

ВЫДЕЛЕНИЕ И ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПЕКТИНОВЫХ ВЕЩЕСТВ В ПЛОДАХ И КОРНЕПЛОДАХ ДЛЯ ПРОЕКТИРОВАНИЯ ШКОЛЬНОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

Выпускная квалификационная работа магистра

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	3
ГЛАВА 1. ХАРАКТЕРИСТИКА ПЕКТИНОВЫХ ВЕЩЕСТВ	7
1.1. Биологически активные вещества.....	7
1.2. Строение и классификация пектиновых веществ.....	8
1.3. Свойства и функции пектиновых веществ.....	15
1.4. Получение и применение пектиновых веществ.....	17
1.5. Значение пектиновых веществ для здоровья человека.....	31
ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	37
2.1. Выделение и определение пектиновых веществ.....	37
2.2. Статистическая обработка полученных результатов.....	38
ГЛАВА 3. ПРОЕКТИРОВАНИЕ ШКОЛЬНОГО ИССЛЕДОВАНИЯ ПО ТЕМЕ «ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ПЕКТИНОВЫХ ВЕЩЕСТВ В РАЗЛИЧНЫХ ФРУКТАХ, ОВОЩАХ И ЯГОДАХ»	44
3.1. Программа организации учебно-исследовательской работы школьника по изучению пектиновых веществ.....	44
3.2. Организация деятельности учащегося по проведению исследования «Содержание пектиновых веществ в овощах, фруктах и ягодах».....	51
3.3. Методические рекомендации для проведения практических и теоретических занятий по изучению пектиновых веществ.....	52
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	63

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	65
ПРИЛОЖЕНИЕ	72

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность: в связи с увеличением заболеваний, обусловленных загрязнением окружающей среды, особую актуальность приобретает создание лекарственных средств антитоксического действия. Наиболее перспективным в сложившейся ситуации является поиск детоксицирующих лекарственных средств натурального происхождения.

К природному эффективному средству детоксикации относятся пектины. Они представляют собой природные полисахариды, которые содержатся почти во всех растениях. Как вещество пектин был открыт более 200 лет назад и впервые получен из корнеплода топинамбура. На территории России наиболее распространённым пектинсодержащим сырьём являются яблоки, сахарная свёкла, цитрусовые, подсолнечник, клубни топинамбура и др.

Пектиновые вещества выполняют важную роль в организме человека. Они осуществляют связывание токсинов и тяжёлых металлов, гелеобразование. Также установлено, что пектины, поступающие в толстый кишечник, являясь низкокалорийными углеводами и легкорастворимыми балластными веществами, становятся хорошим источником энергии для представителей нормальной кишечной микрофлоры. Пектины также увеличивают секрецию ряда ферментов и гормонов, являются мощным антиоксидантом, защищая слизистую от

повреждения таких окислителей, как пероксид-, супероксид-, гидроксил-радикалы. Поэтому исследования в данной области являются актуальными.

Объектом исследования являются плоды и корнеплоды овощей и фруктов.

Предметом исследования является содержание пектина в различных плодах и корнеплодах овощей и фруктов.

Целью исследования является определение содержания пектиновых веществ в свежих и замороженных плодах и корнеплодах, реализуемых в торговых точках города Иркутска.

Задачи исследования:

- 1) Познакомиться с информацией о пектине в научной литературе и других источниках;
- 2) Определить количественное содержание пектиновых веществ в свежих и замороженных плодах и корнеплодах;
- 3) Провести статистическую обработку результатов эксперимента, сформулировать выводы;
- 4) Разработать алгоритм организации исследовательской работы для школьников 6-8 классов по данной теме.

Методы исследования: теоретический и экспериментальный. Экспериментальная часть исследования проводилась в лаборатории кафедры естественнонаучных дисциплин Педагогического института Иркутского государственного университета.

Теоретическая и практическая значимость: материалы данного исследования могут быть использованы при организации исследовательской работы школьников в 6-8 классах по теме «Выделение и определение пектиновых веществ в плодах и корнеплодах».

Результаты работы могут быть использованы другими экспериментаторами в сравнительных целях.

ГЛАВА 1. ХАРАКТЕРИСТИКА ПЕКТИНОВЫХ ВЕЩЕСТВ

1.1. Биологически активные вещества

Пектиновые вещества, или пектины (от др.-греч. πηκτός – свернувшийся, замёрзший) – это полисахариды, образованные остатками главным образом галактуроновой кислоты. Пектиновые вещества относятся к группе неусваиваемых углеводов, они обнаружены практически во всех растениях в межклеточных тканях, клеточных стенках, листьях, овощах, фруктах и т.д. (ГОСТ 29186-91, 2004).

Благодаря своей структуре они обладают уникальными свойствами – являются эффективными природными соединениями, способными желировать растворы, связывать и выводить из организма различные токсичные вещества, ионы тяжелых металлов и радионуклидов, применяются в качестве пролонгаторов многих биологически активных и медицинских препаратов, заменителей плазмы крови, поверхностно-активных соединений, ионообменников (Донченко, 2007).

Все растения являются носителями биологически активных веществ, которые содержатся в них в малых количествах, но составляют наибольшую ценность растения, так как именно они обладают целебными свойствами. Эти чудодейственные соединения в медицине называют «физиологически активными», «фармакологически активными» или «действующими» веществами.

Поскольку в используемых частях растений всегда содержится целый комплекс физиологически активных веществ (ФАВ), то из их числа выделяют так называемые действующие и сопутствующие вещества. Под действующим веществом подразумевают преобладающее ФАВ, а все

остальные, содержащиеся в растении наряду с ним, являются сопутствующими, так называемые синергисты (Донченко, 2007).

Биологически активные вещества имеют разнообразный состав и относятся к различным классам химических соединений. Наиболее важными из них являются: витамины, минеральные вещества, эфирные и жирные масла, полифенольные соединения, сапонины, алкалоиды, полисахариды, органические кислоты и др. (Дегтярев, 2002).

По химическому составу вещества растений делятся на две группы: минеральные и органические; последние, в свою очередь, подразделяют на вещества первичного и вторичного синтеза. Поскольку в используемых частях растений всегда содержится целый комплекс физиологически активных веществ (ФАВ), то из их числа выделяют так называемые действующие и сопутствующие вещества.

Под действующим веществом подразумевают преобладающее ФАВ, а все остальные, содержащиеся в растении наряду с ним, являются сопутствующими, так называемые синергисты.

Биологически активные вещества имеют разнообразный состав и относятся к различным классам химических соединений. Наиболее важными из них считаются витамины, минеральные вещества, эфирные и жирные масла, полифенольные соединения, сапонины, алкалоиды, сахара, органические кислоты и др. (Созаева, 2016).

1.2. Строение и классификация пектиновых веществ

Изучением пектинов начали заниматься с конца XVIII века. В 1790 году Воклен выделил из фруктового сока и описал вещество, образующее в водном растворе студень. В самостоятельную группу веществ пектины выделил М. Браконо в 1825 году. Он же впервые ввел термин «пектин» (от

греч. *pektos* – свернувшийся), имея в виду способность описываемых гликанов разбухать в водных растворах и формировать вязкие полужидкие гели. В 1848 году Фреми разделил нативный пектин на две фракции – растворимый и нерастворимый. В 1907 году Ширх присвоил фракциям названия «гидропектин» и «протопектин» (Дегтярев, 2002).

В 1917 году стала известна мономерная основа пектина – остатки D-галактуроновой кислоты, часть из которых этерифицирована метиловым спиртом. В 1930 году Майер установил тип связей в полигалактуронане – 1-4. В 1937 году Шнайдер и Бокк показали пространственную структуру полигалактуронановой цепи, а в 1944 году комитетом Американского химического общества принята номенклатура пектиновых веществ (Донченко, 2006).

До конца 40-х годов прошлого века все пектины рассматривались как полигалактуронаны, и только в 50-е годы в их составе обнаружен другой широко представленный сахар – L-рамноза, соединенная с соседними мономерными звеньями 1-2 связями и служащая узлом разветвления полисахаридных молекул. Еще ранее, в 1940 году, из морских трав рода *Zostera* (сем. *Zosteraceae*) В.И. Мирошников выделил своеобразный пектин зостеран, содержащий необычный по строению сахар D-апиозу (апиогалактуронан). В настоящее время известны пятнадцать сахаров, остатки которых входят в состав пектинов из различных источников. Некоторые из них встречаются исключительно в составе пектинов и имеют необычную структуру. Разнообразие пектинов в природе не поддается учету, поскольку каждый вид растений вырабатывает индивидуальные, характерные для себя молекулы. Но все их природное богатство можно разделить на несколько больших классов:

- 1) гомогалактуронаны;
- 2) рамногалактуронан I;
- 3) рамногалактуронан II;

- 4) апиогалактуронаны;
- 5) ксилогалактуронаны;
- 6) кислые арабино-3,6-галактаны.

Молекулярная масса пектинов всех классов колеблется в пределах от 25 до 300 тыс.

Высокоочищенный пектин представляет собой белый мучнистый порошок, либо хрупкие пленки. При контакте с водой пектины разбухают, впитывая до 60 массовых долей воды, растворяются медленно, образуя вязкие слизистые растворы. Последние при охлаждении застывают до консистенции студня, результаты исследований влияния температуры на гидродинамические свойства пектина представлены в работе. Пектины нерастворимы в органических растворителях (существуют данные об их растворимости в 84% фосфорной кислоте и жидком аммиаке; в глицерине и формамиде пектины набухают (Охрименко, 2016).

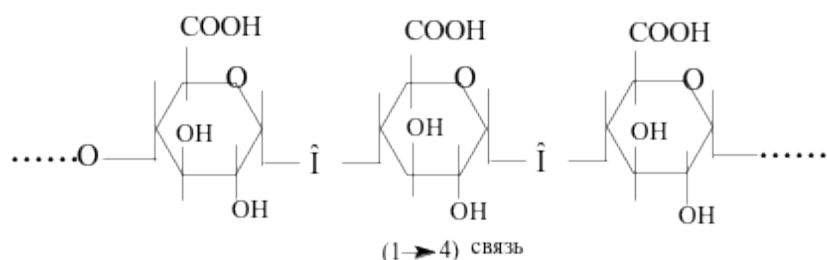
Во влажной атмосфере сухой пектин сорбирует до 20% воды. Растворимость пектина в воде зависит от ряда факторов. В смеси с сахарозой (соотношение пектина и сахарозы равняется 1:5) пектин растворяется значительно быстрее и до более высокой концентрации, чем чистый пектин. Растворимость в большой мере определяется степенью этерификации.

Высокометоксилированные пектины (степень этерификации свыше 50 %) растворимы лучше, чем низкометоксилированные. Полностью деметоксилированный пектин, полученный щелочным омылением нативного пектина с последующим осаждением кислотой (так называемая пектовая кислота), способен только набухать в воде, но нерастворим в ней. Тем не менее, натриевые, калиевые и аммонийные соли пектовой кислоты – пектаты растворимы, равно как соли органических оснований (аминов, пиридина, алкалоидов) (Созаева, 2017).

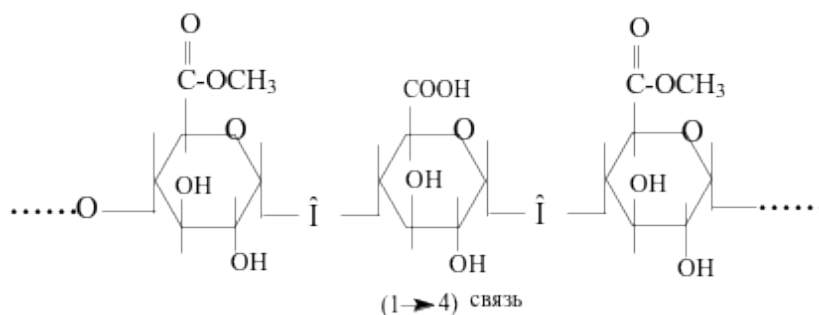
В присутствии поливалентных ионов металлов пектины осаждаются из растворов. При взаимодействии с водой полярные группы молекул пектинов гидратируются. При этом связывается около 10 молекул воды на каждое звено цепи (по три молекулы на каждую гидроксильную и четыре на карбоксильную группы). В водных растворах молекулы пектинов принимают спиральную конформацию. Подобно большинству биополимеров, пектины легко «сшиваются» в присутствии альдегидов (формальдегид, глутаровый альдегид). «Сшитый» пектин нерастворим в воде и с трудом расщепляется при ферментативной обработке.

Оптические свойства пектинов связаны с асимметрическим строением его молекул. Растворы пектина изотропны вследствие броуновского движения молекул пектиновой кислоты, не имеющих ориентации. Но, если к этим растворам приложить ориентирующее усилие, нитевидные пектиновые молекулы получают направление действующей силы и раствор становится анизотропным: при истечении наблюдается двойная рефракция. Это явление определяется линейными размерами молекул или их агрегированием (Созаева, 2017).

Пектиновые вещества, содержащиеся в растительных соках и плодах, представляют собой гетерополисахариды, построенные из остатков галактуроновой кислоты, соединенных α -(1, 4)-гликозидными связями:



Полигалактуроновая кислота чаще в той или иной степени метоксилирована (этерифицирована метиловым спиртом):



В состав пектиновых веществ наряду с мономером D-галактуроновой кислоты входят сахара D-галактоза, L-рамноза, L-арабиноза, D-ксилоза. В некоторых пектиновых веществах обнаружены D-глюкоза, D-фруктоза, 2-0-метил-L-фруктоза, 2-0-метил-D-ксилоза и др. Таким образом, пектиновые вещества являются гетерополисахаридами (Ильина, 2001).

Сахара присоединены к основной цепи полигалактуронана в виде олиго- и полисахаридных цепочек, причем остатки галактозы в них находятся в форме пиранозы и соединены между собой β -1,4-связью. Цепи галактана неразветвленные, сравнительно короткие. Цепи арабана, наоборот, длинные, разветвленные остатки арабинозы в них находятся в форме фуранозы и присоединяются к галактану по 1,3-связям. Присутствующая в растительной ткани фосфорная кислота может одновременно этерифицировать два гидроксила, принадлежащих различным цепям полигалактуронанов, и образовывать многочисленные разветвления. Последние могут возникать и при нейтрализации карбоксильных групп поливалентными катионами (Ильина, 2001).

Пектиновые вещества относительно легко разделяются на две фракции – нейтральную и кислую. Первая представлена сахаридным комплексом, вторая – полигалактуронаном (Мухидинов, 2009).

Согласно современной номенклатуре, в пектиновых веществах различают протопектин, пектин, пектиновую кислоту и пектинаты, пектовую кислоту и пектаты.

Протопектин – это нерастворимый в воде природный пектин, сложного, точно не установленного строения. Предполагают, что в состав его входят все рассмотренные выше комплексы (ГОСТ 29186-91, 2004).

Пектин (растворимый пектин) – это водорастворимые полигалактуроновые кислоты, метоксилированные в различной степени, образуется из протопектина под действием кислот, щелочей или фермента протопектиназы (ГОСТ 29186-91, 2004).

Пектиновая кислота – высокомолекулярная полигалактуроновая кислота, часть карбоксильных групп которой этерифицирована метиловым спиртом. Соли ее называются пектинатами (ГОСТ 29186-91, 2004).

Пектовая кислота получается из пектиновой кислоты в результате ее полного деметоксилирования. Растворимость пектовой кислоты меньше, чем пектиновой. Соли пектовой кислоты называются пектатами (Мухидинов, 2009).

Отдельные представители пектиновых веществ в растительных тканях располагаются неравномерно. Протопектин вместе с другими полисахаридами входит в состав клеточных стенок и срединных пластинок молодых тканей. Растворимый пектин содержится во всех частях клетки, но главным образом в клеточном соке. Жесткость незрелых плодов определяется наличием в них значительного количества протопектина. Во время созревания плодов под влиянием органических кислот и фермента протопектиназы протопектин расщепляется, при этом плод становится менее жестким (Хрундин, 2009).

Пектины, полученные из различных растительных источников, представляют собой порошки без запаха от светлокремowego до коричневого цвета. Цитрусовые пектины обычно светлее яблочных. Выделенный и очищенный пектин представляет собой белый порошок. Молекулярная масса пектина изменяется в широких пределах и колеблется

от 15 000 до 360 000. Например, яблочный пектин имеет молекулярную массу от 17 000 до 200 000, цитрусовый от 23 000 до 360 000 (Сокол, 2008).

Пектин плохо растворяется в холодной воде, лучше в горячей с образованием коллоидного раствора – золя. Растворимость пектина возрастает с уменьшением молекулярной массы и увеличением степени этерификации. Пектиновые кислоты нерастворимы в воде. Пектины из водных растворов осаждаются спиртом и другими органическими растворителями.

Во влажной атмосфере пектины могут сорбировать до 20 % воды. В избытке воды они растворяются. Пектины не растворяются в растворах с содержанием сухих веществ более 30 %. В отличие от сахарного песка, который сразу же после попадания в воду начинает растворяться, частица пектинового порошка, попав в воду, всасывает ее, словно губка, сама при этом увеличиваясь в размерах в несколько раз, и только после достижения определенного размера начинает растворяться. Если частицы пектинового порошка при соприкосновении с водой находятся близко друг к другу, то, всасывая воду и разбухая, они слипаются, образуя один большой липкий ком, чрезвычайно медленно растворяющийся в воде (Шамкова, 2005).

В водных растворах макромолекула пектина имеет спиралевидно скрученную цепь, карбоксильные группы которой расположены одна под другой. При электролитической диссоциации этих групп возникают отталкивающие силы, вследствие чего спиральная молекула выпрямляется, увеличиваются ее линейный размер и вязкость. Пектин при катафорезе осаждается на аноде, что указывает на отрицательный электрический заряд его частиц.

В присутствии сахаров и кислот пектин образует студни. Желирующая способность пектинов увеличивается с увеличением молекулярной массы и степени этерификации. Богаты метоксильными группами пектины яблок, смородины, крыжовника, цитрусовых (7-12 %).

Кислоты уменьшают диссоциацию карбоксильных групп пектинов, уменьшаются и силы отталкивания. Кроме того, сахар отнимает у пектинов часть гидратной воды. В результате устойчивость пектинового золь снижается. Определенную роль при образовании желе играют и водородные связи, возникающие между карбоксильными и гидроксильными группами. Желе может образоваться в присутствии и поливалентных катионов, например кальция, связывающего карбоксильные группы двух макромолекул пектиновой кислоты. Пектиновые вещества содержатся во всех плодах и ягодах. Особенно их много в сливах, черной смородине, черешне, яблоках, свёкле, цитрусовых и т.д (Лазарева, 1999).

Пектины довольно стойки к действию кислот, под действием щелочей они разрушаются, легко подвергаются окислительному расщеплению. Ферменты, действующие на пектины, делятся на пектинэстеразы, гидролизующие сложноэфирные группировки, отщепляя метильные группы, и полигалактуроназы, расщепляющие полигалактуронидную цепь до олигоуронидов и далее до D-галактуроновой кислоты. Эти пектиновые ферменты встречаются в микроорганизмах и растениях, используют для расщепления пектиновых веществ при осветлении фруктовых соков (Келлер, 2016).

1.3. Свойства и функции пектиновых веществ

В растительной клетке пектин выполняет функцию структурирующего агента в центральном слое клеточной стенке. Благодаря своей высокой способности к набуханию и своему коллоидному характеру пектин регулирует водный обмен растений.

Пектин, являясь не усваиваемым полисахаридом, образует группу

пищевых волокон, которые выполняют весьма важные функции в организме, такие как:

- стимулируют моторную функцию кишечника;
- препятствуют всасыванию холестерина;
- играют положительную роль в нормализации состава микрофлоры кишечника, в ингибировании гнилостных процессов;
- оказывают влияние на липидный обмен, нарушение которого приводит к ожирению;
- адсорбирует желчные кислоты (Зайко, 1997).

Кроме того, пектин обладает детоксицирующими свойствами, т.к. способен связывать токсичные элементы и радионуклиды и выводить их из человеческого организма. Это делает пектин и пектинсодержащие продукты ценной добавкой при производстве пищевых продуктов лечебно-профилактического назначения. Комплексообразующая способность пектина основана на его способности образовывать нерастворимые комплексные соединения с тяжелыми металлами и радионуклидами. Именно это свойство определяет пектин по рекомендации Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) как профилактическое средство в экологически загрязненных территориях. Профилактическая суточная доза пектина составляет 4-5 г, в условиях радиоактивного загрязнения – 15-16 г.

Важным свойством пектина, обуславливающим его применение в пищевых продуктах, является гелеобразование. Благодаря прекрасным желирующим свойствам пектин широко используется при производстве пищевых продуктов – кондитерских изделий, фруктовых желе, джемов.

Образование гелей обусловлено ассоциацией пектиновых связей с образованием трехмерной структуры, где два или более участка цепи сближаются друг с другом с регулярной частотой. Имеются различные виды ассоциаций, определяемые степенью этерификации (Ильина, 2000).

Нормальные пектины (степень этерификации 0%), как правило,

лучше образуют гели, хотя концентрация может варьировать в зависимости от вида пектина (Ильина, 2000). Желирование высокоэтерифицированных пектинов вызывается двумя факторами:

1) добавлением сахара, который вызывает дегидратацию пектиновых молекул, способствуя тем самым их сближению;

2) снижением pH среды, которое подавляет диссоциацию свободных карбоксильных групп, снижая тем самым электростатическое отталкивание цепей (Ильина, 2000).

Данный механизм описан в литературе, как «сахарно-кислотное» желирование. Он протекает при содержании сухих веществ в среде не менее 55 % и pH равной 3,0. Гели из высокоэтерифицированных пектинов могут стабилизироваться в результате возникновения водородных связей и гидрофобных взаимодействий.

Низкоэтерифицированные пектины могут образовывать гели в отсутствие сахаров, но требуют присутствия двухвалентных катионов (например, Ca^{2+}). Добавка кальция вызывает образование кальциевых мостиков, соединяющих молекулы пектина. Однако при передозировке кальция может иметь место выпадения в осадок пектата кальция. Низкоэтерифицированный пектин менее чувствителен к pH, чем стандартные пектиновые гели, для нормальных пектинов область pH 2,7-3,5, оптимум – 3,2 (Ильина и др., 2003, Михеева, 2001).