

УДК 66.081.4
ББК 27.73
К-642

Кондратенко Владимир Владимирович, кандидат технических наук, доцент, ГНУ Краснодарский НИИ хранения и переработки сельскохозяйственной продукции, заведующий отделом, т.: 8(918)3141349, e-mail.: kvlad_46@mail.ru;

Кондратенко Татьяна Юрьевна, ФГОУ ВПО Кубанский государственный аграрный университет, ассистент, т.: 8(918)2473288, e-mail.: ktatyana-19@mail.ru.

О ВЛИЯНИИ МОЛЕКУЛЯРНОЙ МАССЫ НА ПРОЯВЛЕНИЕ СОРБЦИОННЫХ СВОЙСТВ ПЕКТИНОВЫМИ ВЕЩЕСТВАМИ

(рецензирована)

Цель исследования: изучение влияния молекулярной массы пектиновых веществ на их комплексообразующую способность.

Ключевые слова: пектиновые вещества, комплексообразующая способность, сорбция, коллоидная система, функциональная зависимость.

Kondratenko Vladimir Vladimirovich, Candidate of Technical Sciences, assistant professor, Krasnodar SII of storage and processing of agricultural products, department head, tel.: 8 (918) 3141349, e-mail.: Kvlad_46@mail.ru;

Kondratenko Tatyana Yurjevna, FSEI HPE Kuban Agrarian University, assistant, tel.: 8 (918) 2473288, e-mail.: Ktatyana-19@mail.ru.

INFLUENCE OF MOLECULAR WEIGHT ON SORPTION PROPERTIES DISPLAY OF PECTIN SUBSTANCES

The objective of the research has been to study the influence of the molecular weight of pectin substances on their complex-forming ability.

Keywords: pectin, complex-forming ability, sorption, colloid system, the functional dependence.

Пектиновые вещества – комплекс природных растительных полимеров углеводной природы, основными структурными элементами которых являются остатки α -D(+)-галактуроновой кислоты, соединённые посредством β (1→4) гликозидных связей [1]. Пектиновые вещества являются неотъемлемыми компонентом клеточных стенок и межклетников, в составе которых они (в зависимости от ботанической и сортовой принадлежности растения, локализации ткани, а также условий роста, развития, степени созревания и т.д.) связаны с различной степенью прочности с другими компонентами матрикса, такими как гемицеллюлозы, целлюлоза, белок экстенсин и др. посредством как основных функциональных групп (карбоксильных групп галактуронидных остатков), так водородных связей.

При извлечении тем или иным способом протопектиновый макрокомплекс подвергается принудительному гидролитическому воздействию, результатом которого становится частичный его распад на полигалактуронановые фрагменты различной молекулярной массы, диффундирующие в экстракт. Совокупность данных фрагментов после дополнительной их очистки от балластных компонентов представляет собой конечный продукт – пектин.

Благодаря неоднородности химического состава, а также наличию функциональных групп, пектиновые вещества нашли широкое применение в различных областях человеческой деятельности – от медицины (например, благодаря влиянию отдельных производных пектина на гомеостаз холестерина в организме человека [2], а также использованию пектина для пролонгирования действия отдельных лекарственных препаратов [3]), до пищевой и перерабатывающей промышленности (использование в составе пищевых продуктов в качестве растворимых пищевых волокон, а также структуратора и загустителя [4]).

В последнее время в связи с непрерывно ухудшающейся экологической обстановкой пектиновые вещества всё больше находят применение в качестве натурального детоксиканта – компонента, обладающего способностью связывать в желудочно-кишечном тракте человека ксенобиотики (катионы тяжёлых металлов, радионуклиды и др.) и выводить их из организма. Такая способность пектиновых веществ обусловлена их высокой комплексообразующей способностью. Проявление её связано со свойством функциональных групп пектиновых молекул (свободных и амидированных карбоксильных групп) вступать во взаимодействие с катионами поливалентных металлов с образованием малоили недиссоциирующих соединений. Это свойство обуславливает возможность направленного изме-

нения биодоступности отдельных компонентов, поступающих в организм человека вместе с пищей [5]. Кроме того, это позволяет в отдельных случаях осуществлять детоксикацию лиц, уже поражённых токсичными компонентами. Так, по данным [6], пектиновые вещества способны провоцировать увеличение экскреции мышьяка с мочёй на 130%, кадмия – на 150% и свинца – на 560%.

Комплексообразующая способность пектиновых веществ зависит от содержания свободных карбоксильных групп, поскольку насыщенность ими молекулы определяет линейную плотность её заряда и, следовательно, силу и способ связывания катионов. При высокой степени этерификации (то есть небольшом линейном заряде молекулы) связь молекулы с катионами достаточно слабая.

По данным [7] комплексообразующая способность не зависит от молекулярной массы пектиновых веществ и определяется коэффициентом селективности катионного обмена. Однако, другие исследователи [8] утверждают обратное, указывая, в частности, на обратноэкспоненциальную зависимость комплексообразующей способности (по отношению к катионам Ca^{2+}) от степени полимеризации полигалактуронановой цепи молекулы пектиновых веществ.

В этой связи особый интерес представляют прямые экспериментальные исследования влияния молекулярной массы пектиновых веществ на их комплексообразующую способность.

Химические и технологические исследования проводили с использованием предварительно высушенного и измельчённого до различной степени сырья – кожуры цитрусовых. В настоящее время не существует стандартной методики извлечения пектиновых веществ, поэтому в исследованиях была использована основная последовательность их извлечения, соответствующая получению пектинового экстракта по «классической» технологии получения пектиновых веществ из цитрусовых выжимок, адаптированная к лабораторным условиям. В соответствии с ней в колбу на 250 мл вносили 20 г сырья, туда же добавляли 60 мл дистиллированной воды с температурой 20...25°C. Смесь тщательно перемешивали и выдерживали в термостате при этой же температуре в течение 5 минут. Затем жидкость отфильтровывали в отдельную ёмкость через лавсановую ткань. Остаток на фильтре количественно переносили в колбу на 250 мл, куда при непрерывном перемешивании добавляли 120 мл дистиллированной воды с температурой 50°C. Смесь тщательно перемешивали и выдерживали в термостате при 50°C и периодическом перемешивании в течение 30 минут. Полученную систему фильтровали через лавсановую ткань. Остаток на фильтре отжимали на ручном винтовом прессе. Отжатую жидкость соединяли с фильтратом. Остаток на фильтре количественно переносили в колбу на 500 мл, куда при непрерывном перемешивании приливали 320 мл 1%-ного водного раствора винной кислоты с температурой 90°C. Смесь тщательно перемешивали и выдерживали в термостате при 90°C и периодическом перемешивании в течение 90 минут. Образовавшийся экстракт отделяли через лавсановую ткань. Остаток на фильтре отжимали на ручном винтовом прессе. Образовавшийся дополнительный экстракт соединяли с первичным экстрактом, перемешивали и охлаждали до 20°C. Совокупный экстракт приливали тонкой струйкой в ёмкость, содержащую двойной объём этилового спирта концентрацией 96% об. Образовавшуюся систему, периодически помешивая, выдерживали при комнатной температуре в течение 30 минут, после чего осадок отфильтровывали через лавсановую ткань. Остаток на фильтре отжимали на ручном винтовом прессе. Образовавшуюся массу количественно переносили в стакан на 50 мл, в котором её высушивали в сушильном шкафу при 60°C в течение 120 минут. Высушенную массу измельчали до порошкообразного состояния. Полученный порошок количественно переносили в стакан на 250 мл, в который затем приливали тройной объём 7%-ного водного раствора HCl в 94% об. этиловом спирте. Смесь тщательно перемешивали в течение 30 минут, после чего фильтровали через обеззоленный фильтр «красная лента». Осадок количественно возвращали в стакан. В этот же стакан приливали четверной объём 70% об. этилового спирта. Смесь тщательно перемешивали в течение 15 минут, после чего отфильтровывали через обеззоленный фильтр «красная лента». Осадок на фильтре количественно переносили в стакан, где к нему приливали эквивалентный объём 96% об. этилового спирта. Смесь тщательно перемешивали в течение 15 минут, после чего её разделяют на обеззоленном фильтре «красная лента». Осадок количественно переносили в стакан. К осадку приливали эквивалентный объём 96% об. этилового спирта. Смесь тщательно перемешивали в течение 15 минут, после чего разделяли на обеззоленном фильтре «красная лента». Осадок на фильтре переносили в стеклянный стакан и высушивали в сушильном шкафу при 60°C в течение 120 минут. Высушенный образец тщательно измельчали до порошкообразного состояния.

Для получения образцов различной молекулярной массы пектиновые вещества извлекали из одного вида сырья, предварительно измельчённого и фракционированного ситовым сепарированием.

Для выделенных образцов пектиновых веществ определяли средневзвешенную молекулярную массу вискозиметрическим методом [9].

Комплексообразующую способность пектиновых веществ определяли методом «слепого» титрования. Для этого в стакан емкостью 250 мл вносили 20 мл 0,5%-ного водного раствора пектиновых веществ, к которому приливали 50 мл стандартного 0,035н раствора уксуснокислого свинца (раствор основного уксуснокислого свинца в 1н водном растворе уксусной кислоты). Содержимое стакана с образовавшимся пектатом свинца перемешивали и переносили в мерную колбу на 250 мл, доводили до метки дистиллированной водой, перемешивали и выдерживали при комнатной температуре в течение 1 часа. Затем систему фильтровали через складчатый бумажный фильтр. Анализ остаточного свинца в фильтрате проводили комплексометрически. Для этого 20 мл фильтрата помещали в коническую колбу на 250 мл, приливали 20 мл 0,05н водного раствора трилона Б, 15 мл стандартного раствора аммиачного буфера (рН 9,2) и 1 мл 1%-ного спиртового раствора индикатора эриохрома черного Т. Полученную систему титровали 0,05н водным раствором сульфата цинка до перехода окраски индикатора от синей к фиолетовой. Контрольный опыт проводили аналогично, но вместо фильтрата в колбу вносили 20 мл дистиллированной воды.

Массу свинца в анализируемых и контрольных опытах рассчитывали по формуле:

$$m_{Pb}^x = \frac{(N_2 \cdot V_2 - N_1 \cdot V_1) \cdot 103,6 \cdot 250 \cdot 1000}{20 \cdot 1000}, \quad (1)$$

где N_1 – нормальность стандартного раствора Zn_2SO_4 , пошедшего на титрование избытка трилона Б, моль-эквивалент/л; V_1 – объем стандартного раствора Zn_2SO_4 , пошедшего на титрование избытка трилона Б, мл; N_2 – нормальность стандартного раствора трилона Б, добавленного к свинецсодержащему раствору, моль-эквивалент/л; V_2 – нормальность и объем трилона Б, добавленного к свинецсодержащему раствору, мл.

Комплексообразующую способность пектина (мг Pb^{2+} /г) рассчитывали по формуле:

$$KC = \frac{m_{Pb}^k - m_{Pb}^a}{m_s}, \quad (2)$$

где m_{Pb}^k – масса свинца в контрольном растворе, мг; m_{Pb}^a – масса свинца в анализируемом растворе, мг; m_s – масса навески исследуемого пектина, взятая для анализа, г.

Анализ результатов исследований показал, что зависимость комплексообразующей способности пектиновых веществ цитрусовых от молекулярной массы является нелинейной.

В связи с некоторым затруднением непосредственного объяснения подобного явления в отношении пектиновых веществ цитрусовых, равно как и отдельных аномально высоких в традиционном представлении значений комплексообразующей способности для пектиновых веществ из цитрусового сырья, была проведена математическая обработка экспериментальных данных с целью выявления формализованной функции отклика зависимого показателя от независимой переменной.

Обработку данных осуществляли с использованием программного обеспечения SYSTAT TableCurve 2D v.5.01. Основными критериями выбора конкретного вида зависимости были коэффициент множественной корреляции, а также гарантия адекватности всех коэффициентов и константы зависимости по критерию Стьюдента, а также зависимости в целом по критерию Фишера при $\alpha \leq 0.05$. При обработке экспериментальных данных также был учтен факт эквивалентного взаимодействия мономеров α -D(+)-галактуроновой кислоты с катионами Pb^{2+} в растворе.

Результаты обработки экспериментальных данных представлены на рисунке 1. Границы доверительных интервалов представлены серыми линиями.

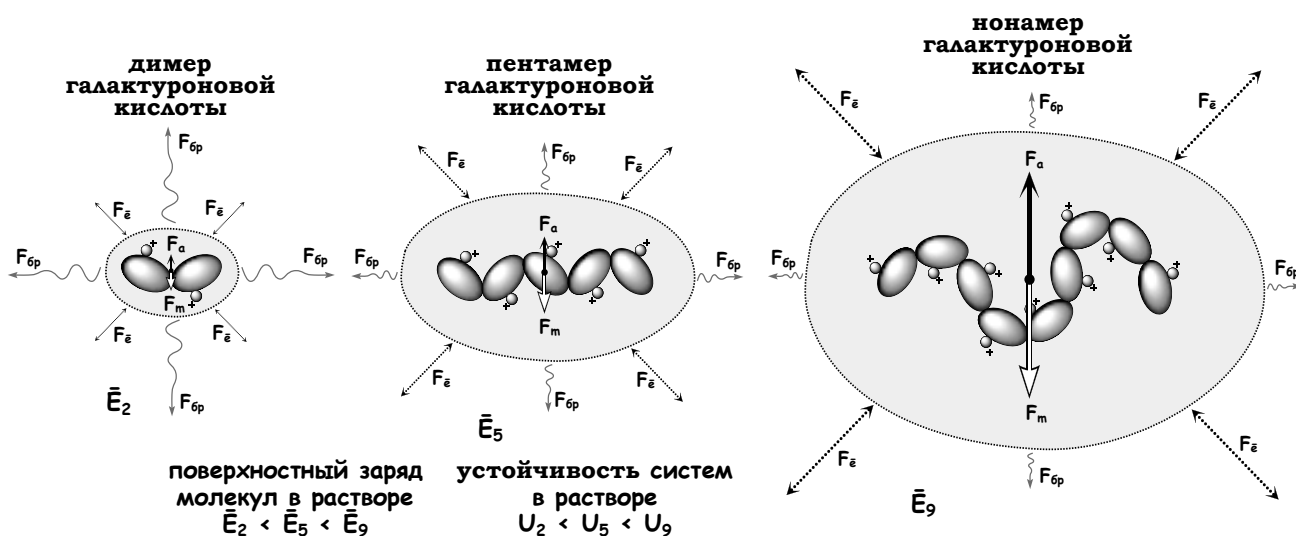


Рис. 1. Зависимость комплексообразующей способности пектиновых веществ от их молекулярной массы: 1 – кривая зависимости; 2 – нижняя граница доверительного интервала; 3 – верхняя граница доверительного интервала

Полученная зависимость имеет следующее математическое выражение:

$$KC = \frac{a + c \cdot M^2 + e \cdot M^4}{1 + b \cdot M^2 + d \cdot M^4}, \quad (3)$$

где KC – комплексообразующая способность пектина, мг $Pb^{2+}/г$; M – средневзвешенная молекулярная масса цитрусового пектина, кДа.

Зависимость адекватна при следующих численных значениях константы (a) и коэффициентов (b , c , d и e): $a = 535.6941543$; $b = -2.14875 \cdot 10^{-3}$; $c = -0.43447391$; $d = 1.91803 \cdot 10^{-6}$; $e = 1.40674 \cdot 10^{-4}$.

Константа и коэффициенты адекватны по критерию Стьюдента уже при $\alpha \leq 0,021$, а зависимость в целом адекватна по критерию Фишера при $\alpha \leq 0,001$.

Анализ функциональной зависимости показывает, что максимальная комплексообразующая способность пектиновых веществ цитрусовых не совпадает с максимумом их теоретически возможных молекулярных масс. При этом максимум локализован и приходится на пектиновые вещества с молекулярной массой $\sim 23,7$ кДа, при которой комплексообразующая способность может достигать ~ 870 мг $Pb^{2+}/г$. В то же время, при превышении значения молекулярной массы пектиновых веществ цитрусовых порогового значения 37 кДа комплексообразующая способность уменьшается до 100 мг $Pb^{2+}/г$ и ниже.

Данная форма зависимости предположительно связана с тем, что с увеличением молекулярной массы пектиновых веществ подвижность молекулы в растворе снижается. Поскольку каждая свободная карбоксильная группа каждого звена полимерной цепочки в растворе несёт на себе в результате диссоциации некоторый отрицательный заряд, следовательно, у полимерных цепей с большей степенью полимеризации (и, как следствие, с большей молекулярной массой) суммарный электрический потенциал \bar{E} (заряд на поверхности молекулы) будет более значительным. Это является достаточным условием для формирования вокруг полимерного ядра гидратной оболочки, состоящей из нескольких слоёв молекул воды, ориентированных в соответствии с полюсами зарядов своих молекул, а также увеличения доли влияния сил электростатического отталкивания F_e . Большая масса и значительные по молекулярным меркам физические размеры определяют преобладающую роль таких факторов, как сила тяжести F_m и сила Архимеда F_a . Броуновское движение $F_{бр}$ отходит на второй план. Всё это придаёт образовавшейся коллоидной частице ещё большую устойчивость U в растворе (рисунок 2) и, следовательно, меньшую подвижность.

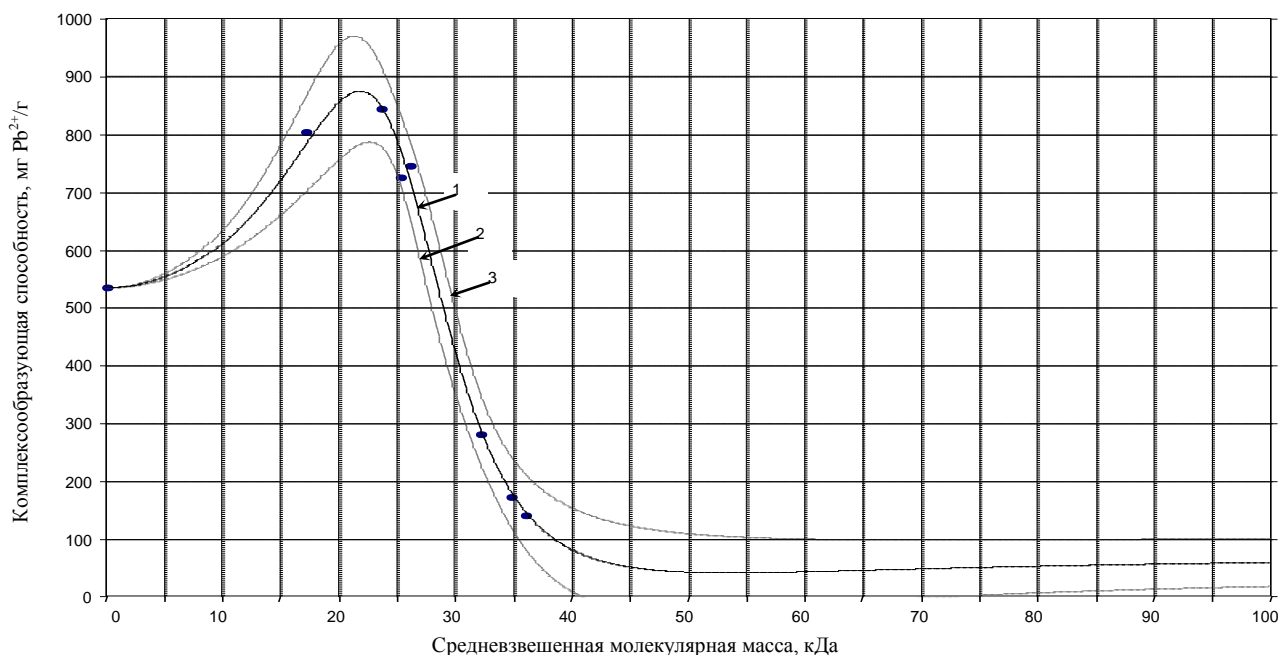


Рис. 2. Изменение устойчивости молекул пектиновых веществ в растворе в зависимости от их молекулярной массы

При этом на устойчивость сформировавшейся структуры всё большее влияние начинает оказывать результирующая основных сил, действующих на обычную заряженную коллоидную частицу с полимерным ядром, где одно из лидирующих положений занимают силы электростатического отталкивания, определяемые, в свою очередь, результирующим зарядом на поверхности полимерной молекулы.

При дальнейшем увеличении молекулярной массы, при прочих равных условиях, физическая масса коллоидных частиц с ядром из пектиновых молекул также возрастает, что приводит к постепенному снижению стабильности коллоидного раствора. Вследствие этого возрастает способность коллоидной системы образовывать гелеобразные структуры (осадок) в присутствии поливалентных катионов, что преимущественно осуществляется за счёт образования межмолекулярных солевых мостиков типа «пектин-катион-пектин», образующихся как внутри пектиновых молекул, так и между соседними молекулами.

Зависимость «увеличение молекулярной массы – снижение устойчивости коллоидной системы – увеличение комплексобразующей способности» остаётся верной при увеличении молекулярной массы до некоторого критического значения – $\sim 23,7$ кДа. При этом степень увеличения комплексобразующей способности непрерывно снижается. Предположительно, при прочих равных условиях, при увеличении молекулярной массы отношение прироста заряда на поверхности пектинового ядра коллоидной частицы к приросту молекулярной массы может быть значительно меньше единицы, поскольку новые звенья пектиновой цепочки могут приносить с собой не только приращение суммарного заряда молекулы за счёт заряда свободной или амидированной карбоксильной группы, но и уменьшение результирующего заряда (в том случае, когда новое звено – остаток галактуроновой кислоты – несёт заряд, противоположный по знаку уже имеющемуся результирующему заряду всей молекулы), или вообще отсутствие приращения заряда как такового (в том случае, когда карбоксильная группа нового звена уже этерифицирована метанолом, или в качестве нового звена выступает остаток одного из нейтральных сахаров – рамнозы, арабинозы, галактозы, ксилозы, маннозы, апиозы и т.д., – которые также могут входить в состав пектиновой молекулы). В результате, при достижении молекулярной массы некоторого критического значения, отношение суммарного или результирующего заряда пектиновой молекулы к молекулярной массе, выраженной через количество структурных единиц (пересчитанных по отношению к массе остатков галактуроновой кислоты) становится таковым, что результирующая сила F_p , удерживающая такие пектиновые молекулы в растворе, становится относительно небольшой.

В подобной ситуации образование катионных мостиков за счёт комплексообразования может приводить к тому, что конформация молекулы (при образовании внутримолекулярных мостиков) изменяется – она становится более «свёрнутой», более компактной, в результате чего части зарядообразующих групп пектиновой молекулы оказываются внутри такой структуры и таким образом исключаются из процесса формирования поверхностного заряда молекулы, что, в свою очередь, приводит к уменьшению результирующей силы F_p , а следовательно и к снижению устойчивости пектиновой молекулы в растворе. В таком случае достаточно небольшого количества поливалентных катионов для того, чтобы образовалась относительно компактная – «свёрнутая» – структура молекулы, у которой поверхностный

заряд окажется меньше критического, в результате чего такие молекулы перейдут в состояние устойчивого геля (осадка), а количество катионов металла, связанных ними, будет достаточно мало (рисунок 3).

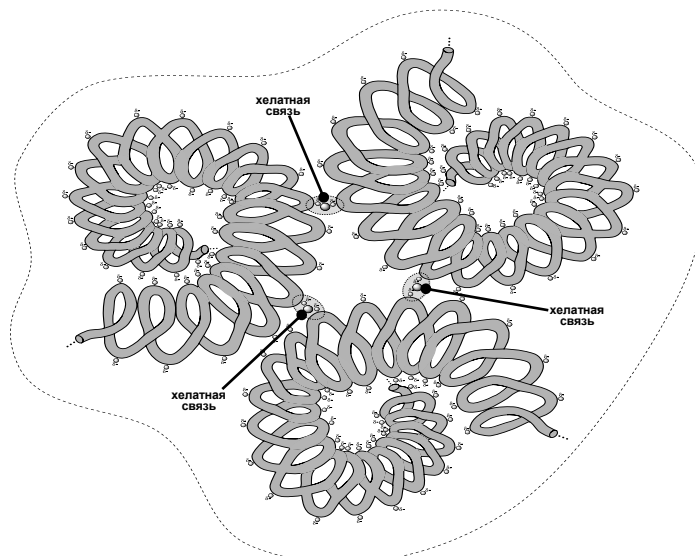


Рис. 3. Образование макроассоциата со сверхкритической массой с образованием осадка при связывании незначительного количества катионов

При достижении молекулярной массы некоторого порогового значения (величина которого для разных молекул может в значительной степени отличаться, поскольку зависит не только от соотношения «результатирующий заряд – молекулярная масса», но и от внутримолекулярной конформации и доли «скрытых» зарядообразующих единиц, то есть заключённых внутри молекулярной структуры и выведенных таким образом из процесса зарядообразования на поверхности молекулы) равнодействующая сила F_p , удерживающая пектиновую молекулу в растворе, принимает значения, близкие к нулю. В результате может даже происходить спонтанный переход пектиновых коллоидов из золя в гель. Именно с этим, предположительно, связано явление самокоагуляции пектиновых веществ из подсолнечника, имеющих средневзвешенную молекулярную массу более 400 000 Да [7].

В подобной ситуации, даже если явления самопроизвольной коагуляции не происходит, достаточно присутствия в растворе незначительного количества поливалентных катионов, чтобы система образовала достаточно прочную оструктуренную систему. Комплексообразующая способность такого пектина будет практически близка к нулю.

Таким образом, изменяя условия извлечения пектиновых веществ из сырья можно подбирать условия таким образом, чтобы в результате в качестве конечного продукта получались пектиновые вещества, способные, в зависимости от целевой задачи, образовывать либо прочные комплексы с максимальной сорбцией поливалентных катионов металлов, либо прочную структуру при минимальном расходе катионов. Последнее свойство с успехом может найти применение в различных направлениях пищевой и перерабатывающей промышленности, где требуется способность быстро образовывать оструктуренные системы. В то же время, это свойство пектиновых веществ, обладающих излишней молекулярной массой, не позволяет быть эффективным энтеросорбентом.

Литература:

1. Urias-Orona V. A Novel Pectin Material: Extraction, Characterization and Gelling Properties // *Int. J. Mol. Sci.* 2010. V.11. P. 3686-3695.
2. Effect of Pectin and Amidated Pectin on Cholesterol Homeostasis and Cecal Metabolism in Rats Fed a High-Cholesterol Diet / Marouchek M. *et al.* // *J. Physiol. Res.* 2007. V.56. P. 433-442.
3. Awasthi R. Selection of Pectin as Pharmaceutical Excipient on the Basis of Rheological Behavior // *Int. J. Pharm. Pharm. Sci.* 2011. V.3 Issue 1. P. 229-231.
4. Thakur B., Slugh R., Handa A. Chemistry and Uses of Pectin: a Review // *J. Crit. Rev. Food Sci.* 1997. V.37. P. 47-73.
5. Pectin with Low Molecular Weight and High Degree of Esterification Increases Absorption of ⁵⁸Fe in Growing Rats / Kim M. *et al.* // *J. Nutr.* 1996. V.126. P. 1883-1890.
6. The Effect of Modified Citrus Pectin on Urinary Excretion of Toxic Elements / Eliaz I. *et al.* // *J. Phytother. Res.* 2006. V.20. P. 859-864.
7. Донченко Л.В., Фирсов Г.Г. Пектин: основные свойства, производство и применение. М.: ДеЛи принт, 2007. 207 с.
8. Kohn R. Ion Binding on Polyuronates – Alginate and Pectin // *J. Pure App. Chem. IUPAC.* 1975. V.42. Issue 3. P. 371-397.
9. Ефремов А.А., Кондратьюк Т.А. Выделение пектина из нетрадиционного растительного сырья и применение его в кондитерском производстве // *Химия растительного сырья.* 2008. №4. С. 171-176.