

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
**«БЕЛГОРОДСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»**
(Н И У « Б е л Г У »)

ИНСТИТУТ ФАРМАЦИИ, ХИМИИ И БИОЛОГИИ

КАФЕДРА ОБЩЕЙ ХИМИИ

**ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ ВЫДЕЛЕНИЯ ПЕКТИНОВ И
ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ ИЗ ЯБЛОЧНОГО ЖОМА**

Выпускная квалификационная работа
обучающегося по направлению подготовки 04.03.01 Химия
очной формы обучения, группы 11001518
Малаховой Марии Сергеевны

Научный руководитель
к.х.н., доцент
Дейнека Л.А.

БЕЛГОРОД 2019

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	3
1 ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР	4
1.1 История возникновения пектиновых веществ	5
1.2 Номенклатура и химическая структура пектиновых веществ	6
1.3 Свойства и функции	8
1.4 Содержание в природных объектах	11
1.5 Применение пектиновых веществ	14
2 ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ	17
2.1 Экстракция и определение жиров	17
2.2 Выделение пектина из остатка 1	17
2.3 Определение в остатке 3 галактуроновой кислоты и свободных кислотных групп	17
2.4 Определение фенольных кислот в фильтрате после осаждения пектина (остаток 2)	18
2.5 Определение антиоксидантной активности в фильтрате после осаждения (остаток 2) методом Фолина-Чокальтеу	18
3 ОБСУЖДЕНИЯ И РЕЗУЛЬТАТЫ	19
ВЫВОДЫ	39
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	40
ПРИЛОЖЕНИЕ	42

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время активно развивается направление по созданию малоотходной или безотходной технологии с целью повышения эффективности на современном производстве. Этим требованиям наиболее может отвечать производство пектина и его продуктов, что подразумевает выделение биологически активного студнеобразователя из продуктов вторичного сырья: яблочных и цитрусовых выжимок, свекловичного жома. Вторичное сырье используется в достаточно малых количествах и составляет 20-30% от общего количества, порядка 0,2-0,3% свекловичного жома применяется для производства пектина, а яблочных выжимок - 2-3%. Потребление пектина в значительной степени превышает объемы отечественного производства, а так же закупок за рубежом. В связи с этим необходимо создание оптимальных условий для технологии, подходящих для качественной и количественной оценки производства пектина из природного сырья на территории Российской Федерации. В качестве объекта для разработки данной технологии были предоставлены образцы яблочных выжимок предприятием «ООО» Группа Компаний «Спецтехника».

Целью работы стала разработка технологии выделения пектина и других биологически активных веществ из яблочного жома по заказу конкретного предприятия «ООО» Группа Компаний «Спецтехника».

Для выполнения цели были решены задачи:

1. Изучение научной литературы по данной тематике, включая технологии выделения пектинов.
2. Разработка комплексной технологии выделения биологически активных веществ из яблочного жома.
3. Оптимизация условий выделения пектина и изучение его свойств;
4. Выделение других биологически активных веществ из жома.

1 ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

1.1 История возникновения

Изучать пектиновые вещества начали с конца XVIII века. Луи Николя Вокленом в 1790 году было выделено из фруктового сока и описано вещество, которое образует студень в водном растворе. В 1825 году Анри Браконно выделил пектины в самостоятельную группу веществ [1-3]. Так же он первый ввел понятие пектин, от греч. – свернувшийся, т.е. описываемые гликаны способны к разбуханию в водных растворах и формированию вязких полужидких гелей. В 1848 году Эдмон Фреми воспроизвел разделение природного пектина на две фракции – растворимую и нерастворимую. А уже в 1907 году Ширх дал им названия: «гидропектин» и «протопектин». И наконец, в 1917 году была определена основа мономера пектина, которая составляется остатками D-галактурановой кислоты, частично этерифицированных метиловым спиртом. Юлиусом Лотаром Майером в 1930 году был установлен тип связей в полигалактуранане – 1-4. Шнайдер и Бокк представили структуру полигалактуранановой цепи в пространстве в 1937 году, а в 1944 году комитет Американского химического общества принял номенклатуру пектиновых веществ [4]. Все пектины как полигалактурананы трактовались вплоть до конца 40-х годов двадцатого столетия. Только в 50-е годы был обнаружен другой предложенный сахар в их составе – L-рамноза, которая связывалась с соседними мономерными звеньями 1-2 связями и служила узлом для разветвления полисахаридных молекул. В 1940 году, Мирошников выделил из морских трав рода *Zostera* (семейство *Zosteraceae*) специфический пектин зостеран, который содержал сахар D-апиозу (апиогалактуранан) необычный по своему строению [1,5]. В настоящее время насчитывают пятнадцать разновидностей сахаров, остатки которых входят в состав пектинов из различных источников [6].

1.2 Номенклатура и химическая структура пектиновых веществ

Пектин представляется полисахаридом, который образовывается непосредственно остатками галактурановой кислоты. Полиуроновая кислота значится как основной компонент полисахаридов, представляющих класс пектиновых веществ. Для высших растений они представлены остатками D-галактурановой кислоты, связывающиеся С-1→С-4 связями.

Каждый остаток D-галактурановой кислоты имеет свою карбоксильную группу в определенном состоянии: образует с ионами определенных металлов соли (пектаты); одновременно соль и метоксилированна (пектинат), или остается немодифицированна (пектовая кислота – основа всех пектиновых веществ), или частично метоксилированна (пектин) рис. 1.1, табл.1.1[7].

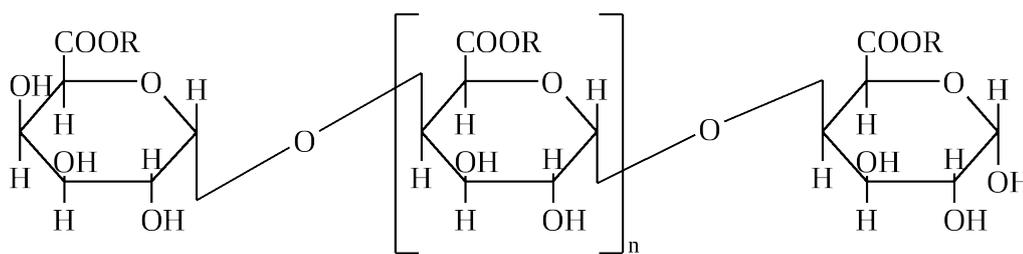


Рис.1.1. Структурная формула пектина

Таблица 1.1.

Номенклатура радикалов

Название вещества	Радикал
Пектовая кислота	RH
Пектат	Me ⁺
Пектин	H; CH ₃
Пектинат	Me ⁺ ; CH ₃

С течением долгого времени не имелось представления о номенклатуре пектиновых веществ и применялось прядка 50 разнообразных терминов в литературных изданиях. В настоящее время утверждена номенклатура для

пектиновых веществ, согласно разработкам Комитета Американского химического общества:

- пектин – вещество, которое состоит преимущественно из полигалактуроновой кислоты, частично этерифицированной метанолом;

- пектиновые вещества – группа гетерополисахаридов растительного происхождения, образованные остатками галактуроновой кислоты, которые связываются α -(1,4)-гликозидными связями;

- пектиновые кислоты – полигалактуроновые кислоты, из которых часть карбоксильных групп этерифицируется метиловым спиртом, при этом, содержащие метильно-эфирные группы порядка 0,8%. Пектинаты - соли пектиновых кислот;

- пектовые кислоты – пектины с отщепленной метоксильной группой и с нетронутой цепью. Пектаты считаются солями пектовых кислот;

- протопектин – природный пектин растений, нерастворимый в воде, в основном состоит из сети пектиновых цепей, которые образуют ионные мостиковые связи, и в минимальном количестве с H_3PO_4 с помощью эфирных мостиков;

- производные пектина – пектины, имеющие различные группы, связанные законом валентностей [8,9].

1.3 Свойства пектиновых веществ

Пектин – полисахарид с длинной цепью, подобно скрученной спирали, с повторяющимися единицами и высоким молекулярным весом. Это означает, что пектину присущи свойствами лиофильного коллоида. Золи пектина, в отличие от желатин и агар-агара (природных коллоидов), переходят в гель только в присутствии сахара и кислоты, или поливалентных металлов. В высушенном виде, выделенный из растений, пектин представляет собой порошок от белого до серо-коричневого цвета в зависимости от степени очистки и источника получения. Он не имеет запаха, при пробе на язык консистенция слизистая. Пектин хорошо растворим в

воде, особенно при нагревании, осаждаем спиртом и другими органическими растворителями. При увеличении температуры порядка 100°C пектин начинает разлагаться. В присутствие ионов хлора наблюдается быстрое разложение. Показатели, характерные для пектина: молекулярный вес, ацетильное число, метоксильное число, желеобразующая способность растворимость в воде, вязкость золя. Исходя из того, что каждый пектин представляется смесью молекул, имеющих разные длины цепи, устанавливается средний молекулярный вес (табл. 1.2) [3,7,10].

Таблица 1.2.

Молекулярный вес пектиновых веществ

№	Пектин	Молекулярный вес
1	Яблочный	50000–200000
2	Цитрусовый	23000–71000
3	Свекловичный	62000
4	Корзинок подсолнечника	34000–38000
5	Кормового арбуза	39000
6	Надземная часть ревеня огородного	2300

Вес молекул пектинов может различаться в зависимости от его источника, а также способа получения, который вызывает отличную от других степень деградации молекулы. Одним из важных показателей пектиновых веществ является наличие метоксильных групп. Степень этерификации напрямую зависит от источника и способа получения полигалактуроновой кислоты, которая меняется в пределах: от пектовой кислоты до остатков (карбоксильных) полигалактуроновой кислоты. Пектины, получаемые из разных видов растений, будут значительно различаться степенями этерификации (табл. 1.3) [11].

Таблица 1.3.

Содержание метоксильных и ацетильных групп в пектиновых веществах

Пектин	Содержание метоксильных групп, %	Содержание ацетильных групп, %
1 Яблочный	7,15–11,4	0,30–0,69
2 Цитрусовый	6,90–9,60	0,24–0,50
Пектин	Содержание метоксильных групп, %	Содержание ацетильных групп, %
3 Свекольный	3,70–5,50	0,40–2,50
4 Корзинок подсолнечника	5,30–6,50	нет данных

Метоксильное число особо значимо по отношению к желирующим свойствам пектина. Для пектина желеобразующего установили норму по содержанию метоксильных групп порядка 7 %.

Гораздо в меньших количествах содержатся ацетильные группы в пектине. Они колеблются в большом диапазоне: начиная сотыми долями и до 2,5 %. Желирование подвергается отрицательному влиянию со стороны ацетильных групп. Так же установили пределы по содержанию ацетильных групп, которые являлись допустимыми для студнеобразующего пектина, т.е. не более 1 % [11,12].

Самый оптимальный растворитель пектиновых веществ – вода. Также они растворимы концентрированной фосфорной кислотой и жидким аммиаком; а набухание наблюдается в глицерине и формамиде. В остальных растворителях они почти не растворяются.

Увеличение степени этерификации и с уменьшение степени полимеризации влияет на растворимость пектина в воде, тем самым вызывая ее возрастание. Из двух пектинов, имеющих одинаковые длины цепей, легче растворяется тот, метоксильное число у которого выше; меньшее значение молекулярного веса дает преимущество при растворении пектинов с одинаковыми степенями этерификации.

Характерная особенность пектинового золя заключается в том, что с увеличением концентрации происходит непропорционально высокое возрастание вязкости. Напрямую можно заметить зависимость вязкости пектинового золя от молекулярного веса и молекулярных форм пектина. С повышением давления вязкость быстро снижается у структурированного золя из-за нарушения эластичной структуры [12].

Характерное и особо важное свойство пектина - его способность образовывать студни при участии сахара и кислот, от этого и пошло их название – «соединяющий». Молекулярная масса пектина, концентрация сахара в растворе, температура и рН среды, степень этерификации и содержание в его молекуле функциональных групп – все это значительно влияет на студнеобразование растительного пектина.

Пектин способен к образованию различных видов гелей. Основными типами, из которых представляется образование гелей при взаимодействии с сахарами и кислотами.

Для гелей первого типа с добавлением кислоты происходит подавляющее действие карбоксильных групп, что уменьшает силы отталкивания. При добавлении сахара нарушается сольватация, и затем следует сближение взаимных частичек пектина – процесс перехода золя в гель, в то же время создается сетка, представленная пектиновыми молекулами, блокирующая раствор сахара. Возникают водородные связи пектиновой кислоты между группами цепей карбоксилов и гидроксидов (рис.1.2)[13].

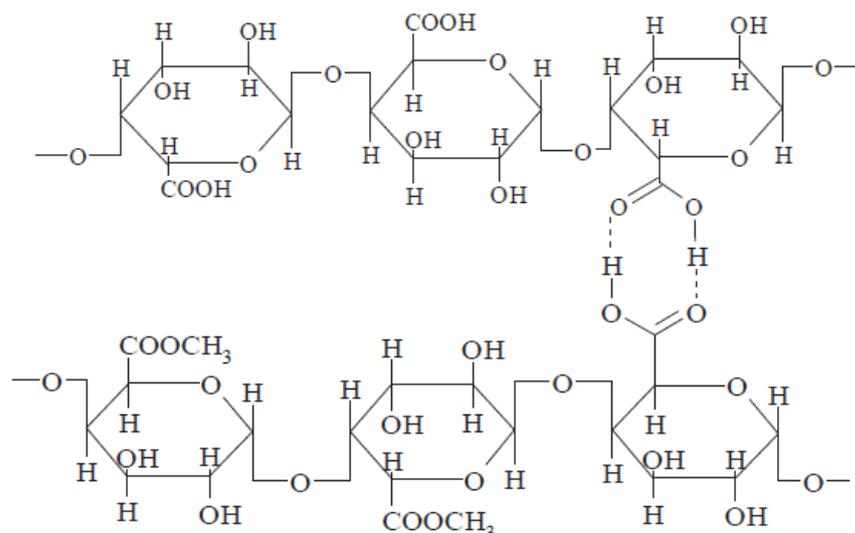


Рис.1.2. Структура пектиновой кислоты

Второй тип гелей возникает при взаимодействии ионов поливалентных металлов с раствором низкометоксилированного пектина. Известно, что соли щелочных металлов хорошо растворяются в воде, в то время как практически нерастворимы соли поливалентных металлов (рис.1.3) [13].

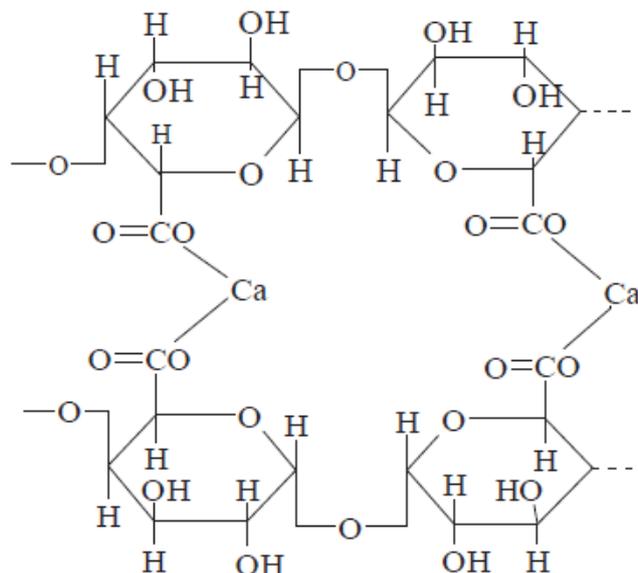


Рис. 1.3. Структура соли пектиновой кислоты

Молекулы пектиновых веществ, которые растворимы, претерпевают под действием кислот два параллельно явных изменения:

а) процесс омыления карбоксильных групп, подвергшихся этерификации;

б) процесс разрушения молекулы в связи с разрывом между остатками *D*-галактуроновой кислоты гликозидной связи.

Действие, которое оказывает сильная минеральная кислота на пектиновую высокоэтерифицированную при комнатной температуре, вызывает ее омыление через несколько недель до полигалактуроновой кислоты, которая нерастворима и выпадает в осадок. Одновременно омыляются метоксильные и ацетильные группы молекулы пектина. С увеличением температуры кислотное омыление проявляется быстрее. С последующим повышением температуры происходит возрастание скорости данного процесса, и начавшийся распад макромолекул увеличивается по главным валентностям, вызывая преобладание деградации над омылением [12-14].

Оба процесса, такие как деградация и омыление, полностью не зависят друг от друга. Омылению эфирных групп предрасполагает понижение значения pH, повышению температуры – разрыв гликозидных связей. Так, при температуре порядка 50°C возможен процесс омыления, который не проводится параллельно с деградацией макромолекулы. Полная деградация молекулы, вплоть до галактуроновой кислоты, происходит при продолжительном кислотном гидролизе.

Протопектин имеет свойство разлагаться под действием избытка щелочи, которое происходит даже в условиях комнатной температуры. Омыление со щелочами протекает намного быстрее, нежели с кислотами: оно совершается за несколько часов при достаточном количестве основания [14,15].

1.4 Содержание в природных объектах

Колоссально распространены пектиновые вещества в природе: они могут встретиться в тканях водорослей и практически все высшие растения ими обладают. Пектины располагаются в листовенной и стебельной частях растений, а также могут находиться в корнеплодах и фруктах. Так, лимон и

апельсиновая корка содержат 20-40%, от навески сухого вещества, тем самым являясь богатым источником пектина. А в яблоках порядка 10 - 20%, еще содержится в турнепсе, свекловичной массе (табл. 1.4).

Таблица 1.4.

Содержание пектина в 100 г фруктов

Название фрукта	Содержание пектина в 100 г, г
Абрикосы	4 – 7
Яблоки	1,6 – 5,0
Название фрукта	Содержание пектина в 100 г, г
Виноград	1,2
Слива	1,1 – 3
Персики	1,0
Груша	0,9 – 2,4
Апельсины	0,7

Цветущий хлопок содержит примерно 5% пектина. Количество пектина снижается до 0.8 - 1% при созревании хлопка. Следовательно, содержание пектина во фруктах снижается или, чаще всего, возрастает по мере созревания плодов. Это означает, что важную роль и в процессе метаболизма резервных веществ играют пектины (табл. 1.5) [16].

Таблица 1.5.

Содержание пектина в 100 г ягод

Название ягоды	Содержание пектина в 100 г, г
Ирга	1,5 – 2,7
Крыжовник	1 – 6
Черная смородина	1,1
Земляника	1,0
Айва японская	0,9 – 2,1
Черешня	0,6
Вишня	0,6
Алыча	0,5 – 1,4

Пектиновые вещества в виде протопектина присутствуют преимущественно в растительных тканях. Он содержится, в первую очередь, в стенках растительной клетки, затем уже в межклеточном цементирующем материале, вместе с тем являются опорным элементом тканей. Линейные волокна целлюлозы, похожие на стальной каркас здания, образуют основную решетку структуры растительной клетки. В то время как фибриллярные протопектины являются материалом структурных деталей. Пектины и пектинаты содержатся в клеточном соке природных объектов. При процессе деления, а так же росте клеток они играют очень важную роль, а также поддерживают водный и солевой баланс нелигнифицированных тканей (табл. 1.6) [17].

Таблица 1.6.

Содержание пектина в 100 г овощей

Название продукта	Содержание пектина в 100 г, г
Свекла	4,8 – 7,2
Морковь	1,5 – 4,3
Капуста	1,1
Лук репчатый	0,6
Помидоры	0,5
Огурцы	0,5
Баклажаны	0,5
Тыква	0,3

1.5 Применение

а) В пищевой промышленности

Пектин применяют как вещество, способное образовывать студни. Он применим в качестве получения продуктов гелеобразной структуры. Высокоэтерифицированный имеет широкое применение в продуктах, которые включают значительное количество сахара. Низкоэтерифицированные рекомендовано применять в продуктах, которые содержат низкое количество сахара [19].

Также они нашли применение при производстве молочной продукции, кондитерской изделий, хлебопекарных и консервных продуктов питания; при непосредственном изготовлении напитков, не содержащих алкоголь [19]; с

целью увеличения способности поглощать воду из сыров; а также как загустители и эмульгаторы при производстве мороженого, майонеза.

б) В лечебных целях

Считается, что пектин обладает ценными биологическими свойствами, благодаря чему он - основной компонент продуктов лечебного, а также профилактического питания.

Разнообразие таких свойств пектина довольно широко (рис. 1.4).



Рис.1.4. Лечебно-профилактические свойства пектина [19]

Пектины - это растворимые пищевые волокна, считаются физиологически ценной пищевой добавкой, что может способствовать улучшению состояния здоровья при их присутствии.

Комплекс биополимеров, вот, что представляют собой пищевые волокна, которые включают следующие полисахариды: целлюлозу, гемицеллюлозу и пектиновые вещества. Задачей пищевых волокон является выведение из организма метаболитов и создание регуляции как физиологических, так и биохимических процессов в пищеварительных органах. Оптимальное потребление порядка 40–70 г в сутки. [19].

Пектин так же способен к снижению уровня холестерина в крови, нормализует работу ЖКТ, связывает и способен к выведению некоторого ряда токсинов и тяжелых металлов из организма.

В медицине и фармацевтике пектиновые вещества придают эмульсиям вязкость, создают гели, гранулы, суспензии, помогают созданию препаратов, создаваемые для лечения ран. [19].

в) Другие направления

Пектину присущи эмульгирующие свойства, его применяют для создания разнообразных паст, мазей, кремов в фармацевтике и косметологии.

Важной областью, в которой применяются полисахариды, считается разработка пленок на основе полимеров, которые съедобные. И у них же значится повышенная гидрофобность и пониженная паропроницаемость. Для сохранности окраски мяса и мясопродуктов при длительном хранении и уменьшения их потерь в процессе усушки применяют 1%, раствор, на основе воды, низкоэтерифицированного пектина в качестве пленкообразующего раствора [19].

В химической промышленности на основе пектинов создают клеи, моющие средства, ионообменные смолы; в сельском хозяйстве — получают стойкие инсектицидные эмульсии [19].

2 ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

2.1 Экстракция и определение жиров

На аналитических весах взвешиваем $2 \pm 0,01$ г яблочного жома. К навеске жома приливаем 20 мл петролейного эфира, перемешиваем в течение 15 минут и после отстаивания декантацией сливаем фильтрат на бумажный фильтр. Операцию повторяем еще два раза. Объединяем все фильтраты и переносим в круглодонную колбу для отгонки петролейного эфира. Колбу предварительно взвешиваем. Фильтрат выпариваем досуха и взвешиваем колбу с сухим остатком. Рассчитываем массу выделившихся жиров. Остаток после фильтрования (остаток 1) оставляем для дальнейших исследований.

2.2 Выделение пектина из остатка 1

Остаток 1 заливаем 50 мл 0,1 М раствора соляной кислоты, выдерживаем 1 час при автоматическом перемешивании, отфильтровываем через бумажный фильтр, остаток переносим в стакан и повторяем операцию еще раз. Фильтраты объединяем, измеряем объем и добавляем 1,5-кратный избыток спирта. Перемешиваем и помещаем в морозильную камеру на 30 минут. Осадок пектина фильтруем через бумажный фильтр, предварительно взвешенный на аналитических весах. Фильтрат (остаток 2) оставляем для дальнейшей работы. Высушиваем пектин до воздушно сухого состояния. Рассчитываем массу выделившегося пектина.

2.3 Определение в остатке 3 галактуроновой кислоты и свободных кислотных групп

Определение производится методом потенциометрического титрования после растворения пектина в горячей воде 0,005 М раствором гикроксида натрия и 0,04 М раствором гикроксида калия соответственно.

2.4 Определение фенольных кислот в фильтрате после осаждения пектина (остаток 2)

Из фильтрата после осаждения пектина отгоняем спирт на ротационном испарителе. Измеряем объем остатка и очищаем его с использованием патрона Диапак. Патрон предварительно кондиционируем и активируем. Выделяем фенольные кислоты с патрона элюентом для ВЭЖХ, определяем фенольные кислоты методом ВЭЖХ.

2.5 Определение антиоксидантной активности в фильтрате после осаждения (остаток 2) методом Фолина-Чокальтеу

Аликвоту образца помещаем в мерную колбу на 5 мл. Затем добавляем 1 мл 10%-ного раствора карбоната натрия и 200 мкл реактива Фолина-Чокальтеу. Выдерживаем в течение 30 минут, доводим дистиллированной водой до метки.

Оптическую плотность измеряем с использованием спектрофотометра СФ-58. Спектры записываем в кварцевых кюветах с длиной оптического пути 1 см и $\lambda=760$ нм относительно водно-спиртовых смесей. Пересчет производим на кофейную кислоту.

3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

3.1 Выбор времени экстракции пектина

Три навески по 2,0 г яблочного жома взвешивали на аналитических весах и добавляли 100 мм 0,1 М раствора HCl. Нагревали на песчаной бане при $t=60^{\circ}\text{C}$ первый образец 30 минут, второй – 60 минут, а третий – 90 минут. После охлаждения фильтровали через бумажный фильтр. К полученному фильтрату добавили 1,5-кратный избыток охлажденного этанола, перемешали и поместили в морозильную камеру на 30 минут. Выпавший осадок пектина фильтровали через предварительно взвешенный бумажный фильтр и высушивали при комнатной температуре (20°C). Сухой фильтр с осадком пектина взвешивали на технохимических весах и рассчитывали массовую долю пектина по формуле:

$$\omega = \frac{m_{\text{пектина}}}{m_{\text{навески}}} \cdot 100\%; \text{ где}$$

ω – массовая доля пектина, выраженная в %;

$m_{\text{пектина}}$ – масса пектина, выраженная в г;

$m_{\text{навески}}$ – масса навески, выраженная в г.

Полученные результаты приведены в табл. 3.1.

Таблица 3.1.

Выбор времени экстракции

Время экстракции, мин.	Масса жома, г	Масса пектина, г	Массовая доля пектина, %
30	2,000	0,2508	12,54
60	2,002	0,2455	12,28
90	2,004	0,2568	12,84

Из экспериментальных данных можно сделать вывод: 30 минут достаточно для проведения полного гидролиза, поэтому было выбрано это время для дальнейших экспериментов.

3.2 Выбор температуры, необходимой для проведения полного гидролиза пектина

Сначала гидролиз проводили при комнатной температуре. Для этого брали две навески яблочного жома по 2,0 г. и проводили гидролиз по методике, описанной в 3.1, только без нагревания. Затем аналогично проводили гидролиз при следующих температурах: 30°C, 50-60°C, 60-70°C. Результаты представлены в табл. 3.2.

Таблица 3.2.

Выбор температуры, необходимой для проведения полного гидролиза

t (экстракции), °C	m (жома), г	m (пектина), г	ω (пектина), %
20	2,002	0,078	3,90
30	2,006	0,083	4,14
	2,004	0,102	5,09
50-60	2,001	0,227	11,34
	2,001	0,201	10,04
60-70	2,003	0,327	16,32

Из экспериментальных данных можно сделать вывод, что для более полного гидролиза и как, следствие, выхода пектина необходима температура 70°C.

3.3 Экстракция пектина из яблочного жома при оптимальных условиях

Две навески массой 0,5 г взвешивали на аналитических весах и заливали по 25 мл 0,1 М HCl в обе навески. Нагревали на песчаной бане 30 минут при температуре 70°C при периодическом перемешивании. Осадок отфильтровывали через бумажный фильтр, а к полученному фильтрату добавляли 1,5-кратный избыток охлажденного этанола. На рис. 3.1 представлен осадок. После охлаждения осадка в м19орозильной камере (30 минут), осадок пектина отфильтровывали через, предварительно взвешенный, бумажный фильтр. Рассчитывали массовую долю пектина в жоме по формуле:

$$\omega_1 = \frac{m_{\text{пектина}}}{m_{\text{навески}}} \cdot 100\% = \frac{0,0787}{0,509} \cdot 100\% = 15,46\%;$$

$$\omega_2 = \frac{m_{\text{пектина}}}{m_{\text{навески}}} \cdot 100\% = \frac{0,0806}{0,508} \cdot 100\% = 15,86\%, \text{ где}$$

ω_1, ω_2 – массовые доли пектина при первом гидролизе, выраженные в %;

$m_{\text{пектина}}$ – масса пектина, выраженная в г;

$m_{\text{навески}}$ – масса навески, выраженная в г.

Для проверки полноты гидролиза осадок на фильтре обрабатывали 25 мл 0,1 М HCl и нагревали 30 минут на песчаной бане. После нагревания отфильтровывали через бумажный фильтр и добавляли 1,5-кратный избыток спирта, охлаждали и наблюдали выпадение в осадок пектина, но в значительно меньшем количестве. После высушивания пектина, взвешивали и рассчитывали его массовую долю, дополнительно выделенного при повторном гидролизе.

$$\omega_3 = \frac{m_{\text{пектина}}}{m_{\text{навески}}} \cdot 100\% = \frac{0,0217}{0,509} \cdot 100\% = 4,26\%;$$

$$\omega_4 = \frac{m_{\text{пектина}}}{m_{\text{навески}}} \cdot 100\% = \frac{0,0222}{0,508} \cdot 100\% = 4,37\%, \text{ где}$$

ω_1, ω_2 – массовые доли пектина при втором гидролизе, выраженные в %;

$m_{\text{пектина}}$ – масса пектина, выраженная в г;

$m_{\text{навески}}$ – масса навески, выраженная в г.

Суммарное количество выделенного пектина составляет: 19,72% и 20,23%.

Таким образом, удается увеличить выход пектина при повторной экстракции примерно на 5%. Так как каждая стадия очень трудоемка, необходимо решить, что экономически целесообразно проводить выделение пектина в одну или 2 стадии. Количество экстрагента в объеме 25 мл на каждый гидролиз является достаточным.

3.4 Экстракция и определение липидов

Навеску, массой 2,0 г яблочного жома, взвешивали на аналитических весах и добавляли 20 мл петролейного эфира и перемешивали в течение 15 минут, после отстаивания декантацией сливали фильтрат на бумажный фильтр. Операцию повторяли еще 2 раза. Объединили все фильтраты и перенесли в, предварительно взвешенную, круглодонную колбу для отгонки петролейного эфира. Фильтрат выпаривали досуха и взвешивали колбу с сухим остатком. Рассчитывали массу выделившихся липидов по формуле:

$$m_{\text{жиров}} = m_{\text{колбы до}} - m_{\text{колбы после}} = 157,758 - 157,847 = 0,089 \text{ г};$$

$$\omega = \frac{m_{\text{жиров}}}{m_{\text{навески}}} \cdot 100\% = \frac{0,089}{2,003} \cdot 100\% = 4,44\%, \text{ где}$$

$m_{\text{колбы до}}$ – масса колбы до определения липидов, выраженная в г;

$m_{\text{колбы после}}$ – масса колбы после определения липидов, выраженная в г;

ω – массовая доля липидов, выраженная в %;

$m_{\text{жиров}}$ – масса липидов, выраженная в г;

$m_{\text{навески}}$ – масса навески, выраженная в г.

Остаток после фильтрования (остаток 1) оставили для дальнейшего исследования (табл. 3.3).

Сухой остаток растворяли в 3 мл ацетона для хроматографии и методом ВЭЖХ анализировали жиры яблочного жома. Получили раствор, разбавленный в 10 раз.

Таблица 3.3.

Определение массовой доли липидов в яблочном жоме

Масса навески, г	Масса колбы, г	Масса липидов, г	Массовая доля липидов, %
2,003	157,758	0,089	4,44

Анализ липидов яблочного жома

Условия хроматографирования:

1. Элюент приготовили в пропорциях: 10% ацетонитрила и 90% ацетона.
2. Стационарная фаза колонки, которую мы использовали – Kromosil 100-5C18 4,6×250 мм.
3. Детектор: рефрактометрический RID-10A
4. Температура колонки при проведении исследования $t = 35^{\circ}\text{C}$.
5. Система, определяющая структуру вещества: хроматограф Shimadzu LC-20A.

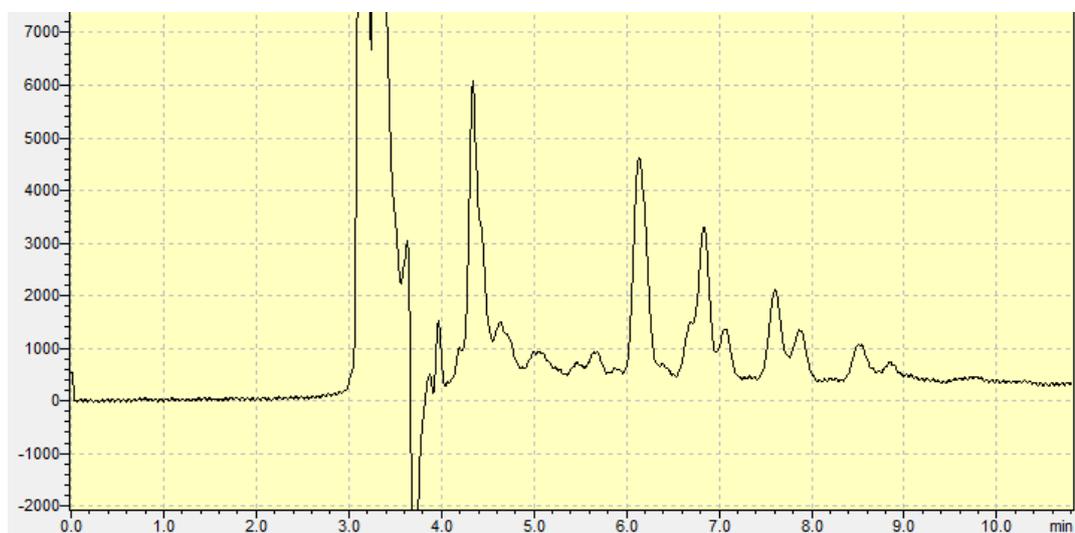


Рис.3.1. Хроматограмма исследуемого образца №1

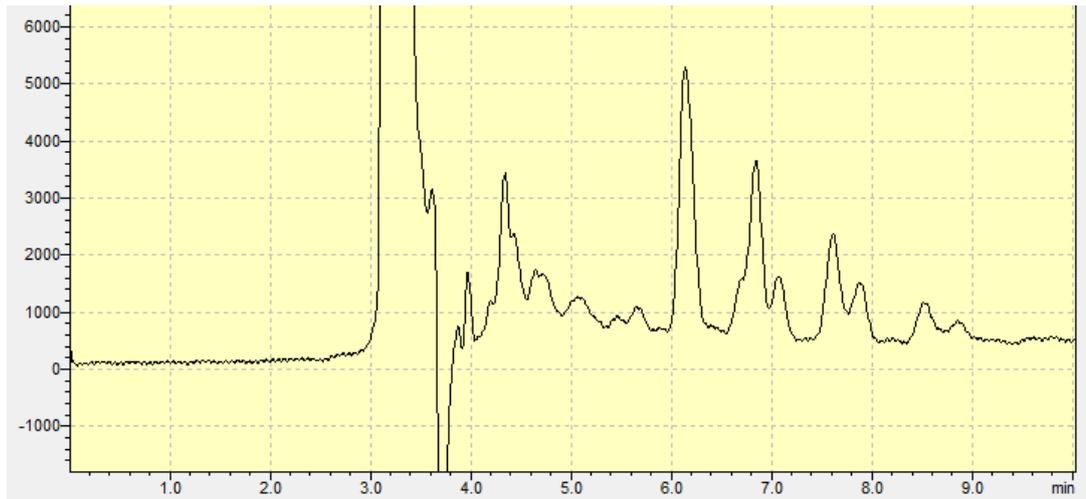


Рис.3.2. Хроматограмма исследуемого образца №2

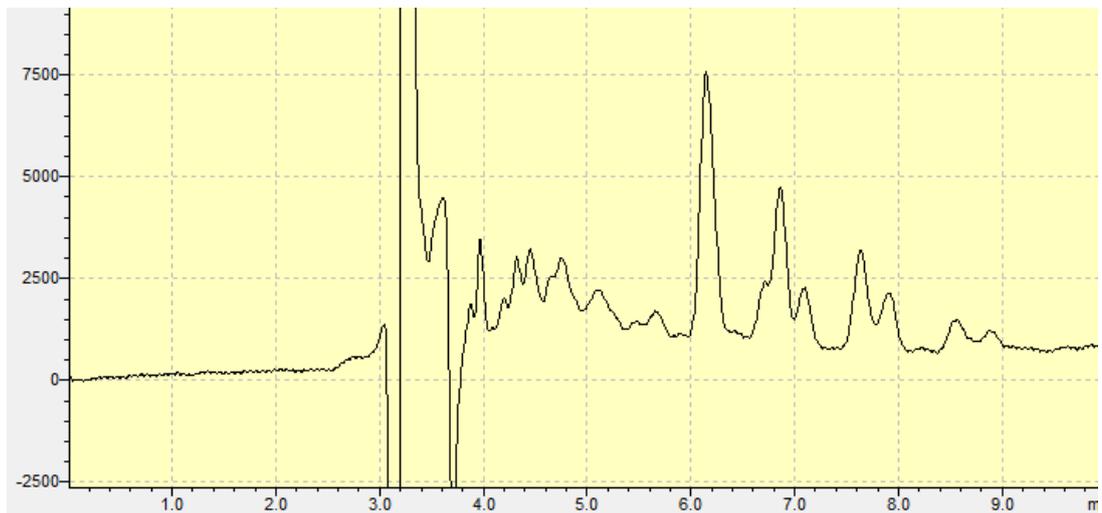


Рис.3.3. Хроматограмма исследуемого образца №3

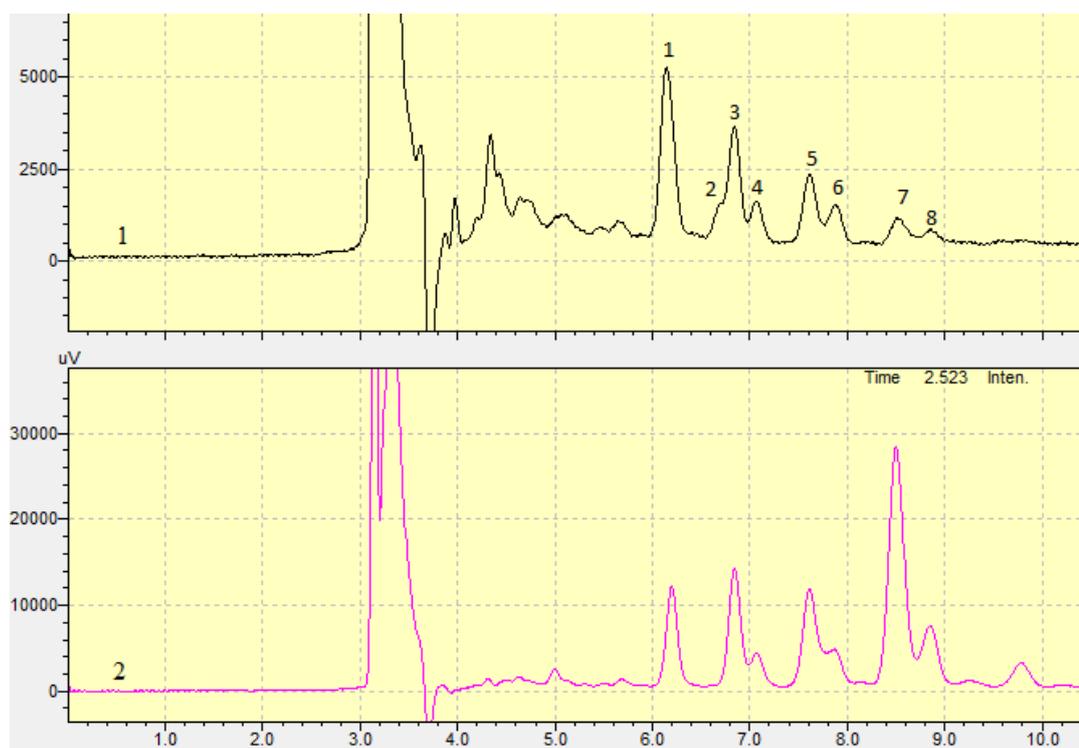


Рис.3.4. Хроматограммы: 1- липиды яблочного жома; 2- масло подсолнечника

На основании полученных хроматограмм, мы определили структуру яблочного жира, воспользовавшись инкрементным подходом.

Таблица 3.4 .

Расшифровка образцов липидов яблочного жома

№	ТАГ	время удерживания, мин	Образец №1		Образец №2		Образец №3	
			Площадь пиков	%ТАГ	Площадь пиков	ТАГ,%	Площадь пиков	ТАГ,%
1	ЛЗ	6.16	6.37	35.58	6.37	35.72	6.367	35.49
2	ЛнО2	6.7	1.367	7.64	1.37	7.68	1.357	7.56
3	Л2О	6.76	3.76	21.00	3.66	20.53	3.776	21.05
4	Л2П	7.1	1.361	7.60	1.37	7.68	1.381	7.70
5	ЛО2	7.64	2.363	13.20	2.36	13.24	2.35	13.10
6	ЛОП	7.91	1.366	7.63	1.376	7.72	1.386	7.73
8	О3	8.58	0.801	4.47	0.801	4.49	0.811	4.52
9	О2П	8.91	0.514	2.87	0.524	2.94	0.51	2.84
ТАГ в образце, %			88.42		88.07		88.59	

3.5 Выделение пектина и определение его содержания в яблочном жоме

Остаток 1 залили 50 мл 0,1 М раствора HCl, выдерживали 1 час при автоматическом перемешивании, отфильтровываем через бумажный фильтр, остаток перенесли в стакан. Остаток после фильтрования (остаток 2) оставили для дальнейшей работы. Измерили объем фильтрата и добавили 1,5-кратный избыток спирта. Перемешали и поместили в морозильную камеру на 30 минут. Осадок пектина фильтровали через бумажный фильтр, предварительно взвешенный на аналитических весах. Высушивали пектин до воздушно сухого состояния (табл. 3.5, табл. 3.6). Рассчитывали массу выделившегося пектина по формуле:

$$m_{\text{пектина}} = m_{\text{фильтра}1} - m_{\text{фильтра}2}, \text{ где}$$

$m_{\text{пектина}}$ – масса пектина, выраженная в г;

$m_{\text{фильтра}1}$ – масса фильтра до определения пектина, выраженная в г;

$m_{\text{фильтра}2}$ – масса фильтра после определения пектина, выраженная в г

Таблица 3.5.

Определение массового содержания пектина в яблочном жоме

Масса навески, г	Масса фильтра до, г	Масса фильтра после, г	Масса пектина, г
2,003	0,7240	1,0425	0,3185

Так же мы определили массовое содержание пектина в исследуемой навеске по следующей формуле:

$$\omega_{\text{пектина}} = \frac{m_{\text{пектина}}}{m_{\text{навески}}} \cdot 100\%, \text{ где}$$

ω – массовая доля пектина, выраженная в %;

$m_{\text{пектина}}$ – масса пектина, выраженная в г;

$m_{\text{навески}}$ – масса навески, выраженная в г.

Таблица 3.6.

Определение процентного содержания пектина в яблочном жоме

Масса навески, г	Масса пектина, г	Массовая доля пектина, %
2,003	0,3185	15,9

3.6 Определение галактуроновой кислоты и свободных кислотных групп

1. Приготовление 0,1 М соляной кислоты.

Для приготовления раствора использовали фиксанал и переносили в мерную колбу на 1000 мл, перемешивали постепенно и доводили до метки дистиллированной водой.

2. Приготовление растворов 0,1 М гидроксида натрия и 0,1 М гидроксида калия.

Для приготовления растворов каждой из щелочей с концентрацией 0,1 М в объеме 250 мл мы определили точные навески по следующим формулам:

$$m_{\text{NaOH}} = C_{\text{NaOH}} \cdot V_{\text{колбы}} \cdot M_{\text{NaOH}} = 0,1 \cdot 0,20 \cdot 40 = 0,80 \text{ г};$$

$$m(\text{практ.}) = 0,8 \text{ г};$$

$$m_{\text{KOH}} = C_{\text{KOH}} \cdot V_{\text{колбы}} \cdot M_{\text{KOH}} = 0,1 \cdot 0,25 \cdot 56 = 1,4 \text{ г};$$

$$m(\text{практ.}) = 1,403 \text{ г}; \text{ где}$$

m_{NaOH} , m_{KOH} – навески гидроксида натрия и гидроксида калия

C_{NaOH} , C_{KOH} – концентрации гидроксида натрия и гидроксида калия;

$V_{\text{колбы}}$ – объем колбы;

M_{NaOH} , M_{KOH} – молярные концентрации гидроксида натрия и гидроксида калия;

Оба раствора готовились в мерных колбах и доводились дистиллированной водой до метки.

Для определения точной концентрации растворов щелочей произвели титрования с тремя параллелями и, усреднив значения, выявили искомую концентрацию.

а) Стандартизация гидроксида натрия

Для стандартизации использовали коническую колбу объемом 250 мл, приливали объем аликвоты, который составляет 10 мл 0,1 М гидроксида натрия, приливали 1-2 индикаторам метилоранжа и титровали раствором 0,1 М соляной кислоты фиксанала. Проводили титрование до сходимости результатов в пределах $\pm 0,1$ мл. Получили следующие результаты:

$$V_1 (\text{HCl}) = 9,9 \text{ мл};$$

$$V_2 (\text{HCl}) = 9,9 \text{ мл};$$

$$V_3 (\text{HCl}) = 9,9 \text{ мл};$$

$$V_{\text{среднее}} = 9,9 \text{ мл};$$

$$V_{\text{среднее}} = \frac{V_1 + V_2 + V_3}{3} = \frac{9,9 + 9,9 + 9,9}{3} = 9,9 \text{ мл};$$

$$C_{\text{NaOH}} = \frac{V_a}{V_{\text{HCl}}} \cdot C_{\text{HCl}} = \frac{10}{9,9} \cdot 0,1 = 0,0101 \text{ М, где}$$

V_1, V_2, V_3 – объемы 0,1 М соляной кислоты, пошедшие на титрование гидроксида натрия;

C_{NaOH} – концентрация гидроксида натрия;

C_{HCl} – концентрация соляной кислоты;

V_a – объем аликвоты;

V_{HCl} – объем 0,1 М раствора соляной кислоты;

$V_{\text{среднее}}$ – среднеарифметический объем 0,1 М соляной кислоты, пошедший на титрование гидроксида натрия.

б) Стандартизация гидроксида калия

Для стандартизации использовали коническую колбу объемом 250 мл, приливали объем аликвоты, который составляет 10 мл 0,1 М гидроксида калия, приливали 1-2 индикаторам метилоранжа и титровали раствором 0,1 М соляной кислоты фиксанала. Проводили титрование до сходимости результатов в пределах $\pm 0,1$ мл. Получили следующие результаты:

$$V_1 (\text{HCl}) = 7,8 \text{ мл};$$

$$V_2 (\text{HCl}) = 7,8 \text{ мл};$$

$$V_3 (\text{HCl}) = 7,8 \text{ мл};$$

$$V_{\text{среднее}} = \frac{V_1 + V_2 + V_3}{3} = \frac{7,8 + 7,8 + 7,8}{3} = 7,8 \text{ мл};$$

$$C_{\text{KOH}} = \frac{V_a}{V_{\text{HCl}}} \cdot C_{\text{HCl}} = \frac{10 \cdot 0,1}{7,8} = 0,078 \text{ М, где}$$

V_1, V_2, V_3 – объемы 0,1 М соляной кислоты, пошедшие на титрование гидроксида калия;

C_{NaOH} – концентрация гидроксида калия;

C_{HCl} – концентрация соляной кислоты;

V_a – объем аликвоты;

V_{HCl} – объем 0,1 М раствора соляной кислоты;

$V_{\text{среднее}}$ – среднеарифметический объем 0,1 М соляной кислоты, пошедший на титрование гидроксида калия;

3. Приготовление 0,005 М гидроксида натрия и 0,04 М гидроксида калия.

Для приготовления необходимо разбавить исходные растворы щелочей: 0,1 М раствор гидроксида натрия разбавляем в 20 раза, гидроксида калия в 3 раза. Из этого получаем следующие расчеты:

$$C_{\text{NaOH}} = 0,0833 \div 20 = 0,005 \text{ М};$$

$$C_{\text{KOH}} = 0,078 \div 2 = 0,039 \text{ М, где}$$

C_{NaOH} – концентрация гидроксида натрия;

$C_{\text{кон}}$ - концентрация гидроксида калия.

Из этого следует, что оптимальными аликвотами для приготовления являются 10 мл исходного раствора гидроксида натрия для объема мерной колбы на 200 мл и 100 мл исходного раствора гидроксида калия для объема мерной колбы на 300 мл.

4. Потенциометрическое титрование.

а) Определение галактуровой кислоты

Проводим ориентировочное титрование растворенного пектина 0,005 М раствором NaOH, прибавляя его из бюретки порциями по 1 мл. По данным, полученным на основе анализа, мы обнаруживаем скачок потенциала, соответствующий точке эквивалентности титрования галактуровой кислоты. По полученным данным построили интегральную и дифференциальную кривые титрования (рис.3.5, рис.3.6).

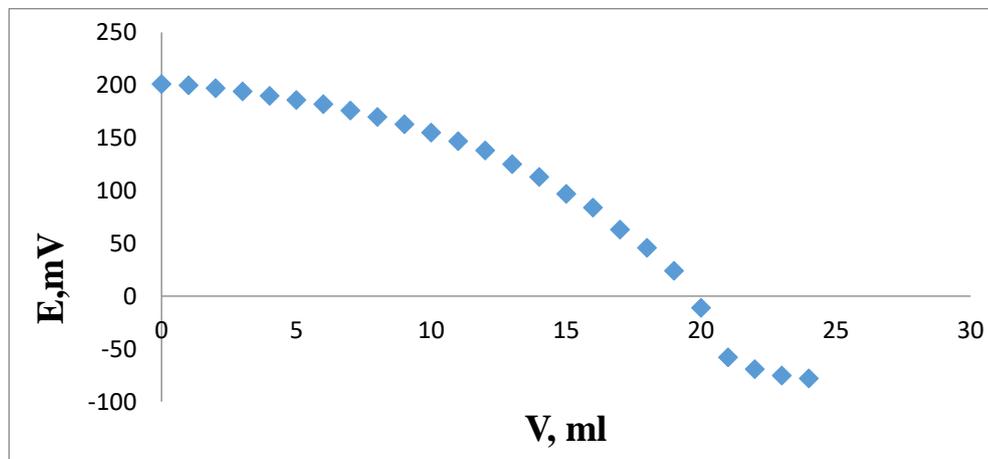


Рис. 3.5. Интегральная кривая потенциометрического титрования раствора пектина 0,005 М раствором NaOH

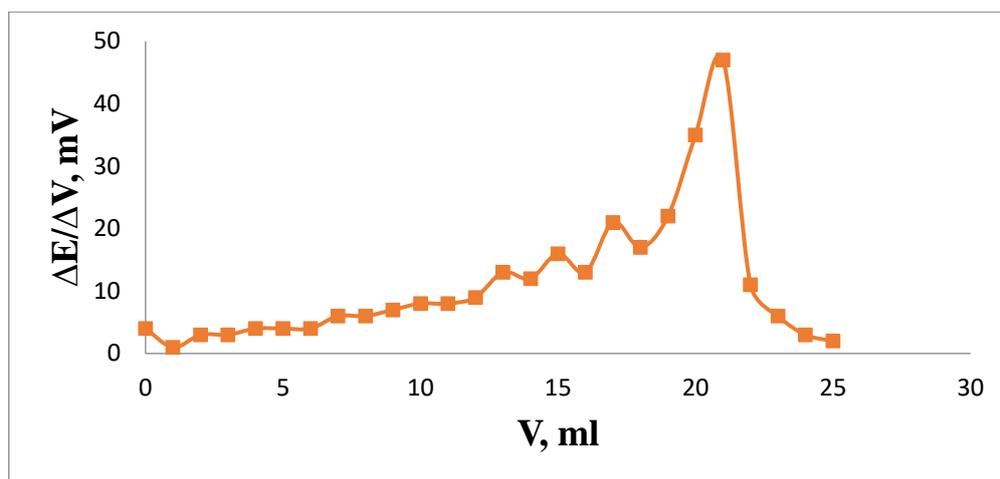


Рис. 3.6. Дифференциальная кривая потенциометрического титрования раствора пектина 0,005 М раствором NaOH

Аналогично растворили пектин в горячей воде и выполнили повторное титрование. Для этого повторили все операции, но приливая по 0,5 мл вместо 1 мл, и в области, обнаруженной при грубом титровании, приливали титрант по 0,2 мл. По данным, полученным при втором титровании, построили интегральную дифференциальную кривые титрования, и нашли объем титранта в точках эквивалентности (рис. 3.7, рис. 3.8).

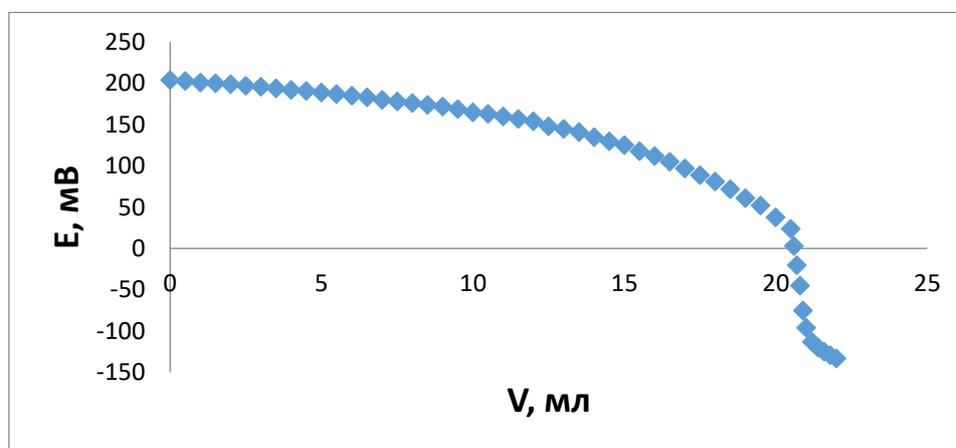


Рис. 3.7. Интегральная кривая потенциометрического титрования раствора пектина 0,005 М раствором NaOH

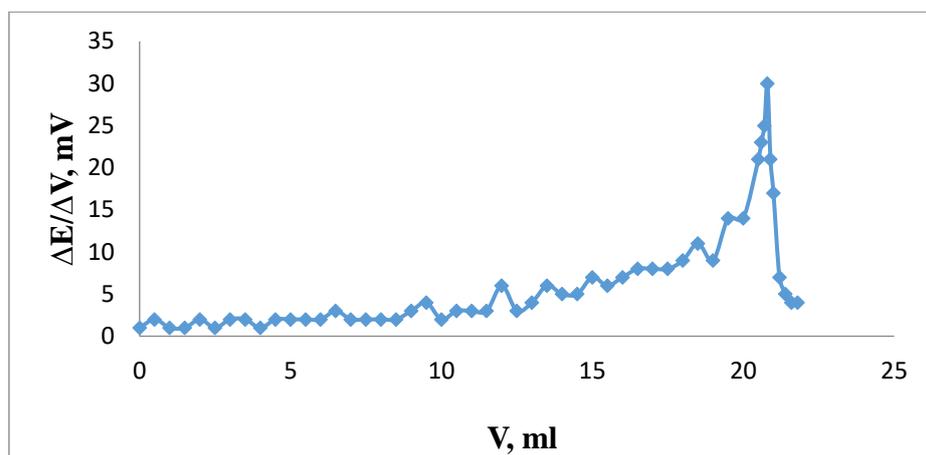


Рис. 3.8. Дифференциальная кривая потенциметрического титрования раствора пектина 0,005 М раствором NaOH

Для определения содержания галактуроной кислоты применили формулы:

$$C_{\text{NaOH}} \cdot V_{\text{NaOH}} = \partial H^+;$$

$$m_{\text{гал.к-ты}} = \frac{C_{\text{NaOH}} \cdot V_{\text{NaOH}} \cdot M_{\text{э гал.к-ты}}}{1000};$$

$$\omega_{\text{гал.к-ты}} = \frac{m_{\text{гал.к-ты}}}{m_{\text{навески}}} \cdot 100\%, \text{ где}$$

C_{NaOH} – концентрация гидроксида натрия;

V_{NaOH} – концентрация гидроксида калия;

∂H^+ – мольная концентрация галактуроновой кислоты;

$M_{\text{э гал.к-ты}}$ – молярная эквивалентная масса галактуроной кислоты;

$m_{\text{гал.к-ты}}$ – масса галактуроновой кислоты;

$m_{\text{навески}}$ – масса навески яблочного жома;

$\omega_{\text{гал.к-ты}}$ – процентное содержание галактуроновой кислоты.

$$\partial H^+ = 0,005 \cdot 20,8 = 0,104;$$

$$m_{\text{гал.к-ты}} = \frac{0,005 \cdot 20,8 \cdot 1}{1000} = 1,04 \cdot 10^{-4} \text{ г};$$

$$\omega_{\text{гал.к-ты}} = \frac{1,04 \cdot 10^{-4}}{2,003} \cdot 100\% = 0,005\%.$$

б) Определение свободных кислотных групп

Проводим ориентировочное титрование растворенного пектина 0,039 М раствором KOH, прибавляя его из бюретки порциями по 1 мл. По данным,

полученным на основе анализа, мы обнаруживаем скачок потенциала, соответствующий точке эквивалентности титрования свободных кислотных групп. По полученным данным построили интегральную и дифференциальную кривые титрования (рис. 3.9, рис. 3.10).

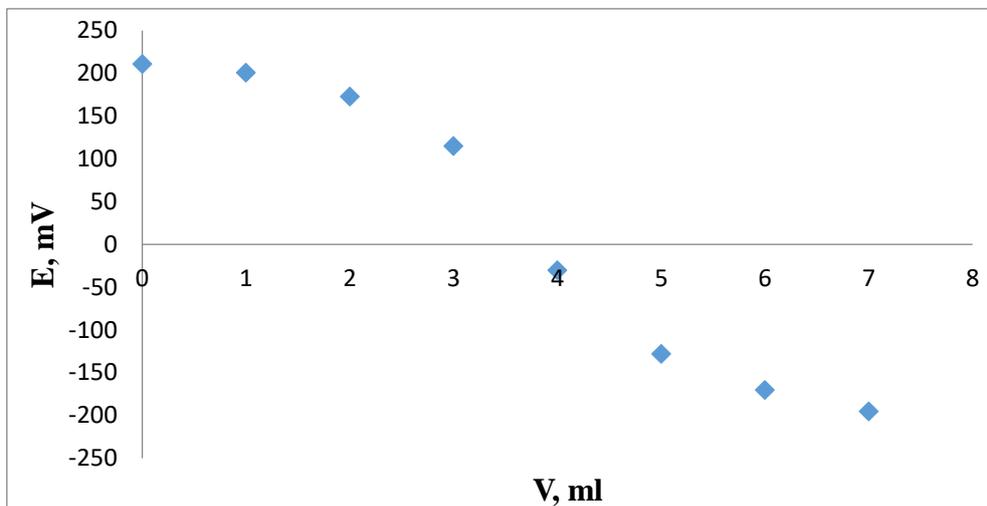


Рис. 3.9. Интегральная кривая потенциометрического титрования раствора пектина 0,039 М раствором КОН

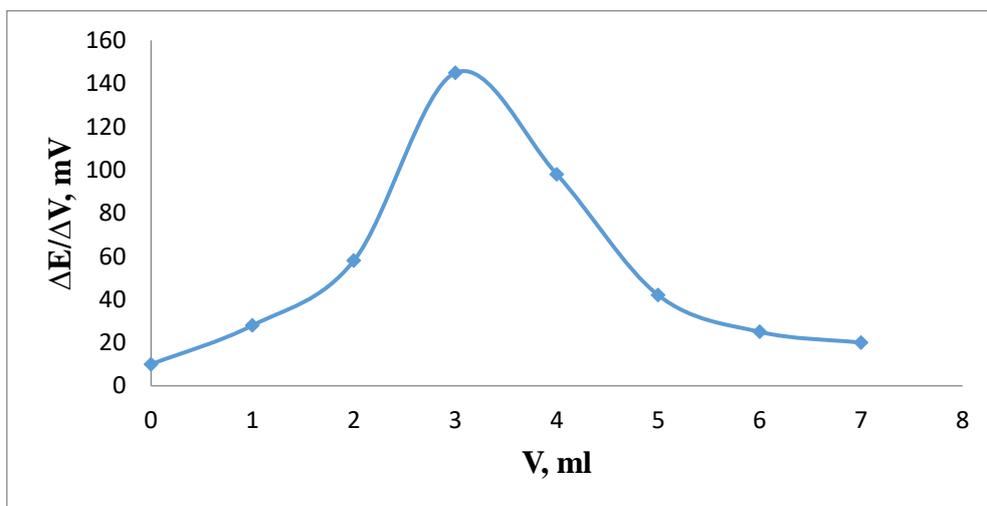


Рис. 3.10. Дифференциальная кривая потенциометрического титрования раствора пектина 0,039 М раствором КОН

Так же растворили пектин в горячей воде и выполнили второе титрование. Для этого повторили все операции, приливая по 0,5мл. По данным, полученным при повторном титровании, построили интегральную дифференциальную кривые титрования, и нашли объем титранта в точках эквивалентности (рис. 3.11, рис. 3.12).

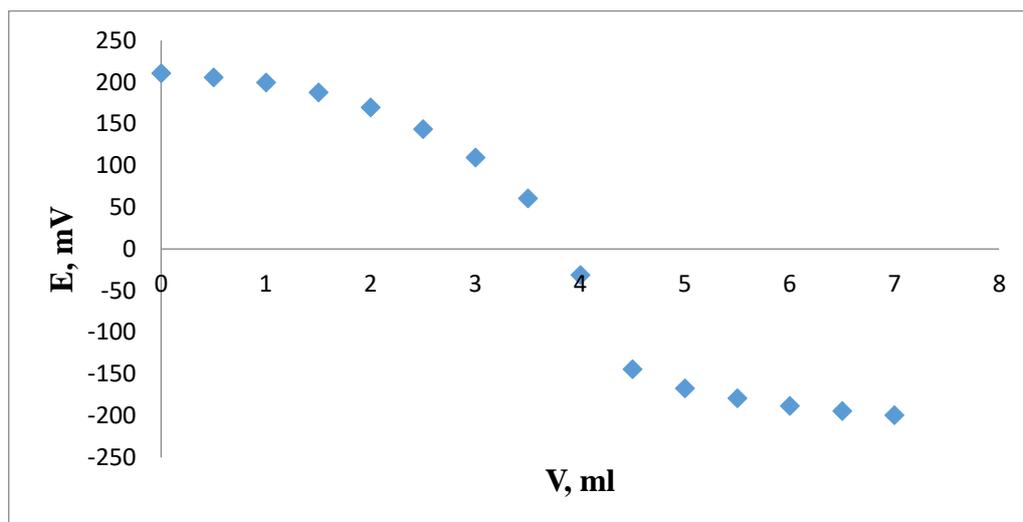


Рис. 3.11. Интегральная кривая потенциометрического титрования раствора пектина 0,039 М раствором КОН

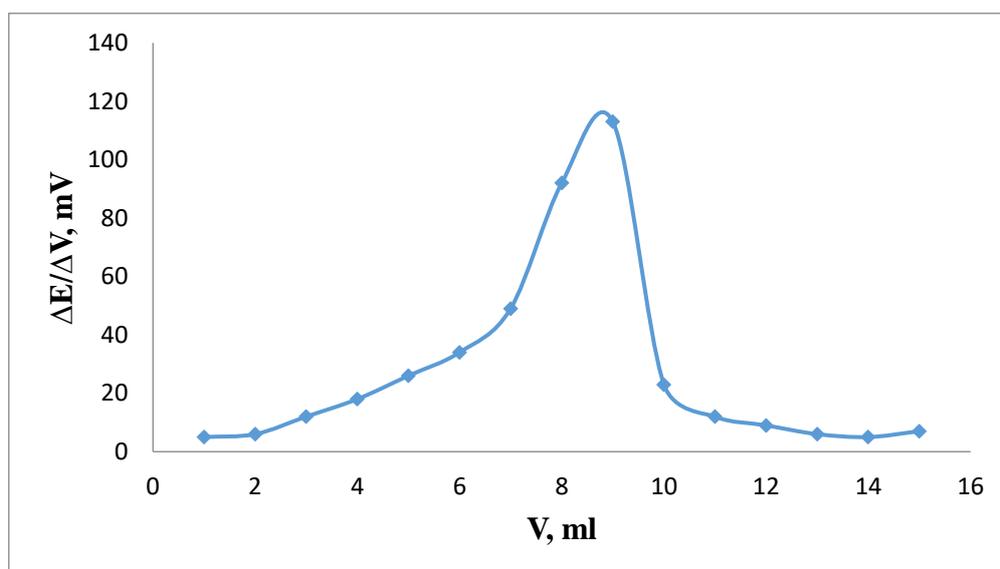


Рис. 3.12. Дифференциальная кривая потенциометрического титрования раствора пектина 0,039 М раствором КОН

Для определения содержания галактуроной кислоты применили формулы:

$$C_{\text{КОН}} \cdot V_{\text{КОН}} = \partial \text{H}^+;$$

$$m_{\text{св.групп}} = \frac{C_{\text{КОН}} \cdot V_{\text{КОН}} \cdot M_{\text{э св.групп}}}{1000};$$

$$\omega_{\text{св.групп}} = \frac{m_{\text{св.групп}}}{m_{\text{навески}}} \cdot 100\%, \text{ где}$$

$C_{\text{КОН}}$ – концентрация гидроксида натрия;

$V_{\text{кон}}$ – концентрация гидроксида калия;

∂H^+ – мольная концентрация галактуроновой кислоты;

$M_{\text{э гал.к-ты}}$ – молярная эквивалентная масса галактуроновой кислоты;

$m_{\text{гал.к-ты}}$ – масса галактуроновой кислоты;

$m_{\text{навески}}$ – масса навески яблочного жома;

$\omega_{\text{св.групп}}$ – процентное содержание галактуроновой кислоты.

$$\partial H^+ = 0,039 \cdot 4,00 = 0,156;$$

$$m_{\text{св.групп}} = \frac{0,039 \cdot 4,00 \cdot 1}{1000} = 1,56^{-4};$$

$$\omega_{\text{св.групп}} = \frac{1,56^{-4}}{2,003} \cdot 100\% = 0,007\%.$$

3.7 Определение фенольных кислот в фильтрате после осаждения пектина (остаток 2)

После осаждения пектина из фильтрата отогнали спирт на ротационном испарителе. Измерили объем остатка и очистили его с использованием патрона Диапак.

1. Подготовка патрона Диапак

а) Кондиционирование

Очистку патрона проводили химически чистым раствором ацетона объемом 3-5 мл, затем продували воздухом.

б) Активация

Активирование патрона проводили 0,1 М раствором соляной кислоты объемом 10-15 мл, затем продували воздухом. И уже после всех операций мы очищали наш образец объемом 20 мл при помощи патрона Диапак.

2. Приготовление элюента для определения хлорогеновых кислот методом ВЭЖХ

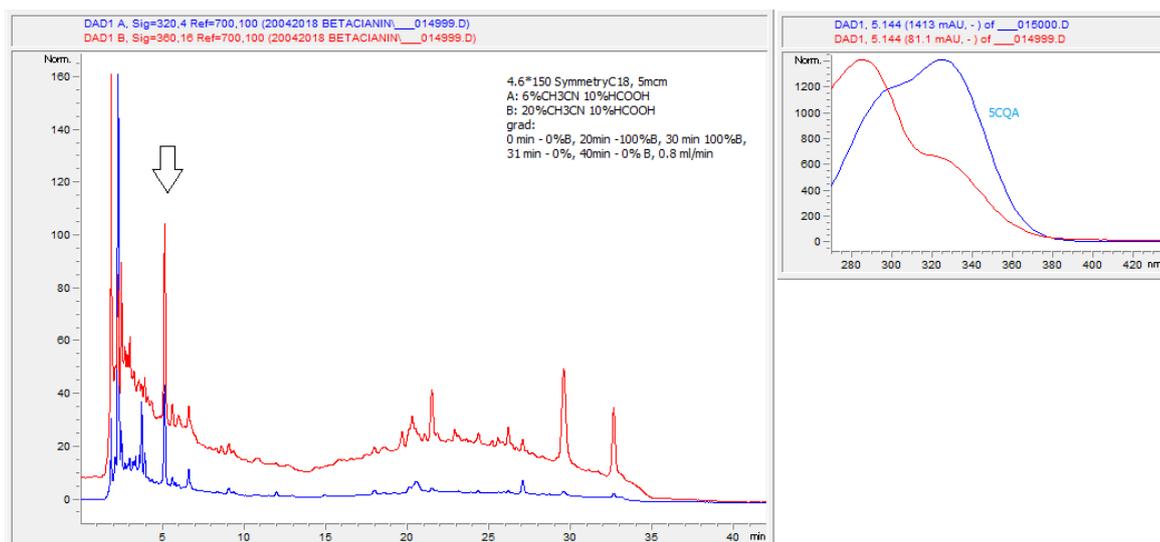


Рис. 3.13. Хроматограмма определения хрологеновых кислот

На основании полученной хроматограммы можно сделать вывод, что в нашем образце хрологеновые кислоты отсутствуют. Это говорит о том, что по течению времени данные кислоты улетучиваются из сухого сырья, что делает его менее пригодным для использования.

3.8 Определение антиоксидантной активности фенольных кислот в фильтрате после осаждения методом Фолина-Чокальтеу

Раствор кофейной кислоты получали путем растворения навески кислоты в воде в мерной колбе. Масса кислоты и концентрация представлены в таблице 3.7 .

Приготовление 10 %-го раствора безводной соды.

Навеску безводной соды массой 10 г, взвешенную точно до 0,01 г растворяли в 90 мл дистиллированной воды.

Пересчет производили на кофейную кислоту (табл.3.7).

Таблица 3.7.

Данные раствора кофейной кислоты

Навеска кислоты, г	Объем колбы, л	Молекулярная масса, г/моль	Концентрация, мг/г
0,04	0,1	180	2,24

Построение калибровочного графика.

В четыре пронумерованные мерные колбы на 5 мл вносили по 2 мл 10%-ного раствора соды, по 50,100,150,200 мкл 0,04%-ного раствора кофейной кислоты и по 200 мкл реактива Фолина-Чакольтеу. Тщательно перемешали и выдерживали в течение 30 минут, до метки доводили дистиллированной водой и проводили измерение оптической плотности при длине волны равной 760 нм.

Для построения калибровочной кривой была определена антиоксидантная активность кофейной кислоты при разных концентрациях раствора. Полученные результаты представлены в табл. 3.8.

Таблица 3.8.

Данные для построения калибровочной кривой

m (кислоты), мкг	V(кислоты), л	A (760 нм)
0,1122	0,00005	0,375
0,2244	0,00010	0,742
0,3366	0,00015	1,103
0,4488	0,00020	1,4998

Калибровочная кривая для определения антиоксидантной активности фенольных кислот в пересчете на кофейную кислоту представлена на рис. 3.14.

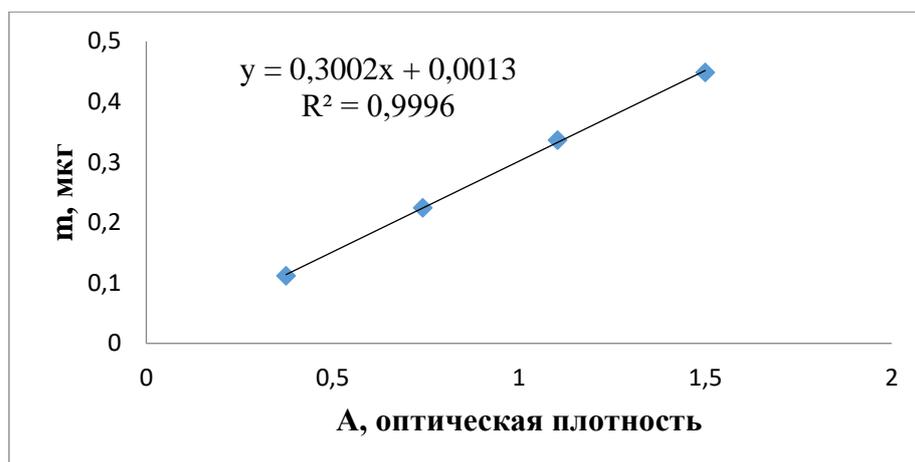


Рис. 3.14. Калибровочная кривая определения АОА в пересчете на кофейную кислоту

Аналогично построению калибровочного графика мы подготовили исследуемые образцы на содержание в них фенольных кислот, поменяв кофейную кислоту на наш экстракт.

В ходе исследования были получены следующие результаты (табл.9):

Таблица 3.9.

Данные определения массы хлорогеновых кислот

№ образца	A, оптическая плотность	АОА, моль КК/л
1	0,679	0,0118
2	0,721	0,0124
3	0,690	0,0119

ВЫВОДЫ

1. Сделан обзор литературных данных о пектиновых веществах, способах их выделения из растительных объектов;
2. Подобраны оптимальные условия проведения гидролиза для выделения пектина из яблочного жома: время гидролиза - 45 минут при температуре 75-80°C;
3. Суммарное количество выделенного пектина за одну экстракцию составляет: 19,72% и 20,23%.
4. Установлено, что удастся увеличить выход пектина при повторной экстракции примерно на 5%. Так как каждая стадия очень трудоемка, необходимо решить, что экономически целесообразно проводить выделение пектина в одну или 2 стадии.
5. По комплексной технологии было выделено 4,44% липидов, и был установлен состав.
6. Было установлено, что в яблочном жоме фенольные соединения, а именно хлорогеновые кислоты практически отсутствуют.
7. Методом потенциометрического титрования было установлено содержание в пектине галактурановых кислот и свободных кислот.
8. Значения АОА фенольных экстрактов составило 0,0118 моль КК/л; 0,0124 моль КК/л; 0,0119 моль КК/л.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Шелухина Н.П. Научные основы технологии пектина. Фрунзе: Илим, 1988. 168с.
2. Шелухина Н.П., Ашубаева З.Д., Аймухамедова Г.Б. Пектиновые вещества, их некоторые свойства и производные. Фрунзе: Илим, 1970. 73с.
3. Комиссаренко С.Н., Спиридонов В.Н. Пектины – их свойства и применение //Растит. ресурсы.1998.Т. 34.Вып. 1.С. 111–119.
4. Worth H.G.J. The chemistry and biochemistry of pectic substances // Royal Holloway College, University of London, Englefield Green, Surrey, Great Britain.1967.P. 465–473.
5. Оводов Ю.С., Головченко В.В., Гюнтер Е.А., Попов С.В. Пектиновые вещества растений Европейского севера России. Екатеринбург: УрО РАН, 2009. 110 с.
6. Perez S., Mazeau K., Herve du Penhoat C. The three dimensional structures of the pectic polysaccharides // Plant Physiol. Biochem.2000. V. 38.P. 37–55.
7. Донченко, Л.В. Технология пектина и пектинопродуктов: учебное пособие. М.: ДеЛи, 2000. – 255 с.
8. Оводов Ю.С. Биогликаны и природные гликозиды как перспективные объекты биоорганической химии // Acta Naturae. 2010. V. 2.№ 2 (5). P.29–37.
9. ГОСТ Р 51806-2001. Пектин. Термины и определения. Санкт-Петербург: М.: ИПК Издательство стандартов, 2001. 8с.
10. Донченко Л.В., Соболев И.В. Исследование комплексообразующей способности пектина, полученного из корзинок подсолнечника. // Материалы I конференции Северо-Кавказского региона «Современные достижения биотехнологии». – Ставрополь, 1995. - С. 21.
11. Оводов Ю.С. Полисахариды цветковых растений: структура и физиологическая активность // Биоорганич. хим.1998.Т. 24. № 7.С.483–501.

12. Bonnin E., Dolo E., Le Goff A., Thibault J.F. Characterisation of pectin subunits released by an optimized combination of enzymes // Carbohydr. Res. 2002. V. 337.N 18.P. 1687-1696.

13. Аверьянова Е.В., Школьников М.Н. Пектин: методы выделения и свойства: методические рекомендации к выполнению лабораторных работ. Алт. гос. техн. ун-т, БТИ. Бийск: Изд-во Алт. гос. техн. ун-та, 2015. 42 с.

14. Михеева, Л.А. Получение и некоторые химические свойства пектинов растений рода амарант : дис. ... канд. хим. наук. – Ульяновск, 2001. – 205 с.

15. Минзанова С.Т., Миронов В.Ф., Коновалов А.И. и др. Пектины из нетрадиционных источников: технология, структура, свойства и биологическая активность. Казань: «Печать-Сервис-XXI век». 2011. 224 с.

16. Апостолов С.А., Бабаш С.Е., Белкина Е.И. Новый справочник химика и технолога: сырье и продукты промышленности органических и неорганических веществ/ ред. тома Ю.В. Поконова, В.И. Страхов. Ч.1 СПб.: Профессионал : Мир и Семья, 2002 . 978 с.

17. Келлер Е.А., Луганская А.Ю. Санитар организм человека- пектин// Юный ученый. 2016. №5. С. 71–76.

18. Компанцев В.А., Кайшева Н.Ш., Берикетов А.С., Ойтов Х.З. Методические рекомендации по использованию в лечебно-профилактических целях пектинов и пектинсодержащих продуктов. Пятигорск, 2003. 23 с.

19. Андреев В.В., Науменко И.В., Паршакова Л.П. Способы получения и применения различных типов яблочного пектина // Обзорная информация. Серия 4. ЦНИИТЭИПищепром. 1981. Вып. 16.С 31.

ПРИЛОЖЕНИЕ 1**Экстракция и определение липидов**

Рис.1. Отстаивание и декантация



Рис.2. Яблочные липиды

ПРИЛОЖЕНИЕ 2**Выделение пектинов**

Рис.1. Нагревание на песчаной бане холода

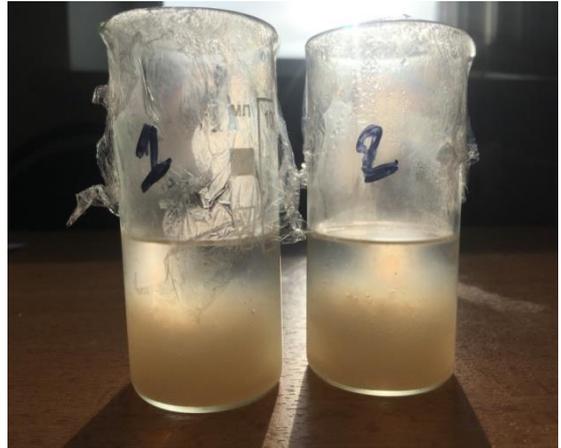


Рис.2. Выпадение пектина после