

УДК 543.645.9

UDC 543.645.9

05.00.00 Технические науки

Technical sciences

**РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ
МАССОВОЙ ДОЛИ ФРАКЦИЙ ПЕКТИНО-
ВЫХ ВЕЩЕСТВ КОНДУКТОМЕТРИЧЕСКИМ
ТИТРОВАНИЕМ****DEVELOPMENT OF THE DETERMINATION
METHODOLOGY FOR MASS PERFORMANCE
OF FRACTIONS OF PECTIN SUBSTANCES BY
CONDOMETRIC TITRATION**Ольховатов Егор Анатольевич
к.т.н., доцентOlkhovatov Egor Anatolevich
Cand.Tech.Sci., associate professorРодионова Людмила Яковлевна
д.т.н., профессорRodionova Lyudmila Yakovlevna
Dr.Sci.Tech., professorЩербакова Елена Владимировна
д.т.н., профессор
*Кубанский государственный аграрный универси-
тет, Россия*Shcherbakova Elena Vladymirovna
Dr.Sci.Tech., professor
Kuban State Agrarian University, Krasnodar, Russia

В настоящее время методы электрохимического анализа все чаще используются при решении проблем исследования количественных и качественных показателей органических веществ. Одним из распространенных электрохимических методов анализа является кондуктометрия. Наряду с прямой, часто применяют косвенную кондуктометрию, при которой анализируемые вещества перед измерением вступают в реакцию с соответствующими компонентами, а фиксируемое изменение электропроводности определяется исключительно наличием продуктов произошедшей реакции. Необходимым условием применения этого метода является наличие ионов в реакционной среде, а так как пектиновые вещества – полиэлектролиты, то это условие соблюдается, что и позволяет использовать метод кондуктометрического титрования для определения количественных и качественных характеристик пектиновых веществ. Предложенная нами методика относится к технической биохимии, а именно к определению количества пектиновых веществ в растительном сырье. Готовят «стандартизованные» растворы фракций пектиновых веществ. Отбирают пробы растворов фракций. Омыление фракций пектиновых веществ в пробах анализируемых растворов проводят 2,5 мл 40%-ного раствора NaOH. Фракции пектиновых веществ осаждают 2,5 мл концентрированной HCl. Анализируемые растворы центрифугируют в пробирках по 50 мл при частоте вращения ротора не менее 5000 об/мин в течение 5–7 мин. Суспендируют осадки фракций пектиновых веществ дистиллированной водой в стакане для титрования на магнитной мешалке не менее 30 мин. Проводят кондуктометрическое титрование суспензий осадков фракций пектиновых веществ при перемешивании. По результатам кондуктометрического титрования строят графики, по которым устанавливают объем титранта, израсходованного на титрование пектовой кислоты. Вычисление массовой доли фракций пектиновых ве-

At present, electrochemical analysis methods are increasingly used to solve the problem of research on quantitative and qualitative indicators of organic substances. One of the most common electrochemical methods of analysis is conductometry. Along with the straight line, indirect conductometry is often used, in which the substances under analysis react with the corresponding components before the measurement, and the fixed change in electrical conductivity is determined exclusively by the presence of the products of the reaction that occurred. A necessary condition for the application of this method is the presence of ions in the reaction medium, and since the pectic substances are polyelectrolytes, this condition is met, which allows us to use the conductometric titration method to determine the quantitative and qualitative characteristics of pectic substances. The technique we propose relates to technical biochemistry, namely, to the determination of the amount of pectin substances in plant raw materials. We have prepared "standardized" solutions of fractions of pectin substances. Samples of solutions of fractions are taken. Saponification of fractions of pectin substances in the samples of the solutions under analysis is carried out with 2.5 ml of 40% NaOH solution. Fractions of the pectin substances are precipitated with 2.5 ml of concentrated HCl. The solutions to be analyzed are centrifuged in 50 ml test strips at a rotor speed of at least 5000 rpm for 5-7 min. Suspensions of pectin fractions with distilled water are suspended in a beaker for titration with a magnetic stirrer for at least 30 minutes. Conductometric titration of suspensions of precipitates of fractions of pectic substances is carried out with stirring. Based on the results of conductometric titration, graphs are plotted, according to which the volume of titrant consumed for titration of pectic acid is established. Calculation of the mass fraction of fractions of pectic substances is carried out according to the formula. The methodology is distinguished by the simplicity of implementation, which makes it possible to obtain accu-

ществ осуществляют по формуле. Методику отличает простота выполнения, что позволяет получить точные данные при высокой сходимости параллельных анализов и обеспечивает экономию затрат труда и времени на всех стадиях процесса

rate data at high convergence of parallel analyzes, and it saves labor and time costs at all stages of the process.

Ключевые слова: ПЕКТИНОВЫЕ ВЕЩЕСТВА, РАЗРАБОТКА, МЕТОДИКА, ЭЛЕКТРОХИМИЯ, КОНДУКТOMETРИЯ, ТОЧКА ЭКВИВАЛЕНТНОСТИ, ГРАФИК, МАССОВАЯ ДОЛЯ ФРАКЦИЙ

Keywords: PECTIN SUBSTANCES, DEVELOPMENT, METHODS, ELECTROCHEMISTRY, CONDUCTOMETRY, EQUIVALENT POINT, SCHEDULE, MASS SHARE OF FRACTION

Doi: 10.21515/1990-4665-129-056

Введение

В настоящее время методы электрохимического анализа все чаще используются при решении проблем исследования количественных и качественных показателей органических веществ. Повышенный интерес к исследованию объектов органической природы обусловлен тем, что число их на несколько порядков выше числа неорганических веществ и их соединений. Наличие знаний соответствующего уровня в этой сфере является непременным условием успешной деятельности специалистов в области пищевых технологий, способных творчески применять и развивать различные методы аналитической химии, в том числе и методы электрохимического анализа, одним из распространенных в числе которых является кондуктометрия. Наряду с прямой, часто применяют косвенную кондуктометрию, при которой анализируемые вещества перед измерением вступают в реакцию с соответствующими компонентами, а фиксируемое изменение электропроводности определяется исключительно наличием продуктов произошедшей реакции. Необходимым условием применения этого метода является наличие ионов в реакционной среде, а так как пектиновые вещества – полиэлектролиты, то это условие соблюдается, что и позволяет использовать метод кондуктометрического титрования для определения количественных и качественных характеристик пектиновых веществ.

Материал и методика исследований

Кондуктометрические методы анализа просты, очень удобны в практическом применении, характеризуются достаточно высокой точностью, достоверностью, высокой сходимостью параллельных измерений. Они способствуют решению значимых научно-исследовательских и производственных задач, которые при решении их классическими методами химии сложны в исполнении. Как все проводники электрического тока, растворы электролитов, которыми являются и растворы пектиновых веществ, характеризуются определенным сопротивлением. Величина, обратная сопротивлению раствора, называется электропроводностью раствора электролита, Ом^{-1} . Рассматриваемые методы анализа основаны на измерении электропроводности исследуемых растворов, которая зависит от ряда факторов, в том числе от природы исследуемого вещества и концентрации его ионов в растворе: при определенных условиях возможна прямая корреляция этих показателей. Таким образом, измеряя электропроводность, можно определять количественные характеристики различных веществ, присутствующих в исследуемом растворе. Следует отметить, что этот метод обладает широкими аналитическими возможностями.

Широкое применение в аналитической практике получил метод косвенной кондуктометрии или кондуктометрического титрования – это физико-химический метод, основанный на применении титранта, избирательного к исследуемому иону. При этом в роли индикатора выступает изменение электропроводности исследуемого раствора при внесении в него титранта. И, хотя суммарная электропроводность конкретного раствора зависит от количества всех ионов, изменяться она будет лишь по причине изменения концентрации тех из них, которые в ходе титрования прореагируют с титрантом. Полученные результаты измерений применяют для построения графика зависимости в координатах «электропроводность (Ом^{-1}

или См) – объем добавленного титранта (V , мл)». Эти зависимости представляют собой кривые проведенного кондуктометрического титрования, по излому которых в точке эквивалентности определяют объем титранта, прореагировавшего с исследуемыми ионами. Точка эквивалентности на графике обнаруживается в месте пересечения двух прямых – касательных к кривым титрования: одна касательная (до точки эквивалентности) показывает изменение концентрации ионов анализируемого вещества и титранта, а другая (после точки эквивалентности) отражает повышение концентрации ионов титранта в ходе их последующего накопления в растворе.

При кондуктометрическом титровании могут быть использованы химические реакции всех типов: осаждения, комплексообразования, окислительно-восстановительные, кислотно-основного взаимодействия. Косвенную кондуктометрию применяют при исследовании состава мутных или окрашенных растворов, когда обычные химические цветопеременные индикаторы использовать невозможно. Кроме того, при применении кондуктометрического метода анализа нет необходимости осуществлять предварительную пробоподготовку. К несомненным достоинствам метода относятся также его высокая чувствительность и точность, что позволяет работать с высокоразбавленными растворами (меньше 10^{-4} моль/л) и получать результаты измерений с погрешностью, не превышающей 2 % [1, 2].

При разработке методики для исследования фракционного состава и массовой доли фракций пектиновых веществ кондуктометрическим титрованием [3] мы использовали данные, полученные общепринятыми для этого в науке методами – «объёмным» и «кальций-пектатным»; образцы пектиновых веществ из предварительно приготовленных экстрактов сырья выделяли методом спиртоосаждения [4].

Статистическую оценку достоверности полученных экспериментальных данных вели по методикам с применением офисного редактора *Microsoft Excel* [5].

Состояние проблемы

Изобретение относится к технической биохимии, а именно к определению количества пектиновых веществ в растительном сырье.

Вне зависимости от природы растительного материала и методики количественного определения содержания пектиновых веществ в нем, первым шагом всегда является приготовление «стандартизированных» растворов гидратопектина и протопектина, суть которого заключается в поэтапном и максимально полном извлечении всего гидратопектина и протопектина из растительной ткани [4, 6]. Полученные таким образом экстракты гидратопектина и протопектина исследуют одним из существующих способов.

Известна методика количественного определения пектиновых веществ, который основан на осаждении пектиновых кислот в виде кальциевых солей – пектатов – и учете их количества весовым способом («кальций-пектатный» метод).

Началу проведения анализа предшествует высушивание необходимого количества бумажных складчатых фильтров при температуре 100–105 °С до постоянной массы. Далее следует стадия омыления карбоксильных групп гидратопектина или протопектина, (в зависимости от исследуемого «стандартизованного» раствора), 0,1 н (0,4 %) раствором NaOH в течение 8–10 ч при комнатной температуре. По истечении указанного времени получают осадки пектата кальция соответствующих фракций пектина, которые отфильтровывают через заранее высушенные до постоянной массы фильтры. Затем осадки на фильтрах многократно промывают дистиллированной водой с целью снижения зольности. Фильтры с промытым осадком аккуратно переносят в бюксы и сушат при температуре 100–105 °С до постоянной массы, после чего вычисляют количество фракций пектиновых веществ исследуемого материала [6].

К недостаткам описанной методики следует отнести высокую погрешность определения, равную 0,3 %, что может быть связано с переходом в осадок пектата кальция непектиновых примесей, а также высокую трудоемкость и большую продолжительность процесса анализа (нередко появляется необходимость переделывать анализ по причине превышения массы пектата кальция 0,03 г).

Известен кондуктометрический метод количественного определения пектиновых веществ, для реализации которого к 200 мл диффузионного сока прибавляют 2 мл 40%-го раствора едкого натра, после чего смесь оставляют на 10–15 мин. при комнатной температуре. Омыленный пектин осаждают 5 мл концентрированной HCl, осадок отделяют центрифугированием при 2000 об/мин, промывают в центрифужной пробирке двукратно 0,1 н раствором HCl с последующим центрифугированием. Надосадочную жидкость сливают, осадок пектовой кислоты суспендируют в небольшом количестве дистиллированной воды, переносят из центрифужной пробирки в стакан для кондуктометрического титрования и титруют 0,2 н NaOH.

На основании полученных данных строят кривую кондуктометрического титрования, исходя из которой рассчитывают содержание пектина (г/100 мл) по формуле (1) [7]:

$$\% p = \frac{176 \cdot N \cdot V}{10 \cdot g}, \quad (1)$$

где N – нормальность титранта;

V – объем титранта, израсходованного на титрование пектовой кислоты, мл;

176 – эквивалент пектовой кислоты;

g – вес диффузионного сока, взятого для анализа.

К недостаткам данной методики можно отнести тот факт, что разработан он для анализа общего количества пектиновых веществ в жидких

объектах. Кроме того, для осаждения омыленного NaOH пектина рекомендовано избыточное количество концентрированной HCl, а приведенные параметры центрифугирования пригодны лишь для небольшого числа исследуемых объектов, так как далеко не все пектиновые вещества обладают одинаковой способностью к образованию осадка в условиях повышенного тяготения. Кроме того, к недостаткам может быть причислена необходимость двукратной промывки образовавшихся в результате центрифугирования осадков 0,1 н HCl с последующим повторным центрифугированием, что значительно увеличивает общую продолжительность анализа.

Результаты исследований

Техническим результатом нашей разработки является возможность определения массовой доли пектиновых веществ по фракциям в различных растительных объектах, сокращение затрат труда, времени и количества реактивов, необходимых для проведения анализов.

Технический результат достигается тем, что в известной методике, включающей омыление пектиновых веществ 40%-ным раствором NaOH в течение 10–15 мин., осаждение омыленных пектиновых веществ концентрированной HCl, отделение осадков центрифугированием, суспендирование полученных осадков, кондуктометрическое титрование, построение графиков, расчет массовой доли пектиновых веществ, отличающийся тем, что предварительно готовят «стандартизованные» растворы фракций пектиновых веществ, затем отбирают пробы растворов фракций, а омыление фракций пектиновых веществ в пробах анализируемых растворов проводят 2,5 мл 40%-ного раствора NaOH, фракции пектиновых веществ осаждают 2,5 мл концентрированной HCl, после чего анализируемые растворы центрифугируют в пробирках по 50 мл при частоте вращения ротора не менее 5000 об/мин в течение 5–7 мин., суспендируют осадки фракций пектиновых веществ дистиллированной водой в стакане для титрования на маг-

нитной мешалке не менее 30 мин., после чего при перемешивании проводят кондуктометрическое титрование суспензий осадков фракций пектиновых веществ, по результатам которого строят графики для установления объема титранта, израсходованного на титрование пектовой кислоты, а вычисление массовой доли фракций пектиновых веществ осуществляют по формуле (2):

$$\omega = \frac{176 \cdot 0,2 \cdot V}{10 \cdot 200} \cdot 100, \quad (2)$$

где 176 – эквивалент пектовой кислоты;

0,2 – нормальность титранта;

V – объем титранта, израсходованного на титрование пектовой кислоты, мл;

200 – объем раствора соответствующей фракции пектиновых веществ, взятого для анализа, мл;

10 – перевод в миллиэквиваленты кислоты (1 мл 0,1н NaOH соответствует 0,1 моль-экв. кислоты);

100 – коэффициент перевода в проценты.

Определения проводят в трех повторностях.

Берут навеску 10 г сухого исследуемого материала и готовят «стандартизированные» растворы гидратопектина и протопектина.

Затем из общего количества приготовленных растворов фракций пектиновых веществ отбирают пробы объемом по 200 мл, прибавляют к каждой пробе по 2,5 мл 40%-ного раствора NaOH и выдерживают при комнатной температуре 15 мин., омыляя пектиновые вещества, после чего образовавшуюся пектиновую кислоту осаждают 2,5 мл концентрированной HCl, полученные осадки отделяют от жидкой фазы центрифугированием в пробирках по 50 мл при 5000 об/мин в течение 5 мин., затем осадки фракций пектиновых веществ переносят в стаканы для титрования и суспенди-

руют в дистиллированной воде на магнитной мешалке в течение 30 минут, после чего при перемешивании проводят кондуктометрическое титрование суспензий осадков фракций пектиновых веществ (гидратопектина и протопектина), по результатам которого строят графики для установления объема титранта, израсходованного на титрование пектовой кислоты гидратопектина (рисунок 1) и протопектина (рисунок 2), а вычисление массовой доли фракций пектиновых веществ осуществляют по формуле (2).

Определение количества гидратопектина:

$$1) \omega = \frac{176 \cdot 0,2 \cdot 3,25}{10 \cdot 200} \cdot 100 = 5,72\% ;$$

$$2) \omega = \frac{176 \cdot 0,2 \cdot 3,2}{10 \cdot 200} \cdot 100 = 5,63\% ;$$

$$3) \omega = \frac{176 \cdot 0,2 \cdot 3,15}{10 \cdot 200} \cdot 100 = 5,5\% .$$

Определение количества протопектина:

$$1) \omega = \frac{176 \cdot 0,2 \cdot 15,5}{10 \cdot 200} \cdot 100 = 27,28\% ;$$

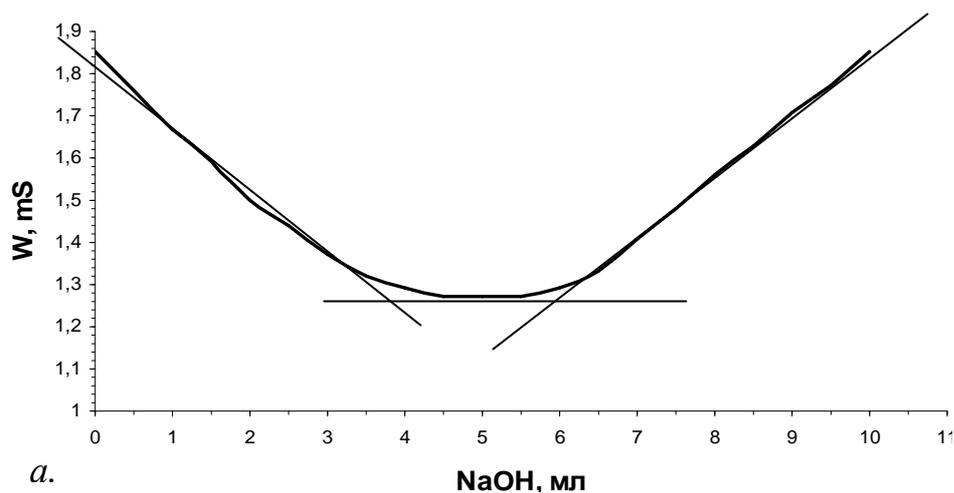
$$2) \omega = \frac{176 \cdot 0,2 \cdot 15,3}{10 \cdot 200} \cdot 100 = 26,9\% ;$$

$$3) \omega = \frac{176 \cdot 0,2 \cdot 15,7}{10 \cdot 200} \cdot 100 = 27,6\% .$$

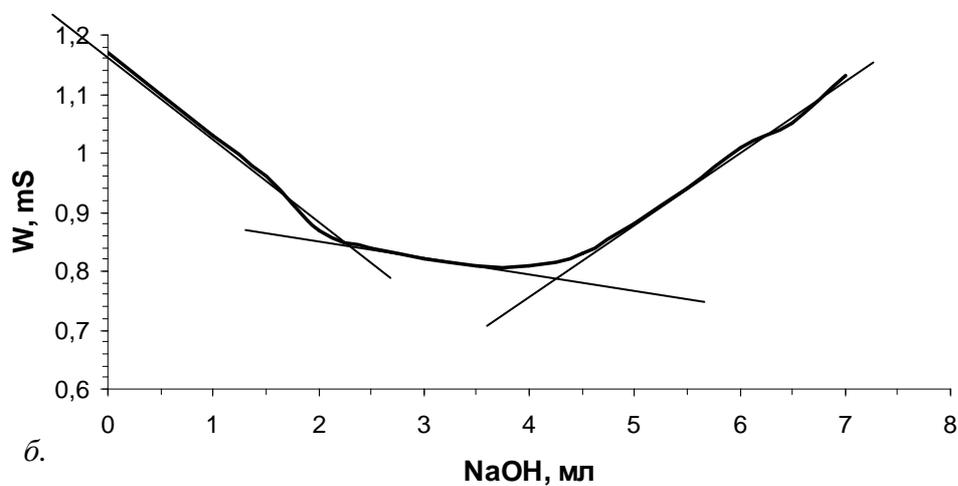
Выводы и заключения

Таким образом, в ходе проведенных исследования нами была разработана и предложена методика определения массовой доли фракций пектиновых веществ кондуктометрическим титрованием, реализуемая согласно изложенному выше принципу.

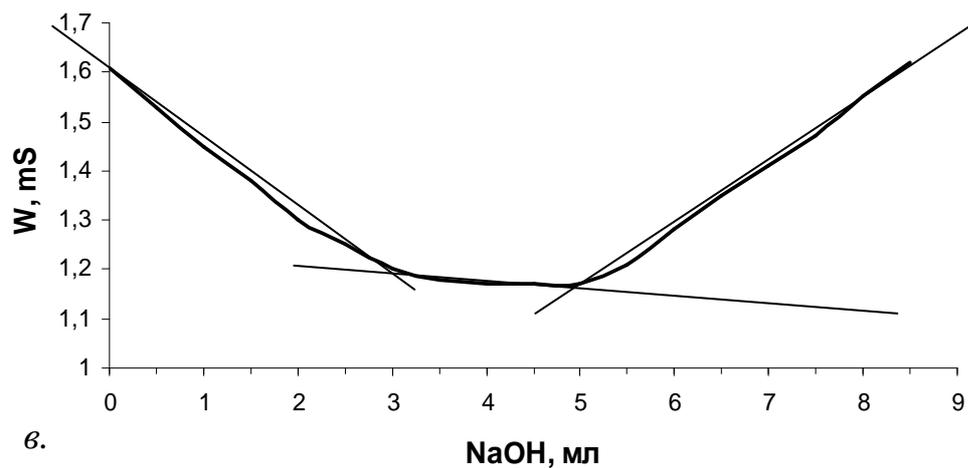
Анализ «стандартизированных» растворов фракций пектиновых веществ позволяет определять массовую долю соответствующих фракций пектиновых веществ в анализируемом сырье.



a.



б.



в.

Рисунок 1 – Графики с касательными к кривым для установления объема титранта, израсходованного на титрование щелочью пектовой кислоты гидратопектина:
a – I повторность; *б* – II повторность; *в* – III повторность

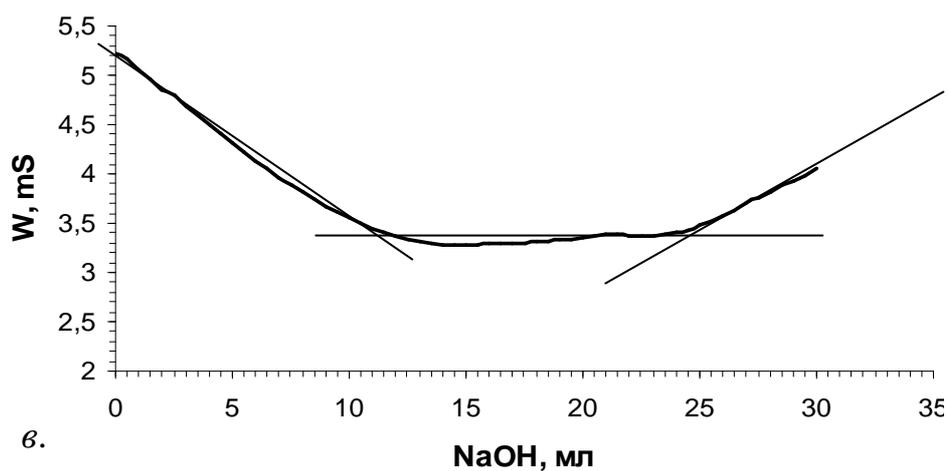
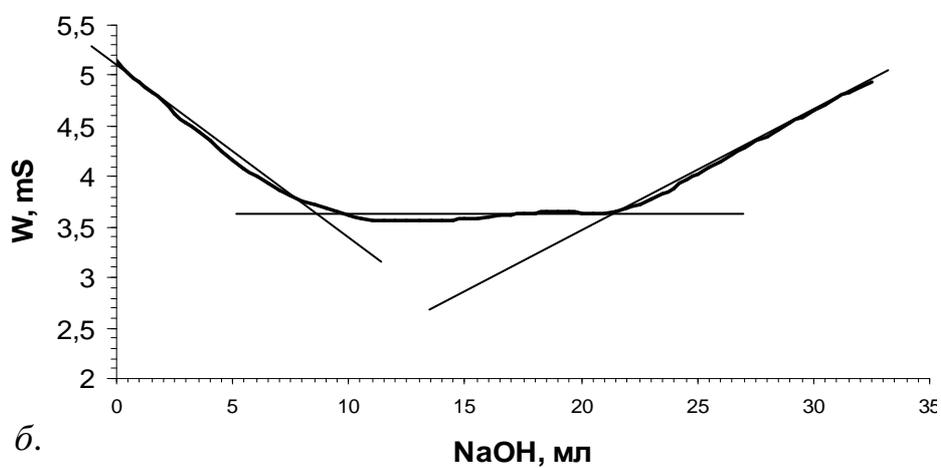
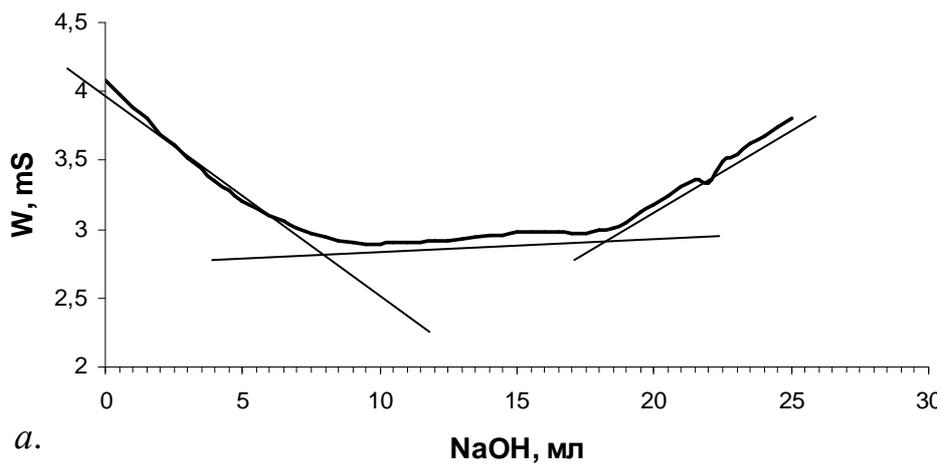


Рисунок 2 – Графики с касательными к кривым для установления объема титранта, израсходованного на титрование щелочью пектовой кислоты протопектина:
a – I повторность; *б* – II повторность; *в* – III повторность

Омыление соответствующей фракции пектиновых веществ 2,5 мл 40%-ного раствора NaOH в течение 15 мин. позволяет достичь максимальной полноты искомого результата, а осаждение 2,5 мл концентрированной HCl позволяет сократить затраты реактива в 2 раза при получении необходимого эффекта.

Центрифугирование подготовленных проб растворов в пробирках по 50 мл при частоте вращения ротора не менее 5000 об./мин. в течение 5 мин. позволяет максимально осадить фракции пектина для последующего анализа.

Суспендирование осадков фракций пектиновых веществ дистиллированной водой в стакане для титрования на магнитной мешалке в течение не менее чем 30 мин. позволяет получить равномерную суспензию, а проведение кондуктометрического титрования полученных суспензий осадков фракций пектиновых веществ при одновременном их перемешивании позволяет добиться равномерного распределения раствора титранта в объеме титруемых образцов, что существенно повышает точность результатов анализов.

Технический результат достигается только при сочетании описанных параметров процесса, что позволяет получить точные данные при высокой сходимости параллельных анализов. Положительный эффект при реализации разработанной методики заключается в простоте ее выполнения, а также экономии затрат труда и времени на всех стадиях процесса.

Литература

1. Брайнина, Х.З. Инверсионные электроаналитические методы / Х.З. Брайнина, Е.Я. Нейман, В.В. Слепушкин. – М. : Химия, 1988. – 239 с.
2. Харитонов, Ю.Я. Аналитическая химия : в 2-х кн. Кн.2 / Ю.Я. Харитонов – М. : Высшая школа. 2003. – 345 с.
3. Пат. 2489899 Российская Федерация, МПК A23L 1/0524 (2006.01), C08B 37/01 (2006.01), G01N 27/06 (2006.01). Способ определения массовой доли фракций пектиновых веществ в растительных объектах кондуктометрическим титрованием / Ольховатов Е. А., Родионова Л. Я., Щербакова Е. В.; заявитель и патентообладатель ФГОУ ВПО «Кубанский государственный аграрный университет». – № 2011138126/13; заявл. 16.09.2011; опубл. 20.08.2013, Бюлл. №23.

4. Донченко, Л.В. Технология пектина и пектинопродуктов : учебное пособие / Л.В. Донченко – М. : ДеЛи, 2000. – С. 209-210.
5. Кокшарова, Т.Е. Методические указания по математической обработке результатов исследования с использованием табличного процессора *EXCEL* / Т.Е. Кокшарова, Ц.Ц. Цыдыпов. – Улан-Удэ : ВСГТУ, 2002. – 40 с.
6. Донченко, Л.В. Методы количественного определения пектиновых веществ в растительном сырье : методические указания / Л.В. Донченко, В.В. Кондратенко, Т.Ю. Кондратенко. – Краснодар : КубГАУ, 2005. – 30 с.
7. Шелухина, Н.П. Научные основы технологии пектина / Н.П. Шелухина. – Фрунзе : Илим, 1988. – 168с.

References

1. Brajnina, H.Z. Inversionnye jelektroanaliticheskie metody / H.Z. Brajnina, E.Ja. Nejman, V.V. Slepshkin. – М. : Himija, 1988. – 239 с.
2. Haritonov, Ju.Ja. Analiticheskaja himija : v 2-h kn. Kn.2 / Ju.Ja. Haritonov – М. : Vysshaja shkola. 2003. – 345 с.
3. Pat. 2489899 Rossijskaja Federacija, MPK A23L 1/0524 (2006.01), S08V 37/01 (2006.01), G01N 27/06 (2006.01). Sposob opredelenija massovoj doli frakcij pektinovyh veshhestv v rastitel'nyh ob#ektah konduktometričeskim titrovaniem / Ol'hovатов E. A., Rodionova L. Ja., Shherbakova E. V.; zajavitel' i patentoobladatel' FGOU VPO «Kubanskij gosudarstvennyj agrarnyj universitet». – № 2011138126/13; zajavl. 16.09.2011; opubl. 20.08.2013, Bjull. №23.
4. Donchenko, L.V. Tehnologija pektina i pektinoproductov : uchebnoe posobie / L.V. Donchenko – М. : DeLi, 2000. – С. 209-210.
5. Koksharova, T.E. Metodicheskie ukazanija po matematicheskoj obrabotke rezul'tatov issledovanija s ispol'zovaniem tablichnogo processora EXCEL / T.E. Koksharova, C.C. Cydyпов. – Ulan-Udje : VSGTU, 2002. – 40 с.
6. Donchenko, L.V. Metody kolichestvennogo opredelenija pektinovyh veshhestv v rastitel'nom syr'e : metodicheskie ukazanija / L.V. Donchenko, V.V. Kondratenko, T.Ju. Kondratenko. – Krasnodar : KubGAU, 2005. – 30 с.
7. Sheluhina, N.P. Nauchnye osnovy tehnologii pektina / N.P. Sheluhina. – Frunze : Ilim, 1988. – 168s.