



МИНОБРНАУКИ РОССИИ  
федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение  
высшего образования  
«Казанский национальный исследовательский технологический университет»  
(ФГБОУ ВО «КНИТУ»)

Кафедра \_\_\_\_\_ промышленной биотехнологии \_\_\_\_\_

Направление \_\_\_\_\_ 19.03.01 – Биотехнология \_\_\_\_\_

Специальность \_\_\_\_\_ биотехнология \_\_\_\_\_

Группа \_\_\_\_\_ 6161-21 \_\_\_\_\_

## ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА

Уровень образования \_\_\_\_\_ бакалавр \_\_\_\_\_

Вид ВКР \_\_\_\_\_ исследовательский \_\_\_\_\_

Тема \_\_\_\_\_ Выделение свекловичного пектина. Получение пектиновых  
металлокомплексов с ионами железа. \_\_\_\_\_

Зав. кафедрой \_\_\_\_\_ ( Сироткин А.С. )

Нормоконтролер \_\_\_\_\_ ( Минзанова С.Т. )

Руководитель, к.т.н., доцент \_\_\_\_\_ ( Минзанова С.Т. )

Студент \_\_\_\_\_ ( Дойникова А.И. )

### Консультанты:

по экономической части \_\_\_\_\_ ( Газизова О. В. )

по безопасности и экологии \_\_\_\_\_ ( Андрияшина Т.В. )

по метрологии \_\_\_\_\_ ( Перухин М. Ю. )

2020 г.

## Содержание

Введение.....	4
Перечень условных обозначений и сокращений .....	9
1 Обзор литературы. Характеристика пектинов.....	10
1.1 Номенклатура и химическая структура пектиновых веществ .....	10
1.2 Нахождение пектиновых веществ.....	11
1.3 Свойства пектина .....	13
1.4 Получение пектиновых веществ.....	14
1.5 Методы определения пектиновых веществ.....	17
1.6 Значение и применение пектиновых веществ.....	27
1.7 Микроэлементозы .....	33
2 Экспериментальная часть.....	36
2.1 Объекты исследования .....	36
2.2 Общие аналитические методы исследования .....	37
2.3 Планирование экспериментов .....	42
2.4 Результаты обработки экспериментальных данных.....	47
3 Результаты исследования и их обсуждение .....	53
3.1 Получение пектина из свекловичного жома .....	53
3.2 Получение пектинового металлокомплекса с ионами железа .....	59
3.3 Исследование полученных продуктов методом ИК спектроскопии .....	61
3.4 Физико-химические свойства и состав полученных продуктов .....	69
4 Метрологическая проработка .....	78
4.1 Оценка результатов и погрешности измерений.....	78
4.2 Статистическая обработка результатов измерений.....	79
4.3 Определение погрешности измерения вязкости .....	83
4.4 Определения погрешности измерения рН растворов.....	85
5 Безопасность и экологичность работы.....	91
5.1 Характеристика объекта и веществ.....	91
5.2 Категорирование помещения по взрывопожароопасности .....	94

5.3	Перечень опасных и вредных факторов, присущих объекту .....	94
5.4	Разработка защитных мероприятий .....	96
5.5	Расчёт освещения объекта.....	100
5.6	Экологичность объекта.....	102
6	Технико-экономические расчёты .....	103
6.1	Сумма затрат на основные и вспомогательные материалы.....	103
6.2	Затраты на электроэнергию и воду .....	104
6.3	Стоимость оборудования.....	105
6.4	Затраты на прямые прочие расходы.....	107
6.5	Фонд заработной платы.....	107
6.6	Затраты на проведение научно-исследовательской работы .....	109
6.7	Контроль за выполнением научно-исследовательской работы .....	109
	Заключение .....	113
	Выводы .....	114
	Список использованных источников .....	115

## Введение

В настоящее время исследование свойств пектинов занимает особое место. Они представляют собой полисахариды, состоящие из  $\alpha$ -1,4-связанных остатков D-галактуроновой кислоты и  $\alpha$ -1,2-рамнозных звеньев, а также большого количества нейтральных сахаров, включая арабинозу, галактозу и меньшее количество других сахаров [1]. Пектиновые биополимеры обладают уникальными биологическими и функциональными характеристиками, которые обуславливают значимость пектинов для окружающей среды, а также находят большое применение в современном мире: в пищевой, медицинской, косметологической отраслях, что подчеркивает актуальность данной темы.

Преимущество отдаётся сырью, которое подходило бы для промышленного производства с точки зрения экономической целесообразности. Коммерческий пектин получают из яблочных и цитрусовых выжимок. В Российской Федерации имеется богатая сырьевая база для производства пектинов, но, несмотря на это, их производство на сегодняшний день практически отсутствует в промышленных масштабах. Тем самым это вызывает острую зависимость пищевой промышленности от зарубежных поставщиков продукции.

Химическая модификация пектиновых полисахаридов позволяет получать соединения с новыми физико-химическими и физиологическими свойствами. Пектиновые полисахариды могут быть использованы в качестве органической матрицы для введения в организм необходимых микро- и макроэлементов при различных формах микроэlementозов. В ИОФХ им. А.Е. Арбузова комплексообразованием полигалактуроната натрия с ионами никеля получены металлокомплексы, проявляющие антимикробную активность, с ионами железа, меди и кобальта, проявляющие противоанемическую активность. Противоанемическая активность проявляется как у полиметаллокомплексов на основе полигалактуронатов натрия, одновременно содержащих три микроэлемента, участвующие в процессе кроветворения, –

железо, медь, кобальт, так и у металлокомплексов, в состав которых входит только *d*-металл железа [2].

Целью дипломной работы является разработка способа получения пектиновых веществ из свекловичного жома, изучение физико-химических свойств и структурных характеристик выделенного пектина. Получение металлокомплексов цитрусового пектина с ионами железа.

Для достижения цели были поставлены следующие задачи:

1. Проведение обзора литературы по теме «Номенклатура и химическая структура пектиновых веществ, способы получения и модификации, свойства и применение»;

2. Изучение процесса гидролиза-экстракции пектина из свекловичного жома с использованием 0,75%-ого раствора щавелевой кислоты. Проведение аналитических расчётов по определению выхода свекловичного пектина на воздушно-сухую массу сырья.

3. Получение пектата натрия и металлокомплекса цитрусового пектина с ионами железа (степень замещения ионов натрия на ионы железа 20%).

4. Идентификация свекловичного и цитрусового пектинов, пектата натрия и металлокомплексов пектина с ионами железа методом ИК спектроскопии;

5. Исследование физико-химических свойств свекловичного пектина, пектата натрия и металлокомплексов пектина с ионами железа.

#### **Публикации:**

С.Т. Минзанова, Е.В. Чекунков, **А.И. Дойникова**, Т.Б. До Нгок, А.З. Миндубаев, Л.Г. Миронова, В.А. Милюков. *Влияние температуры на эффективность процессов гидролиза и экстракции пектиновых полисахаридов* // Сборник трудов по материалам Международной научной экологической Конференции «Аграрные ландшафты, их устойчивость и особенности развития», Краснодар, 24-26 марта 2020 г. – С. 224-228.

## Реферат

Выпускная квалификационная работа: 122 страницы, 31 таблица, 34 рисунка, 65 источников.

ПЕКТИНОВЫЕ ПОЛИСАХАРИДЫ, ГИДРОЛИЗ-ЭКСТРАКЦИЯ, СВЕКЛОВИЧНЫЙ ЖОМ, ЦИТРУСОВЫЙ ПЕКТИН, ПЕКТАТ НАТРИЯ, НАТРИЙ-, ЖЕЛЕЗО-ПОЛИГАЛАКТУРОНАТ, ИК СПЕКТРОСКОПИЯ

Объекты исследования – свекловичный жом в гранулах и пектин цитрусовый марки “Classic C-401” производства фирмы “Herbstreith & Fox” (Германия).

Цель дипломной работы – разработка способа получения пектиновых веществ из свекловичного жома, изучение физико-химических свойств и структурных характеристик выделенного пектина. Получение металлокомплексов цитрусового пектина с ионами железа.

Исследован процесс гидролиз-экстракции пектина из свекловичного жома при  $t = 75\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Проведён аналитический расчёт по определению выхода свекловичного пектина на воздушно-сухую массу сырья.

Исследованы закономерности комплексообразования цитрусового пектина с ионами железа и получен пектиновый металлокомплекс с ионами железа – натрий-, железо-полигалактуронат (ПГNaFe).

Свекловичный и цитрусовый пектин, пектат натрия и натрий-, железо-полигалактуронат идентифицированы методом ИК спектроскопии, исследованы физико-химические свойства полученных продуктов.

Общая сумма затрат на выполнение данной работы составила 50874,97 руб. Наибольшая сумма затрат приходится на заработную плату (стипендия и зарплата руководителя и консультантов по экономике).

Кафедра ПБТ  
Направление 19.03.01 – Биотехнология  
Специальность биотехнология  
\_\_\_\_\_ 2020 г.

«УТВЕРЖДАЮ»  
Зав. кафедрой Сироткин А.С.

Группа 6161-21

## З А Д А Н И Е

на выпускную квалификационную работу студента Дойниковой Анны Игоревны

Тема **«Выделение свекловичного пектина. Получение пектиновых металлокомплексов с ионами железа»**

Срок представления работы к защите « \_\_\_\_\_ » июня 2020 г.

Цель, задачи и исходные данные работы:

**Цель работы** – разработка способа получения пектиновых веществ из свекловичного жома, изучение физико-химических свойств и структурных характеристик выделенного пектина. Получение металлокомплексов цитрусового пектина с ионами железа.

**Задачи:** изучить процесс гидролиза-экстракции пектина из свекловичного жома с использованием 0,75% раствора щавелевой кислоты при температуре 75 °С; рассчитать выход пектина на воздушно-сухую массу сырья; исследовать закономерности комплексообразования пектина с микроэлементом железа и получить металлокомплекс со степенью замещения ионов натрия на ионы железа 20%; методом ИК спектроскопии. провести идентификацию свекловичного и цитрусового пектина, пектата натрия (ПГNa) и металлокомплексов пектина с ионами железа (ПГNaFe); исследовать физико-химические свойства свекловичного пектина, ПГNa и ПГNaFe.

Задание по разделам работы: Литературный обзор по теме: «Номенклатура и химическая структура пектиновых веществ, способы получения и их модификации, свойства и применение», Экспериментальная часть, Результаты и их обсуждение.

Разделы – БЖД, Метрологическая проработка, Техничко-экономическое обоснование в соответствии с требованиями.

Содержание графической части (иллюстрированного материала): Таблицы, графики и рисунки в соответствии с полученными результатами

Консультанты: по метрологии – Перухин М.Ю., по БЖД – Андрияшина Т.В., по экономической части – Газизова О.В.

Дата выдачи задания «2» декабря 2020 г.

Руководитель \_\_\_\_\_ (С.Т. Минзанова)

Задание принял к исполнению \_\_\_\_\_ (А.И. Дойникова)

## ЛИСТ НОРМОКОНТРОЛЕРА

1. Лист является обязательным приложением к пояснительной записке дипломного (курсового) проекта.
2. Нормоконтролер имеет право возвращать документацию без рассмотрения в случаях:
  - нарушения установленной комплектности;
  - отсутствия обязательных подписей;
  - нечеткого выполнения текстового и графического материала.
3. Устранение ошибок, указанных нормоконтролером, обязательно.

### ПЕРЕЧЕНЬ

Замечаний и предложений нормоконтролера по дипломному (курсовому) проекту студента  
гр. 6161-21 Дойниковой А.И.  
(группа, инициалы, фамилия)

Лист (страница)	Условное обозначение (код ошибок)	Содержание замечаний и предложений со ссылкой на нормативный документ, стандарт или типовую документацию
-	-	Замечаний не выявлено. Выпускная квалификационная работа выполнена в соответствии с П-1.01-04.02-04.2019 «Положение о выпускных квалификационных работах бакалавра, специалиста, магистра в системе многоуровневого образования ФГБОУ ВО «КНИТУ».

Дата 23.05.2020 г. Нормоконтролер \_\_\_\_\_ Минзанова С.Т.  
(подпись) (фамилии, инициалы)



## Перечень условных обозначений и сокращений

M.M. – молекулярная масса;

CЭ – степень этерификации;

H-пектин (high) – высокоэтерифицированный пектин;

L-пектин (low) – низкоэтерифицированный пектин.

Ara – арабиноза;

GalA – галактуроновая кислота;

Gal – галактоза;

Rha – рамноза;

Fuc – фукоза;

Xyl – ксилоза;

DM – степень метоксилирования;

DAc – степень ацетилирования;

DE – степень этерификации;

WSP – водорастворимый пектин;

FW – свежие арбузные корки;

LW – лиофилизированные корки арбуза;

CBP – связанный с кальцием пектин;

ПГNa – пектат натрия;

ПГNaFe – натрий-, железо-полигалактуронат.



Пектовые кислоты – полностью деметоксилированные пектины с нетронутой цепью. Соли пектовых кислот называются нормальными или кислыми пектатами [4].

В 1848 году Фреми разделил нативный пектин на две фракции – растворимый (гидропектин) и нерастворимый (протопектин) [4].

В зависимости от количества метоксильных групп и степени полимеризации пектины разделяют на высокоэтерифицированные и низкоэтерифицированные. Н-пектин – высокоэтерифицированный, имеет степень этерификации, то есть отношение числа этерифицированных карбоксильных групп на каждые 100 карбоксильных групп пектиновой кислоты, более 50% (рис. 3); L-пектин – низкоэтерифицированный, имеет степень этерификации менее 50% [5].

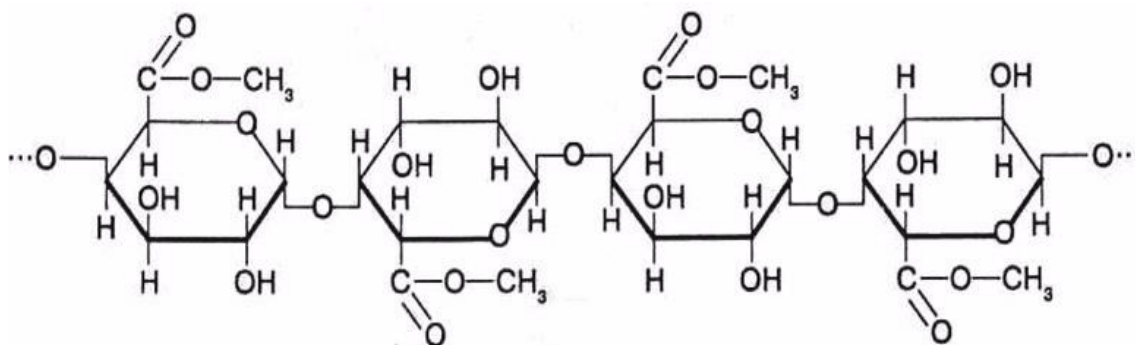


Рисунок 3 – Химическая структура Н-пектина

## 1.2 Нахождение пектиновых веществ

Пектиновые вещества – группа высокомолекулярных полисахаридов, входящих в состав клеточных стенок и межклеточных образований растений совместно с целлюлозой, гемицеллюлозой, лигнином. Наибольшее количество пектиновых веществ находится в растительных тканях: сочных плодах и корнеплодах. Сырьём для промышленного получения пектина с точки зрения экономической целесообразности его использования служат в основном яблочные и цитрусовые выжимки, жом сахарной свёклы, кормового арбуза, корзинок подсолнечника, тыквы (то есть отходы пищевых производств) [6].

Содержание пектиновых веществ в растительных материалах колеблется в широких пределах: от 0,1-0,5 до 50%. Наибольшее содержание пектина в лимонных выжимках (30-35%), в апельсиновых и мандариновых отжимах (25-30%), околоплодниках подсолнечника (около 25%), свекловичном жоме (20-25%), яблочных выжимках (5-15%). Они локализованы в различных частях растений неравномерно. Например, в цитрусовых плодах основное количество пектинов сосредоточено в альbedo, в яблоках – в эпидермисе, колленхиме и прилегающих тканях, в сахарной свёкле – в мякоти [6].

В таблице 1 представлены данные содержания пектина в некоторых продуктах на 100 г [7].

Таблица 1 – Содержание пектина в некоторых продуктах (в 100 г) [7]

Наименование продукта	Количество, г
Яблоки	1,6
Апельсины	1,5
Черная смородина	1,1
Абрикос	1,0
Капуста	1,0
Малина	0,7
Морковь	0,6
Баклажаны	0,6
Лук	0,5
Тыква	0,3

На рисунке 4 представлен яблочный пектин [4].



Рисунок 4 – Яблочный пектин

### 1.3 Свойства пектина

Пектин – полисахарид с длинной спиралевидно-скрученной цепью повторяющихся единиц и высоким молекулярным весом, обладает свойствами лиофильного коллоида. В отличие от других природных коллоидов (желатин, агар-агар) золи пектина переходят в гель только в присутствии сахара и кислоты или поливалентных металлов. Пектин, выделенный из растений, в высушенном виде представляет собой порошок от белого до серо-коричневого цвета в зависимости от источника получения и степени очистки. Он не обладает запахом, слизистый при пробе на язык. Пектин растворяется в воде, особенно при нагревании, осаждается спиртом и другими органическими растворителями. При повышении температуры выше 150 °С пектин разлагается, быстрое разложение наступает в присутствии ионов хлора. Пектиновые растворы оптически активные, правовращающие, удельное вращение постоянно при значении рН 3,0-6,5. Характерными показателями пектина являются: молекулярный вес, метоксильное число, ацетильное число, растворимость в воде, вязкость золя, желеобразующая способность [8].

В избытке воды они хорошо набухают. Пектины не растворяются в растворах с содержанием сухих веществ более 30%. Растворимость пектина в воде возрастает с увеличением степени этерификации и с уменьшением степени полимеризации. Из двух пектинов с одинаковой длиной цепи легче растворим тот, у которого выше метоксильное число, а из двух пектинов

одинаковой степени этерификации легче растворим тот, который обладает меньшим молекулярным весом [8]. В таблице 2 представлены данные содержания метоксильных и ацетильных групп некоторых пектинов [8].

Таблица 2 – Содержание метоксильных и ацетильных групп в пектиновых веществах [8]

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

#### 1.4 Получение пектиновых веществ

Пектин получают экстракцией из пектинсодержащей биомассы. Экстракцию проводят разбавленными горячими кислотами (соляной, щавелевой) или горячей водой в присутствии комплексообразователей, связывающих двухвалентные катионы (оксалат аммония, гекса-метафосфат натрия, этилендиаминтетрауксусная кислота). При экстрагировании разлагается протопектин. Образующийся пектин осаждают спиртом. Экстрагированные пектины очищают переосаждением (растворитель – вода, осадитель – этиловый спирт). Чем более жёсткие условия экстракции, тем выше выход продукта, но в больше степени разрушаются макромолекулы пектинов [3].

При отжиме сока различных ягод и фруктов в него переходят свободные низкоэтерифицированные, низкомолекулярные пектины. В выжимках остаются связанные с целлюлозой пектины (протопектины), которые

экстрагируют подкисленной (рН = 1,5-3,1) водой с  $t = 55-90$  °С. Условия экстракции изменяются от требуемой фракции пектина. Из экстракта пектин осаждают спиртом, потом регулируют степень этерификации метоксилированием, затем следуют сушка, помол, стандартизация [4]. В таблице 3 представлены физико-химические свойства пектинов из различных видов растительного сырья [9].

Таблица 3 – Физико-химические свойства пектинов основных источников коммерческого пектина и других источников [9]

Источник для выделения пектина	Выход пектина, %	Галактуроновая кислота (GalA), %	СЭ, %	Молекулярный вес, кДа	Содержание нейтральных моносахаридов, %
1	2	3	4	5	6
Яблочный жмых [10-12]					
«Бабушка Смит»	4,2	58,6	76,4	331-899	14,3-31,1
Королевский сорт	16,65	67,14	52,51		
Золотой сорт	18,79	-	-		
Выжимки для производства пектина	19,8	-	-		
Кожура цитрусовых [13-20]					
Кожура лайма	13,4-26,3	91,6	82,2	342,7- 918	Ara (1,33 помело – 9,3 лайм); Fuc (0,1 лайм – 0,16 помело); Gal (1,64 помело – 4,1 лайм); Glc (0,8 мандарин – 3,25 помело); Rha (0,62
Кожура мандарина	21,95	68,88	-		
Кожура апельсина	24,2	-	-		

Продолжение таблицы 3

1	2	3	4	5	6
Кожура грейпфрута	27,34	-	-		мандарин – 1,5 лайм), Xyl (0,18 мандарин – 0,7 лайм)
Помело	27,63- 37,52	-	-		
Отходы сахарной свёклы [21-23]					
Отходы сахарной свёклы	23-24,87	72,4	52 DM, 28,1 DAc	311	Ara (24,3-6,4); Gal (13,2); Glc (0,6); Rha (4,4); Xyl (0,2)
Выжимки томатов [24-26]					
Выжимки томатов	7,55	78,4 (CBP)	76,92 - 88,98	-	Ara (2,9); Gal (3,85); Glc (0,7); Man (3,8); Rha (1,4); Xyl (2,3)
Отходы моркови [27-28]					
Некондицион ная морковь	8,9	62-69	53-77 (WSP)	114 - 1460	Ara (8-11,9); Fuc (0,12-0,18); Gal (13- 24,4); Glc (40,9-50,6); Man (1,6-1,9); Rha (1,7-3,2); Xyl (0,3) (WSP)
Выжимки моркови	5-15,2				
Арбузные корки [29-30]					
Арбузные корки	19-21	68,7 (LW) - 74,2 (FW)	DM: 61,5 (LW) - 63 (FW)	(FW) 3,45×10 <sup>4</sup> г/моль, (LW) 4,04×10 <sup>4</sup> г/моль	Ara (0,6-0,7); Fuc (0,1-0,2); Gal (20,2- 22,6); Glc (1,4-4); Man (0,4-0,6); Rha (2,4-2,9); Xyl (0,5)
Кожура манго [31]					
Кожура манго	17,15	29,35-53,35	DM: 85,43 - 88,38	378,4- 2858	-



Продолжение таблицы 3

1	2	3	4	5	6
Кожура маракуйи [32-33]					
Кожура маракуйи	10-12,67	66,65-68,7	60,36 DE, 45,94 DM	-	-
Банановая кожура [34-35]					
Банановая кожура	9	40,2-71,8	49-80 (DM), 1,2-5,7 (DAc)	87-248	Ara (1-5,3); Gal (1,6-5,7); Rha (0,1-0,24)
Отходы тыквы [36]					
Отходы тыквы	7,4	63,3-73,8	18 (DM), 3 (DAc)	139-289	Ara (4,1-4,6); Fuc (0,4-0,6); Gal (7,2-9); Glc (6,6-11,2); Man (0,8); Rha (4,2-4,6); Xyl (0,9-4,3)

Примечание: Ara – арабиноза, GalA – галактуриновая кислота, Gal – галактоза, Rha – рамноза, Fuc – фукоза, Xyl – ксилоза, DM – степень метоксилирования, DAc – степень ацетилирования, DE – степень этерификации, WSP – водорастворимый пектин, FW – свежие арбузные корки, LW – лиофилизированные корки арбуза, CBP – связанный с кальцием пектин.

## 1.5 Методы определения пектиновых веществ

### 1.5.1 Качественное определение

1) Осаждение спиртом [8].

Пектины осаждаются из раствора при добавлении 2-х или более объёмов этилового спирта. При этом получается прозрачный желатинообразный осадок. В случае сильно разбавленных растворов, или частично

деградированных, или имеющих низкую метоксильную составляющую, осадок получается менее желатинообразным. Наиболее полно осаждение происходит при подкислении раствора соляной кислотой конечной концентрации 5%. В некоторых случаях, особенно при осаждении большим количеством спирта (выше 70%), осаждаются и непектиновые вещества: пентозаны, крахмал, растительная камедь. Если осадок отсутствует, значит и пектиновые вещества в исходном растворе тоже отсутствуют.

#### 2) Определение флокуляцией щелочноземельными основаниями [8].

Пектины осаждаются при кипячении с гидроксидом кальция. Реакция состоит в деметоксилировании пектиновых кислот и последующем осаждении их в виде пектата кальция. Гидроксид бария вызывает более быструю флокуляцию. Осаждение замедляется сахарозой. Присутствие натриевых, калиевых или аммониевых солей мешает флокуляции.

#### 3) Определение с применением фруктовых соков, богатых танином [8].

Разбавленные экстракты или отжатый сок растений, богатых танином (группа фенольных соединений растительного происхождения, содержащих большое количество групп  $-OH$ ), применяются в качестве чувствительных реактивов на пектиновые вещества. Сок зрелых плодов, приготовленный прессованием, кипятится и фильтруется в горячем виде. Полученный реактив стабилен в течение нескольких лет, если его хранить в холодильнике под слоем толуола. Осаждение пектинов производится следующим образом: к 1 мл реактива прибавляется по каплям 2 мл испытуемого раствора, раствор сначала мутнеет, затем появляется осадок. Метод обнаружения пектиновых веществ не получил широкого распространения из-за того, что ещё недостаточно выяснен механизм и специфичность реакции.

#### 4) Образование окраски или флуоресценции с перманганатом калия [8].

Пектиновые вещества можно обнаружить по их реакции с 0,25%-ным раствором перманганата калия. При нагревании раствора, содержащего смесь пектиновых веществ и перманганата калия, до температуры кипения

образуется интенсивное окрашивание в золотистый цвет со слабой зеленоватой флуоресценцией. Камедь и агар дают при этой реакции красное окрашивание без флуоресценции. Механизм реакции, её чувствительность и специфичность пока не выяснены в достаточной степени.

5) Образование жёлтой окраски со щелочами [8].

К 0,5 см<sup>3</sup> раствора, который должен содержать, по крайней мере, 0,5% пектиновых веществ, добавляют несколько капель 2%-ого раствора гидроокиси калия. При этом появляется сильное жёлтое окрашивание. Окраску лучше наблюдать после 15 мин стояния при комнатной температуре. При подкислении образуется белый хлопьевидный осадок пектовой кислоты. В более концентрированном растворе образуется твёрдый жёлтый гель. Окраска не проявляется в разбавленном растворе.

6) Определение пектиновых кислот через метанол [8].

Метод основан на определении метанола, полученного после щелочного омыления пектинов. Если при подготовке к анализу пектиновые вещества подвергают очистке, то делают это при помощи ацетона, так как этиловый спирт мешает обнаружению метоксильных групп. К 5 мл исследуемого раствора, нагретого до температуры 70 °С, прибавляют 5 мл 10%-ого раствора гидроокиси натрия. После десятиминутного отстаивания раствор подкисляется до слабокислой реакции разбавленной серной кислотой, а затем подвергается перегонке. Собираются первые 5 мл дистиллята. В маленьком цилиндре со шлифом смешивают 0,25 мл полученного дистиллята, 4,75 мл воды и 2 мл 3%-ого раствора перманганата калия, содержащего 15% фосфорной кислоты. После десятиминутного отстаивания при периодическом помешивании к смеси прибавляют 2 мл раствора, содержащего серную и щавелевую кислоты (5 г щавелевой кислоты растворяют в 100 мл 50%-ной серной кислоты), после этого добавляют 5 мл модифицированного реактива Шиффа. Смесь перемешивается и отстаивается в течение 1 ч в закрытом сосуде. Полученная окраска сравнивается с окраской в холостой пробе. Если

испытуемая смесь имеет более глубокую окраску, чем холостая проба, она содержит метанол, который образовался из пектиновых веществ и анализируемого образца. Количество метанола, которое можно затем пересчитать на пектины, определяется визуально, колориметрически, фотометрически (путём сравнения с окраской растворов, содержащих определенные количества метилового спирта).

Реактив Шиффа готовится следующим образом: 0,2 г фуксина (солянокислого розанилина) растворяется в 20 мл горячей воды. Раствор охлаждается и в него добавляется 2 г сульфата натрия, растворенного в 20 мл воды и 2 мл соляной кислоты, смесь разбавляется до 200 мл водой. Из всех методов качественного определения пектинов этот метод является наиболее сложным по исполнению и для его проведения необходимо иметь десяток различных реактивов.

#### 7) Определение через галактурановую кислоту [8].

Определение галактурановой кислоты в гидролизатах пектиновых веществ является удобным методом идентификации этих веществ. Пектины осаждаются из раствора двойным объемом 96%-ого этанола, растворяются в воде и гидролизуются пектиназой или соляной кислотой. Гидролизированный раствор фильтруется и исследуется на содержание D-галактурановой кислоты. Для этой цели используется реакция Толленса с нафторезорцином или её модификация. Равные объёмы растворов галактурановой и концентрированной соляной кислот нагревают 1 мин с 1 мл 1%-ого раствора нафторезорцина в этиловом спирте. После охлаждения к смеси прибавляют равный объём эфира, размешивают, оставляют стоять до образования двух слоёв. В присутствии D-галактурановой кислоты эфирный слой окрашивается в сине-фиолетовый цвет. Определению мешает присутствие арабинозы и фруктозы.

Приведённые методы качественного определения пектиновых веществ имеют один общий недостаток: все они основаны на реакциях, которые не являются специфическими для пектинов, так как для этих соединений до сих

пор не найдены специфические растворители, осадители, красители. Однако, соблюдая предосторожности, можно получить данные о наличии или отсутствии пектиновых веществ в объекте исследования.

### **1.5.2 Количественное определение**

Количественное определение пектинов всегда производится в растворах, поэтому объект исследования должен находиться в растворённом состоянии. Переведение в раствор пектиновых веществ, находящихся в твёрдых смесях, уже описывалось при изложении методов качественного определения, однако чаще приходится иметь дело с их определением в растительных объектах. При экстрагировании пектиновых веществ из растительных материалов сравнимые результаты могут быть получены только в том случае, если пользоваться одними и теми же приемами экстракции при их строгом соблюдении [8].

Существуют два метода количественного извлечения пектинов из растительных материалов:

- 1) фракционное извлечение пектиновых веществ;
- 2) быстрое получение всего экстракта.

По первому методу подлежащий анализу хорошо измельченный растительный материал экстрагируется на водяной бане 95%-ным этиловым спиртом (1:10) для удаления сахаров, смолы, воска. Нерастворившийся осадок отфильтровывается, промывается 95%-ным спиртом, затем смесью спирта и эфира, снова эфиром и сушится при  $t = 85$  °С. Обработанный материал экстрагируется. Материал помещается в сосуд, снабженный фильтром из пористого стекла, и заливается предварительно нагретой до необходимой температуры экстракционной жидкостью. Требуемая температура поддерживается при помощи водяной бани. После завершения процесса жидкость при помощи водяного насоса отсасывается через трубку в приёмник. Если необходимо, проводят несколько экстракций одной и той же пробы

одной или несколькими жидкостями. При этом можно собирать весь экстракт сразу или по фракциям. При достаточном количестве раствора (около 50 мл на 1 г экстрагируемого материала) и хорошем размешивании можно извлечь 99% пектиновых веществ за 4-5 последовательных обработок. Экстрагирующая жидкость выбирается в зависимости от того, в какой форме пектиновые вещества находятся в объекте исследования. Чаще всего экстрагирующей жидкостью служит вода или 0,1 Н раствор соляной кислоты [8].

Но если объект исследования содержит нерастворимые в воде пектинаты и пектаты, экстрагирующей жидкостью должен быть очень слабый раствор щёлочи, так как при действии соляной кислоты получились бы нерастворимые низкометоксилированные пектиновые и пектовые кислоты. По второму методу в колбу объёмом 3 л помещают 100 г хорошо измельченного испытуемого материала и заливают таким количеством горячей воды, чтобы при добавлении необходимого количества реактивов общий объём не превышал двух литров. Содержимое колбы нагревается на водяной бане до 90 °С, после чего прибавляется сернистая кислота из расчёта, чтобы конечная концентрация её была 0,4-0,6%. Экстракция длится 60 мин при 90 °С. После этого колба вынимается из водяной бани и быстро охлаждается струей холодной воды. Затем в неё доливается дистиллированная вода до метки 2 л, содержимое размешивается и отстаивается в полном покое. Из отстоявшегося экстракта отбирается необходимое для проведения анализа количество жидкости [8].

### **1.5.3 Определение протопектина**

Протопектин нерастворим в воде. Из растительной ткани или любого другого испытуемого материала сначала экстрагируются водорастворимые пектиновые вещества, затем образец подвергается обработке, которая переводит в растворимое состояние протопектин. Из хорошо измельчённой пробы сначала удаляются растворимые пектины путем экстракции в течение 2 ч тремя последовательными порциями холодной (20-25 °С)

дистиллированной воды из расчёта 100 мл на 1 г пробы. Такая экстракция удаляет из образца 98% растворимых пектиновых веществ. Оставшийся протопектин можно перевести в растворимое состояние обработкой 0,5%-ным раствором оксалата аммония при 85 °С в течение 2 ч или раствором соляной кислоты обычными приемами и определить методами, принятыми для пектиновой и пектовой кислот, а также для их солей. Предлагаемый метод количественного определения протопектина является простым и доступным, но ввиду того, что граница между нерастворимыми и растворимыми пектиновыми веществами очень неопределенная, этот метод можно считать до некоторой степени условным [8].

#### **1.5.4 Определение пектиновых и пектовых кислот и их солей**

Первой операцией при определении массовой доли пектиновых веществ в растительном сырье является извлечение и перевод в растворённое состояние. Для этого берут навеску массой 25 г влажного или 10 г сухого исследуемого материала, тщательно растирают его в ступке до однородной массы. Количественно переносят в коническую колбу на 150 мл, смывая ступку водой, затем добавляют в колбу 100 мл дистиллированной воды с температурой 40 °С. Колбу с материалом и водой выдерживают на водяной бане при температуре 40 °С в течение 30 мин. По истечении этого времени содержимое колбы отфильтровывают через бумажный складчатый фильтр. Операцию повторяют, заливая твердый остаток в колбе 75 мл, а затем ещё раз 50-60 мл воды, отфильтровывая каждый раз жидкость через тот же фильтр. Полученные экстракты собирают в мерную колбу на 250 мл и доводят до метки дистиллированной водой. Полученный раствор гидратированных пектинов используют для дальнейших анализов [8].

Для определения массовой доли в растительном сырье протопектина и пектовой кислоты остаток измельченного растительного материала на фильтре заливают 50 мл 0,3 Н раствора соляной кислоты и переносят в коническую колбу на 250 мл, закрывают колбу пробкой с обратным

холодильником и выдерживают 30 мин на кипящей водяной бане. По истечении этого времени экстракт отфильтровывают через складчатый фильтр в мерную колбу на 500 мл. Остаток на фильтре 3-4 раза промывают 75 мл дистиллированной воды, промывные воды фильтруют через бумажный фильтр в ту же колбу. Фильтр вместе с остатком растительного материала переносят в коническую колбу, заливают от 50 до 70 мл 1%-ого раствора лимоннокислого аммония и помещают на кипящую водяную баню на 30 мин. Полученный экстракт отфильтровывают через бумажный фильтр в ту же мерную колбу. Фильтр промывают горячей дистиллированной водой, после чего содержимое колбы охлаждают и доводят до метки [8].

Полученные экстракты гидратированного пектина и протопектина исследуют одним из следующих методов:

1) Кальций-пектатный метод [8].

Метод основан на осаждении пектовых кислот в виде кальциевых солей. Это один из наиболее точных методов. Он прост, доступен и имеет хорошую сходимость параллельных анализов. В зависимости от цели исследования можно определить отдельно растворимый пектин, протопектин или сумму пектиновых веществ. Ход анализа при определении пектинов в обоих растворах одинаков. Отличие в том, что раствор протопектина предварительно нейтрализуют NaOH до прибавления щелочи, необходимой для его гидролиза. Для гидролиза пектиновых веществ к 50 мл исследуемого раствора прибавляют равный объём 0,4%-ого раствора NaOH и оставляют на 8-10 ч при комнатной температуре. По истечении этого времени раствор подкисляют тем же объёмом уксусной кислоты.

Образовавшиеся пектовые кислоты осаждают 50 мл 10%-ого раствора  $\text{CaCO}_3$ . Полученный осадок пектата кальция отфильтровывают через заранее высушенный до постоянной массы и взвешенный с бюксом бумажный фильтр. Осадок на фильтре промывают 0,5%-ным раствором  $\text{CaCl}_2$ , затем 5-6 раз холодной дистиллированной водой для удаления ионов хлора (проверка по реакции на  $\text{Cl}^-$  с азотнокислым серебром). Для снижения зольности осадок



дополнительно промывают 3-4 раза горячей дистиллированной водой. Фильтр с осадком переносят в бюкс и сушат до постоянной массы при температуре 100-105 °С. Массу осадка, полученную по разности между массой бюкса с осадком на фильтре и массой бюкса с фильтром, умножают на 0,9235 для пересчёта на пектовую кислоту. Если масса пектата кальция превышает 0,03 г, то опыт необходимо повторить с меньшим количеством экстракта. Погрешность метода составляет 3,0%. Источник ошибок: возможность перехода в осадок пектата кальция непектиновых примесей.

## 2) Карбазольный метод [8].

Метод основан на определении пектинов по образованию гидролизованного до D-галактуроновой кислоты исследуемого пектинового раствора с карбазоловым реактивом. Пектиновый раствор подкисляют серной кислотой до pH 1,0-1,5. Затем пектины осаждают подкисленным этиловым спиртом-ректификатом с pH 4,7-4,8. Образовавшийся осадок отделяют центрифугированием при скорости 3000 об/мин в течение 10 мин и промывают подкисленным спиртом. Промытый осадок гидролизуют концентрированной серной кислотой, добавляют 0,2%-ого спиртового раствора карбазолового реактива и производят замер оптической плотности на фотоэлектроколориметре при длине волны 535 нм с зелёным светофильтром (кювета с длиной 20 мм). Отсчёт на ФЭКе проводят по шкале оптической плотности. Количество пектиновых веществ определяют с помощью калибровочной кривой, построенной по чистой D-галактуроновой кислоте. Недостаток карбазольного метода в том, что результаты часто искажены из-за недостаточной тщательной промывки пектинового осадка от сахарозы, продукты гидролиза которой (в основном глюкоза) дают с карбазолом тот же цвет, хотя и менее интенсивный, чем D-галактуроновая кислота.

## 3) Осаждение ацетоном [8].

К исследуемому раствору, содержащему приблизительно 0,2%-ный пектиновых веществ, прибавляют ацетон до его конечной концентрации

в растворе (50%). После 5 мин отстаивания смеси осадок отфильтровывают через бумажный фильтр, количественно переносят его, смывая холодной водой, в мерную колбу на 100 мл, доводят до метки. Для лучшего растворения осадка раствор подогревают. После охлаждения раствора прибавляют ацетон для осаждения пектиновых веществ. Осадок снова отфильтровывают через взвешенный беззольный фильтр, промывают 60%-ным ацетоном, сушат при  $t = 100\text{ }^{\circ}\text{C}$  и сжигают. Разность между массами остатков после сушки и после сжигания представляет собой количество пектина в исследуемом растворе. Достоинство данного метода состоит в том, что получается более плотный осадок, чем при осаждении спиртом. Ацетон легче регенерируется. Недостаток – большая погрешность метода, так как при осаждении ацетоном в осадок могут выпадать непектиновые вещества.

#### 4) Определение пектиновых веществ по оптическому вращению [8].

Этот метод применим для цитрусовых пектинов. Анализ проводится следующим образом. Вначале измеряют удельное вращение исходного раствора, после чего пектиновые вещества количественно осаждают в виде медной соли и отфильтровывают. Затем измеряют удельное вращение фильтрата. Разность вращений до и после осаждения пектиновых веществ прямо пропорциональна их концентрации (удельное вращение цитрусового пектина  $+230$  град). Приведённый метод широкого распространения не получил, так как пектины, выделенные из различных источников различными методами, имеют разные величины удельного вращений. Кроме того, медь осаждает из растворов и другие вещества, например, белки. Следовательно, нужно вводить дополнительные операции по предварительной очистке испытуемого раствора от непектиновых составляющих.

#### 5) Осаждение соляной кислотой [8].

Пектовые кислоты осаждаются из растворов сильными минеральными кислотами. Вследствие того, что при определённых условиях растворимость пектовых кислот даже в горячей воде очень низкая, это свойство может быть

использовано для количественного определения пектинов. К 25 мл 1%-ого раствора пектиновых веществ прибавляют от 8 до 12 г сахарозы, осаждают 200 мл 95%-ным этилового спирта. Осадок отфильтровывают, а затем растворяют на фильтре дистиллированной водой. Полученный раствор омыляют 0,2-1%-ным раствором гидроксида натрия в течение 15 мин и осаждают соляной кислотой (1:2,5) при кипячении в течение 5 мин. Выпавший осадок отфильтровывают и промывают горячей водой почти до отрицательной реакции на хлор-ион. Фильтрат должен быть прозрачным. Если это не так, то определение повторяют: омыляют пектиновый раствор более концентрированной щелочью и при более низкой температуре. Полученный осадок смывают в тигель и высушивают сначала на паровой бане, а затем в сушильном шкафу при  $t = 98$  °С. Вес пектиновой кислоты определяют, как разность между массами до и после определения золы. Результаты, полученные по этому методу, обычно занижены, вероятно, вследствие деградации пектиновых веществ во время нагревания с кислотой.

## **1.6 Значение и применение пектиновых веществ**

### 1) Роль в природе [37]:

– этот класс биополимеров является составной частью клеточных стенок – оболочек, покрывающих растительные клетки и создающих прочный скелет растения. Растворимый пектин находится в соке вакуоли и межклеточных слоях ткани зрелых плодов. Пектины в растительных тканях не находятся в свободном состоянии. Пектин клеточных стенок стабилизируется кальцием, формированием гелевого матрикса вокруг целлюлозы и гемицеллюлозы. Они образуют ковалентные связи с лигнином, что объясняет высочайшую прочность механических тканей растительного организма;

– являясь структурным элементом растительных тканей, способствуют поддержанию в них тургора, повышают засухоустойчивость растений;

– олигосахариды – продукты ферментативного частичного разложения пектинов, обладают фитогормональным действием. Образовавшись при

разрушении клеточных стенок ферментами фитопатогенных грибов олигосахариды стимулируют запуск иммунного ответа растения, а именно выработку антибиотиков – фитоалексинов, также они оказывают влияние на ростовые процессы (формирование цветков), придаточное корнеобразование и созревание плодов.

2) Для здоровья человека [37]:

– пектин эффективен в борьбе с ожирением: попав в желудок, он разбухает и создаёт давление на стенки, тем самым возникает ощущение сытости;

– пектиновый гель, обволакивая стенки желудка, препятствует формированию язвы и вредному воздействию ряда веществ, лекарственного препарата на организм (например, добавка пектина к ацетилсалициловой кислоте смягчает её побочное действие на желудочно-кишечный тракт человека);

– служит важным профилактическим средством в борьбе с сахарным диабетом, гиперхолестеринемией и гиперлипидемией, пектин легко образует комплексы с гидроксилсодержащими соединениями – холестерином, глюкозой, желчными кислотами, жирными кислотами, веществами фенольной группы, пестицидами и выводит их из организма;

– комплексообразование с полисахаридами повышает терапевтическую и иммунологическую активность, снижает токсичность препаратов;

– пектины, комплексообразование которых несёт обратимый характер, могут выступать в роли лекарственной формы при лечении анемий и ряда иных симптомов микроэлементозов;

– обеспечивает нормальную перистальтику кишечника, улучшая моторно-эвакуаторную функцию пищевого канала и микрофлору кишечника;

– снижает артериальное давление;

– для обеспечения пролонгированного действия лекарства (например, совместное применение пектина с некоторыми антибиотиками пролонгирует

их действие и оказывает детоксикационное влияние), усиливает терапевтическое действие фармацевтических препаратов;

– в процессе деметоксилирования (процесс отщепления от химических соединений метоксильной группы) пектина образуется пектовая кислота, которая вступает в интенсивное солеобразование с ионами тяжёлых металлов, в результате чего ядовитые соли не всасываются в организм, а выводятся в виде нерастворимых пектатов. Также эта кислота (в некотором роде антибиотик) обладает бактерицидными свойствами;

– будучи коагулянтами, они демонстрируют кровеостанавливающий эффект (гемостатическая активность пектинов).

Оптимальная профилактическая дозировка пектина составляет 5-8 г в сутки, а в условиях радиоактивного загрязнения – не менее 15-16 г.

### 3) В пищевой промышленности [38]:

– в кондитерской промышленности как гелеобразователь при изготовлении жележных изделий (зефир, пастила, мармелад, начинки для конфет, тортов). Используется, в основном, яблочный пектин;

– в молочной промышленности для изготовления йогуртов, молочных десертов, мороженого. Используется цитрусовый пектин;

– в консервной промышленности для производства конфитюров, джемов, повидла, желе. Используется цитрусовый пектин;

– в масложировой промышленности как эмульгатора при изготовлении майонезов и жидких маргаринов;

– при получении соусов и кетчупа;

– как стабилизатора безалкогольных напитков и соков с мякотью;

– в производстве диетического и лечебно-профилактического питания;

– в хлебопекарной промышленности как добавки к лечебным сортам хлеба, а также с целью получения медленно черствеющих сортов хлеба;

– пектин улучшает качество изделий и срок хранения (влагоудерживающее свойство).

Механизмы желирования у высоко- и низкоэтерифицированных пектинов отличаются друг от друга. Высокоэтерифицированные пектины желируют при высокой кислотности и высоком содержании сухих веществ в среде (например, при высоком содержании сахара), низкоэтерифицированные способны образовывать гели при низких содержаниях сухих веществ и невысокой кислотности. Желирование высокоэтерифицированных пектинов – процесс, при котором полимерные молекулы в условиях высокой кислотности и высокого содержания сухих веществ, взаимодействуют друг с другом через образование химических связей, водородных мостиков, образуют плотную пространственную структуру, называемую гелем или желе. Молекулы пектина образуют равномерно распределенную трёхмерную сеть, связывая при этом большое количество воды. Желирование низкоэтерифицированных пектинов происходит в результате взаимодействия с ионами поливалентных металлов (например, с ионами кальция). При этом ионы кальция являются связующими звеньями между полимерными молекулами пектина, образующими пространственную структуру геля (желе). Именно гелеобразующая способность пектина является определяющим фактором его широкого применения в пищевой промышленности.

4) В косметической промышленности пектин используют для загущения и стабилизации масок, кремов, гелей самого разнообразного назначения [6].

#### *Биологическая активность полисахарида пектина*

1) Иммунорегуляторная активность.

Иммуномодуляторы – природные или синтетические вещества, которые оказывают регулирующее действие на иммунную систему. Они подразделяются на иммуностимулирующие и иммуносупрессивные группы (по характеру своего влияния на иммунную систему). Активность иммуностимуляторов обусловлена их способностью влиять на метаболизм клеток и тканей организма, активируя иммунокомпетентные клетки. Иммунодепрессанты используются для подавления активности лимфоидных

клеток при воспалении, аллергии, трансплантации и лечении аутоиммунных заболеваний. В качестве иммуностимуляторов используются иммунодепрессанты, получаемые из тканей животных и растений путём биосинтеза с использованием методов генетической инженерии и химического синтеза [39]. Растительные полисахариды, в том числе пектины, могут непосредственно активировать иммунную функцию макрофагов, стимулировать выработку цитокинов и, следовательно, регулировать иммунную систему на нескольких уровнях. Установлено, что физико-химические свойства лимонного пектина, такие как степень этерификации и полимеризации, могут влиять на их иммуностимулирующие характеристики, значит могут быть важны при использовании пектинов для повышения иммунного статуса [40].

## 2) Гипогликемический эффект.

Диабет обычно лечат синтетическими антидиабетическими средствами, которые могут спровоцировать неблагоприятные побочные эффекты. В последние годы большое внимание уделяется антидиабетической активности пищевых волокон [41]. Исследование было проведено по изучению антидиабетического эффекта цитрусового пектина у диабетических крыс и потенциальных преимуществ цитрусового пектина для получения антидиабетических эффектов в случаях диабета 2 степени, вызванных низкой дозой стрептозотоцина и жирной диетой [41]. Первым признаком метаболических заболеваний оказалась инсулинорезистентность. Пероральный тест на толерантность к глюкозе может имитировать состояние гипергликемии после приёма пищи, представляя существенные факты о влиянии инсулина на утилизацию глюкозы [42]. Многие тесты показали, что антидиабетические полисахариды эффективно улучшают толерантность к глюкозе [43,44]. Цитрусовый пектин снижал уровень глюкозы в крови натощак, улучшал гиперлипидемию и улучшал толерантность к глюкозе в печени у диабетических крыс. Цитрусовый пектин модулировал экспрессию основных белков в сигнальном пути PI3K/Akt, что могло повлиять на

повышение чувствительности к инсулину у диабетических крыс, возможно, указывая на антидиабетический эффект цитрусового пектина [45-47].

### 3) Противовоспалительный эффект.

Низкометилэтерифицированный цитрусовый пектин ингибирует местное и системное воспаление, в то время как пектин с более высокой степенью этерификации может ингибировать воспаление кишечника. Химические особенности влияют на физиологические свойства пектинов. Выявление большого количества низкоэтерифицированных пектиновых цепей в растительной пище позволило бы объяснить полезные свойства [48].

### 4) Антиоксидантная активность.

Окисление жизненно важно для многих организмов, которые могут генерировать энергию для обеспечения биологических процессов. В нормальных условиях свободные радикалы управляют ростом клеток и подавляют вирусы и бактерии. Тем не менее, в больших количествах и без регулирования производство свободных радикалов, индуцированных кислородом, вызывает повреждение клеток, что приводит к патологическим прогрессиям. Окислительный стресс связан с хронической обструктивной болезнью легких, астмой, диабетом, воспалением, сердечно-сосудистыми заболеваниями и инфарктом миокарда. Синтетические антиоксиданты, которые обычно применяются в производственных процессах, считаются цитотоксичными. Природные полисахариды считаются надёжными антиоксидантами, обладающими способностью поглощать свободные радикалы и превосходить синтетические вещества в вопросах охраны здоровья [49-51].

### 5) Антибактериальный эффект.

В последние годы большое внимание уделяется применению природных антимикробных систем для производства безвредных и полезных продуктов питания [52]. Антибактериальная активность пектинов связана с тем, что они



могут оказывать бактерицидное действие на грамположительные и грамотрицательные микроорганизмы [53].

### 1.7 Микроэлементозы

Микроэлементы – химические элементы, присутствующие в тканях человека, животных, растений, а также в природных водах, почвах в незначительных количествах. Термин «микроэлементоз» объединяет все болезни и симптомы, обусловленные дефицитом, избытком либо дисбалансом микроэлементов в организме. Неадекватное поступление микроэлементов в организм человека приводит (в зависимости от степени их дефицита либо избытка) либо к физиологическим изменениям в пределах обыкновенной регуляции, либо к значимым нарушениям метаболизма, либо к возникновению специфичных заболеваний. Патология возникает, когда регуляторные процессы перестают обеспечивать гомеостаз [54].

Учение о микроэлементах и микроэлементозах заложено в 20-е годы XX столетия выдающимся русским учёным-биохимиком В.И. Вернадским. В дальнейшем углубленно разработано А.П. Виноградовым, В.В. Ковальским, Г.А. Бабенко, А.П. Авцыном, А.А. Жаворонковым, А.В. Скальным, В.Л. Сусликовым и др. Объясняя патологические состояния (вызванные дефицитом, избытком, или дисбалансом макро- и микроэлементов в организме человека) академик А.П. Авцын (1983 г.) употреблял термин «микроэлементозы», он утверждал, что нарушение содержания даже одного биометалла влечет за собой тотальную системную разбалансировку минерального обмена [55].

#### *Микроэлемент – железо*

Значимость микроэлемента железа для здоровья бесценна. Железо – биологически полезный микроэлемент для человека, без которого нормальное функционирование кровеносной системы невозможно. Он входит в один из главных белков – гемоглобин, который обеспечивает дыхание, синтез ДНК и метаболизм холестерина. Данный микроэлемент поддерживает уровень

кислородного обмена в клетках. Также, благодаря железу повышается иммунитет организма, так как оно предоставляет образование иммунных клеток.

Этот микроэлемент важен для развития и здоровья людей. Содержание железа в организме человека зависит от пола и возраста и составляет около 3-4 г, из которых 3,5 мг находится в плазме крови. Гемоглобин примерно имеет 68% железа всего организма. Суточная потребность в железе по российским данным: дети – от 4 до 18 мг, мужчины – 10-12 мг, женщины – 20-30 мг (беременные женщины – 33 мг). Железо играет большую роль для синтеза гормонов щитовидной железы, управляющими процессами развития и функционирования нервных импульсов [56, 57].

Роль и значение железа для организма [58]:

- служит катализатором в процессах кислородного обмена;
- обеспечивает нормальное протекание всех биохимических процессов в организме;
- поддерживает нормальное функционирование кровеносной системы; разрушает токсины холестерина обмена, превращая калории в энергию;
- помогает иммунной системе организма справляться с агрессорами.

Источники природного железа: мясо, печень, субпродукты, рыба, а также бобовые, шпинат, яблоки, злаковые, орехи, сухофрукты [57].

Железо является жизненно необходимым элементом для каждого человека. Данный микроэлемент играет важнейшую роль в процессах нормального функционирования кровеносной системы, так как в последнее время наметилась тенденция увеличения числа людей, страдающих анемией (железодефицитной) в скрытой форме, что связано с несбалансированным питанием или низкой усвояемостью железа [56].

Пектиновые полисахариды могут быть использованы в качестве органической матрицы для введения в организм необходимых микро- и макроэлементов. Среди применяющихся в настоящее время

противоанемических лекарственных средств в медицине наиболее распространены препараты на основе неорганических солей (на основе железа), также в некоторых случаях добавляются другие биогенные металлы (цинка, меди, марганца). Однако неорганические соли могут иметь ряд побочных действий, таких как раздражение слизистой желудочно-кишечного тракта, системные нарушения, возникающие при превышении дозировок, то есть обладают высокой токсичностью [2]. Решение проблемы анемии является актуальной задачей для здоровья населения.

## 2 Экспериментальная часть

Данная работа проведена в Технологической лаборатории Института органической и физической химии им. А.Е. Арбузова – обособленного структурного подразделения Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Казанский научный центр Российской академии наук» (ИОФХ им. А.Е. Арбузова – обособленное структурное подразделение ФИЦ КазНЦ РАН).

### 2.1 Объекты исследования

Объектами исследования в данной работе являются:

1) свекловичный жом в гранулах (воздушно-сухая масса) представлен на рисунке 5. Из литературы известно [5], что содержание пектиновых веществ в свекловичном жоме колеблется от 20 до 30% на воздушно-сухую массу.

2) пектин цитрусовый марки “Classic C-401” производства фирмы “Herbstreith & Fox” (Германия).



а)



б)

Рисунок 5 – Гранулы воздушно-сухого свекловичного жома: а) общий вид, б) крупный план гранулы

Реактивы:  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  – сульфат железа, использованный для синтеза натрий-, железо-полигалактуроната (ПГNaFe), NaOH – для синтеза пектата натрия и другие реактивы по степени чистоты имели квалификацию ч.д.а.

## 2.2 Общие аналитические методы исследования

### 2.2.1 Определение влажности

Влажность сырья определяют методом [8], который основан на определении массовой доли влаги путём высушивания образца до постоянной массы.

Массовую долю влаги  $W$ , %, вычисляем по формуле 1:

$$W = \frac{m - m_1}{m - m_2} \cdot 100\%, (1)$$

где  $m$  – масса бюкса с навеской до высушивания, г;

$m_1$  – масса бюкса с навеской после высушивания, г;

$m_2$  – масса пустого бюкса, г.

### 2.2.2 Определение набухаемости сырья

Отношение массы набухшего изделия к массе сухого характеризует степень его набухания.

Коэффициент набухаемости  $K_n$  вычисляем по формуле 2 [8]:

$$K_n = \frac{m_2}{m_1}, (2)$$

где  $m_1$  – масса пробы до набухания (без массы чашки), г;

$m_2$  – масса пробы после набухания (без массы чашки), г.

### 2.2.3 Определение зольности

1 г продукта взвешивают в тигле, который предварительно довели до постоянного веса, затем сжигают в муфельной печи при  $t = 800$  °С и взвешивают снова [8].

Зольность  $Z$ , %, вычисляется по формуле 3:

$$Z = \frac{P_1}{P} \cdot 100\%, (3)$$

где  $P_1$  – вес продукта после сжигания, г;

$P$  – вес продукта до сжигания, г.

## 2.2.4 Определение уронидной составляющей (Са-пектатный метод)

Для пектинов любой природы основной структурной особенностью является наличие мономера D-галактуроновой кислоты.

К 20 мл 1 %-ого раствора пектина добавляем 100 мл 0,1 Н раствора NaOH и оставляем на 30 минут при комнатной температуре и постоянном перемешивании. Далее подкисляем раствор 50 мл 1 Н раствора CH<sub>3</sub>COOH. Пектиновую кислоту из раствора осаждаем 50 мл 2 Н раствором CaCl<sub>2</sub> при комнатной температуре (рис. 18). Полученный осадок пектата кальция фильтруем через заранее высушенный до постоянного веса фильтр. Затем осадок на фильтре промыли горячей водой для освобождения от Cl<sup>-</sup> иона, для удаления солей. Фильтр с осадком сушим в бюксе при 100-105 °С до постоянного веса [8].

Концентрация пектина С, %, обработанного катионитом, в экстракте рассчитывается по формуле 4 [8]:

$$C = \frac{(m_2 - m_1) \cdot 0,92 \cdot V}{m \cdot V} \cdot 100\%, \quad (4)$$

где m – масса раствора пектина, взятая для определения, г;

m<sub>1</sub> – масса высушенного фильтра, г;

m<sub>2</sub> – масса высушенного фильтра с осадком, г;

0,92 – коэффициент пересчёта пектата кальция на пектин;

V – объём раствора пектина, взятый для определения, мл.

## 2.2.5 Определение степени этерификации

Метод основан на титриметрическом определении свободных и, после омыления, этерифицированных карбоксильных групп полигалактуроновой кислоты в очищенной от растворимых балластных примесей и катионов навеске препарата пектина.

Пробу переносят в коническую колбу, доводя общий её объём примерно до 100 мл дистиллированной H<sub>2</sub>O, нагретой до 40 °С. Колбу плотно закрывают и взбалтывают до полного растворения пектина. Пробу титруют

раствором NaOH в присутствии смешанного индикатора до розового окрашивания, не исчезающего в течение 30 с. Учитывают объём израсходованного раствора NaOH, приливают 50 см<sup>3</sup> того же раствора NaOH, плотно закрывают колбу и оставляют на 3 ч для омыления этерифицированных карбоксильных групп. После этого к раствору прибавляют пипеткой 50 см<sup>3</sup> раствора HCL, а её избыток вновь оттитровывают раствором NaOH [8]. Выполняют 2 повторности.

Степень этерификации СЭ, %, пектина вычисляется по формуле 5 [8]:

$$СЭ = \frac{V_2}{V_1 + V_2} \cdot 100\%, (5)$$

где  $V_1$  – объём раствора гидроксида натрия 0,1 моль/дм<sup>3</sup>, используемого на первое титрование, см<sup>3</sup>;

$V_2$  – объём раствора гидроксида натрия 0,1 моль/дм<sup>3</sup>, используемого на второе титрование, см<sup>3</sup>.

### 2.2.6 Определение содержания свободных карбоксильных групп

Содержание свободных карбоксильных групп  $K_c$ , %, определяется по формуле 6 [8]:

$$K_c = \frac{V \cdot 0,45}{p}, (6)$$

где  $V$  – объём 0,1 Н раствора гидроксида натрия, используемого на первое титрование (формула 5), мл;

$p$  – навеска пектина, г.

### 2.2.7 Определение вязкости и молекулярной массы

Для измерения вязкости использовали вискозиметр Оствальда с диаметром капилляра 0,56 мм. Раствор пектина готовили следующим образом: 1 г вещества растворяли в 100 мл дистиллированной H<sub>2</sub>O при перемешивании в течение 24 ч. Подготовленный к работе вискозиметр, содержащий определённый объём (16 мл) исследуемого раствора помещали в термостат

при  $t = 20\text{ }^{\circ}\text{C}$  на 30 мин. Затем заполняли капилляр и верхний шарик вискозиметра до соответствующей метки. Определяли время истечения раствора и растворителя, содержащегося в верхнем шарике и заключенного между двумя метками. Подобные измерения проводили 3 раза.

а) высокая вязкость является характерной особенностью растворов пектинов хорошего качества [3,60].

Кинематическая вязкость жидкости [60] определяется по формуле 7:

$$\eta_{\text{кин}} = \frac{g}{9,807} \cdot T \cdot K, (7)$$

где  $g$  – ускорение свободного падения в месте измерения,  $\text{м/с}^2$ ;

9,807 – ускорение свободного падения,  $\text{м/с}^2$ ;

$T$  – время истечения жидкости, с;

$K$  – постоянная вискозиметра,  $\text{мм}^2/\text{с}^2$ .

б) показатель отношения времени истечения исследуемого раствора и растворителя характеризует относительную вязкость  $\eta_{\text{отн}}$  раствора пектина при данной концентрации [60], формула 8 выглядит следующим образом:

$$\eta_{\text{отн}} = \frac{t_1}{t_0}, (8)$$

где  $t_1$  – время истечения объема исследуемого раствора, с;

$t_0$  – время истечения объема растворителя, с.

Удельную вязкость  $\eta_{\text{уд}}$  вычисляют из относительной вязкости [60] по формуле 9:

$$\eta_{\text{уд}} = (\eta_{\text{отн}} - 1), (9)$$

Для растворов высокомолекулярных соединений из всех существующих уравнений зависимости средневесового молекулярного веса от внутренней характеристической вязкости подходит уравнение Куна-Марка [60], формула 10:

$$[\eta] = kM^{\alpha}, (10)$$



где  $[\eta]$  – внутренняя или характеристическая вязкость;

$k, \alpha$  – константы, зависящие от структуры полимера и его взаимодействия с растворителем.

Для пектинов по Гликману и Орлову уравнение Куна-Марка, формула 11 [60]:

$$[\eta] = 1,1 \cdot 10^{-5} \cdot M^{1,22}, (11)$$

При концентрации, стремящейся к 1, используют приведённую вязкость  $[\eta]_{\text{привед}} (c = 1)$ , формула 12 [60]:

$$[\eta]_{\text{привед}} (c = 1) = [\eta]_{\text{уд}} / C, (12)$$

### 2.2.8 Азотометрия

Определение элементного состава свекловичного пектина проводили на приборе Euro EA – Elemental Analyzer.

Содержание общего белка  $X$ , %, в пектине определяют по формуле 13 [8]:

$$X = N \cdot 6,25\%, (13)$$

где  $N$  – количество азота в образце пектина;

6,25 – коэффициент, исходя из того, что среднее содержание азота в протеине (по 20 аминокислотам) 16%.

### 2.2.9 Определение комплексообразующей способности пектина

Около 0,1 г (точная навеска) пектина растворили в 40 мл дистиллированной воды. Раствор количественно перенесли в мерную колбу объемом 50 мл, добавили 10 мл 0,035 Н раствора гидроксоацетата Рb (II), объем в колбе довели до метки, перемешивали и оставляли на 1 ч при комнатной температуре для установления равновесия между раствором и осадком. Затем часть содержимого мерной колбы отфильтровывали через бумажный фильтр, исключая первые порции фильтрата. Аликвотную часть

фильтрата (20 мл) помещали в колбу для титрования, приливали 20 мл 0,05 Н раствора комплексона III, 1,5 мл аммиачно-буферного раствора и немного индикатора – эриохрома чёрного Т. Далее титровали 0,05 Н раствором ZnSO<sub>4</sub> до перехода окраски индикатора от синей к фиолетовой. Контрольный опыт проводили аналогично, но без добавления пектина [8].

Массу свинца  $m_{Pb^{2+}}$ , мг, в рабочем  $m_{рPb^{2+}}$ , мг, и контрольном опытах  $m_{кPb^{2+}}$ , мг, определяли по формуле 14 [8]:

$$m_{Pb^{2+}} = (N_2V_2 - N_1V_1) \cdot 1295, (14)$$

где  $N_1$ ,  $V_1$  – нормальность и объём, мл, стандартного раствора ZnSO<sub>4</sub>, израсходованного на титрование избытка комплексона III;

$N_2$ ,  $V_2$  – нормальность и объём, мл, стандартного раствора комплексона III, добавленного к аликвотной части свинецсодержащего раствора;

1295 – коэффициент, учитывающий молярную массу эквивалента Pb (II) и разведение.

Комплексообразующая способность КС, мг Pb<sup>2+</sup>/г, пектина определяется по формуле 15 [8]:

$$КС = \frac{(m_{кPb^{2+}} - m_{рPb^{2+}})}{a}, (15)$$

где  $m_{кPb^{2+}}$  – масса свинца в контрольном опыте, мг;

$m_{рPb^{2+}}$  – масса свинца в рабочем опыте, мг;

$a$  – навеска пектина, взятая для анализа, г.

## 2.3 Планирование экспериментов

### 2.3.1 Планирование экспериментов для получения свекловичного пектина и комплексов цитрусового пектина с ионами железа

Схема экспериментов для получения свекловичного пектина и комплексов цитрусового пектина с ионами железа представлена на рисунке 6.

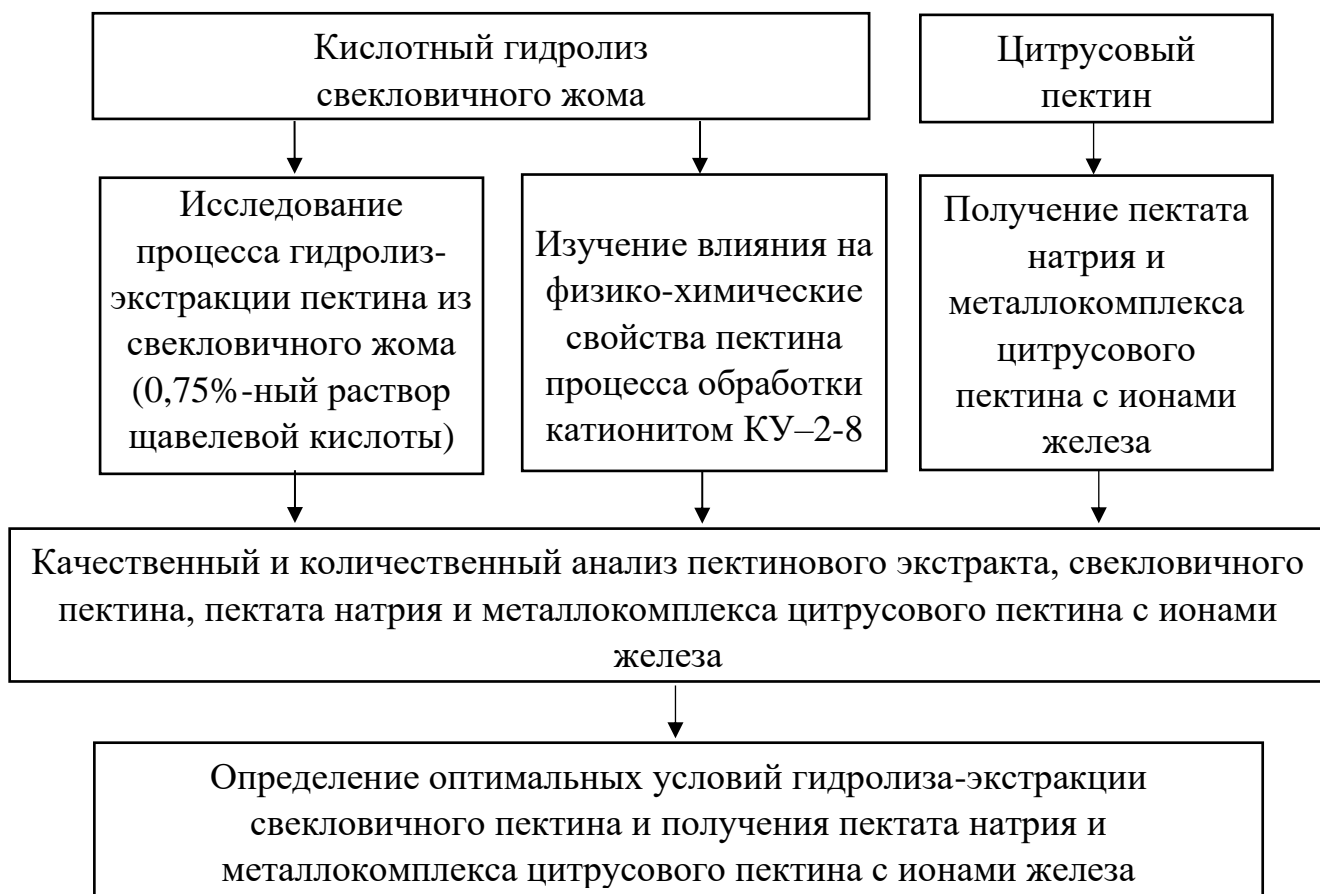


Рисунок 6 – Планирование экспериментов

### 2.3.2 Методика получения пектина из свекловичного жома и пектинового металлокомплекса с ионами железа

Выделение пектинов из свекловичного жома проводилось согласно принципиальной схеме (рис. 7).



Рисунок 7 – Принципиальная схема получения пектина

Схема получения пектинового комплекса с ионами железа (ПГNaFe) представлена на рисунке 8.

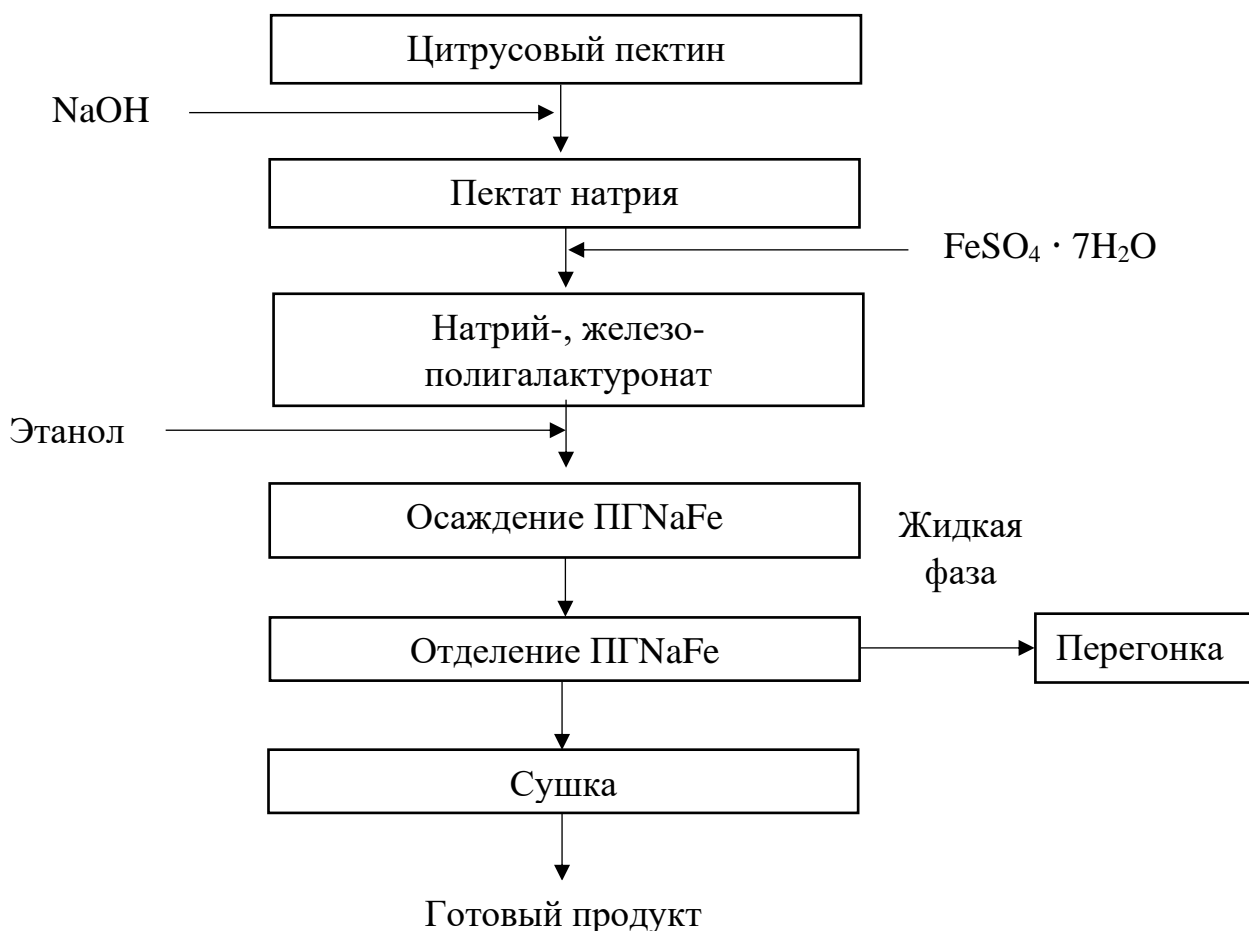


Рисунок 8 – Принципиальная схема получения ПГNaFe

### 2.3.3 Получение пектина из свекловичного жома

#### *Предварительная подготовка сырья*

В колбу засыпали 60 г свекловичного жома (гранулы) и залили 800 мл дистиллированной водой (1:13). Процесс промывания провели в течение 1 ч на магнитной мешалке Heidolph (Германия) при  $t = 100\text{ }^{\circ}\text{C}$  и постоянном перемешивании (375 об/мин). После отделения от промывных вод масса влажного жома составила 292,12 г.

#### *Гидролиз-экстракция пектина*

Эксперимент 1. В колбу внесли 149,869 г промытого свекловичного жома и залили 0,75%-ным раствором щавелевой кислоты ( $\rho = 1,001\text{ г/см}^3$ ),  $V = 800\text{ мл}$  (1:5). Гидро модуль по отношению к влажному сырью – ~1:5. Разделили влажный жом на 2 части для проведения двух опытов (при 65 и 75  $^{\circ}\text{C}$ ).

Процесс гидролиза-экстракции проводили в течение 7 ч на магнитной мешалке при  $t = 75\text{ }^{\circ}\text{C}$  и постоянном перемешивании (750 об/мин). Для достижения нужной температуры колбу сначала поместили в сушильный шкаф SNOOL (Россия) при  $t = 75\text{ }^{\circ}\text{C}$  на 1-1,5 ч, далее поставили на магнитную мешалку.

Отделение экстракта от полученного гидролизата проводили через лавсановую ткань. Процесс концентрирования был проведён на ротационном испарителе ИП-1ЛТ (Россия) при  $t = 39\text{ }^{\circ}\text{C}$  под вакуумом (около 1 ч). Процесс центрифугирования проводили в течение 30 мин при 4000 об/мин на центрифуге SIGMA 4-15 (Германия). Осаждение пектина проводили 88%-ным раствором этанола ( $\rho = 0,834\text{ г/см}^3$ ) при соотношении концентрата пектина (190 мл) к объёму этилового спирта (368 мл), равном 1:2. Далее осаждённый пектин поместили в холодильник на сутки. Центрифугированием в течение 30 мин при 4000 об/мин провели процесс отделения скоагулированного пектина. Процесс сушки пектина был проведён в сушильном шкафу при  $t = 60\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Процесс измельчения свекловичного пектина провели на шаровой мельнице в течение 3 минут.

#### *Обработка катионитом*

В стакан взяли навеску 1 г порошка пектина и добавили 100 мл дистиллированной воды, далее на магнитной мешалке перемешивали (250 об/мин) при  $t = 50\text{ }^{\circ}\text{C}$  до полного растворения, затем добавили 0,5 г катионита.

### **2.3.4 Получение металлокомплекса цитрусового пектина с ионами железа**

#### *Метод получения пектата натрия*

Пектин растворяли в 1,5 л воды ( $55\text{ }^{\circ}\text{C}$ ), далее к раствору пектина добавляли 0,1 Н раствор NaOH до pH 9 и выдерживали 2 ч при  $55\text{ }^{\circ}\text{C}$  и постоянном перемешивании. Полученный пектат натрия (ПГNa) осаждали этанолом (рис. 10), отделяли центрифугированием, промывали и сушили.

Полученный продукт представляет собой аморфный порошок бежевого цвета. ИК спектр ПГNa, см<sup>-1</sup>: 1015-1147, 1243, 1334, 1417, 1613 (COO<sup>-</sup>).



Рисунок 10 – Пектат натрия, осаждённый этанолом

#### *Метод получения пектинового комплекса с ионами железа (II)*

В колбу налили 450 мл пектата натрия, затем добавляли раствор соли двухвалентного металла железа (0,872 г FeSO<sub>4</sub> в 400 мл дистиллированной воде) и проводили синтез при перемешивании при 60 °С. Через 20-30 мин целевой продукт осаждали 1350 мл этанола, центрифугировали и сушили.

Полученное соединение представляет собой аморфный порошок, окрашенный в коричневый цвет, растворимый в воде при 50-60 °С. Полученный комплекс (ПГNaFe) оптически активен.

ИК спектр ПГNaFe, см<sup>-1</sup>: 1015-1149, 1242, 1333, 1419, 1611 (COO<sup>-</sup>).

### **2.4 Результаты обработки экспериментальных данных**

*Влажность свекловичного пектина* определяли по формуле 1.

Примеры расчёта:

а) сырья: взяли две навески 5,301 г и 6,137 г и поместили в сушильный шкаф при температуре  $103 \pm 2$  °С. Первое взвешивание проводим через 1 ч, последующие через 20 мин;

б) пектина: навеску пектина взвешивают в бюксе массой 15,3945 г с закрытой крышкой, затем открытую бюксу с навеской помещают в нагретый

сушильный шкаф и сушат при температуре 103 °С в течение 1,5 ч. После сушки бюксу закрывают крышкой, помещают в эксикатор на 30 мин для охлаждения и взвешивают повторно. Данные представлены в таблице 4.

Таблица 4 – Масса навески пектина в бюксе до и после высушивания

$m_1 = 15,3945 \text{ г}$	$m_2 = 15,6929 \text{ г}$	$m_3 = 15,6528 \text{ г}$
$\Delta m_1 = m_2 - m_1 = 0,2984 \text{ г}$		$\Delta m_2 = m_3 - m_1 = 0,2583 \text{ г}$

Массовую долю влажности рассчитываем по формуле 1:

$$W = \frac{0,2984 - 0,2583}{0,2984} * 100\% = 10,44\%.$$

*Зольность пектина* определяют сжиганием высушенного образца в муфельной печи ( $t = 800 \text{ }^\circ\text{C}$ ): взяли навеску пектина 0,30 г (вес продукта до сжигания) и сожгли до 0,01 г (вес продукта после сжигания). Зольность пектина рассчитываем по формуле 3 и получаем значение, равное 4,12%, что в пересчёте на сухое вещество составляет 4,60%.

*Определение уронидной составляющей свекловичного пектина* проводилось кальций-пектатным методом (рис. 9) по формуле 4, данные представлены в таблице 5.



Рисунок 9 – Пектат кальция



Таблица 5 – Результаты кальций-пектатного метода

Наименование	Масса до сушки, г	Масса после сушки (постоянный), г
Фильтр	0,97	0,92
Фильтр с пектатом кальция	7,38	0,13

Концентрацию пектина, обработанного катионитом, в экстракте рассчитываем по формуле 4:

$$C = \frac{(1,004 - 0,919) \cdot 0,92 \cdot 10}{10 \cdot 10} * 100\% = 0,782\%.$$

Для определения полигалактуроновой кислоты в 1%-ном растворе составим пропорцию:

$$1 \text{ г} - 100 \text{ мл},$$

$$0,1 \text{ г} - 10 \text{ мл}.$$

Следовательно, в 1%-ном растворе пектина содержание полигалактуроновой кислоты составляет 78,2%.

*Определение элементного состава свекловичного пектина проводили на приборе Euro EA-Elemental Analyzer.*

Содержание общего белка в пектине определили по формуле 12 и получили, что  $X_1 = 0,69 \cdot 6,25 = 4,31\%$  и  $X_2 = 0,71 \cdot 6,25 = 4,44\%$ . Таким образом,  $X_{cp} = 4,38\%$ .

*Определение кинематической вязкости и молекулярной массы пектина*

Экспериментальные данные по определению времени истечения исследуемого раствора и растворителя представлены в таблице 6.

Таблица 6 – Результаты, полученные методом вискозиметрии

Образец	Время истечения, с				Кинематическая вязкость, мм <sup>2</sup> /с
	1 измерение	2 измерение	3 измерение	Среднее значение	
Дистиллированная вода	101,54	101,54	101,25	101,44	0,12
1%-ный раствор пектина	295,51	293,87	295,03	294,80	2,19

Кинематическую вязкость жидкости определяли по формуле 7.

*Определение молекулярного веса вискозиметрическим методом*

Относительную вязкость раствора свекловичного пектина вычисляли по формуле 8:

$$\eta_{\text{отн}} = \frac{04.54.80}{01.41.44} = 2,91.$$

Удельную вязкость  $\eta_{\text{уд}}$  вычисляли из относительной вязкости по формуле 9:

$$\eta_{\text{уд}} = (2,91 - 1) = 1,91.$$

С учётом приведённой вязкости раствора пектина при концентрации равной 1%, рассчитываем молекулярную массу пектинов по преобразованной формуле 11:

$$M = \frac{1,22 \sqrt{[\eta]_{\text{привед}}}}{1,1 \cdot 10^{-5}} = 19714, 58 \text{ у.е. (Да)}.$$

Молекулярная масса свекловичного пектина (75 °С) составила  $\approx 19,72$  кДа, т.е. выделенный из свекловичного жома пектин является высокомолекулярным.

Далее аналогично рассчитали молекулярную массу цитрусового пектина, пектата натрия (ПГNa) и натрий-, железо-полигалактуроната

(ПГNaFe).

Относительную вязкость растворов вышеперечисленных образцов рассчитали по формуле 8:

$$\eta_{\text{отн}} = \frac{374,38}{101,44} = 3,69 \text{ – для цитрусового пектина переосаждённого;}$$

$$\eta_{\text{отн}} = \frac{145,34}{101,44} = 1,43 \text{ – для пектата натрия;}$$

$$\eta_{\text{отн}} = \frac{143,04}{101,44} = 1,41 \text{ – для ПГNaFe.}$$

Удельную вязкость  $\eta_{\text{уд}}$  вычисляли исходя из относительной вязкости растворов, формула 9:

$$\eta_{\text{уд}} = 2,69 \text{ – для цитрусового пектина переосаждённого;}$$

$$\eta_{\text{уд}} = 0,43 \text{ – для пектата натрия;}$$

$$\eta_{\text{уд}} = 0,41 \text{ – для ПГNaFe.}$$

Приведённую вязкость растворов  $[\eta]_{\text{привед}} (c = 0,5)$  рассчитали при их концентрации (С), равной 0,5%, формула 12:

$$[\eta]_{\text{привед}} (c = 0,5) = \frac{2,69}{0,5} = 5,38 \text{ – для цитрусового пектина переосаждённого;}$$

$$[\eta]_{\text{привед}} (c = 0,5) = \frac{0,43}{0,5} = 0,86 \text{ – для пектата натрия;}$$

$$[\eta]_{\text{привед}} (c = 0,5) = \frac{0,41}{0,5} = 0,82 \text{ – для ПГNaFe.}$$

Для расчёта средневесового молекулярного веса образцов в зависимости от внутренней характеристической вязкости использовали уравнение по Гликману и Орлову, формула 11:

$$M = \sqrt[1,22]{\frac{5,38}{1,1 \cdot 10^{-5}}} = 46,07 \text{ кДа – для цитрусового пектина переосаждённого;}$$

$$M = \sqrt[1,22]{\frac{0,86}{1,1 \cdot 10^{-5}}} = 10,25 \text{ кДа – для пектата натрия;}$$

$$M = \sqrt[1,22]{\frac{0,82}{1,1 \cdot 10^{-5}}} = 9,86 \text{ кДа} - \text{для ПГNaFe.}$$

*Определение комплексообразующей способности пектина*

Массу  $\text{Pb}^{2+}$  в рабочем и контрольном опытах определяли по формуле 14:

$$m\text{Pb}^{2+}_p = (0,05 \cdot 20 - 0,05 \cdot 9,90) \cdot 1295 = 653,98 \text{ мг};$$

$$m\text{Pb}^{2+}_k = (0,05 \cdot 20 - 0,05 \cdot 9,10) \cdot 1295 = 705,78 \text{ мг}.$$

Комплексообразующую способность определили по формуле 15:

$$\text{КС} = \frac{(705,78 - 653,98)}{0,5025} = 103,09 \text{ мг/г}.$$

*Расчёт выхода пектина на воздушно-сухую массу пектина*

Общий выход свекловичного пектина на воздушно-сухую массу сырья находим из пропорции:

$$60,0 \text{ г} - 100\%$$

$$5,61 \text{ г} - x_1\%,$$

где  $x_1$  – выход пектина, %.

Общий выход пектина на воздушно-сухую массу свекловичного жома составил 9,35%.

Выход свекловичного пектина в процессе гидролиза-экстракции при температуре 75 °С находим из пропорции:

$$31,2 \text{ г} - 100\%$$

$$3,83 \text{ г} - x_2\%.$$

Исходя из того, что масса сырья, взятого на проведение процесса гидролиза-экстракции при температуре 75 °С составила 52,0% от общей массы, выход пектина на воздушно-сухую массу сырья в данных условиях составил 12,30%.

### 3 Результаты исследования и их обсуждение

Согласно поставленной цели, задачами дипломной работы являются получение пектина из свекловичного жома, исследование закономерностей комплексообразования цитрусового пектина с ионами железа и получение пектинового металлокомплекса  $ПГNaFe$ , а также изучение физико-химических свойств и структурных характеристик полученных соединений.

#### 3.1 Получение пектина из свекловичного жома

Процесс промывания свекловичного жома водой обусловлен необходимостью избавления сырья от зольных элементов, аминокислот, сахаров, водорастворимых белков. Характеристика промывных вод свекловичного жома и коэффициент набухаемости сырья представлена в таблице 7. Плотность промывных вод измерялась с помощью ареометра (Россия), рН – с помощью иономера И-160 МИ (Россия).

Таблица 7 – Характеристика промывных вод свекловичного жома и коэффициент набухаемости сырья

Масса сырья, г	Коэффициент набухаемости сырья, $K_H$	Промывные воды		
		V, мл	рН	$\rho$ , г/см <sup>3</sup>
Сухой жом: 60,0	$292,117/60,0 = 4,87$			
Влажный жом: 292,12		440	5,435 (26,7 °С)	1,000

#### *Гидролиз-экстракция пектина*

Процесс гидролиза-экстракции пектина из промытого свекловичного жома проводился в течение 7 ч при постоянном перемешивании на магнитной

мешалке (750 об/мин) и  $t = 75\text{ }^{\circ}\text{C}$ , в качестве гидролизующего агента был использован 0,75%-ный раствор щавелевой кислоты (рис. 11).



Рисунок 11 – Процесс гидролиза-экстракции пектина

### *Фильтрование*

Фильтрование – процесс разделения суспензий с использованием пористых перегородок, которые задерживают твёрдую среду суспензии и пропускают её жидкую фазу. Отделение экстракта от обеспектиненного свекловичного жома проводилось через лавсановую ткань. Характеристики экстракта представлены в таблице 8.

Таблица 8 – Характеристики свекловичного экстракта

Пектиновый экстракт из свекловичного жома		
V, мл	pH	$\rho$ , г/см <sup>3</sup>
730	2,208 (31,8 °C)	1,001

Второй продукт, образующийся на стадии фильтрования – влажный свекловичный жом, масса которого составляет 159,96 г, а масса высушенного жома – 20,55 г.

### *Концентрирование экстракта*

Процесс концентрирования пектинового экстракта обеспечивает удаление лишней влаги (рис. 12), в последующем это позволяет нам снизить

расход этанола при осаждении пектина. Процесс был выполнен на ротационном испарителе при  $t = 39-40\text{ }^{\circ}\text{C}$  под вакуумом (около 1 ч).

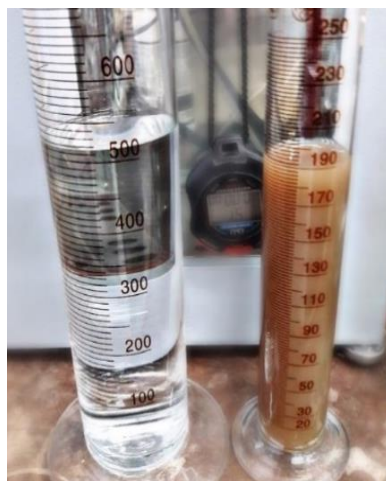


Рисунок 12 – Результаты после концентрирования

В сравнительном аспекте характеристики свекловичного экстракта и концентрата представлены в таблице 9.

Таблица 9 – Сравнительные характеристики экстракта и концентрата

Экстракт свекловичного пектина			Концентрат		
pH (31,8 °C)	$\rho$ , г/см <sup>3</sup>	Содержание сухих веществ, %	V <sub>к</sub> , мл	$\rho$ , г/см <sup>3</sup>	Содержание сухих веществ, %
2,208	1,001	менее 3	190	1,019	4,82

Содержание сухих веществ в экстракте свекловичного жома до концентрирования составляет менее 3%, после концентрирования – 4,82% согласно ГОСТ 8756.2-70 [60].

### *Центрифугирование*

Центрифуга – устройство, применяющееся для разделения газообразных, жидких или сыпучих тел разной плотности под действием центробежных сил. Процесс центрифугирования проводили в течение 30 мин при 4000 об/мин. Благодаря стадии центрифугирования получаем более чистый пектин, нежелательные вещества осаждаются на дно центрифужного

стакана (0,44%). Характеристики пектинового концентрата после центрифугирования представлены в таблице 10.

Таблица 10 – Характеристики концентрата после центрифугирования

Пектиновый концентрат после центрифугирования		
$V_k$ , мл	$\rho$ , г/см <sup>3</sup>	Содержание сухих веществ, %
180	1,017	4,38

### *Осаждение пектина*

Осаждение пектина из концентрата проводим двойным объёмом этилового спирта. При добавлении этанола пектин коагулирует, поскольку он не растворим в органических растворителях, в том числе в спирте. Результаты стадии осаждения пектина представлены на рисунке 13.

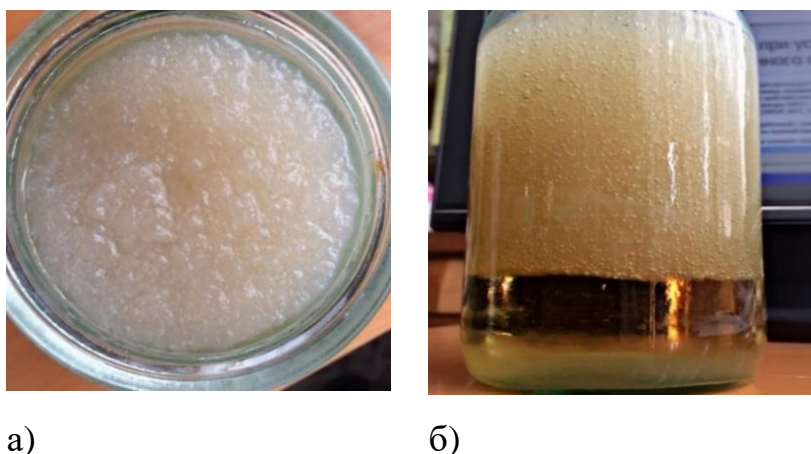


Рисунок 13 – Осаждённый пектин после выдерживания в холодильнике в течение суток: а) вид сверху, б) вид сбоку

### *Центрифугирование*

Скоагулированный свежковичный пектин отделяем из водного этанола центрифугированием (рис. 14а). Масса влажного пектина (рис. 14б) составила 91,38 г. Характеристики фугата (водного этанола) после отделения пектина (рис. 14в) представлены в таблице 11.



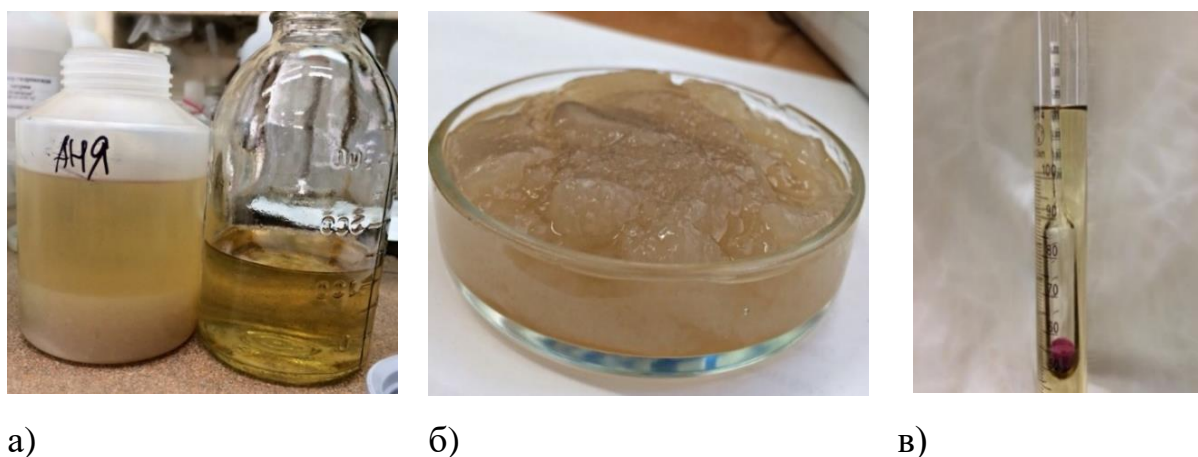


Рисунок 14 – Результаты центрифугирования пектина (а), влажный свекловичный пектин (б) и фугат после отделения пектина (в)

Таблица 11 – Характеристики водного этанола после отделения пектина

Водный этанол после отделения пектина		
V, мл	$\rho$ , г/см <sup>3</sup>	C <sub>объёмная</sub> , % (t = 20 °С)
440	0,905	61,9

### *Сушка и измельчение*

Процесс сушки свекловичного пектина проводили в сушильном шкафу при t = 60 °С, процесс измельчения пектина на шаровой мельнице. Масса сухого свекловичного пектина составила 3,83 г. Свекловичный пектин представляет собой аморфный порошок серо-бежевого цвета (рис. 15).

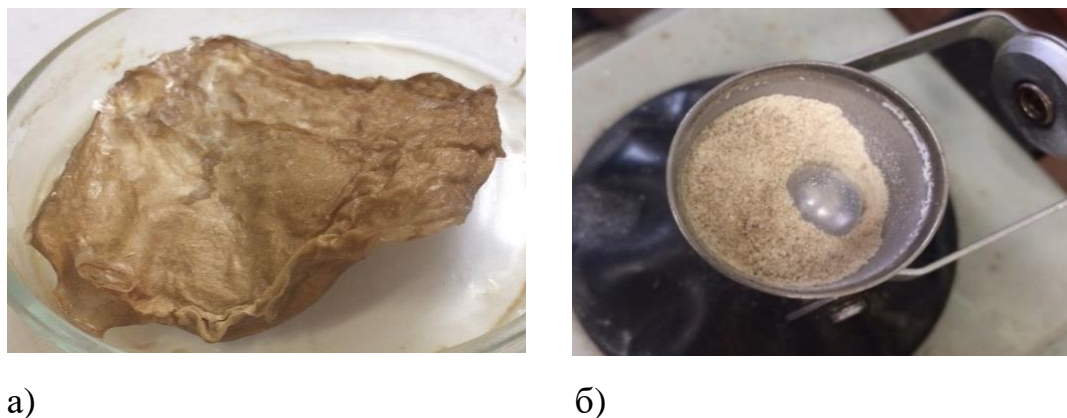


Рисунок 15 – Сухой свекловичный пектин (а) и измельчённый пектин (б)

### Обработка растворов пектина катионитом КУ–2-8

Дополнительно был приготовлен 1%-ный раствор пектина и обработан катионитом КУ–2-8, после чего пектины повторно осаждали этиловым спиртом. Катионит КУ–2-8 – многофункциональная сильнокислотная смола, основной их характеристикой является присутствие в составе кислотных групп, водород которых может обмениваться на ионы металлов, имеющих в растворе [59]. Скоагулированный пектин центрифугированием отделили и высушили, аналогично предыдущим экспериментам (рис. 16).

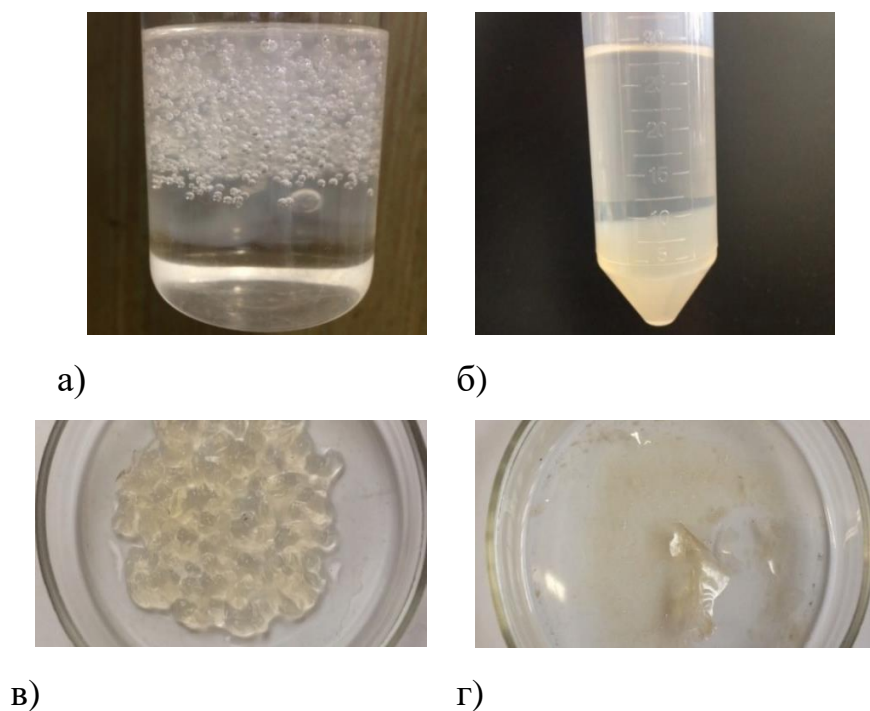


Рисунок 16 – Результаты дополнительной очистки свекловичного пектина: пересажженный пектин (а), после центрифугирования (б), пектин влажный (в), пектин высушенный (г)

#### 3.1.1 Расчётные данные выхода пектина на воздушно-сухую массу сырья

Исходное сырьё (воздушно-сухой вес)	–	60,0 г;
Масса влажного жома (общая, 1% потери)	–	292,12 г;
Масса влажного жома (75 °С)	–	149,869 г (~52,0% от общей массы);

Количество пектина, полученного при $t = 65\text{ }^{\circ}\text{C}$	–	1,78 г;
Количество пектина, полученного при $t = 75\text{ }^{\circ}\text{C}$	–	3,83 г;
Общее количество пектина	–	5,61 г.

На основании проведённых расчётов было установлено, что общий выход пектина на воздушно-сухую массу свекловичного жома составил 9,35%, а выход пектина, полученного обработкой при  $t = 75\text{ }^{\circ}\text{C}$  – 12,30%.

### 3.2 Получение пектинового металлокомплекса с ионами железа

В рамках дипломной работы нами была решена ещё одна задача – синтезирован водорастворимый металлокомплекс цитрусового пектина с микроэлементом – железом (рис. 17).

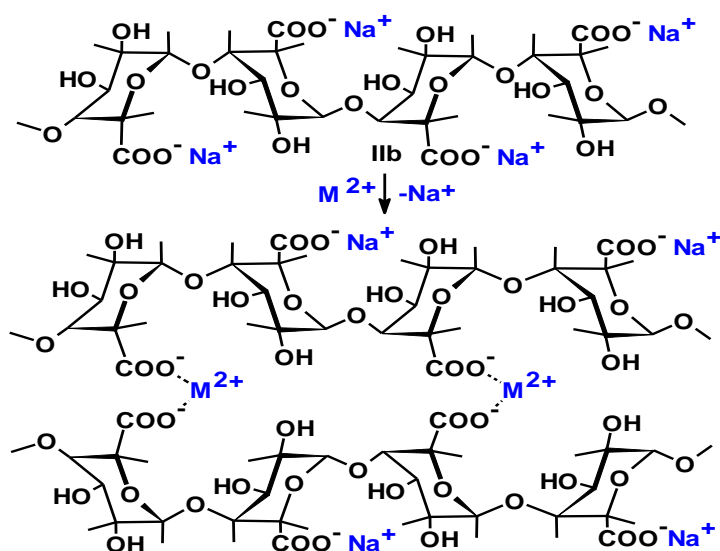


Рисунок 17 – Схема получения водорастворимого металлокомплекса пектина с железом:  $M^{2+} = \text{Fe}^{2+}$

Комплексообразующие свойства пектинов зависят от степени этерификации пектинового полисахарида: при снижении степени этерификации карбоксианионы сближаются, происходит увеличение заряда макромолекулы и, соответственно, возрастание силы связывания пектинов с катионами. Поэтому нами в качестве исходного лиганда для получения комплексов была использована натриевая соль деэтерифицированного пектина – пектат натрия со степенью солеобразования 100% (рис. 18).



Рисунок 18 – Процесс получения пектата натрия

Данная соль получена обработкой цитрусового пектина щелочью при контролируемых значениях pH, а именно при титриметрическом переходе из слабокислой (pH 3,8) в слабощелочную область (pH 8,5-9,0). Такой подход позволил нам получить натриевую соль пектовой кислоты с точно известным содержанием иона натрия в полимере и провести аналитические количественные расчеты для получения металлокомплексов пектовой кислоты с фиксированной степенью превращения полимерной молекулы при замене ионов натрия на катионы железа. Натрий-, железо- полигалактуронат (ПГNaFe) получали по реакции лигандного обмена ионов  $\text{Na}^+$  на катионы железа, степень замещения ионов натрия на ионы железа 20% (рис. 19). Целевой комплекс осаждали этанолом, отделяли центрифугированием и сушили при 40-50 °С.



Рисунок 19 – Полученный раствор металлокомплекса цитрусового пектина с железом (ПГNaFe)

### **3.3 Исследование полученных продуктов методом ИК спектроскопии**

#### **3.3.1 Исследование полученных свекловичных пектинов методом ИК спектроскопии**

Методом ИК спектроскопии была проведена качественная идентификация полученных продуктов.

ИК спектры сняты в области  $4000-400\text{ см}^{-1}$  на спектрометре Tensor – 27 (Bruker) с оптическим разрешением  $4\text{ см}^{-1}$  и накоплением 32 (64) скана. Образцы для регистрации ИК спектров готовили в вакуумной пресс-форме с оптически чистым сухим бромистым калием (KBr) (рис. 20).



Рисунок 20 – Таблетка пектина (1) с KBr

В ходе настоящей работы в рамках решения первой задачи сняты следующие ИК спектры:

- 1) ИК спектр свекловичного пектина, полученного обработкой 0,75%-ным раствором щавелевой кислоты при  $t = 75\text{ }^{\circ}\text{C}$  (рис. 21);
- 2) ИК спектр свекловичного пектина, обработанного КУ–2-8 (рис. 22);
- 3) ИК спектр пектата кальция (Са-пектатный метод) (рис. 23).

ИК спектр свекловичного пектина, полученного обработкой 0,75%-ным раствором щавелевой кислоты при  $t = 75\text{ }^{\circ}\text{C}$ , показывает наличие функциональных групп, характерных для пектина (рис. 21).

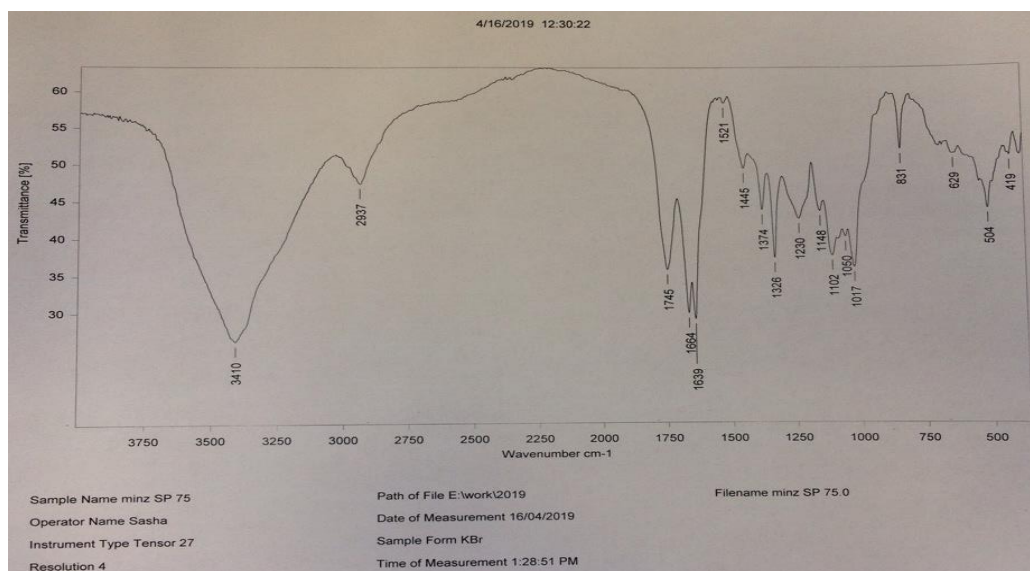


Рисунок 21 – ИК спектр свекловичного пектина ( $75\text{ }^{\circ}\text{C}$ )

В таблице 12 в сравнительном аспекте представлены основные характеристические частоты ИК спектров свекловичных пектинов, полученных с использованием 0,75%-ого раствора щавелевой кислоты при различных температурах –  $65$  и  $75\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

Таблица 12 – Положение максимумов основных характеристических полос (в см<sup>-1</sup>) ИК спектров свекловичных пектинов

Преимущественные типы колебаний	Образец I – 65 °С	Образец II – 75 °С
1	2	3
$\nu$ (OH) <sub>C</sub> , $\nu$ (H <sub>2</sub> O)	3419	3410
$\nu$ (CH) <sub>E</sub> , $\nu$ (CH) <sub>K</sub>	2944	2937
$\nu$ (C=O) <sub>E</sub> , $\nu$ (C=O) <sub>A</sub>	1746	1745
$\delta$ (H <sub>2</sub> O)	1665, 1639	1664, 1639
$\nu$ (COO <sup>-</sup> )	-	-
-N-H	1518	1521
$\nu$ , $\delta$ (C-OH) <sub>A</sub>	-	-
$\delta_{as}$ (CH <sub>3</sub> ) <sub>E</sub>	1445	1445
$\delta_s$ (CH <sub>3</sub> ) <sub>E</sub>	1373	1374
$\delta$ (CH) <sub>K</sub>	1326	1326
$\delta$ (OH) <sub>C</sub> , $\nu$ (C-O-C) <sub>E</sub> , $\delta$ (OH) <sub>A</sub> , $\delta$ (CH) <sub>K</sub>	1226	1230
$\nu$ (C-O-C)	1149	1148
$\nu$ (C-C) (C-O) <sub>K</sub>	1100	1102
$\nu$ , $\delta$ (C-OH) <sub>C</sub>	-	-
$\nu$ (C-C) (C-O) <sub>K</sub>	-	-
$\nu$ (C-C) (C-O) <sub>K</sub>	1018	1017
$\gamma$ (OH) <sub>C</sub>	-	-
Пульсационные колебания пиранозных колец	830, 782, 678, 633, 501	831, 629, 504

ИК спектр свекловичного пектина, обработанного катионитом КУ-2-8 (рис. 22) – сильнокислотной смолой (добавили 0,5 г к 1%-ому раствору пектина в качестве ионообменника, при этом водород кислотных групп катионита обменивается на ионы металлов, которые имеются в растворе).

Наличие полос поглощения в спектрах, исследуемых образцов пектина в области  $1700-1750\text{ см}^{-1}$ , относящихся к валентным колебаниям карбонил карбоксильных и сложноэфирных групп, и наличие характерных полос поглощения в области  $950-1200\text{ см}^{-1}$ , относящихся к колебаниям пиранозного кольца, подтверждает принадлежность к пектиновым веществам.

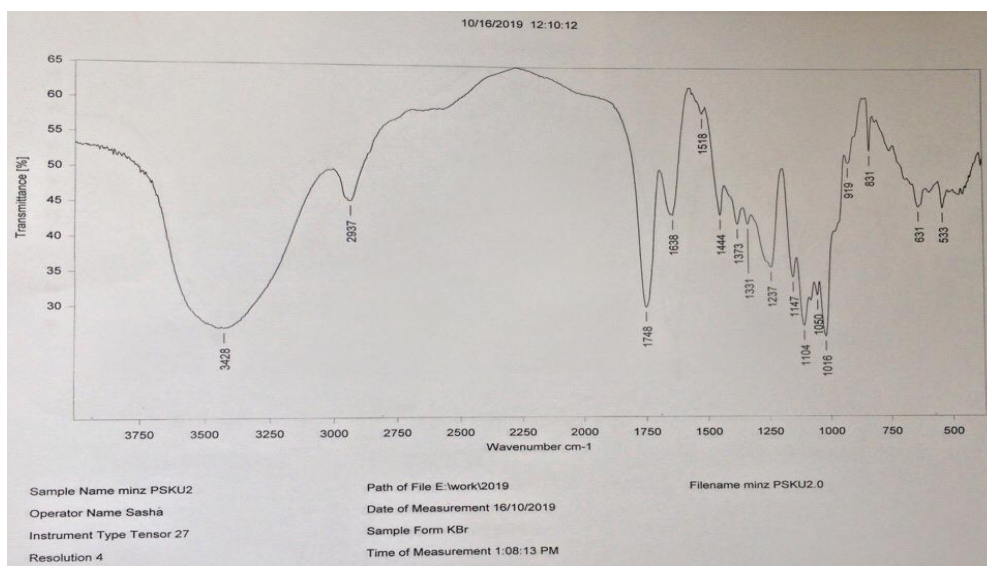


Рисунок 22 – ИК спектр свежловичного пектина, обработанного катионитом КУ–2-8

В ИК спектре пектата кальция (рис. 23), образовавшегося при определении концентрации пектина в экстракте Са-пектатным методом, исчезновение полос поглощения в области  $1700-1750\text{ см}^{-1}$ , относящихся к валентным колебаниям карбонил карбоксильных и сложноэфирных групп, наличие ионной формы карбоксильных групп в области  $1619\text{ см}^{-1}$  свидетельствует об образовании солевой формы пектина.



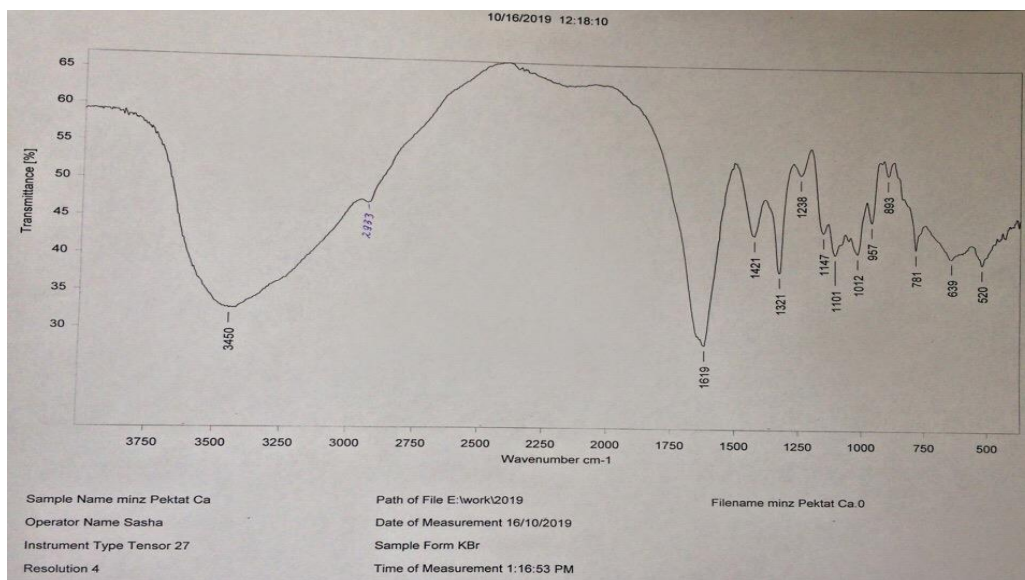


Рисунок 23 – ИК спектр пектата кальция

В таблице 13 в сравнительном аспекте представлены основные характеристические частоты ИК спектров свекловичного пектина, обработанного катионитом КУ–2-8, и пектата кальция.

Таблица 13 – Положение максимумов основных характеристических полос (в  $\text{см}^{-1}$ ) ИК спектров свекловичных пектинов

Преимущественные типы колебаний	Пектат кальция	Пектин (75 °С), обработанный КУ–2-8
1	2	3
$\nu(\text{OH})_C, \nu(\text{H}_2\text{O})$	3450	3428
$\nu(\text{CH})_E, \nu(\text{CH})_K$	2933	2937
$\nu(\text{C}=\text{O})_E, \nu(\text{C}=\text{O})_A$	-	1748
$\delta(\text{H}_2\text{O}), \nu(\text{COO}^-)$	1619	1638
-N-H	-	1518
$\nu, \delta(\text{C-OH})_A$	1421	-
$\delta_{\text{as}}(\text{CH}_3)_E$	-	1444
$\delta_{\text{s}}(\text{CH}_3)_E$	-	1373

Продолжение таблицы 13

1	2	3
$\delta$ (CH) <sub>к</sub>	1321	1331
$\delta$ (OH) <sub>с</sub> , $\nu$ (C-O-C) <sub>е</sub> , $\delta$ (OH) <sub>а</sub> , $\delta$ (CH) <sub>к</sub>	1238	1237
$\nu$ (C-O-C)	1147	1147
$\nu$ (C-C) (C-O) <sub>к</sub>	1101	1104
$\nu$ , $\delta$ (C-OH) <sub>с</sub>	-	-
$\nu$ (C-C) (C-O) <sub>к</sub>	-	-
$\nu$ (C-C) (C-O) <sub>к</sub>	1012	1016
$\gamma$ (OH) <sub>с</sub>	957	-
Пульсационные колебания пиранозных колец	893, 781, 639, 520	919, 831, 631, 533

Таким образом, методом ИК спектроскопии проведена идентификация свекловичных пектинов и пектата кальция на качественном уровне.

### 3.3.2 Исследование цитрусового пектина, пектата натрия и натрий-железо-полигалактуроната методом ИК спектроскопии

В ходе работы в рамках решения второй задачи были сняты следующие ИК спектры:

- 1) ИК спектр цитрусового пектина, осажденного этанолом (рис. 24а);
- 2) ИК спектр пектата натрия (рис. 24б);
- 3) ИК спектр натрий-железо-полигалактуроната (ПГNaFe) (рис. 24в).

ИК спектр цитрусового пектина показывает наличие функциональных групп (ОН, СН, СОО<sup>-</sup>, пиранозный цикл), характерных для пектина (рис. 24а).

В ИК спектре пектата натрия (рис. 24б), полученного обработкой цитрусового пектина раствором NaOH, исчезновение полос поглощения в области 1700-1750 см<sup>-1</sup>, относящихся к валентным колебаниям карбонил

карбокисльных и сложноэфирных групп, наличие ионной формы карбокисльных групп в области  $1613\text{ см}^{-1}$  свидетельствует об образовании солевой формы пектина. Наличие ионной формы карбокисльных групп в области  $1611\text{ см}^{-1}$  у ИК спектра натрий-, железо-полигалактуроната свидетельствует о комплексообразовании.

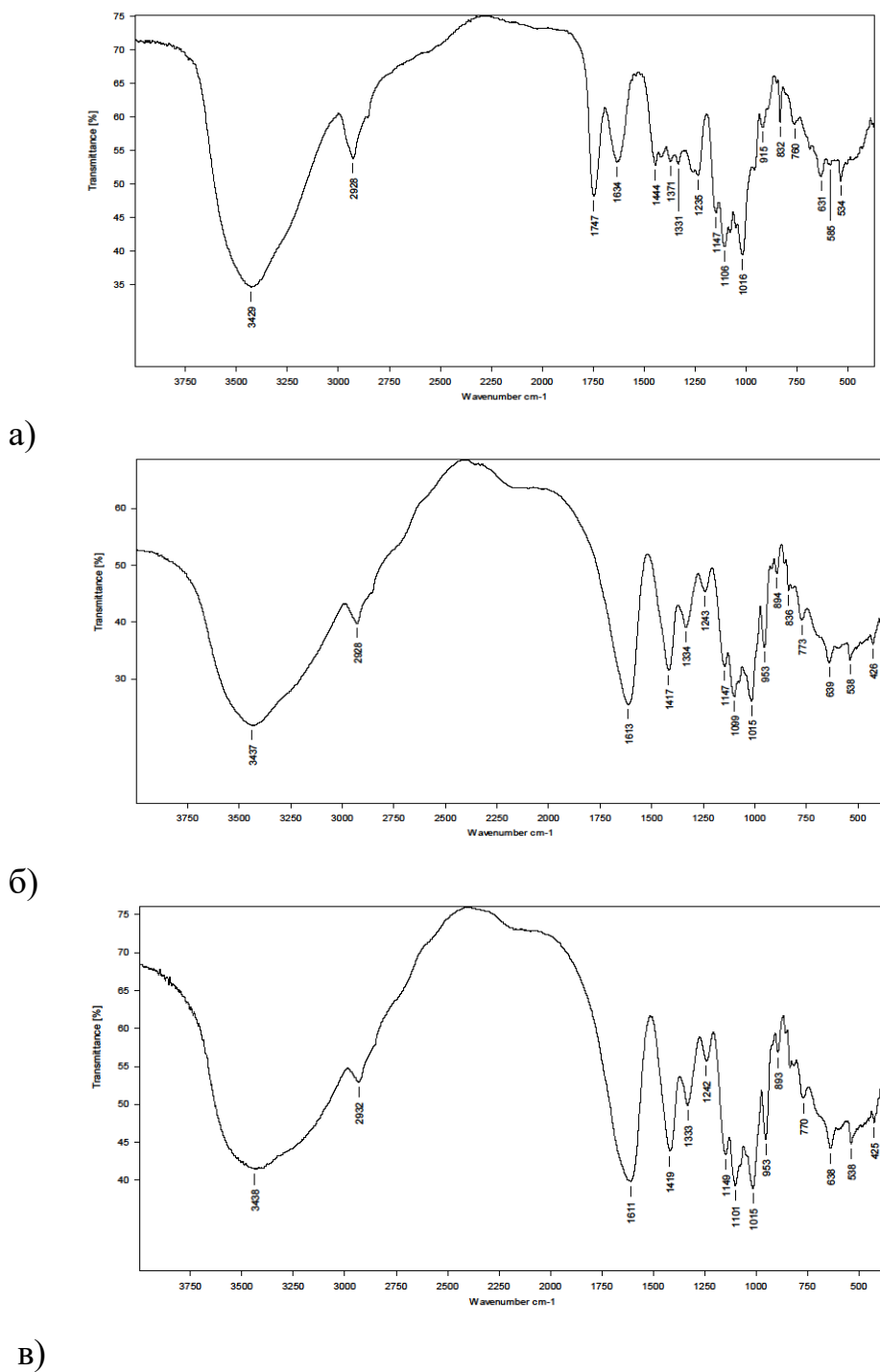


Рисунок 24 – ИК спектр цитрусового пектина переосажденного (а), пектата натрия (б), натрий-, железо-полигалактуроната (в)

Показано, что в ИК спектрах пектата натрия и натрий-, железо-полигалактуроната, полученного по реакции лигандного обмена ионов  $\text{Na}^+$  на катионы железа (степень замещения ионов натрия ионами железа 20%), присутствуют характерные полосы поглощения карбоксианиона в области 1600-1700  $\text{см}^{-1}$ , что свидетельствует о солеобразовании (комплексобразовании). В таблице 14 в сравнительном аспекте представлены основные характеристические частоты ИК спектров осажденного этанолом цитрусового пектина, пектата натрия и натрий-, железо-полигалактуроната.

Таблица 14 – Положение максимумов основных характеристических полос (в  $\text{см}^{-1}$ ) ИК спектров пектина, пектата натрия и ПГNaFe

Преимущественные типы колебаний	Пектин цитрусовый переосажденный	Пектат натрия	Натрий-, железо-полигалактуронат
1	2	3	4
$\nu(\text{OH})_{\text{C}}, \nu(\text{H}_2\text{O})$	3429	3437	3438
$\nu(\text{CH})_{\text{E}}, \nu(\text{CH})_{\text{K}}$	2928	2928	2932
$\nu(\text{C}=\text{O})_{\text{E}}, \nu(\text{C}=\text{O})_{\text{A}}$	1747	-	-
$\nu(\text{COO}^-)$	-	1613	1611
$\delta(\text{H}_2\text{O})$	1634	-	-
$\nu, \delta(\text{C-OH})_{\text{A}}$	-	1417	1419
$\delta_{\text{as}}(\text{CH}_3)_{\text{E}}$	1444	-	-
$\delta_{\text{s}}(\text{CH}_3)_{\text{E}}$	1371	-	-
$\delta(\text{CH})_{\text{K}}$	1331	1334	1333
$\delta(\text{OH})_{\text{C}}, \nu(\text{C-O-C})_{\text{E}},$	1235	1243	1242
$\delta(\text{OH})_{\text{A}}$	-	-	-
$\nu(\text{C-O-C})$	1147	1147	1149
$\nu(\text{C-C})(\text{C-O})_{\text{K}}$	1106	1099	1101

Продолжение таблицы 14

1	2	3	4
$\nu, \delta (\text{C-OH})_{\text{C}}$	-	-	-
$\nu (\text{C-C}) (\text{C-O})_{\text{K}}$	-	-	-
$\nu (\text{C-C}) (\text{C-O})_{\text{K}}$	1016	1015	1015
$\gamma (\text{OH})_{\text{C}}$	-	-	-
Пульсационные колебания пиранозных колец	915, 832, 760, 631, 585, 534	953, 894, 836, 773, 639, 538, 426	953, 893, 770, 638, 538, 425

### 3.4 Физико-химические свойства и состав полученных продуктов

#### *Аналитический этап*

На данном этапе первоначально были определены влажность, зольность, уронидная составляющая и элементный состав выделенного свекловичного пектина. Определение элементного состава свекловичного пектина проводили на приборе Euro EA – Elemental Analyzer. Экспериментальные данные по составу свекловичного пектина представлены в таблице 15.

Таблица 15 – Состав свекловичного пектина (75 °С)

Элементный состав, %			Содержание белка, %	Влажность, %	Зольность, %	Уронидная составляющая, %
С	Н	N				
36,31	6,02	0,70	4,38	10,44	4,12	78,2

#### 3.4.1 Физико-химические свойства свекловичного пектина

##### *Определение pH 1%-ого раствора пектина*

Предварительно на магнитной мешалке (250 об/мин) при  $t = 50\text{ }^{\circ}\text{C}$  приготовили 1%-ный раствор свекловичного пектина и обработали КУ–2-8 (0,5 г) в течение 3 ч (рис. 25). Величину pH 1%-ого раствора свекловичного пектина определили после обработки КУ–2-8, pH равна 2,398 ( $t = 16,8\text{ }^{\circ}\text{C}$ ).

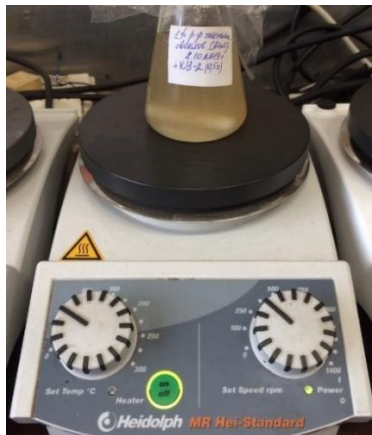


Рисунок 25 – Приготовление 1%-ого раствора пектина

*Определение степени этерификации и содержания свободных карбоксильных групп*

Степень этерификации является важным качественным показателем пектина, рассчитывается как отношение числа этерифицированных карбоксильных групп к общему содержанию карбоксильных групп в пектине и определяется титриметрическим методом (рис. 26). Определение степени этерификации пектинов проводилось согласно методике по формуле 5, определение содержания свободных карбоксильных групп – по формуле 6. Результаты титриметрического метода представлены в таблице 16.

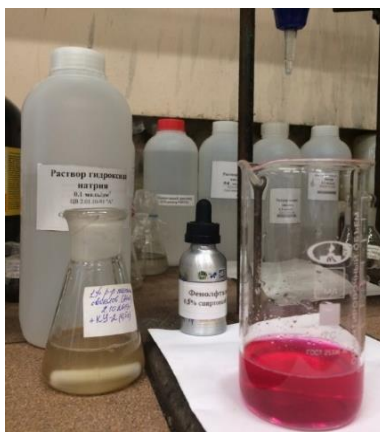


Рисунок 26 – Процесс титрования раствора пектина раствором NaOH

Таблица 16 – Результаты титриметрического метода

Пектин (1%-ный раствор)	V <sub>1</sub> , моль/дм <sup>3</sup>	p, г	V <sub>2</sub> , моль/дм <sup>3</sup>	СЭ, %	Кс, %
До обработки	6,5	0,2	6,7	50,76	14,63
КУ–2-8	6,4		6,9	51,88	14,40
После обработки КУ–2-8	2,15	0,1	3,7	63,25	9,68

Наш целевой продукт – высокоэтерифицированный пектин (> 50%), имеющий достаточно высокое содержание свободных карбоксильных групп. Известно, чем больше свободных карбоксильных групп, тем выше комплексообразующая способность пектина.

#### *Определение кинематической вязкости и молекулярной массы пектина*

Высокая вязкость является характерной особенностью растворов пектинов хорошего качества, чем выше показатель вязкости, тем выше молекулярный вес пектина, а, следовательно, и его желирующая способность.

Для измерения вязкости 1%-ого раствора свекловичного пектина использовали вискозиметр Оствальда с диаметром капилляра 0,56 мм.

Определение молекулярного веса вискозиметрическим методом отличается простотой и удобством, но для него необходимо знание констант уравнения, связывающего вязкость с молекулярным весом. Для растворов высокомолекулярных соединений из всех существующих уравнений зависимости средневесового молекулярного веса от внутренней характеристической вязкости подходит уравнение Куна-Марка (формула 9), для пектинов по Гликману и Орлову (формула 10).

#### *Функциональные свойства свекловичного пектина*

Одним из важнейших функциональных свойств пектина является его комплексообразующая способность, которая была определена методом обратного титрования согласно методике, описанной в разделе 2.2.9.

Обобщенные экспериментальные данные по физико-химическим свойствам пектина, выделенного из свекловичного жома (75 °С), представлены в таблице 17. Показано, что свекловичный пектин соответствует требованиям ГОСТ 29186-91 [61].

Таблица 17 – Физико-химические характеристики свекловичного пектина

Характеристики пектина	Экстрагент – щавелевая кислота
Молекулярная масса, кДа	19,72
Кинематическая вязкость 1%-ого раствора, мм <sup>2</sup> /с	1,91
рН 1%-ого раствора	2,40
Влажность, %	10,44
Зольность до обработки пектина КУ–2-8, %	4,12
Степень этерификации, %	51,32
Содержание свободных карбоксильных групп, %	14,51
Комплексообразующая способность, мг Pb <sup>2+</sup> /г	103,09

Выявлено влияние обработки катионитом КУ–2-8 на свойства свекловичного пектина. На графике (рис. 27) в сравнительном аспекте представлены значения степени этерификации свекловичного пектина до и после обработки КУ–2-8, на графике (рис. 28) – значения содержания свободных карбоксильных групп свекловичного пектина до и после обработки КУ–2-8. Следует отметить, что значение зольности свекловичного пектина после обработки катионитом КУ–2-8 уменьшилось с 4,12 до 1,34%.



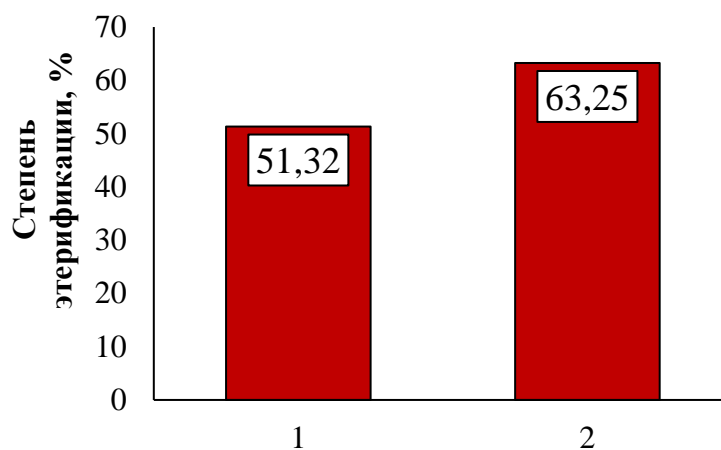


Рисунок 27 – Степени этерификации свекловичного пектина: 1 – до обработки КУ–2-8 и 2 – после обработки КУ–2-8

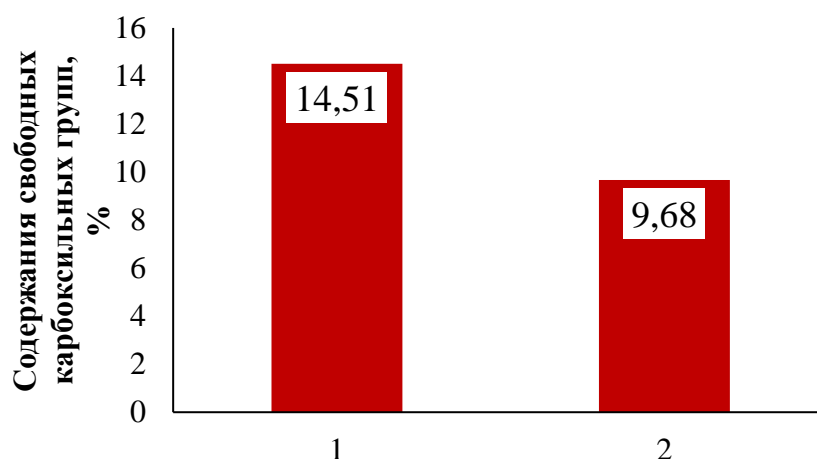


Рисунок 28 – Содержание свободных карбоксильных групп свекловичного пектина: 1 – до обработки и 2 – после обработки КУ–2-8

### 3.4.2 Физико-химические свойства металлокомплекса ПГNaFe

Исследованы некоторые закономерности комплексообразования цитрусового пектина с ионами железа. Так, проанализировано изменение значения pH реакционной среды в процессе синтеза пектинового металлокомплекса ПГNaFe. Цитрусовый пектин растворяли в дистиллированной воде (55 °С), далее к раствору пектина (pH~ 3,0) добавляли 0,1 Н раствор NaOH до pH ~ 9,0 и получали пектат натрия, обладающий хорошей растворимостью. Добавлением к раствору пектата натрия соли двухвалентного металла железа ( $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ) получили натрий-, железо-

полигалактуронат (ПГNaFe). Характеристики (рН, плотность, замеренную ареометром) полученного раствора пектинового металлокомплекса ПГNaFe определялись при комнатной температуре, результаты представлены в таблице 18. Предложенный подход к синтезу ПГNaFe позволяет нам получать водорастворимые металлокомплексы пектина с ионами железа.

Элементный состав ПГNaFe (20%): С – 29,41%, Н – 4,24%, Na – 6,39%, Fe – 2,63%.

Таблица 18 – Характеристики раствора ПГNaFe

Образец	Температура (Т), °С	рН	Плотность, $\rho$ , г/см <sup>3</sup>
ПГNaFe	26,23	5,645	1,001

В ходе выполнения дипломной работы были определены физико-химические свойства цитрусового пектина (Германия), цитрусового пектина переосажденного, пектата натрия и натрий-, железо-полигалактуроната. Для изучения характеристик (рН, кинематическая вязкость, оптическое вращение) предварительно были приготовлены их 0,5%-ные растворы, результаты представлены в таблице 19.



Рисунок 29 – Раствор натрий-, железо-полигалактуроната (0,5%-ный)

Таблица 19 – Характеристики цитрусового пектина, ПГNa, ПГNaFe

Образцы	pH	Время истечения, с	Кинематическая вязкость, мм <sup>2</sup> /с	$[\alpha]_D^{20}$
Пектин цитрусовый (Германия)	3,590 (21,6 °С)	307,75	3,02	+152° (С 0,5; Н <sub>2</sub> О)
Пектин цитрусовый пересажженный	3,552 (21,3 °С)	374,38	3,67	+186° (С 0,5; Н <sub>2</sub> О)
Пектат натрия	7,051 (21,5 °С)	145,34	1,43	+171° (С 0,5; Н <sub>2</sub> О)
ПГNaFe (20%)	5,728 (21,1 °С)	143,04	1,40	+182° (С 0,5; Н <sub>2</sub> О)

Сравнительный анализ оптического вращения растворов цитрусового пектина (Германия), пересажженного пектина, полигалактуроната натрия (ПГNa) и натрий-, железо-полигалактуроната (ПГNaFe) (рис. 29), измеренного на поляриметре Perkin-Elmer 341 (табл. 19), показал сопоставимые значения для образцов пересажженного цитрусового пектина и ПГNaFe, у ПГNaFe +182° (С 0,5; Н<sub>2</sub>О), оптическое вращение пектата натрия ниже (+171° (С 0,5; Н<sub>2</sub>О)), самое низкое значение имеет цитрусовый пектин (Германия) (+153,0° (С 0,5; Н<sub>2</sub>О)).

В рамках исследований проведен сравнительный анализ характеристик цитрусового пектина, пектата натрия и ПГNaFe (20%), результаты для большей наглядности представлены графически: значения pH 0,5%-ных растворов цитрусового пектина, пектата натрия и ПГNaFe (20%) (рис. 30), значения их кинематической вязкости (рис. 31) и молекулярной массы (рис. 32).

Из рисунка 30 видно, что pH пектина (pH 3,552) имеет слабокислый характер, pH пектата натрия (pH 7,051) переходит в слабощелочную область.

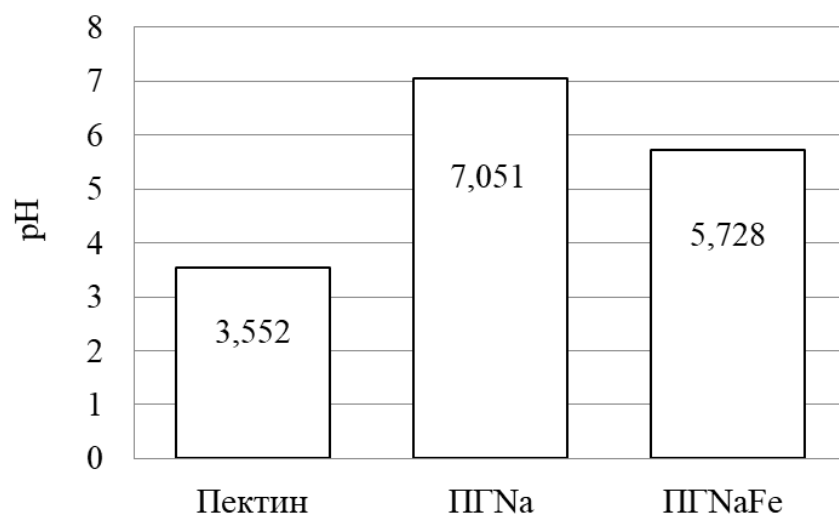


Рисунок 30 – Значения pH 0,5%-ных растворов цитрусового пектина, пектата натрия и ПГNaFe (20%)

Экспериментально показано (рис. 31), что кинематическая вязкость пектата натрия (ПГNa) сопоставима с кинематической вязкостью натрий-, железо-полигалактуроната (ПГNaFe) и равна ~1,40 мм<sup>2</sup>/с, при этом данное значение вязкости в два раза меньше, чем вязкость цитрусового пектина.

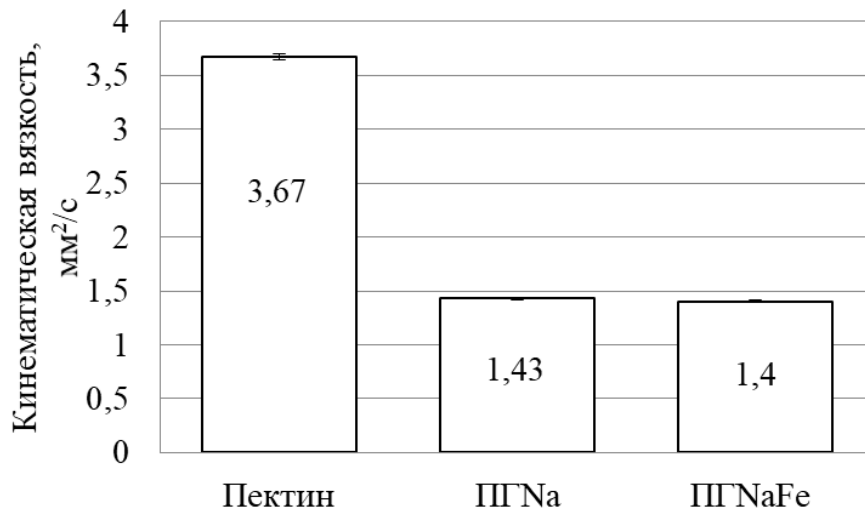


Рисунок 31 – Значения кинематической вязкости 0,5%-ных растворов цитрусового пектина, пектата натрия и ПГNaFe (20%)

Максимальную молекулярную массу имеет цитрусовый пектин (46,07 кДа), у пектата натрия и комплекса ПГNaFe молекулярная масса снижается более, чем в 4 раза (рис. 32).

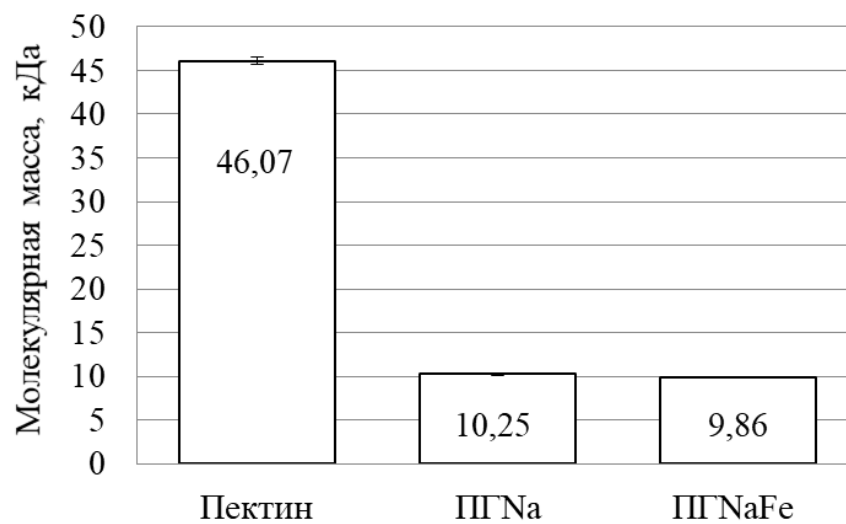


Рисунок 32 – Значения молекулярной массы 0,5%-ных растворов цитрусового пектина, пектата натрия и ПГNaFe (20%)

## **4 Метрологическая проработка**

Целью дипломной работы является разработка способа получения пектина из свекловичного жома обработкой 0,75%-ным раствором щавелевой кислоты, изучение физико-химических свойств и структурных характеристик. Получение металлокомплексов цитрусового пектина с ионами железа.

Цель метрологической проработки – определение результатов, оценка погрешности эксперимента и определение достоверности полученных результатов. Данная работа носит поисково-исследовательский характер.

Задачей работы являлось определение вязкости и измерение рН 0,5%-ого раствора натрий-, железо-полигалактуроната, погрешность которых оценивается с помощью метрологического анализа.

Вязкость 0,5%-ого раствора натрий-, железо-полигалактуроната определяли путём измерения времени истечения раствора между двумя метками (вискозиметр Оствальда с диаметром капилляра 0,56 мм) с помощью секундомера СОСпр-26-2-000.

Измеряли рН 0,5%-ого раствора натрий-, железо-полигалактуроната с помощью иономера И-160 МИ (Россия).

### **4.1 Оценка результатов и погрешности измерений**

Оценка результатов и погрешности прямых и косвенных измерений проводилась по ГОСТ Р 8.736-2011 «Государственная система обеспечения единства измерений (ГСИ). Измерения прямые многократные. Методы обработки результатов измерений. Основные положения». Этот стандарт регламентирует методику выполнения прямых измерений с многократными независимыми наблюдениями и устанавливает основные положения методов обработки результатов и оценки погрешностей результатов измерений [62].

## 4.2 Статистическая обработка результатов измерений

### 4.2.1 Оценка измеряемой величины и среднее квадратическое отклонение

Оценку измеряемой величины  $\bar{x}$ , за которую принимают среднее арифметическое значение исправленных результатов измерений, вычисляют по формуле 16 [62]:

$$\bar{x} = a + \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n y_i, \quad (16)$$

где  $x$  – результат измерений;

$n$  – число исправленных результатов измерений;

$a$  – близкое к  $\bar{x}$  значение, удобное для расчета;  $y_i = x_i - a$ .

Среднее квадратическое отклонение  $S$  группы, содержащей  $n$  результатов измерений, вычисляют по формуле 17 [62]:

$$S = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}}, \quad (17)$$

Примечание: наличие случайных погрешностей вызывает рассеяние результатов измерений. В качестве основной числовой характеристики случайного рассеяния результатов измерений принята дисперсия  $D = \sigma^2$  или стандартное отклонение  $\sigma$ . Ограниченное число результатов измерений позволяет получать лишь оценки этих характеристик ( $S$  и  $S^2$ ). Математическое ожидание оценки  $S^2$  равно дисперсии ( $M[S^2] = \sigma^2$ ), однако математическое ожидание оценки  $S$  отлично от  $\sigma$ , так как оценка  $S$  смещена.

Среднее квадратическое отклонение среднего арифметического (оценки измеряемой величины)  $S_{\bar{x}}$  вычисляют по формуле 18 [62]:

$$S_{\bar{x}} = \frac{S}{\sqrt{n}}, \quad (18)$$

## 4.2.2 Исключение грубых погрешностей

Для исключения грубых погрешностей используют критерий Граббса. Статистический критерий Граббса исключения грубых погрешностей основан на предположении о том, что группа результатов измерений принадлежит нормальному распределению. Для этого вычисляют критерии Граббса  $G_1$  и  $G_2$ , предполагая, что наибольший  $x_{\max}$  или наименьший  $x_{\min}$  результат измерений вызван грубыми погрешностями, формула 19 [62]:

$$G_1 = \frac{|x_{\max} - \bar{x}|}{S}, \quad G_2 = \frac{|\bar{x} - x_{\min}|}{S}, \quad (19)$$

Сравнивают  $G_1$  и  $G_2$  с теоретическим значением  $G_T$  критерия Граббса при выбранном уровне значимости  $q$ .

Если  $G_1 > G_T$ , то  $x_{\max}$  исключают как маловероятное значение. Если  $G_2 > G_T$ , то  $x_{\min}$  исключают как маловероятное значение. Далее вновь вычисляют среднее арифметическое и среднее квадратическое отклонения ряда результатов измерений и процедуру проверки наличия грубых погрешностей повторяют. Если  $G_1 < G_T$ , то  $x_{\max}$  не считают промахом и его сохраняют в ряду результатов измерений. Если  $G_2 < G_T$ , то  $x_{\min}$  не считают промахом и его сохраняют в ряду результатов измерений.

## 4.2.3 Доверительные границы случайной погрешности

Доверительные границы случайной погрешности оценки измеряемой величины в соответствии с настоящим стандартом устанавливают для результатов измерений, принадлежащих нормальному распределению.

При невыполнении этого условия методы вычисления доверительных границ случайной погрешности должны быть указаны в методике измерений.

При числе результатов измерений  $n \leq 15$  принадлежность их к нормальному распределению не проверяют. При этом вычисление доверительных границ случайной погрешности оценки измеряемой величины по методике, предусмотренной настоящим стандартом, допускается только в



том случае, если заранее известно, что результаты измерений принадлежат нормальному распределению.

Примечание: если не известно распределение погрешностей оценки искомой величины, способы нахождения доверительных границ случайной погрешности могут быть указаны в методике измерений с учетом того, что подобные измерения повторяют.

При числе результатов измерений  $15 < n \leq 50$  для проверки принадлежности их к нормальному распределению предпочтительны составной критерий.

При числе результатов измерений  $n > 50$  для проверки принадлежности их к нормальному распределению предпочтительны один из критериев:  $\chi^2$  К. Пирсона или  $\omega^2$  Мизеса-Смирнова.

Доверительные границы  $\varepsilon$  (без учёта знака) случайной погрешности оценки измеряемой величины вычисляют по формуле 20 [62]:

$$\varepsilon = t \cdot S\bar{x}, (20)$$

где  $t$  – коэффициент Стьюдента.

#### **4.2.4 Доверительные границы неисключенной систематической погрешности**

Неисключённая систематическая погрешность (НСП) оценки измеряемой величины образуется из составляющих, в качестве которых могут быть приняты НСП:

- метода;
- средства измерений;
- вызванные другими источниками.

При числе составляющих НСП более или равном трём ( $m \leq 3$ ) доверительные границы НСП  $\theta_{\Sigma}(P)$  оценки измеряемой величины вычисляют путем построения композиции НСП. При равномерном распределении НСП доверительные границы  $\theta_{\Sigma}(P)$  допускается вычислять по формуле 21 [62]:

$$\Theta_{\Sigma}(P) = \pm k \sqrt{\sum_{i=1}^m \Theta_i^2}, \quad (21)$$

где  $\theta_i$  – граница  $i$ -й НСП;

$k$  – коэффициент, определяемый принятой доверительной вероятностью, числом составляющих НСП и их соотношением между собой.

Для доверительной вероятности  $P = 0,95$  коэффициент  $k$  пренебрежимо мало зависит от числа составляющих НСП и их соотношения, поэтому при указанной доверительной вероятности коэффициент  $k$  принимают равным 1,1.

#### 4.2.5 Доверительные границы погрешности оценки измеряемой величины

Границы погрешности оценки измеряемой величины  $\Delta$  (без учёта знака) вычисляют по формуле 22 [62]:

$$\Delta = KS_{\Sigma}, \quad (22)$$

где  $K$  – коэффициент, зависящий от соотношения случайной составляющей погрешности и НСП.

Коэффициент  $K$  для подстановки в формулу (4.7) в зависимости от числа НСП определяют по эмпирическим формулам соответственно 23 [62]:

$$K = \frac{\varepsilon + \Theta_{\Sigma}}{S_{\bar{x}} + S_{\Theta}}, \quad K = \frac{\varepsilon + \Theta_{\Sigma}(P)}{S_{\bar{x}} + S_{\Theta}}. \quad (23)$$

#### 4.2.6 Форма записи оценки измеряемой величины

При симметричных доверительных границах погрешности оценку измеряемой величины представляют в форме формулы 24 [62]:

$$\bar{x} \pm \Delta, P, \quad (24)$$

где  $\bar{x}$  – оценка измеряемой величины.

### 4.3 Определение погрешности измерения вязкости

При измерении времени истечения (для определения вязкости) получены следующие результаты наблюдений (в секундах): 142,71; 143,01; 143,41. Так систематическая погрешность при поверке 0,05 с и в результаты наблюдений вносим поправку. В результате получим таблицу 20 результатов наблюдений, отклонений и квадратов отклонений.

Таблица 20 – Таблица результатов наблюдений, отклонений и квадратов отклонений

Результаты наблюдений по шкале секундомера, $x$ , с	Исправленные результаты наблюдений (с учётом поправки), $x_i$ , с	Отклонения и их квадраты	
		$x_i - a$ , с	$(x_i - a)^2$ , с
142,71	142,66	-0,33	0,1089
143,01	142,96	-0,03	0,0009
143,41	143,36	+0,37	0,1369
	$a = \frac{\sum_{i=1}^3 x_i}{3} = 142,99$		$\sum_{i=1}^3 (x_i - a)^2 = 0,2467$

Вычисляем среднее арифметическое исправленных результатов наблюдений, принимаемое за результат измерения (формула 16):

$$\bar{x} = 142,99 + \frac{1}{3} \cdot (-0,33 - 0,03 + 0,37) = 142,99 \text{ с}$$

Среднеквадратическое отклонение результата наблюдения определяем по формуле 17:

$$S = \sqrt{\frac{0,2467}{3 - 1}} = 0,351$$

В связи с тем, что неравенство  $|(x_i - a)| > 3\sigma(a)$  несправедливо для всех  $i$  от 1 до 5, можно сделать вывод, что грубых ошибок среди результатов наблюдений нет. Поэтому, ни одно из выполненных наблюдений не исключается из дальнейших рассуждений.

Вычисляем оценку среднего квадратичного отклонения результата (формула 18):

$$S_x = \frac{0,351}{\sqrt{3}} = 0,203$$

Для исключения грубых погрешностей используют критерий Граббса  $G_1$  и  $G_2$ , предполагая, что наибольший  $x_{\max}$  или наименьший  $x_{\min}$  результат измерений вызван грубыми погрешностями, формула 19:

$$G_1 = \frac{143,36 - 142,99}{0,351} = 1,054; G_2 = \frac{142,99 - 142,66}{0,351} = 0,94; G_T = 1,155.$$

Если  $G_1 < G_T$ , то  $x_{\max}$  не считают промахом и его сохраняют в ряду результатов измерений и  $G_2 < G_T$ , то  $x_{\min}$  не считают промахом и его сохраняют в ряду результатов измерений.

Так как число результатов наблюдений меньше 15, то принадлежность их нормальному распределению не проверяем.

Вычисляем доверительные границы случайной погрешности результата измерения при данной доверительной вероятности (формула 20):

$$t = 4,303 \text{ при } n = 3, P = 0,95;$$

$$\varepsilon = 4,303 \cdot 0,203 = 0,874$$

Вычисляем границы, не исключенной систематической погрешности результата измерения при данной доверительной вероятности при  $k = 1,1$ ;  $P = 0,95$  (формула 21):

$$\theta = \pm 1,1 \cdot \sqrt{0,05^2} = \pm 0,055 \text{ с}$$

Вычисляем доверительные границы суммарной погрешности результата измерения, коэффициент  $K$  определяют по эмпирической формуле 22:

$$K = \frac{0,874 + 0,055}{0,351 + 0,203} = 1,677.$$

Доверительные границы погрешности оценки измеряемой величины находят по формуле 23:

$$\Delta = 1,677 \cdot 0,351 = 0,589.$$

При симметричных доверительных границах погрешности оценку измеряемой величины представляют в форме (формула 24):

$$142,99 \pm 0,589.$$

#### 4.4 Определения погрешности измерения рН растворов

При измерении рН 0,5%-ого раствора ПГNaFe были получены следующие результаты наблюдений, представленные в таблице 21. Так как систематическая погрешность при поверке равна 0,05 усл. ед, то в результаты наблюдений вводим поправку 0,05, но с обратным знаком, то есть со знаком минус.

Таблица 21 – Результаты наблюдений, отклонений и квадратов отклонений

Результаты наблюдений, $x$ , усл. ед.	Исправленные результаты наблюдений (с учётом поправки), $x_i$ , усл. ед.	Отклонения и их квадраты	
		$(x_i - a)$ , усл. ед.	$(x_i - a)^2$ , усл. ед.
5,728	5,678	0	0
5,728	5,678	0	0
5,727	5,677	-0,001	0,000001
	$a = \frac{\sum_{i=1}^3 x_i}{3} = 5,678$		$\sum_{i=1}^3 (x_i - a)^2 = 0,000001$

Вычисляем среднее арифметическое исправленных результатов наблюдений, принимаемое за результат измерения (формула 16):

$$\bar{x} = 5,678 + \frac{1}{3} \cdot (0+0-0,001) = 5,678 \text{ усл. ед.}$$

Среднеквадратическое отклонение результата наблюдения определяем согласно формуле 17:

$$S = \sqrt{\frac{0,000001}{3-1}} = 0,0007 \text{ усл. ед.}$$

В связи с тем, что неравенство  $|X_i - a| > 3\sigma(a)$  несправедливо для всех  $i$  от 1 до 5, можно сделать вывод, что грубых ошибок среди результатов наблюдений нет. Поэтому, ни одно из выполненных наблюдений не исключается из дальнейших рассуждений.

Оценка среднего квадратического отклонения результата измерения определяется по формуле 18:

$$S_x = \frac{0,0007}{\sqrt{3}} = 0,0004$$

Для исключения грубых погрешностей используют критерий Граббса  $G_1$  и  $G_2$ , предполагая, что наибольший  $x_{\max}$  или наименьший  $x_{\min}$  результат измерений вызван грубыми погрешностями (формула 19):

$$G_1 = \frac{5,678 - 5,678}{0,0007} = \infty; G_2 = \frac{5,678 - 5,677}{0,0007} = 1,429; G_T = 1,155.$$

Если  $G_1 > G_T$ , то  $x_{\max}$  исключают как маловероятное значение и  $G_2 > G_T$ , то  $x_{\min}$  исключают как маловероятное значение.

Так как число результатов наблюдений меньше 15, то принадлежность их нормальному распределению не проверяем.

Вычисляем доверительные границы случайной погрешности результата измерения при данной доверительной вероятности (формула 20):

$$t = 4,303 \text{ при } n = 3, P = 0,95;$$

$$\varepsilon = 4,303 \cdot 0,0004 = 0,002$$

Вычисляем границы, не исключенной систематической погрешности результата измерения при данной доверительной вероятности при  $k = 1,1$ ;  $P = 0,95$  (формула 21):

$$\theta = \pm 1,1 \cdot \sqrt{0,0005^2 + 0,05^2} = \pm 0,055 \text{ усл. ед.}$$

Вычисляем доверительные границы суммарной погрешности результата измерения, коэффициент  $K$  определяют по эмпирической формуле 22:

$$K = \frac{0,002 + 0,055}{0,0007 + 0,0004} = 51,818.$$

Доверительные границы погрешности оценки измеряемой величины находят по формуле 23:

$$\Delta = 51,818 \cdot 0,0007 = 0,036.$$

При симметричных доверительных границах погрешности оценку измеряемой величины представляют в форме (формула 24):

$$5,678 \pm 0,036.$$

Экспериментальные результаты обобщены в таблице 22. Акты метрологической проработки предоставлены в таблицах 23 и 24.

Таблица 22 – Экспериментальные результаты

Наименование параметра, единица измерения	Измеряемая величина, $x_i$	Среднеарифметическое значение, $\bar{x}$	Среднеквадратическое отклонение, $S$	$S_x$	Коэффициент Стьюдента, $t$	Доверительные границы случайной погрешности, $\varepsilon$	$\theta$	Погрешность, $\Delta$	Доверительная вероятность, $P$	Результаты измерений, $\bar{X} \pm \Delta; P$
Время истечения (с)	142,66 142,96 143,36	142,99	0,351	0,203	4,303	0,874	0,055	0,589	0,95	(142,99 $\pm$ 0,589), при $P = 0,95$
pH (усл. ед.)	5,728 5,728 5,727	5,678	0,0007	0,0004	4,303	0,002	0,055	0,036	0,95	(5,678 $\pm$ 0,036), при $P = 0,95$



Таблица 23 – Акт метрологической проработки (1)

Наименование величины, обозначение	Единица измерения	Диапазон ожидаемых значений	Допустимая погрешность	Краткая характеристика измерения, ГОСТ, ОСТ, ТУ	Наименование, тип, заводской номер, год выпуска	Диапазон измерений	Нормируемые метрологические характеристики
Время истечения	с	142,66-143,36	$\pm 0,055$	Оценка результатов и погрешности прямых и косвенных измерений проводилась по ГОСТ Р 8.736-2011	Секундомер СОСпр-26-2-000	0-60 мин	Цена деления 0,001 с. Допустимая погрешность $\pm 0,05$ с
рН	усл. ед.	5,728-5,727	$\pm 0,055$	Оценка результатов и погрешности прямых и косвенных измерений проводилась по ГОСТ Р 8.736-2011	Иономер И-160 МИ (Россия)	1-14	Цена деления 0,01 усл. ед. Допустимая погрешность $\pm 0,05$ усл. ед.

Таблица 24 – Акт метрологической проработки (2)

Условия измерения	Дата последней государственной проверки	Межпове- рочный интервал	Обработка результатов измерения. Характеристика способа обработки	Средства обработки	Метрологическая оценка измерения	Специальные требования по охране труда	Примечание
T = 20 °C, p = 760 мм.рт.ст.	10/2017	1 год	Прямые измерения с многократными наблюдениями ГОСТ 8.207-76	Научный калькулятор Casio fx-570 ES	(1,6882 ± 0,005), при P = 0,95	Работаем в хлопчатобумажном халате	Погрешность измерения в пределах допустимой погрешности 0,05 = 0,05
T = 20 °C, p = 760 мм.рт.ст.	11/2017	1 год	Прямые измерения с многократными наблюдениями ГОСТ 8.207-76	Научный калькулятор Casio fx-570 ES	(3,8732 ± 0,05), при P = 0,95	Работаем в хлопчатобумажном халате	Погрешность измерения в пределах допустимой погрешности 0,05 = 0,05

## 5 Безопасность и экологичность работы

### 5.1 Характеристика объекта и веществ

Целью дипломной работы является разработка способа получения пектина из свекловичного жома обработкой 0,75%-ным раствором щавелевой кислоты, изучение физико-химических свойств и структурных характеристик. Получение металлокомплексов цитрусового пектина с ионами железа.

Научно-исследовательская работа проведена в Технологической лаборатории Института органической и физической химии им. А.Е. Арбузова – обособленного структурного подразделения Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Казанский научный центр Российской академии наук» (ИОФХ им. А.Е. Арбузова – обособленное структурное подразделение ФИЦ КазНЦ РАН).

Размеры лаборатории:  $a$  – длина лаборатории, м ( $a = 5,3$  м);  $b$  – ширина лаборатории, м ( $b = 4,0$  м);  $h$  – высота лаборатории, м ( $h = 3,5$  м);  $S$  – площадь помещения,  $m^2$  ( $S = 21$   $m^2$ ).

Получение пектина из свекловичного жома состоит из основной стадии – кислотного гидролиза. Сырьё – свекловичный жом в гранулах. Получение металлокомплексов цитрусового пектина с ионами железа также требует химических реактивов.

Для получения пектина используются следующие оборудования:

1. Магнитная мешалка Heidolph (Германия).

В дипломной работе магнитная мешалка использовалась для перемешивания на этапе предварительной подготовки сырья, при проведении процесса гидролиза-экстракции и получении растворов.

## 2. Сушильный шкаф SNOL (Россия).

В дипломной работе сушильный шкаф использовался для достижения нужной температуры и сушки свекловичного пектина и металлокомплекса цитрусового пектина с ионами железа.

## 3. Ротационный испаритель ИР-1ЛТ (Россия).

В дипломной работе ротационный испаритель использовался для концентрирования.

## 4. Центрифуга SIGMA 4-15 (Германия).

В дипломной работе центрифуга использовалась для разделения жидких или сыпучих тел разной плотности под действием центробежных сил.

## 5. Шаровая мельница.

В дипломной работе на шаровой мельнице провели процесс измельчения свекловичного пектина и металлокомплекса цитрусового пектина с ионами железа.

Химическая посуда: пипетка на 5 мл; пипетка на 10 мл; колба мерная на 250 мл; колба мерная на 500 мл; колба мерная на 1000 мл; цилиндр мерный на 25 мл; цилиндр мерный на 50 мл; цилиндр мерный на 100 мл; бюретка 25 мл; воронка.

Плотность измерялась с помощью ареометра (Россия), рН – с помощью иономера И-160 МИ (Россия).

В таблице 25 представлена характеристика веществ, применяемых на объектах [63].

Таблица 25 – Характеристика веществ, применяемых на объектах

№ п/п	Наименование вещества	Агрегатное состояние	Пределы распространения пламени, %		Температура, °С		ПДК, мг/м <sup>3</sup>	Класс опасности	Характер воздействия на человека
			Ниж.	Верх.	Вспышки	Самовоспл.			
1	Свекловичный жом	Воздушно- сухая масса	-	-	-	-	-	-	Нетоксичен
2	Щавелевая кислота (раствор)	Жидкое	-	-	166	518	0,2	3	Токсична
3	Этанол	Жидкое	3,1	19,0	13	400	1	3	Токсичен
4	Хлорид кальция (раствор)	Жидкое	-	-	-	-	2	3	Токсичен
5	Соляная кислота	Жидкое	-	-	-	-	5	2	Токсична
6	Уксусная кислота	Жидкое	-	-	-	-	5	3	Токсична
7	Гидроксид натрия (раствор)	Жидкое	-	-	-	-	0,5	2	Токсичный, раздражающий
8	Сульфат железа (II)	Твёрдое	-	-	-	-	2	3	Среднетоксичен
9	H <sub>2</sub> O дист.	Жидкое	-	-	-	-	-	-	Нетоксична

Выводы:

1. На объекте используются взрывопожароопасные вещества –  $C_2H_5OH$ ;
2. На объекте используются токсичные вещества –  $C_2H_2O_4$ ,  $C_2H_5OH$ ,  $CaCl_2$ ,  $HCl$ ,  $CH_3COOH$ ,  $NaOH$ .

## **5.2 Категорирование помещения по взрывопожароопасности**

В соответствии с СП 12.13130.2009 помещение исходя из свойств веществ и условий переработки относится к пожароопасности В4. Так как в работе используются пожароопасные вещества [63].

## **5.3 Перечень опасных и вредных факторов, присущих объекту**

1. Пожаровзрывоопасность.

Основными причинами возможного возникновения пожара в лаборатории является неисправность электроприборов, электропроводки, а также перегрузка электроприборов. В ходе работы также используется пожаровзрывоопасное вещество: этанол.

2. Токсичность.

Используются токсичные вещества –  $C_2H_2O_4$ ,  $C_2H_5OH$ ,  $CaCl_2$ ,  $HCl$ ,  $CH_3COOH$ ,  $NaOH$ .

3. Вентиляция и отопление.

Для создания требуемых параметров микроклимата в помещении лаборатории применяют системы вентиляции и отопления. В лаборатории предусмотрена естественная, осуществляемая через окна и двери и приточно-вытяжная принудительная вентиляция. Для локализации выделения токсичных паров используется устройство механической местной вытяжной вентиляции: вытяжной шкаф с верхним отсосом.

В соответствии со СНиП 41-01-2003 систему отопления необходимо иметь в здании, где работают люди, расположенном в районах с наружной зимней температурой не ниже минус 5 °С. В лаборатории предусмотрено

водяное отопление низкого давления с ребристыми трубами. Температура теплоносителя 80 °С.

4. Опасность поражения электрическим током.

В работе используются: термостат вискозиметрический, мельница, мешалка, роторный испаритель. К данному оборудованию подводится электрический ток напряжением 220 В, в случае неисправности проводки или самих приборов возможно поражение электрическим током.

5. Опасность поражения разрядами статического электричества.

На объекте присутствуют потоки большой скорости (мешалка).

6. Опасность поражения разрядами атмосферного электричества.

Объект находится в районе интенсивной грозовой деятельности, поскольку среднегодовое число ударов молнии в 1 км<sup>2</sup> земной поверхности в месте расположения здания  $n = 3$  (для г. Казань интенсивность грозовой деятельности соответствует 20-40 ч/год).

7. Опасность получения термических ожогов.

На объекте используются высокие температуры (сушильный шкаф).

8. Опасность получения химических ожогов.

На объекте используются вещества, вызывающие ожоги (NaOH).

9. Опасность механического травмирования.

На объекте используются приборы с вращательными элементами (мельница, мешалка). Источником механических повреждений в лаборатории является стеклянная посуда.

10. Вредное влияние шума и вибрации.

На объекте имеются элементы, работа которых сопровождается шумом и вибрацией: центрифуги, мельница, мешалка.

## 11. Метеоусловия на рабочем месте.

Метеоусловия на рабочем месте определяются действием температуры, влажности, скорости движения воздуха. Работа в данной лаборатории относится к категории Па (средней тяжести). Лаборатория отапливается водой, температура теплоносителя равна 80 °С. В течение дня в помещении поддерживается температура 20 °С, влажность 40%, скорость движения воздуха 0,3 м/с, что удовлетворяет санитарно-гигиеническим требованиям.

### 5.4 Разработка защитных мероприятий

#### 1. Пожаровзрывобезопасность.

Для быстрой ликвидации очагов пожара в помещении имеются [64]:

- 4 пожарных крана, вода применяется для тушения всех очагов пожара за исключением электрооборудования;
- огнетушители химические ОХТ-10 для тушения мелких очагов пожара за исключением электрооборудования и одежды рабочего;
- огнетушители углекислотные ОУ-5 и ОУ-10 для тушения мелких очагов пожара и электрооборудования;
- щит пожарный с набором инвентаря (асбестовое полотно, пенный огнетушитель, лом, топор, багор, ящик с песком).

Для эвакуации людей предусмотрено три выхода, находящиеся на каждом этаже. Ширина путей эвакуации – 2,5 м, дверей – 2 м, высота – 2 м. Двери открываются по направлению выхода.

#### 2. Защита от токсичности (вентиляция, противогазы, респираторы).

С целью защиты работающих от отравления вредными веществами работу проводят в вытяжном шкафу – это местная вытяжная вентиляция.

Необходимая производительность местной вытяжной системы рассчитывается по формуле 25 [64]:

$$L = F \cdot V \cdot 3600, (25)$$



где  $L$  – объём удаляемого воздуха,  $\text{м}^3/\text{ч}$ ;

$V$  – скорость движения воздуха в отверстии вытяжного шкафа,  $\text{м}/\text{с}$  ( $V = 0,7$   $\text{м}/\text{с}$ );

$F$  – площадь сечения воздушного потока,  $\text{м}^2$ , определяется по формуле 26 [64]:

$$F = H \cdot b, \quad (26)$$

где  $H$  – высота рабочего проема, ( $H = 1,2$   $\text{м}$ );

$b$  – ширина рабочего проема, ( $b = 0,8$   $\text{м}$ ).

$$F = 1,2 \cdot 0,8 = 0,96 \text{ м}^2, \text{ тогда } L = 0,96 \cdot 0,7 \cdot 3600 = 2419,2 \text{ м}^3/\text{ч}.$$

Исходя из полученных данных, выбираем марку вентилятора ЦВ-1.1.1/5 согласно СНиП 2.04.05-91 «Отопление, вентиляция и кондиционирование».

Лаборатория отапливается паром, температура теплоносителя  $100$   $^{\circ}\text{C}$ . В течение дня поддерживается температура –  $20$   $^{\circ}\text{C}$ , влажность –  $40\%$ , что удовлетворяет санитарно-гигиеническим требованиям.

### 3. Электробезопасность (зануление, заземление).

Изоляция токоведущих частей прибора в соответствии с ПУЭ с использованием диэлектрических материалов является основным методом защиты от поражения электрическим током. Также используется установка заземления. Защитное заземление согласно ГОСТ 12.1.030-81 сопротивление заземляющего устройства должно быть не более  $4$   $\text{Ом}$ .

Предусматривается стержневой заземлитель круглого сечения, расположенный у поверхности земли.

Сопротивление заземляющего устройства рассчитывается по формуле 27 [64]:

$$R = (P (2 \cdot \pi \cdot l) \cdot \ln((4 \cdot l) / d)), \quad (27)$$

где  $P$  – удельное сопротивление земли ( $P = 32$   $\text{Ом}$ );

$l$  – длина заземления ( $l = 5$   $\text{м}$ );

$d$  – диаметр заземления ( $d = 0,02$   $\text{м}$ );

$$R = 6,9 \text{ Ом.}$$

Необходимое количество стержней рассчитывается по формуле 28 [64]:

$$N = R / [R], (28)$$

$$N = 6,9/4 = 1,7 \approx 2.$$

Принимаем 2 заземляющих устройства.

Сопротивление группы электродов рассчитывается по формуле 29 [64]:

$$R_{гр} = R / (n \cdot \eta_v) < [R], (29)$$

где  $R_{гр}$  – сопротивление растекаемого группового заземлителя, без учёта влияния полосы связи.

Для двух электродов  $\eta_v$  принимаем = 0,91.

$$R_{гр} = 6,9 / (2 \cdot 0,91) = 3,8 \text{ Ом.}$$

Условие  $R_{гр} < [R]$ ,  $3,8 < 4$ , выполняется в соответствии со СНиП 3.05.06-85 «Электротехнические устройства».

#### 4. Защита от разрядов атмосферного электричества (молниеотвод).

В соответствии с СО153-34.21.122-2003 «Инструкция по устройству молниезащиты зданий и сооружений» данному зданию присвоена III категория молниезащиты, так как оно находится в местности со средней продолжительностью гроз 20 часов в год и более, а зона защиты молниеотвода относится к зоне Б, II степени огнестойкости.

Здание относится к III категории молниезащиты, тип зоны защиты – Б.

Здания и сооружения III категории защищены от прямых ударов молнии и заноса высокого потенциала через наземные металлические коммуникации. Наружные установки III категории защищены от прямых ударов молнии тросовыми молниеотводами, расположенными на крыше здания, в качестве молниеприемника используется трос, возвышающийся над коньком не менее, чем на 0,25 м (рис. 33). Опорами для молниеприемника служат закрепленные на стенах строения деревянные планки. Токоотводы прокладываются с двух сторон по торцевым стенам и присоединяются к заземлению.

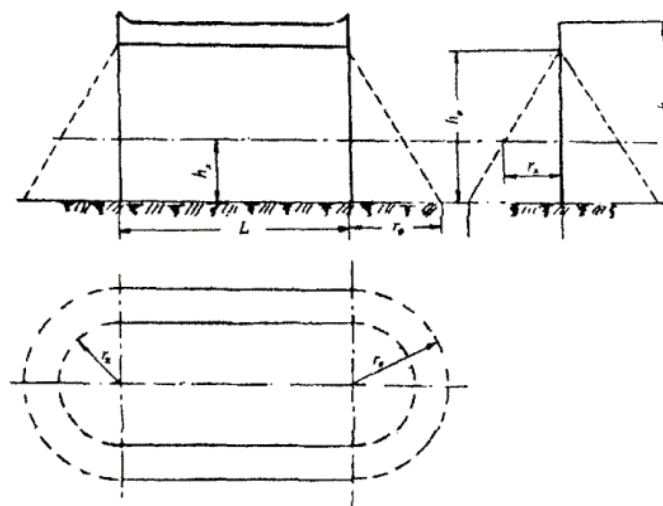


Рисунок 33 – Зона защиты тросового молниеотвода

#### 5. Защита от термических ожогов.

Сушильный шкаф имеет заводскую термоизоляцию, так как температура поверхности шкафа не превышает 45 °С (ГОСТ Р 12.4.234-2012).

#### 6. Защита от химических ожогов.

Кислоты и щелочи хранятся отдельно в вытяжном шкафу. Работу проводят в специальной одежде (халат, обувь) с использованием перчаток, очков. В лаборатории на случай ожогов щелочью имеются слабые растворы уксусной кислоты или лимонной кислоты. В случае ожога кислотой место поражения промыть струей холодной воды и нейтрализовать 2%-ным раствором бикарбоната натрия.

#### 7. Защита от механического травмирования.

При работе со стеклянной посудой используют полотенце, тряпки. Для перемешивания среды используется мешалка с частотой вращения 5000 оборотов в минуту. Для защиты рук от случайного прикосновения к вращательному элементу применялся защитный кожух, который крепится в верхней части мешалки специальным держателем.

## 8. Защита от шума и вибрации.

Фактические шум и вибрации не превышают допустимый уровень, защиты не требуется.

### 5.5 Расчёт освещения объекта

В лаборатории предусматривается естественное боковое освещение и общее искусственное освещение люминесцентными лампами.

Характеристика зрительных работ в соответствии со СП52.13330.2011: разряд работы IV, подразряд Г зрительных работ, т.к. работа средней точности, наименьший размер различаемого предмета 0,5-1 мм (шкала аналитических весов, шкала термометра).

Коэффициент естественного освещения для данного разряда (КЕО = 1,5%). В лаборатории имеется два окна общей площадью 7,5 м<sup>2</sup>. Необходимая площадь световых проёмов при боковом освещении рассчитывается по формуле 30 [64]:

$$S_0 = (K_{зд} \cdot S_n \cdot e_n \cdot K \cdot \eta_0) / (100 \cdot \tau_0 \cdot r_1), \quad (30)$$

где  $S_n$  – площадь пола помещения, м<sup>2</sup> (21 м<sup>2</sup>);

$e_n$  – нормированное значение КЕО (1,5%) в соответствии со СНиП 2305-95;

$K$  – коэффициент запаса (1,2);

$\eta_0$  – световая характеристика окон (10,5);

$\tau_0$  – коэффициент светопропускания примем равным 0,6, так как общий коэффициент от 0,6-1,0;

$r_1$  – коэффициент, учитывающий отражение света от потолка, меняется от 1,5-5,7, принимаем равным 1,5;

$K_{зд}$  – коэффициент, учитывающий затененность окон противостоящими зданиями (1).

$$S_0 = (21 \cdot 1,5 \cdot 1 \cdot 10,5 \cdot 1,2) / (0,6 \cdot 1,5 \cdot 100) = 396,9 / 90 = 4,41 \text{ м}^2.$$

Соответственно требуемая площадь световых проемов равна 4,41 м<sup>2</sup>. В соответствии с требованиями СНиП 23-05-95 естественного освещения в лаборатории достаточно.

Искусственное освещение общее. В помещении лаборатории установлены люминесцентные лампы ЛХБ-40. Светильники универсальные без затемнения. Их число находим по формуле 31 [64]:

$$N = \frac{E \cdot S \cdot Z \cdot K}{m \cdot \eta \cdot F}, \quad (31)$$

где  $F$  – световой поток одной лампы, лм;

$E$  – нормируемая освещенность (200 лк);

$S$  – площадь помещения (21 м<sup>2</sup>);

$Z$  – поправочный коэффициент, учитывающий снижение освещенности при эксплуатации (1,1);

$K$  – коэффициент запаса, учитывающий снижение освещенности при эксплуатации (1,3);

$m$  – число люминесцентных ламп в светильнике (2 шт);

$\eta$  – коэффициент использования, зависящий от типа светильника.

Для определения коэффициента использования светового потока рассчитывается индекс помещения  $i$  и предположительно оценивается коэффициент отражения пола  $P = 10\%$ , потолка  $P_{\text{п}} = 70\%$  и стен  $P_{\text{с}} = 50\%$ . Индекс помещения рассчитывается по формуле 32 [64]:

$$i = S/h \cdot (a + b), \quad (32)$$

где  $S$  – площадь помещения, м<sup>2</sup> (21 м<sup>2</sup>);

$h$  – высота подвеса светильника от пола, м (3,5 м);

$a$  – длина помещения, м (5,3 м);

$b$  – ширина помещения, м (4,0 м).

$$i = 21/3,5 \cdot (5,3 + 4,0) = 0,645.$$

Так как индекс  $i = 0,645$ , коэффициенты отражения пола  $P_p = 10\%$ , стен  $P_c = 50\%$ , то выбираем стандартное значение коэффициента пользования светового потока  $\eta = 0,47$ .

$$N = \frac{200 \cdot 21 \cdot 1,1 \cdot 1,3}{2 \cdot 0,47 \cdot 3120} = 2,05 \text{ шт.}$$

Вывод: для нормального освещения лаборатории требуется 2 светильника с люминесцентными лампами ЛБ 40 ( $F = 3120$  лм).

### **5.6 Экологичность объекта**

В процессе работы в лаборатории имеются жидкие выбросы, которые сбрасываются в канализацию. Поскольку мы имеем дело с малым количеством вредных веществ, выделяющихся при работе, составляет  $C(\text{HCL}) = 0,00015$  мг/м<sup>3</sup>, а ПДК HCL = 5 мг/м<sup>3</sup>, то можно считать концентрацию их в отходящем воздухе и сточной воде, не превышающей ПДК.

Загрязнение почвы не происходит, так как нет твёрдых отходов.

## 6 Технико-экономические расчёты

Целью дипломной работы является разработка способа получения пектина из свекловичного жома обработкой 0,75%-ным раствором щавелевой кислоты в лабораторных условиях, изучение физико-химических свойств и структурных характеристик; получение металлокомплексов цитрусового пектина с ионами железа.

Работа носит поисково-исследовательский характер, поэтому экономические расчёты сводятся к определению суммы затрат на проведение научно-исследовательской работы. В неё входят затраты на основные и вспомогательные материалы, электроэнергию, амортизацию оборудования, заработную плату с отчислениями на обязательные страховые взносы и накладные расходы [65].

### 6.1 Сумма затрат на основные и вспомогательные материалы

Затраты на основные и вспомогательные материалы определяются на основании абсолютного расхода материалов, используемых в работе, с учётом всех потерь, отходов, неудачных опытов.

Стоимость основных и вспомогательных материалов (реактивов, растворителей) принимается по ценникам. Результаты расчётов сводятся в таблицу 26.

Таблица 26 – Затраты на основные и вспомогательные материалы

Наименование материала	Единица измерения	Количество	Цена, руб	Сумма, руб
1	2	3	4	5
1. H <sub>2</sub> O дист.	л	3	17,00	51,00
2. Щавелевая кислота	л	1	87,00	87,00

Продолжение таблицы 26

1	2	3	4	5
3. Этанол	л	2	80,00	160,00
4. Хлорид кальция	кг	0,15	1000,00	150,00
5. Соляная кислота	кг	0,15	27,00	4,00
6. Уксусная кислота	л	0,1	50,00	5,00
7. Гидроксид натрия	л	0,3	25,00	7,50
8. Сульфат железа (II)	кг	0,0009	40,00	0,036
9. Вода	м <sup>3</sup>	1	20,59	20,59
Итого:				485,13

### 6.2 Затраты на электроэнергию и воду

По данной работе учитываются расходы, связанные с проведением лабораторных исследований, опытов и экспериментов.

Затраты на электроэнергию представлены в таблице 27.

Таблица 27 – Затраты на электроэнергию

Наименование электрооборудования	Мощность, кВт	Время работы, ч	Потребляемая электроэнергия ( $E_{\text{теор}}$ ), кВт·ч
1	2	3	4
1. Вытяжной шкаф	1,40	30	42,00
2. Весы аналитические	0,12	5	0,60
3. Магнитная мешалка	0,05	20	1,00
4. Компьютер	0,45	50,00	22,50
5. Сушильный шкаф	0,06	5	0,30



Продолжение таблицы 27

1	2	3	4
6. Ротационный испаритель	1,3	1	1,30
7. Центрифуга	1,68	2	3,36
8. Шаровая мельница	0,15	1,5	0,23
9. Холодильник	0,1	1440	144,00
Итого:			215,29

Фактический расход электроэнергии рассчитывается по формуле 33 [65]:

$$\mathcal{E} = \mathcal{E}_{\text{твор}} \cdot K_T, \quad (33)$$

где  $\mathcal{E}_{\text{твор}}$  – расход электроэнергии приборов;

$K_T$  – коэффициент использования мощности, равный 0,9.

$$\mathcal{E} = 215,29 \cdot 0,9 = 193,76 \text{ кВт}\cdot\text{ч}$$

При стоимости 1 кВт·ч электроэнергии, равной 3,78 руб., стоимость электроэнергии будет равна:

$$193,761 \cdot 3,78 = 732,42 \text{ руб.}$$

Расход воды: израсходовано во время работы 1 м<sup>3</sup> воды. Стоимость 1 м<sup>3</sup> равна 20,59 руб., тогда стоимость 1 м<sup>3</sup> воды будет равна:

$$1 \cdot 20,59 = 20,59 \text{ руб.}$$

Суммарные энергозатраты составили:

$$732,42 + 20,59 = 753,01 \text{ руб.}$$

### 6.3 Стоимость оборудования

В этом разделе определяется сумма затрат на оборудование и амортизационные суммы.

Результаты расчёта заносятся в таблицу 28.

Таблица 28 – Затраты на стационарное оборудование и амортизационные отчисления

Наименование оборудования	Количество	Стоимость, руб.	Норма амортизации, %	Сумма амортизации, руб.
1. Вытяжной шкаф	1	1500	15	225,00
2. Весы аналитические	1	39500	20	7900,00
3. Магнитная мешалка	1	22000	20	4400,00
4. Компьютер	1	45000	20	9000,00
5. Сушильный шкаф	1	26000	10	2600,00
6. Ротационный испаритель	1	75000	15	11250,00
7. Центрифуга	1	115000	15	17250,00
8. Шаровая мельница	1	3000	20	600,00
9. Холодильник	1	3000	20	600,00
Итого				53825,00

Амортизационные отчисления за время исследования определяются по формуле 34 [65]:

$$A_{\phi}^0 = \frac{\sum A_G^0 \cdot n}{12}, (34)$$

где  $\sum A_G^0$  – годовая сумма амортизационных отчислений;

$n$  – число месяцев работы оборудования при проведении данного исследования.

$$A_{\phi}^0 = \frac{53825 \cdot 2}{12} = 8970,83 \text{ руб.}$$

## 6.4 Затраты на прямые прочие расходы

Затраты на химическую посуду представлены в таблице 29.

Таблица 29 – Затраты на химическую посуду

Наименование лабораторной посуды	Количество	Стоимость, руб.	Сумма, руб.
1. Пипетка на 5 мл	2	35,00	70,00
2. Пипетка на 10 мл	2	40,00	80,00
3. Колба мерная на 250 мл	2	75,00	150,00
4. Колба мерная на 500 мл	1	100,00	100,00
5. Колба мерная на 1000 мл	1	135,00	135,00
6. Цилиндр мерный на 25 мл	1	60,00	60,00
7. Цилиндр мерный на 50 мл	1	70,00	70,00
8. Цилиндр мерный на 100 мл	1	85,00	85,00
9. Бюретка 25 мл	2	1020,00	2040,00
10. Воронка	2	93,00	186,00
Итого:			2976,00

## 6.5 Фонд заработной платы

Заработная плата должна отражать стоимость труда, затраченного на выполнение научно-исследовательской работы.

Стипендия студента-дипломника за 2 месяца составляет:

$$З_1 = 8250 \cdot 2 = 16500,00 \text{ руб.}$$

Заработная плата руководителя и консультантов рассчитывается, исходя из нормы времени и стоимости одного часа по формуле 35 [65]:

$$З_p = \frac{З_m \cdot N^1}{N}, (35)$$

где  $Z_p$  – зарплата руководителя или консультантов за одну дипломную работу;

$Z_m$  – месячная заработная плата руководителя или консультанта;

$N^1$  – норма времени руководителя или консультанта, приходящаяся на одну дипломную работу;

$N$  – среднемесячная нагрузка руководителя или консультанта.

Заработная плата руководителя:

$$Z_2 = \frac{30000 \cdot 14}{90} = 4667,00 \text{ руб.}$$

Заработная плата консультанта по экономике:

$$Z_3 = \frac{30000 \cdot 0,5}{90} = 167,00 \text{ руб.}$$

Заработная плата консультанта по безопасности и экологии:

$$Z_4 = \frac{30000 \cdot 0,5}{90} = 167,00 \text{ руб.}$$

Заработная плата консультанта по метрологии:

$$Z_5 = \frac{30000 \cdot 0,5}{90} = 167,00 \text{ руб.}$$

Сумма расходов рассчитывается по формуле 36 [65]:

$$\sum Z = Z_1 + Z_2 + Z_3 + Z_4 + Z_5, (36)$$

$$\sum Z = 16500,00 + 4667,00 + 3 \cdot 167,00 = 21668,00 \text{ руб.}$$

Обязательные страховые взносы составляют 30% от суммарного расхода заработной платы руководителя и консультантов, рассчитываются по формуле 37 [65]:

$$Z = Z_2 + Z_3 + Z_4 + Z_5 \cdot 0,3, (37)$$

$$Z = (4667,00 + 3 \cdot 167) \cdot 0,3 = 5168,00 \text{ руб.}$$

Накладные расходы принимают в размере 50% от суммы заработной платы и составляют: 10834,00 руб.

## 6.6 Затраты на проведение научно-исследовательской работы

Результаты расчёта затрат на проведение научно-исследовательской работы сводятся в таблицу 30.

Таблица 30 – Сводная смета затрат на проведение научно-исследовательской работы

Наименование затрат	Сумма, руб.	Процент к итогу, %
1. Основные и вспомогательные материалы	485,13	0,95
2. Энергозатраты	753,01	1,48
3. Амортизационные отчисления	8970,83	17,63
4. Заработная плата	21688,00	42,63
5. ОСВ	5168,00	10,16
6. Затраты на прочие прямые расходы	2976,00	5,85
7. Накладные расходы	10834,00	21,30
Итого:	50874,97	100,00

## 6.7 Контроль за выполнением научно-исследовательской работы

Для чёткого планирования и контроля за выполнением отдельных этапов научно-исследовательской работы целесообразно составить сетевой график проведения всего комплекса исследований.

Расчёт параметров сетевого графика представлен в таблице 31. Дипломная работа проводилась в соответствии с сетевым графиком, представленным на рисунке 34. Исходя из сетевого графика, рассчитывается длина критического пути, имеющего наибольшую продолжительность выполнения работы. Критический путь проведения научно-исследовательской работы составил 55 дней.

Таблица 31 – Расчёт параметров сетевого графика

Номер и наименование работы	Код работы	Продолжительность работ	Раннее		Позднее		Полный резерв
			начало	окончание	начало	окончание	
1	2	3	4	5	6	7	8
1. Получение задания и инструктаж по ТБ	0-1	1	0	1	0	1	0
2. Составление плана НИР	1-2	1	1	2	1	2	0
3. Проведение патентных исследований	2-3	1	2	3	2	3	0
4. Ознакомление с литературой и написание литературного обзора	3-4	15	3	18	3	18	0
5. Ознакомление с техникой лабораторных работ	4-5	1	18	19	18	19	0
6. Проведение эксперимента	5-6	23	19	42	19	42	0
7. Обработка и обсуждение результатов эксперимента	6-7	2	42	44	42	44	0

Продолжение таблицы 31

1	2	3	4	5	6	7	8
8. Расчёт экономической части	7-8	2	44	46	45	47	1
9. Расчёт метрологической части	8-9	2	46	48	47	49	1
10. Расчёт безопасности, экологичности работы	9-10	2	48	50	49	51	1
11. Написание экспериментальной части	7-11	5	44	49	44	49	0
12. Оформление графиков, таблиц и написание списка литературы	11-12	2	49	51	49	51	0
13. Проверка работы руководителем	12-13	2	51	53	51	53	0
14. Проверка работ руководителями	10-13	2	50	52	51	53	1
14. Отзыв рецензента	13-14	1	53	54	53	54	0
15. Предварительная защита	14-15	1	54	55	54	55	0

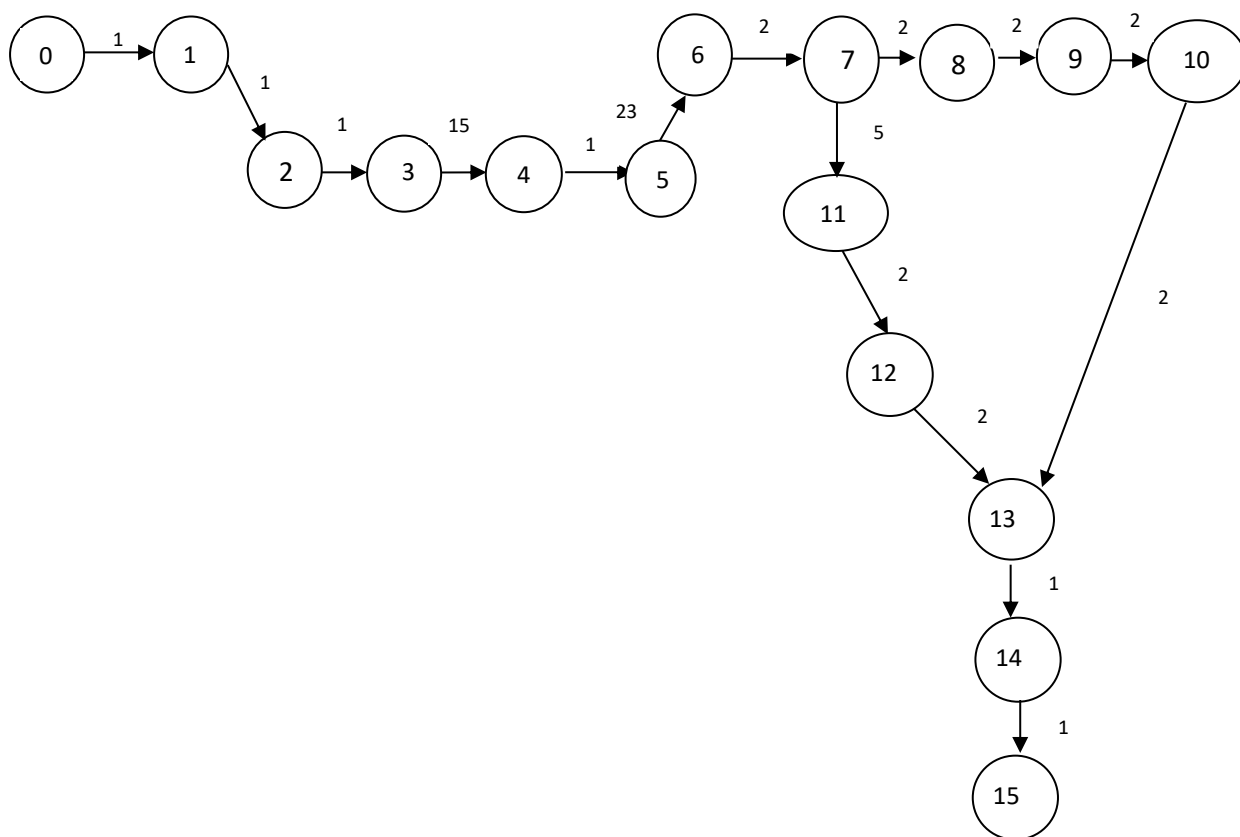


Рисунок 34 – Сетевой график: продолжительность критического пути 55 дней

Общая сумма затрат на выполнение данной работы составила 50874,97 руб. Наибольшая сумма затрат приходится на заработную плату (стипендия и зарплата руководителя и консультантов по экономике). Данная работа носит фундаментальный характер, поэтому рассчитать экономический эффект на данном этапе не представляется возможным



## Заключение

Проведённый обзор литературы позволил ознакомиться с основными технологическими процессами и перспективными методами получения и модификации пектиновых полисахаридов, методами исследования их свойств в производстве пектиновых веществ и областью применения.

Найдены рациональные параметры процесса гидролиза-экстракции пектина из свекловичного жома: 0,75%-ный раствор щавелевой кислоты, температура 75 °С, гидромодуль 1:5, продолжительность 7 ч, обеспечивающие выход свекловичного пектина на воздушно-сухую массу сырья, равный 12,30%. Экспериментально показано, что повышение температуры на 10 °С при обработке свекловичного жома 0,75%-ным раствором щавелевой кислоты позволяет увеличить выход пектина на воздушно-сухую массу сырья, т.е. повышает эффективность процессов гидролиза-экстракции пектина из свекловичного жома.

На основе цитрусового пектина комплексобразованием с ионами железа получен пектиновый металлокомплекс натрий-, железо-полигалактуронат, перспективный для лечения и профилактики железодефицитной анемии.

Данная работа позволила получить новые знания и опыт, углубить необходимые навыки и повысить компетенцию в области биотехнологии.

## Выводы

В ходе выполнения дипломной работы согласно поставленной цели, получены следующие результаты:

1. Проанализирована литература по теме «Номенклатура и химическая структура пектиновых веществ, способы получения и модификации, свойства и применение».

2. Экспериментально исследован процесс гидролиз-экстракции пектина из свекловичного жома обработкой при следующих условиях: 0,75%-ный раствор щавелевой кислоты, температура 75 °С, гидромодуль 1:5, продолжительность 7 ч. Проведён аналитический расчёт по определению выхода свекловичного пектина на воздушно-сухую массу сырья, он составил 12,30%.

3. Исследованы закономерности комплексообразования цитрусового пектина с ионами железа и получен пектиновый металлокомплекс с ионами железа – натрий-, железо-полигалактуронат (ПГNaFe) с содержанием железа 2,63%.

4. Методом ИК спектроскопии идентифицированы свекловичный пектин, пектат натрия и пектиновый металлокомплекс с ионами железа (ПГNaFe), а также цитрусовый пектин.

5. Исследованы физико-химические свойства полученного свекловичного пектина в соответствии с ГОСТ 29186-91: СЭ = 51,32%, М.М. = 19,72 кДа.

6. Исследованы физико-химические свойства пектата натрия и натрий-, железо-полигалактуроната: а) ПГNa –  $[\alpha]_D^{20} = +171^\circ$  (С 0,5; H<sub>2</sub>O),  $\nu = 1,43$  мм<sup>2</sup>/с, М.М. = 10,25 кДа; б) ПГNaFe (20%) –  $[\alpha]_D^{20} = +171^\circ$  (С 0,5; H<sub>2</sub>O),  $\nu = 1,40$  мм<sup>2</sup>/с, М.М. = 9,86 кДа.

## Список использованных источников

1. Minzanova S.T., Mironov V.F., Arkhipova D.M., Khabibullina A.V., Mironova L.G., Zakirova Y.M. Milyukov V.A. Biological Activity and Pharmacological Application of Pectic Polysaccharides: A Review // *Polymers*. 2018. V. 10 (12). – P. 1407.
2. Minzanova S.T., Mironov V.F., Vyshtakalyuk A.B., Tsepaeva O.V., Mindubaev A.Z., Konovalov A.I. et al. Scientific grounds and process aspects for the production of polygalacturonate with  $\text{Ca}^{2+}$  and  $\text{Fe}^{2+}$  ions // *Dokl. Chem.* 2009. N. 429 (1). – P. 297-300.
3. Донченко Л.В. Пектин: основные свойства, производство и применение / Л.В. Донченко, Г.Г. Фирсов. – Москва: ДеЛи принт. 2007. – 276 с.
4. Королёв Фарм: контрактное производство и упаковка [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.korolevpharm.ru/dokumentatsiya/syevuye-komponenty/pektiny.html> (дата обращения: 13.04.2019).
5. ГОСТ Р 51806-2001 Пектин. Термины и определения. Изменение N 1 (внесено изготовителем базы данных по тексту ИУС N 3), 2011.
6. Пектин. Производство и применение / Н.С. Карпович [и др.]; общ. ред. Н.С. Карповича. – Киев: Изд-во «Урожай», 1989. – 89 с.
7. Diabet-Help Guru: профилактика и лечение [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://diabethelp.guru/pitanie/produkty/pektin.html> (дата обращения: 13.04.2019).
8. Аверьянова Е.В. Пектин: методы выделения и свойства: методические рекомендации к выполнению лабораторных работ для студентов направлений подготовки «Биотехнология», «Продукты питания из растительного сырья», магистрантов направления подготовки «Продукты питания из растительного сырья» / Е.В. Аверьянова, М.Н. Школьникова. – Бийск: Изд-во Алт. гос. техн. ун-та, БТИ, 2015. – 42 с.

9. Florina Dranca, Mircea Oroian. Extraction, purification and characterization of pectin from alternative sources with potential technological applications // Suceava, Romania, 2018. N. 113. – P. 100. doi: 10.1016/j.foodres.2018.06.065.
10. Constenla, D., Ponce, A. G., & Lozano, J. E. Effect of Pomace Drying on Apple Pectin // LWT – Food Science and Technology, 2002. V. 35(3). – P. 216-221. <https://doi.org/10.1006/fstl.2001.0841>.
11. Kumar, A., & Chauhan, G. S. Extraction and characterization of pectin from apple pomace and its evaluation as lipase (steapsin) inhibitor // Carbohydr. Polym., 2010. V. 82(2). – P. 454-459. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.05.001>.
12. Wikiera, A., Mika, M., Starzyńska-Janiszewska, A., & Stodolak, B. Endo-xylanase and endo-cellulase-assisted extraction of pectin from apple pomace // Carbohydr. Polym., 2016. V. 142. – P. 199-205. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.01.063>.
13. Naghshineh, M., Olsen, K., & Georgiou, C. A. Sustainable production of pectin from lime peel by high hydrostatic pressure treatment // Food Chem., 2013. V. 136(2). – P. 472-478. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.08.036>.
14. Dominiak, M., Søndergaard, K. M., Wichmann, J., Vidal-Melgosa, S., Willats, W. G. T., Meyer, A. S., & Mikkelsen, J. D. Application of enzymes for efficient extraction, modification, and development of functional properties of lime pectin // Food Hydrocolloids, 2014. N. 40. – P. 273-282. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.03.009>.
15. Methacanon, P., Krongsin, J., & Gamonpilas, C. Pomelo (*Citrus maxima*) pectin: Effects of extraction parameters and its properties // Food Hydrocolloids, 2014. N. 35. – P. 383-391. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.06.018>.
16. Wang, X., Chen, Q., & Lü, X. Pectin extracted from apple pomace and citrus peel by subcritical water // Food Hydrocolloids, 2014. N. 38. – P. 129-137. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.12.003>.
17. Boukroufa, M., Boutekedjiret, C., Petigny, L., Rakotomanomana, N., & Chemat, F. Bio-refinery of orange peels waste: A new concept based on integrated green and solvent free extraction processes using ultrasound and microwave techniques to

- obtain essential oil, polyphenols and pectin // *Ultrasonics Sonochem.*, 2015. N 24. – P. 72-79. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2014.11.015>.
18. Wang, W., Ma, X., Xu, Y., Cao, Y., Jiang, Z., Ding, T., ... Liu, D. Ultrasound assisted heating extraction of pectin from grapefruit peel: Optimization and comparison with the conventional method // *Food Chem.*, 2015. N. 178. – P. 106-114. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.01.080>.
19. Hosseini, S. S., Khodaiyan, F., & Yarmand, M. S. Aqueous extraction of pectin from sour orange peel and its preliminary physicochemical properties // *Int. J. of Biol. Macromol.*, 2016. N. 82. – P. 920-926. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.11.007>.
20. Liew, S. Q., Ngoh, G. C., Yusoff, R., & Teoh, W. H. Sequential ultrasound-microwave assisted acid extraction (UMAE) of pectin from pomelo peels // *Int. J. of Biol. Macromol.*, 2016. N. 93. – P. 426-435. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.08.065>.
21. Li, D. Q., Du, G. M., Jing, W. W., Li, J. F., Yan, J. Y., & Liu, Z. Y. Combined effects of independent variables on yield and protein content of pectin extracted from sugar beet pulp by citric acid // *Carbohydr. Polym.*, 2015. N. 129. – P. 108-114. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.04.058>.
22. Chen, H. M., Fu, X., & Luo, Z. G. Properties and extraction of pectin-enriched materials from sugar beet pulp by ultrasonic-assisted treatment combined with subcritical water // *Food Chem.*, 2015. N. 168. – P. 302-310. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.07.078>.
23. Guo, X., Meng, H., Zhu, S., Tang, Q., Pan, R., & Yu, S. Stepwise ethanolic precipitation of sugar beet pectins from the acidic extract // *Carbohydr. Polym.*, 2016. N. 136. – P. 316-321. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.09.003>.
24. Del Valle, M., Cámara, M., & Torija, M. E. Chemical characterization of tomato pomace // *J. of the Sci. of Food and Agriculture*, 2006. V. 86(8). – P. 1232,1236. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2474>.
25. Grassino, A. N., Halambek, J., Djaković, S., Rimac Brnčić, S., Dent, M., & Grabarić, Z. Utilization of tomato peel waste from canning factory as a potential

- source for pectin production and application as tin corrosion inhibitor // *Food Hydrocolloids*, 2016. N. 52. – P. 265-274. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.06.020>.
26. Müller-Maatsch, J., Bencivenni, M., Caligiani, A., Tedeschi, T., Bruggeman, G., Bosch, M., Sforza, S. Pectin content and composition from different food waste streams // *Food Chem.*, 2016. V. 201. – P. 37-45. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.01.012>.
27. Christiaens, S., Uwibambe, D., Uyttebroeck, M., Van Droogenbroeck, B., Van Loey, A. M., & Hendrickx, M. E. Pectin characterisation in vegetable waste streams: A starting point for waste valorisation in the food industry // *LWT - Food Science and Technology*, 2015. V. 61(2). – P. 275-282. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.12.054>.
28. Jafari, F., Khodaiyan, F., Kiani, H., & Hosseini, S. S. Pectin from carrot pomace: Optimization of extraction and physicochemical properties // *Carbohydr. Polym.*, 2017. N. 157. – P. 1315-1322. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.11.013>.
29. Banerjee, J., Singh, R., Vijayaraghavan, R., MacFarlane, D., Patti, A. F., & Arora, A. Bioactives from fruit processing wastes: Green approaches to valuable chemicals // *Food Chem.*, 2017. V. 225. – P. 10-22. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.12.093>.
30. Petkowicz, C. L. O., Vriesmann, L. C., & Williams, P. A. Pectins from food waste: Extraction, characterization and properties of watermelon rind pectin // *Food Hydrocolloids*, 2017. N. 65. – P. 57-67. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.10.040>.
31. Wang, M., Huang, B., Fan, C., Zhao, K., Hu, H., Xu, X., ... Liu, F. Characterization and functional properties of mango peel pectin extracted by ultrasound assisted citric acid // *Int. J. of Biol. Macromol.*, 2016. N. 91. – P. 794-803. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.06.011>.
32. Kliemann, E., De Simas, K. N., Amante, E. R., Prudêncio, E. S., Teófilo, R. F., Ferreira, M. M. C., & Amboni, R. D. M. C. Optimisation of pectin acid extraction from passion fruit peel (*Passiflora edulis flavicarpa*) using response surface

- methodology // *Int. J. of Food Science and Technology*, 2009. V. 44(3). – P. 476-483. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2008.01753.x>.
33. Freitas de Oliveira, C., Giordani, D., Lutckemier, R., Gurak, P. D., Cladera-Olivera, F., & Ferreira Marczak, L. D. Extraction of pectin from passion fruit peel assisted by ultrasound // *LWT - Food Science and Technology*, 2016. N. 71. – P. 110-115. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.03.027>.
34. Happi Emaga, T., Ronkart, S. N., Robert, C., Wathelet, B., & Paquot, M. Characterisation of pectins extracted from banana peels (*Musa AAA*) under different conditions using an experimental design // *Food Chem.*, 2008. V. 108(2). – P. 463-471. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2007.10.078>.
35. Maran, J. P., Priya, B., Al-Dhabi, N. A., Ponmurugan, K., Moorthy, I. G., & Sivarajasekar, N. Ultrasound assisted citric acid mediated pectin extraction from industrial waste of *Musa balbisiana* // *Ultrasonics Sonochem.*, 2017. N. 35. – P. 204-209. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2016.09.019>.
36. Košťálová, Z., Aguedo, M., & Hromádková, Z. Microwave-assisted extraction of pectin from unutilized pumpkin biomass // *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, 2016. N. 102. – P. 9-15. <https://doi.org/10.1016/j.cep.2015.12.009>.
37. Пектины из нетрадиционных источников: технология, структура, свойства и биологическая активность / С.Т. Минзанова [и др.]; общ. ред. С.Т. Минзановой. – Казань: Изд-во «Печать – Сервис – XXI век», 2011. – 224 с.
38. Файловый архив студентов [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://studfiles.net/preview/4590357/page:5/> (дата обращения: 13.04.2019).
39. Mashkovskij, M. *Medicinal Preparations*, 16th ed.; Novaya Volna: Moscow, Russia, 2012. – С. 1216; ISBN 978-5-7864-0230-9.
40. Vogt, L.M.; Sahasrabudhe, N.M.; Ramasamy, U.; Meyer, D.; Pullens, G.; Faas, M.M.; Venema, K.; Schols, H.A.; Vos, P. The impact of lemon pectin characteristics on TLR activation and T84 intestinal epithelial cell barrier function // *J. Funct. Foods*, 2016. N. 22. – С. 398-407.

41. Liu, Y.; Dong, M.; Yang, Z.; Pan, S. Anti-diabetic effect of citrus pectin in diabetic rats and potential mechanism via PI3K/Akt signaling pathway // *Int. J. Biol. Macromol.*, 2016. N. 89. – P. 484-488.
42. Chuang, E.-Y.; Lin, K.-J.; Su, F.-Y.; Mi, F.-L.; Maiti, B.; Chen, C.-T.; Wey, S.-P.; Yen, T.-C.; Juang, J.-H.; Sung, H.-W. Noninvasive imaging oral absorption of insulin delivered by nanoparticles and its stimulated glucose utilization in controlling postprandial hyperglycemia during OGTT in diabetic rats // *J. Control. Release*, 2013. N. 172. – P. 513-522.
43. Xiao, Z.-Q.; Wang, Y.-L.; Yue, Y.-D.; Zhang, Y.-T.; Chen, C.-P.; Wan, L.-S.; Deng, B.; Liu, Z.-X.; Chen, J.-C. Preventive effects of polysaccharides from *Liriope spicata* var. *prolifera* on diabetic nephropathy in rats // *Int. J. Biol. Macromol.*, 2013. N. 61. – P. 114-120.
44. Xu, X.; Shan, B.; Liao, C.-H.; Xie, J.-H.; Wen, P.-W.; Shi, J.-Y. Anti-diabetic properties of *Momordica charantia* L. polysaccharide in alloxan-induced diabetic mice // *Int. J. Biol. Macromol.*, 2015. N. 81. – P. 538-543.
45. Palou, M.; Sánchez, J.; García-Carrizo, F.; Palou, A.; Picó, C. Pectin supplementation in rats mitigates age-related impairment in insulin and leptin sensitivity independently of reducing food intake // *Mol. Nutr. Food Res.*, 2015. N. 59. – P. 2022-2033.
46. Vareda, P.M.P.; Saldanha, L.L.; Camaforte, P.N.A.; Violato, N.M.; Dokkedal, A.L.; Bosqueiro, J.R. Myrcia bella leaf extract presents hypoglycemic activity via PI3k/Akt insulin signaling pathway. *Evid. Based Complement // Alternat. Med.*, 2014. – P. 1-11.
47. Wang, Y.; Wang, J.; Zhao, Y.; Hu, S.; Shi, D.; Xue, C. Fucoindan from sea cucumber *Cucumaria frondosa* exhibits anti-hyperglycemic effects in insulin resistant mice via activating the PI3K/PKB pathway and GLUT4. // *J. Biosci. Bioeng*, 2016. N. 121. – P. 36-42.
48. Popov, S.V.; Markov, P.A.; Popova, G.Y.; Nikitina, I.R.; Efimova, L.; Ovodov, Y.S. Anti-inflammatory activity of low and high methoxylated citrus pectins // *Biomed. Prevent. Nutr.*, 2013. N. 3. – P. 59-63.



49. Carneiro, A.A.J.; Ferreira, I.C.; Dueñas, M.; Barros, L.; Silva, R.D.; Gomes, E.; Santos-Buelga, C. Chemical composition and antioxidant of dried powder formulations of *Agaricus blazei* and *Lentinusedodes* // *Food Chem.*, 2013. N. 138. – P. 2168-2173.
50. Wang, J.; Hu, S.; Nie, S.; Yu, Q.; Xie, M. Reviews on mechanisms of *in vitro* antioxidant activity of polysaccharides // *Oxid. Med. Cell. Longev*, 2016. – P. 1-13.
51. Yan, C.Y.; Kong, F.S.; Zhang, D.Z.; Cui, J.X. Anti-glycated and antiradical activities *in vitro* of polysaccharides from *Ganoderma capense* // *Pharmacogn. Mag*, 2013. N. 9. – P. 23-27.
52. Gyawali, R.; Ibrahim, S.A. Natural products as antimicrobial agents // *Food Control*, 2014. N. 46. – P. 412-429.
53. Mashkovskij, M. Medicinal Preparations, 16th ed.; Novaya Volna: Moscow, Russia, 2012; ISBN 978-5-7864-0230-9.
54. MedInfo.Social. Реферат: Баланс микро- и макроэлементов в организме человека (2017) [Электронный ресурс]. – Режим доступа: [https://medinfo.social/biologiya\\_1015/balans-mikro-makroelementov-organizme.html](https://medinfo.social/biologiya_1015/balans-mikro-makroelementov-organizme.html) (дата обращения: 23.03.2020).
55. Helpiks.org. Статья: Микроэлементозы человека [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://helpiks.org/6-1816.html> (дата обращения: 23.03.2020).
56. Аляутдин Р.Н. Фармакология [Электронный ресурс]: учебник / Р. Н. Аляутдин, Н. Г. Преферанский, Н. Г. Преферанская / Под ред. Р.Н. Аляутдина; Консультант студента (ЭБС). – 2 изд., переаб. И доп. – М.: ГЭОТАР - Медиа, 2016. – Режим доступа: <http://www.medcollegelib.ru>. (дата обращения: 23.03.2020).
57. Железо в организме человека [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://zdips.ru/zdorovoe-pitanie/mineraly/1639-zhelezo-v-organizme-cheloveka.html>, (дата обращения: 23.03.2020), <http://fb.ru/article/158925/boligolov-pri-rake-primen> (дата обращения: 23.03.2020).

58. Якупова В.Т. Влияние микроэлемента железа на организм человека / В.Т. Якупова, Д.Р. Везирова. – Волгоград: статья в журнале Поиск (Волгоград): Изд-во Волгоградский филиал Автономной некоммерческой организации высшего образования Московского гуманитарно-экономического ун-та, 2019. – 74-77 с.
59. Государственная Фармакопея СССР: Вып. 1. Общие Г72 методы анализа/ МЗ СССР. – 11-е изд., доп. – М.: Медицина, 1987. – 336 с., ил.
60. ГОСТ 8756.2-70. Продукты пищевые консервированные. Методы определения содержания сухих веществ. – М.: Изд-во стандартов.
61. ГОСТ 29186-91. Пектин. Технические условия. – М.: Изд-во стандартов.
62. ГОСТ Р 8.736-2011 «Государственная система обеспечения единства измерений (ГСИ). Измерения прямые многократные. Методы обработки результатов измерений. Основные положения». – М.: Стандартинформ, 2019.
63. Пожарная опасность веществ, и материалов, применяемых в химической промышленности: справочник / Казан. гос. технол. ун-т; под ред. И.В. Рябова. – Казань, 1970. – 336 с.
64. Справочник по технике безопасности / под ред. П.А. Долина. – М.: Энергоатомиздат, 1984. – 824 с.
65. Стрекалова Г.Р. Экономическое обоснование научно-исследовательских дипломных работ: методические указ. для технико-экономических расчетов / Г.Р. Стрекалова, О.В. Газизова, Г.И. Рахимова; Казан. гос. технол. ун-т. – Казань, 2004. – 36 с.