыворотке водного 0,5%-ного раствора пектина в соотношении от 4:1 до 4:0.05 заметного разделения фаз не произошло в течение 24 час. Вероятно, в данном случае исключается возможность связывания сывороточных белков, выступающих в роли макро - катиона из-за подавления диссоциации карбоксильных групп последнего в кислой среде сыворотки.

В связи с этим нами было изучено влияние кислотности среды на процесс осаждения СБ. Значение рН варьировали от 3.5 до 7.5 и дальнейшие исследования проводились при такой кислотности сыворотки.

Для определения влияния количества вводимого полимера в сыворотку с рН 7.5 добавляли водный 0,5%-ный раствор пектина в соотношении сыворотка: пектин (1:1 – 10:1). На рис. 3.4.5.1 приведены кривые связывания сывороточных белков пектином при различных соотношениях раствора сыворотки и пектина.

Видно, что при соотношении СБ:пектин (3:1) достигается равновесие, т.е. при таком соотношении на один грамм пектина приходится более чем 15 г. белка. Однако, дальнейшее увеличение соотношения СБ: пектин приводит к нарушению равновесия, т.е. происходит кооперативное самоосаждение белка при изменении фазового равновесия системы.

Выделенные компоненты сыворотки с предварительным положительным результатом были испытаны при лабораторной выработке вареных колбас. При этом улучшилась консистенция, вкусовые качества продукта. Белковый концентрат при сохранении свойств исходных соединений может быть использован в производстве пищевых продуктов для обогащения белком, а также в качестве стабилизатора.

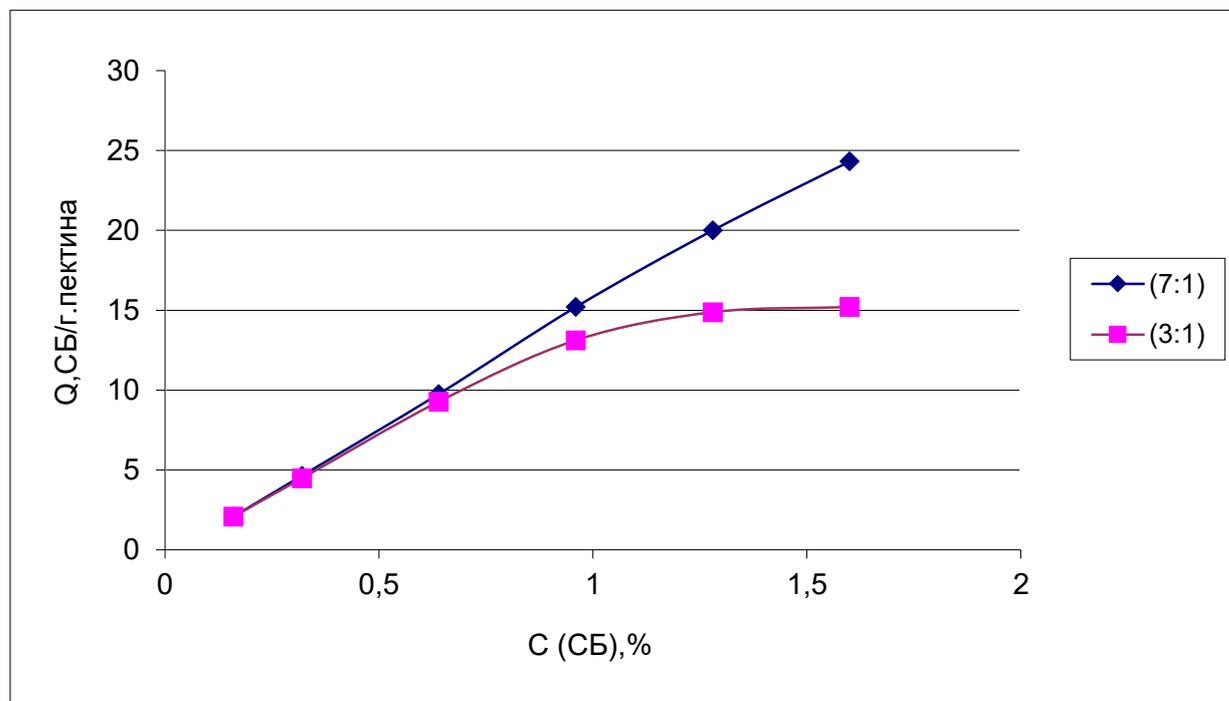


Рисунок 3.4.5.1. Зависимость между концентрацией СБ в исходном растворе и количеством связанного СБ на грамм пектина.

Обобщая вышеуказанный материал, можно сказать, что в настоящее время при производстве пищевых продуктов большое внимание уделяется новым видам пищевых белков.

Проведенные исследования процессов связывания и осаждения сывороточных белков яблочным НМ-пектином показывают перспективность использования пектина и МС в качестве ценных биологических добавок, обладающих защитными и профилактическими свойствами. Разработан высокоэффективный способ концентрирования сывороточных белков МС с использованием НМ-пектина. При этом на базе создания безотходной технологии достигается комплексная переработка отходов молока и фруктово-овощной продукции, что экологически и экономически наиболее целесообразно.

Таким образом, на основе данного испытания рекомендуется использовать НМ-пектин вместо импортных стабилизаторов при производстве кисломолочных продуктов.

3.3.3 Характеристика зеина и его применение

3.3.3.1 Методы выделения зеина из кукурузной муки

Для выделения зеина из кукурузной муки методом последовательной экстракции с начала водой и 0.1 М NaCl экстрагируют легкорастворимые белки – альбумины и глобулины, затем спирторастворимые зеины 75% этанолом и глютелины 0.05 Н раствором щёлочи [118].

Электрофорез зеина был проведён в «...вертикальном 7.5 % ПААГ (рН 3.1), содержащем 5%-ную уксусную кислоту и 6 М мочевины при напряжении 200 В в течение 1 часа, и при 580 В в течение 4.5 часов. Перед разделением образцы белка растворяли в буфере, содержащем 6 М мочевины с 6% акриламидом. После завершения электрофореза гели окрашивали в коллоидном растворе Кумасси G-250, затем для обесцвечивания фона отмывали водой и высушивали между слоями целлофана...» [268].

Также для разделения зеина был использован общепринятый метод – электрофорез в ПААГ в присутствии додецилсульфата натрия (SDS-Na). Электрофорез проведен с использованием 14% разделяющего и 4% концентрирующего гелей. В качестве электродного буферного раствора приготовили 0.025М Трис-глициновый раствор с рН 8.3. Буфер для растворения образцов содержал 0.44 М Трис-ОН, 0.1% мМ ЭДТА, 10% SDS-Na и 20% β-меркаптоэтанол. Электрофорез проводили при постоянном напряжении 120 В в течение 16-20 часов.

3.3.3.2 Определение молекулярного состава зеина кукурузы

Исследование молекулярного состава этих уникальных по структуре белков может значительно расширить спектр их применения. В тоже время, в литературе данные по ММР фракции зеинов отсутствуют. В связи с чем, исследование и оценка полидисперсности макромолекул зеина с помощью турбидиметрического титрования с целью дальнейшего изучения и определения механизма их гелеобразования представляет особый интерес [118, 269].

В работе использовалась фракция зеина, выделенная из кукурузной муки в 75% этаноле. Был приготовлен 0.01% раствор, в качестве осадителя использовался 0.1М раствор NaCl. Растворитель и осадитель предварительно пропускались через пористую мембрану [268].

Турбидиметрическое титрование было проведено на лабораторном турбидиметре 2100 AN IS (HACH, USA) при комнатной температуре. В начале проведено предварительное грубое титрование: 30 мл раствора зеина в 75% этаноле помещают на магнитную мешалку Variomag и при перемешивании титруют раствором 0.1М NaCl до появления еле заметного помутнения. Объем осадителя, израсходованного на грубое титрование, замеряют [269].

Далее было проведено точное титрование. Для этого в стаканчик наливают исходный раствор зеина, соответствующий приблизительно объему измерительной ячейки, ставят на магнитную мешалку и при непрерывном

перемешивании добавляют определенное количество осадителя – 0.1М раствора NaCl. После каждой порции осадителя содержимое стаканчика переливают в стандартный герметичный сосуд, который помещен в измерительную ячейку турбидиметра и определяют мутность в нефелометрических единицах (NTU). Отсчеты производят при добавлении осадителя до тех пор, пока мутность раствора не перестанет изменяться. Обработка полученных данных проводилась по методике [118]. Данные приведены в таблице 3.3.3.2.1. По данным турбидиметрического титрования были построены интегральные и дифференциальные кривые титрования раствора зеина кукурузы (рисунок 3.3.3.1) [269].

Таблица 3.3.3.2.1 – Результаты турбидиметрического титрования раствора зеина кукурузы* [269-А]

№	V, мл	$\gamma=V/V_0+V$	$\Delta\gamma$	$1-\gamma$	T, NTU	$T_1=T_0$	$T_2 = \frac{T_1}{1-\gamma}$
1	2	3	4	5	6	7	8
1	3	0.078		0.922	1.93	0.38	0.412
2	4	0.102	0.024	0.898	2.53	0.98	1.091
3	5	0.124	0.022	0.876	3.47	1.92	2.192
4	6	0.146	0.021	0.854	4.47	2.92	3.417
5	7	0.166	0.02	0.834	5.38	3.83	4.591
6	8	0.185	0.019	0.815	6.14	4.59	5.632
7	9	0.203	0.018	0.797	6.76	5.21	6.541
8	10	0.221	0.018	0.779	7.57	6.02	7.729
9	11	0.238	0.017	0.762	7.57	6.02	7.9
10	12	0.254	0.016	0.746	8.29	6.74	9.036

Продолжение таблицы 3.3.3.2.1

1	2	3	4	5	6	7	8
11	13	0.27	0.015	0.73	9.03	7.48	10.24
12	14	0.284	0.015	0.716	9.75	8.2	11.458
13	15	0.299	0.014	0.701	10.5	8.95	12.76
14	16	0.315	0.016	0.685	11.4	9.85	14.379
15	17	0.325	0.01	0.675	12	10.45	15.492
16	18	0.338	0.013	0.662	12.3	10.75	16.242
17	19	0.35	0.012	0.65	12.2	10.65	16.393
18	20	0.362	0.012	0.638	12.4	10.85	17.009
19	21	0.373	0.011	0.627	12.7	11.15	17.796
20	22	0.384	0.011	0.616	13.1	11.55	18.762
21	23	0.395	0.011	0.605	13.7	12.15	20.082
22	24	0.405	0.01	0.595	13.6	12.05	20.258
23	25	0.415	0.01	0.585	13.9	12.35	21.113
24	26	0.425	0.01	0.575	14	12.45	21.637
25	27	0.434	0.009	0.566	13.9	12.35	21.814
26	28	0.443	0.009	0.557	14	0	23.467

* В таблице 3.3.3.2.1: V – объем добавленного осадителя; T – мутность раствора полимера; T₀ – мутность прозрачного раствора полимера, равная 1.55 NTU; V₀ – начальный объем раствора полимера, равный 35.23 мл; γ – объемная доля осадителя; T₁ – мутность, обусловленная выделенным полимером; T₂ – мутность с поправкой на разбавление раствора.

Как видно из рисунка 3.3.3.2.1, кривая зависимости мутности раствора зеина кукурузы от объемной доли осадителя (интегральная кривая турбидиметрического титрования) имеет пологую форму, что указывает на широкое ММР макромолекул зеина.

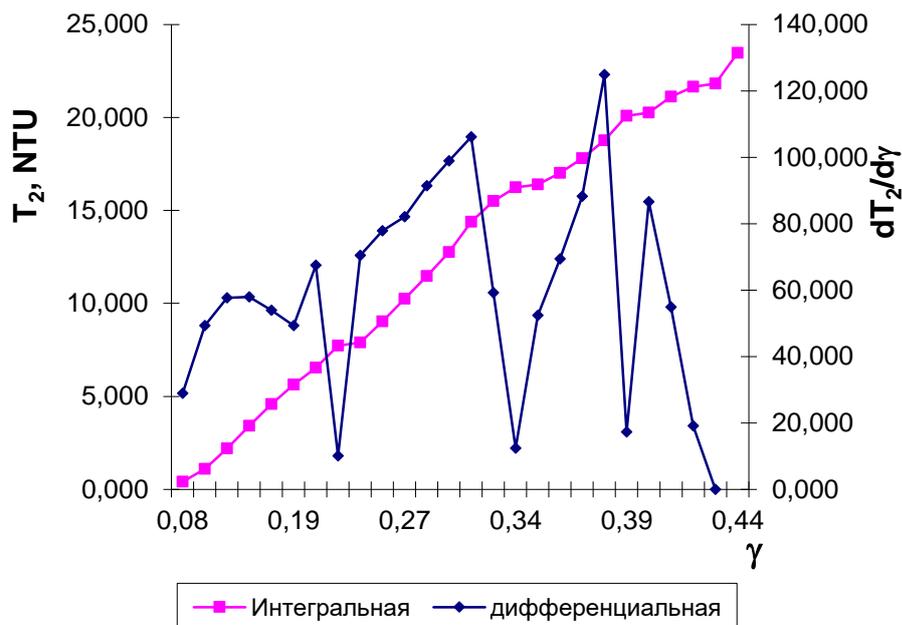


Рисунок 3.3.3.2.1. – Кривые интегрального и дифференциального турбидиметрического титрования раствора зеина кукурузы [269-А].

Дифференциальная кривая турбидиметрического титрования показывает, что зеин имеет пять макромолекулярных фракций с узкими ММР. Профиль и распределение этих фракций подтверждают литературные данные о том, что эти фракции представлены полипептидами α -зеина с ММ 24 и 26 кДа, γ -зеина 22 кДа, β -зеина 17 кДа и δ -зеина 12 кДа, соответственно [269].

Таким образом, в данном случае метод турбидиметрического титрования может заменить такие дорогостоящие методы анализа ММР белков, как гель-хроматография, ультрацентрифугирование и светорассеяние [269].

Из приведенных литературных данных о применении зеина следует, что он как биополимер за счет гидрофобности обладает большой агрегирующей способностью образовать гидрофобные покрытия, которые могут быть использованы при создании носителей лекарственных веществ и систем доставки нутрицевтиков. Кроме того, данное исследование полидисперсности макромолекул зеина, выделенного из кукурузной муки местного производства, представляет большой интерес для дальнейшего изучения и определения

механизмов гелеобразования и применения в медицине и пищевой промышленности [269].

3.4 Гелеобразующие свойства пектинов

Для объяснения механизма гелеобразования в литературе широко используется модель «яичной коробки» [124]. В соответствии с этой моделью гелеобразование полисахаридов ускоряется с возрастанием количества и регулярности карбоксильных групп в цепях полисахаридов.

Методами кондуктометрии, потенциометрии и вискозиметрии исследовано влияние структуры пектина, СЭ и типа этерификации на гелеобразование с поливалентными противоионами. Для этого использовались хорошо очищенные образцы яблочного и подсолнечного НМ-пектинов [141].

Основные характеристики образцов пектинов приведены в таблице 3.4.1.

Таблица 3.4.1 – Основные характеристики НМ-пектинов из яблок и КП [141-А]

Образцы	СЭ, %	ГК, %	[η], дл/г	S ^a , Св	ξ ^b
НМ-ЯПШ ^c	47.3	70.1	1.14	1.96	0.848
НМ-КП ^d	52.0	81.0	2.2	-	0.773

^aКоэффициент седиментации; ^bСтруктурный параметр заряда; ^cЯблочный пектин Шахринавского района; ^dПектин из КП.

Как видно из таблицы 3.4.1, пектин из КП в сравнении с яблочным отличается высоким содержанием звеньев ГК, а также повышенным значением СЭ и ММ. В данной таблице также приведен введенный впервые Лифсоном и Качальским [308] параметр заряда, который был определен при 25°С без учета небольшого содержания рамнозы в макромолекуле пектина, по уравнению:

$$\xi = \epsilon^2/bDkT(1-CЭ/100) = 1,61(1-CЭ/100), \quad (3.4.1)$$

где ϵ – заряд электрона; kT – постоянная Больцмана; b – длина мономерного звена и D – диэлектрическая константа растворителя. Значения b для пектина равно 4,35 А. Этот параметр для двух видов пектина имеет близкие значения [308].

Взаимодействие противоионов и НМ-пектина было изучено методом кондуктометрии. Проводимость растворов, содержащих как полиэлектролиты, так и обычные электролиты, можно рассматривать, как сумму вкладов, вносимых малыми ионами и полиионами. Согласно ограниченного закона [308], описывающего проводимость чистого раствора полиэлектролита, эквивалентную электропроводность соли в растворе (Λ) можно представить в виде:

$$\Lambda = f (\lambda_c + \lambda_p), \quad (3.4.2)$$

где λ_c – эквивалентная проводимость противоиона в чистом растворителе; λ_p – эквивалентная проводимость мономерного звена полимера; f – параметр переноса, величина которого не зависит от природы противоиона.

Согласно (3.4.2), измеряя проводимость двух растворов полиэлектролитов с соответствующими противоионами и, определяя величину λ_c из данных измерения электропроводности растворов с низкомолекулярным электролитом, содержащим эти же противоионы, можно оценить величины f и λ_p из двух уравнений с двумя неизвестными [308].

На рисунках 3.4.1 и 3.4.2 приведены кривые кондуктометрического титрования пектиновых кислот (НМ-яблочного и подсолнечного пектинов), основаниями КОН и $\text{Ca}(\text{OH})_2$.

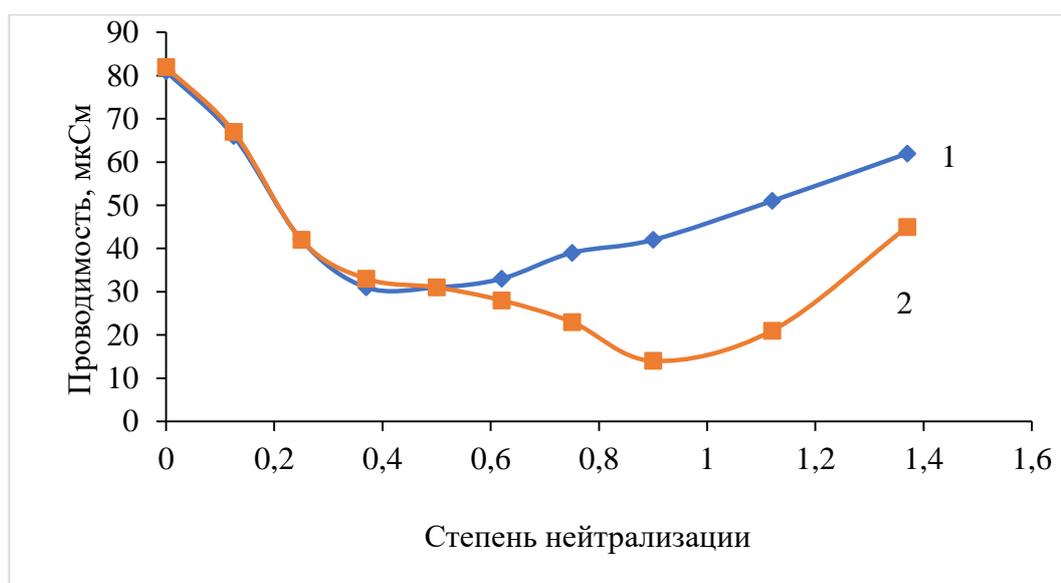


Рисунок 3.4.1. – Кондуктометрическое титрование яблочной пектиновой кислоты гидроксидами калия (1) и кальция (2) [146-А].

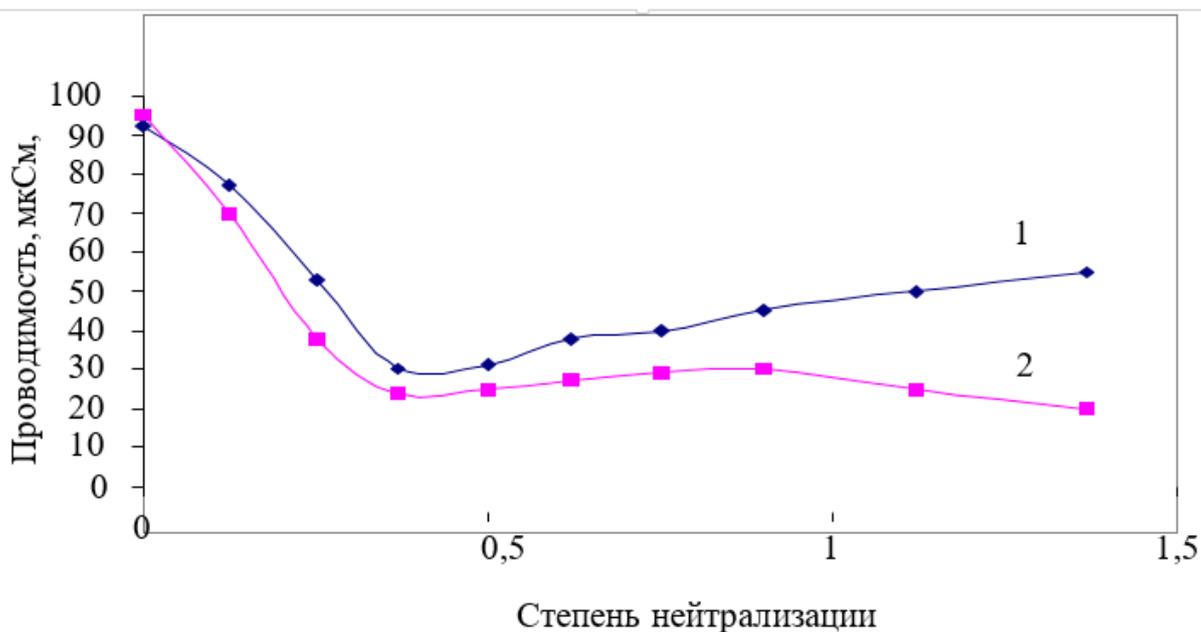


Рисунок 3.4.2. – Кондуктометрическое титрование подсолнечной пектиновой кислоты гидроксидами калия (1) и кальция (2) [146-А].

Как видно, полученные кривые характерны для полиэлектролитов [309]. Все эксперименты проводились в разбавленном ($C_p < 10^{-3}$ экв/л) и в отсутствии низкомолекулярного электролита. Значения величин λ_p и f представлены в таблице 3.4.2.

Таблица 3.4.2 – Параметры электрической проводимости для пектинов и их мономерного звена методом кондуктометрии и по теории Маннинга [146-А, 310]

Образец НМ- пектина	Экспериментальные данные			Теоретические данные	
	λ_p	f_K^+	f_{Ca^+}	f_K^+	f_{Ca^+}
НМ-ЯПШ	45,4	0,695	0,296	0,867	0,443
НМ-КП	40,2	0,709	0,370	0,897	0,520
GalA	29,2	0,968	0,911	1	1

Из данных, представленных в таблице 3.4.2, также следует, что экспериментальные величины f меньше, чем рассчитанные теоретические, хотя это

различие незначительно. В то же время, различие между значениями параметра для двух видов исследованных пектинов незначительно. Данные таблицы 3.4.2 показывают, что значение электрической проводимости мономерного звена полимера (λ_p) яблочной пектовой кислоты больше, чем у подсолнечного пектина, и что это связано со СЭ, причем λ_p увеличивается по мере уменьшения СЭ [309].

Значения транспортного параметра сравнивали со значением, полученным по теории Маннинга [310]:

$$f_z = 1 - \frac{(0,55 (|Z| \xi)^2)}{(|Z| \xi + 3,14)}, \quad |Z| \xi \leq 1 \quad (3.4.3)$$

$$f_z = 0,87 (|Z| \xi)^{-1}, \quad |Z| \xi > 1, \quad (3.4.4)$$

где Z – заряд противоиона [310].

Величина f для пектина с блочным распределением карбоксильных групп, каковым в данном случае является подсолнечный пектин, должна была бы характеризоваться низким значением параметра f , по сравнению с яблочным пектином [194] 309. Низкие значения транспортного параметра f для ионов кальция подтверждают представленную авторами гипотезу димеризации пектиновых макромолекул [151].

Для подтверждения этой гипотезы измеряли приведенную вязкость образцов пектиновых веществ при их нейтрализации гидроксидами калия и кальция (рисунки 3.4.3).

Как видно, нейтрализация этих пектинов раствором КОН приводит к постепенному увеличению характеристической вязкости раствора, в то время при использовании $\text{Ca}(\text{OH})_2$ наблюдалось снижение данного параметра.

Первое, скорее всего, обусловлено электростатическим отталкиванием одноименно заряженных ионов макромолекул, количество которых, естественно, увеличивается при диссоциации карбоксильных групп пектина и приводит к набуханию полимерного клубка. Во втором случае, при

нейтрализации пектинового полииона гидроокисью кальция, ионы металла вступают во взаимодействие с карбоксильными группами пектиновых макромолекул, в результате чего происходит компактизация полимерной цепи.

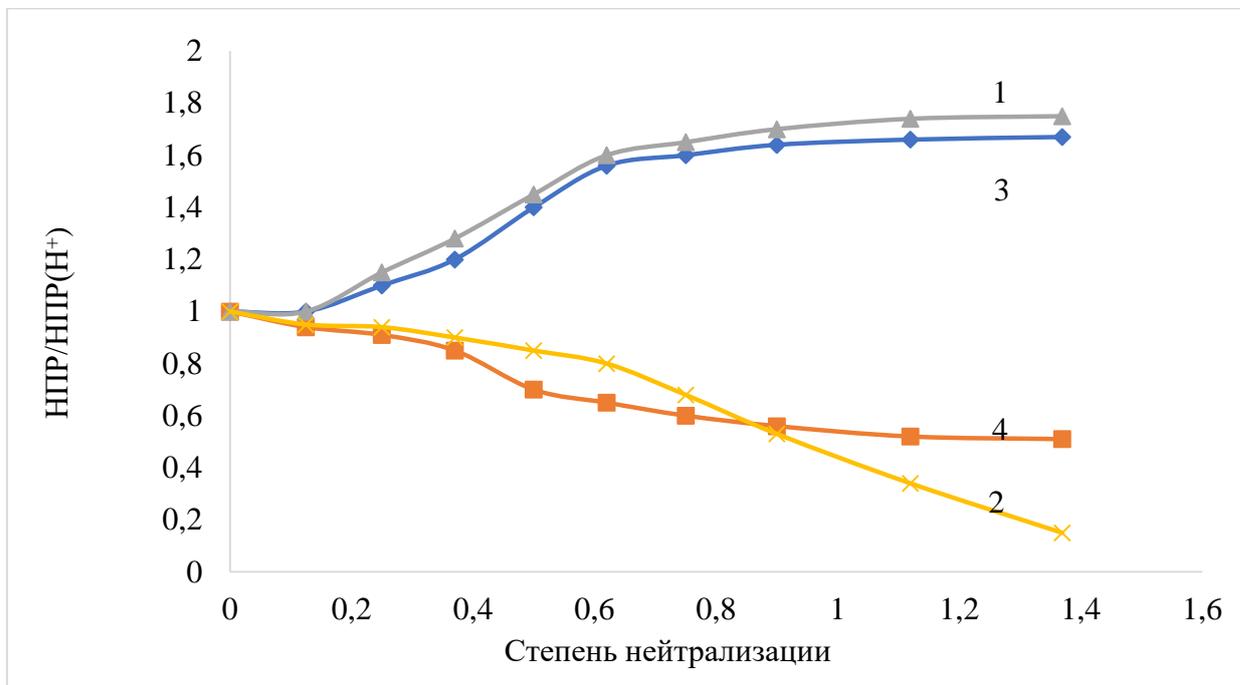


Рисунок 3.4.3. – Изменение характеристической вязкости растворов НМ-пектинов КП (1,2) и яблок (3,4) при нейтрализации гидроокисями калия (1,3) и кальция (2,4) [141-А].

Таким образом, наблюдаемые различие в значениях параметров электропроводимости и вязкости растворов пектина в зависимости от природы противоионов обусловлены в основном способностью полимерных цепей взаимодействовать с поливалентными ионами и вызывать набухание полиэлектролита в присутствии моновалентных противоионов [141].

Тибольт и Ринаудо [309], изучив процессы гелеобразования пектовой кислоты в разбавленных растворах, вывели эмпирическую формулу, связывающую молекулярную массу полимерных агрегатов с количеством ионов кальция в растворе:

$$N = \frac{M_{каж}}{M_o} (q_k - q)^{-\gamma}, \quad (3.4.5)$$

где $q = \frac{\mathcal{E}_{\text{солн}}}{\mathcal{E}_{\text{полн}}}$; q_k – критическое значение параметра q , при достижении

которого происходит фазовое разделение системы; γ – эмпирический коэффициент; $M_{\text{каж}}$ – кажущаяся ММ полисахарида, или их агрегатов; M_0 – средняя ММ полисахарида; N – число цепей полисахарида в агрегате [309].

«...Аналогичным образом величину N можно связать с отношением приведенной вязкости раствора в присутствии ($[\eta]_{\text{пр}}$) и отсутствии ($[\eta]_{\text{пр}}^0$) ионов металла:

$$[\eta]_{\text{пр}} / [\eta]_{\text{пр}}^0 \sim N^a \sim (q_k - q)^{-k} \quad (3.4.6)$$

где, a – показатель уравнения Марка-Куна-Хаувинка; K – эмпирический коэффициент...» [38].

В работе [152] найдена корреляция между кажущимися значениями молекулярной массы и приведенной вязкости с количеством добавленных в раствор солей поливалентных металлов, кальция, магния и стронция. Показано, что с возрастанием гелеобразующей способности полимера величины q и K симбатно уменьшаются.

Задача данного раздела работы заключалась в изучении гидродинамических свойств растворов НМ-пектина в присутствии солей поливалентных металлов и в получении информации о внутри- и межмолекулярных эффектах, приводящих к гелеобразованию. Эти свойства полисахаридов обусловлены наличием в их макромолекулах ионогенных групп, которые способны образовывать соответствующие связи с ионами поливалентных металлов [141].

Полученные данные свидетельствуют о том, что под действием ионов меди и алюминия происходят внутримолекулярные структурные изменения, связанные с экранированием заряда полимера и (или) образованием

внутримолекулярных связей с участием ионов металлов, приводящие к компактной конформации макромолекулярного клубка.

При добавлении хлорида кальция в раствор НМ-пектина происходит изменение отношения $\eta_{\text{пр}}/\eta_{\text{пр}}^{\circ}$ в зависимости от концентрации CaCl_2 , в противоположность действию хлорида меди и алюминия. На рисунке 3.4.4 приводится зависимость величины $\eta_{\text{пр}}/\eta_{\text{пр}}^{\circ}$ от концентрации хлорида кальция при различных концентрациях полимера в растворе [141].

Видно, что с изменением концентрации полимера график смещён по фазе. С увеличением концентрации CaCl_2 отношение $\eta_{\text{пр}}/\eta_{\text{пр}}^{\circ}$ проходит через один минимум и, далее, наблюдается значительное возрастание его величины.

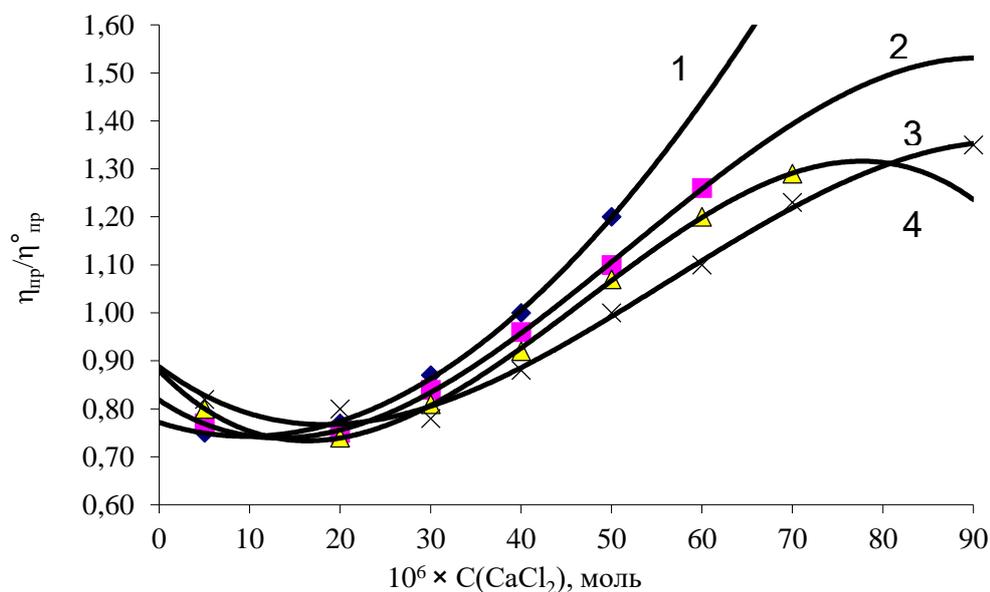


Рисунок 3.4.4. – Изменение отношение $\eta_{\text{пр}}/\eta_{\text{пр}}^{\circ}$ от концентрации хлорида кальция при различных концентрациях НМ-пектина в растворе: $C(\text{нмп})$, г/дл равной 0,1 (1); 0,08 (2); 0,06 (3); 0,04 (4) [141-А].

Полученные результаты находят своё объяснение, если принять следующую последовательность процесса связывания ионов кальция НМ-пектином. В отличие от действия хлорида меди и алюминия, связывание ионов кальция НМ-пектином происходит в следующем порядке. Как и в случае с ионами меди и алюминия, при низких концентрациях ионов кальция могут происходить преимущественно внутримакромолекулярные конформационные изменения и, как следствие,

компактная конформация полимерного клубка. При достижении концентрации ионов кальция определенного значения происходит образование пектиновых микрогелей за счет димеризации полимера и перераспределения внутримолекулярных связей на межмолекулярные. Далее увеличение концентрации CaCl_2 приводит к образованию димеров и агрегатов полимера, в результате чего образуется сильно набухший гидрогель. Однозначно, что этот процесс ускоряется при дальнейшем увеличении концентрации полимера в растворе [141].

Представленные результаты позволяют сделать вывод о том, что даже в разбавленном растворе при взаимодействии пектиновых полимеров с ионами кальция происходит ряд конформационных изменений – от обычного экранирования заряда до образования агрегатов, напоминающих по структуре «яичную коробку». Димеризация цепей и агрегация макромолекул, по-видимому, происходят совместно. Это подтверждается резким увеличением гидродинамических свойств разбавленных растворов пектиновых веществ.

Исходя из этого, на основании экспериментальных данных и их использования в уравнениях 3.4.5 и 3.4.5 были рассчитаны значения параметров q_k и «К», зависимость которых от концентрации НМ-пектина представлена на рисунке 3.4.5.

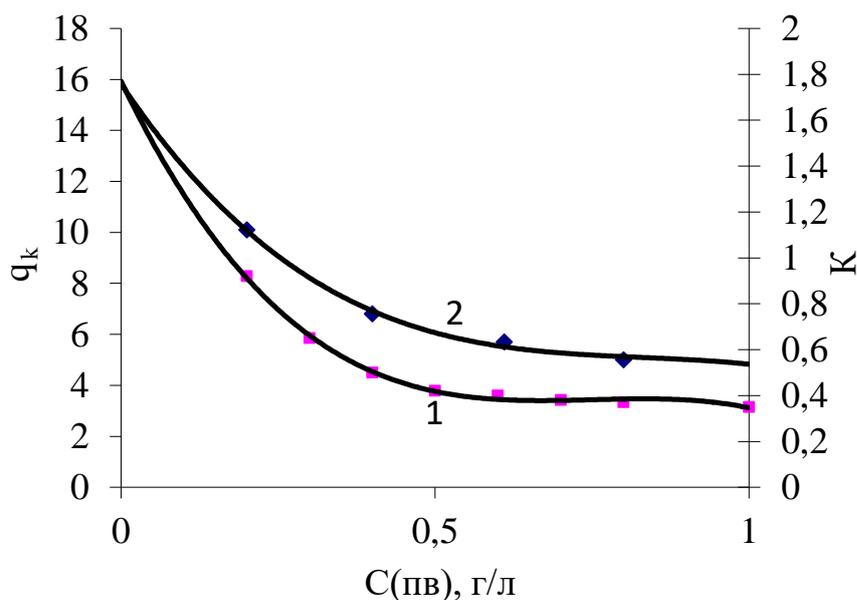


Рисунок 3.4.5. – Зависимость q_k (1) и величины К (2) от концентрации НМ-пектина [141-А]

Как видно, обе величины с ростом концентрации полимера уменьшаются и стремятся к предельному значению $K=0,34$ и $q_k=4,3$ при коэффициентах корреляции, равных $R^2=0,9964$ и $R^2=0,9972$, соответственно. Значения величины «К» и ее предельная величина свидетельствуют о высокой способности карбоксильных групп НМ-пектина к связыванию ионов кальция. Однако предельная величина q_k остаётся достаточно высокой, что является, по-видимому, следствием нерегулярного чередования карбоксильных и эфирных групп в макромолекуле исследуемого образца яблочного пектина [141].

Механизмы гелеобразования авторы этой работы объясняют возможностью образования межмолекулярной связи под действием ионов кальция, а роль внутримолекулярных взаимодействий практически не принимают во внимание. Поскольку все измерения свойств растворов проводятся при низких концентрациях полимера, представляет интерес более подробное изучение процесса взаимодействия НМ-пектина с ионами металла в самом начале процесса, что даёт возможность выяснить механизм гелеобразования. Это аналогия модели «яичных коробок» созданной для гелей НМ-пектинов и алгинатов на основе кооперативного связывания ионов кальция с НГ [153-155, 311-313].

Таким образом, НМ-пектины в присутствии ионов металлов образуют различные внутримолекулярные и межмолекулярные связи, компактные и разветвленные структуры, а ионы кальция отличаются наиболее активны в образовании различных типов межмолекулярных агрегатов, в том числе трехмерные сетки.

3.4.1 Желеобразование низкометилированных пектинов с ионами кальция в концентрированных растворах

НМ-пектины образуют гели независимо от содержания сахара и кислотности среды. Для образования геля необходимо присутствие катионов двухвалентных металлов, таких как кальций и магний. Двухвалентные металлы

участвуют в реакции связывания молекулы НМ-пектина, что приводит к образованию пространственной гелевой структуры. Концентрация ионов металлов, необходимая для образования геля, зависит от содержания сухого вещества, используемых сахаров, значения рН продукта, а также от типа и количества буферной соли в продукте [314].

Для приготовления желе нами был использован НМ-пектин, полученный из КП и очищенный от ионов кальция. Наиболее существенное влияние на свойства полученного желе оказывают температура оседания желе, концентрация пектина, продолжительность варки, кислотность среды и содержание ионов кальция.

При оценке качества ВМ-пектинов следует учесть, что приготовленные на их основе желе являются гораздо более твердыми, чем те, которые следует готовить для практического применения. Структурные особенности десертных желе таковы, что они требуют гораздо более обширной информации, если оценка качества этих желе осуществляется в практических условиях. Поэтому анализ следует проводить на относительно слабых желе при пониженной температуре. Такие желе довольно трудно отделить от стандартных стаканчиков риджелметра и, кроме того, они не восстанавливают свою форму после выпуска из форм. В связи с этим стандартные стаканчики для желе должны быть заменены более подходящими ёмкостями.

В работе [152] желе варили до достижения желаемого веса и выливали в цилиндры на основе оргстекла (высотой 50 мм и внутренним диаметром 44 мм), имеющие защитные ленточные кольца, которые обвивались вокруг одного конца каждого цилиндра и поднимались вверх, превышая верхнюю кромку цилиндров на 6,35 мм. Другой конец каждого цилиндра прикрепляли к пластиковому обёрточному листу, слегка обработанному силиконовой смазкой во избежание протекания. После выливания желе заворачивали в пластиковые обёрточные листы и выдерживали при 5-7°C в течение 20-22 часов. Сразу же после этого обёрточный

материал и ленты удаляли, а излишки желе срезали проволочным резакром (таким, который применяется для резки сыра), при этом высота желе оставалась стандартной. Затем снимали нижнюю обёрточную прокладку и желе выливали в чашку Петри, для отделения желе от стенок стаканчика использовали небольшой шпатель. Через минуту после выливания желе в чашку Петри приступали к измерению оседания желе обменным риджелиметром фирмы «Имсчендж» (Онтарио, Калифорния).

Поскольку упомянутые выше цилиндры были значительно короче стандартных стаканчиков для желе, входящих в комплект риджелиметра, в данном эксперименте были использованы чашки Петри высотой 25 мм. Показания, снимаемые по шкале риджелиметра, пересчитывали на величину фактического оседания желе, пользуясь для этого калибровочным графиком, представленным на рисунке 3.4.1.1.

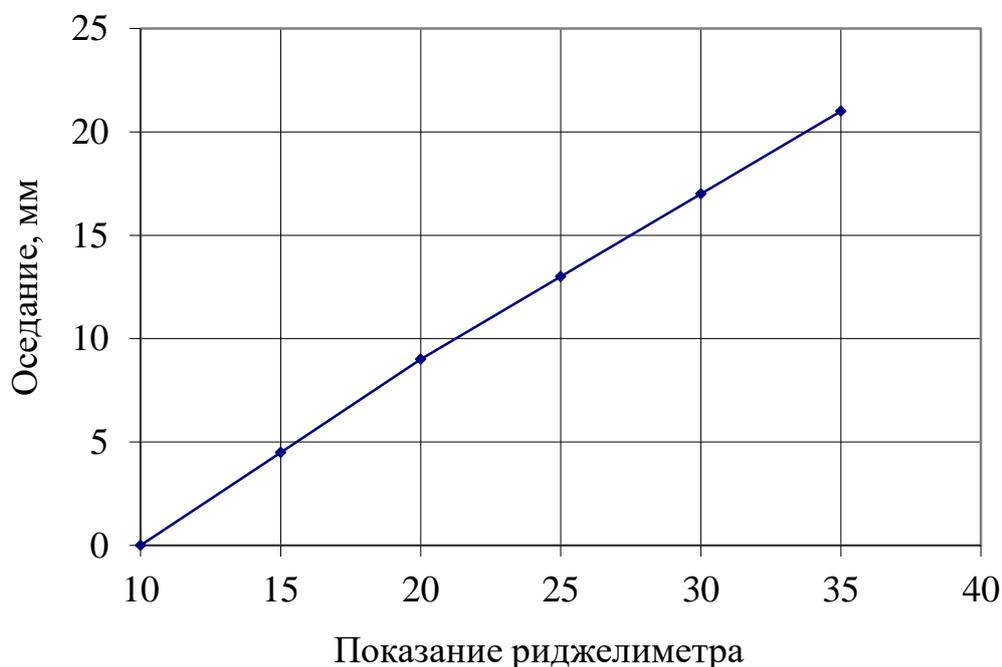


Рисунок 3.4.1.1. – Калибровочный график зависимости показания риджелиметра от фактической величины оседания желе [141-А].

Показания риджелиметра снимались одновременно на двух образцах желе, отбираемых из одной и той же партии, при этом, если расхождение между

показаниями превышало 0,3 мм, то данный образец желе браковался. Сразу же после измерения оседания, желе разрезали крест-накрест на кусочки толщиной 10 мм, оставшийся нижний кусочек в учет не принимался. Для измерения усилий на разрушение 4 кусочков желе применялся анализатор желе фирмы «Marin Clouds» (Спрингфилд, штат Нью-Джерси) с вмонтированным плунжером диаметром 10,9 мм. Любые показания, отличающиеся более, чем на 10 г последующего значения, браковались, а среднее разрушающее усилие в этом случае рассчитывали отдельно для каждой повторности.

В качестве моделей использовали образцы выпускаемой промышленностью смеси десертного лимона на желатине, приготовленной в соответствии с действующей по их использованию инструкцией. Такие желе характеризовались средним оседанием, в порядке 12,5 мм, и средним разрушающим усилием 95 г при 11°C. Для приготовления желе нами был использован НМ-пектин, полученный из КП и очищенный от ионов кальция. Однако используемая в эксперименте измерительная аппаратура показала, что оседание в 12,5 мм и 95-граммовое разрушающее усилие наблюдались соответственно на верхнем и нижнем пределах измерений. По этой причине в данном эксперименте за стандартный образец было принято несколько более твердое желе, обладающее оседанием 10,5 мм и разрушающим усилием 126 г при 11°C. Несмотря на свою несколько повышенную твердость, такое желе по вкусовым ощущениям очень напоминало стандартный десертный желатин. Процесс приготовления такого желе заключался в следующем: к 350 мл воды добавляли 40 г сахарозы, 5 мл раствора, содержащего 1,95 г гидрата лимонной кислоты. Смесь помещали в 3-х литровую кастрюлю и варили на плите. 4 г НМ-пектина, предварительно смешанные с 35 г сахарозы, добавляли в смесь и перемешивали в течение 2-3 минут. По истечении указанного времени в смесь при интенсивном перемешивании добавляли 20 мл раствора хлористого кальция, соответствующего соотношению 30 мг Са на 1 г НМ-пектин, после чего смесь продолжали кипятить до тех пор, пока её вес не достиг 364 г. Общее время варки

по возможности поддерживалось в пределах 6 минут. Полученный стандартный гель (желе) обладал кислотностью рН 3.8 [141].

3.4.2 Определение факторов, влияющих на реологические свойства желе

С целью изучения реологических свойств желе, приготовленное на основе НМ-пектина, была использована с необходимыми видоизменениями стандартная методика для определения влияния температуры, концентрации пектина, продолжительности варки и содержания кальция на прочности желе [314].

Влияние температуры на прочность желе [315]. Выдерживание стандартного желе при комнатной температуре проводили в течение различных периодов времени. Отбор для анализа образцов производили после закладки желе на хранение перед проведением замеров на оседание и разрушающее усилие. Измеряли температуру образцов желе сразу же после каждой серии путём введения термометра в центр образца желе.

При приготовлении желе на основе НМ-пектина по мере увеличения температуры ее консистенция размягчается. Это наглядно иллюстрируется данными, представленными на рисунке 3.4.2.1.

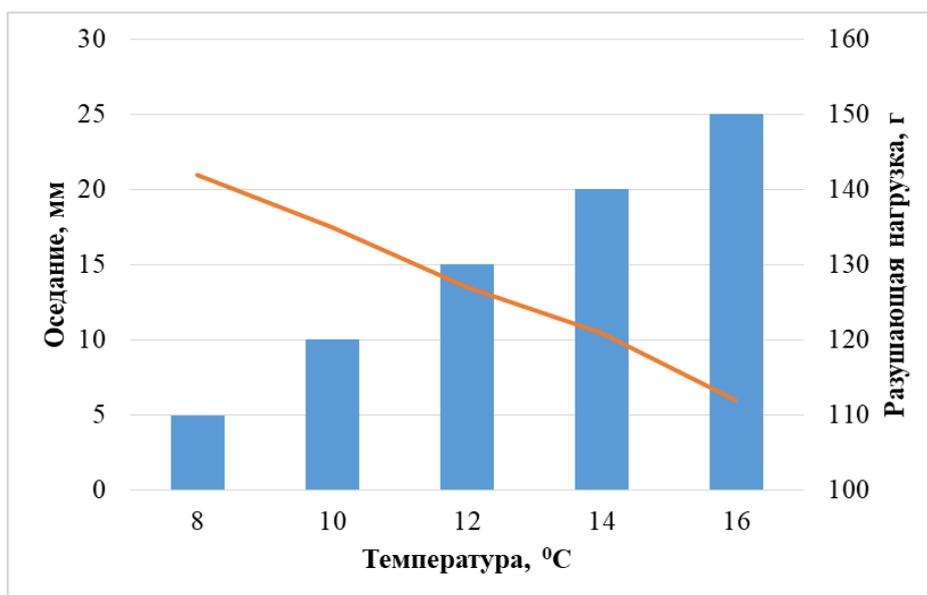


Рисунок 3.4.2.1. – Влияние температуры (8-16°C) на оседание и разрушающее усилие пектинового геля: оседание – колонки; разрушающее усилие – линия [315-А].

Должным образом графические зависимости, приведенные на данном рисунке, можно описывать с помощью нижеследующих линейных уравнений:

$$y = 0,2x + 9,8 \text{ – для зависимости оседание от температуры;}$$

$$y = -7,4x + 149,6 \text{ – для зависимости разрушающего усилия от температуры.}$$

Из рисунка 3.4.2.1. видно, что снижение температуры от 16 С до 8°С приводит к оседанию желе на высоту 20 мм (20%), в то же время усиливается прочность геля на 22% (увеличение показателя разрушающего усилия от 112 г до 142 г). Расчет линейного коэффициента корреляции линейных уравнений показал, что при каждом увеличении или понижении температуры на 2°С от сингулярной точки 14°С в диапазоне температур от 8 до 16°С отклонение оседания составляет ± 0.25 .

Анализ данных, полученных при замерах разрушающих усилий показал, что в диапазоне температур от 8 до 16°С для любого отклонения на 2°С как в сторону увеличения, так и в сторону снижения температуры от сингулярной точки, корреляционная поправка составляет ± 3.3 .

Влияние концентрации пектина на прочность желе [315]. На рисунке 3.4.2.2 представлены графические зависимости, полученные при исследовании стандартных желе.

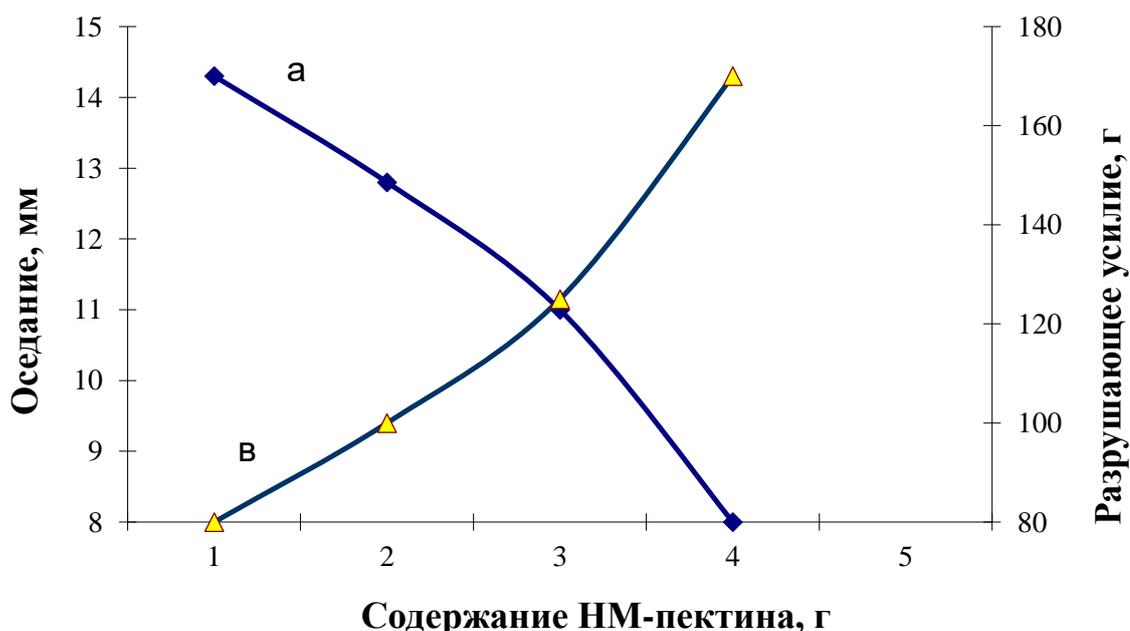


Рисунок 3.4.2.2. – Влияние содержание пектина на оседание (а) и прочность желе (в) [315-А].

С возрастанием концентрации пектина при постоянном содержании кальция ПГ повышается, т.е. происходит затвердевание и укрепление структуры желе, что свидетельствует о наличие большого количества свободных карбоксильных групп. Важно подчеркнуть, что результаты представленные в данной части работы были получены с одним и тем же образцом пектина. Учитывая, что НМ-пектин имеет установленную чувствительность к ионам кальция и данное свойство зависит от различных факторов, следует ожидать некоторых отклонений результатов, при исследовании пектина, полученного другими способами.

Влияние продолжительности варки на прочность желе [315]. Определение влияния времени варки на свойства полученных стандартных желе, приготовленных при условиях (рН 3 и 8, при кулинарной обработке в течение 6,11,14 и 18 минут) приведены на рисунке 3.4.2.3.

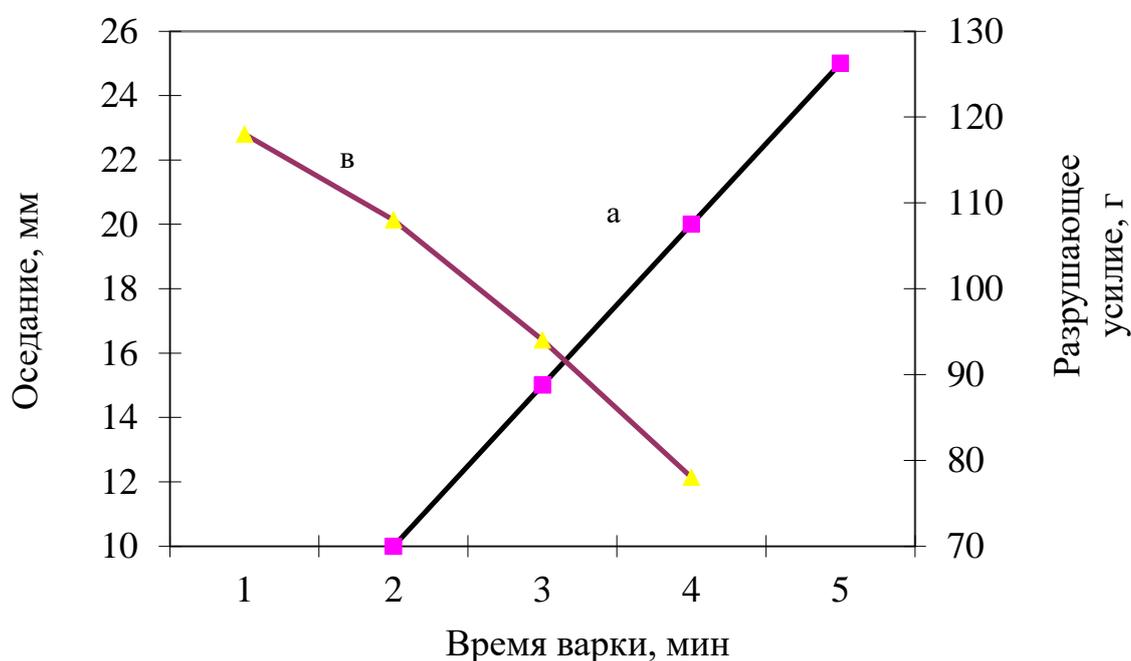


Рисунок 3.4.2.3. – Влияние продолжительности варки на оседание (а) и прочность желе (в) [315-А].

Как видно из рисунка 3.4.2.3, с увеличением времени варки усиливается эффект деполимеризации пектина, что способствует ослаблению структуры желе.

Влияние pH. Были проведены исследования с различными образцами желе, отличающимися между собой значениями pH среды. Необходимую кислотность желе устанавливали добавлением различного количества концентрированной лимонной кислоты (от 2 мл до 35 мл, раствор лимонной кислоты содержал 390 г гидрата лимонной кислоты на литр воды) и регулировали с таким расчетом, чтобы содержание каждого компонента в растворе сохранялось стандартным. Кислотность желе с помощью кислотомера Кориинга определяли по окончании проведения оценки качества желе.

На рисунке 3.4.2.4 приведено влияние pH среды на оседание и разрушающее усилие желе, обладающего заданным соотношением кальция и пектина [316].

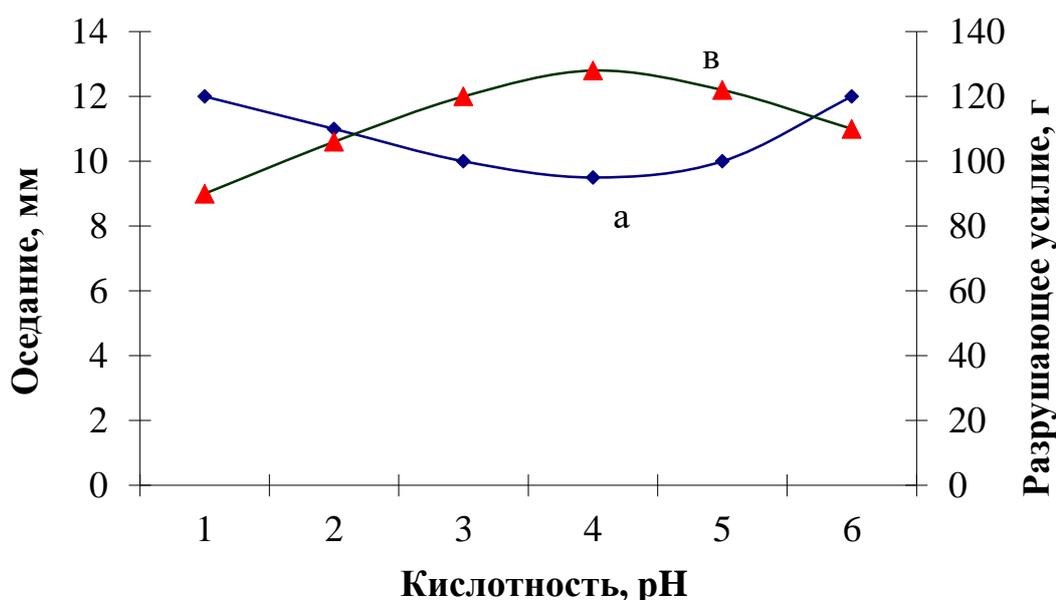


Рисунок 3.4.2.4. – Влияние кислотности на оседание (а) и разрушающее усилие желе (в) [316-А]

НМ-пектины могут быть использованы в продуктах, обладающих pH среды в интервале от 2,5 до 6,5. Из литературы [132, 313, 314] известно, что при исследовании НМ-пектина со СЭ менее 40%, увеличение прочности желе, измеряемое с помощью компрессионного модуля эластичности, имеет место при постоянном снижении кислотности до pH 2,4-3,1.

Оуэнс [317] показал, что при использовании НМ-пектина с постоянным

соотношением кальция и пектина равным 40 мг/г, максимальная прочность желе наблюдалась при рН 2,7. Однако максимальное разрушающее усилие в нашем эксперименте с использованием подсолнечного пектина, полученного под действием ионной силы, было зафиксировано в широком диапазоне рН 3,5-4,2, а минимальное оседание наблюдалось при рН 3,5-4,0.

Здесь следует отметить, что изменение величины рН среды (рН 3.5-4.2) в сторону, как повышения, так и понижения кислотности, сопровождается незначительным снижением прочности желе. Слабая чувствительность НМ-пектина подсолнечника к рН позволяет получить прочные и высококачественные гели широкого применения.

Влияние концентрации ионов кальция на прочности желе. Для более точного изучения влияния ионов кальция на структурообразование в системе НМ-пектин, содержащегося 30% сахара, был использован метод определения прочности студня Тарр-Бейкера. Наряду с этим исследованы зависимость прочности желе НМ-пектинов, полученных из яблок и КП от соотношения ионов кальция и СЭ. На рисунке 3.4.2.5 приведена зависимость прочности желе НМ-пектинов от количества ионов кальция. [132, 313, 314].

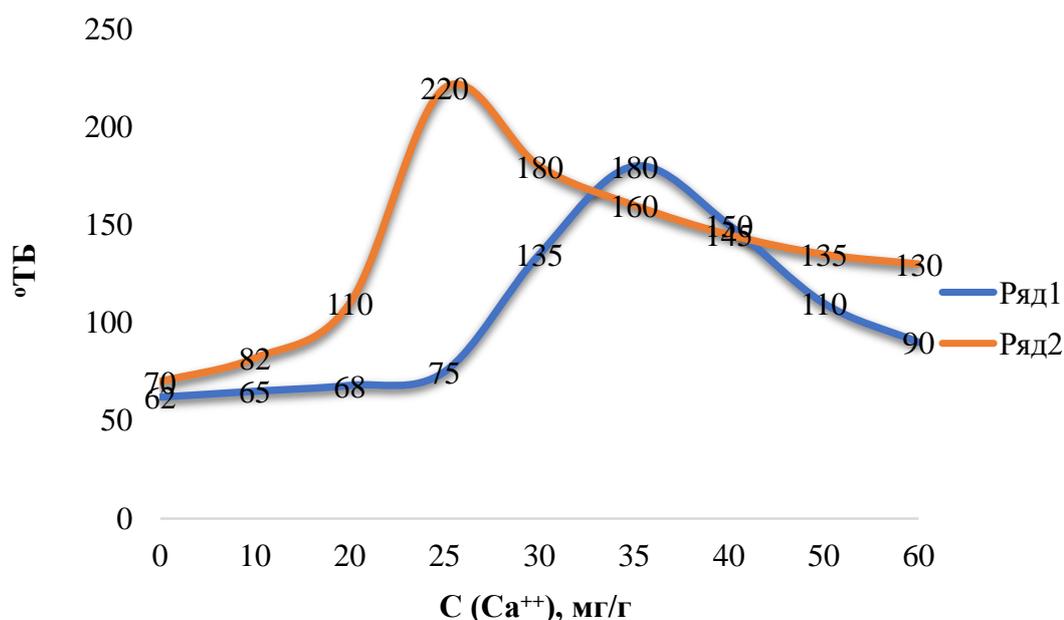


Рисунок 3.4.2.5. – Влияние ионов кальция на прочности желе: ряд 1 – НМ-пектин из яблок; ряд 2 – НМ-пектин из КП [315-А].

Как видно из рисунка 3.4.2.5, зависимость прочности желе от количества ионов кальция носит экстремальный характер, когда максимальное соотношение НМ-пектина и ионов кальция составляет 25-30 мг для яблочного пектина и 30-40 мг для подсолнечного на грамм пектина. Учитывая, что статическая объемная емкость, например, для НМ-пектина яблок, составляет 2,25 мэкв/г, то максимум прочности геля при увеличении количества ионов кальция можно отнести к области, где ионы кальция находятся в равном соотношении с карбоксильными группами ПВ. Сравнительно повышенное количество ионов кальция для получения прочных гелей в случае с яблочным НМ-пектином, видимо, связано с большим числом неэтерифицированных карбоксилов.

Гелеобразующие способности НМ-пектина усиливаются с уменьшением СЭ карбоксильных групп (рисунок 3.4.2.5).

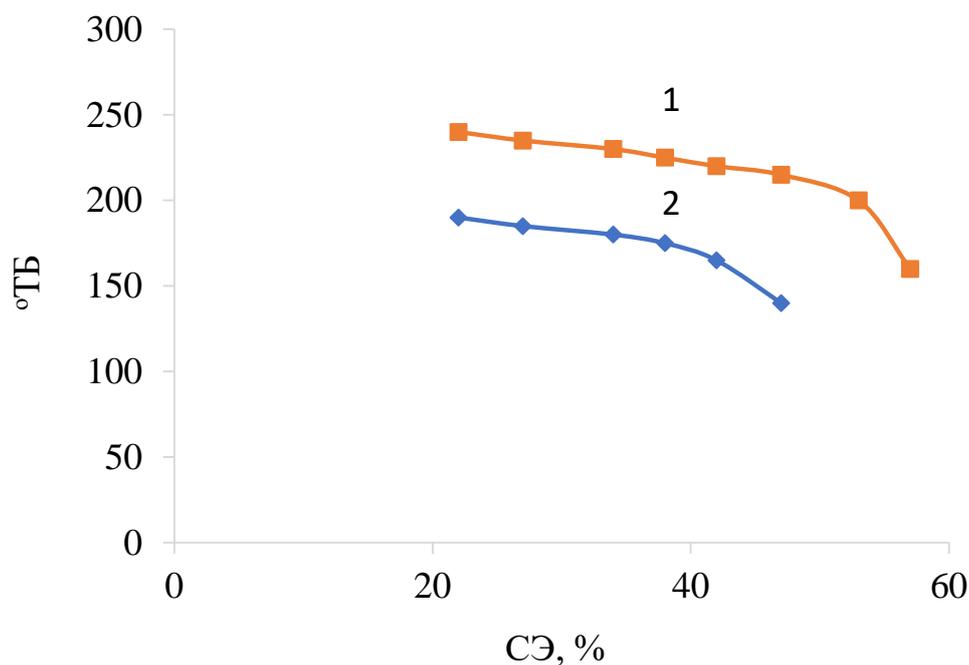


Рисунок 3.4.2.6. – Зависимость прочности желе от СЭ: 1 – НМ-пектин из яблок; 2 – НМ-пектин из КП [315-А].

Как видно из рисунка 3.4.2.6, уменьшение СЭ до 20-25% приводит к возрастанию прочности желе: до 180 °ТБ с НМ-пектином из яблок и до 220°ТБ с НМ-пектином из КП.

Таким образом, можно сделать вывод, что подсолнечный НМ-пектин, полученный под действием хлорида натрия, характеризуется широким диапазоном рН гелеобразования и, при прочих равных условиях, высокой ПГ. Максимум прочности геля при увеличении количества ионов кальция можно отнести к области, где ионы кальция находятся в равном соотношении с карбоксильными группами ПВ. Следует также отметить, что гелеобразующие свойства НМ-пектина увеличивались с уменьшением СЭ. Результаты, полученные в данной работе, могут быть применены в различных областях пищевой промышленности.

3.4.3 Новые факторы, влияющие на гелеобразование пектинов

Как было отмечено выше, существует множество факторов, которые влияют на условия образования геля и конечное его качество – прочность геля. В этом основную роль играют свойства молекул пектина, их длина цепи и химическая природа связей, которые образуют сетку геля. При равных условиях ПГ увеличивается с ММ пектина и любая обработка, приводящая к деполимеризации цепей пектина, отражается на механических свойствах гелей. Прочность при разрыве у геля зависит от количества соединений на одну длину цепи молекулы, тогда как для ее жесткости большую роль играет количество зон соединения на единицу объема геля [122]. Ацетильные группы в пектинах препятствуют гелеобразованию, а высокое содержание метоксильных групп в макромолекуле пектина определяет температуру схватывания геля.

Образование геля зависит от структуры пектинов, а также от таких факторов, как концентрация пектина и сахара, наличие сшивающих агентов, температура и рН [120, 143, 146]. Структуры пектинов отличаются количеством остатков ГК, имеющих различные степени метилирования и ацетилирования, степень амидирования, ММ и гетерогенность полимерных цепей [40].

В отличие от других структурообразующих веществ, ПП проявляют различные свойства в зависимости от источника получения, способа получения

и очистки, а также формы и свойств отдельных макромолекул в растворе [44]. Поэтому для каждого вида пектина необходимо подбирать подходящие условия производства желеобразных продуктов. Студнеобразующая способность пектина обусловлена свойством высокомолекулярного соединения растворяться в воде и, в большей степени, зависит от его молекулярной массы, т. е. от размеров молекул. Вместе с тем, большое значение имеет также степень метоксилирования.

Нами показано, что величина M_z связана со степенью агрегации пектиновых макромолекул [3]. Из литературы известно, что при определенных условиях пектин может быть термодинамически неустойчив даже в разбавленном растворе и образует агрегаты за счет водородной связи [41, 261, 318-320]. Ранее нами было установлено, что макромолекулы ПВ, особенно НМ-пектина, даже при более высоких температурах могут находиться в агрегированном состоянии [3, 44].

Кроме того, авторами [142, 143] было установлено, что «...степень замещения водорода у карбоксильных групп определяет характер взаимодействия в концентрированных растворах пектина. У ВМ-пектинов межмолекулярные взаимодействия происходят посредством водородных и гидрофобных связей, в то время как у НМ-пектинов, в основном, с участием водородных и поперечных связей ионами двухвалентных металлов...» [38, 142, 143]. Следовательно, принимая во внимание это разнообразие в структуре и поведении пектинов, знание молекулярных параметров пектиновых полисахаридов существенно облегчает выяснение строения, понимание физико-химических и гидродинамических свойств этих биополимеров и облегчает задачу пользователей при получении желе-продуктов.

В связи с этим, в работе [321] нами изучены влияние молекулярных параметров и степени агрегации пектинов различного происхождения на их студнеобразующие свойства.

В качестве сырья для получения пектинового экстракта использовались КП, апельсиновые корки (Ап), стебли и листья ревеня (Рв), айвовые (Ай), абрикосовые (Аб), персиковые (Пр) и выжимки яблок из центральных (Варзоб,

Шахринав и Файзабад) и южного (Муминобод) регионов Республики Таджикистан. Процесс гидролиз-экстракции ПП проводился как традиционным (T 85°C, pH 1.5-1.8 и при 60-120 мин), так и новым предлагаемым способом в автоклаве в слабокислом растворе (pH 2.0) под давлением пара 1.5-2.0 атм и температуре 100-130°C в течение 3-10 минут [3, 56]. Полученный раствор гидролизата очищается от МГ грубой фильтрацией и центрифугированием, а от других балластных веществ с помощью ДУФ с последующим его концентрированием [248]. Полученные пектины подвергались сушке в термостате при температуре 40°C с обдувом воздухом. В работе для сравнения желирующей способности полученных НМ-пектинов был использован коммерческий пектин марки LM-12-CG производства CP Kelco США.

Значения ПГ образцов пектина в присутствии сахара и винной кислоты (pH 3.2) определяли методом Тарр-Бейкера (ТБ) (рисунок 3.4.3.1) [259].

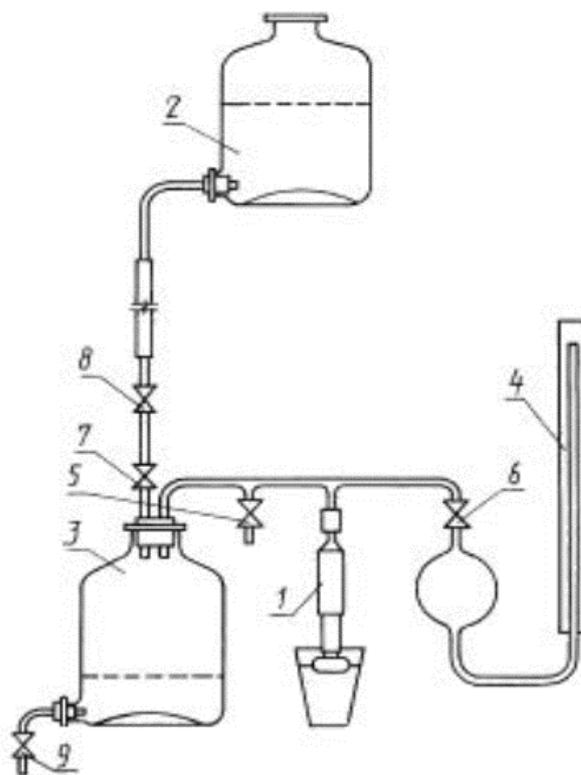


Рисунок 3.4.3.1. – Прибор Тарр-Бейкера [259]: 1 – стеклянный поршень с цилиндром; 2,3 – склянки с тубусом; 4 – манометр: внутренний диаметр трубки (8 ± 1) мм, диаметр шарообразной части (70 ± 2) мм; 5, 6, 7, 8, 9 – краны.

Содержание звеньев ГК и СЭ в пектинах определяли методами, описанными в работах [257, 272]. Среднемассовая (M_w), среднечисленная (M_n), средняя молекулярная масса (M_z) и показатель полидисперсности (M_w/M_n) были определены методом ЭЖХ, а расчет молекулярных масс и гидродинамических параметров: характеристическая вязкость $[\eta]$ и гидродинамический радиус R_h с помощью программного обеспечения ASTRA 5.3.4.13 (Wyatt Technology) и Breeze (Waters) [1]. Калибровку ЭЖХ колонок проводили по молекулярным стандартам Пуллулана (Showa Denko К.К., Япония). Гели для ВМ-пектинов готовили по стандартной методике.

Стандартным студнем, по Тарр-Бейкеру, считают студень, содержащий 65% сахара, оптимальное количество винной кислоты и такое количество пектина, чтобы его прочность на разрыв по прибору ТБ соответствовала 50 см столба четыреххлористого углерода. Число градусов Тарр-Бейкера ($^{\circ}\text{ТБ}$) указывает на количество сахара (г), связанного с 1 г данного пектина для образования стандартного желе.

Влияние способа очистки на студнеобразующие свойства пектинов различного происхождения. ВМ-пектины: результаты испытаний гелеобразования различных ВМ-пектинов приведены в таблице 3.4.3.1. Образцы пектина различались по содержанию ГК, СЭ, молекулярно-массовым характеристикам и гидродинамическим свойствам в растворе.

При оценке качества гелей, следует учитывать, что ВМ-пектины были получены из разных источников сырья, а также отличались способами гидролиза и очистки (таблица 3.4.3.1).

Таблица 3.4.3.1 – Влияние способов гидролиза и очистки на ПГ ВМ-пектинов [321-А]

Пектины	ГК, %	СЭ, %	$M_w \cdot e^{-3}$, кДа	$M_z \cdot e^{-3}$, кДа	$[\eta]$, мл/г	R_h , нм	ПГ, $^{\circ}\text{ТБ}$
1	2	3	4	5	6	7	8
ЯПВ-85-60-2.0-СО*	64.8	77.5	260.0	1305	335.0	20.2	215
ЯПФ-85-60-2.0-СО*	49.8	71.5	120.0	513	140.0	11.6	160

Продолжение таблицы 3.4.3.1.

1	2	3	4	5	6	7	8
ЯПФ-120-7-2.0-М*	64.8	81.4	118.0	899	161.2	11.9	169
ЯПФ-100-7-2.0-М*	67.2	82.5	165.7	771	148.8	13.5	174
Ап-120-10-2.0-М*	54.6	84.3	115.0	641	115.0	10.7	172
Пр-85-60-2.0-СО*	65.3	94.0	350.0	4975	420.0	22.3	190

*Цифры после букв – температура, продолжительность процесса и значение рН гидролиза; буква (ы) после цифр – способ выделения и очистка пектина: СО – спиртовое осаждение; М – мембранная фильтрация (тип мембраны – ВПУ).

Как видно из таблицы 3.4.3.1, у яблочного (ЯПВ-85-60-2.0-СО) и персикового (Пр-85-60-2.0-СО) пектинов, полученных ТМ и яблочного (ЯПФ-100-7-2.0-М) и апельсинового (Ап-120-10-2.0-М), полученных мембранным способом наблюдается высокие значения ПГ [52] 56. У яблочного пектина (ЯПФ-100-7-2.0-М) с пониженной температурой гидролиз-экстракции и очистки раствора гидролизата УФ по сравнению с таким же пектином (ЯПФ-85-60-2.0-СО), полученным ТМ, наблюдается заметное увеличение молекулярных и гидродинамических параметров (M_w , η_w , R_h), а также возрастание значения ПГ (174°ТБ).

Проведенные испытания показали, что яблочный ВМ-пектин (ЯПФ-85-60-2.0-СО), полученный ТМ, и яблочный ВМ-пектин (ЯПФ-120-7-2.0-М), выделенный из того же сырья гидролизом-экстракции новым способом, по показателю ПГ не соответствуют требованиям, предъявляемым к ним для производства жележных продуктов.

НМ-пектины: для исследования влияния рабочих параметров на прочность желе НМ-пектинов использовались стандартные методики получения желе с некоторыми модификациями. Влияние способов гидролиз-экстракции и очистки на ПГ НМ-пектинов также было применено к предыдущим подходам.

Для определения влияния исходных свойств НМ-пектинов на ПГ при приготовлении желе по описанной выше методике вместо винной кислоты при рН

4.0 использовали ионы кальция, количество которых составило 25-40 мг на 1 г пектина в области эквимольных соотношений ионов кальция, равного количеству карбоксильных групп, содержащих в НМ-пектинов [141].

Как видно из таблицы 3.4.3.2, в зависимости от способа очистки основные параметры и прочность геля НМ-пектинов различаются, наибольшие значения ПГ имеют цитрусовый (LM-12-CG, CP Kelco, США) и яблочные пектины (ЯПМ-120-5-2.0-СО и ЯПМ-120-10-2.0-М), экстрагированные и очищенные новым способом.

Студни, изготовленные на основе НМ-пектинов из корзинок подсолнечника, ревеня и айвы не соответствовали по прочности требованиям ГОСТу для стандартизации, хотя последние два пектина имели более высокие значения среднемолекулярной массы и гидродинамических параметров.

Таблица 3.4.3.2 – Влияние способа очистки на основные параметры и прочность геля НМ-пектинов [321-А]

Пектины	ГК, %	СЭ, %	$M_w \cdot e^{-3}$, кДа	$M_z \cdot e^{-3}$, кДа	$[\eta]$, мл/г	R_h , нм	ПГ, °ТБ
КП-85-60-1.5-СО	74.0	26.6	49.2	154	29.5	5.4	125
КП-120-7-2.0-М	76.0	32.0	58.0	181	34.5	6.3	167
LM-12 CG	69.0	35.0	136.0	596	180.0	14.0	192
Рв-120-7-2.0-СО	85.2	40.2	152.0	1633	182.0	14.2	168
ЯПМ-85-60-1.8-СО	68.0	52.4	134.0	1133	148.6	13.3	172
ЯПМ-120-5-2.0-СО	73.5	53.7	199.0	5673	115.3	12.3	180
ЯПМ-120-10-2.0-М	78.0	52.8	193.0	2820	132.0	12.1	183
Ай-85-60-2.0-СО	66.0	58.2	188.0	12030	205.5	13.7	153

*Цифры после букв – температура, продолжительность времени и значение pH гидролиза; буква после цифр – способ выделения и очистка пектина: СО – спиртовое осаждение; М – мембранная фильтрация (тип мембраны – ВПУ).

Таким образом, на примере яблочного пектина показано, что применение инновационных способов – ускоренного гидролиз-экстракции с последующей

очисткой образца на УФ мембране – способствует получить пектин с высокой ММ и гидродинамическими свойствами, что может существенно улучшить качество желе.

3.4.4 Влияние молекулярно-массовых характеристик на прочность студней и гидродинамические свойства пектинов

Несмотря на наличие стандартизированных параметров для различных образцов пектина, потребителям пектина сложно оценить его качество по содержанию ГК, СЭ и значению M_w . Именно сравнительная оценка приведённых в таблицах 3.4.3.3.1 и 3.4.3.3.2 данных позволили выявить четкие закономерности влияния ММ или гидродинамических свойств на ПГ как для ВМ-пектинов, так и для НМ-пектинов, выделенных из различных видов растительного сырья. Более высокие значения ММ, характеристической вязкости и гидродинамического радиуса пектинов значительно улучшают ПГ, в то время как значения M_z оказывают противоположное влияние на ПГ.

Влияние показателя полидисперсности M_z/M_w на ПГ приведено в таблице 3.4.4.1.

Таблица 3.4.4.1 – Влияние полидисперсности (M_z/M_w) на ПГ [321-А]

Пектины	ГК, %	СЭ, %	$M_w \cdot e^{-3}$, кДа	$M_z \cdot e^{-3}$, кДа	M_z/M_w ,	ПГ, °ТБ
Ай-85-60-2.0-СО	66.0	58.2	188	12030	63.99	153
Рв-120-7-2.0-СО	85.2	40.2	152	2433	16.01	168
ЯПМ-85-60-1.8-СО	68.0	52.4	134	2133	15.92	172
ЯПМ-120-5-2.0-СО	73.5	53.7	199	2673	13.43	180
ЯПМ-120-10-2.0-М	78.0	52.8	193	2820	14.61	183
Пр-85-60-2.0-СО	65.3	94.0	350	4975	14.21	190
LM-12 CG	69.0	35.0	136	596	4.38	192
ЯПВ-85-60-2.0-СО	64.8	77.5	260	1305	5.02	215

Как видно, ПГ закономерно возрастает по мере уменьшения показателя M_z/M_w . Этот факт наглядно показывает, что независимо от величины M_w , чем выше значение M_z , тем слабее ПГ, полученного обоими видами пектина. Этим можно объяснить относительно слабую гелеобразование пектинов айвы, ревеня и персика, независимую от их ММ. По всей вероятности, склонность этих пектинов к агрегации, независимо от механизма их образования, может привести к преждевременному застудневанию и, в конечном счете, к разрушению общей структуры геля.

На рисунке 3.4.4.1 наглядно продемонстрирована зависимость ПГ от отношения M_z/M_w для различных пектинов. Данная зависимость удовлетворительно описывается уравнением $\text{ПГ} = 239,85(M_z/M_w)^{-0,109}$ с $R^2 = 0,78$.

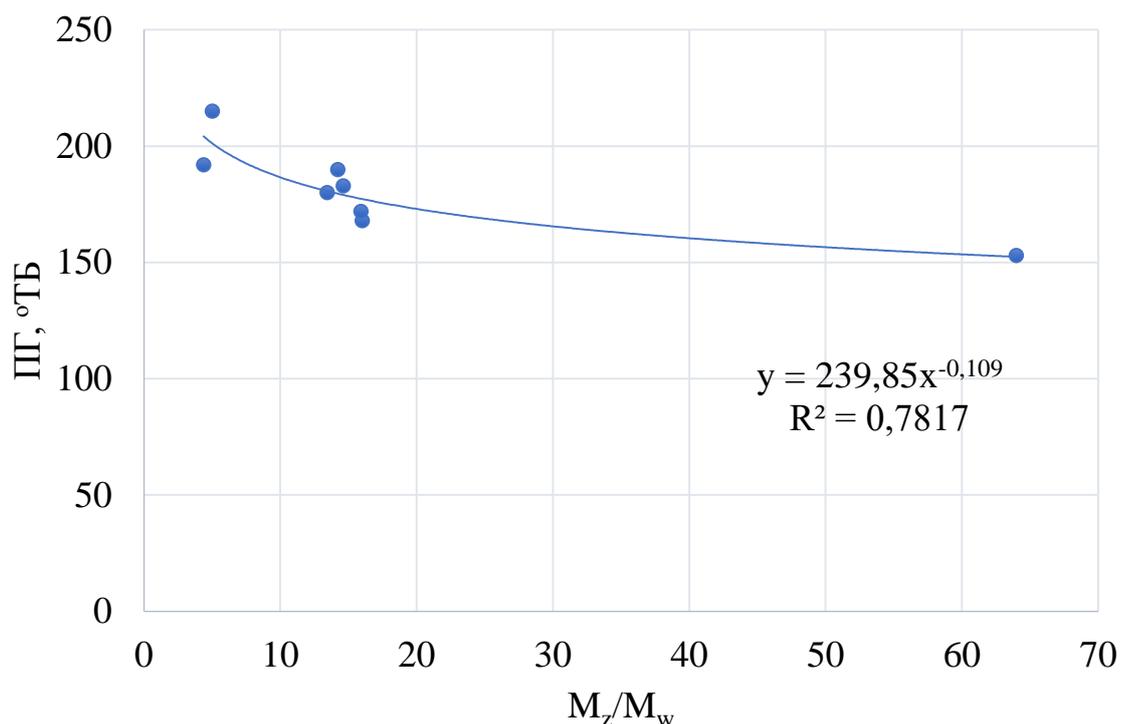


Рисунок 3.4.4.1. – Зависимость ПГ от отношения M_z/M_w для различных пектинов [321-А].

Известно [273, 320], что величина M_z полимера указывает на степень его агрегации. Фишман и др. «...исследованием с использованием атомно силового микроскопа (АСМ) установили, что пектины, даже в разбавленных растворах,

образуют агрегаты посредством водородных связей...» [313]. В работе [261] ранее было показано, что «...пектиновые макромолекулы, особенно НМ-пектины, могут находиться в агрегированном состоянии при высоких температурах...» [261]. «...Вышеприведенный аргумент хорошо согласуется со свойствами студней пектинов, выделенных из айвы и ревеня с высокими значениями M_w , которые не способны к образованию прочных студней в отличие от пектинов из яблок и цитруса с относительно низким значением M_w ...» [44].

Таким образом, вышеприведенные данные свидетельствуют об эффективности использования новых предложенных процессов в производстве пектина – ускоренной гидролиз-экстракции и ТДУФ очистки, которые способствуют получению пектинов с высокими гелеобразующими свойствами. При оценке качества гелей, помимо известных параметров, важно учитывать значение СЭ и полидисперсности M_z/M_w , которые показывают степень молекулярной агрегации, препятствующей студнеобразованию, независимо от структуры пектина. На основе систематического анализа значений M_z найдена связь между степенью молекулярной агрегации и полидисперсностью M_z/M_w и впервые выявлены факторы, влияющие на ПГ.

3.4.6 Результаты применения пектиновых растворов на предприятиях пищевой промышленности Республики Таджикистан

Пищевые предприятия Республики Таджикистан в настоящее время для обеспечения населения продовольственными продуктами нацелены на модернизацию технологических процессов, внедрению малоотходных технологий с учетом переработки вторичного молочного сырья, а также использования вторичных растительных сырьевых ресурсов для создания продуктов различного функционального назначения, что обуславливается современными требованиями экономии сырья и ресурсов.

В данной работе результаты практического применения пектина в качестве гелеобразователя и стабилизатора на пищевых предприятиях Республики Таджикистан были оформлены в виде актов испытаний и экспертных заключений, включающих результаты испытаний с научно-экономической оценки эффективности практического применения и рекомендации по их использованию:

1. Акт об испытании применения пектинового концентрата при производстве мармелада на ОАО фабрики «Ширин», г. Душанбе, 30.12.2011 (Приложение В).

В шоколадном цехе ОАО фабрики «Ширин» в декабре 2011 г. проведено испытание – применение пектинового концентрата для получения мармелада по ГОСТ 6441-80. Пектиновый раствор был получен из яблочных выжимок ЯПФ флеш-экстракцией и концентрирован новым способом (Патент ТД №197, Способ очистки пектинового гидролизата и получение пектинового геля, 14.11.98, Бюл. №3 (11)).

Результаты данного испытания показали, что полученный пектиновый раствор обладает способностью желировать при содержании в нем пектина в два раза меньше, чем используемого в данный момент для производства мармелада импортного пектина производства Китая, приобретаемого на рынках Республики Таджикистан.

Рекомендовано использовать пектиновый концентрат из свежих яблок для замены импортного пектина. Экономический эффект от использования пектинового концентрата при производстве мармелада составляет от 800 до 1200 сомони на тонну готового продукта.

2. Акт об испытании применения пектинового концентрата при производстве кондитерских изделий на ОАО фабрики «Ширин», г. Душанбе, 10.05.2019.

В шоколадном цехе ОАО фабрики «Ширин» в декабре 2011 г. проведено испытание – применение пектинового экстракта, полученного из лимонных выжимок разработанным методом флэш-экстракции (Патент ТД 563, опубл. 29.12.2012, Бюл. №.86 ННИПЦ РТ) и концентрированного методом диалитрафилтрации (Патент ТД №197, 14.11.98, Бюл. №3 (11) ННИПЦ РТ). Был получен мармелад с применением пектинового концентрата по ГОСТу 6441-80.

Результаты данного испытания показали, что введение пектинового концентрата для получения мармелада исключает стадии растворения пектина и способствует снижению себестоимости конечного продукта.

Рекомендовано использовать пектиновый концентрат из отходов цитрусовых (лимона) для замены импортного пектина. Экономический эффект от использования пектинового концентрата при производстве мармелада составляет от 1200 до 1500 сомони на тонну готового продукта.

3. Экспертное заключение по применению пектинового раствора для стабилизации кисломолочных продуктов (кефир и фруктовый йогурт) на АОЗТ «Комбинати шири Душанбе» от 10.07.2013.

Для стабилизации кисломолочных продуктов, производимых на АОЗТ «Комбинати шири Душанбе», было предложено использовать раствор ВМ-пектина, полученного из яблок ЯПФ новым способом флэш-экстракции (Патент ТД 563, опубл. 29.12.2012, Бюл. №.86 ННИПЦ РТ).

Испытания, проведенные в центральной лаборатории комбината, показали, что применение яблочного ВМ-пектина улучшает консистенцию и позволяет стабилизировать указанные продукты, что препятствует отделению сыворотки при хранении. Результаты испытания показали, что при внесении ВМ-пектина в количестве от 0.5 до 0.1% при производстве кефира и фруктового йогурта перед пастеризации продуктов позволяет продлить срок хранения готовых продуктов до 3-4 суток при температуре $4\pm 2^{\circ}\text{C}$.

3.5 Функциональные продукты на основе композитных гелей и лактозы

3.5.1 Гидрогелиевые микросферы пектина с зеином как носители лекарственных веществ и пищевых ингредиентов

Цель данной части исследования состояла в разработке условий получения комплексов на основе пектина и зеина с инкапсулированным средством, устойчивых к действию среды желудка, для возможного их применения в качестве новой формы лекарства с контролируемым высвобождением в толстую область кишечника, что необходимо при лечении кишечных заболеваний [229].

В работе были использованы: коммерческий цитрусовый НМ-пектин GENU L/200-CP Kelco (CP Kelco, Дания) с содержанием ГК 69.0% и СЭ 9.0%, имеющий M_w 212 кДа; яблочный ВМ-пектин Муминобадского района (ВМ-ЯПМ), содержащий ГК 68.0% и СЭ 52%, с M_w 134 кДа – ВМ-ЯПМ-120-5-2.0; яблочный НМ-пектин Шахринавского района (НМ-ЯПШ) с содержанием ГК 58.0%, СЭ 43,0% и M_w 119 кДа – НМ-ЯПШ-85-60-1.8, и подсолнечный НМ-пектин, полученный динамическим методом (НМ-КП-Д-2М-2.0) и содержащий ГК 68.0%, СЭ 42.0 и M_w 142 кДа.

Зеин получен по ранее описанной методике [118]. LgC выделены из МС по методу [266]. В качестве модельного лекарственного средства использован противовоспалительный препарат – РХ [229].

В таблице 3.5.1.1 представлена характеристика пектинов, использованных нами для получения комплексов.

Процесс образования комплексов был контролирован методами кондуктометрии, рН-метрии и турбидиметрии [109, 269]. ПЗК был получен путем постепенного добавления раствора пектина, содержащего РХ, к 75% раствору этанола, содержащего зеин, $CaCl_2$ и $ZnSO_4$ при комнатной температуре. Комплексы пектин-зеин-LgC были получены добавлением пектина и LgC в

0.05М фосфатном буфере (рН 5.5), содержащем РХ, к 75% спиртовому раствору зеина с CaCl₂ [230].

Таблица 3.5.1.1 – Характеристика пектиновых образцов, выделенных из различных источников сырья [3-А, 24-А, 56-А]

Источник сырья	ГК, %	СЭ, %	M _w , кДа
НМ-пектин (GENU L/200-CP Kelco)	69.0	9.0	212
ВМ-ЯПМ-120-5-2.0	68.0	52.0	134
НМ-ЯПШ-85-60-1.8	58.0	43.0	119
НМ-КП-Д-2М-2.0*	68.0	42.0	142

* Образец, полученный динамическим способом после обработки 2М NaCl.

Пектины, выделенные из различных источников сырья, отличаются по основным параметрам – СЭ и ММ и содержанием ГК. СЭ цитрусового пектина на несколько порядков ниже, чем у остальных пектинов, а ММ его значительно выше. Пектин подсолнечника НМ-КП-Д-2М-2.0 по основным параметрам несколько схож с яблочным ЯПМ-120-5-2.0 пектином, но имел низкую СЭ (таблица 3.5.1.1).

Разработка ПЗК направлена на создание систем адресной доставки ЛВ, гарантирующих их целостность в физиологической среде желудка и тонкого кишечника. Механизм действия таких систем основан на способности пектина, стабилизированного сшитыми поперечными связями ионами металлов, защищать белки от действия протеаз. Зеин располагаясь на поверхности и внутри полимерной сетки препятствует быстрому высвобождению ЛВ. Однако следует также учитывать, что скорость высвобождения препарата зависит от ряда факторов, в том числе от типа пектин-белкового взаимодействия, плотности упаковки макромолекул, а также от количественного соотношения биополимеров и их структуры [50, 229, 230, 322].

Для получения комплексов были приготовлены следующие растворы: раствор зеина в 75% этаноле; растворы пектинов в воде, так как пектин полностью не растворялся в воде, раствор после набухания центрифугировали и для получения комплексов отбирали надосадочную жидкость. В качестве модельного ЛВ брали нестероидный препарат РХ по 20-100 мг сухого порошка в каждом отдельном опыте. Комплексы готовили постепенным добавлением раствора пектина определенной концентрации к смеси, содержащей зеин (в 75% этаноле), РХ и $ZnSO_4$ или $CaCl_2$ при постоянном перемешивании на магнитной мешалке и оставляли на 15 мин при комнатной температуре. Сформированные комплексы центрифугировали в течение 15 минут при 6.000 об/мин., маточники сливали, а осадки трижды промывали дистиллированной водой от непрореагировавших компонентов. Количество несвязанного в комплексы РХ определяли в маточнике и промывных водах на спектрофотометре при 355 нм. Из полученных данных теоретически рассчитывали количество РХ, инкапсулированного в комплексы. Для достоверности результатов также определяли содержание РХ в комплексах экстракцией буфером, содержащим: 100 мл 75% этанола, 0.4 г NaOH и 0.5% Твин-20 при 37°C из гидрогелей до и после их высушивания. При этом наблюдались незначительные расхождения, что, вероятно, связано с необратимыми структурными изменениями, происходящими при высушивании гелей. Для подтверждения результатов опыты повторяли дважды. Следует отметить, что в отличие от комплексов, полученных с цитрусовым и яблочным пектинами, гидрогели на основе пектина подсолнечника были однородные по структуре [230].

В таблице 3.5.1.2 приведены соотношения и количество компонентов, необходимых для формирования ПЗК на основе цитрусового пектина, и свойства полученных комплексов: вес комплекса, степень набухания и количество инкапсулированного ЛВ.

Полученные данные свидетельствуют о том, что степень инкапсулирования ЛВ в комплексе зависит от соотношения пектина и зеина:

увеличение количества зеина в комплексе приводит к высокой степени связывания РХ. Степень набухания полимера уменьшается с увеличением содержания зеина.

Таблица 3.5.1.2 – Соотношение и количество компонентов ПЗК, полученных на основе цитрусового пектина и их свойства [230-А]

№ п/п	Соот-ие пектин-зеин	Пектин, мг	Зеин, мг	CaCl ₂ (2%), мл	Кол-во РХ, мг	Вес комплекса, мг	Степень набухания	Кол-во инкап-ного РХ, %
1	6:1	300	50	1.24	20	65	139	12.4
2	3:1	300	100	1.24	20	70	179	9.8
3	1:1	250	250	1.03	20	200	49	37.0
4	1:1.4	350	500	1.03	20	400	33.25	57.0
5	1:1.4	350	500	1.03	200	600	13.91	51.7
6	1:2	250	500	1.03	20	440	19.45	72.6
7	1:5	200	1000	0.83	20	800	7.5	93.8

Данные таблицы 3.5.1.2 показывают, что эффект инкапсуляции увеличивается с 51 до 93% при всех соотношениях пектина и зеина. Следует также отметить, что увеличение количества РХ в 10 раз (соотношение пектин-зеин – 1:1.4) не дает необходимого эффекта инкапсуляции. Возможно, это связано с гидрофобной природой биополимера и плотностью упаковки полимерных цепей, т.е. предположительно, в этом случае в образовании комплекса могут участвовать энтальпийные факторы [230].

Следует отметить, что «...на свойства комплексов протеин-полисахарид оказывают влияние природа биополимеров, их соотношение, ММ, плотность заряда и ряд других факторов...» [261, 323-325]. В случае ПЗК гидрофобные взаимодействия незначительны, поэтому взаимодействие происходит через ионные и водородные связи [109].

Результаты турбидиметрического титрования в присутствии ионов кальция [269] показали, что с увеличением концентрации CaCl_2 весь зеин вовлекается в комплекс. При этом с увеличением концентрации зеина образуются два типа комплексов: пектин- Ca^{2+} -зеин и пектин-зеин. Первый тип образуется, вероятно, в результате электростатических взаимодействий, за счет сшивания Ca^{2+} с цепями пектина. Образование второго типа, возможно, обусловлено слабыми гидрофобными взаимодействиями или коацервацией двух биополимеров.

Известно, что одним из основных показателей для эффективности инкапсуляции ЛВ является степень набухания комплекса. Полученные нами результаты показывают, что степень набухания зависит от количества пектина в комплексе, при чем степень набухания увеличивается при увеличении соотношения пектина в комплексе (таблица 3.5.1.2). Более высокая степень набухания наблюдалась в комплексах с соотношением пектин-зеин 6:1 и 3:1. Предполагается, что эти комплексы будут проявлять кинетику преждевременного распада с высвобождением лекарственного средства в условиях ЖКТ. При более высоком содержании зеина степень набухания была ниже, а вес комплексов значительно увеличивалась. Оптимальные соотношения пектина и зеина составили 1:1, 1:2 и 1:5.

Следует отметить, что доставка ЛВ в область толстого кишечника требует сохранения инкапсулированного препарата в верхних отделах ЖКТ и защиты пектинового матрикса от воздействия протеолитических ферментов [230].

Для образования комплексов с инкапсулированным ЛВ, стойких в верхней части ЖКТ, эксперименты проводили, варьируя соотношения пектина и зеина, концентрацию и тип сшиваемого металла, содержание РХ и способы получения комплексов. Для этого к раствору пектина, содержащему РХ, добавляли 75% спиртовой раствор зеина, содержащий соли CaCl_2 и ZnSO_4 , причем РХ и сшивающие металлы брались вдвое больше. Вместе с тем в ряде экспериментов

для сравнительной оценки ионы кальция Ca^{2+} были заменены на ионы цинка Zn^{2+} [230].

Для получения пектин-зеиновых комплексов с концентратом лактоглобулинов (пектин-зеин-LgC), содержащих инкапсулированный РХ, в раствор пектина с РХ добавляли LgC, полученную смесь по каплям приливали в спиртовой раствор зеина с CaCl_2 и без CaCl_2 . Далее полученные комплексы трижды промывали 50% спиртом и высушивали. Количество связанного РХ в комплексах определяли методом последовательной экстракции 75% этанолом и фосфатным буферным раствором (рН 6.4) [230].

В таблице 3.5.1.3 представлены исходные соотношения биополимеров, тип пектина, содержание солей кальция и цинка, а также количество РХ, взятое для получения гидрогелей.

Для получения сформированных гидрогелиевых комплексов в форме шариков были использованы цитрусовый GENU L/200 и ВМ-ЯПМ пектины, которые отличались по структуре. В случае с пектином НМ-ЯПШ в присутствии ионов металла образовывались слабоструктурированные гидрогелиевые шарики, которые затем трансформировались в коацерваты [229].

Таблица 3.5.1.3 – Исходные соотношения биополимеров, тип пектина, содержание солей кальция и цинка, а также количество РХ

№ эксп.	Соотношение пектин-зеин*, пектин-зеин-LgC**	Тип пектина	2% CaCl_2 , мл	2% ZnSO_4 , мл	РХ, мг
1	2	3	4	5	6
1	1:1.5*	GENU L/200	2.0	-	50
2	1:1.5*	GENU L/200	-	2.0	50
3	1:2*	GENU L/200	-	2.0	50
4	3:1*	GENU L/200	2.0	-	50

Продолжение таблицы 3.5.1.3

1	2	3	4	5	6
5	3:1*	GENU L/200	-	2.0	50
6	2:1*	GENU L/200	-	2.0	50
7	1:1*	GENU L/200	1,0	-	20
8	1:1*	GENU L/200	2.0	-	20
9	1:1*	GENU L/200	2.0	-	50
10	2:1:1**	GENU L/200	2.0	-	50
11	2:2:1**	GENU L/200	2.0	-	50
12	2:2:1**	GENU L/200	-	-	50
13	2:1:2**	GENU L/200	-	-	50
14	1:2*	ВМ-ЯПМ-120-5-2.0	2.0	-	20
15	1:1*	ВМ-ЯПМ-120-5-2.0	2.0	-	20
16	6:1*	ВМ-ЯПМ-120-5-2.0	2.0	-	20
17	1:2*	НМ-ЯПШ-85-60-1.8	2.0	-	20
18	1:1*	НМ-ЯПШ-85-60-1.8	2.0	-	20
19	1:1*	НМ-ЯПШ-85-60-1.8	-	2.0	20
20	6:1*	НМ-ЯПШ-85-60-1.8	2.0	-	20
21	1:1.5*	НМ-КП-Д-2М-2.0	-	2.0	-
22	1:1.2*	НМ-КП-Д-2М-2.0	-	2.0	-

Характеристика полученных комплексов: соотношение пектин-зеин, степени набухания и насыщения РХ представлены в таблице 3.5.1.4 [109].

В комплексах с высоким и равным содержанием пектина с зеином (1:0.35 и 1:1) при замене ионов Ca^{2+} на ионы Zn^{2+} значительно увеличивается количество инкапсулированного РХ (от 81 до 86% и от 83 до 99% для пектина GENU L/200 и от 61 до 71% для пектина НМ-ЯПШ-85-60-1.8, соответственно). С уменьшением содержания пектина в комплексе вес гидрогеля и степень насыщения РХ

значительно снижаются. Вклад ионов Zn^{2+} отчетливо проявляется в случае комплексов с соотношением пектин-зеин – 1:1.

Таблица 3.5.1.4 – Характеристика полученных комплексов: соотношение пектин-зеин, степени набухания и насыщения РХ [109-А]

Источник сырья, тип пектина	Соот-ние пектин- зеин (Me^{2+})	Вес гидро- геля, мг	Степень набуха- ния (S)	Кол-во инкапс. РХ, %	Кол-во адсор. РХ в комп. на един. массы геля, %
1	2	3	4	5	6
GENU L/200	1:2.0 (Ca^{2+})	310	6.0	76.0	12.4
	1:2.0 (Zn^{2+})	290	28.8	80.6	13.90
GENU L/200	1:1.5 (Ca^{2+})	340	6.7	95.2	14.0
	1:1.5 (Zn^{2+})	300	28.6	80.6	13.4
GENU L/200	1:1 (Ca^{2+})	200	11.0	83.3	5.3
	1:1 (Zn^{2+})	450	10.3	99.0	11.1
GENU L/200	1:0.35 (Ca^{2+})	260	29.1	81.8	15.6
	1:0.35 (Zn^{2+})	300	31.0	86.0	14.5
ВМ-ЯПМ-120-5-2.0	1:2.0 (Ca^{2+})	215	26.1	58.7	5.5
ВМ-ЯПМ-120-5-2.0	1.0 (Ca^{2+})	203	27.7	32.5	3.3
ВМ-ЯПМ-120-5-2.0	1:0.16(Ca^{2+})	180	30.2	39.0	4.3
НМ-ЯПШ-85-60-1.8	1:2.0 (Ca^{2+})	250	5.3	66.0	5.3
НМ-ЯПШ-85-60-1.8	1:1 (Ca^{2+})	190	8.9	61.1	6.4
	1:1 (Zn^{2+})	140	16.7	71.5	20.4
НМ-ЯПШ-85-60-1.8	1:0.16 (Ca^{2+})	120	22.7	70.2	11.7
НМ-ЯПШ-85-60-1.8	1:0.16 (Ca^{2+})	120	22.7	70.2	11.7
НМ-КП-Д-2М-2.0	1:1.5 (Zn^{2+})	340	4.0	57.78	-
НМ-КП-Д-2М-2.0	1:1.2 (Zn^{2+})	280	5.3	55.83	-
GENU L/200+/LgC	1:0.5 (Ca^{2+})	220	39.00	48.40	11.00
GENU L/200+/LgC	1:1 (Ca^{2+})	370	20.08	59.20	8.00
GENU L/200+/LgC	1:1	420	23,2	68.54	8.16
GENU L/200+/LgC	1:0.5	380	28,6	50.20	6.61

С увеличением содержания РХ (эксперименты 7-9, таблица 3.5.1.3) вес гидрогелиевых комплексов возрастает, достигая максимального насыщения ЛВ (до 99%). В этом случае наблюдается значительный эффект от инкапсуляции ЛВ [109].

Полученные данные наглядно показывают, что с увеличением содержания ионов Zn^{2+} и РХ в реакционной смеси происходит насыщение комплексов РХ и масса комплексов также увеличивается. Необходимо отметить, что более высокое содержание РХ влияет и на степень набухания комплексов: чем больше вовлекается РХ в комплекс, тем выше степень набухания [109].

3.5.2 Микросферы на основе яблочного пектина и зеина

Пектин-зеиновые микросферы с соотношением пектина и зеина 6:1, 1:1 и 1:2 были получены с использованием яблочных пектинов ВМ-ЯПМ и НМ-ЯПШ в тех же условиях, что и в п. 3.5.1.1. Данные таблицы 3.5.1.4 показывают, что комплексы с ВМ-пектином характеризуются большим весом гидрогеля и степенью набухания. Однако в комплексах с яблочным НМ-пектином инкапсулированного РХ было больше. При замене ионов Ca^{2+} на ионы Zn^{2+} насыщение РХ значительно возросло. Это привело к образованию структурно слабых гидрогелевых шариков, которые затем трансформировались в новые формы – агрегаты. Степень связывания РХ в комплексы была выше для НМ-пектина, чем для ВМ-пектина. Эти различия связаны со спецификой строения пектина, который может образовать коацерваты с зеином и захватывать большее количество ЛВ [109].

Полученные данные подтверждают предположения о том, что ионы Zn^{2+} способствуют формированию более компактной структуры с пектином в качестве сшивающего металла по сравнению с ионами Ca^{2+} , что является важным при создании носителей лекарственных препаратов, устойчивых к преждевременному высвобождению ЛВ в верхней части ЖКТ [326]. Более того,

гидрогели с ионами Zn^{2+} показали более высокую механическую прочность при контакте с физиологическими растворами, чем гидрогели с ионами Ca^{2+} [230].

По всей вероятности, это явление связано с частичным замещением ионов кальция ионами натрия на участках гомогалактуронановой цепи, где карбоксильные группы неупорядочены, нежели вследствие образования модели в виде «яичной коробки» с данными ионами, в блочные структуры цепи [326].

3.5.3 Микросферы на основе пектина из корзинок подсолнечника и зеина

Следует отметить, что пектин из КП [3] в отличие от пектина, выделенного из цитрусов и яблок, отличается высокой степенью полидисперсности и значительным содержанием НГ с небольшим количеством нейтральных сахаров, неспособных обеспечить оптимальную плотность поперечных сшивок, что в свою очередь могло привести к нарушению баланса между эластичностью и желаемой прочностью полимерной композиции. За счёт большого количества поперечных сшивок подсолнечный пектин способен образовывать более хрупкие гели. Высокое содержание карбоксильных групп способствует сильному электростатическому взаимодействию с протеинами, что, в свою очередь, могло привести к утрате гибкости и подвижности полимерной цепи. Плотность поперечных сшивок влияет на степень набухания, механическую прочность и эластичность полимерной цепи. Более высокая плотность поперечных связей приводит к повышению механической прочности, но снижению эластичности и набухаемости, что может способствовать образованию хрупких гелей [231-234]. Поэтому, для эффективного использования гидрогелей на основе полисахарида и белков, как носителей ЛВ, необходимо контролировать образование поперечных сшивок.

Из данных таблицы 3.5.1.4 следует, что микросферы с пектином подсолнечника отличались меньшей степенью захвата ЛВ, по сравнению с микросферами на основе цитрусового пектина. Степень набухания комплексов,

с увеличением доли пектина заметно повышалась от 4.0 до 5.3, а степень инкапсулирования РХ снижалась от 57.78 до 55.83%, в то время как степень набухания гидрогелей, сформированных цитрусовым и яблочным пектинами, была на несколько порядков выше и составляла 28.6-28.8 для цитрусового и от 26.1 до 27.7 для ЯПШ в зависимости от доли полисахарида в комплексе [117, 229, 230]. Самая низкая степень набухания отмечается у комплексов, сформированных НМ-пектинами из КП и яблочных выжимок.

Данный факт представляет особое значение при создании носителей ЛВ стойких к действию желудочной кислоты: высокая степень набухания будет способствовать преждевременному высвобождению ЛВ, что приведет к нежелательной адсорбции лекарства на стенках желудка. Комплексы с низкой степенью набухания будут длительное время сдерживать уровень ЛВ, способствуя терапевтической эффективности препарата. Предполагается, что комплексы с пектином подсолнечника будут проявлять кинетику медленного высвобождения ЛВ в желудочно-кишечном пространстве, что представляется важным при создании носителей ЛВ, стойких к действию желудочной кислоты.

Пониженная степень связывания РХ в микросферах с НМ-пектином подсолнечника, по сравнению с цитрусовыми, связана с особенностями структуры полисахарида, не исключая энтальпийные факторы: высокая степень полидисперсности, высокое содержание звеньев ГК. Сравнительная оценка также показывает, что по основным характеристикам (степень инкапсулирования ЛВ, степень набухания, механическая прочность) гидрогели с пектином подсолнечника несколько схожи с гидрогелями, полученными с яблочным пектином НМ-ЯПШ.

Таким образом, были определены оптимальные условия получения инкапсулированного лекарственного комплекса на основе природных биополимеров – пектина и зеина. Полученные результаты показали, что на процесс комплексообразования и степень насыщения ЛВ влияют природа биополимеров,

их пропорции, а также наличие и тип двухвалентного металла. При формировании микросфер с НМ-пектином комплекс образуется в основном за счет сшивки с ионами двухвалентных металлов, а в случае с ВМ-пектином посредством гидрофобных взаимодействий биополимера. В результате получены микросферы на основе пектина и зеина, которые могут быть применены для получения лекарственных носителей с контролируемым высвобождением [230].

3.5.4 Кинетика высвобождения пироксикама из пектин-зеиновых микросфер в условиях, имитирующих среду ЖКТ

Исследования, проведенные в лаборатории высокомолекулярных соединений Института химии им. В.И. Никитина НАНТ, наряду с другими работами [234, 326] показывают, что полученные бинарные полимерные матрицы являются хорошими носителями ЛВ, так как проявляют большую селективность фармакологической активности за счёт скорости высвобождения из лекарственной формы [50, 109, 230, 243].

В работах [235-242], приводятся примеры использования в качестве СДЛ пористых полимерных микроносителей для обеспечения постоянного высвобождения ЛВ. В данной технологии доставка ЛВ продлевается, благодаря диффузии через носитель, но нет доказательства, что диффузия ЛВ может обеспечить кинетику высвобождения реакции «нулевого» порядка. В работе [241] для получения СДЛ предложен метод фазового разделения высвобождения протеина из полимера молочной кислоты, описываемое кинетикой «нулевого» порядка. Контроль в данной системе показал незначительное начальное высвобождение в первые 20 часов, после чего высвобождение происходило в соответствии с кинетикой реакции «нулевого» порядка при низких уровнях активных средств. Williams и др. [242] «...в качестве микроносителей использовали пористые полимеры с магнитными частицами «Магнапоры» и

добились уменьшению терапевтической дозы ЛВ. В этой работе структуру используемых носителей можно смоделировать как многообразие цилиндров различной длины и диаметра, каждый из которых содержит активные вещества, приводящие в среднем к кинетике высвобождения «нулевого» порядка...» [242].

Следует подчеркнуть, что существует множество других подходов по разработке систем доставки ЛВ, основанных на явлении осмоса [232-235], где механизм высвобождения ЛВ достигается при кинетике «нулевого» порядка.

В предыдущей части были представлены данные по разработке как формирования ПЗК, так и поиска систем доставки ЛВ на их основе, способных длительное время (день и более) осуществлять контролируемое высвобождение ЛВ диффузией и ферментативным разложением в ЖКТ. «...Такой подход прежде всего продиктован тем, что плохая растворимость ЛВ в воде приводит к замедлению процесса абсорбции, что является причиной возникновения побочных эффектов со стороны ЖКТ...» [322].

Поэтому целью данной работы было изучение кинетики высвобождения ЛВ из СДЛ на основе пектина и зеина кукурузы в условиях, имитирующих среду ЖКТ [327]. Исходя из этого, для транспортировки плохо растворимого препарата из верхних отделов ЖКТ в кишечное пространство были разработаны СДЛ в виде микросфер на основе ПЗК, содержащих ионы двухвалентных металлов [109, 117, 229, 230]. Однако следует иметь в виду, что скорость высвобождения ЛВ зависит от ряда факторов, включая тип пектин-белкового взаимодействия, плотность упаковки полимерной цепи и структуру самого биополимера и т.д. [50, 229, 230, 322].

Зеин по своей структуре и физико-химическим свойствам отличается от других спирторастворимых белков злаковых культур. Содержание его в зерне кукурузы составляет половину от общего количества белков. Как отмечалось выше, зеин также отличается высоким содержанием аминокислот – пролина и глутамина. Его фракции представлены α -, β -, γ -, δ -зеинами, имеющими

различные ММ и способности к агрегированию. Зеины за счёт высокого содержания аминокислот, т.к. лейцин, изолейцин, валин и фенилаланин обладают высокой гидрофобностью. Низкое содержание основных аминокислот – лизина и аргинина в структуре его молекулы определяет слабое межмолекулярное электростатическое взаимодействие. Наряду с этим, «...зеин за счёт гидрофобного взаимодействия и водородных связей проявляет способность к формированию различных агрегатов цилиндрической формы диаметром 6-20 нм...» [326].

Для получения микросфер, устойчивых в верхней части ЖКТ, были проведены эксперименты с различными соотношениями ПЗК, концентрациями сшиваемых металлов, содержанием РХ и технологиями получения комплексов. Комплексы были получены добавлением раствора пектина, содержащего РХ к 75 об.% спиртовому раствору зеина, содержащего CaCl_2 , причем РХ и сшивающих металлов было взято вдвое больше. В экспериментах было использовано 2 вида пектина: НМ-цитрусовый пектин LM-31 (GENU 12CG) и LM-9 (GENU L/200) фирмы CP Kelco (Wilmington, США). Показано, что комплексы отличались по структуре и степени насыщения РХ [109, 229].

В работе [322] для изучения кинетики процесса высвобождения ЛВ из СДЛ были использованы буферные растворы, имитирующие среду ЖКТ. Для чего высушенные комплексы (50 мг) заливали буфером (50 мл HCl/KCl 0.2М, pH 1.2 – для среды желудка, 50 мл 0.2М фосфатный буфер, pH 6.4 – для среды кишечника). После термостатирования при 37°C экстинкцию растворов измеряли спектрофотометрически при 355 нм. Количество высвобождаемого ЛВ определяли по калибровочной кривой, построенной по чистому РХ. Общее количество ЛВ, вовлеченного в гидрогелиевый комплекс и высвободившегося за единицу времени, соответствовало объему на грамм комплекса.

Кинетика высвобождения РХ из пектин-зеиновых микросфер, содержащих CaCl_2 , в условиях, имитирующих среду ЖКТ, приведена на рисунке 3.5.4.1.

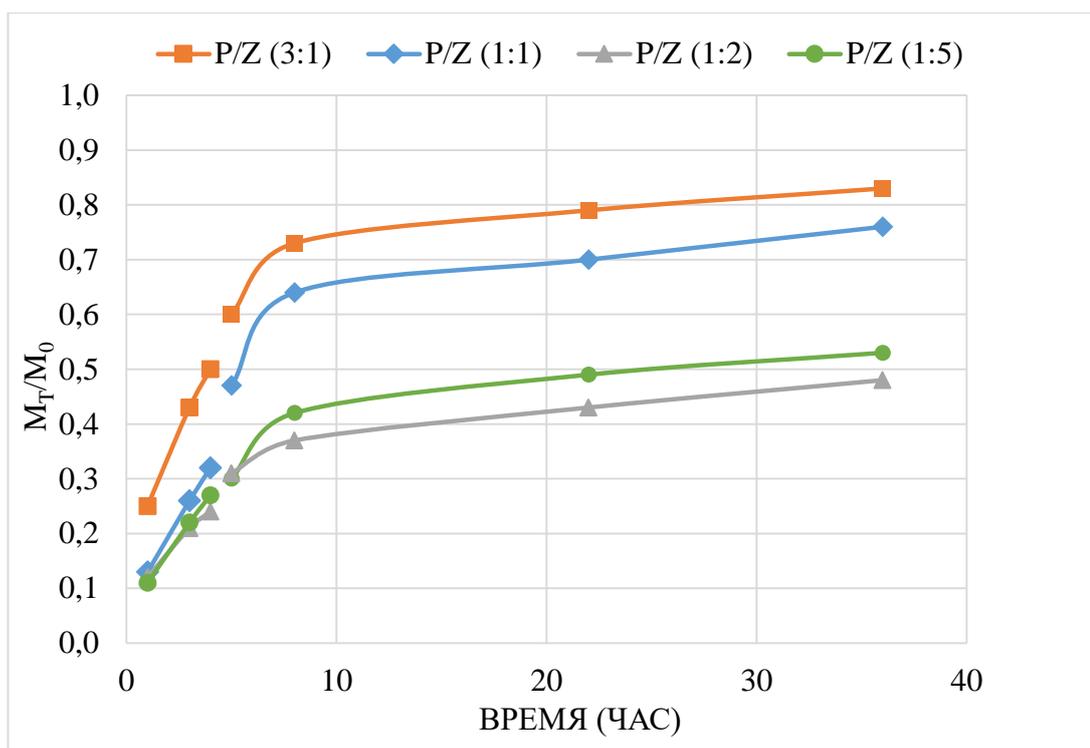


Рисунок 3.5.4.1. – Кинетика высвобождения РХ из ПЗК, содержащих CaCl_2 , в условиях, имитирующих среду ЖКТ: начальные участки кривых линий (до 4 часов при pH 1.2); продолжение кривых при pH 6.4 [109-А].

Как видно из данного рисунка, кинетические кривые имеют традиционный вид и достигают устойчивого передела, также зависящего от состава композиций, главным образом, от содержания зеина.

Полученные результаты подтвердили предположение о том, что комплексы с высоким соотношением пектина (пектин-зеин – 3:1) высвобождают примерно 30-50 вес. % РХ в течение первых трех часов инкубации в среде желудочного сока, а оставшаяся лекарственная форма при замене в среде кишечника линейно высвобождается по механизму кинетики «нулевого» порядка. Увеличение содержания зеина в пектин-зеиновом комплексе (1:1, 1:2, 1:5) приводит к заметному замедлению диффузии и при этом высвобождается до 20 вес. % РХ за тот же промежуток времени. Остальная часть РХ высвобождается по линейному механизму.

Наибольшая степень высвобождения РХ в случае с высоким соотношением пектина происходит за счет процесса релаксации напряжений полимерной сетки

вследствие набухания полимера в данных условиях среды. Увеличение содержания зеина в комплексе приводит к снижению релаксационных процессов полимерной сетки, способствуя уменьшению скорости диффузии. К замедленному высвобождению также ведут гидрофобные взаимодействия зеина с РХ.

Исходя из этого, для оценки механизма высвобождения ЛВ была использована модель Корсмейера-Пеппаса, учитывающая ряд кинетических характеристик, в том числе набухание и растворение матрицы и диффузию ЛВ:

$$M_t/M_\infty = k_1 t^n, \quad (3.5.4.1)$$

где M_t/M_∞ – доля вещества, высвободившегося к моменту времени t ; k_1 – константа скорости высвобождения; n – константа, характеризующая механизм высвобождения ЛВ [328].

Анализ полученных значений констант (k_1 и n) и коэффициента корреляции (R) механизма высвобождения ЛВ (таблица 3.5.4.1) и зависимость данных констант от соотношения пектин-зеин в микросферах (рисунок 3.5.4.2) позволяет сделать вывод о том, что в случае с высоким соотношением пектина в микросферах, процесс десорбции РХ имеет диффузионный характер, а в случае с низким соотношением пектина, наоборот, наблюдается аномальный характер диффузии.

Таблица 3.5.4.1 – Константы уравнения (3.5.4.1) k_1 и n для пектин-зеиновых микросфер, содержащих CaCl_2 , в условиях, имитирующих среду ЖКТ [109-А]

Пектин-зеин	pH 1.2			pH 6.4		
	$k \cdot 10^2, \text{min}^{-1}$	n	R^2	$k \cdot 10^2, \text{min}^{-1}$	n	R^2
6:1	2,32	0,69	0,99	0,47	0,075	0,92
3:1	1,48	0,54	0,99	0,93	0,16	0,85
1:1	1,70	0,67	0,99	1,05	0,18	0,73
1:2	0,87	0,19	0,92	1,47	0,24	0,8
1:5	1,50	0,62	0,99	1,52	0,24	0,95

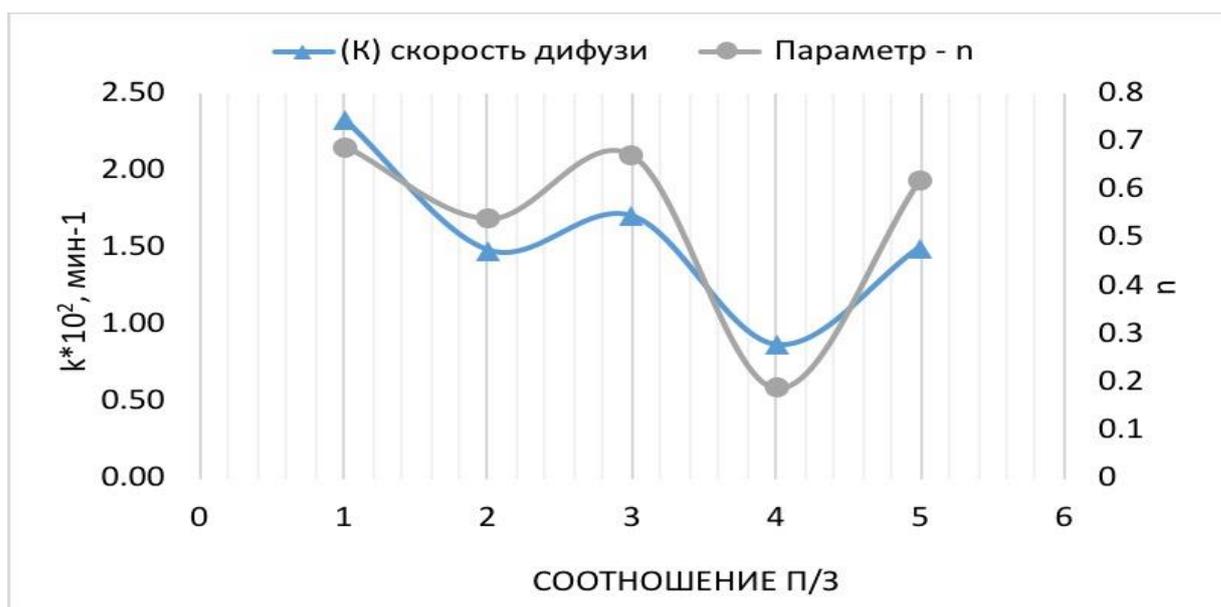


Рисунок 3.5.4.2. – Зависимость параметров k_1 и n от соотношения пектин-зеин в микросферах из цитрусового пектина, содержащих CaCl_2 , при рН в условиях, имитирующем среду ЖКТ [327-А].

Для изучения механизма гелеобразования были получены ПЗК в форме гидрогелиевых шариков с инкапсулированным РХ, сформированные ионами Ca^{2+} и Zn^{2+} . Показано, что замена ионов Ca^{2+} на ионы Zn^{2+} в комплексах с высоким содержанием зеина приводит к уменьшению массы гидрогелиевых шариков и снижению степени насыщения РХ с 95 до 80 вес.%. С увеличением содержания пектина степень насыщения РХ значительно возрастает (от 81 до 86 вес.%). Вклад ионов Zn^{2+} отчетливо проявляется в случае комплексов с соотношением пектин-зеин – 1:1, где инкапсулирование ЛВ достигало 99 вес.% [230].

Кинетика высвобождения РХ из пектин-зеиновых микросфер с цитрусовым НМ-пектином (LM-31), содержащим Zn^{2+} , в условиях, имитирующих среду ЖКТ, приведена на рисунке 3.5.4.3.

Использование этих комплексов (пектин-зеин 3:1, 1:1.5, 1:2), как и было предположено, сдерживает уровень РХ в условиях, имитирующих среду ЖКТ, при рН 1.2 и количество высвобожденного РХ при этом составило 10 вес.%. Высвобождение РХ в буфере, моделирующем среду кишечника, при рН 6.4 происходило следующим образом: начальное быстрое высвобождение,

происходящее вероятно с поверхностного адсорбционного слоя комплексов с последующим спадом во времени.

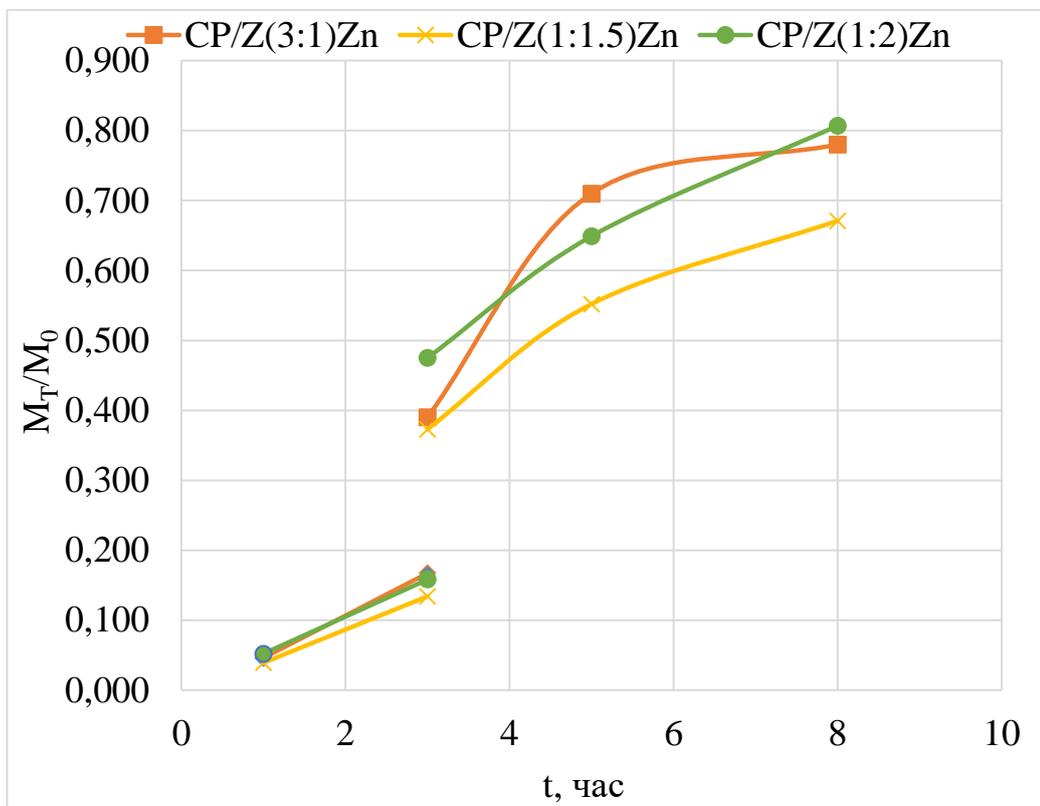


Рисунок 3.5.4.3. – Кинетика высвобождения РХ из ПЗК, содержащих Zn^{2+} и пектин цитрусовый LM-31 в условиях, имитирующих среду ЖКТ: отрезки – линии при pH 1,2, кривые линии – линии при pH 6,4 [109-А].

Как видно из рисунка 3.5.4.3, полученные кинетические кривые соответствуют уравнению реакции «первого» порядка.

Нами ранее в работе [230] было показано, что структуры ПЗК различаются в зависимости от свойств пектина: пектины с высоким содержанием ГК и низкой СЭ в присутствии ионов металлов могут образовывать шарообразные, структурно стабильные гидрогелевые комплексы. Для получения гидрогелевых шариков использовали цитрусовый (LM-9 (GENU L/200)) и высокомолекулярный яблочный (LM Apple M) пектины. Низкомолекулярный яблочный пектин (LM Apple S) в присутствии ионов металлов приводил к

образованию слабоструктурированных гидрогелевых шариков, которые превращались в коацерваты.

Результаты исследований демонстрируют способность подобной доставки защитить лекарство от преждевременного высвобождения в физиологической среде желудка и тонкого кишечника. Следует также подчеркнуть, что СДЛ также должна быть способна поддерживать уровень лекарства в крови в терапевтической дозе до высвобождения его в прямую кишку, что, в конечном счёте, приведет к уменьшению дозы лекарства и усилению терапевтического эффекта. Данные, полученные в настоящем исследовании, удовлетворяют в определенной степени этим требованиям, показывая возможность кинетики высвобождения нулевого порядка лекарства в течение более двадцати четырех часов. Результаты исследований демонстрируют эффективность использования комплексов на основе природных биополимеров в качестве носителей лекарственных препаратов.

Таким образом, на основании проведенного исследования продемонстрирована кинетика высвобождения активного вещества – РХ из СДЛ на основе биополимерных микросфер в условиях, моделирующих среду ЖКТ, что позволило установить некоторые кинетические особенности данных систем. Показано, что полученные СДЛ способны подавлять набухание пектина в желудке и препятствовать разрушению лекарства в верхней части ЖКТ. На основе анализа полученных результатов исследований можно судить об эффективности использования подобной системы в качестве носителей лекарственных препаратов.

3.5.5 Получение глюкозо-галактозного сиропа из молочной сыворотки

Переработка МС по-прежнему является серьезной проблемой для молочной промышленности. МС содержит 5-6% сухих веществ, в том числе лактозу, содержание которой составляет в среднем около 70% от общего количества сухих веществ. В Таджикистане из-за отсутствия экономически эффективной технологии переработки МС долгое время ее большая часть

считалась отходами и сливалась в сточные воды. При этом, не только уничтожался очень ценный пищевой продукт, но и наносился ущерб окружающей среде. Кроме того, существуют проблемы с производством сахара, а импорт этого продукта в Таджикистан очень дорог. Переработка лактозы для получения ГГС позволяет использовать этот новый продукт в качестве сахарозаменителя, что положительно сказывается на политике импортозамещения в республике. Поэтому комплексная переработка с использованием и разработкой новых методов получения компонентов МС в республике является актуальной задачей.

Исходя из этого, наши исследования были посвящены совершенствованию технологии производства ГГС из МС и его использованию в качестве сырья для производства мучных изделий [329]. При оптимизации процесса ферментации пермеата МС β -галактозидазой были определены оптимальные условия гидролиза лактозы, в частности время проведения процесса составил 2 часа. Поскольку степень сладости сиропа является важным фактором, влияющим на его качество, длительность процесса гидролиза приводит к снижению концентрации глюкозы, что в свою очередь, приводит к снижению сладости сиропа, отрицательно влияя на его качество.

С целью упрощения процесса энергосбережения авторами [330] не применялась термообработка для инактивации β -галактозидазы после УФ концентрирования МС и ферментативного гидролиза. В результате активный фермент вызывал разницу в концентрации глюкозы и галактозы в сиропе, что повлияло на конечную сладость сиропа. В связи с этим, при производстве ГГС для улучшения его сладости была использована термообработка с целью определения оптимальных параметров ферментативного гидролиза сывороточного пермеата [331].

Для получения ГГС использовались следующие материалы: кислый пермеат МС с общим содержанием сухих веществ 4,80-5,09% (по данным

Milkoscan™ Mars, Foss, Дания), коммерческая β-галактозидаза (NOLA™ Fit 5500, Chr. HANSEN, Дания) с активностью 7200 BLU и 10% NaHCO₃.

Гидролиз лактозы проведен при 40°C в течение 2 часов, а термообработка – при 80±2°C с коротким временем выдержки 3±2 минуты. Гидролизированный пермеат был концентрирован до 65% и 70% от общего количества сухих веществ в вакуумном испарителе (Heidolph labourta 4000 efficiency, Heidolph Instruments GmbH & Co. KG, Германия). Общее содержание сухих веществ в сиропе определяли на рефрактометре KRUSS (DR301-95, Германия). Моносахаридный состав сиропа установили методом жидкостной хроматографии (Shimadzu, LC-20, Torrance, CA, USA).

Для статистического анализа использовался t-критерий: средние значения парных образцов использовались для получения среднестатистических результатов.

Сравнительный анализ моносахаридного состава ГГС представлен в таблице 3.3.2.1. Из приведенных в таблице данных видно, что количество галактозы уменьшается при термической обработке. Возможно, в процессе термической обработки между сывороточными белками и углеводами протекает реакция Майяра.

Таблица 3.3.2.1 – Сравнительный анализ моносахаридного состава ГГС [330-А]

Углеводы	65% сухих веществ		70% сухих веществ	
	Предыдущий эксперимент, %	Новый эксперимент, %	Предыдущий эксперимент, %	Новый эксперимент, %
Глюкоза	45.0±2.0	42.0±0.2	43.0 ± 3.0	45.2± 0.2
Галактоза	20.0 ± 3.0	15.0± 0.2	24.0 ± 2.0	17.3± 0.1
Неидентифицированные сахара	-	~ 8	-	~ 7,5

Анализ моносахаридного состава показывает, что коммерческие β -галактозидазы способствуют полному гидролизу лактозы до глюкозы и галактозы, обеспечивая более высокий уровень сладости сиропа [332].

Полученные результаты свидетельствуют о том, что для повышения сладости ГГС после гидролиза пермеата сыворотки необходима термообработка. Были получены ГГС с содержанием сухого вещества $65\pm 2\%$ и $70\pm 2\%$. Хроматографический анализ показал, что ГГС содержит 43-48% глюкозы и 16-22% галактозы. Этот факт можно объяснить образованием галактоолигосахаридов, так как β -галактозидаза в условиях эксперимента оставалась активной. Рекомендуется концентрировать ГГС до 65% общего содержания сухих веществ.

Таким образом, на основании результатов проведенных исследований была разработана технология получения ГГС из пермеата МС путем ферментации с β -галактозидазой. Данная технология запатентована в Республике Таджикистан (Приложение Б).

В настоящее время глобальные экологические и экономические кризисы все больше негативно влияют на стабильный уровень обеспечения населения продуктами питания. Исходя из этого, совершенствование и разработка технологий переработки вторичного сырья, содержащего функциональные вещества, и создание на его основе функциональных продуктов является очень важной и актуальной задачей. Исходя из этого, нами предложена технология производства пряников с использованием ГГС и определены органолептические и физико-химические показатели готового продукта.

Результаты практического применения ГГС при производстве пряников на ЗАО «Лаззат» (г. Душанбе) были оформлены в виде акта об испытаниях с научно-экономической оценкой и рекомендациями по применению (Приложение Д).

ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Приоритетным направлением развития промышленности является внедрение и применение современных инновационных технологий, позволяющих производить продукцию более низкой себестоимостью из отходов производства и вторичного сырья. Как известно, их можно использовать либо взамен первичного сырья, либо как принципиально новый вид сырья без существенной обработки и подготовки к применению. Данным требованиям в наибольшей степени отвечает производство полисахаридов из вторичных растительных сырьевых ресурсов. Фруктовые выжимки и КП, которые остаются в многотоннажных количествах при производстве фруктовых соков и подсолнечного масла, являются перспективным сырьём для производства полисахаридов. Но, несмотря на востребованность ПП и ОС их промышленное получение остается сложным и малорентабельным. Основной причиной этого является специфика технологических факторов процесса гидролиз-экстракции ПП (ресурсо- и энергозатраты, экологичность производства и т.д.), существенно увеличивающая себестоимость целевых продуктов, и, тем самым, ограничивающая их доступность для широкого круга потребителей. Учитывая вышесказанное, возникает задача разработки современных рациональных технологий, позволяющих регулировать процесс получения полисахаридов растительного сырья для производства функциональной пищи.

Пектин импортируется в Республику Таджикистан из других стран. Отсутствие в Таджикистане мощностей по производству пектина приводит к удорожанию продукции на его основе для отечественных потребителей. Такая ситуация влияет на рост цен на продукцию, изготовленную из этого ценного вещества.

4.1 Инновационные технологические процессы выделения и очистки пектиновых полисахаридов

4.1.1 Флеш-способ гидролиза пектинов из фруктовых отходов

В данной работе разработан новый способ гидролиз-экстракции ПП – флеш-способ [56], который характеризуется быстрой скоростью экстракции под давлением. Применение этого способа позволило сократить продолжительность процесса гидролиз-экстракции до нескольких минут и оптимизировать значение выхода продуктов распада ПП растительного сырья.

Из данных таблицы 3.1.1.1 видно, что при флеш-способе показатели выходов ПВ и ОС существенно возрастают, за исключением фракции ОС ревеня скального и КП, для которых наблюдается наибольший выход этих фракций при ТМ. Наряду с этим, суммарный выход фракций продуктов распада ПП для Рв и КП этими способами гидролиз-экстракций остаётся практически неизменным. Возможно, это связано с особенностями строения и состава КС растительного сырья.

Как видно из таблицы 3.3.1.2, значение параметров – содержание звеньев ГК и СЭ в зависимости от способа гидролиз-экстракции различаются: для всех видов применяемого сырья содержание звеньев ГК незначительно больше при флеш-способе, а значение СЭ карбоксильных групп, наоборот, больше при ТМ, что свидетельствует о воздействия температуры на СЭ карбоксильных групп пектинов.

Известно, что действие повышенной температуры и давления часто сопровождается уменьшением ММ [261]. Из таблицы 3.3.1.3 видно, что применение флеш-способа незначительно увеличивает этот параметр по сравнению с ТМ, практически не оказывая существенного влияния на значение СЭ. Данные, приведенные в таблицах 3.3.1.2 и 3.3.1.3, наглядно характеризуют особенности процесса гидролиз-экстракции протопектина из различного сырья

растительного происхождения, т.е. полученные флеш-способом ПВ из ЯВГ, Аб, Ткв и КП демонстрируют устойчивость к воздействию высоких температур, а также в сравнении с полученными образцами при ТМ имеют большую ММ.

По данным выхода агрегированных макромолекул обнаруживается аномалии в некоторых образцах ПВ. Как видно, чем выше значение M_z пектина, тем больше вероятность агрегации его молекул, за исключением пектина ЛК. Этот факт, вероятно, объясняется спецификой молекулярной структуры пектина.

Проведённое исследование продемонстрировало очевидное преимущество использования флеш-способа для гидролиз-экстракции ПВ из различных местных сырьевых ресурсов. Применение данного способа будет способствовать значительному увеличению выхода ПП, положительным образом сказываясь на их качестве, ММ и ММР. Кроме того, при флеш-способе исключается длительное воздействие высокой температуры и агрессивной среды, что способствует снижению энергозатратности и дороговизны процессов.

Важной особенностью разработанного способа является то, что полученные пектины в процессе гидролиз-экстракции в автоклаве имеют высокие значения ММ, содержание ГК и оптимальную СЭ. Кроме того, они имеют узкие ММР (низкие значения коэффициентов полидисперсности) и содержат меньше агрегированных фракций – МГ. Помимо гибкости технологических процессов, разработанная технология позволяет работать с различными видами растительного сырья, содержащим пектин [48, 56-58, 62] и имеет ряд преимуществ перед существующими технологиями с точки зрения простоты производства и экологичности [38, 48, 56-58, 62].

4.1.2 Флеш-способ гидролиза пектина из плодов тыквы

Из полученных результатов (таблица 3.1.2.1) следует, что даже под воздействием сравнительно невысокой температуры (85°C) по отношению к флеш-способу, величина распада составляет 77,14%. При 3-х минутной

продолжительности быстрой экстракции, при температуре 120°C, суммарный распад составил 81,08%. Это значение растёт по мере увеличения времени процесса (при 10-и минутном гидролизе) и в конце его достигает 93,65%, при этом выход КС тыквы составила 6,35%.

Как показали исследования, пектины тыквы характеризуются высоким значением СЭ как при ТМ (85,71%), так и флеш-способе (81,69-84,51%). Этот факт свидетельствует о том, что гидролиз-экстракция (ТМ и флеш-способ) и её режимы не оказывают существенного влияния на СЭ пектина из тыквы.

Таким образом, в процессе быстрой экстракции происходит практически полный распад полисахаридов КС тыквы. Выход МГ в начале процесса быстрой экстракции в 7 раз превышает аналогичное значение, полученное при ТМ. Далее, по мере увеличения продолжительности процесса в кинетике выхода МГ наблюдается 2 максимума, что свидетельствует о неравномерности распада ПП. При 3-х минутном гидролизе выход пектина значительно ниже аналогичного значения, полученного при низкой температуре (1,77 и 2,24%, соответственно). С увеличением продолжительности процесса величина выхода пектина непрерывно возрастает, достигая при 10-и минутной экстракции 4,97%.

Плоды тыквы характеризуются высоким содержанием ОС, причем показатели их выхода повышаются с увеличением продолжительности обработки, с некоторой стабилизацией в течение 5-10 минутной экстракции.

Структура и свойства продуктов распада тыквенного протопектина недостаточно изучены, поэтому необходимы детальные исследования физико-химических и молекулярно-массовых параметров, влияющих на основные функциональные свойства целевых продуктов. Полученные образцы перед определением указанных параметров очищались от сопутствующих КС компонентов – БВ, представляющих собой низкомолекулярные фракции, красители, жировосковые вещества и т.д., которые экстрагируются в процессе гидролиз-экстракции и осаждаются вместе с ПВ.

Данные таблицы 3.1.2.2 показывают, что пектин плодов тыквы характеризуется бимодальным ММР и все его образцы являются монодисперсными ($M_w/M_n=1.10-2.74$). Появление второго пика на дифференциальной кривой ММР указывает на присутствие второй низкомолекулярной фракции и позволяет предположить наличие двух субъединиц тыквенного ПП.

Кроме того, все образцы тыквенного пектина были сильно агрегированы с высокими значениями ММ (403.5-999.7 кДа). В то же время основная фракция пектина, полученная ТМ, демонстрировала высокие значения ММ (673,9 кДа), M_z (2069,0 кДа) и низкий показатель полидисперсности ($M_w/M_n=1.93$). Все образцы тыквенного пектина, полученные способом ускоренной экстракции, обладали высокой агрегационной способностью.

4.1.3 Флеш-способ гидролиза пектина из ревеня

Выход пектина при 3-х минутном гидролизе флеш-способом превышает значение выхода, полученного при ТМ. При увеличении продолжительности процесса, выход пектина значительно увеличивается, достигая максимальной величины при 10-и минутном гидролизе. Выход спирторастворимых веществ – ОС, в начале процесса, ниже при экстракции в автоклаве, чем при ТМ. Но с увеличением продолжительности процесса выход увеличивается, достигая при 10-и минутном гидролизе величины, равной значению выхода ОС, полученных ТМ. Снижение выхода МГ и увеличение количества ПВ и ОС указывает на последовательное превращение ПМ в ПП и низкомолекулярные остатки – ОС (таблица 3.1.3.1).

Как видно из данных таблица 3.1.3.1, для МГ и ПВ, полученных из ревеня скального, характерно высокое содержание звеньев ГК. Содержание звеньев ГК достигает величины, равной аналогичному значению при ТМ только при 5-и минутном гидролизе в автоклаве. Далее с увеличением продолжительности

процесса автоклавирования содержание звеньев ГК увеличивается, достигая максимума при 7-и минутном гидролизе. Также видно, что с увеличением продолжительности процесса гидролиз-экстракции в автоклаве, СЭ, содержание МГ и ПВ несколько увеличивается. Причиной этого может быть обогащение основных цепей макромолекул пектина участками, несущими этерифицированные остатки ГК.

Из данных зависимости ММ от объёма элюирования и кривых ММР пектинов ревеня, полученных различными методами (рисунок 3.1.3.1), видно, что при увеличении времени до 7 минут, ММР пектина ревеня становится широким. Также наблюдается увеличение ММ пектина. Основной причиной такого явления, видимо, является экстракция высокомолекулярного полисахарида из вторичных стенок растений. Принимая во внимание высокое значение M_w пектина, полученного в условиях лаборатории при ТМ (времени 60 минут и низкой температуре), можно сделать вывод, что высокомолекулярные фракции пектинов в ревене находятся во вторичных КС.

Вместе с тем, пектины ревеня, в отличие от пектинов из других растительных источников [3, 44], термолабильны и подвергаются деградации в автоклаве при 120°C, даже в течение короткого времени. Также высокое значение ГК в пектинах указывает на преобладание линейных цепей НГ в пектиновых макромолекулах ревеня в отличие от других.

Это исследование также продемонстрировало особенности гидролиз-экстракции пектина из ревеня скального. Пектин из данного сырья отличается от пектинов, полученных из известных источников своей термолабильностью и линейной структурой, высоким значением содержания звеньев ГК, молекулярной массой, а также меньшей полидисперсностью. Таким образом, полученные данные наглядно демонстрируют перспективность использования ревеня скального в качестве сырья для получения высококачественных полисахаридов. Применение метода быстрой гидролиз-экстракции в автоклаве

под давлением наряду с ТМ даст дополнительную возможность регулирования процесса получения целевого продукта с заданными физико-химическими параметрами и позволит сократить расходы на производство полисахаридов.

Анализ полученных данных свидетельствует о возможности получения ценных природных полисахаридов, если использовать в качестве сырья плоды тыквы. Сравнительно низкий выход ПВ удачно компенсируется высоким выходом ОС, которые в настоящее время пользуются быстрорастущим спросом в качестве функциональной пищевой добавки. Исследование влияния продолжительности гидролиза флеш-способом на деградацию ПП тыквы и параметров целевых продуктов позволяют получить дополнительную информацию о структуре макромолекул протопектина растительного происхождения. Результаты данной работы позволяют сделать вывод, что оптимальной продолжительностью процесса быстрой экстракции можно считать 10 минут, когда достигаются оптимальные значения M_w и M_w/M_n образцов, которые определяют применимость данного пектина в процессе гелеобразования.

Таким образом, предложенный способ быстрой экстракции позволяет получать пектин из разных источников с оптимальными параметрами ММ, содержанию ГК и СЭ, что расширяет спектр его применения в различных областях пищевой промышленности и биомедицине.

4.1.4. Динамический метод получения пектинов

В данной части работы обсуждаются результаты сравнительного изучения основных характеристик пектинов, полученных в потоке гидролизующего раствора с известным методом гидролиза в статическом режиме [63].

Из кривых зависимостей выхода продуктов от рН растворов отличие характера изменений значений выходов продуктов гидролиза можно установить путем анализа линейности кривых по соответствующим уравнениям тренда. Эти

уравнения приведены в таблице 3.1.4.2, где по величине достоверности аппроксимации R^2 четко видно, что выход всех продуктов гидролиза в динамическом режиме гидролиза изменяется линейно с изменением pH растворов. Данный факт говорит о том, что при динамическом режиме гидролиз-экстракции полисахаридов КС растений происходит поэтапное расщепление боковых частей рамногалактуранов (RG), при этом выход продуктов гидролиза удается контролировать с помощью pH растворов. При кислотной гидролиз-экстракции и низких значениях pH происходит отщепление только боковых участков цепи макромолекул RG I и RG II, присутствующих в пектине наряду с HG. Это предположение подтверждает и резкое снижение содержания звеньев ГК, которое наблюдается в той же зоне снижения величины pH гидролизующего агента (таблица 3.1.4.2).

В то же время при экстракции пектина хелатным агентом ГМФН в статике его выход незначителен. При этом высокий выход ОС указывает на то, что основное количества пектина в КС подсолнечника находится в виде HG, связанных посредством поперечных связей с ионами кальция, а нейтральная часть пектина при этом удерживается скорее всего HG матриксом, а не гемицеллюлозами, как было установлена для других пектинов [28, 39].

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о преимуществах использования динамического метода гидролиз-экстракции перед ТМ. Управление процессом не только при низких значениях pH, но и при слабокислых (pH 1.6-2.0), позволяет получить ПП с оптимальными структурными параметрами и выходом, что приводит к значительному снижению затрат на производство пектина. Настоящие исследования наглядно продемонстрировали особенности гидролиз-экстракции полисахаридов КП. Установлено, что применение метода динамического гидролиза в колончатом экстракторе обладает рядом преимуществ по сравнению с ТМ, так как позволяет контролировать процесс гидролиза, избегая чрезмерного воздействия кислот и высоких

температур на состав и структуру молекул пектина, выделенного из раствора гидролизата растительного сырья. Это также позволяет повысить показатели целевого продукта, оптимизировать качество ПП и вести процесс в умеренных условиях. Изучение влияния кислотности гидролизующего агента на основные параметры, определяющие качество целевого продукта, позволит разработать селективные, энерго- и ресурсосберегающие технологические процессы, отвечающие требованиям потребителей пектина и экологической безопасности.

4.1.5 Использование мембранной технологии в производстве пектиновых полисахаридов

В настоящее время глобальные экологические и экономические кризисы все больше негативно влияют на стабильный уровень обеспечения населения продуктами питания. Для решения этой проблемы ученые и производственники нашей страны должны приложить значительные усилия, необходимые для совершенствования технологических процессов производства продуктов питания с учетом повышения эффективности использования сельскохозяйственных и других природных ресурсов, являющихся источником для производства функциональной пищи.

В последние годы применение мембранных методов для разделения и концентрирования природных продуктов, в том числе олиго- и полисахаридов, вызывает все больший интерес ученых [276]. Использование мембранных методов обработки в производстве пищевых продуктов позволяет не только создавать замкнутые и безотходные экологически чистые технологии, но и получать пищевые продукты, обладающие пищевой и биологической ценностью и ярко выраженными вкусовыми качествами [276]. Эти методы особенно важны при переработки жидких пищевых продуктов, содержащих ценные термолабильные компоненты, к которым относятся овощные и фруктовые соки, пектиновые экстракты, экстракты лекарственных трав и т.д. Мембранная

технология может быть использована для разделения, очистки, фракционирования и концентрирования биологических жидкостей с минимальными энергетическими затратами и без фазовых переходов обрабатываемого сырья, что обеспечивает сохранение ее исходных свойств [276].

Пектин, используемый при лечении раковых заболеваний, кроме того, что должен быть тщательно очищен от всех посторонних веществ, должен иметь ММ в пределах 10-35 кДа, СЭ не более 10%, очень низкое содержание ацетильных групп и рН 1% раствора равным 6.3 [333-335]. Пектин с данными свойствами целесообразно получать из различного растительного сырья с применением мембранных методов разделения.

Таким образом, использовании мембранной технологии позволяет получать ПВ не только с заданными свойствами, но создавать безотходные или малоотходные ресурсосберегающие технологии и экологически чистые производства.

В процессе УФ концентрирования ПП производительность установки со временем падает, причинами этому могут быть концентрационная поляризация, адсорбция [70] и агрегация пектиновых макромолекул [261]. Формированию слоя геля на поверхности мембраны в основном способствуют ПВ и целлюлоза. Авторы [83] для восстановления и очистки мембран рекомендуют применение композиции, содержащей смесь ферментных препаратов пектолитического и карбогидразного действия.

Направление и характер потока раствора при фильтрации имеют ряд отличий. При обычных УФ поток жидкости направлен перпендикулярно поверхности фильтра, а при тангенциальной фильтрации он движется коллинеарно. Различаются также свойства фильтрационного материала, степень разделения, конструктивное оформление [70, 71, 248, 280].

Система ТДУФ была разработана совместно с учеными из МХТИ им. Д.И. Менделеева и состоит из металлического каркаса, 2 ретентатов и пермеатных труб в

сборе с 24 муфтами, центробежным насосом (тангенциальный поток), системой контроля давления, УФ мембран с мест для модулей из полых волокон и два контейнера по 100 и 550 литров [83, 248].

Основные параметры процесса ТДУФ пектиновых растворов, полученных из ЯПФ и КП при различном режиме гидролиза (при температуре 100-130°C, pH 2.0, продолжительностью 5 и 7 минут) даётся в таблице 3.1.5.2.1. Как видно, при концентрировании в 1.5 раза ($K=1.5$) производительность мембраны в начале процесса составляет 31.30 л/м²ч, а в конце процесса эта величина снижается почти в два раза. Во втором цикле ТДУФ производительность обеих используемых мембран была восстановлена до 76-85%. На производительность мембраны влияет как концентрация раствора пектина, так и его степень деградации и M_w , которая зависит от режимов процесса гидролиза (таблица 3.1.5.2.2). Из данных, приведенных в таблицах 3.1.5.2.1 и 3.1.5.2.2, не удалось установить зависимость производительности мембраны от концентрации и M_w .

Например, при сравнении значений M_w яблочных пектинов ЯПФ-100-7 и ЯПФ-120-7 трудно объяснить столь заметную разницу в производительности мембраны ВПУ-100. Однако сравнение значений M_z и R_h этих пектинов позволяет получить информацию о степени агрегации полисахаридов. Действительно, несмотря на низкую ММ пектин ЯПФ-120-7 имеет более высокое значение M_z и низкое значение R_h , чем пектин ЯПФ-100-7. Это свидетельствует о том, что данный пектин склонен к агрегации, что существенно снижает производительность мембраны.

Более высокий выход пектина и низкое содержание ГК при спиртовом способе свидетельствуют о том, что конечный продукт имеет более низкую степень очистки. Высокая степень очистки наблюдается в конечном продукте, очищенном ТДУФ, в котором содержание БВ, ухудшающих потребительские свойства пектина, уменьшается в 3-6 раза.

Следует отметить, что содержание ГК у яблочного пектина ЯПФ-130-5 увеличивается от 57.6 до 68.4% при однократной ТДУФ и достигает значения 73.2% при двукратной ТДУФ. В случае подсолнечного пектина ТДУФ с использованием мембран ВПУ и ПС позволила увеличить содержание ГК от 64.4 до 81.6% и 85.2%, соответственно. Вместе с тем, как было отмечено выше, высокое содержание БВ в исследуемых образцах приводит к заметному уменьшению выхода пектина. При этом содержание БВ обусловлено высоким содержанием нейтральных полисахаридов и других низкомолекулярных компонентов в КС сырья, извлекаемых в процессе гидролиз-экстракции вместе с пектином [248, 281].

Для детального анализа влияния СО и ТДУФ методов на структуру и качество пектина был использован метод 1D и 2D ЯМР-спектроскопии. Для этой цели, принимая во внимание сложность экспериментов ЯМР, были проведены только ЯМР-спектры яблочного пектина (ЯПФ-120-7) и анализирована его структура, так как структурные характеристики этого пектина хорошо описаны в литературе [282-287].

ЯМР-спектр ^{13}C образцов яблочного пектина (рисунок 3.1.5.4.1), полученных обоими методами, показывает сигналы, относящиеся к гликозильным остаткам, которые представляют основной остов макромолекулы пектина, т.е. HG и RG областей [282-287].

Таким образом, в дополнение к первичным характеристикам пектина (содержание ГК и СЭ), применение комбинация 1D и 2D ЯМР-спектроскопии убедительно демонстрирует отличие изученных в работе [248] методов очистки пектинов. Сравнение двух наборов спектров (^1H ЯМР и ^{13}C ЯМР) показывает, что процесс ТДУФ удаляет из пектиновых растворов больше свободных примесей (моносахариды и другие низкомолекулярные балласты), которые отрицательно сказываются на качестве пектина, что делает этот метод предпочтительнее для

использования в производстве. Кроме того, применение этого метода делает производство пектина более экологически безопасной технологией.

ММ и ММР полимеров являются ещё одним параметром для оценки качества пектина. ММ и ММР анализировали с помощью ЭЖХ, как описано в предыдущих работах [3], и методом МУЛС [288]. Значения M_w , M_n и M_z для пектина были получены с использованием универсальной калибровки.

При просмотре зависимости дифференциального распределения молекул по массе от ММ (рисунок 3.1.6.1) для образцов пектина яблочных выжимок и КП, полученных традиционным способом очистки по сравнению с методом очистки ТДУФ, ясно видно, как кривая ММР пектина имеет тенденцию к мономодальному и симметричному распределению макромолекул путем удаления примесей с низкой молярной массой из пектинового раствора.

Действительно, из анализа данных содержание ГК, 1D и 2D ЯМР-спектроскопии и молекулярных размеров образцов пектина, очищенных ТМ и методом ТДУФ можно увидеть, что применение ДУФ позволяет успешно извлекать низкомолекулярные фракции, что приводит к снижению полидисперсности образцов (рисунок 3.1.6.2), повышению чистоты конечного продукта (таблица 3.1.5.3.1) и увеличению ММ (таблица 3.1.6.1), что делает этот метод предпочтительнее.

Расход этанола, для осаждения пектина из концентрированного раствора пектина, и мощность, потребляемая соответственно для вышеуказанных демонстрационных способов, представлены в таблице 3.1.7.1. Эксперименты на пилотной установке [248] наглядно демонстрируют эффективность процесса ТДУФ по расходу спирта и энергии в производстве пектина (таблица 3.1.7.1).

В отличие от известных способов очистки содержащей пектин жидкости предлагаемый способ позволяет полностью очистить гидролизат от нейтральных полисахаридов и других низкомолекулярных веществ и одновременно улучшить качество пектина и повысить производительность ДУФ установки. Более того,

использования ТДУФ для очистки и концентрирования пектиновых гидролизатов исключает необходимость в дополнительном концентрировании пектинового гидролизата в вакуум-выпарной установке.

Гибкость технологической схемы, кроме того, позволяет обрабатывать различные виды сырья и получать широкий диапазон полупродуктов (ДВ, пектиновый гель, нейтральный сахар и антиоксиданты) и могут быть использованы для получения лечебно-профилактических и оздоровительных пектинсодержащих напитков и продуктов питания.

В пищевой промышленности потребители делятся на три основные группы:

- предприятия кондитерской промышленности – 67% потребления;
- предприятия по производству молочных продуктов – 17% потребления;
- предприятия по производству консервной, масложировой и безалкогольной промышленности – 7% потребления;
- фармацевтические предприятия – 10%.

Стоимость пектина, предназначенного для данных отраслей, составляет на мировом рынке 19-25 USD за 1кг.

Фармацевтический рынок Таджикистана на сегодняшний день не использует пектин. В этой связи можно создать биологические активные добавки (БАД) и продукты, содержащие пектин, которые могут быть применены для определенных потребителей и отдельных групп населения.

Не смотря на то, что на мировом рынке наблюдается рост (на 10-20%) новых продуктов на основе пектинов: низко-сахаристые джемы, стабилизированные кисломолочные продукты на основе НМ-пектинов, напитки, содержащие кальций для детей, заменитель жира на основе пектина, рынок продуктов питания, обогащённых НМ-пектином, обладающим оздоровительными, защитными и лечебно-профилактическими свойствами, сегодня еще свободен от конкуренции и чрезвычайно обширен. Например,

работникам вредных производств ежедневно наряду с потреблением 0,5 л молока обязательно должны выдаваться продукты с содержанием 2 гр. пектина. Частично, лишь благодаря импорту данного продукта, удовлетворяют сегодня свои потребности в пектине кондитерские и фармацевтические предприятия.

4.1.6 Моделирование технологических процессов в производстве пектина

Современные тенденции развития технологий получения пектина свидетельствуют о том, что важнейшими задачами технологических процессов производства пектина по-прежнему остаются безопасность и экологичность, а также получение продуктов высокого качества и с заданными свойствами. Как было отмечено ранее, для получения ПВ с определёнными физико-химическими свойствами необходимо регулирование многочисленных технологических параметров производства с учетом влияния различных факторов и свойств исходного сырья. Решением данной задачи является проведение оптимизации путём построения математической модели технологического процесса и проведение исследования этой модели производства [92].

В технологии производства ПП одним из основных процессов является гидролиз-экстракция, от которой напрямую зависит качество конечного продукта и его выход. Однако, в настоящее время теоретические основы данного процесса еще недостаточно изучены, т.е. в предлагаемой технологии этот процесс в целом не рассматривается как комплексная математическая модель, с помощью которой не только можно было бы оценить воздействие различных факторов с учетом особенности растительного сырья, но и провести управляемую гидролиз-экстракцию с нахождением оптимальных условий проведения и расчета его параметров [80].

Нами проанализирована задача идентификации кинетики дисперсионной сушки раствора пектинового концентрата и управление физико-химическими параметрами технологического процесса в распылительной сушильной

установке для получения продукта высокого качества и интенсификации процесса сушки с целью увеличения производительности установки. Разработана математическая модель процесса сушки пектинового раствора на распылительной сушилке с учётом процессов тепло- и массообмена. Исследована система автоматического управления с пропорционально-интегрально-дифференциальным регулятором и предиктором Смита объекта с запаздыванием. Показано, что при малых значениях запаздывания система автоматического управления с предиктором Смита, даёт лучшие показатели по качеству переходного процесса.

Как показывает анализ и систематизация литературных данных, выбор и оптимизация технологических процессов производства пектина – гидролиз-экстракции, очистки, концентрирования и сушки на основе построения математической модели процессов с учётом разработки методов, снижающих или практически исключающих применение химических реагентов и получения конечных продуктов с заданными физико-химическими и технологическими свойствами, является важной и актуальной задачей на сегодняшний день.

Для решение данной задачи в работе рассматривается оптимизация параметров процесса гидролиз-экстракции ПП флеш-способом с использованием математических моделей [48, 56-58, 80]. В процессе эксплуатации поверхность мембраны периодически очищается для частичного восстановления ее фильтрующей способности. При этом весь процесс делится на отдельные стадии, каждая из которых имеет постоянные внешние условия и непрерывные изменения характеристик. Момент окончания очередного этапа и начала следующего связан с очисткой поверхности. Как показывает практика, время, необходимое для очистки, составляет лишь малую часть продолжительности одного этапа. В данном разделе предлагается математическая модель процесса изменения производительности мембраны как

за счет образования сплошного гелевого слоя, так и за счет блокирования отдельных пор [92].

Таким образом, совместное решение системы дифференциальных уравнений, выраженных в нормальной форме Коши, описывающих этот технологический процесс, наглядно показывает, что эффективность системы фильтрации, т.е. производительность фильтрационной установки может быть повышена с увеличением частоты промывок. В производстве пектина применение предлагаемого способа позволяет исследовать технологические данные на стадии проектирования, определить оптимальные условия и направить процесс на увеличение выхода и оптимизацию качества [92].

4.1.7 Моделирование технологических процессов на примере производства пектиновых веществ из выжимок яблок

На основе разработанного предварительного моделирования технологических процессов производства (рисунок 3.2.1.1.1) разработана информационно-логическая модель технологического процесса производства пектина из выжимок яблок [91, 92]. Получение пектина флеш-способом с использованием раствора слабой кислотности и проточной мембранной технологии [56] позволяет в короткий срок получить из растительного сырья, произрастающего в различных регионах республики, очищенный УФ экстракт пектина.

По результатам проведенных исследований основных технологических стадий производства пектина и расхода массовых потоков между звеньями была разработана математическая модель технологических процессов производства ПВ с использованием моделей авторегрессии-проинтегрированного скользящего среднего. Предложена принципиальная схема управления технологическим процессом производства пектина на основе алгоритмов нейро-нечеткой логики. Проведенные вычислительные эксперименты позволили также получить

графическое описание динамики состояния технологической системы данного вида сырья. На основе моделирования и оптимизации физико-химических параметров отдельных процессов производства ПП и разработанной принципиальной схемы автоматического управления технологических процессов предложена программа для возможного запуска промышленного производства пектина [80].

Таким образом, применение предложенной программы автоматического управления позволит не только оптимизировать параметры технологических процессов на всех этапах производства ПП и обеспечить полный контроль хода производства, но и получить пектины высокого качества и с низкой себестоимостью.

4.2 Выделение и идентификация белков – лактоглобулинов из молочной сыворотки и зеина из кукурузы

4.2.1 Выделение сывороточных белков и лактозы с применением мембранных методов

Нами разработан селективный лабораторный метод (ЛМ) выделения LgC из концентрата творожной сыворотки молочной фабрики «Саодат» путем УФ [266]. Этим методом можно отделить казеин и альбумины МС от Lg. Этапы: подкисление сыворотки до рН 4.0, центрифугирование, УФ горячей сыворотки на мембране PS/50 (Spectrum Lab., США) или УПМ-П и УАМ-175 (Владипор, Россия). Показано, что на выход LgC оказывает влияние рН, температура и ММ компонентов МС. Полученные результаты и исследованные образцы молочно-белковых концентратов могут быть использованы в технологии производства концентрата МС и молочных продуктов в качестве дополнительного компонента для повышения пищевой ценности готового продукта.

Полученные результаты показывают, что пермеат МС далее можно использовать для получения лактозы, ферментативный гидролиз которой даёт

ценный продукт – ГГС. Данный продукт приобретает профилактические свойства, что связано с высоким содержанием минеральных веществ и белков. Кроме того, использование местного растительного сырья (фрукты, овощи, орехи, бобовые и другие злаковые культуры), а также дикорастущих лекарственных и пищевых растений позволит производить функциональные молочные продукты, обогащённые комплексом необходимых БАВ, обеспечивающих физиологические потребности различных групп населения.

4.2.2 Выделения зеина из кукурузной муки и его характеристика

Зеин был выделен из кукурузной муки последовательной экстракцией альбуминов и глобулинов водой и 0.1 М NaCl, затем зеины 75% этанолом. Методом турбидиметрического титрования были определены ММР зеинов. Приведённые исследования полидисперсности макромолекул зеина, выделенного из кукурузной муки местного производства, представляют большой интерес для дальнейшего изучения и определения механизмов их гелеобразования с целью использования в практической медицинской и пищевой промышленности [269].

4.3 Гидрогели на основе пектинов и их комплексы с белками

4.3.1 Гелеобразования низкометилованных пектинов с ионами кальция в разбавленном и концентрированном растворах

Показано, что *в разбавленных растворах* при взаимодействии пектиновой макромолекулы с ионами кальция происходит серия конформационных изменений – от обычного экранирования заряда до образования агрегатов, подобных структуре «яичной коробки». Димеризация цепи и ассоциация макромолекул, по-видимому, происходят кооперативно, что подтверждается резким возрастанием гидродинамических характеристик разбавленных растворов

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

В *концентрированном растворе* изучены реологические свойства желе, приготовленного на основе НМ-пектина под влиянием температуры, концентрации пектина, продолжительности варки и содержания кальция. Установлено, что НМ-пектин из КП, полученный под действием хлорида натрия обладает широким диапазоном рН желеобразования и, при прочих равных условиях, отличается высокой ПГ. Максимум прочности геля от количества ионов кальция следует отнести к области эквимольных соотношений ионов кальция и карбоксильных групп пектиновых веществ. Обнаружено, что значение M_z пектинов связано со степенью агрегации макромолекулы. На основе систематического анализа значений M_z была обнаружена связь между степенью молекулярной агрегации и отношением M_z/M_w и впервые определены факторы, влияющие на прочность гелеобразования. Также было установлено, что уменьшение СЭ приводит к увеличению желеобразующих свойств НМ-пектина.

Результаты, полученные в данной работе, могут быть применены при производстве жележных продуктов в различных отраслях пищевой промышленности.

4.3.2 Систем доставки лекарственных веществ и пищевых ингредиентов

ПЗК, содержащие в качестве модельного действующего вещества противовоспалительный препарат РХ, были разработаны для создания СДЛ и пищевых ингредиентов и обеспечения их целостности в физиологической среде

желудка и тонкого кишечника. Механизм действия таких систем основан на том, что пектин, стабилизированный сшитыми ионами металлов (Ca^{2+} , Zn^{2+}), способен защищать протеины от действия протеаз. Зеин располагается на поверхности и внутри полимерной сетки и препятствует быстрому высвобождению ЛВ.

В данном исследовании были определены оптимальные условия получения инкапсулированного лекарственного комплекса на основе природных биополимеров – пектина и зеина. Полученные данные показывают, что степень насыщения РХ в комплексе зависит от соотношения пектина и зеина, и чем больше зеина в комплексе, тем выше степень связывания РХ. Степень набухания полимера уменьшается с увеличением количества зеина. Показано, что на свойства протеин-полисахаридного комплекса влияют природа биополимера, его соотношение, степень набухания, ММ, плотность заряда и другие факторы. Установлено, что ионы Zn^{2+} способствуют формированию более компактной структуры с пектином в качестве сшивающего металла по сравнению с ионами Ca^{2+} , что является важным при создании носителей лекарственных препаратов, устойчивых к преждевременному высвобождению ЛВ в верхних отделах ЖКТ [254] 326. Кроме того, гидрогели, содержащие ионы цинка, показали большую механическую прочность, чем гидрогели, содержащие ионы кальция, при контакте с физиологическими растворами. При формировании микросфер с использованием НМ-пектина сшивка происходит в основном с ионами двухвалентных металлов, а в случае с ВМ-пектином биополимерные комплексы образуются за счет гидрофобных взаимодействий. В результате можно получить серию микросфер на основе пектина и зеина, которые являются биоразлагаемыми и биосовместимыми полимерами, и применять их для разработки лекарственных носителей с контролируемым высвобождением.

Результаты исследований демонстрируют способность подобной доставки защитить лекарство от преждевременного высвобождения в физиологической

среде желудка и тонкого кишечника. Согласно проведенному исследованию продемонстрирована кинетика высвобождения активного вещества – РХ из СДЛ на основе биополимерных микросфер в условиях, моделирующих среду ЖКТ (*in vitro*) и позволивших установить некоторые кинетические особенности данных систем. Показано, что полученные СДЛ способны подавлять набухание пектина в желудке и препятствовать разрушению лекарства в верхней части ЖКТ. На основе анализа полученных результатов исследований можно судить об эффективности использования подобной системы в качестве носителей лекарственных препаратов.

ВЫВОДЫ

1. Проведено систематическое обобщение экспериментальных и литературных данных по разработке эффективных методов производства пектина из различных источников сырья, выявлены условия получения СДЛ и нутриентов на их основе [1А-37А].

2. Разработаны новые методы гидролиз-экстракции пектинов фруктовых выжимок с применением флеш-способа – способа быстрой экстракции под давлением и динамический метод гидролиз-экстракции пектина из КП, позволяющие сократить продолжительность процесса гидролиза, избежать чрезмерного воздействия кислот и высоких температур на состав и структуру молекулы пектина и управлять процессом с целью получения ПП с оптимальными структурными параметрами и выходом, что приводит к значительному снижению затрат и гибкости технологической линии производства пектина [1-А], [7-А], [8-А], [22-А], [24-А], [25-А], [29-А], [33-А], [38-А].

3. Исследованы ДУФ очистка и концентрирование пектинового гидролизата. Доказано, что в отличие от известных предлагаемый метод позволяет полностью очистить пектиновый гидролизат от нейтральных полисахаридов и других низкомолекулярных веществ с одновременным улучшением качества пектина (ММ, содержания ГК и СЭ), что делает возможным его применение в различных областях пищевой промышленности и биомедицине [5-А], [9-А], [20-А], [39-А], [42-А].

4. Показано, что при оптимизации процесса ДУФ путём разработки математической модели и изучение этой производственной модели, производительность установки повышается за счёт увеличения числа циклов диализа. На основе моделирования и оптимизации физико-химических параметров отдельных процессов производства ПП и разработанной принципиальной схемы автоматического управления технологических

процессов предложена программа для возможного запуска промышленного производства пектина [27-А], [46-А], [57-А].

5. Научно обоснованы и предложены методы выделения LgC и лактозы из МС с использованием сочетания методов центрифугирования и УФ, что позволит производить функциональные молочные продукты, обогащённые комплексом необходимых БАВ, обеспечивающих физиологические потребности различных групп населения [16-А], [30-А], [39-А].

6. Изучен механизм гелеобразования НМ-пектина и показано, что в присутствии поливалентных металлов, за исключением кальция, происходят внутримолекулярные конформационные изменения, связанные с образованием димеров и полимерных агрегатов вплоть до фазового разделения сильно набухшего геля. Кроме известных параметров процесса гелеобразования пектина, предложено использовать значения показателя полидисперсности (M_z/M_w), отражающего степень молекулярной агрегации, что впервые позволило определить новый фактор, влияющий на прочность студня [11-А] [13-А], [26-А], [31-А], [35-А], [51-А].

7. Предложено инотропное гелеобразование пектинов в присутствии двухвалентных катионов с целью разработки условий получения комплексов на основе пектина и зеина с инкапсулированными лекарствами, устойчивыми к действию среды желудка. Показано, что ионы Zn^{2+} способствуют формированию более компактной структуры с пектином в качестве сшивающего металла по сравнению с ионами Ca^{2+} , что является важным при создании носителей лекарственных препаратов, устойчивых к преждевременному высвобождению ЛВ в верхней части ЖКТ [3-А], [4-А], [41-А].

8. Найдены оптимальные условия получения инкапсулированного лекарственного комплекса на основе природных биополимеров – пектина и зеина. Показано, что на процесс комплексообразования и степень насыщения ЛВ влияют природа биополимеров, их пропорции, а также наличие и тип двухвалентного металла. При формировании микросфер с НМ-пектином комплекс образуется в основном за счет сшивки с ионами двухвалентных

металлов, а в случае с ВМ-пектином посредством гидрофобных взаимодействий биополимера [4-А], [6-А], [14-А] [19-А].

9. Продемонстрирована кинетика высвобождения активного вещества – РХ из СДЛ на основе биополимерных микросфер в условиях, имитирующих среду ЖКТ, что позволило установить некоторые особенности кинетики данных систем. Показано, что полученные комплексы способны подавлять набухание пектина в желудке и препятствовать разрушению лекарства в верхней части ЖКТ [3-А], [6-А], [18-А], [50-А], [51-А], [54-А].

РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ПРАКТИЧЕСКОМУ ИСПОЛЬЗОВАНИЮ РЕЗУЛЬТАТОВ

По результатам, полученным в данной работе, рекомендуется:

1. Предложенные способы – флеш-способ и динамический способ гидролиз-экстракции ПВ и разработанная на их основе технология позволяют получать пектин с оптимальными физико-химическими свойствами из различных источников. Данная технология может найти применение для промышленного производства пектина из любого содержащего пектин сырья, полученный пектин может быть использован в различных областях пищевой промышленности и биомедицине.
2. Разработанный ТДУФ метод для очистки и концентрирования пектиновых гидролизатов позволяет полностью очистить пектиновые растворы от нейтральных полисахаридов и других низкомолекулярных веществ, отрицательно влияющих на качество пектина, отрицательно влияющих на качество пектина. Кроме того, использование данного метода делает технологию производства пектина более предпочтительным с экологической точки зрения.
3. Предложенная программа автоматического управления, основанная на моделировании и оптимизации физико-химических параметров отдельных процессов производства ПП, и разработанная принципиальная схема автоматического управления технологическими процессами могут быть применены для возможного запуска промышленного производства пектина.

4. Разработанный селективный ЛМ выделения LgC из МС с использованием процесса УФ разделения и полученные образцы молочно-белковых концентратов могут быть использованы в технологии производстве концентрата МС и молочных продуктов в качестве дополнительного компонента для повышения пищевой ценности готового продукта. Полученный ГГС в результате ферментативного гидролиза лактозы УФ-пермиата МС может быть использован в качестве сахарозаменителя при производстве мучных кондитерских изделий.
5. Результаты исследований гелеобразующих свойств пектина с учетом влияющих факторов на прочность гелеобразования могут быть применены при производстве жележных продуктов в различных отраслях пищевой промышленности.
6. Проведенные исследования процессов связывания и осаждения сывороточных белков яблочным НМ-пектином показывают перспективность использования пектина и белков МС в качестве ценных биологических добавок, обладающим защитными и профилактическими свойствами. На основе данного испытания рекомендуется использовать НМ-пектин вместо импортных стабилизаторов при производстве кисломолочных продуктов.
7. Полученные результаты по разработке гидрогелиевых микросфер на основе природных биополимеров – пектина и зеина с инкапсулированным лекарством, а также проведенные эксперименты по изучению кинетики высвобождения ЛВ из СДЛ позволяют судить об эффективности использования подобной системы в качестве носителей БАВ. Результаты исследования могут быть использованы при разработке носителей с контролируемым высвобождением БАВ в пищевой промышленности, в биомедицине и фармакологии. Разработанные и адаптированные экспериментальные методики для изучения кинетики высвобождения ЛВ из СДЛ, полученных в условиях, имитирующих среду ЖКТ, могут быть использованы в лаборатории для скрининга и предварительной оценки эффективности полимерных систем для доставки БАВ.

Результаты практического применения пектина в качестве гелеобразователя и стабилизатора и применения ГГС на пищевых предприятиях

Республики Таджикистан были оформлены в виде актов испытаний и экспертных заключений с научно-экономической оценкой эффективности практического применения и рекомендациями по применению:

- Акт об испытании применения пектинового концентрата при производстве мармелада на фабрике «Ширин» (ОАО, г. Душанбе), (Приложение В);
- Акт об испытании применения пектинового концентрата при производстве кондитерских изделий на фабрике «Ширин» (ОАО, г. Душанбе), (Приложение Г);
- Акт об испытании применения глюкозо-галактозного сиропа при производстве пряников на «Лаззат» (ЗАО, г. Душанбе) (Приложение Д);
- Экспертное заключение по применению пектинового раствора для стабилизации кисломолочных продуктов (кефира и фруктового йогурта) на «Комбинати шири Душанбе» (АОЗТ, г. Душанбе) от 10.07.2013 (Приложение Е).

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Производство пектина. Применение центробежной техники компании. «Вестфалия сепаратор» ФРГ // Пищевая промышленность. – 2006. – № 9. – С. 32-33.
2. Статистический ежегодник Республики Таджикистан // Статистический сборник / АСПРТ. – Душанбе, 2021. – 466 с.
3. Muhidinov Z.K. Physico-Chemical Characterization of Pectic Polysaccharides from Various Sources Obtained by Steam Assisted Flash Extraction (SAFE) / Z.K. Muhidinov, Kh.I. Teshayev (Kh.I. Ikromi), A.C. Jonmurodov, D.Kh. Khalikov, M. Fishman // Macromol. Symp. Editors: V. Aseyev, H. Tenhu. – 2012. – V. 317-318, № 1. – P.142-148.
4. Халиков Д.Х. Влияние молекулярной массы на желирующие свойства пектина / Д.Х. Халиков, А.Ш. Штанчаев, З.К. Мухидинов // Сборник трудов Всесоюзной школы-семинара по применению метода ультрацентрифугирования в химии и биологии «Аналитическое ультрацентрифугирование в химии и биологии». – Душанбе, 1987. – С. 140-145.
5. Munarin F. Advances in biomedical applications of pectin gels / F. Munarin, M. C. Tanzi, P. Petrini // Int. J. Biol. Macromol. – 2012. – V. 51, – № 4. – P. 681-689.
6. US Patent 5929051. Aloe Pectins / Ni Y., Yates K.M., Zarzycki R. US, 1999.
7. Maneerat N. Effect of extraction condition on properties of pectin from banana peels and its function as fat replacer in salad cream / N. Maneerat, N. Tangsuphoom, A. Nitithamyong // J. Food Sci. Technol. – 2017. – V. 54, № 2. – P. 386-397.
8. Urias-Orona V. A Novel Pectin Material: Extraction, Characterization and Gelling Properties / V. Urias-Orona et al. // Int. J. Mol. Sci. – 2010. – V. 11, № 10. – P. 3686-3695.
9. Bagherian H. Comparisons between conventional, microwave- and ultrasound-assisted methods for extraction of pectin from grapefruit / H. Bagherian et al. // Chem. Eng. Process. Process Intensif. – 2011. – V. 50, № 11-12. – P. 1237-1243.

10. Wai W.W. Optimization of pectin extraction from durian rind (*Durio zibethinus*) using response surface methodology / W.W. Wai, A.F.M. Alkarkhi, A.M. Easa // *J. Food Sci.* – 2009. – V. 74, № 8. – P. C637-41.
11. Jayani R.S. Microbial pectinolytic enzymes: A review / R.S. Jayani, S. Saxena, R. Gupta // *Process Biochem.* – 2005. – V. 40, № 9. – P. 2931-2944.
12. Deroeck A. Effect of high pressure/high temperature processing on cell wall pectic substances in relation to firmness of carrot tissue / A. Deroeck et al. // *Food Chem.* – 2008. – V. 107, № 3. – P. 1225-1235.
13. Zhang C. Optimisation of pectin extraction from sweet potato (*Ipomoea batatas*, *Convolvulaceae*) residues with disodium phosphate solution by response surface method / C. Zhang, T. Mu // *Int. J. Food Sci. Technol.* – 2011. – V. 46, № 11. – P. 2274-2280.
14. Vriesmann L.C. Extraction and characterization of pectin from cacao pod husks (*Theobroma cacao* L.) with citric acid / L.C. Vriesmann, R.F. Teófilo, C. Lúcia de Oliveira Petkowicz // *LWT - Food Sci. Technol.* – 2012. – V. 49, № 1. – P. 108-116.
15. Malviya R. Extraction and characterization of mango peel pectin as pharmaceutical excipient / R. Malviya, G.T. Kulkarni // *Polim. Med.* – 2012. – V. 42, № 3-4. – P. 185-190.
16. Sudhakar D.V. Isolation and characterization of mango peel pectins / D.V. Sudhakar, S.B. Maini // *J. Food Process. Preserv.* – 2000. – V. 24, № 3. – P. 209-227.
17. Kulkarni S.G. Effect of extraction conditions on the quality characteristics of pectin from passion fruit peel (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* L.) / S.G. Kulkarni, P. Vijayanand // *LWT - Food Sci. Technol.* – 2010. – V. 43, № 7. – P. 1026-1031.
18. Kliemann E. Optimisation of pectin acid extraction from passion fruit peel (*Passiflora edulis flavicarpa*) using response surface methodology / E. Kliemann et al. // *Int. J. Food Sci. Technol.* – 2009. – V. 44, № 3. – P. 476-483.
19. Woo K.K. Pectin Extraction and Characterization from Red Dragon Fruit (*Hylocereus polyrhizus*): A Preliminary Study / K.K. Woo et al. // *J. Biol. Sci.* – 2010. – V. 10, № 7. – P. 631-636.

20. Pagán J. Extraction and characterization of pectin from stored peach pomace / J. Pagán et al. // *Food Res. Int.* – 2001. – V. 34, № 7. – P. 605-612.
21. Faravash R.S. The influence of acid volume, ethanol-to-extract ratio and acid-washing time on the yield of pectic substances extraction from peach pomace / R.S. Faravash, F.Z. Ashtiani // *Food Hydrocoll.* – 2008. – V. 22, № 1. – P. 196-202.
22. Sahari M.A. Effect of variety and acid washing method on extraction yield and quality of sunflower head pectin / M.A. Sahari, M.A. Akbarian, M. Hamedei // *Food Chem.* – 2003. – V. 83, № 1. – P. 43-47.
23. Горшкова Р.М. Полисахариды ревеня скального (*Rheum rupestre*) / Р.М. Горшкова, А.С. Насриддинов, З.К. Мухидинов, Д.Х. Халиков, С.Д. Халикова, Х.И. Тешаев (Х.И. Икромии) // *Химия и химическая технология.* – 2010. – Т.53. – № 6. – С.87-90.
24. Muhidinov Z.K. Gravity Flow Dynamic Method for Pectin Extraction from Sunflower Head using Sodium Chloride / Z.K. Muhidinov, D.Kh. Khalikov, L.M. Fishman, L.S. Liu // *Biopolym. Res.* – 2017. – V. 01, № 01. – P. 1-8.
25. Ptichkina N.M. Pectin extraction from pumpkin with the aid of microbial enzymes / N.M. Ptichkina, O.A. Markina, G.N. Rummyantseva // *Food Hydrocoll.* – 2008. – V. 22, № 1. – P. 192-195.
26. Jonmurodov A.S. Pectic polysaccharides from pumpkin fruit / A.S. Jonmurodov, Z.K. Muhidinov, G.D. Strahan, S.E. Kholov, Kh.I. Teshaeв (Kh.I. Ikromi), M.L. Fishman, L.S. Liu // *The 18th Gums and Stabilisers for the Food Industry Conference / Ed. by Peter A. Williams and Glyn O. Philips – RSC Publishing.* – 2016. – P. 23-36. <https://doi.org/10.1039/9781782623830-00023>
27. Kalapathy U. Effect of acid extraction and alcohol precipitation conditions on the yield and purity of soy hull pectin / U. Kalapathy, A. Proctor // *Food Chem.* – 2001. – V. 73, № 4. – P. 393-396.
28. Williams P.A. Elucidation of the Emulsification Properties of Sugar Beet Pectin / P.A. Williams, C. Sayers, C. Viebke, C. Seman, J. Mazoyer, P. Boulengue // *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* – 2005. – V.53. – P.3592.

29. Phatak L. Isolation and Characterization of Pectin in Sugar-Beet Pulp / L. Phatak, K.C. Chang, G. Brown // *Food Science*. – 1988. – V. 53. – P.830-833.
30. Robert C. et al. Effect of variety and harvest date on pectin extracted from chicory roots (*Cichorium intybus* L.) // *Food Chem*. – 2008. – V. 108, № 3. – P. 1008-1018.
31. Seggiani M. Effect of different extraction and precipitation methods on yield and quality of pectin / M. Seggiani et al. // *Int. J. Food Sci. Technol*. – 2009. – V. 44, № 3. – P. 574-580.
32. Masmoudi M. Optimization of pectin extraction from lemon by-product with acidified date juice using response surface methodology / M. Masmoudi et al. // *Carbohydr. Polym*. – 2008. – V. 74, № 2. – P. 185-192.
33. Kratchanova M. The effect of microwave heating of fresh orange peels on the fruit tissue and quality of extracted pectin / M. Kratchanova, E. Pavlova, I. Panchev // *Carbohydr. Polym*. – 2004. – V. 56, № 2. – P. 181-185.
34. Garna H. Effect of extraction conditions on the yield and purity of apple pomace pectin precipitated but not washed by alcohol / H. Garna et al. // *J. Food Sci*. – 2007. – V. 72, № 1. – P. 001-009.
35. Kumar A. Extraction and characterization of pectin from apple pomace and its evaluation as lipase (steapsin) inhibitor / A. Kumar, G.S. Chauhan // *Carbohydr. Polym*. – 2010. – V. 82, № 2. – P. 454-459.
36. Virk B.S. Extraction and Characterization of Pectin from Apple (*Malus Pumila*, Cv Amri) Peel Waste / B.S. Virk, D.S. Sogi // *Int. J. Food Prop*. – 2004. – V.7, № 3. – P. 693-703.
37. Kertesz Z.I. The Pectic Substances // *J. Am. Pharm. Assoc. (Scientific ed.)*. – 1952. – V. 41, № 1. – P. 54.
38. Мухидинов З.К. Физико-химические аспекты получения и применения пектиновых полисахаридов [Текст]: дис. ... док. хим. наук: 02.00.06 / Мухиддинов Зайниддин Камарович. – Душанбе, 2003. – 238 с.
39. Vincken J.P. If Homogalacturonan were a side chain of Rhamnogalacturonan I. Implications for cell wall architecture / J.P. Vincken, H.A. Schols, R.J. Oomen, M.C.

- McCann, P. Ulvskov, A.G.J. Voragen, R.G.F. Visser // *Plant Physiology*. – August 2003. – V. 132, № 4. – P. 1781-1789.
40. BeMiller J.N. *An Introduction to Pectins: Structure and Properties* / Edited by M.L. Fishman, et al. // *Chemistry and Function of Pectins*. – 1986. – P. 2-12.
41. Fishman M.L. Global structures of high methoxyl pectin from solution and in gels / M.L. Fishman et al. // *Biomacromolecules*. – 2007. – V.8, № 2. – P. 573–578.
42. Мухидинов З.К. Структура гомогалактуронана и физико-химические аспекты получения высокоочищенного пектина [Текст]: дис...канд. хим. наук: 02.00.06 / Мухидинов Зайниддин Камарович. – Душанбе, 1992. – 155 с.
43. Morris V.J. Using AFM and force spectroscopy to determine pectin structure and (bio) functionality / V.J. Morris, A. Gromer, A.R. Kirby et al. // *Food Hydrocolloids*. – 2011. – V. 25. – P. 230-237.
44. Джонмуродов А.С. Физико-химические и структурные особенности пектиновых полисахаридов из нетрадиционных сырьевых источников [Текст]: дис...канд. хим. наук: 02.00.06 / Джонмуродов Абдували Саломович. – Душанбе, 2016. – 124 с.
45. Thakur B.R. Chemistry and uses of pectin – A review / B.R. Thakur et al. // *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* – 1997. – V. 37, № 1. – P. 47-73.
46. Джонмуродов А.С. Физико-химические и гидродинамические свойства пектиновых полисахаридов подсолнечника / А.С. Джонмуродов, Х.И. Тешаев, Ш.Ё. Холов, С.Р. Усманова, З.К. Мухидинов, Х.К. Чау, Л.С. Лиу // *ДАН РТ*. – 2015. – Т. 58. – №3. – 241-247.
47. Lin M.J.Y. Distribution and composition of pectins in sunflower plants / M.J.Y. Lin et al. // *Can. J. Plant Sci.* – 1975. – V. 55, № 2. – P. 507-513.
48. Патент EP 016871. Способ получения пектина из подсолнечника / Мухидинов З.К., Фишман М.Л., Лиу Л.Ш. Таджикистан: Евразийская патентная организация, 2012.
49. Rolin C. Commercial pectin preparation / In G.B. Seymour, J.P. Knox (Eds) // *Pectin and Their Manipulation*. – Oxford: Blackwell Publishing. – 2002. – P. 221-241.

50. Мухидинов З.К., Бобокалонов Д.Т., Усманова С.Р. Пектин – основа для создания функциональной пищи. – Душанбе: ООО «Сифат-Офсет», 2019. – 192 с.
51. Seisun D. Strides in food texture and hydrocolloids / D. Seisun, N. Zalesny // *Food Hydrocoll.* – 2021. – V. 117. – P.106575.
<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106575>.
52. May C.D. Pectins / Edited by A. Imeson // *Thickening and gelling agents for food.* – London: Blackie Academic and Professional. – 1997. – P.124-152.
53. Endress H.U. Pectins: Production, properties and applications / H.U. Endress // *In Renewable Resources for Functional Polymers and Biomaterials: Polysaccharides, Proteins and Polyesters* / B.Z. Tang, P. A. Williams (Ed.s). – RSC Publishing, Cambridge, 2011.
54. Карпович Н.С., Донченко Л.В., Нелина В.В. и др. Пектин: производство и применение. – Киев: Урожай, 1989. – 88 с.
55. Патент ТД 197 Республики Таджикистан. Способ очистки пектинового гидролизата и получение пектинового геля / Мухидинов З.К. НПИЦентр РТ, 1998. Бюл. №3 (11).
56. Патент ТД 563 Республики Таджикистан. Флеш-способ производства пектина из растительного сырья / Мухидинов З.К., Тешаев Х.И. (Икромии Х.И.), Джонмуродов А.С., Лиу Л.С. НПИЦентр РТ, 2011. Бюл. №3 (11).
57. Патент UA 70046. Processing Line for Pectin Production / Muhidinov Z.K., Fishman M.L. 25.05.2012. Бюл. №10.
58. Патент UA 70047. Processing Line for Pectin Production from sunflower head residue / Muhidinov Z.K. et al. 25.05.2012. Бюл. №10.
59. Патент РФ 2265612С1. Способ производства пектина / Шаззо Р.И., Богус А.М., Квасенков О.И. 24.02.2004.
60. Patent U.S 6143337. Extraction of pectin by microwave heating under pressure / Fishman M.L., Chau H. K. April 30.1999.

61. Jun H.I. Characterization of the pectic polysaccharides from pumpkin peel / H.I. Jun, C.H. Lee, G.S. Song et al. // *LWT - Food Science Technology*. – 2006. – № 39. – P. 554.
62. Мухидинов З.К. Пектиновые полисахариды из плодов тыквы / З.К. Мухидинов, Р.М. Горшкова, С.Д. Халикова, А.С. Насриддинов, Х.И. Тешаев (Х.И. Икромӣ), L.S. Liu // Материалы международной научно-практической конференции «Проблемы устойчивого развития производства пищевых продуктов в Центральной Азии», 15-17 марта 2012 года. – Худжанд, Республика Таджикистан, 2012. – С. 43-48.
63. Mukhidinov Z.K. Gravity flow dynamic method for hydrolysis and extraction of pectin from sunflower / Z. K. Mukhidinov, R. M. Gorshkova, D. Kh. Khalikov, Kh. I. Teshaeв (Kh. I. Ikromi), L. S. Liu // XX International conference on Chemical Reactors «CHEMREACTOR-20», December 3-7. – Luxemburg. – 2012. – P. 212-213.
64. Chang K.C. Sunflower head residue pectin extraction as affected by physical conditions / K.C. Chang, N. Dhuranhar, X. You, A. Miyamoto // *Journal of Food Science*. – 1994. – V.59, № 6. – P.1207-1210.
65. Мулдер М. Введение в мембранную технологию / М. Мулдер; пер. с англ.; под. ред. С.И. Польского, В.П. Дубяги. – М.: Мир, 1999. – 513 с.
66. Giorno L. Study of fouling phenomena in apple juice clarification by enzyme membrane reactor / L. Giorno, L. Donato, S. Todisco, E. Drioli // *Separ. Sci. Technol.* – 1998. – V.33, № 5. – P.739-756.
67. Patent BE 889950 (Belg.), C1A23L. Clear Vegetable juices and recovery of the valuable constituents / Y. Virignaud Yves. Fr.8017805. Appl. 13.08.80. Publ.01.12.81.
68. Голубев В.Н. Мембранное концентрирование жидких пищевых сред / В.Н. Голубев, Ю.Г. Гаджиев, П.С. Кавтарадзе, Т.Н. Карчиева // *Пищевая промышленность*. – 1992. – №2. – С.12.
69. Brink L.E.S. Reducing the protein fouling of polysulfone surfaces and polysulfone ultrafiltration membranes: Optimization of the type of pre-adsorbed layer / L.E.S. Brink, D.J. Romijn // *Desalination*. – 1990. – V.78. – P.209-223.

70. Zeman L.J., Zydney A.L. Microfiltration and Ultrafiltration: Principles and Applications. – N.-Y.: Marcel Dekker, 1996.
71. Sulaiman M.Z. Limiting permeate flux in the clarification of untreated star fruit juice by membrane ultrafiltration / M.Z. Sulaiman, N.M. Sulaiman, L.S. Yih // Chemical Engineering Journal. – 1998. – V.69. – P.145-148.
72. Patent U.S. 6423230. Method for Improving the Permeate Flux of a Crossflow Membrane Filter / Ilias S., Hargrove S.C., Talbert M. 2002.
73. Guadix A. Predicting the flux decline in milk cross-flow ceramic ultrafiltration by artificial neural networks / A. Guadix, J.E. Zapata, M.C. Almecija, E.M. Guadix // Desalination. – 2010. – V. 250. – P.1118-1120.
74. Patent 7834063 Fr.A23L2/30. Procédé pour la clarification des jus de pommes et algues avec récupération de concentrés de pectine / Verniers Claude, Vignaud Yves. N 2443216. Appl. 4.12.78. Publ. 4.07.80.
75. Patent DE3041096 A1, B 01 D 31/00. Verfahren zur Reinigung einer Pectin enthaltenden Flüssigkeit / Fujii M., Kawamura S., Takano M., Minamata K. Appl. 31.10.1980. Publ.16.06.1982. German Offen. – 19 p.
76. Патент RU 2762980. МПК C08B37/06. Способ экстракции пектина и других органических веществ из растительных отходов / Карт М.А., Ковалев Д.А. Катраева И.В. и др. Заяв. 2021112032, 27.04.21. Оpub. 24.12.2021.
77. Голубев В.Н. Мембранная обработка экстрактов свекловичного пектина / В.Н. Голубев, С.Н. Бондарь // Пищевая промышленность. – 1992. – №1. – С. 27-28.
78. Szaniawski A.R. Effects of immobilized pectinase on the microfiltration of dilute pectin solutions by macroporous titania membranes: Resistance model interpretation / A.R. Szaniawski, H.G. Spencer // Journal Membrane Sci. – 1997. – V.127. – P.69-73.
79. Alvarez S. Influence of depectinization on apple juice ultrafiltration / S. Alvarez, R. Alvarez, F.A. Riera, J. Coca // Colloids and Surfaces A. – 1998. – V.138 (2-3). – P.377-382.

80. Холов Ш.Ё. Оптимизация физико-химических параметров производства пектиновых полисахаридов путем моделирования технологических процессов [Текст]: дис. ... канд. техн. наук: 05.18.12 / Холов Шавкат Ёрович. – Душанбе, 2018. – 110 с.
81. Cassano A. Ultrafiltration of kiwifruit juice: operating parameters, juice quality and membrane fouling / A. Cassano, L. Donato, E. Drioli // *Journal Food Process Eng.* – 2007. – V.79. – P.613-621.
82. De Bruijn J.A. Ultrafiltration performance of Carbosep membranes for the clarification of apple juice / J.A. De Bruijn, J.A. Venegas, R. Martinez, R. Borquez // *LWT- Food Science & Technology.* – 2003. – V. 36 (4). – P. 397-406.
83. Горячий Н.В. О природе загрязнений мембран в процессе концентрирования пектиновых экстрактов. Критические технологии / Н.В. Горячий, А.А. Свитцов, М.М. Марданян и др. // *Мембраны.* – 2002. – Т. 18. – № 2. – С. 40-44.
84. Vladisavljevic G.T. Permeate flux and fouling resistance in ultrafiltration of depectinized apple juice using ceramic membranes / G.T. Vladisavljevic, P. Vukosavljevic, B. Bukvic // *Journal of Food Eng.* – 2003. – V.60 (3). – P.241–247.
85. Van der Bruggen B. Distillation vs. membrane filtration: overview of process evolutions in seawater desalination / B. Van der Bruggen, C. Vandecasteele // *Desalination.* – 2002. – V.143. – P.207–218.
86. Nong-xue Q. Apple pectin behavior separated by ultrafiltration / Q. Nong-xue, T. Yu-xia, Q. Shu-tao, H. Deng // *Agric. Sci. China.* – 2009. – V.8 (10). – P.1193-1202.
87. Jafari F. Pectin from carrot pomace: Optimization of extraction and physicochemical properties / F. Jafari, F. Khodaiyan, H. Kiani, S.S. Hosseini // *Carbohydrate Polymers.* – 2017. – V. 157. – P.1315-1322.
88. Кафаров В.В., Глебов М.Б. Математическое моделирование основных процессов химических производств. – М.: Высшая школа, 1991. – 400 с.
89. Мищенко В.Я., Мищенко Е.В. Моделирование процесса экстракции пектиновых веществ из свекловичного жома с применением вибрационного воздействия // *Вестник Орел ГАУ.* – 2011. – Т. 30. – № 3. – С. 80–82.

90. Зайцева И.С. Товароведная оценка продуктов комплексной переработки плодово-ягодного сырья Сибири: дис. ... канд. техн. наук: 05.18.15 / Зайцева Ирина Сергеевна. – Кемерово, 2009. – 162 с.: ил. РГБ ОД, 61 09-5/140.
91. Fertonanil H.C.R. Extraction Model Of Low Methoxyl Pectin from Apple Pomace Effects of acid concentration and time on the process and the product / H.C.R. Fertonanil, A. Scabio, E.V.B. Carneiro, M.H.C. Schemim, A. Nogueira and G. Wosiacki // Brazilian Archives of Biology and Technology an International Journal. – 2009. – V.1. – P.177-185.
92. Холов Ш.Ё. Особенности инженерного расчета процесса ультрафильтрационного концентрирования и очистки пектиновых полисахаридов / Ш.Ё. Холов, Х.И. Икромии, Н.И. Юнусов, З.К. Мухидинов // Вестник ВГУИТ. – 2017. – Т. 79. – № 4. – С.19-23. doi: 0.20914/2310-1202-2017-4-26-30.
93. Патент ТД № 865 Республики Таджикистан. Распылительная сушилка с использованием солнечной энергии / Холов Ш.Ё. и др. НПИ Центр. Опубл. 29.05.2017. Бюл. № 133.
94. Мухидинов З.К. Диаультрафильтрационное концентрирование и очистка пектиновых полисахаридов / З.К. Мухидинов, Р.М. Горшкова, А.С. Джонмуродов, Х.И. Тешаев (Х.И. Икромии), L.S. Liu, M.L. Fishman // Химия и химическая технология. – 2011. – Т.54. – Вып.2 – С. 121-125. ISSN 0579-2991; e-ISSN 2500-3070.
95. Смирнова И. А. Изучение состава молочно-белковых концентратов / И. А. Смирнова, Н. Ю. Гутов, А. А. Лукин // Техника и технология пищевых производств. – 2018. – № 1 (48). – С. 85-90. doi: 10.21603/2074-9414-2018-1-85-90.
96. Евдокимов И. Я. Современное состояние и перспективы переработки молочной сыворотки // Молочная промышленность. – 2006. – № 2. – С.34-36.
97. De Wit J.N. Functional properties of whey proteins / Fox P.F. // In: Developments in Dairy Chemistry. New York: Elsevier Applied Science. – 1989. – P.285-322.

98. Hambling S.G., McAlpine A.S., Sawyer L. Proteins, chapter: Beta-lactoglobulin / In: Advanced Dairy Chemistry. V.1. Proteins. Fox PF, editor. London: Elsevier Applied Science. – 1992. – P.141-190.
99. Дунченко Н.И. Экспертиза молока и молочных продуктов. Качество и безопасность: учеб.-справ. пособие / Н.И. Дунченко, А.Г. Храмцов, И.А. Макеева и др.; под общ. ред. В.М. Позняковского. – Новосибирск: Сиб. унив. изд-во, 2006. – 311с.
100. Лахмоткина Г.Н. Формирование и оценка потребительских свойств специальных мясных изделий, выработанных с использованием функциональных ингредиентов продовольственного люпина [Текст]: дис. ... канд. тех. наук: 05.18.15 / Лахмоткина Галина Николаевна. – Москва, 2013. – 166 с.
101. Технология цельномолочных продуктов и молочно-белковых концентратов: Справочник / Е.А. Богданова, Р.Н. Хандак, З.С. Зобкова и др. — М.: Агропромиздат, 1989. – 311 с.: ил.
102. Мухидинов З.К. Нерастворимые комплексы белков молочной сыворотки с различными пектинами / З.К. Мухидинов, А.Ш. Штанчаев, А.С. Насриддинов, Д.Т. Бобокалонов, Х.И. Тешаев (Х.И. Икром), Д.Х. Халиков // Докл. АН РТ. – 2008. – Т.51. – № 8. – С.607-613.
103. Cezar M. Whey permeate as the raw material in galacto-oligosaccharide synthesis using commercial enzymes / M. Cezar, R. Mano, V. Nicolau, G. Maria // Food Research International. – 2018. – V. 0-1. – P. 1-8.
104. Кулов А.Н., Наджибуллоев А., Будникова Е.В., Исмоилова З., Асмаатбеков Ф., Ходжаев З. Статистический ежегодник республики Таджикистан /Агентство по статистике при Президенте Республики Таджикистан. – 2017. – С. 1-365.
105. Конарев А.В. Белки семян как маркеры в решении проблем генетических ресурсов растений, селекции и семеноводства / А.В. Конарев и др. // Цитология и генетика. – 2000. – Т.34. – № 2. – С. 91-104.

106. Наимов С.Н. Внутривидовой полиморфизм произрастающих в Таджикистане диких сородичей пшеницы по содержанию глиаина / С.Н. Наимов, Г.Ф. Касимова, Ф.Ю. Насырова, С.В. Донцова, М. Нигмонов // Материалы 2-ой Центрально-азиатской конференции по зерновым культурам. – Душанбе, 2006. – С.202-203.
107. Dickey L.C. Zein batch extraction from dry-milled corn: cereal disintegration by dissolving fluid shear / L.C. Dickey, M.F. Dallmer, E.R. Radewonuk, N. Parris, M. Kurantz, J.C. Craig // *Cereal chemistry*. – 1998. – V. 75 (4). – P.443-448. doi:10.1094/CCHEM.1998.75.4.443
108. Parris N. Encapsulation of essential oils in zein nanospherical particles / N. Parris, P.H.C. Cooke, K.B. Hicks // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. – 2005. – V. 53 (12). – P.4788-4792.
109. Muhidinov Z.K. Pectin-Zein Hydrogels for delivery of Drugs and Nutrients / Z.K. Muhidinov, Kh.I. Teshae (Kh.I. Ikromi), G.F. Kasimova, A.S. Nasriddinov, L.S. Liu // *Gum and Stabilisers for the Food Industry 16*. Editors: P. A. Williams and G. O. Philips. – RSC Publishing. – 2012. – P. 401-406. <https://doi.org/10.1039/9781849734554-FP005>.
110. Oymaci P. Improvement of barrier and mechanical properties of whey protein isolate based food packaging films by incorporation of zein nanoparticles as a novel bionanocomposite / P. Oymaci, S.A. Altinkaya // *Food Hydrocol.* – 2016. – V. 54. – P.1-9. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.08.030>
111. Lawton J.W. Zein: a history of processing and use // *Cereal Chem.* – 2002. – V.79. – P.1-18.
112. Sessa D.J. Viscosity control of zeinprocessing with sodium dodecyl sulfates / D.J. Sessa, G.W. Selling, J.L. Willett, D.E. Palmquist // *Industrial Crops and Products*. – 2006. – V. 23 (1). – P.15-22.
113. Kim S. Characterization of zein modified with a mild cross-linking agent / S. Kim, D.J. Sessa, J.W. Lawton // *Industrial Crops and Products*. – 2004. – V. 20. – P.291-300.

114. Shukla K. Zein: the industrial protein from corn / K. Shukla, M. Cheryan // *Industrial Crops and Products*. – 2001. – V.13. – P.171-192.
115. Kogan M.J. Self-assembly of the Amphipathic Helix (VHLPPP). A Mechanism for Zein Protein Body Formation / M.J. Kogan, I. Dalcol, P. Gorostiza et al. // *J. Mol. Biol.* – 2001. – V. 312. – P. 907-913.
116. Мухидинов З.К. Образование зеин-пектиновых комплексов / З.К. Мухидинов, А.С. Насриддинов, С.Р. Усманова, А.Ш. Штанчаев, Х.И. Тешаев (Х.И. Икромии), Д.Х. Халиков // *Материалы III Международной научно-практической конференции: Перспективы развития науки и образования в 21 веке, 22-24 мая 2008 года.* – Душанбе: Деваштич, 2008. – С. 170-173.
117. Насриддинов А.С. Физико-химические основы получения гидрогелиевых композиций на основе пектина и зеина кукурузы [Текст]: Дис. ... канд. тех. наук: 02.00.04 / Насриддинов Абубакр Саидкулович. – Душанбе, 2012. – 100 с.
118. Кабанов В.А. Практикум по высокомолекулярным соединениям: Учеб. пособие / Под ред. В.А. Кабанова. – М.: Химия, 1985. – 224 с.
119. Oakenfull D. Hydrophobic interaction in the gelation of high methoxyl pectins / D. Oakenfull, A. Scott // *J. of Food Science*. – 1984. – V. 49. – P.1093-1098.
120. Evageliou V. Effect of pH, sugar type and thermal annealing on high-methoxy pectin gels / V. Evageliou, R.K. Richardson, E.R. Morris // *Carbohydrate Polymers*. – 2000. – V. 42. – P. 245-259.
121. O'Brien A.B. Gelation of high-methoxyl pectin by enzymatic de-esterification in the presence of calcium-ions: a preliminary evaluation / A.B. O'Brien, K. Philp, E.R. Morris // *Carbohydrate Research*. – 2009. – V. 344. – P. 1818-1823.
122. Gawkowska D. Structure-Related Gelling of Pectins and Linking with Other Natural Compounds: A Review / D. Gawkowska, J. Cybulska, A. Zdunek // *Polymers*. – 2018. – V.10 (762). – P.1-25. doi:10.3390/polym10070762.
123. Wang Q., Cui S.W. Understanding the physical properties of food polysaccharides / In S.W. Cui (Ed.) // *Food carbohydrates: Chemistry, physical properties and application*. – Florida: CRC Press, 2005. – P.161-218.

124. Grant G.T. Biological interaction between polysaccharides and divalent cations: the egg-box model / G.T. Grant, E.R. Morris, D.A. Rees, P.J.C. Smith, D. Thom // *FEBS Letters*. – 1973. – V.32 (1). – P.195-198. doi:10.1016/0014-5793(73)80770-7.
125. Yuliarti O. Influence of pH, pectin and Ca concentration on gelation properties of low-methoxyl pectin extracted from *Cyclea barbata* Miers / O. Yuliarti, A.L.S. Hoon, S.Y. Chong // *Food Structure*. – 2017. – V.11. – P.16-23.
126. Grosso C.R.F. Dynamic rheology of structure development in low-methoxyl pectin + Ca²⁺ + sugar gels / C.R.F. Grosso, M.A. Rao // *Food Hydrocolloids*. – 1998. – V.12. – P.357-363.
127. Capel F. Influence of chain length and polymer concentration on the gelation of (amidated) low-methoxylated pectin induced by calcium / F. Capel, T. Nicolai, D. Durand et al. // *Biomacromolecules*. – 2005. – V.6 (6). – P.2954-2960.
128. Fraeye I. Hendrickx M. Fine-tuning the properties of pectin-calcium gels by control of pectin fine structure, gel composition and environmental conditions / I. Fraeye, T. Duvetter, E. Doungra, A. van Loey, M. Hendrickx // *Trends in Food Science & Technology*. – 2010. – V. 21. – P.219-228.
129. Lopes da Silva J.A., Rao M.A. Rheological behaviour of food gels / In M.A. Rao (Ed.) // *Rheology of food and semisolid foods*. – New York: Springer, 2007. – P.339-401.
130. Fishman M.L. The structure of high-methoxyl sugar acid gels of citrus pectin as determined by AFM / M.L. Fishman, P.H. Cooke // *Carbohydrate Research*. – 2009. – V. 344. – P.1792-1797.
131. Agoub A. A., Giannouli P., Morris E.R. Gelation of high methoxy pectin by acidification with D-glucono-d-lactone (GDL) at room temperature / A.A. Agoub, P. Giannouli, E.R. Morris // *Carbohydrate Polymers*. – 2009. – V.75. – P.269–281.
132. Voragen A.G. Pectin, a versatile polysaccharide present in plant cell walls / A.G. Voragen, G.J. Coenen, R.P. Verhoef, H.A. Schols // *Struct Chem*. – 2009. – V.20 (2). – P.263-275.

133. Kastner H. Structure formation in sugar containing pectin gels – Influence of tartaric acid content (pH) and cooling rate on the gelation of high-methoxylated pectin / H. Kastner, K. Kern, R. Wilde, A. Berthold, U. Einhorn-Stoll, S. Drusch // *Food Chemistry*. – 2014. – V.144. – P.44-49.
134. Rao M.A. Dynamic rheological measurement of structure development in high-methoxyl pectin/fructose gels / M.A. Rao, H.J. Cooley // *Journal of Food Science*. – 1993. – V. 58. – P. 876-879.
135. Löfgren C. Microstructure and kinetic rheological behaviour of amidated and nonamidated LM pectin gels / C. Löfgren, S. Guillotin, A.M. Hermansson // *Biomacromolecules*. – 2006. – V.7. – P.114-121.
136. Löfgren C. Microstructure and rheological behaviour of pure and mixed pectin gels / C. Löfgren, P. Walkenström, A.M. Hermansson // *Biomacromolecules*. – 2002. – V.3. – P.1144-1153.
137. Böttger L. Gelling temperature determination in pectin-based systems / L. Böttger, S.H. Christensen, H. Stapelfeldt // *Gums and Stabilisers for the Food Industry*. – 2008. – V.14. – P.153-163.
138. Dobies M. Studies of gelation process investigated by fast field cycling relaxometry and dynamic rheology: the case of aqueous low methoxyl pectin solutions / M. Dobies, M. Kozak, S. Jurga // *Solid State Nuclear Magnetic Resonance*. – 2004. – V.25. – P.188-193.
139. Dahme A. Gelpoint measurements in high-methoxyl pectin gels by different techniques / A. Dahme // *J. of Texture Studies*. – 1992. – V.23. – P.1-11.
140. Siew C.K. New insights into the mechanism of gelation of alginate and pectin: charge annihilation and reversal mechanism / C.K. Siew, P.A. Williams // *Biomacromolecules*. – 2005. – V.6. – P.963-969.
141. Тешаев Х.И. (Икромии Х.И.). Поведение низкометилованных пектинов в растворе и изучение их гелеобразующих свойств с ионами поливалентных металлов [Текст]: дис. ... канд. тех. наук: 02.00.04 / Тешаев Хуршед Икромович. – Душанбе, 2004. – 96 с.

142. Fu J.T. Rheology and structure development during gelation of low-methoxyl pectin gels: the effect of sucrose / J.T. Fu, M.A. Rao // *Food Hydrocolloids*. – 2001. – V.15. – P.93-100.
143. Loefgren C. Pectins structure and gel forming properties, a literature study: PhD work at the Department of Food Science / C. Loefgren. – Sweden, Chalmers University of Technology, 2000.
144. Cardoso S.M. Temperature dependence of the formation and melting of pectin–Ca²⁺ networks: a rheological study / S.M. Cardoso, M.A. Coimbra, J.A. Lopes da Silva // *Food Hydrocolloids*. – 2003. – V.17. – P.801-807.
145. Neidhart S., Hannak C., Gierschner K. Investigation of the influence of various cations on the rheological properties of high-esterified pectin gels / J. Visser, A.G.J. Voragen (Eds.), *Pectins and pectinases // Progress in Biotechnology*. Elsevier Science. – 1996. – V.14. – P.583-590.
146. Тешаев Х.И. (Икромии Х.И.). Гелеобразования низкометилированного пектина в присутствии ионов поливалентных металлов / Х.И. Тешаев (Х.И. Икромии), З.К. Мухиддинов, Д.Х. Халиков, Х.Х. Авлоев // *ДАН РТ*. 2002. – Т. XLV. – № 1-2. – С.72-78.
147. Smidsred O. Some physical properties of alginats in solution and in gel state / Report № 34, Norw. Inst. Seaweed Res. 1973.
148. Kohn R. Binding of cadmium and copper (II) ions to oligogalacturonic acids / R. Kohn, K. Heinrichova, A. Malovikova // *Collect. Czech. Chem. Commun.* – 1983. – V.48 (7). – P.1922-1936.
149. Rees D.A. Polysaccharide Conformation in Solution and Gels – Recent Results on Pectins // *Carbohydr. Polym.* – 1982. – V.2. – P.254-263.
150. Kohn R. Calcium and stroncium ion activity in solutions of corresponding pectinates and dependence on their degree of esterification / R. Kohn, O. Luknar // *Collect. Czech. Chem.* – 1975. – V.40 (4). – P.959-970.

151. Rinaudo M. NMR investigation of oligo- and poly (galacturonic acid) S: gel formation in the presence of Ca²⁺ counterions / M. Rinaudo, G. Ravanat, M. Vincendon // *Macromol. Chem.* – 1980. – V. 181. – P.1059-1070.
152. Thibault J.F. Gelation of pectic acids in the presence of calcium counterions / J.F. Thibault, M. Rinaudo // *British polym. J.* – 1985. – V. 17 (2). – P.181-184.
153. Li L. Re-examining the eggbox model in calcium–alginate gels with X-ray diffraction / L. Li, Y. Fang, R. Vreeker, I. Appelqvist, E. Mendes // *Biomacromolecules.* – 2007. – V.8. – P.464-468.
154. MacDougall A.J. Calcium gelation of pectic polysaccharides isolated from unripe tomato fruit / A.J. MacDougall, P.W. Needs, N.M. Rigby, S.G. Ring // *Carbohydrate Research.* – 1996. – V. 293. – P.235-249.
155. 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. – V. 242. – P.116389. DOI: 10.1016/j.carbpol.2020.116389.
156. Закон РТ от 19 июля 2012 года, № 389.
157. Keservani R.K. Nutraceutical formulations and challenges / R.K. Keservani, R.K. Kesharwani, A.K. Sharma, S.P. Gautam, S.K. Verma // *Dev. New Funct. Food Nutraceutical Prod.* – 2017. – P.161-177. [CrossRef].
158. Gibson G. R. Roberfroid M. B. Dietary modulation of the human colonic microbiota: updating the concept of prebiotics / G.R. Gibson, H.M. Probert, J.V. Loo, R.A. Rastall, M.B. Roberfroid // *Nutr. Res. Rev.* – 2004. – V.17. – P.259.
159. Sahasrabudhe N.M. et al. Dietary fiber pectin directly blocks toll-like receptor 2-1 and prevents doxorubicin-induced ileitis / N.M. Sahasrabudhe et al. // *Front. Immunol.* – 2018. – V.9. – P.1-19.
160. Cencic A. The role of functional foods, nutraceuticals, and food supplements in intestinal health / A. Cencic, W. Chingwaru // *Nutrients.* – 2010. – V.2. – P. 611-625. [CrossRef]

161. Nasri H. New concepts in nutraceuticals as alternative for pharmaceuticals / H. Nasri, A. Baradaran, H. Shirzad, M.R. Kopaei // *Int. J. Prev. Med.* – 2014. – V.5. – P.1487-1499. [PubMed]
162. Rivellesse A.A. The possible role of nutraceuticals in the prevention of cardiovascular disease. *High Blood Press* / A.A. Rivellesse, P. Ciciola, G. Costabile, C. Vetrani, M. Vitale // *Cardiovasc. Prev.* – 2019. – V.26. – P.101–111. [CrossRef] [PubMed].
163. Goverse G. Diet-Derived Short Chain Fatty Acids Stimulate Intestinal Epithelial Cells to Induce Mucosal Tolerogenic. Dendritic Cells / G. Goverse et al. // *J. Immunol.* – 2017. – P. 1600165. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1600165>.
164. Scholan I. Functional Beverages where next? Innovation in functional beverages market is set to continue. [Electronic resource] // *International Food Ingredients.* – 2007.
165. Ciriminna R. Pectin: New Science and Forthcoming Applications of the Most Valued Hydrocolloid / R. Ciriminna, A. Fidalgo, A. Scurria, L.M. Ilharco, M. Pagliaro // *Food Hydrocolloids.* – 2022. – V.127. – P.107483 <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2022.107483>.
166. Güler-Akin M.B. Effects of Cysteine and Different Incubation Temperatures on the Microflora, Chemical Composition and Sensory Characteristics of Bio-Yogurt Made from Goat's Milk / M.B. Güler-Akin, M.S. Akin // *Food Chemistry.* – 2007. – V.100. – P.788-793. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.10.038>.
167. Elleuch M. Dietary Fiber and Fiber-Rich By-Products of Food Processing: Characterisation, Technological Functionality and Commercial Applications: A Review / M. Elleuch, D. Bedigian, O. Roiseux, S. Besbes, C. Blecker, H. Attia // *Food Chemistry.* – 2011. – V.124. – P.411-421. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.06.077>
168. Güler-Akın M.B. Apricot Probiotic Drinking Yoghurt Supplied with Inulin and Oat Fiber / M.B. Güler-Akın, I. Ferliarslan, M.S. Akin // *Advances in Microbiology.* – 2016. – V.6. – P.999-1009. <http://dx.doi.org/10.4236/aim.2016.614094>

169. Meyer D. Inulin as Texture Modifier in Dairy Products / D. Meyer, S. Bayarri, A. Tárrega, E. Costell // *Food Hydrocolloid.* – 2011. – V.25. – P.1881-1890.
<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2011.04.012>.
170. Martensson O. The Effect of Yoghurt Culture on the Survival of Probiotic Bacteria in Oat-Based, Non-Dairy Products / O. Martensson, R. Osteb, O. Holsta // *Food Research International.* – 2002. – V.35. – P.775-784.
[https://doi.org/10.1016/S0963-9969\(02\)00074-1](https://doi.org/10.1016/S0963-9969(02)00074-1).
171. De Moura F.A. Effects of Oxidative Treatment on the Physicochemical, Rheological and Functional Properties of Oat β -Glucan / F.A. De Moura, J.M. Pereira, D.O. Da Silva, E. Da Rosa Zavareze, A. Da Silveira Moreira, E. Helbig, A.R.G. Dias // *Food Chemistry.* – 2011. – V.128. – P.982-987.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.04.003>.
172. Srisuvor N. Effects of Inulin and Polydextrose on Physicochemical and Sensory Properties of Low-Fat Set Yoghurt with Probiotic-Cultured Banana Puree. *LWT* / N. Srisuvor, N. Chinprahast, C. Prakitchaiwattana, S. Subhimaros // *Food Science and Technology.* – 2012. – V.51. P.10-18. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.10.018>.
173. Ali S. Physico-Chemical Characteristics of Apricot (*Prunus armeniaca* L.) Grown in Northern Areas of Pakistan / S. Ali, T. Masud, K.S. Abbasi // *Scientia Horticulture.* – 2011. – V.30. – P.386-392.
<https://doi.org/10.1016/j.scienta.2011.05.040>.
174. Kumar M. Dietary Roles of Non-Starch Polysachharides in Human Nutrition: A Review / M. Kumar, A.K. Sinha, H.P. S. Makkar, Gudrun de Boeck, K. Becker // *Critical Reviews Food Science and Nutrition.* – 2012. – V. 52 (10). – P. 899-935.
<http://dx.doi.org/10.1080/10408398.2010.512671>.
175. BeMiller J.N. Classification, structure and chemistry of polysaccharides of foods /In: Cho, S.S., Dreher, M.L., (ed.) // *Handbook of dietary fiber: Marcel Dekker Inc, New York.* – 2001. – P. 603-11.

176. Ambuja S.R. Review On “Dietary Fiber Incorporated Dairy Foods: A Healthy Trend” / S.R. Ambuja, S.N. Rajakumar // *Int. Journal of Engineering Research and Application*. – 2018. – V.8 (2). – P.34-40. ISSN: 2248-9622., www.ijera.com.
177. Икроми Х.И. Функциональные продукты на основе растительных источников / Х.И. Икроми // *Наука и инновация*. – 2023. – № 1. – С .96-103.
178. Anderson-Dekkers I. Inulin, in *Handbook of Hydrocolloids (Third Edition)*, Chapetr 17 / I. Anderson-Dekkers, E. Vaughan // *Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition*. – 2021. – P. 537-562. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-820104-6.00015-2>.
179. Kontogiorgos V. Stabilisers. Inulin, in *Encyclopedia of Dairy Sciences (Third Edition)*. – 2022. – V.2. – P.689-694. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818766-1.00321-4>.
180. James Jackson P.P. Food for thought! Inulin-type fructans: Does the food matrix matter? / P.P. James Jackson, A. Wijeyesekera, R.A. Rastall et al. // *Journal of Functional Foods*. – 2022. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2022.104987>.
181. Диабет. Информационный бюллетень ВОЗ [Электронный ресурс] // <https://www.who.int/southeastasia/home/search/> 2018. – (дата обращения 20.02.2023 г.).
182. Minzanova S.T. Biological Activity and Pharmacological Application of Pectic Polysaccharides: A Review / S.T. Minzanova, V.F. Mironov, D.M. Arkhipova et al. // *Polymers*. – 2018. – V.10. – P.1407. [doi:10.3390/polym10121407](https://doi.org/10.3390/polym10121407).
183. Acevedo-Fani A. Digestive dynamics of yoghurt structure impacting the release and bioaccessibility of the flavonoid rutin / A. Acevedo-Fani, A. Ochoa-Grimaldo, S.M. Loveday, H. Singh // *Food Hydrocolloids*. – 2021. – V.111. – P. 106215
184. Xiao J. B. Phytochemicals in food and nutrition // *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. – 2016. – V. 56. S1–S3.
185. Gullon B. Rutin: A review on extraction, identification and purification methods, biological activities and approaches to enhance its bioavailability / B. Gullon, T.A. Lu-

- Chau, M.T. Moreira, J.M. Lema, G. Eibes // *Trends in Food Science & Technology*. – 2017. – V. 67. – P. 220-235.
186. Ahmed Nasef N. Food matrix and co-presence of turmeric compounds influence bioavailability of curcumin in healthy humans / N. Ahmed Nasef, S.M. Loveday, M. Golding, R.N. Martins, T.M. Shah, M. Clarke et al. // *Food & Function*. – 2019. – V. 10 (8). – P. 4584-4592.
187. Yan X. A review of the structure, function, and application of plant-based protein–phenolic conjugates and complexes / X. Yan, Z. Zeng, D.J. McClements, X. Gong, P. Yu, J. Xia, D. Gong // *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. – 2023. – V. 00. – P. 1-25. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.13112>.
188. Pellegrini M. Bioaccessibility of phenolic compounds and antioxidant capacity of chia (*Salvia hispanica* L.) Seeds / M. Pellegrini, R. Lucas-Gonzalez, E. Sayas-Barbera et al. // *Plant Foods for Human Nutrition*. – 2018. – V. 73(1). – P. 47-53.
189. Milner J.A. Functional foods: the US perspective / J.A. Milner // *The American Journal of Clinical Nutrition*. – 2000. – V. 71, Is. 6. – P. 1654-1659. <https://doi.org/10.1093/ajcn/71.6.1654S>.
190. Смирнов С.О. Разработка рецептуры и технологии получения биологически активной добавки к пище с использованием природных компонентов / С.О. Смирнов, О.Ф. Фазуллин // *Техника и технология пищевых производств*. – 2018. – Т. 48, № 3. – С. 105-114. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2018-3-105-114>.
191. Vetrani C., Costabile G., Vitalea M., Giacco R. (Poly)phenols and cardiovascular diseases: Looking in to move forward / C. Vetrani, G. Costabile, M. Vitalea, R. Giacco // *Journal of Functional Foods*. – 2020. – V. 71. – P.104013. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2020.104013>.
192. Lima M. A review of the current evidence of fruit phenolic compounds as potential antimicrobials against pathogenic bacteria / M. Lima, C.P.de Sousa, C. Fernandez-Prada, J. Harel, J. Dubreuil, E. de Souza // *Microbial Pathogenesis*. – 2019. – V. 130. – P.259-270.

193. Dias M.I. Microencapsulation of bioactives for food applications / M.I. Dias, I.C. Ferreira, M.F. Barreiro // *Food Funct.* – 2015. – V.6. – P.1035-1052. [CrossRef]
194. <https://www.google.com/search?q=functional+foods+articles>
195. Tolve R. Microencapsulation as a Tool for the Formulation of Functional Foods: The Phytosterols' Case Study / R. Tolve, N. Cela, N. Condelli, M.D. Cairano, M.C. Caruso, F. Galgano // *Foods.* – 2020. – V.9, Is. 4. – P. 470. [doi:0.3390/foods9040470](https://doi.org/10.3390/foods9040470).
196. Ćorkovic I. Microencapsulation of Chokeberry Polyphenols and Volatiles: Application of Alginate and Pectin as Wall Materials / I. Ćorkovic, A. Pichler, I. Ivic', J. Šimunovic', M. Kopjar // *Gels.* – 2021. – V.7. – P. 231. <https://doi.org/10.3390/gels7040231>
197. DeFrates K. Protein Polymer-Based Nanoparticles: Fabrication and Medical Applications / K. DeFrates, T. Markiewicz, P. Gall et al. // *Int. J. Mol. Sci.* – 2018. – V. 19. – P.1-20. [doi:0.3390/ijms19061717](https://doi.org/10.3390/ijms19061717).
198. Rai M. Smart nanopackaging for the enhancement of food shelf life / M. Rai, A.P. Ingle, I. Gupta, R. Pandit, P. Paralikar, A. Gade et al. // *Environmental Chemistry Letters.* – 2019. – V.17, Is. 1. – P.277-290.
199. Alizadeh-Sani M. Eco-friendly active packaging consisting of nanostructured biopolymer matrix reinforced with TiO₂ and essential oil: Application for preservation of refrigerated meat / M. Alizadeh-Sani, E. Mohammadian, D.J. McClements // *Food Chemistry.* – 2020. – V. 322. – P.126782.
200. Alizadeh-Sani M. Multifunctional halochromic packaging materials: Saffron petal anthocyanin loaded-chitosan nanofiber/methyl cellulose matrices / M. Alizadeh-Sani, M. Tavassoli, D.J. McClements // *Food Hydrocolloids.* – 2021. – V. 111. – P. 106237.
201. Delcea M. Micro- and Nanocapsules for Biological and Biomedical Applications / M. Delcea, A. Yashchenok, K. Videnova, O. Kreft, H. Möhwald, A.G. Skirtach // *Macromolecular Bioscience.* – 2010. – V. 10 (5). – P. 459-462.
202. Advanced Drug Delivery Systems Market - Growth, Trends, and Forecast (2019-2027), Aug. 29, 2022. <https://www.mordorintelligence.com/industry-reports/advanced-drug-delivery-systems-market>.

203. Xiaoyou Wang. Smart drug delivery systems for precise cancer therapy / Wang Xiaoyou, Li Chong, Wang Yiguang, Chen Huabing et al.//Acta Pharmaceutica Sinica B. – 2022. – V.12 (11). – P. 4098-4121. <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2022.08.013>.
204. Syed M.H. An overview on recent biomedical applications of biopolymers: Their role in drug delivery systems and comparison of major systems / M.H. Syed, M.A.K.M. Zahari, M.M. Rahman Khan, M.D. Hossen Beg, N. Abdullah // Journal of Drug Delivery Science and Technology. – 2023. – V. 80. – P. 10412. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2022.104121>.
205. Самадов Р.С. Функциональные продукты на основе биополимеров / Р.С. Самадов, Х.И. Икроми, Дж.Т. Бобокалонов, З.К. Мухидинов // Материалы республиканской научно-практической конференции «Наука и техника для устойчивого развития», 28 апреля 2018 года. – Душанбе, 2018. – С. 30-34.
206. Шамсоро О. Микрокапсулы на основе пектина подсолнечника и концентрата белков молочной сыворотки / О. Шамсоро, Х. И. Тешаев (Х. И. Икроми), З. К. Мухидинов, С. Р. Усманова, З. Б. Шарифова, Л. Ш. Лиу // Известия АН РТ. – 2012. – №2 (147). – С. 89-95.
207. Икроми Х.И. Микрокапсулирование биоактивных веществ для создания функциональных пищевых продуктов / Х.И. Икроми // Наука и инновация. – 2022. – № 3. – С. 238-244.
208. Natural Polymers. Industry Techniques and Applications / Ed. O. Olatunji // Springer International Publishing Switzerland. – 2016. – P.93-185. [doi:10.1007/978-3-319-26414-1](https://doi.org/10.1007/978-3-319-26414-1).
209. Natural Polymers, Biopolymers, Biomaterials, and Their Composites, Blends, and IPNs / Ed. Sabu Thomas, Neethu Ninan, Sneha Mohan and Elizabeth Francis // Advances in Materials Science. Apple Academic Press Inc. – 2013. – V.2. – 422 p.
210. Мухидинов З.К., Халиков Д.Х. Пектин – лечебно-профилактический продукт для здоровых и больных / Обзор. информ. // НПИЦентр. – Душанбе, 2005. – 60 с.

211. Бобокалонов Д.Т. Применение пектинов в медицине и фармации / Д.Т. Бобокалонов, З.К. Мухидинов, С.Д. Исупов, Г.И. Комилова // Вестник Академии медицинских наук Таджикистана. – 2013. – № 4 (08). – С. 39-52.
212. Sriamornsak P. Chemistry of Pectin and its Pharmaceutical Uses: A Review / P. Sriamornsak // Silpakorn University International Journal. – 2003. – V.3. – P.206-228.
213. Liu L.S. Pectin in controlled drug delivery – A review / L.S. Liu, M.L. Fishman, K.B. Hicks // Cellulose. – 2007. – V.14 (1). – P.15-24 [doi: 10.1007/s10570-006-9095-7](https://doi.org/10.1007/s10570-006-9095-7).
214. Noreen A. Pectins functionalized biomaterials; a new viable approach for biomedical applications: A review / A. Noreen, Z. Nazli, J. Akram, I. Rasul, A. Mansha, N. Yaqoob, R. Iqbal, S. Tabasum, M. Zuber, K.M. Zia // International Journal of Biological Macromolecules. – 2017. – V.101. – P. 254-272.
215. Yu Y. Biological activities and pharmaceutical applications of polysaccharide from natural resources: A review / Y. Yu, M. Shen, Q. Song, J. Xie // Carbohydr. Polym. – 2018. – V.183. – P.91-101.
216. Kohn R. Binding of toxic cations to pectin, its oligomeric fragment and plant tissues / R. Kohn // Carbohydr. Polym. – 1982. – V.2. – P.273-275.
217. Polysaccharide Carriers for Drug Delivery / Eds. S. Maiti and S. Jana. – Woodhead Publishing is an imprint of Elsevier. – 2019. – 781p.
218. Bush P. Pectin: Chemical Properties, Uses and Health Benefits // Food Science and Technology. – Nova Science Publishers Inc.: Hauppauge, NY, USA. – 2014. ISBN 978-1633214385.
219. Lara-Espinoza C. Pectin and Pectin-Based Composite Materials: Beyond Food Texture / C. Lara-Espinoza, E. Carvajal-Millán, R. Balandrán-Quintana et al. // Molecules. – 2018. – V. 23. – P.942.
220. Leclere L. Anti-Cancer activities of pH- or heat-Modified pectin / L. Leclere, P.V. Cutsem, C. Michiels // Front. Pharmacol. – 2013. – V.4. – P.1-8.
221. Jantrawut P. Anti-cancer Activity of Rutin Encapsulated in Low Methoxyl Pectin Beads / P. Jantrawut, H. Akazawa, W. Ruksiriwanich // Int. J. Pharm. Pharm. Sci. – 2014. – V.6. – P.199-202.

222. Stavalone L. Extracellular Matrix in Plants and Animals: hooks and Locks for Viruses / L. Stavalone, V. Lionetti // *Frontiers in Microbiology*. – 2017. – V.8. (1760). – P.1-8. (www.frontiersin.org.)
223. Cui J. Dietary Fibers from Fruits and Vegetables and Their Health Benefits via Modulation of Gut Microbiota / J. Cui, Y. Lian, C. Zhao et al. // *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. – 2019. – V. 18 (5). – P.1514-1532. [doi:10.1111/1541-4337.12489](https://doi.org/10.1111/1541-4337.12489).
224. Chung W.S.F. Prebiotic potential of pectin and pectic oligosaccharides to promote anti-inflammatory commensal bacteria in the human colon / W.S.F. Chung, M. Meijerink, B. Zeuner et al. // *FEMS Microbiology Ecology*. – 2017. – V.93 (11). [doi:10.1093/femsec/fix127](https://doi.org/10.1093/femsec/fix127).
225. Rinninella E. What is the Healthy Gut Microbiota Composition? A Changing Ecosystem across Age, Environment, Diet, and Diseases / E. Rinninella, P. Raoul, M. Cintoni, F. Franceschi et al. // *Microorganisms*. – 2019. – V.7 (1). – P.14. [doi:10.3390/microorganisms7010014](https://doi.org/10.3390/microorganisms7010014).
226. Olano-Martin O. Pectins and pectic-oligosaccharides inhibit Escherichia coli O157:H7 Shiga toxin as directed towards the human colonic cell line HT29 / O. Olano-Martin, R. Mark, M.R. Williams, G.R. Gibson, A. Robert, R.A. Rastall // *FEMS Microbiology Letters*. – 2003. – V. 218. – P.101-105.
227. Jung J. Pectin and charge modified pectin hydrogel beads as a colon-targeted drug delivery carrier / J. Jung, R.D. Arnold, L. Wicker // *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. – 2013. – V.104. – P.116-121.
228. Laos K. Encapsulation of β -carotene from sea buckthorn (*Hippophaë rhamnoides* L.) juice in furcellaran beads / K. Laos, T. Lõugas, A. Mändmets, R. Vokk // *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. – 2007. –V.8 (3). – P.395-398.
229. Мухидинов З.К. Гидрогелиевые микросферы на основе биоразрушающих полимеров как носитель лекарственных средств / З.К. Мухидинов, Г.Ф. Касымова, Д.Т. Бобокалонов, А.С. Насриддинов, Д.Х. Халиков, Х.И. Тешаев (Х.И. Икроми), Л.Ш. Луи // *Известия АН РТ*. – 2009. – №1 (134). – С. 59-65.

230. Muhidinov Z.K. Pectin-Zein microspheres as a Drug Delivery Systems / Z.K. Muhidinov, G.F. Kasimova, D.T. Bobokalonov, D.Kh. Khalikov, Kh.I. Teshaev (Kh. I. Ikromi), M.D. Khalikova, L.S. Liu // *Pharmaceutical Chem.* – 2010. – Vol. 44 (9). – C. 20-24. <https://doi.org/10.1007/s11094-011-0518-x>.
231. Dickinson E. Emulsion gels: The structuring of soft solids with protein-stabilized oil droplet // *Food Hydrocolloids.* – 2012. – V.28 (1). – P.224-241.[doi: 10.1016/j.foodhyd.2011.12.017](https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2011.12.017).
232. Lowman A.M. Structural and dynamic response of neutral and intelligent networks in biomedical environments / A.M. Lowman, T.D. Dziubla, P. Bures, N.A. Peppas / In: N.A. Peppas, M.V. Sefton, editors // *Molecular and cellular foundations of biomaterials.* – New York: Academic Press, 2004. – P.75-130.
233. Huang Y. A Molecular Theory of Polymer Gels / Y. Huang, I. Szleifer, A. Nicholas, N.A. Peppas // *Macromolecules.* – 2002. – V.35. – P.1373-1380.
234. Pillay V. Crosslinked calcium-alginate-pectinate-cellulose acetophthalate gelisphers system for liner drug release / V. Pillay, M.P. Danckwerts, R.A. Fassihi // *Drug Delivery.* – 2002. – V.9. – P.77-86.
235. Landgraf W. New Polymer Enables Near Zero-Order Release of Drugs / W. Landgraf, N.H. Li, J.R. Benson // *Drug Delivery Technology.* – 2005. – V.5 (2). – P.48-55.
236. Belting M., Wittrup A. *Macromolecular Drug Delivery: Methods and Protocols* / Mattias Belting (ed.). – Totowa, NJ: Humana Press, 2009. – 202 p.
237. Posey-Dowty J.D. Zero order release formulations using a novel cellulose ester / J.D. Posey-Dowty, T.L. Watterson, A.K. Wilson, K.J. Edgar, M.C. Shelton, L.R. Lingerfelt // *Cellulose.* – 2007. – V.14 (1). – P.73-83.
238. Mahdavinia G.R. In situ synthesis of magnetic CaraPVA IPN nanocomposite hydrogels and controlled drug release / G.R. Mahdavinia, H. Etemadi // *Mater. Sci. Eng.* – 2014. – V. 45. – P. 250-260.
239. Samanta H.S. Synthesis, characterization, swelling and drug release behavior of semi-interpenetrating network hydrogels of sodium alginate and polyacrylamide / H.S. Samanta, S.K. Ray // *Carbohydr Polym.* – 2014. – V. 67. – P.666-678.

240. Kulkarni R.V. Interpenetrating polymer network microcapsules of gellan gum and egg albumin entrapped with diltiazemresin complex for controlled release application / R.V. Kulkarni, B.S. Mangond, S. Mutalik, B. Sa // *Carbohydr Polym.* – 2011. – V. 83. – P.1001-1007.
241. McGee J.P. Zero order release of protein from poly(D,Llactide-co-glycolide) microparticles prepared using a modified phase separation technique / J.P. McGee, S.S. Davis, D.T. O'Hagan // *J. Controlled Release.* – 1995. – V. 34. – P.77-86.
242. Williams H.D. Strategies to address low drug solubility in discovery and development / H.D. Williams, N.L. Trevaskis, S.A. Charman, R.M. Shanker, W.N. Charman, C.W. Pouton, C.J.H. Porter // *Pharmacol Rev.* – 2013. – V. 65(1). – P.315-499.
243. Bobokalonov J.T. Kinetics of piroxicam release from low-methylated pectin/zein hydrogel microspheres / J.T. Bobokalonov, G.F. Kasimova, Z.K. Muhidinov et al. // *Pharm. Chem. J.* – 2012. – V. 46 (1). – P.50-53. <https://doi.org/10.1007/s11094-012-0732-1>.
244. ISO 5546:2010 Caseins and caseinates. Determination of pH (Reference method) International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.
245. NOLA TM Fit5500 Product Information, [accessed on 06.11.2018.]. Available: https://hjemmeriet.com/se/ChrHansen/Products/NOLAFit/PI_GLOB_NOLA_Fit5500_350502_EN.pdf
246. Лурье Ю.Ю. Справочник по аналитической химии. – М.: Химия, 1965. – 390 с.
247. Muhidinov Z.K. Stepwise dia-ultrafiltration system in the processing of pectin by products / Z.K. Muhidinov, J.T. Bobokalonov, M.A. Akhmedov et al. // *Proceeding of CRE XI-Green Chemical Reactor Engineering Conferences, August 26-31.* – Spain. Bilbao. – 2007. – P. 93.
248. Muhidinov Z.K. Structural characterization of pectin obtained by different purification methods / Z.K. Muhidinov, Kh.I. Ikromi, A.S. Jonmurodov, A.S. Nasriddinov, S.R. Usmanova, J.T. Bobokalonov, G.D. Strahan, L.S. Liu //

International Journal of Biological Macromolecules. – 2021. – V.183. – P. 2227-2337.
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.05.094>.

249. Максименко Ю.А. Анализ влияния основных факторов на эффективность процесса сушки сырья растительного происхождения [Текст]/ Ю.А. Максименко, Ю.С. Феклунова, Э.Р. Теличкина // Вестник АГТУ. – 2014. – №2 (58). – С. 97-101.

250. Губа О.Е. Исследование кинетики распылительной сушки меланжа с учетом влияния основных факторов на интенсивность теплообмена [Текст] / О.Е. Губа, Ю.А. Максименко // Журнал. Естественные и технические науки. – №7 (75). – М.: Издательство «Спутник+», 2014. – С. 72-74.

251. Алексанян И.Ю. Совершенствование теплообменных процессов при конвективной сушке растительного сырья в диспергированном состоянии [Текст] / И.Ю. Алексанян, Ю.А. Максименко, Ю.С. Феклунова // Вестник АГТУ. – 2013. – №2 (58). – С. 19-24.

252. Афанасьев С.П. Модификация титриметрического метода анализа пектиновых веществ / С.П. Афанасьев, Э.П. Панова, Г.Н. Кацева, В.Я. Чирова // Хим. природ. соед. – 1984. – №4. – С. 428-431.

253. Усманова С.Р. Исследование ИК-Фурье спектров пектина тыквы / С.Р. Усманова, А.С. Джонмуродов, Х.И. Назирова и др. // Материалы 12 Нумановские чтения посвящ. 55 летию со дня рождения д.х.н., профессора Куканиева М.А. – Душанбе, 2015 г. – С. 143-145.

254. Fella A. Determining the degree of methylesterification of pectin by ATR/FT-IR: Methodology 128ptimization and comparison with theoretical calculations / A. Fella, P. Anjukandi, M.R. Waterland et al. // Carbohydrate Polymers. – 2009. – V. 78. – P. 847.

255. Методические указания по определению пектиновых веществ в производстве / Л.В. Донченко, В.В. Нелина, Н.С. Карпович и др. – М.: Спектр, 1997. – 40 с.

256. Характеристика некоторых методов анализа пектиновых веществ / И.И. Шелухина, Б.Э. Урисова, Г.Б. Аймухамедова // Изв. АН Кирг. ССР. – 1982. – № 5. – С. 37-39.
257. Filisetti-Cozzi T.M.C.C. Measurement of uronic acids without interference from neutral sugars / T.M.C.C. Filisetti-Cozzi, N.C. Carpita // Analytical Biochemistry. – 1991. – № 197. – P.157-162.
258. Государственная фармакопея СССР / 11-е изд., вып.2. – М.: Медицина, 1990. – С.193-200.
259. ГОСТ 29186-91. Пектин. Технические условия. Введ. 01.01.1993 – М.: Изд-во стандартов, 2004. – 13 с.
260. Committee on Pectin Standardisation // Journal of Food Technology. – 1959. – V. 13. – P. 496–500.
261. Muhidinov Z.K. Effect of temperature on the intrinsic viscosity and conformation of different pectins / Z.K. Muhidinov, M.L. Fishman, Ch.Ch. Avloev et al. // Polymer Sciences Journal. Series A. – 2010. – V. 52 (12). – P.1257-1263.
262. Agrawal P.K. NMR Spectroscopy in the structural elucidation of oligosaccharides and glycosides // Phytochemistry. – 1992. – V.31 (10). – P.3307–3330.
263. Maciejewski M.W. NMRbox: A Resource for Biomolecular NMR Computation / M.W. Maciejewski, A.D. Schuyler, M.R. Gryk, I.I. Moraru, P.R. Romero, E.L. Ulrich, J.C. Hoch // Biophysical Journal. – 2017. – V. 112 (8). – P. 1529-1534. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2017.03.011>
264. Goddard T.D., Kneller D.G. SPARKY 3. University of California. – USA. San Francisco. – 2008. Retrieved from <https://www.cgl.ucsf.edu/home/sparky/>
265. Бобокалонов Д.Т. Характеристика лактоглобулинов молочной сыворотки методом капиллярного электрофореза / Д.Т. Бобокалонов, М.Д. Халикова, А.С. Джонмуродов, З.К. Мухидинов // Материалы VI-Нумановских чтений. – Душанбе, 2009. – С.109-111.
266. Мухидинов З.К. Концентрат лактоглобулинов из молочной сыворотки и методы их выделения / З. К. Мухидинов, А. С. Джонмуродов, Х.И. Тешаев (Х.И.

- Икромии), Д. Т. Бобокалонов, М. Д. Халикова, Г. Ф. Касимова, Ш. Р. Абдуллаева // *Здравоохранение Таджикистана: Материалы второй Республиканской конференции «Здоровое питание – здоровая нация», с международным участием, 14 ноября 2009 года. – Душанбе, 2009. – № 3. – С. 44-49.*
267. Феденко В.С. Определение белка в растворах по поглощению в ультрафиолетовой области / В.С. Феденко // *Химия природных соединений. – 1989. – №7. – С. 693-795.*
268. Касимова Г.Ф. Выделение и характеристика зеинов кукурузы, произрастающей в Таджикистане / Г.Ф. Касимова, Д.Т. Бобокалонов, З.К. Мухидинов, М.Д. Халикова // *Изв. АН РТ. – 2007. – №2 (127). – С. 42-50.*
269. Штанчаев А.Ш. Турбидиметрическое титрование зеина кукурузной муки / А.Ш. Штанчаев, А.С. Насриддинов, Х.И. Тешаев (Х.И. Икромии), З.К. Мухидинов, Д.Х. Халиков // *Докл. АН РТ. – 2007. – Т. 50, № 9-10. – С. 748-752.*
270. Zolnere K., Ciprovica I. Lactose hydrolysis in different solids content whey and milk permeates / *Proceedings of the 13th Baltic Conference on Food Science and Technology FOODBALT 2019 joined with 5th North and East European Congress on Food NEEFood 2019. May 2–3, 2019. – Jelgava, Latvia. – С.35-39.*
271. Sarenkova I. The effect of concentrated whey solids on Lactobionic acid production by *Pseudomonas taetrolens* / I. Sarenkova, I. Ciprovica, I. Cinkmanis // *In Conference Proceedings. FOODBALT 2019. 13th Baltic Conference on Food Science and Technology" FOOD, NUTRITION, WELL-BEING", 2-3 May 2019. – Latvia University of Life Sciences and Technologies. – Jelgava, Latvia. – P. 250-253.*
272. CP Kelco Control methods / *Determination of degree of methyl esterification. March 7, 2001. P.3.*
273. Podzimek S. Light Scattering, Size Exclusion Chromatography and Asymmetric Flow Field Flow Fractionation powerful tools for the characterization of polymers, protein and nanoparticles / S. Podzimek // *A John Wiley & Sons, Inc. – New Jersey: Hoboken Publisher. – 2011. – P. 333.*

274. Халиков Д.Х. Некоторые характеристики продуктов распада протопектина подсолнечника / Д.Х. Халиков, З.К. Мухидинов, Х.Х. Авлоев, Ф.Т. Абдусамиев // *Химия природных соединений*. – 1999. – №5. – С.581-585.
275. Liu W. Properties of poly (butileneadipate-co-terephthalate) and sunflower head residue biocomposites / W. Liu, T. Liu, J. Xin, J. Zhang, Z.K. Muhidinov, L.S. Liu // *Journal of Applied Polymer Science*. – 2017. – V.134, № 13. – P.44644-44651. doi:10.1002/APP44644.
276. Jing Li. Chase. Applications of membrane techniques for purification of natural products / Li Jing, A. Howard // *Biotechnology Letters*, Springer Verlag. – 2010. – V.32 (5). – P.601-608.
277. Патент РФ № 2280496. Мембранный аппарат с переменным сечением потока / Кретов И.Т., Ключников А.И., Ключников Д.В. 2006.
278. Поляков Ю.С. Ультра- и микрофильтрация в волоконных аппаратах с образованием осадка на поверхности мембран: дис. ... канд. техн. наук. – М., 2004. –150 с.
279. Дытнерский Ю.И. Баромембранные процессы. Теория и расчет / Ю.И. Дытнерский. – М.: Химия, 1986. – 272 с.
280. Мухидинов З.К. Моносахаридный состав и гидродинамические свойства промышленных пектиновых веществ / З.К. Мухидинов, Д.Х. Халиков, В.А. Дегтярев // *Химия природных соединений*. – 1990. – № 4. – С. 455-460.
281. Джонмуродов А.С. Концентрирование и очистка пектиновых полисахаридов на полупромышленной диа-ультрафильтрационной установке / А.С. Джонмуродов, Х.И. Тешаев (Х.И. Икроми), З.К. Мухидинов, Р.М. Горшкова, Д.Х. Халиков, Л.Ш. Лиу, М.Л. Фишман // *Известия АН РТ*. – 2011. – №1(142). – С. 67-72.
282. Kostalova Z. Structural diversity of pectins isolated from the Styrian oil-pumpkin (*Cucurbita pepo* var. *styriaca*) fruit / Z. Kostalova, Z. Hromadkova, A. Ebringerova // *Carbohydrate Polymers*. – 2013. – V.93. – P.163-171.

283. Patra P. Structure elucidation of an immunoenhancing pectic polysaccharide isolated from aqueous extract of pods of green bean (*Phaseolus vulgaris* L.) / P. Patra, D. Das, B. Behera et al. // *Carbohydrate Polymers*. – 2012. – V.87. – P. 2169-2175.
284. Aguirre M.J. Characterization of a neutral polysaccharide with antioxidant capacity from red wine / M.J. Aguirre, M. Isaacs, I.B. Matsuhira, L. Mendoza, E.A. Zúñiga // *Carbohydrate Research*. – 2009. – V.9. – P.1095–1101.
285. Marcon M.V., Carneiro P.I.B., Wosiacki G., Beleski-Carneiro E., Petkowicz CLO. Pectins from apple pomace – Characterization by ¹³C and ¹H NMR spectroscopy / M.V. Marcon, P.I.B. Carneiro, G. Wosiacki, E. Beleski-Carneiro, CLO Petkowicz // *Annual Magnetic Resonance*. – 2005. – V.4. – P.56–63.
286. Taboada E. Isolation and characterisation of pectic substances from murta (*Ugni molinae* Turcz) fruits / E. Taboada, P. Fisher, R. Jara et al. // *Food Chemistry*. – 2010. – V.123. – P.669–678.
287. Muhiddinov Z.K. Isolation and structural characterization of pectins homo and rhamnogalacturonan / Z.K. Muhiddinov, D.Kh. Khalikov, F.T. Abdusamiev, Ch.Ch. Avloev // *Talanta*. – 2000. – V. 53. – P.171-175.
288. Fishman M.L. Solvent effects on molecular properties of pectins / M.L. Fishman, H.K. Chau, F. Kolpak, J.J. Brady // *J. Agric. Food Chem.* – 2001. – V.49. – P.4494-4501.
289. Филиппов А.Н. Образование гелевого слоя на поверхности мембраны (квазистационарное приближение) / А.Н. Филиппов, В.М. Старов, В.А. Лялин // *Химия и технология воды*. – 1989. – Т. 11. – № 4. – С. 291-295.
290. Золотарев П.П. Теоретическое описание процесса ультрафильтрации с учетом гелеобразования / П.П. Золотарев, Н.В. Колосов // *Химия и технология воды*. – 1989. – Т. 11. – № 1. – С. 7-9.
291. Karasu K. A model for cross-flow ultrafiltration of dairy whey based on the rheology of the compressible cake / Karasu Kensuke, Yoshikawa Shiro, Kentish Sandra E., Stevens Geoffrey W. // *Journal of Membrane Science*. – 2009. – V. 341. – P. 252–260.

292. Ho C.C. A combined pore blockage and cake filtration model for protein fouling during microfiltration / C.C. Ho, A.L. Zydney // *Journal of Colloid and Interface Science*. – 2000. – V. 232 (2). – P. 389–399.
293. Katsoufidou K. A study of ultrafiltration membrane fouling by humic acids and flux recovery by backwashing: Experiments and modeling / K. Katsoufidou, S.G. Yiantsios, F.J. Karabelas // *Journal of Membrane Science*. – 2005. – V. 266 (1). – P. 40–50.
294. Семенов А.Г. Математическое описание процесса ультрафильтрации с учетом гелеобразования на поверхности мембраны / А.Г. Семенов, Б.А. Лобасенко // *Хранение и переработка сельхозсырья*. – 2001. – №8. – С. 15.
295. Семенов А.Г. Математическое описание процесса ультрафильтрации с учетом гелеобразования на поверхности мембраны [Текст] / А.Г. Семенов, Б.А. Лобасенко // *Хранение и переработка сельхозсырья*. – 2001. – № 8. – С. 15-17.
296. Патент WO 92/03468, Int. Cl. C07K 3/00, 3/24, C07K 3/28, 13/00, 15/06. Method for isolating alpha-lactalbumin from whey / W.E. Heine, P.D. Klein, C. Miyashita. № 91/060447; filed 23.08.1991; pub. 05.03.1992.
297. Зябрев А.Ф. Применение мембранных процессов при переработке молочных продуктов. Мембранные системы «Биокон» / А.Ф. Зябрев // *Переработка молока*. – 2001. – № 12. – С.8-9.
298. Uhrinova S. Structural changes accompanying pH-induced dissociation of the beta-lactoglobulin dimer / S. Uhrinova, M.H. Smith, G.B. Jameson, D. Uhrin, L. Sawyer, P.N. Barlow // *Biochemistry*. – 2000. – V.39 (13). – P.3565-3574.
299. Turhan K.N. Whey protein isolate and alpha-lactalbumin recovery from lactic acid whey using cation-exchange chromatography / K.N.Turhan, M.R. Etzel // *Jour. Food Sci.* – 2004. – V. 69 (2). – P. 66–70.
300. Патент WO 2005/110112, Int. Appl. No PCT/US2005/016121. Methods and compositions involving whey protein isolates / M.R. Etzel, T.R. Helm, H.K. Vyas. filed 06.05.2005; pub. 24.11.2005.

301. Патент EP1613172. Appl. No EP20040727563 20040415. Method for producing a whey protein concentrate enriched in beta-lactoglobulin and texture enhancer for use in dairy products / Maria Antonius Johannes Maas, Elisabeth Wilhelmina Gertruda Tindemans, Maria Lambertus Franciscus Van De Veerdonk. filed 15.04.2004; pub. date 11.01.2006.
302. Manso M.A. Determination of vegetable protein in milk by sodium dodecyl sulfate-capillary gel electrophoresis. Interlaboratory study / M.A. Manso, T.M. Catteano, S. Borzaghi // *Journal of AOAC International*. – 2002. – V.85 (5). – P.1090-1095.
303. Рытченкова О.В. Исследование процесса выделения белков из концентрата молочной сыворотки // *Успехи в химии и химической технологии*. – 2008. – Т.22. – №13 (93). – С. 73-76.
304. Tamine A.Y., Robinson R.K. *Yogurt: Science and Technology* // Pergamon Press. – Oxford, UK, 1985.
305. Ramaswamy H.S., Basak, S. Pectin and Raspberry Concentrate Effects on the Rheology of Stirred Commercial Yogurt // *J. Food Sci.* – 1992. – V. 57(2). – P. 357-360.
306. Молочников В.В., Орлова Т.А., Анисимов С.В. Безотходная технология переработки обезжиренного молока на основе безмембранного осмоса. –М.: АгроНИИТЭИММП, 1986. – 35 с.
307. Weiss H.O. Pectin in Yogurts and Desserts. *Lebensmitteltechnik* // *Food and Nutr. Sci.* –1981. – V. 13, No.7-8. – P. 345-349.
308. Lifson S. The electrostatic free energy of polyelectrolyte solution. II. Fully starched macromolecules / S. Lifson, A.T. Katchalsky // *Polym. Sci.* – 1954. – V.13. – P.43-55.
309. Thibault J.F. Interaction of mono and divalent counterions with alkaline and enzym-deesterified Pectins in salt free solution / J.F. Thibault, M. Rinaudo // *Biopolymers*. – 1985. – V. 24. – P.2131-2143.

310. Manning G.S. A condensed counterion theory for polarization of polyelectrolyte solutions in high fields // *J. Chem. Phys.* – 1993. – V. 99. – P.477-486.
311. Morris V.J. Gelation of polysaccharides / S.E. Hill, D.A. Ledward, J.R. Mitchell (Eds.) // *Functional properties of food macromolecules.* – Aspen: Chapman & Hall. – 1998. – P.143-170.
312. Willats W.G.T. Pectin: New insights into an old polymer are starting to gel / W.G.T. Willats, J.P. Knox, J.D. Mikkelsen // *Trends Food Sci. Technol.* – 2006. – V. 17. – P.97-104.
313. Fishman M.L. Pectin microgels and their subunit structure / M. L. Fishman, P. Cooke, B. Levaj et al. // *Archives of Biochemistry and Biophysics.* – 1992. – V. 294. – P.253-260.
314. The Specialists for Pectin. Herbstreith & Fox Corporate Group, 2003. (<http://www.herbstreith-fox.de>)
315. Икромии Х. И. Факторы, влияющие на реологические свойства желе на основе низкометилированного пектина // *Вестник Технологического университета Таджикистана.* – 2022. – № 4-2 (52). – С. 10-17.
316. Икромии Х.И. Желеобразующие свойства низкометилированного пектина подсолнечника // *Вестник Технологического университета Таджикистана.* – 2022. – №2 (49). – С. 28-35.
317. McCready R.M. Pectin—a product of citrus waste / R.M. McCready, H.S. Owens // *Econ. Bot.* – 1954. – V.8. – P.29-47. <https://doi.org/10.1007/BF02898879/>
318. Siew C.K. New insights into the mechanism of gelation of alginate and pectin: charge annihilation and reversal mechanism / C.K. Siew, P.A. Williams // *Biomacromolecules.* – 2005. – V.6. – P.963-969.
319. Cesaro A. Physicochemical properties of pectin acid. I. Thermodynamic evidence of a pH-induced conformational transition in aqueous solution / A. Cesaro, A. Ciana, F. Delben et al. // *Biopolymers.* – 1982. – V.21. – P.431-449.
320. Cros S. Solution conformations of Pectin polysaccharides: Determination of chain characteristics by small angle neutron scattering, viscometry and molecular modeling

- / S. Cros, C. Garnier, M.A.V. Axelos et al. // *Biopolymers*. – 1996. – V.39. – P.339-352.
321. Холов Ш.Ё. Новый фактор, влияющий на желеобразование пектиновых полисахаридов / Ш.Ё. Холов, З.К. Мухидинов, Х.И. Тешаев Х.И. (Икромии) // *Вестник ВГУИТ*. – 2016. – №1. – С. 151-155.
322. Бобокалонов Дж. Т. Фармакокинетика новых лекарственных форм пироксикама[Текст]: Дис. ... канд. биол. наук: 14.03.06 / Бобокалонов Джамшед Толехмуродович. – Душанбе, 2011. – 100 с.
323. Sperber V.L.H.M. Influence of the overall charge and local charge density of pectin on the complex formation between pectin and b-lactoglobulin / V.L.H.M. Sperber, H.A. Schols, M.A.C. Stuart, W. Norde, A.G.J. Voragen // *Food Hydrocolloids*. – 2009. – V.23. – P.765-772.
324. Turgeon S.L. Protein–Polysaccharide Complexes and Coacervates / S.L. Turgeon, C. Schmitt, C. Sanchez // *Current Opinion in Colloid and Interface Science*. – 2007. – V.12 (4-5). – P.166-178. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cocis.2007.07.007>.
325. Усманова С.Р. Комплексы различных пектинов с белками молочной сыворотки при низких значениях рН методом турбидиметрии / С.Р.Усманова, З.К. Мухидинов, М.Б. Каримов, Д.Х. Халиков // *Вестник ТНУ*. – 2011. – № 6 (70). – С.48-54.
326. Pillay V., Danckwerts M.P., Muhyidinov Z.K., Fassihi R. Novel Modulation of Drug Delivery Using Binary Zinc-Alginate-Pectinate Polyspheres for Zero-Order Kinetics Over Several Days: Experimental Design Strategy to Elucidate the Crosslinking Mechanism / V. Pillay, M.P. Danckwerts, Z.K. Muhyidinov, R. Fassihi // *Drug Development and Industrial Pharmacy*. – 2005. – V.31. – P.191-207. <https://doi.org/10.1081/ddc-200047806>.
327. Икромии Х.И. Кинетика выхода пироксикама из пектин-зеиновых микросфер в условиях, моделирующих среду желудочно-кишечного тракта / Х.И. Икромии // *Вестник Технологического университета Таджикистана*. – 2023. – №1 (53). – С. 21-31.

328. Peppas N.A. Hydrogels for Oral Delivery of Therapeutic Proteins / N.A. Peppas, K.M. Wood, J.O. Blanchette // *Expert Opin. Biol. Ther.* – 2004. – V.4. – P.881-887.[doi: 10.1517/14712598.4.6.881](https://doi.org/10.1517/14712598.4.6.881).
329. Храмов А.Г., Василисин С.В. Справочник технолога по производству молока. Технология и состав. Том 5. Продукты, изготовленные из обезжиренного молока, пахты и сыворотки. – СПб.: ЖИАРД, 2004. – 576 с.
330. Самадов Р.С. Влияние термообработки пермеата молочной сыворотки на качество глюкозо-галактозного сиропа / Р.С. Самадов, Х.И. Икроми, И. Ципровича, З.К. Мухидинов // Сборник статей XI Международной научно-практической конференции «Технологии и продукты здорового питания» Саратов, 28-29 ноября 2019 г. / Под ред. Симаковой И.В., Неповинных Н.В. – Пенза: РИО ПГАУ, 2020. – С.130-134.
331. Самадов Р.С. Влияние типа и концентрации щелочного агента на углеводный состав глюкозо-галактозного сиропа / Р.С. Самадов, Х.И. Икроми, И. Ципровича, З.К. Мухидинов // *Известия вузов. Пищевая технология.* – 2022. – № 2-3 (386-387). – С.16-20.
332. Zhang W. Inhibition of Maillard Reactions by Replacing Galactose with Galacto-Oligosaccharides in Casein Model Systems / W. Zhang, C. Ray, M.M. Poojary, T. Jansson, K.Olsen, M.N. Lund // *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* – 2019. – V.67 (3). – P.875-886.
333. Briggs S. Modified citrus pectin may halt metastasis / S. Briggs // *Nutrition science news.* 1997.
334. Walker M. Anticancer attributes of modified citrus pectin / M. Walker // *Townsend letter for doctors and patients.* 1996.
335. Linehan W. Inhibition of prostate cancer metastasis: A critical challenge ahead / W. Linehan // *Journal Nat. Cancer Inst.* – 1995. – V. 87. – P. 331-332.

СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ НАУЧНЫХ РАБОТ СОИСКАТЕЛЯ**А) Статьи в журналах, индексируемых в международные базы данных (Web of Science, Scopus и иностранных изданиях) и рекомендованных ВАК при Президенте Республики Таджикистан:**

[1-A] Teshaeв Kh. I. (Ikromi Kh. I.). Effect of supporting electrolyte on hydrolysis of sunflower protopectin / D. Kh. Khalikov, Kh. Kh. Avloev, R. M. Gorshkova, Z. K. Mukhiddinov, Kh. I. Teshaeв (Kh. I. Ikromi) // Chemistry of Natural Compounds. – 2002. – V. 38 (2). – P.142-144. <https://doi.org/10.1023/A:1019631813174>.

[2-A] Тешаев Х. И. (Икромии Х. И.). Полисахариды ревеня скального (Rheum rufestре) / Р. М. Горшкова, А. С. Насриддинов, З. К. Мухидинов, Д. Х. Халиков, С. Д. Халикова, Х. И. Тешаев (Х. И. Икромии) // Изв. вузов. Химия и химическая технология. – 2010. – Т. 53, № 6. – С.87-90. ISSN 0579-2991; e-ISSN 2500-3070.

[3-A] Teshaeв Kh. I. (Ikromi Kh. I.). Pectin-Zein microspheres as a Drug Delivery Systems / Z. K. Muhidinov, G. F. Kasimova, D. T. Bobokalonov, D. Kh. Khalikov, Kh. I. Teshaeв (Kh. I. Ikromi), M. D. Khalikova, L. S. Liu // Pharmaceutical Chem. – 2010. – V. 44 (9). – С.20-24. <https://doi.org/10.1007/s11094-011-0518-x>.

[4-A] Тешаев Х. И. (Икромии Х. И.). Пектин-зеиновые гели для инкапсулирования лекарственных средств и пищевых ингредиентов / Х. И. Тешаев (Х. И. Икромии), Д. Т. Бобокалонов, А. С. Джонмуродов, З. К. Мухидинов, Г. Ф. Касимова, L. S. Liu // Изв. вузов. Химия и химическая технология. – 2011. – Т.54. – Вып.11 – С. 97-100. ISSN 0579-2991; e-ISSN 2500-3070.

[5-A] Тешаев Х.И. (Икромии Х.И.). Диаультрафильтрационное концентрирование и очистка пектиновых полисахаридов / З. К. Мухидинов, Р. М. Горшкова, А. С. Джонмуродов, Д. Х. Халиков, Х. И. Тешаев (Х. И. Икромии), L. S. Liu, M. L. Fishman // Изв. вузов. Химия и химическая технология. – 2011. – Т.54. – Вып.2 – С. 121-125. ISSN 0579-2991; e-ISSN 2500-3070.

[6-A] Teshaeв Kh. I. (Ikromi Kh. I.). Pectin-Zein Hydrogels for the Delivery of Drugs and Nutrients / Z. K. Muhidinov, Kh. I. Teshaeв (Kh. I. Ikromi), G. F. Kasimova, A.

S. Nasridinov, L. S. Liu // Gums and Stabilisers for the Food Industry 16. Editors: P. A. Williams and G. O. Philips. – RSC Publishing. – 2012. – P. 401-406. <https://doi.org/10.1039/9781849734554-FP005>.

[7-A] Teshaeв Kh. I. (Ikromi Kh. I.). Physico-chemical characterization of pectic polysaccharides from various sources obtained by steam-assisted flash extraction (SAFE) / Z. K. Mukhidinov, Kh. I. Teshaeв (Kh. I. Ikromi), A. S. Dzhonmurodov, D. Kh. Khalikov, M. L. Fishman // Macromolecular Symposia. Editors: V. Aseyev, H. Tenhu. – 2012. –V. 317-318 (1). – P. 142-148. <https://doi.org/10.1002/masy.201100108>.

[8-A] Teshaeв Kh. I. (Ikromi Kh. I.). Pectic polysaccharides from pumpkin fruit / A. S. Jonmurodov, Z. K. Mukhidinov, G. D. Strahan, S. E. Kholov, Kh. I. Teshaeв (Kh. I. Ikromi), M. L. Fishman, L. S. Liu // 18th Gums and Stabilisers for the Food Industry Conference / Ed. by Peter A. Williams and Glyn O. Philips. – RSC Publishing. – 2016. – P. 23-36. <https://doi.org/10.1039/9781782623830-00023/>

[9-A] Ikromi Kh. I. Structural characterization of pectin obtained by different purification methods / Z. K. Muhidinov, Kh. I. Ikromi, A. S. Jonmurodov, A. S. Nasriddinov, S. R. Usmanova, J. T. Bobokalonov, G. D. Strahan, L. S. Liu // International Journal of Biological Macromolecules. – 2021. – V.183. – P. 2227-2337. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.05.094>.

[10-A] Икромии Х. И. Макромолекулярный состав инулина различного происхождения в концентрированном растворе / А. И. Ашуров, З. У. Шерова, А. С. Насриддинов, С. Р. Усманова, Х. И. Икромии, З. К. Мухидинов // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. – 2022. – № 12(2). – С. 279-290. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-2-279-290>.

Б) Статьи, опубликованные в других изданиях, рекомендованных ВАК при Президенте Республики Таджикистан

[11-A] Тешаев Х. И. (Икромии Х. И.). Гелеобразования низкометилированного пектина в присутствии ионов поливалентных металлов / Х. И. Тешаев

(Х. И. Икроми), З. К. Мухидинов, Д. Х. Халиков, Х. Х. Авлоев // Докл. АН РТ. – 2002. – Т. XLV, № 1-2. – С. 72-78.

[12-А] Тешаев Х. И. (Икроми Х. И.). Факторы, влияющие на желеобразовании низкометилированного пектина / З. К. Мухидинов, Х. И. Тешаев (Х. И. Икроми), Д. Х. Халиков // Докл. АН РТ. – 2004. – Т. XLV11, № 1-2. – С. 77-79.

[13-А] Тешаев Х. И. (Икроми Х. И.), Мухидинов З. К., Авлоев Х. Х., Халиков Д. Х. Действие ионов поливалентных металлов на желеобразовании низкометилированного пектина. – Реферативный сборник непубликуемых работ НПИЦентра РТ. – Выпуск 01.2004. № И (1632). – 6 с., – Библиогр.: 7 назв. – Рус. – Деп. В НПИЦентре 14.04.2004 г.

[14-А] Тешаев Х. И. (Икроми Х. И.), Мухидинов З. К., Халиков Д. Х., Авлоев Х. Х., Овсепян А. М., Панов В. П. Особенности кинетики деэтерификации высокометилированного пектина. – Реферативный сборник непубликуемых работ НПИЦентра РТ. – Выпуск 01.2004. № 13 (1634). – 3 с., – Библиогр.: 3 назв. – Рус. – Деп. В НПИЦентре 14.04.2004 г.

[15-А] Тешаев Х. И. (Икроми Х. И.). Турбидиметрическое титрование зеина кукурузной муки / А. Ш. Штанчаев, А. С. Насриддинов, Х. И. Тешаев (Х. И. Икроми), З. К. Мухидинов, Д. Х. Халиков // Докл. АН РТ. – 2007. – Т. 50, № 9-10. – С. 748-752.

[16-А] Тешаев Х. И. (Икроми Х. И.). Белки молочной сыворотки: анализ компонентного состава в полиакриламидном геле, выделение основных сывороточных белков / З. К. Мухидинов, Г. Ф. Касимова, Ф. Н. Джураева, Д. Т. Бобокалонов, М. Д. Халикова, Х. И. Тешаев (Х. И. Икроми) // Известия АН РТ. – 2008. – №1(130). – С. 52-56.

[17-А] Тешаев Х. И. (Икроми Х. И.). Нерастворимые комплексы белков молочной сыворотки с различными пектинами / З. К. Мухидинов, А. Ш. Штанчаев, А. С. Насриддинов, Д. Т. Бобокалонов, Х. И. Тешаев (Х. И. Икроми), Д. Х. Халиков // Докл. АН РТ. – 2008. – Т. 51, № 8. – С. 607-614.

[18-А] Тешаев Х. И. (Икромии Х. И.). Гидрогелиевые микросферы на основе биоразрушающих полимеров как носитель лекарственных средств / З. К. Мухидинов, Г. Ф. Касымова, Д. Т. Бобокалонов, А. С. Насриддинов, Д. Х. Халиков, Х. И. Тешаев (Х. И. Икромии), Л. Ш. Луи // Известия АН РТ. – 2009. – №1 (134). – С. 59-65.

[19-А] Тешаев Х. И. (Икромии Х. И.). Потенциометрическое титрование β -лактоглобулина молочной сыворотки / З. К. Мухидинов, С. Р. Усманова, Х. И. Тешаев (Х. И. Икромии), З. Б. Шарифова, Ф. Н. Джураева, Д. Х. Халиков // Докл. АН РТ. – 2011. – Т.54, № 2. – С. 124-128.

[20-А] Тешаев Х. И. (Икромии Х. И.). Концентрирование и очистка пектиновых полисахаридов на полупромышленной диа-ультрафильтрационной установке / А. С. Джонмуродов, Х.И. Тешаев (Х. И. Икромии), З. К. Мухидинов, Р. М. Горшкова, Д. Х. Халиков, Л. Ш. Лиу, М. Л. Фишман // Известия АН РТ. – 2011. – №1(142). – С. 67-73.

[21-А] Тешаев Х. И. (Икромии Х. И.). Взаимодействие низкометилованных пектинов с концентратом белков молочной сыворотки / Х. И. Тешаев (Х. И. Икромии), С. Р. Усманова, О. Шамсоро, З. К. Мухидинов // Вестник Воронежского государственного университета инженерных технологий. – 2012. – № 1 (51). – С. 158-164.

[22-А] Тешаев Х. И. (Икромии Х. И.). Характеристика пектина, полученного новым методом гидролиза экстракции из корзинок подсолнечника / Х. И. Тешаев (Х. И. Икромии), З. К. Мухидинов, Р. М. Горшкова, А. С. Джонмуродов // Вестник Воронежского государственного университета инженерных технологий. – 2012. – № 2 (52). – С. 162-167.

[23-А] Тешаев Х. И. (Икромии Х. И.). Микрокапсулы на основе пектина подсолнечника и концентрата белков молочной сыворотки / О. Шамсоро, Х. И. Тешаев (Х. И. Икромии), З. К. Мухидинов, С. Р. Усманова, З. Б. Шарифова, Л. Ш. Лиу // Известия АН РТ. – 2012. – №2 (147). – С. 89-95.

- [24-А] Тешаев Х. И. (Икромии Х. И.). Физико-химические и гидродинамические свойства пектиновых полисахаридов подсолнечника / А. С. Джонмуродов, Х. И. Тешаев (Х. И. Икромии), Ш. Ё. Холов, С. Р. Усманова, З. К. Мухидинов, Н. К. Chau, L. S. Liu // Докл. АН РТ. – 2015. – Т. 58, №3. – С. 241-247. ISSN: 0002-3469
- [25-А] Тешаев Х. И. (Икромии Х. И.). Строение пектиновых полисахаридов солерастворимой фракции подсолнечника / А. С. Джонмуродов, Х. И. Тешаев (Х. И. Икромии), Ш. Ё. Холов, С. Р. Усманова, З. К. Мухидинов, G. D. Strahan, L. S. Liu // Докл. АН РТ. – 2015. – Т.58, №4. – С. 320-325. ISSN: 0002-3469.
- [26-А] Тешаев Х. И. (Икромии Х. И.). Новый фактор, влияющий на желеобразование пектиновых полисахаридов / Ш. Ё. Холов, А. С. Джонмуродов, З. К. Мухидинов, Х. И. Тешаев (Х. И. Икромии) // Вестник Воронежского государственного университета инженерных технологий. – 2016. – №1 (67). – С. 151-155.
- [27-А] Икромии Х. И. Особенности инженерного расчета процесса ультрафильтрационного концентрирования и очистки пектиновых полисахаридов / Ш. Ё. Холов, Х. И. Икромии, Н. И. Юнусов, З. К. Мухидинов // Вестник Воронежского государственного университета инженерных технологий. – 2017. – Т.79, № 4. – С. 26-30. doi:10.20914/2310-1202-2017-4-26-30.
- [28-А] Икромии Х. И. Олигосахариды из плодов абрикоса, характеристика методом ВЭЖХ / М. Х. Рахмонов, А. С. Джонмуродов, Х. И. Икромии, З. К. Мухидинов // Актуальная биотехнология. – 2019. – №3 (30). – С. 201-204. ISSN 2304-4691.
- [29-А] Икромии Х. И. Строение водорастворимой фракции пектиновых полисахаридов подсолнечника / А. С. Джонмуродов, Х. И. Икромии, С. Р. Усманова, Ш. Ё. Холов, А. С. Насриддинов, З. К. Мухидинов, G. D. Strahan // Вестник Таджикского национального университета. Серия естественных наук. – 2020. – № 4. – С. 269-276.

[30-А] Икромии Х. И. Влияние типа и концентрации щелочного агента на углеводный состав глюкозо-галактозного сиропа / Р. С. Самадов, Х. И. Икромии, И. Ципровича, З. К. Мухидинов // Известия вузов. Пищевая технология. – 2022. – № 2-3 (386-387). – С. 16-20.

[31-А] Икромии Х. И. Желеобразующие свойства низкометилированного пектина подсолнечника / Х. И. Икромии // Вестник Технологического университета Таджикистана. – 2022. – №2 (49). – С. 28-35.

[32-А] Икромии Х. И. Парциальный удельный объем пектинов различного происхождения / Х. И. Икромии // Вестник Технологического университета Таджикистана. – 2022. – №3 (50). – С. 26-32.

[33-А] Икромии Х. И. Фракционное выделение пектиновых полисахаридов подсолнечника в динамическом режиме / Х. И. Икромии // Политехнический вестник. Серия: Инженерные исследования. – 2022. – № 3 (59). – С. 72-76.

[34-А] Икромии Х.И. Микрокапсулирование биоактивных веществ для создания функциональных пищевых продуктов / Х. И. Икромии // Наука и инновация. – 2022. – № 3. – С.238-244.

[35-А] Икромии Х.И. Факторы, влияющие на реологические свойства желе на основе низкометилированного пектина / Х. И. Икромии // Вестник Технологического университета Таджикистана. – 2022. – № 4/II (52). – С. 10-17.

[36-А] Икромии Х.И. Функциональные продукты на основе растительных источников / Х. И. Икромии // Наука и инновация. – 2023. – № 1. – С. 96-103.

[37-А] Икромии Х.И. Кинетика выхода пироксиама из пектин-зеиновых микросфер в условиях, моделирующих среду желудочно-кишечного тракта / Х. И. Икромии // Вестник Технологического университета Таджикистана. – 2023. – №1 (52). – С. 29-36.

В) Патенты на изобретения

[38-А] Тешаев Х. И. (Икромии Х. И.). Патент ТҶ 563 Республики Таджикистан. Флеш-способ производства пектина из растительного сырья / Мухидинов З. К.,

Тешаев Х. И. (Икромии Х. И.), Джонмуродов А. С., Лиу Л. С. – НПИЦентр РТ, 2011. Бюл. №3 (11).

[39-А] Икромии Х. И. Патент ТҶ 1248 Республики Таджикистан. Способ производства глюкозо-галактозного сиропа / Самадов Р.С., Икромии Х.И., Мухидинов З.К. ГУ «НПИЦентр» МЭРиТ РТ, 2022. Бюл. № 182.

Г) Список работ в материалах международных конференций

[40-А] Teshaeв Kh. I. (Ikromi Kh. I.). Investigation of alkaline de-esterification of pectin by infrared spectroscopy in solution / Z. K. Mukhidinov, A. M. Ovsepian, V. P. Panov, Kh. I. Teshaeв (Kh. I. Ikromi), Kh. Kh. Avloev, D. Kh. Khalikov // The 5th International Symposium on the Chemistry of Natural Compounds, May 20-23, 2003. – Tashkent, 2003. – P. 233.

[41-А] Teshaeв Kh. I. (Ikromi Kh. I.). Role of polyvalent metal ions in the structural formation of low methoxyl pectin gels / Kh. I. Teshaeв (Kh. I. Ikromi), Z. K. Mukhidinov, Kh. Kh. Avloev, D. Kh. Khalikov // The 5th International Symposium on the Chemistry of Natural Compounds, May 20-23, 2003. – Tashkent, 2003. – P. 246.

[42-А] Teshaeв Kh. I. (Ikromi Kh. I.). Концентрирование и очистка пектиновых полисахаридов диаультрафилтрацией / З. К. Мухидинов, М. А. Ахмедов, Х. Х. Авлоев, Д. Х. Халиков, Х. И. Тешаев (Х. И. Икромии) // Международная конференция: «Современная химическая наука и ее прикладные аспекты», 25-27 октября 2006 года. – Душанбе, 2006. – С. 133- 134.

[43-А] Тешаев Х. И. (Икромии Х. И.). Химия и технология пектиновых полисахаридов. Достижения за последние 20 лет / З. К. Мухидинов, Х. Х. Авлоев, Х. И. Тешаев (Х. И. Икромии), Д. Х. Халиков // Международная конференция: «Современная химическая наука и ее прикладные аспекты», 25-27 октября 2006 года. – Душанбе, 2006. – С. 134- 135. [44-А] Тешаев Х. И.

(Икромии Х. И.). Образование зеин-пектиновых комплексов / З. К. Мухидинов, А. С. Насриддинов, С. Р. Усманова, А. Ш. Штанчаев, Х. И. Тешаев (Х. И. Икромии),

Д. Х. Халиков // Материалы III Международной научно-практической конференции: Перспективы развития науки и образования в 21 веке, 22-24 мая 2008 года. – Душанбе: Деваштич, 2008. – С. 170-173.

[45-A] Teshaeв Kh. I. (Ikromi Kh. I.). Some Hydrodynamic Properties of Pectin in Dilute Solution / Z. K. Mukhidinov, D. Kh. Khalikov, Kh. I. Teshaeв (Kh. I. Ikromi), A. S. Nasriddinov // The 9th International Hydrocolloids Conference, 15-19 June 2008. – Rasa Sentosa Resort, Singapore. – 2008. – P. 47-48.

[46-A] Тешаев Х. И. (ИкромИ Х. И.). ДИаульטרфильтрационная очистка и концентрирование пектиновых полисахаридов / А. С. Джонмуродов, Х. И. Тешаев (Х. И. ИкромИ), З. К. Мухидинов, Р. М. Горшкова, Д. Х. Халиков, L. S. Liu // Пятая Всероссийская Каргинская конференция: «Полимеры-2010», 21-25 июня 2010 года. – Москва, 2010. – С. 146.

[47-A] Тешаев Х. И. (ИкромИ Х. И.). Гидрогелиевые композиции на основе пектина и зеина, как носители лекарственных веществ / Г. Ф. Касымова, Д. Т. Бобокалонов, З. К. Мухидинов, Р. М. Горшкова, Х. И. Тешаев (Х. И. ИкромИ), Д. Х. Халиков, L. S. Liu // Пятая Всероссийская Каргинская конференция: «Полимеры-2010», 21-25 июня 2010 года. – Москва, 2010. – С. 27-29.

[48-A] Тешаев Х. И. (ИкромИ Х. И.). Полупромышленная диаультрафильтрационная установка в производстве пектина / А. С. Джонмуродов, Х. И. Тешаев (Х. И. ИкромИ), З. К. Мухидинов, А. С. Насриддинов, Р. М. Горшкова, Д. Х. Халиков, L. S. Liu // Материалы международной научно-практической конференции «Подготовка научных кадров и специалистов новой формации в свете инновационного развития государств», 30,31 октября и 1 ноября 2010 года. – Душанбе: Ирфон, 2010. – С. 222-225.

[49-A] Тешаев Х. И. (ИкромИ Х. И.). Биологически активные продукты из вторичных ресурсов и отходов производства / З. К. Мухидинов, Х. И. Тешаев (Х. И. ИкромИ), Г. Ф. Касымова, А. С. Джонмуродов, L. S. Liu // Сборник тезисов

докладов международной конференции «Стимулирование потенциала общества, науки и НПО к сохранению биоразнообразия и охраны окружающей среды», 24-25 марта 2011 г. – Душанбе, 2011. – С. 140-142.

[50-A] Teshaeв Kh. I. (Ikromi Kh. I.). Pectin-Zein Hydrogel for delivery of Drug and Nutrients / Z. K. Mukhidinov, Kh. I. Teshaeв (Kh. I. Ikromi), G. F. Kasimova, A. S. Nasridinov, L. S. Liu // The Sixteenth Gum and Stabilisers for the Food Industry, 28th June-1stJuly, 2011. – Wageningen, Nitherlands. – 2011.

[51-A] Teshaeв Kh. I. (Ikromi Kh. I.). A new factor effecting gel strength of pectin / Z. K. Mukhidinov, A. S. Jonmurodov, Kh. I. Teshaeв (Kh. I. Ikromi), M. L. Fishman // The Sixteenth Gum and Stabilisers for the Food Industry, 28th June-1stJuly, 2011. – Wageningen, Nitherlands. – 2011.

[52-A] Teshaeв Kh. I. (Ikromi Kh. I.). Molar mass and molar mass distribution of pectin from different sources Abstract Book / Z. K. Muhidinov, Kh. I. Teshaeв (Kh. I. Ikromi), A. S. Dzhonmurodov, S. D. Khalikova, M. L. Fishman // The 14th IUPAC International Symposium on Macromolecular Complexes (MMC), University of Helsinki. – Helsinki, Finland, August 14-17. – 2011. – P. 110.

[53-A] Teshaeв Kh. I. (Ikromi Kh. I.). Delivery System from biodegradable polymers for encapsulation of poor water soluble drugs / Z. K. Mukhidinov, J. T. Bobokalonov, Kh. I. Teshaeв (Kh. I. Ikromi), F. M. Khojaeva, K. B. Murzagulova, L. S. Liu // The 4th International Workshop on Specialty Polymers for Environment protection, Oil Industry, Bio-, nanotechnology and medicine, May 20-21, 2011. – Almaty, Kazakhstan, 2011. – P. 65.

[54-A] Teshaeв Kh. I. (Ikromi Kh. I.). Drug Release from Zein/Pectin Hydrogels in Ex Vivo Experiments / Z. Mukhidinov, J. Bobokalonov, F. Khojaeva, Kh. Teshaeв (Kh. I. Ikromi), L. S. Liu // The 3th International Congress on Biohydrogels. Gould Institute, November 08-12, 2011. – Florence, Italy. – 2011. – P. 98.

[55-A] Тешаев Х. И. (ИкромИ Х. И.). Пектиновые полисахариды из плодов тыквы / З. К. Мухидинов, Р. М. Горшкова, С. Д. Халикова, А. С. Насриддинов, Х. И. Тешаев (Х. И. ИкромИ), L. S. Liu // Материалы международной научно-

практической конференции «Проблемы устойчивого развития производства пищевых продуктов в Центральной Азии», 15-17 марта 2012 года. – Худжанд, Республика Таджикистан, 2012. – С. 43-48.

[56-A] Тешаев Х. И. (Икромии Х. И.). Параметры, влияющие на желеобразование пектинов / А. С. Джонмуродов, З. К. Мухидинов, Х. И. Тешаев (Х. И. Икромии), L. S. Liu // Материалы международной научно-практической конференции «Проблемы устойчивого развития производства пищевых продуктов в Центральной Азии», 15-17 марта 2012 года. – Худжанд, Республика Таджикистан. – 2012. – С.37-43.

[57-A] Teshaeв Kh. I. (Ikromi Kh. I.). Purification and concentration of pectin polysaccharide hydrolysis by diaultrafiltration. A pilot plant scale / A. S. Jonmurodov, Kh. I. Teshaeв (Kh. I. Ikromi), Z. K. Mukhidinov, L. S. Liu // XX International conference on Chemical Reactors «CHEMREACTOR-20», December 3-7. – Luxemburg. – 2012. – P. 184-185.

[58-A] Teshaeв Kh. I. (Ikromi Kh. I.). Gravity flow dynamic method for hydrolysis and extraction of pectin from sunflower / Z. K. Mukhidinov, R. M. Gorshkova, D. Kh. Khalikov, Kh. I. Teshaeв (Kh. I. Ikromi), L. S. Liu // XX International conference on Chemical Reactors «CHEMREACTOR-20», December 3-7. – Luxemburg. – 2012. – P. 212-213.

[59-A] Teshaeв Kh. I. (Ikromi Kh. I.). Physico-chemical characterization of pectic polysaccharides from various sources obtained by steam assisted flash extraction (SAFE) / Z. K. Mukhidinov, Kh. I. Teshaeв (Kh. I. Ikromi), A. S. Jonmurodov, D. Kh. Khalikov, M. L. Fishman // The 14th International Symposium on Macromolecular Complexes. – Helsinki, Finland. – 2012. – P.317-318.doi:10.1002/masy.201100108.

[60-A] Тешаев Х. И. (Икромии Х. И.). Молекулярная масса пектинов, полученных с использованием универсальной калибровки / А. С. Джонмуродов, Ш. Ё. Холов, Р. М. Горшкова, Х. И. Тешаев (Х. И. Икромии), З. К. Мухидинов // Материалы международной научно-практической конференции, посвященной 1150 летию

персидско-таджикского учёного Абубакра Рази, 27-28 мая 2015 года. – Душанбе. – 2015. – С.115-117.

[61-A] Teshaev Kh. I. (Ikromi Kh. I.). New approaches for pectin extraction from sunflower head residue / Z. K. Mukhidinov, Kh. I. Teshaev (Kh. I. Ikromi), S. E. Kholov, S. R. Usmanova, A. S. Jonmurodov, J. T. Bobokalonov, L. S. Liu // Abstract for 19th Gum and Stabiliser for Food Industry Conference, June 27th - 30th. – Berlin, Germany. – 2017. – P. 18.

[62-A] Икромии Х. И. Молекулярная масса и ММР полисахаридов из корнеклубней эремуруса Гиссарского (пектинов, полученных с использованием универсальной калибровки) / А. С. Джонмуродов, Ш. Ё. Холов, Р. М. Горшкова, Х. И. Икромии, З. К. Мухидинов // Материалы международной научно-практической конференции посвящённую «Дню химика» и 70-летию академика Ганиева И. Н., 28-мая 2018 года. – Душанбе. – 2018. – С. 221-224.

[63-A] Икромии Х. И. Влияние термообработки пермеата молочной сыворотки на качество глюкозо-галактозного сиропа / Р. С. Самадов, Х. И. Икромии, И. Ципровича, З. К. Мухидинов // Сборник статей XI Международной научно-практической конференции «Технологии и продукты здорового питания» Саратов, 28-29 ноября 2019 г. / Под ред. Симаковой И.В., Неповинных Н.В. – Пенза: РИО ПГАУ, 2020. – С.130-134.

[64-A] Ikromi Kh.I. A new method for pectin extraction from sunflower head residue / Z. K. Muhidinov, Kh. I. Ikromi, A. S. Jonmurodov, A. S. Nasriddinov, J. T. Bobokalonov, L. S. Liu // ACS Spring 2020 National Meeting and Expo. Mar. 22-26, 2020. <https://www.morressier.com/article/new-method-pectin-extraction-sunflower-head-residue/5e73d6ce139645f83c22a03a?>

[65-A] Икромии Х. И. Характеристика пектинов, полученных из нетрадиционных источников сырья / А. С. Насриддинов, А. С. Джонмуродов, С. Р. Усманова, Х. И. Икромии, З. К. Мухидинов // Сборник статей XII Национальной научно-практической конференции с международным участием «Технологии и

продукты здорового питания» / Под общей ред. Неповинных Н.В., Поповой О. М., Фатьянова Е. В. – Саратов: СГАУ, 2021. – С.461-467.

[66-А] Икромии Х. И. Влияние способов получения и очистки фруктовых гидролизатов на прочность пектиновых гелей / М. Х. Рахмонов, Ш. Ё. Холов, А. С. Джонмуродов, А. И. Ашуров, Х. И. Икромии, З. К. Мухидинов // Сборник статей XII Национальной научно-практической конференции с международным участием «Технологии и продукты здорового питания» / Под общей ред. Неповинных Н.В., Поповой О.М., Фатьянова Е.В. – Саратов: СГАУ, 2021. – С. 581-585.

[67-А] Икромии Х. И. Гидрогели на основе комплекса ионов двухвалентных металлов с пектинами как носители лекарственных веществ / Т. С. Маликов, А. С. Насриддинов, И. Б. Исмоилов, Х. И. Икромии, С. Р. Усманова, З. К. Мухидинов // Сборник статей первой международной научно-практической конференции «Перспективы развития исследований в области химии координационных соединений и аспекты их применения», 30-31 марта 2022. – Душанбе. – 2022. – С. 74-79.

Г) Список работ в материалах республиканских конференций

[68-А] Тешаев Х. И. (Икромии Х. И.). Носители лекарственных препаратов на основе биополимеров / З.К. Мухидинов, Г.Ф. Касимова, М.Д. Халикова, Д. Т. Бобокалонов, Х. И. Тешаев (Х.И. Икромии), Д.Х. Халиков, L. S. Liu // Материалы VI Нумановских чтений, 29-30 мая 2009 года. – Душанбе, 2009. – С. 102-104.

[69-А] Тешаев Х. И. (Икромии Х. И.). Концентрат лактоглобулинов из молочной сыворотки и методы их выделения / З. К. Мухидинов, А. С. Джонмуродов, Х.И. Тешаев (Х.И. Икромии), Д.Т. Бобокалонов, М.Д. Халикова, Г. Ф. Касимова, Ш. Р. Абдуллаева // Здравooхранение Таджикистана: Материалы второй Республиканской конференции «Здоровое питание – здоровая нация», с международным участием, 14 ноября 2009 года. – Душанбе, 2009. – № 3. – С. 44-49.

[70-А] Икромии Х. И. Инулин из корнеклубней топинамбура / А. И. Ашуров, А. С. Насриддинов, Х. И. Тешаев (Х. И. Икромии), А. С. Джонмуродов, К. Партоев, З. К. Мухидинов // Материалы XIV Нумановских чтений: «Вклад молодых ученых в развитие химической науки», 22 ноября 2017 года. – Душанбе. – 2017. – С. 171-173.

[71-А] Икромии Х. И. Функциональные продукты на основе биополимеров / Р. С. Самадов, Х. И. Икромии, Дж. Т. Бобокалонов, З. К. Мухидинов // Материалы республиканской научно-практической конференции «Наука и техника для устойчивого развития», 28 апреля 2018 года. – Душанбе, 2018. – С. 30-34.

[72-А] Икромии Х. И. Структурные характеристики пектиновых полисахаридов подсолнечника / А. С. Джонмуродов, Д. Т. Бобокалонов, Х. И. Икромии, З. К. Мухидинов, Г. Д. Страхан // Материалы республиканской научно-практической конференции: XVI Нумановских чтений «Достижение химической науки за 30 лет государственной независимости Республики Таджикистан», 27 октября 2021 г. – Душанбе, 2021. – С. 124-127.

ПРИЛОЖЕНИЯ

ПРИЛОЖЕНИЕ А

ҶУМҲУРИИ
ТОҶИКИСТОН



ИДОРАИ
ПАТЕНТӢ

ГУВОҲНОМА

Шахрванд **Тешасв Х.И.**

муаллифи ихтирои ***Флэш-тарзи истеҳсоли пектин аз ашёи хоми растани***

Ба ихтироъ
нахустпатенти № ТҶ 563 дода шудааст.

Дорандаи
нахустпатент **Муҳидинов З.Қ.**
Сарзамин **Ҷумҳурии Тоҷикистон**

Ҳаммуаллиф(он) **Муҳидинов З.Қ., Ҷонмуродов А.С., Л.С. Лиу**

Аввалияти ихтироъ **29.12.2011**

Таърихи рӯзи пешниҳоди ариза **29.12.2011**

Аризаи № **1100692**

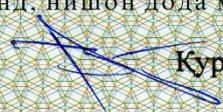
Дар Феҳристи давлатии ихтироъҳои Ҷумҳурии Тоҷикистон

6 июни **с. 2013** ба қайд гирифта шуд

Нахустпатент
эътибор дорад аз **29 декабри** **с. 2011** то **29 декабри 2021** с.

Ин гувоҳнома хангоми амали гардонидани ҳукуку
имтиёзҳое, ки барои муаллифони ихтироот бо қонунгузори
ҷорӣ муқаррар гардидаанд, нишон дода мешавад

ДИРЕКТОР


Курбонов Ч.Ч.

ПРИЛОЖЕНИЕ Б

ҶУМҲУРИИ
ТОҶИКИСТОН



ИДОРАИ
ПАТЕНТӢ

ШАҲОДАТНОМА

Шаҳрванд Икромӣ Х.И.

муаллифи ихтирои *Тарзи истеҳсоли сиропи глюкоза - галактоза*

Ба ихтироъ
нахустпатенти № ТҶ 1248 дода шудааст.

Дорандаи
нахустпатент Самадов Р.С., Икромӣ Х.И., Мухиддинов З.К.

Сарзамин Ҷумҳурии Тоҷикистон
Хаммуаллиф(он) Самадов Р.С., Мухиддинов З.К.

Аввалияти ихтироъ 24.12.2021

Таърихи рӯзи пешниҳоди ариза 24.12.2021

Аризаи № 2101617

Дар Феҳристи давлатии ихтироъҳои Ҷумҳурии Тоҷикистон

1 апрели с. 2022 ба кайд гирифта шуд

Нахустпатент
этибор дорад аз 24 декабри с. 2021 то 24 декабрис. 2031

Ин шаҳодатнома хангоми амали гардонидани ҳукуку
имтиёзхое, ки барои муаллифони ихтироот бо конунгузории
ҷорӣ муқаррар гардидаанд, нишон дода мешавад

ДИРЕКТОР

Исмоилзода М.

ПРИЛОЖЕНИЕ В



«СОГЛАСОВАНО»

Директор Института химии

им. В.И. Никитина АН РТ

акад. Д. Холиков

2012 г.

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор

ОАО «Ширин»

Ашуров З.С.

«30» 2011 г.

АКТ

об испытании применения пектинового концентрата при производстве мармелада на ОАО фабрики «Ширин», г. Душанбе

В Шоколадном цехе ОАО фабрики «Ширин» в декабре 2011г. проведено испытание применение пектинового концентрата для получения мармелада по ГОСТ 6441-80.

Пектиновый раствор был получен из яблочных выжимков (яблоки красные из Файзободского района) по способу флеш-экстракции, разработанный Институтом химии им. В.И.Никитина АН РТ и концентрирован по новому способу (Патент ТД №197, Способ очистки пектинового гидролизата и получение пектинового геля, 14.11.98, Бюл. №3 (11)).

Результаты данного испытания показали, что полученный пектиновый раствор обладает способностью желировать при содержании в нем пектина в два раза меньше, чем используемого в данный момент для производства мармелада коммерческого пектина производства Китая, приобретаемого на рынках Республики Таджикистан.

Таким образом, рекомендовано использовать пектиновый концентрат из свежих яблок для замены импортного пектина. Экономический эффект от использования пектинового концентрата при производстве мармелада составляет от 800 до 1200 сомони на тонну готового продукта в зависимости от сезона сбора яблок.

Главный инженер

Начальник Шоколадного цеха

Начальник ППО

Гл.науч. сотр. Института Химии

Докторант Института Химии

Диловаров П.

Махмудов А.Х.

Пулатова Ш.А.

Мухиддинов З.К.

Тешаев Х.И.

ПРИЛОЖЕНИЕ Г

«МУВОФИКА КАРДА ШУД»
 Директори Институти кимиёи
 ба номи В.И. Никитини АИ ҚТ
 проф. Сафаров А.М.
 с.2019



«ТАСДИҚ МЕНАМОЯМ»
 Директори генералии
 ЧСК «Ширин»
 Давлатов Қ.
 «10» 05 с.2019

САНАД

оид ба санҷиши истифодаи концентрати пектинӣ дар истеҳсоли маҳсулоти қаннодӣ дар ЧСК фабрикаи «Ширин», ш. Душанбе

Дар сеҳи шоколадбарории ЧСК фабрикаи «Ширин» моҳи апрели соли 2019 санҷиши истифодаи концентрати пектини аз фишӯрдаи лимон ба даст овардашуда барои истифода дар маҳсулоти қаннодӣ ва ҳосил намудани мармелад аз рӯи ГОСТ 6441-80 гузаронида шуд.

Маҳлули пектинӣ аз *партовҳои ситрусӣ* (лимон) баъди ҷудо намудани афшӯра аз рӯи усули флеш-истихроҷ (флеш-экстракция), ки дар Институти кимиёи ба номи В.И. Никитини АИ ҚТ таҳия шудааст (ТҶ Патент 563, нашр. 29.12.2012 бюллетени № 86 ММПИ ҚТ) ҳосил карда шуд ва аз рӯи усули *диа-ультрафилтронӣ* (UA 70046. 25.05.2012, бюл.№ 10. Processing Line for Pectin Production) ғанигардонида шудааст.

Натиҷаҳои ин санҷиш нишон доданд, ки концентрати пектини ҳосил кардашуда қобилияти гелҳосилкунандагиро дорад ва истифодаи он метавонад арзиши маҳсулотро аз ҳисоби сарфаи энергияи барқ ва вақт, ки барои истеҳсоли пектини хушк зарур аст, нисбат ба *пектини* айни замон истифодашаванда (истеҳсоли Чин), ду маротиба паст намояд.

Ҳамин тавр, истифодаи концентрати пектинӣ аз *партовҳои ситрусӣ* (лимон) барои иваз намудани *пектини воридотӣ* тавсия дода шуд. Самаранокии иқтисодӣ аз истифодаи концентрати пектинӣ ҳангоми истеҳсоли мармелад аз 1200 то 1500 сомони ро барои 1 тонна маҳсулоти тайёр вобаста аз мавсими ҷамъоварии лимон ташкил дод.

Сардори сеҳи шоколадбарорӣ

Сардори сеҳи ирисбарорӣ

Сарҳодими илмии Институти кимиё

Докторанти Институти кимиё

Ход. пешб. илмии Институти кимиё

Ход. калони илмии Институти кимиё

Докторанти Институти кимиё

Махмадов А.Х.

Мирзоев А.

Муҳидинов З.Қ.

Икромӣ Х.

Джонмуродов А.С.

Холов Ш.Ё.

Насриддинов А.С.

ПРИЛОЖЕНИЕ Д



«УТВЕРЖДАЮ»
Генеральный директор
ЗАО «Лаззат»

Махкамов А. Х.
«20» / 11 2022 г.

АКТ

об испытании применения глюкозно-галактозного сиропа при производстве пряников на ЗАО «Лаззат», г. Душанбе

В цехе ЗАО «Лаззат» в октябре 2022 г. проведено испытание применение глюкозно-галактозного сиропа (ГГС) для получения пряников по ГОСТ 15810-2014 – Изделия кондитерские. Изделия пряничные. Общие технические условия.

ГГС был получен из пермеата молочной сыворотки путём гидролиза лактозы ферментативным способом по разработанной нами технологии (Патент ТД №1248, Способ производства ГГС, 24.12.2021, Бюл. №182 (2022)). Полученный ГГС был использован в качестве сахарозаменителя и вкусоароматической добавки для производства пряников с применением разработанной и обоснованной принципиальной технологической схемы производства данного продукта на ЗАО «Лаззат», г. Душанбе. В испытание был использован ГГС с массовой долей сухих веществ 70 %, нейтрализованный 5 % пищевой содой и 5 % едким натрием.

Результаты данного испытания показали, что полученный продукт с использованным ГГС с массовой долей сухих веществ 70 %, нейтрализованного 5 % пищевой содой по сравнению с образцом нейтрализованным 5 % едким натрием обладает ярко выраженным сладким вкусом и ароматом, свойственными данному наименованию пряничного изделия, соответствующими вносимым вкусоароматическим добавкам, без посторонних привкуса и запаха, что соответствует требованиям ГОСТ 15810-2014. Следует отметить, что по остальным органолептическим характеристикам исследуемые образцы полностью соответствовали требованиям нормативного документа.

Результаты сенсорного анализа (оценки) полученного продукта с использованным ГГС с массовой долей сухих веществ 70 %, нейтрализованного 5 % пищевой содой, проведенного по гедонистической

шкале с участием 25 потребителей различных областей пищевой промышленности на приемлемость имели очень хорошие признание: более 70 % потребителей описывали их «мне это слегка нравится». Результаты сенсорной оценки на вкусовые качества, в котором оценивались цвет корочки, аромат, твёрдость, сладкий тест и послевкусие также были удовлетворительными – оценщики в восприятии ароматов оценили их как «очень приятные».

Таким образом, рекомендовано использовать ГГС с массовой долей сухих веществ 70 % (нейтрализованный 5 % пищевой содой) при производстве пряников вместо импортного сахара с внедрением данной технологии в производственном цикле ЗАО «Лаззат», г. Душанбе.

По расчетам специалистов предприятия экономический эффект от использования ГГС с массовой долей сухих веществ 70 % при производстве пряников составляет 827 сомони на тонну готового продукта.

Главный инженер ЗАО «Лаззат»

Махкамов О. Х.

Начальник экономического сектора
ЗАО «Лаззат»

Гайратов С. И.

Гл. науч. сотр. Института Химии НАНТ

Мухиддинов З. К.

И. о. доцента кафедры ТПП ТУТ

Икромии Х. И.

Докторант PhD ТУТ

Самадов Р. С.

ПРИЛОЖЕНИЕ Е



«ТАСДИҚ МЕКУНАМ»

Директори ҶСП

«Комбинати шири Душанбе»

Комилов Н.О.

11.02.11 2013

ХУЛЛОСАИ САҶАИИ

Оиди дар амал тадбиқ намудани пешниҳоди номзади илмҳои химия, муаллими калони кафедраи физикаи Донишгоҳи техникаи Тоҷикистон ба номи академик М.С. Осимӣ, **Насриддинов Абубакр Саидкулович** нисбати истифодаи маводи пектинӣ дар устувор нигоҳ доштани маҳсулоти шири (кефир ва ёгурти мевагӣ).

Маҳдули пектинии баландметилӣ аз себи сурхи (макони парвариш н. Файзобод) бо усули нав таҳқиқшуда (Патенти ҶТ №563, 2013, Муҳидинов З.Қ., Тешаев Х.И., Ҷонмуродов А.С., Фишман М.) барои устувор намудани дараҷаи ғилзати маҳсулоти шири кефир ва ёгурти мевагӣ истифода карда шуд.

Таҷрибаҳои дар озмоишгоҳи марказии ҶСП «Комбинати шири Душанбе» гузаронидашуда нишон доданд, ки истифодаи маҳдули пектини баландметилии аз себ истехсолшуда барои баланд бардоштани устувории дараҷаи ғилзати маҳсулоти шири кефир ва ёгурти мевагӣ (яъне роҳ надодан ба каогулятсияи казеин ва чудошавии об дар муҳлати нигоҳдорӣ) ва дароз намудани давомнокии нигоҳдорӣ ин маҳсулот мусоидат менамояд.

Дар вақти ҳамроҳ намудани ин моддаи пектинӣ бо миқдори баландтарин аз 0.5% то 0.1 % ба маҳсулоти шири кефир ва ёгурти мевагӣ пеш аз раванди пастеризатсия, муҳлати устувор нигоҳдорӣ ин маҳсулот дар температураи 4 ± 2 °C ба муддати 3-4 шабонарӯз зиёд мешавад.

Ҳамин тариқ, ин татқиқот ба корхонаҳои коркади маҳсулоти шири имконияти нигоҳдорӣ дарозмӯддати маҳсулоти истехсолиро фароҳам оварда, ба фурӯши он дар бозори истеъмолӣ мадад мерасонад.

Сардори озмоишгоҳи ҶСП
«Комбинати шири Душанбе»

Назарбекова Н.

Ходими калони илмӣ
Пажӯҳишгоҳи кимиёи АИ ҶТ,
д.и.х., профессор

Муҳидинов З.Қ.

Докторанти Пажӯҳишгоҳи
кимиёи АИ ҶТ, Ҷ.и.т.

Тешаев Х.И.