

НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК РЕСПУБЛИКИ ТАДЖИКИСТАН
ИНСТИТУТ ХИМИИ ИМЕНИ В.И. НИКИТИНА НАНТ

На правах рукописи

Исмоилов Икромджон Бомуродович

ТЕХНОЛОГИЯ ПОЛУЧЕНИЯ, СТРУКТУРА И ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ
СВОЙСТВА БИОРАЗЛАГАЕМЫХ ПОЛИМЕРНЫХ КОМПОЗИТОВ НА
ОСНОВЕ ГЛЮКОМАННАНА И ЗЕИНА

Специальность 1.4.7. - высокомолекулярные соединения

Диссертация на соискание учёной степени кандидата
физико-математических наук

Научные руководители:
доктор химических наук, профессор
Мухидинов Зайниддин Камарович;
доктор физико-математических наук,
профессор Абдуллаев Хасан
Муминджонович

Душанбе - 2022

СОДЕРЖАНИЕ

| | Стр. |
|--|------|
| Принятые в диссертации сокращения..... | 4 |
| ВВЕДЕНИЕ | 5 |
| ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ | |
| 1.1. История появления биоразлагаемых упаковок пищевых продуктов.... | 10 |
| 1.2. Основные функции биоразлагаемой и съедобной упаковок | 12 |
| 1.2.1. Барьерные свойства плёнок и покрытий..... | 12 |
| 1.2.2. Антимикробная функция съедобной упаковки | 13 |
| 1.3. Полисахариды и белки - биоразлагаемые полимеры, источники их получения..... | 15 |
| 1.3.1. Плёнки на основе глюкоманнана конжака и их характеристики..... | 17 |
| 1.3.2. Примеры биоразлагаемых плёнок на основе зеина и полисахаридов..... | 22 |
| 1.3.3. Физико-механические свойства биоразлагаемых плёнок..... | 24 |
| 1.3.4. Степень набухания пленок..... | 33 |
| 1.4. Постановка задач диссертационной работы..... | 37 |
| ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА | |
| 2.1. Подготовка и характеристики исходных веществ..... | 39 |
| 2.2. Получение водорастворимого полисахарида..... | 39 |
| 2.2.1. Очистка водорастворимого полисахарида..... | 40 |
| а) Депротенинизация и обесцвечивание | 40 |
| б) Фракционирование полисахарида с помощью анионообменной хроматографии..... | 41 |
| 2.2.2. Методы анализа состава водорастворимого полисахарида..... | 41 |
| а) Определение общего количества белка по методу Брэдфорда | 41 |
| б) Анализ красителей на спектрофотометре видимого диапазона..... | 42 |
| в) Определение содержания сахаров в полисахариде фенол-сернокислым методом..... | 42 |
| г) Определение моносахаридного состава..... | 42 |
| 2.2.3. Методы исследования структуры полисахаридов..... | 43 |
| а) ИК-Фурье спектроскопия..... | 43 |

| | |
|--|----|
| б) ЯМР-спектроскопия | 43 |
| в) Определение молекулярной массы и молекулярно-массового распределения глюкоманнана высокоэффективной эксклюзивной жидкостной хроматографией..... | 44 |
| 2.3. Методы получения, очистки и анализа зеина..... | 46 |
| 2.4. Методы формирования плёнок на основе биополимеров..... | 46 |
| 2.5. Методы исследования физико-механических свойств плёнок..... | 47 |
| 2.5.1. Деформационно-прочностные свойства..... | 47 |
| 2.5.2. Влагопроницаемость плёнок | 48 |
| 2.5.3. Степень набухания плёнок | 48 |
| 2.5.4. Растворимость плёнок в воде | 49 |
| ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ | |
| 3.1. Получение и очистка глюкоманнана из растений Эремуруса Гиссарского (<i>E. hissaricus</i>)..... | 51 |
| 3.1.1. Выделение полисахарида из корнеклубней <i>E. hissaricus</i> | 52 |
| 3.1.2. Очистка полисахарида..... | 52 |
| 3.2. Состав и структура полисахарида..... | 54 |
| 3.2.1. Анализ ИК-Фурье спектров полисахарида..... | 54 |
| 3.2.2. Анализ молекулярной массы и молекулярно - массового распределения ВРП методом высокоэффективной эксклюзионной хроматографии | 56 |
| 3.2.3. Анализ 1D- и 2D- ЯМР спектров полисахарида..... | 59 |
| 3.3. Формирование пищевой плёнки на основе ГМ и зеина..... | 65 |
| 3.3.1. ИК-Фурье спектроскопические исследования процесса формирования полимерных плёнок | 67 |
| 3.3.2. Исследование физико- механических свойств плёнок... .. | 70 |
| 3.3.3. Влагопроницаемость плёнок | 72 |
| 3.3.4. Кинетика набухания композитных плёнок с разным соотношением З/ГМ | 77 |
| 3.3.5. Исследование растворимости плёнок в воде..... | 84 |
| ПРИЛОЖЕНИЕ..... | 88 |
| ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ВЫВОДЫ..... | 92 |
| ЛИТЕРАТУРА..... | 93 |

Принятые в диссертации сокращения

| | |
|---------------|---|
| ВП | влагопроницаемость |
| ВРП | водорастворимый полисахарид |
| ВРПС | вискозиметр растяжения с постоянной скоростью |
| ВЭАХ | высокоэффективная анионная хроматография |
| ВЭЖХ | высокоэффективная эксклюзионная жидкостная хроматография |
| ВЭИХ | высокоэффективная эксклюзионная ионнообменная хроматография |
| ГМ | глюкоманнан |
| ДЭАЭЦ | диэтиламиноэтилцеллюлоза |
| З | зеин |
| ИСБ | изолят соевого белка |
| КМ | карбоксиметил |
| КРП | кислоторастворимый полисахарид |
| МГА | модифицированная газовая атмосфера |
| МУЛС | многоугловое лазерное светорассеивание |
| НПВО | нарушенное полное внутреннее отражение |
| ПЕК/ГМК | пектин/ глюкоманнан конжака |
| ПП | полисахаридная плёнка |
| РВ | растворимость |
| ТМП | технология микрожидкостного прядения |
| 1D, 2D ЯМР | одномерный и двумерный ядерный магнитный резонанс |
| DP | дифференциальное давление |
| HMBC | гетероядерная многосвязная корреляционная спектроскопия |
| HSQC | гетероядерная одноквантовая корреляционная спектроскопия |
| LS | лазерное светорассеяние |
| PAD | пульсирующий амперометрический детектор |
| RI | рефрактометрический индекс |
| TOCSY | полная корреляционная спектроскопия |

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы. Объем пластиковых отходов в мире за последние 50 лет достигло более миллиарда метрических тонн; из этих отходов примерно 16% составляют упаковочные материалы и пластиковые контейнеры. Следовательно, производство пластика имеет тенденцию к ежегодному увеличению, и к 2050 году ожидается, что около 12 миллиардов тонн пластика будет накапливаться на свалках и в окружающей среде. Проблема утилизации пластиковых отходов растет из-за их накопления и их негативного воздействия на окружающую наземную и морскую среду и на здоровье человека. В океанах пластик накапливается в круговоротах шириной в несколько миль. Под воздействием ультрафиолетового излучения солнца пластик превращается в «микрочастицы», которые разрушают пищевые цепи и естественную среду обитания.

Для преодоления создавшейся экологической проблемы необходимо разрабатывать новые материалы на основе возобновляемых природных источников. В последние годы индустрия пищевой упаковки значительно выросла и, как ожидается, окажет важное влияние на рынок продуктов питания в последующем. Этот рост является следствием расширения знаний о технологии производства пищевых плёнок и покрытий, достигнутых благодаря исследованиям и разработке продуктов, а также достижениям в области материаловедения и технологии обработки. Упаковка пищевых продуктов, таким образом, становится междисциплинарной областью исследований, с привлечением опыта химиков, физиков, инженеров и биологов, с конечной целью, чтобы соответствовать ожиданиям потребителей и правительственным нормативно-правовым актам.

Биоразлагаемые полимеры из возобновляемых природных источников, такие как полисахариды, белки и липиды, являются основным сырьём для производства материалов, необходимых для фармацевтической, медицинской, пищевой, микробиологической, химической промышленности и в сельском хозяйстве, что привлекает внимание исследователей в этом направлении.

Среди природных полимеров глюкоманнан (полимер глюкозы и маннозы), в этом аспекте, получил большой интерес благодаря своим превосходным плёнообразующим свойствам (имеет необходимую гибкость, низкую газопроницаемость, легко очищается от литейной плиты) и является потенциальным кандидатом в разработке упаковочных материалов.

Актуальность избранной темы подтверждается тем, что разработка технологии получения полисахаридов и белков из продовольственных промышленных отходов и создание композиционных материалов на их основе была включена в Стратегию развития Республики Таджикистан в области науки и техники на период 2011-2020 гг. и Приоритетные направления научных и научно-технических исследований в Республике Таджикистан на 2021-2025 годы. Решение данного вопроса направлено на развитие экономики и обеспечение продовольственной безопасности страны.

Работа проводилась в соответствии с планом НИР Института химии им. В.И. Никитина НАНТ на тему: «Создание носителей лекарственных веществ и пищевых ингредиентов на основе биополимеров» (номер гос. регистрации ГР 0116ТJ 00543).

Цель работы заключается в разработке состава новых биоразлагаемых плёнок на основе биополимеров глюкоманнана и зеина для хранения пищевых продуктов и изучении их физических и механических свойств.

Для достижения поставленной цели были сформулированы и решены следующие задачи:

- изолирование глюкоманнана из корнеклубней Эремуруса Гиссарского (*E. hissaricus*), изучение его структуры и гидродинамических свойств;
- исследование взаимодействия глюкоманнана с кукурузным зеином при формировании биоразлагаемых плёнок посредством ИК-Фурье спектроскопии;
- разработка состава новых биоразлагаемых плёнок на основе исследуемых биополимеров;
- изучение физико-химических свойств полимерных плёнок;
- изучение физико-механического поведения биоразлагаемых плёнок.

Объекты исследования. В качестве объектов исследования выбраны водорастворимый полисахарид - глюкоманнан (ГМ), который получен из корнеклубней растения рода *Эремуруса Гиссарского* (*E. hissaricus*) и зеин (З), выделенный из обезжиренной муки кукурузы.

Методы исследования. В диссертационной работе использованы методы 1D и 2D ЯМР и ИК-Фурье спектроскопии, высокоэффективная эксклюзионная жидкостная (ВЭЖХ) и ионнообменная (ВЭИХ) хроматографии, многоугловое лазерное светорассеивание (МУЛС), методы исследования физико-механических свойств в соответствии с ГОСТ-14236 и другие физико-химические методы анализа.

Научная новизна работы заключается в том, что в ней впервые:

- установлена структура глюкоманнана, полученного из растений *Эремуруса Гиссарского* (*E. hissaricus*);
- определены молекулярная масса, молекулярно-массовое распределение и гидродинамические свойства глюкоманнана;
- разработан способ приготовления и оптимальный состав биоразлагаемых плёнок на основе глюкоманнана и зеина;
- установлено, что хорошая совместимость биополимеров зеина и глюкоманнана обусловлена взаимодействием водородных и гидрофобных связей компонентов;
- установлены предельные деформационно-прочностные характеристики и модули упругости композитов разного соотношения компонентов. Показано, что увеличение доли гидрофобного полимера - зеина способствует упрочнению композита и его более упругому поведению;
- изучена кинетика набухания, влагопроницаемости и растворимости в воде полученных композитных плёнок в зависимости от их состава. Определены величины параметров, характеризующие способность композитов к набуханию.

Практическая значимость работы определяется тем, что в ней разработан оптимальный состав композитных плёнок с содержанием зеина

60–63% (зеин/ГМ=1.5-1.75) с оптимальными рабочими характеристиками и рекомендован для производства биоразлагаемых упаковочных материалов с удовлетворительными механическими, влагоудерживающими, влагозащитными свойствами и малорастворимых в воде. Полученные композитные плёнки с оптимальным соотношением биополимеров могут быть применены в качестве биоразлагаемой плёнки для длительного хранения и транспортировки фруктов и овощей.

Разработка технологии получения биоразлагаемых полимерных плёнок и исследование их физико-химических и механических свойств вносят определенный вклад в физико-химию биополимерных композиционных материалов. Они могут быть включены в программу ВУЗов по профилю «Физическая химия», а также использованы при чтении спецкурсов «Физико-химия полимеров» и «Композиционные материалы».

Основные положения, выносимые на защиту:

- установление молекулярной массы глюкоманнана, его структуры и гидродинамических свойств;
- механизм взаимодействия биополимеров ГМ и зеина посредством водородных и гидрофобных связей;
- результаты механических испытаний по изменению деформационно-прочностного поведения композитных пленок в зависимости от соотношения компонентов зеин/глюкоманнан;
- результаты кинетических исследований степени набухания композитов и величин параметров, характеризующих их способность к набуханию;
- гидрофобная природа плёнок, содержащих зеин, обеспечивает низкую проницаемость водяного пара, что является потенциальным источником для получения биоразлагаемых упаковочных материалов с удовлетворительными механическими, влагоудерживающими и влагозащитными свойствами.

Достоверность полученных результатов подтверждается использованием взаимодополняющих современных физико-химических методов, таких как 1D- и 2D- ЯМР и ИК-Фурье спектроскопия, МУЛС выполненные на

уникальных приборах известных компаний (Waters, Tesla, Wyatt Technology (США), Perkin Elmer (Швейцария) и др.) и хорошим воспроизведением результатов исследований и статистических методов анализа.

Апробация работы. Основные результаты работы доложены на: международных конференциях «Eastern Analytical Symposium», (Princeton, USA, 2018) и «7th World Congress on biopolymers and polymer chemistry» (Osaka, Japan, 2018); международных научно-практических конференциях «VII глобальная наука и инновации 2019: Центральная Азия» (Нур-Султан, 2019), «Перспективы использования материалов устойчивых к коррозии в промышленности Республики Таджикистан» (23 мая 2018), «Перспективы использования новых материалов в промышленности», (Бухара, 2020); VII международной конференции «Современные проблемы физики» (ФТИ им. С.У. Умарова НАН Таджикистана, 2020); республиканской конференции «Роль химии в развитии экономики Узбекистана» (Самарканд, 2018); XIV-XV Нумановских чтениях (2018-2019); представлена статья во II номере книжной коллекции молодых ученых стран Содружества Независимых Государств «Лучший молодой ученый - 2020», Казахстан, Нур-Султан.

Публикации. Основное содержание работы опубликовано в 19 научных статьях, в том числе 4- в индексированных журналах из Перечня ВАК РФ, 1- в журнале международной базы «Scopus», 12- в материалах международных конференций и 2 тезиса докладов в республиканских конференциях.

Личный вклад автора заключается в анализе научной литературы, участии при постановке задач по теме диссертационной работы, в непосредственном проведении экспериментальных работ, обработке, анализе и интерпретации полученных результатов.

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 111 страницах компьютерного текста, включая 33 рисунка и 16 таблиц. Диссертация состоит из введения, трёх глав, выводов и библиографического списка из 146 наименований.

ГЛАВА I. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

1.1. История появления биоразлагаемых упаковок пищевых продуктов

В последние годы темпы роста производства и потребления полимерных материалов неуклонно возрастают. Вместе с тем, одновременно остро встаёт проблема утилизации полимерных отходов после истечения срока эксплуатации материалов и изделий, получаемых на их основе. В странах с развитой промышленностью отходы полимерных материалов, трудно разлагающихся в естественных условиях, составляют серьёзную угрозу как источник загрязнения окружающей среды [1, 2]. В настоящее время ~30% полимерных отходов сжигаются, 30% перерабатываются вторично, 30% не утилизируются.

Для устранения последствий загрязнения окружающей среды, вызванного огромным использованием пластиковых упаковочных материалов в современном обществе, очень важно разработать новые упаковочные изделия с хорошей биodeградируемостью [3-6].

К сожалению, до настоящего времени эксперимент по производству и использованию биоразлагаемых упаковочных полимерных материалов, длящийся уже более тридцати лет, не только не дал однозначного положительного результата, но и поставил много новых, до сих пор нерешённых вопросов [3].

В последние десятилетия съедобная упаковка пищевых продуктов начала занимать свою нишу среди пластиковых упаковочных материалов наряду с активной упаковкой, с умной упаковкой, с упаковкой МГА (модифицированная газовая атмосфера, *modified atmosphere packaging*), способная контролировать атмосферу, в которой хранится продукт [3-8]. В частности, упаковка МГА учитывает, что, например, для сохранения красного цвета мяса необходимо больше кислорода; для хранения хлеба, наоборот, кислорода должно быть меньше; а для хранения фруктов нужна трёхкомпонентная газовая атмосфера, содержащая кислород, диоксид

углерода, азот в определенных соотношениях и т.п.

Первую съедобную упаковку открыли и применили в древнем Китае в 12 веке, когда перед отправкой груза на дальние расстояния моряки покрывали цитрусовые фрукты тонким слоем воска, чтобы сохранить влагу и упругость товара. И, хотя такое решение было не идеальным (из-за нарушения газообмена вкусовые качества еды снижались и постепенно терялся товарный вид), за неимением лучшего варианта сохранения свежих продуктов эта технология (лардинг) широко применялась вплоть до 19 века [9]. Для улучшения внешнего вида и сохранения качества пищевых продуктов, в это же время, в Японии использовали другую специальную плёнку, названную Йуба (Yuba), которую получали при кипячении соевого молока [10].

Проблемой создания съедобной упаковки, которая бы сохраняла такие свойства свежих продуктов как цвет, упругость, содержание воды, жирность, активно занялись учёные уже в начале прошлого века. В наше время, первые работы по съедобным плёнкам и покрытиям появились в 80-е годы [11]. В итоге к середине XX столетия в США существовало несколько торговых марок таких плёнок, которые и сегодня пользуются широким спросом. Например, известные и любимые многими многоцветные шоколадные конфеты M&M's имеют съедобное покрытие. Оно состоит из сахара, кукурузного сиропа и природной смолы - шеллака. Его создали в 1941 г. вследствие трудности продаж конфет в летние месяцы. Покрытие позволило спрятать плавкий шоколад в твердую оболочку и сделать процесс употребления конфет комфортным для потребителя [12].

В настоящее время съедобные обвёртки прочно внедрились в нашу жизнь: вафельные стаканчики, пшеничные лепешки (чапати и лаваш). Сегодня вафельные стаканчики с различными наполнителями (соль, сахар, пряности) используются для упаковки мороженого, йогуртов, плавленых сыров и т.п. Известная кофейная компания Lavazza предлагает своим клиентам съедобную чашку для кофе [13].

1.2. Основные функции биоразлагаемой и съедобной упаковок

1.2.1. Барьерные свойства плёнок и покрытий

Одной из наиболее полезных функций съедобных плёнок является наличие барьерных свойств по отношению к влаге, кислороду, диоксиду углерода, а также этилену (рис. 1.1). Пленка должна создавать атмосферу, обогащенную диоксидом углерода, но обеднённую кислородом. Однако, если кислорода будет мало, то может проявиться анаэробное «дыхание», при котором сахар превратится в спирт и появится запах. Если кислорода будет более 9%, то начнётся окисление растительных тканей и будет вырабатываться этилен, который способствует созреванию фруктов и овощей [14].

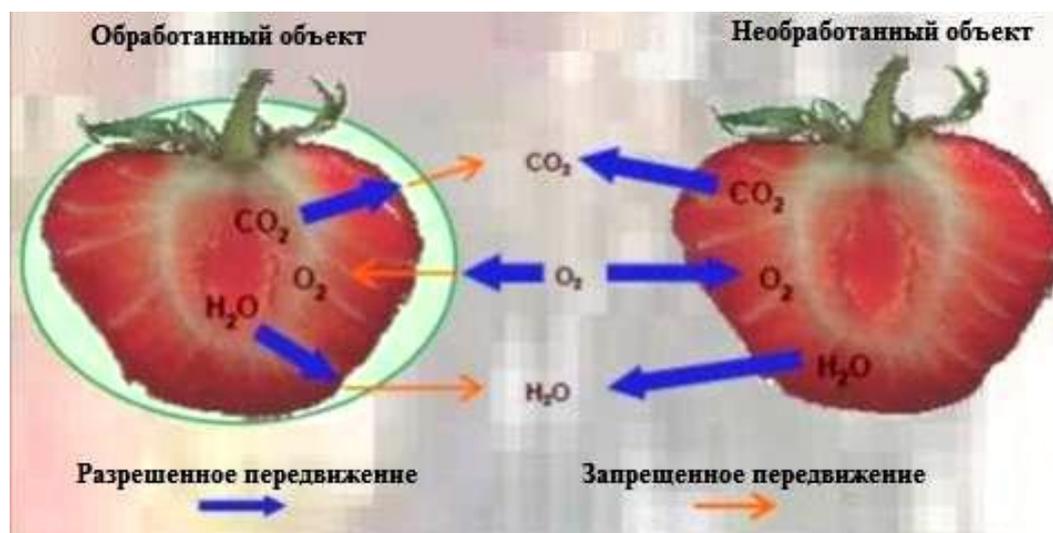


Рисунок 1.1. Схема газопроницаемости во фруктах и овощах [15].

С целью снижения паропроницаемости в состав композиций вводят жирные кислоты (лауриновую, миристиновую, пальмитиновую, олеиновую). Уменьшение паропроницаемости одновременно приводит и к некоторому снижению растворимости плёнок в воде. Полученные композиции рекомендованы для упаковки пищевых продуктов из мяса, птицы, рыбы, сухих завтраков, десертов и др. Например, на основе водной дисперсии, состоящей из соевого и некоторых других белков – в частности, казеина, коллагена, яичного белка, желатина, полисахаридов (крахмала или производных целлюлозы), а также многоатомных спиртов (глицерина,

сорбита, манита, пропиленгликоля), в настоящее время, производят съедобный упаковочный материал для колбасных (ветчины, сосисок) и других мясных продуктов [16].

Плѐнки на основе метилцеллюлозы, гидрокси-пропилметилцеллюлозы, гидроксипропилированного крахмала, пектина и др. используют в качестве покрытий мясных, рыбных продуктов, картофеля, луковых колец и т.п. при жарке для двукратного уменьшения поглощения масла. Для этого предлагаются оригинальные композиции, например, компания Beloit разработала покрытие Fry Shield, которое получают при смешивании раствора низкометоксилированного пектина с хлебными крошками, содержащими хлорид кальция [17].

1.2.2. Антимикробная функция съедобной упаковки

Антимикробная функция съедобной упаковки, предполагающая наличие бактерицидных и фунгицидных свойств, весьма востребована сегодня вследствие изменения образа жизни современных покупателей, готовых к употреблению очищенных пищевых продуктов. Такие продукты должны иметь длительный срок хранения, быть безопасными. Ведь именно они являются наиболее скоропортящимися и наиболее подвержены заражению патогенными микроорганизмами. В этом случае, они могут стать причиной распространения массовых заболеваний. Поэтому съедобные антибактериальные плѐнки и покрытия привлекают столь пристальное внимание исследователей и компаний пищевой промышленности [18].

Антимикробные съедобные плѐнки и покрытия имеют ряд преимуществ и представляют собой инновационную идею биоразлагаемых активных упаковок с потенциальным применением в области консервирования пищевых продуктов. Они разработаны для того, чтобы ингибировать рост микроорганизмов на поверхности продуктов.

В съедобные плѐнки и покрытия на основе полисахаридов и белков добавляют также такие антимикробные вещества как органические кислоты

(лимонная, яблочная, лауриновая, пропионовая, винная и т.д.), их соли, которые инактивируют рост микроорганизмов, проникая в липидный биослой мембран, ферменты (лизоцим, овотрансферин), растительные экстракты, эфирные масла растений (шалфей, орегано, душица, коричное, лимонное, горчичное, чесночное и др.). В отличие от жирных растительных масел эфирные масла представляют собой многокомпонентные смеси летучих органических соединений (ароматических, алициклических и алифатических карбонильных соединений, спиртов, кислот, эфиров и т.д.), вырабатываемых в особых клетках различных растений и обуславливающих их запах [19-22].

Сегодня интенсивно ведутся исследования по поиску новых композиций, по изучению зависимости основных свойств съедобных плёнок от состава формовочных растворов: прочности при разрыве и относительного удлинения, влаго- и газопроницаемости, антибактериальной активности, скорости диффузии компонентов в/из плёнки, термостойкости, проводят также ИК-спектроскопические исследования взаимодействия компонентов, составляющих плёнку, изучают морфологию поверхности и особенности структуры плёнок [21-25].

Технологии и инженерные науки в области нанополимерной инженерии и нанополимерных технологий сегодня бросают вызов огромному научному пространству [4, 26]. Наночастицы имеют пропорционально большую площадь поверхности, чем микромасштабные аналоги [27]. Эти нанокompозиты при добавлении в полимеры выполняют другие функции, такие как антимикробная активность, иммобилизация ферментов, зондирование и т.д. [4, 28]. Путь к научной регенерации в области биополимеров и нанокompозитов огромен и, безусловно, Рэй и др. [29] новаторски обсудили, с обширным научным пониманием, использование полимерно-глинистых нанокompозитов в упаковке пищевых продуктов. В этом плане, наноцеллюлоза является захватывающим, бодрящим и устойчивым полимерным сырьем, характеризующимся интересными

свойствами, такими как гидрофильность, хиральность и биоразлагаемость [30].

1.3. Полисахариды и белки - биоразлагаемые полимеры, источники их получения

Биополимеры, такие как полисахариды, белки и липиды, являются основным сырьём для производства биоразлагаемых и съедобных плёнок [4-6, 12, 17], необходимых для фармацевтической, медицинской, пищевой, микробиологической, химической и полиграфической промышленности. Уникальные функциональные свойства биополимеров в растворе связаны с такими поверхностными явлениями как, хелатирование, коацервация в присутствии ионов, эмульгирование и стабилизация эмульсии, формирование плёнок и мембран, набухание и гелеобразование [4, 5, 17], которые могут быть использованы для замены синтетических полимеров в пищевой и фармацевтической промышленности.

Среди природных полимеров глюкоманнан (полимер глюкозы и маннозы), в этом аспекте, получил большой интерес благодаря своим превосходным плёнообразующим свойствам (хорошая гибкость, легко очищается от литейной плиты, низкая проницаемость газа и т.д.) и является потенциальным кандидатом в разработке упаковочных материалов [7-17]. Основным источником глюкоманнана (ГМ) является растение *Конжак* (*Konjac*), это пищевое волокно (пищевая добавка E 425) широко распространено в употреблении среди жителей Востока: Японии, Китая, Северной и Южной Кореи. Конжак это разновидность растений, которое принадлежит к семейству Ароидных. Как правило, конжак выращивается в горах или на холмистых склонах в юго-восточной Азии, регионах с тропическим или субтропическим климатом при ежегодной средней температуре +16°C и 800 м над уровнем моря — в Индонезии, в юго-западной части Китая, на востоке Японии. Небольшие плантации конжака есть в Индонезии и Таиланде. Средняя урожайность конжака составляет около 1000 кг на гектар, после 3-5 лет роста. Конжаковое растение имеет

очень красивый цветок и плод, но выращивают его из-за его корня, где находится больше всего глюкоманнана. Глюкоманнан (*Glucomanan*) - это растительное волокно высокой степени очистки, продукт переработки конжака. Самое богатое глюкоманнаном растение - *Аморфофаллус конжак* (*Amorphophallus konjac*), произрастающее в Азии.

Глюкоманнаны разнообразны по моносхаридному составу, но чаще всего под этим названием имеют в виду биополимер, добываемый из корней растения *конжак*. Он под действием кислоты или щёлочи гидролизуется до Д-маннозы и Д-глюкозы в количественном соотношении 8:5. Многочисленные исследования доказали, что употребление добавки Е 425 способно привести к снижению холестерина в крови и веса. Допустимая норма суточного потребления добавки Е 425 в странах СНГ не ограничена (<https://zakonbase.ru/content/part/1262405>).

Глюкоманнан *конжака* представляет собой водорастворимый нейтральный растительный полисахарид с высокой молекулярной массой, основная цепь которого состоит из -1,4-связанных маннозных и боковых цепей, связанных -1,6-гликозильными звеньями [31]. Он широко используется в фармацевтической, химической и пищевой промышленности [10-17]. В последние годы исследования по разработке пищевых плёнок на основе ГМ с различными полимерами и связующими веществами становится перспективным направлением, что привлекает внимание многих исследователей [31-56].

Среди различных усилий по преодолению существующих недостатков известных плёнкообразующих материалов было обнаружено, что смешивание глюкоманнана с другими биоразлагаемыми пленкообразующими компонентами является простым, безопасным и эффективным способом для достижения желаемого свойства, например, композиты ГМ с полидиаллилдиметиламмонным хлоридом [32], с ксантаном [33], геланом [34], метилцеллюлозой [35], хитозаном [36] и курдланом [37]. Курдлан - это бактериальный полисахарид, образующийся в результате

ферментации *Alcaligenes faecalis*, и его линейная структура полностью состоит из 1,3- β -глюкозидных связей, которые широко распространены в природе.

Однако индивидуальная плёнка ГМ и его композиты с водорастворимыми полимерами имеет некоторые недостатки, такие как плохая водостойкость и влагобарьерные свойства [4, 6, 12]. Были получены супер водонабухающие гидрогели на основе ГМ и полиакриловой кислоты [38]. Модификация ГМ с кислотами не дало хороших результатов [39].

1.3.1. Плёнки на основе глюкоманнана конжака и их характеристики

В работах [41-43] исследованы композиционные съедобные плёнки на основе глюкоманнана конжака (ГМК) и пектина с добавлением полифенолов чая для активной упаковки пищевых продуктов. Показано, что с добавлением чайных полифенолов значительно улучшились антиоксидантная и антимикробная активности плёнок, в то же время вызывая снижение барьерных свойств, содержания влаги и коэффициента удлинения при разрыве. В целом, разработанные плёнки пектин/ГМК/полифенол проявили потенциальные качества для применения в качестве биологически активных материалов в секторах упаковки пищевых продуктов.

Авторами [41] были исследованы формирование, свойства и функции полисахаридной плёнки (ПП). ПП создавалась путем добавления полифенолов чая в матрицу пектина и хитозана методом смешивания. Исследования показали, что толщина и проницаемость водяного пара для ПП были выше с добавлением полифенолов чая, а предел прочности на разрыв был уменьшен на 17%, и его удлинение при разрыве увеличилось на 37%. Результаты ИК-Фурье спектроскопии и результаты сканирующего электронного микроскопа показали, что полифенолы чая взаимодействовали с основой плёнки сделали его состав более сложным. Кроме того, ПП показала замечательную антиоксидантную и антисептическую активности. Показано,

что такая ПП может эффективно препятствовать деградации цвета свежей говядины в течение 8 дней хранения.

Антибактериальные плёнки были получены путем введения ГМК и геллановой камеди в качестве матрицы, глицерина в качестве пластификатора, CaCl_2 в качестве сшивающего агента и галловой кислоты в качестве природного антибактериального агента в работе [44]. Структуру плёнки анализировали посредством ИК-Фурье спектроскопии и дифракции рентгеновских лучей. Показано, что термическая стабильность смесей была выше, чем у чистой геллановой камеди, из-за сшивания Ca^{2+} между геллановой камеди и ГМК. Угол контакта с водой и проницаемость водяного пара были проанализированы для определения гидрофобности пленок. Морфологические исследования показали, что поверхностная компактность и однородность смешанных плёнок увеличивалась с увеличением содержания ГМК. Добавление ГМК значительно улучшило механическую прочность плёнок. Кроме того, глюкоманнан коньяка улучшил пропускную способность из смешанных плёнок, в то же время усиливая антимицробную активность против кишечной палочки (*Escherichia coli*) и золотистого стафилококка (*Staphylococcus aureus*). Были измерены антиоксидантные свойства галловой кислоты, внедренную в плёнку. Композитные плёнки, содержащие 70 масс. % глюкоманнана коньяка (Ca-KG7), показали лучшие свойства. Эти результаты предлагают альтернативный метод синтеза упаковочных плёнок на основе геллановой камеди с улучшенными свойствами.

Композитная плёнка была разработана из рафинированного каррагинана, полуочищенного каррагинана и глюкоманнана коньяка в различных соотношениях для сохранения функциональности активной упаковки кунжутного масла [45]. В данной работе также исследованы физико-механические и функциональные свойства композитных плёнок и определялся срок годности кунжутного масла, упакованного в композиты

при хранении. Результаты показали, что этот упаковочный материал является альтернативой обычному пластиковому упаковочному материалу.

Плѐнки на основе ГМК обработали гидроксидом калия (KOH) или гидроксидом кальция (Ca(OH)₂) и оценили его использование в качестве повязки на рану [46]. Плѐнка ГМК, обработанная Ca(OH)₂, показала более лучшие свойства: набухание, прочность на растяжение и удлинение при разрыве по сравнению с плѐнкой ГМК, обработанной KOH. Результаты анализа в опытах *in vitro*, дополнительно, указывают на биосовместимость плѐнки ГМК-Ca(OH)₂ с клетками фибробластов L929 и клетками кератиноцитов HaCaT. Плѐнка ГМК-Ca(OH)₂ также ингибировала абсорбцию и активацию тромбоцитов, что эффективно способствует сокращению заживления ран в опытах *in vivo*, особенно на ранней стадии заживления. Гистологическое исследование выявило значительную секрецию коллагена и прогрессивное развитие грануляционной ткани и эпителиального покрытия к 7 и 14 дням после операции на ранах. Результаты этого исследования указывают на потенциальное использование плѐнки глюкоманнана конжака, обработанной щелочью, в качестве повязки на рану.

В исследовании [47] разработана новая композитная плѐнка на основе глюкоманнана конжака в сочетании с шеллаком методом литья и испарения растворителя. Для исследования потребительских характеристик и свойств плѐнки применялись ротационная реометрия, полевая эмиссионная сканирующая электронная микроскопия, ИК-Фурье спектроскопия и дифференциальная сканирующая калориметрия. Для оценки влияния шеллака на механические свойства плѐнки, изучали их физико-механические свойства. Изображения полевой эмиссионной сканирующей электронной микроскопии подтвердили, что все смешанные плѐнки имели непрерывный и однородный вид без разделения фаз. Сформированные химические связи изучали с помощью ИК-Фурье спектроскопии. Кроме того, результаты исследования показали, что термическая устойчивость и механические свойства плѐнок, такие как прочность на растяжение и относительное

удлинение при разрыве, были улучшены путем добавления шеллака и добавление шеллака в плёнки приводило к увеличению их водостойкости.

Для выяснения взаимодействия между биополимерами карбоксиметиллом ГМК (КМГМК) и изолятом соевого белка (ИСБ) были приготовлены плёнки в различных соотношениях биополимеров и охарактеризованы их физико-химические свойства [48]. Результаты исследования показали, что КМГМК и ИСБ совместимы и формирование смешанной плёнки протекает по реакции Майера и за счет водородных связей. Адсорбция воды плёнкой КМГМК/ИСБ постепенно снижалась с увеличением фракции КМГМК, но смачиваемость поверхности смешанных плёнок улучшалась с увеличением содержания КМГМК; смешанные плёнки КМГМК/ИСБ имели повышенную прочность на разрыв и удлинение при разрыве по сравнению с индивидуальными плёнками КМГМК и ИСБ; кислородопроницаемость смешанных плёнок была меньше; шероховатость уменьшалась с увеличением содержания КМГМК. Кроме того, плёнка КМГМК/ИСБ была биосовместимой и биоразлагаемой.

Изучение способов получения биоматериалов с антибактериальными свойствами в ультрамалых масштабах представляет большой научный и технологический интерес. В работе [51] в основе гидрофильной/гидрофобной теории, была успешно изготовлена новая плёночная упаковка для пищевых продуктов из глюкоманнана конжака /полиметилметакрилата/хлорогеновой кислоты с использованием технологии микрожидкостного прядения (MST). Результаты ИК-Фурье спектроскопии и рентгеновской дифракции подтвердили образование водородных связей в плёнках, что приводит к улучшению механических свойств. Термогравиметрический анализ и дифференциальная сканирующая калориметрия показали очень хорошую термостабильность плёнки. Измерение проницаемости водяного пара ($1.47 \cdot 10^{-5} \pm 0.11$ г/м·ч·кПа) и угла контакта с водой (89.2 град.) доказало, что плёнки были гидрофобными. Хорошая степень набухания ($85.18 \pm 15.65\%$) указывает на потенциал плёнки при высвобождении хлорогеновой кислоты.

Глюкоманнан конжака играл ключевую роль в антибактериальных действиях против золотистого стафилококка (латинское название $(8.5 \pm 3.5 \text{ мкм})$) и кишечной палочки (латинское название) $(6.5 \pm 2.1 \text{ мкм})$, используя его дрoфилизацию. Таким образом, эта работа может дать новую идею для создания активных упаковочных плёнок для пищевых продуктов со значительными характеристиками на основе гидрофильной/гидрофобной стратегии.

В работе [52] сообщено о новом способе микрофлюидной технологии для получения плёнки на основе ГМК, поливинилпирролидаи галлата эпигаллокатехина. Авторы работы исследовали плёнку методами сканирующей электронной микроскопии, ИК-Фурье спектроскопии, рентгеновской дифракции и термогравиметрическим анализом. Полученная плёнка была прозрачной, упорядоченной структуры, термически стабильной и однородной со средней шириной менее 1 мкм. Она продемонстрировала отличную антибактериальную эффективность (на 97.1% против *E. coli*, 99.7% против *S. aureus*, 97.3% против *S. enterica* и 99.9% против *B. subtilis*) при антибактериальном тесте. Кроме того, плёнка способствовала заживлению ран с прогрессирующим развитием неоваскуляризации и волосяных фолликулов. Данная стратегия с использованием микрофлюидной технологии продемонстрировала простой и зеленый путь для создания биоплёнок медицинского назначения.

В работе [53] новые активные бионанокompозитные плёнки готовили путем смешивания наночастиц хитозана/галловой кислоты и нанофильной целлюлозы [54] в смешанную плёнку ГМК. Авторы [53] изучали влияние содержания наночастиц хитозана/галловой кислоты на структурные, морфологические, механические, барьерные, термические и антимикробные свойства плёнок. Результаты реологических исследований плёнообразующих растворов посредством ИК-Фурье спектроскопии, рентгеноструктурного анализа и термического анализа показали, что наночастицы хитозана/галловой кислоты взаимодействовали с глюкоманнаном конжака

через водородные связи в бионанокompозитной матрице. Микроструктура плёнок показала, что добавление 5–10% наночастиц хитозана/галловой кислоты, по-видимому, однородно диспергированы в матрице плёнки ГМК, тем самым уменьшая свободный объем композитной матрицы и значительно улучшая механические и барьерные свойства конечных плёнок бионанокompозита ($p < 0.5$). По сравнению с индивидуальной плёнкой ГМК бионанокompозитные плёнки КГМ/наночастиц хитозана/галловой кислоты показали превосходную антимикробную активность против пищевых патогенов, таких как грамположительных (*Staphylococcus aureus*) и грамотрицательных (*Escherichiacoli* O157: H7) бактерий, благодаря антимикробной эффективности наночастиц хитозана/галловой кислоты. Следовательно, бионанокompозитные плёнки конжака глюкоманнана/наночастиц хитозана/галловой кислоты обладают хорошим потенциалом для применения их в активных упаковочных материалах для пищевых продуктов.

1.3.2. Примеры биоразлагаемых плёнок на основе зеина и полисахаридов

Зеин - это плёнкообразующий природный полимер с обильными источниками и низкими ценами. Зеин является перспективным биополимером для применения в упаковочной промышленности благодаря своим превосходным способностям - задерживать проникновение кислорода вовнутрь пищи и гидрофобным свойствам [55-60]. Он синтезируется и хранится в зерне кукурузы и состоит из α - и β - зеина [61, 62]. Зеин, растворимый в спирте кукурузный запасной белок, содержащий более 50% гидрофобных аминокислотных остатков, был изучен в качестве потенциального биоматериала для разработки коллоидных систем доставки [21, 63], что помогает задерживать высвобождение и окисление биологически активных соединений. Нерастворимая характеристика зеина в воде делает его хорошим кандидатом для разработки биополимерных микро/наноразмерных частиц, которые можно использовать для

контролируемой доставки ароматизаторов, лекарств или микроэлементов [21, 64, 65].

Плѐнки из индивидуального зеина имеют плохие механические свойства, но высокую водонепроницаемость благодаря высокому уровню неполярных аминокислот и низкой газопроницаемости, обеспечивая хороший потенциал зеину для производства смешанных пищевых плѐнок и покрытий [21, 59, 66-76]. Например, смесь зеин-хитозан, с повышенным содержанием зеина, продемонстрировала более высокие барьерные свойства для паров воды [66]. Механические свойства и барьеры по отношению паров воды для плѐнок на основе ИСБ с добавлением наночастиц зеина были максимальными [67].

Плѐночные смеси конжак глюкоманнан/зеин были получены путем литья в раствор при различных температурах сушки (40, 50, 60, 70 и 80°C) [68]. Было исследовано влияние температуры сушки на структурные, термомеханические, механические и водонепроницаемые свойства плѐнок. Микроструктурные наблюдения показали, что частицы зеина были гомогенно диспергированы в ГМК непрерывной матрице (плѐнка), а смешанная плѐнка, высушенная при 60°C, показала наиболее компактную и гладкую поверхность. Кривые динамического механического термического анализа показали, что с повышением температуры сушки от 40 до 60°C температура стеклования плѐнок возрастала; однако при дальнейшем повышении температуры температура стеклования снижалась, что указывает на то, что совместимость компонентов плѐнки была самой высокой при сушке 60°C. Гидрофобность смешанной плѐнки, высушенной при 60°C, была значительно выше, чем у других смешанных плѐнок, поддерживаемых самым высоким углом контакта с водой, а также самым низким коэффициентом набухания и растворимостью. Кроме того, плѐнка, высушенная при 60°C, показала самую высокую прочность и удлинение при разрыве и самую низкую проницаемость водяного пара. Поэтому температура сушки при 60°C была предпочтительной для получения плѐнки смеси ГМК/Зеин. Это

исследование показало, что межмолекулярные взаимодействия между компонентами плёнки в значительной степени зависят от температуры сушки, и их следует тщательно отслеживать при подготовке плёнки [68].

Изучение способов получения биоразлагаемых и биологически активных нанофибрильных плёнок представляет большой научный и технологический интерес. О создании нанофибрильных плёнок на основе ГМК и зеина с помощью технологии электроспиннинга было сообщено в работе [69]. Характеристика нанофибрильных плёнок была изучена с помощью сканирующего электронного микроскопа, термогравиметрического анализа, ИК-Фурье спектроскопии, рентгеновской фотоэлектронной спектроскопии, рентгеновской дифракции и измерения угла контакта на поверхности воды. Было подтверждено, что взаимодействие между ГМК и зеином происходит за счёт водородных связей, и показано, что добавление зеина вызывало увеличение термических свойств и гидрофобности плёнок. Морфология и размер нановолокон существенно зависели от содержания зеина. Дополнительно, в нанофибрильные плёнки ГМК/Зеин добавляли куркумин, природное полифенольное соединение, для исследования антибактериальных и антиокислительных свойств новых нанофибрильных плёнок. По сравнению с плёнкой из индивидуального ГМК нанофибрильные плёнки ГМК/Зеин/Куркумин показали наибольшую антибактериальную активность против пищевых патогенов.

1.3.3. Физико-механические свойства биоразлагаемых плёнок

Биоразлагаемые упаковочные материалы представляют собой одно из возможных решений снижения негативного воздействия пластмасс на окружающую среду [70].

В работе [71] изучено влияние биополимеров (амилопектина, декстрина, экструдированного пшеничного крахмала, альгината и соевого белка) на их физико-механические свойства. На рис. 1.2. и 1.3 представлены результаты измерения прочности при разрыве крахмально-альгинатных,

декстрино-альгинатных и крахмально-белковых пленок. Состав биоупленок и соотношение компонентов представлены в таблице 1.1. Как видно, наибольшей прочностью обладают пленки, в состав которых входит амилопектин. При этом композиция амилопектин (40%) с альгинатом натрия (60 %) позволяет получить более прочные пленки, по сравнению с пленками, в состав которых входит амилопектин (40%) и соевый белок (60%). Получение декстрина из крахмала и экструдирование пшеничного крахмала приводят к снижению степени полимеризации его компонентов – амилозы и амилопектина [72]. В связи с этим механическая прочность биоупленок, в состав которых входят декстрин и экструдированный крахмал, ниже, чем прочность пленок с амилопектином. При смешении декстрина с соевым белком однородная суспензия в рассматриваемых условиях не образовывалась, соответственно, качественные биополимерные пленки из водной среды с этими компонентами не формовались.

Различные условия обработки пшеничного крахмала (тип А, тип В) влияют на прочность биоупленок. В частности, биоупленки из экструдированного пшеничного крахмала типа А (50 %) - альгинат натрия (50 %) на 1.3 МПа прочнее биоупленок из пшеничного крахмала типа В (50 %) - альгинат натрия (50 %).

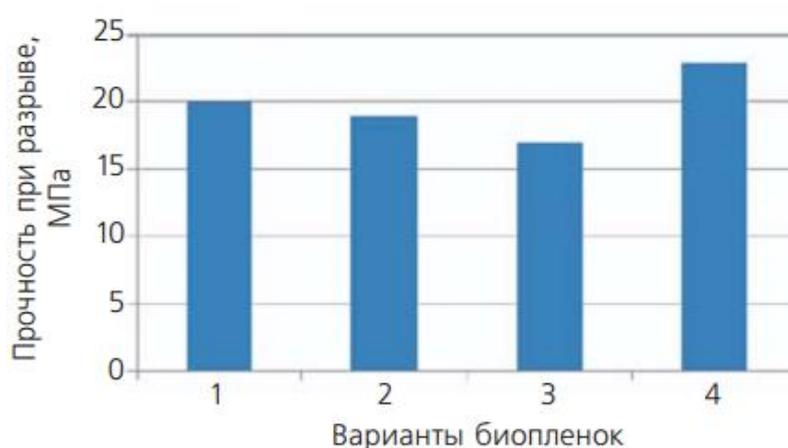


Рис. 1.2. Прочность при разрыве крахмально-альгинатных и декстрино-альгинатных биоупленок (состав биоупленок и соотношение компонентов представлены в таблице) [71].

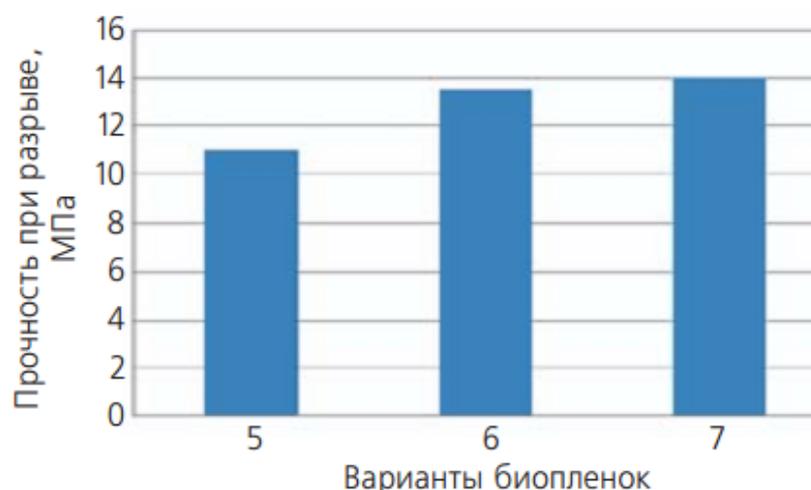


Рис. 1.3. Прочность при разрыве крахмально-белковых биопленок (состав биопленок и соотношение компонентов представлены в таблице) [71].

Таблица 1.1. Состав и толщина биополимерных пленок [71].

| Биополимер | Содержание биополимеров, % | | | | | | |
|--|----------------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| | Вариант | | | | | | |
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
| Пшеничный крахмал тип А | 50 | – | – | – | 80 | – | – |
| Пшеничный крахмал тип В | – | 50 | – | – | – | 50 | – |
| Декстрин из кукурузного крахмала | – | – | 40 | – | – | – | – |
| Модифицированный кукурузный крахмал (амилопектин) | – | – | – | 40 | – | – | 40 |
| Альгинат бурых водорослей | 50 | 50 | 60 | 60 | – | – | – |
| Соевый белок | – | – | – | – | 20 | 50 | 60 |
| Толщина, мкм | 90 | 110 | 120 | 110 | 110 | 110 | 100 |
| *В качестве пластификатора вводили глицерин для пленок с соевым белком – 17 % и для пленок с альгинатом натрия – 25 %. | | | | | | | |

При введении соевого белка в состав биопленок из крахмала типа А и типа В наблюдается противоположная зависимость. Прочность биопленок из экструдированного пшеничного крахмала типа В выше прочности биопленок из крахмала типа А на 2 МПа. Следовательно, биополимерные пленки из амилопектина и альгината натрия имеют более высокие физико-механические свойства. Прочность этих биопленок при разрыве достигает 23 МПа, что сопоставимо с прочностью полиэтилена низкого давления (ГОСТ 16338–85). На рисунках 1.4 и 1.5 показана взаимосвязь прочности при

разрыве и удельной плотности амилопектиновых биопленок от содержания компонентов. Варианты биопленок получали на основе амилопектина с добавлением альгината натрия и соевого белка.

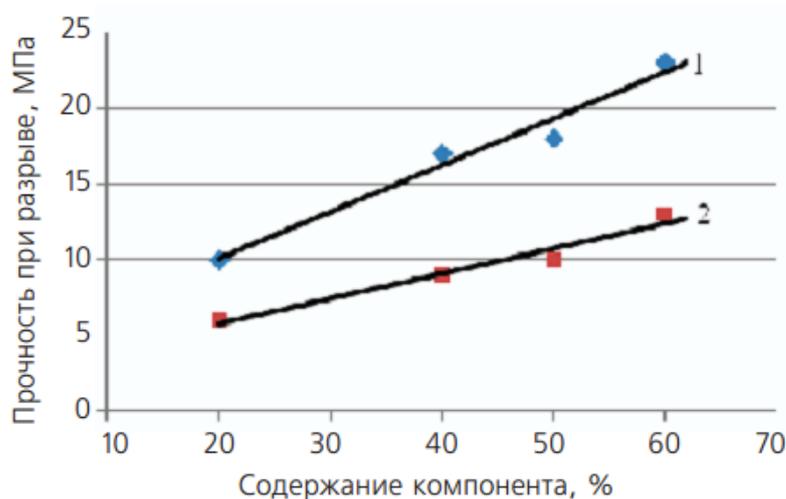


Рис. 1.4. Зависимость прочности при разрыве амилопектиновых биопленок от содержания компонентов:

1 - биопленки с альгинатом натрия; 2 - биопленки с соевым белком [71].

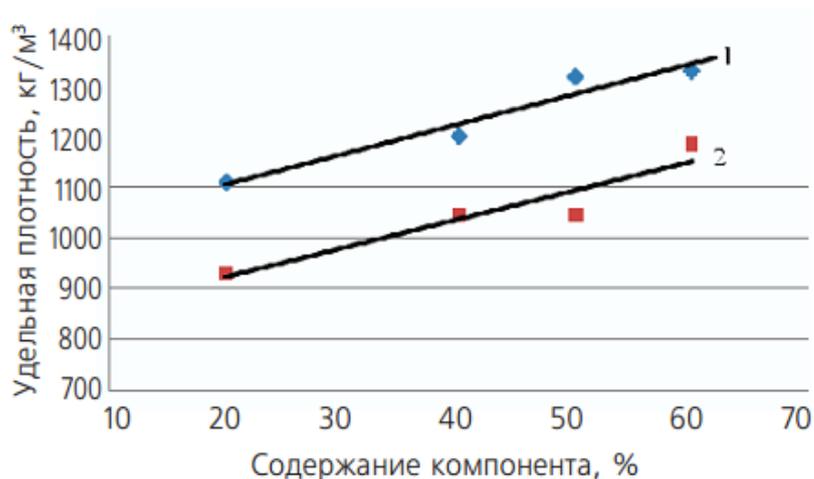


Рис. 1.5. Зависимость удельной плотности амилопектиновых биопленок от содержания компонентов:

1 - биопленки с альгинатом натрия; 2 - биопленки с соевым белком [71].

Как видно из представленных данных, альгинат натрия и соевый белок способствуют увеличению прочности биопленок при разрыве. Увеличение содержания в биопленках альгината натрия и соевого белка с 20 до 60% повышает прочность при растяжении и удельную плотность в два раза. При

введении альгината натрия в состав биополимерных пленок на основе амилопектина относительное удлинение при разрыве снижается (рис.1.6). В то же время при введении в состав биопленок соевого белка относительное удлинение при разрыве увеличивается. Следовательно, соевый белок способствует увеличению пластичности материала.

Таким образом, биопленки с амилопектином имеют более высокую прочность при разрыве по сравнению с пленками из экструдированного пшеничного крахмала и декстрина. По сравнению с соевым белком введение в состав биопленок альгината натрия приводит к увеличению их прочности при разрыве. Применение в составе биопленок соевого белка способствует увеличению относительного удлинения при разрыве, при этом альгинат натрия снижает значение данного показателя [71, 73].

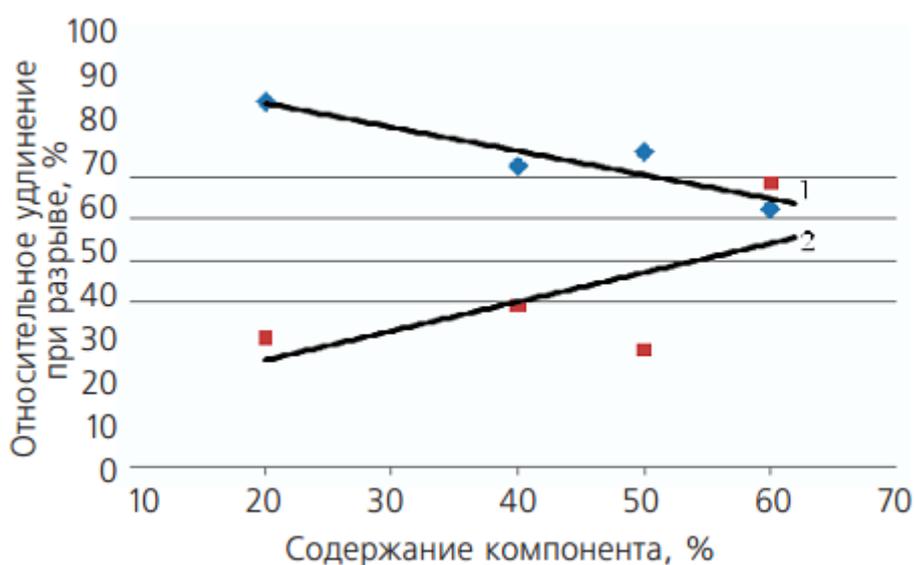


Рис.1.6. Зависимость относительного удлинения при разрыве амилопектиновых биопленок от содержания компонентов:

1 - биопленки с альгинатом натрия; 2 - биопленки с соевым белком [71].

Физические свойства пленок из казеината натрия и растворимого крахмала, пластифицированные полиолом изучались в работе [74]. Пленки получали из водной смеси казеината натрия и растворимого крахмала методом литья, экструзии и горячего прессования. В качестве пластификатора добавляли полиол. Полученные пленки хранили при разных

значениях относительной влажности и изучали механические, тепловые свойства и проницаемость пленок. Показано, что с увеличением содержания пластификатора (воды, полиолы) увеличивается относительное удлинение пленок, а показатели модуля упругости и прочности на растяжение снижаются. Макроскопические исследования показали, что двух- или трехкомпонентные пленки имеют равномерную структуру. При содержании пластификатора ниже, чем 17 % тепловые и механические свойства пленок находятся в допустимых пределах для получения упаковочных материалов [74, 75].

В работе [76] получены композитные пленки из изолята белка молочной сыворотки, желатина и альгината натрия. Изучались такие показатели как прочность на разрыв, относительное удлинение при разрыве, паропроницаемость и проницаемость кислорода. Исследовали микроструктуру композитных пленок методом сканирующей электронной микроскопии. Было определено, что пропорция ингредиентов, необходимых для получения оптимальных композитных пленок, составляет: изолята сывороточного белка (г): желатин (г): альгината натрия (г) = 8.0: 12.0: 5.0.

В работе [10] изучали серию пленок из смеси пластифицированного глицерином горохового крахмала/конжака глюкоманнана (ГК/КГМ). Структура, термическое поведение и механические свойства пленок были исследованы с помощью ИК-Фурье спектроскопии, широкоугольной дифракции рентгеновских лучей, сканирующей электронной микроскопии, дифференциальной сканирующей калориметрии и испытаний на растяжение. Показано, что между макромолекулами крахмала (ГК) и конжака глюкоманнана (КГМ) образуется прочная водородная связь, что приводит к хорошей смешиваемости между ГК и КГМ в смесях. По сравнению с индивидуальной ГК прочность на разрыв смесевых пленок значительно увеличивалась с 7.4 до 68.1 МПа при увеличении содержания КГМ с 0 до 70 масс. %. Величина удлинения при разрыве смешанных пленок была выше, чем у ГК, и достигала максимального значения 59%, когда содержание КГМ

составляло 70 масс. % и 20% глицерина в качестве пластификатора. Включение КГМ в матрицу ГК также приводило к увеличению поглощения влаги материалами на основе ГК.

Результаты исследования механических свойств композитов ГК/КГМ (от 100-0-15 до 0-100-15) представлены на рис. 1.7 и 1.8. Как видно, прочность на разрыв (σ_p), так и относительное удлинение при разрыве (ε_p) смесей выше, чем у индивидуального крахмала (100-0-15). Ступенчатый рост σ_p и ε_p увеличивается с увеличением содержания КГМ при фиксированном содержании глицерина.

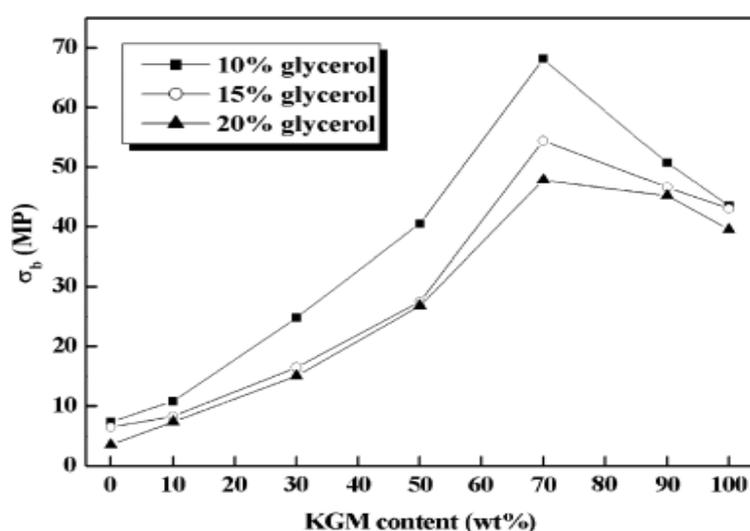


Рис. 1.7. Зависимость прочности на разрыв смесевых пленок ГК/КГМ от содержания КГМ [77].

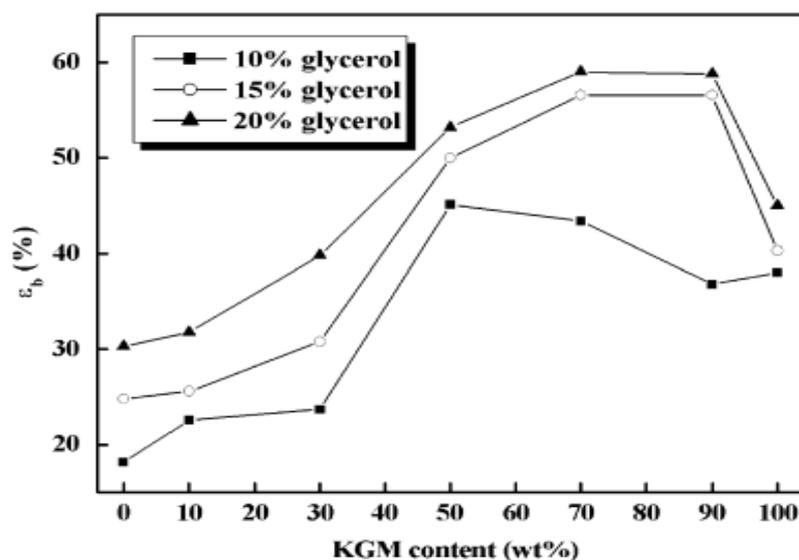


Рис. 1.8. Зависимость относительного удлинения при разрыве смесевых пленок ГК/КГМ от содержания КГМ [77].

В целом термоуплотнение пленок увеличивалось с увеличением содержания КГМ в смесевых пленках. При содержании КГМ 70 масс. % σ_p достигает максимума 68.1 МПа в пленке 30-70-10; а ϵ_p достиг максимума 59.0% в пленке 30-70-15. Все термобарьеры смесевых пленок выше, чем у соответствующих пленок из индивидуального крахмала с таким же содержанием глицерина. Это связано с разрывом межмолекулярных водородных связей и образованием внутримолекулярного взаимодействия между ГК и КГМ.

КГМ способствовал формированию синергетических взаимодействий с отдельными каррагинаном, ксантаном, гель-ланом и кукурузным крахмалом [78], а синергетические взаимодействия между КГМ и ГК в этом случае приводили к улучшению как предела прочности при растяжении, так и относительного удлинения при разрыве пленок из смеси ГК/КГМ. С другой стороны, синергетическое взаимодействие может иметь тенденцию улучшать движение сегментов цепи, прилегающих к нему, и воздействовать на перекристаллизацию в крахмале [79].

Согласно работе [80] особые взаимодействия между амилозой крахмала и молекулами КГМ сильнее, чем между амилопектином и КГМ, поэтому амилозе легче, чем амилопектину с разветвленной цепью, смешиваться с КГМ. Амилоза крахмала аналогичен КГМ по структуре, что делает его совместимым с КГМ. По этой причине прочность на разрыв и удлинение при разрыве смешанных пленок были улучшены одновременно, что могло привести к потенциальным применениям в биоразлагаемой упаковке.

Композитные съедобные пленки пектина (ПЕК) и конжака глюкоманнана (КГМ) были разработаны с добавлением полифенолы чая (ПЧ) для активной упаковки пищевых продуктов [81]. Оценивали влияние 1-5% ПЧ (в пересчете на сухой вес ПЕК и КГМ) на структурные и физические свойства, антиоксидантную и антимикробную активность полученных пленок ПЕК/КГМ. ИК - Фурье спектроскопия и сканирующая электронная микроскопия свидетельствуют о хорошей совместимости компонентов и

хорошей дисперсии ПЧ в матрице из-за наличия водородных связей между ними.

Добавление ПЧ значительно улучшило антиоксидантную и противомикробную активность пленок, в то же время, вызвав снижение пропускания, содержания влаги и удлинения при разрыве. В частности, добавление ПЧ в соответствующих количествах значительно улучшило механические и водостойкие свойства пленок. Например, прочность на разрыв и значение краевого угла смачивания пленок с 2% ПЧ увеличились на 5.28 МПа и 18.93 градус, соответственно [82].

Влияние различных концентраций ПЧ на механические свойства пленок ПЕК/КГМ представлено на рис. 1.9. Из рисунка видно, что присутствие ПЧ в композите вызывает достоверные ($p < 0.05$) различия в значениях σ_p и ϵ_p .

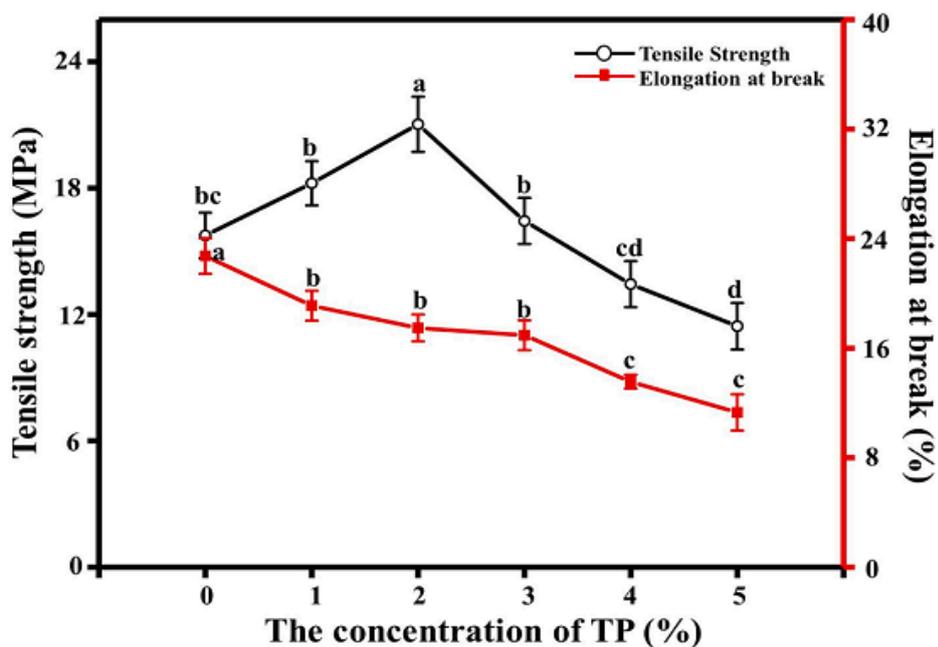


Рис. 1.9. Влияние концентраций ПЧ (%) на механические свойства (прочность при разрыве (σ_p) и удлинение при разрыве (ϵ_p)) пленок ПЕК /КГМ [81].

Пленки ПЕК/КГМ имели удовлетворительные механические свойства, σ_p и ϵ_p которых были на 15.75 ± 2.08 МПа и $16.94 \pm 1.79\%$ соответственно выше, чем у пленок на основе индивидуального пектина, максимальные σ_p и ϵ_p которых были 14.78 ± 0.25 МПа и $6.37 \pm 0.37\%$ [83]. Это указывает на то, что

улучшенные механические свойства пленок, особенно для значений ϵ_r , могут быть получены путем смешивания ПЕК и КГМ. Сходные результаты были получены [84,85] в пленках смеси пектин-альгинат натрия и конжака глюкоманнан-зеин, соответственно, которые были приписаны сильным взаимодействиям между пленкообразующими веществами.

Как правило, различные типы и концентрации добавляемых активных соединений оказывают значительное влияние на механическое поведение пленок [86]. Как видно из рис. 1.9 с увеличением содержания ПЧ в ПЕК/КГМ до 2% прочность композитных пленок увеличивается, а затем снижается; ϵ_r уменьшается с ростом концентрации ПЧ во всей области составов. По данным ИК-Фурье спектроскопии добавление ПЧ приводит к сильным взаимодействиям между функциональными группами молекул ПЕК и КГМ, такими как гидроксильные и карбоксильные группы, а фенольная гидроксильная группа существует в ПЧ через взаимодействие с водородом.

1.3.4. Степень набухания пленок

Физические характеристики гидрогелиевых композитов способствуют определению степени набухания гидрогелиевых плёнок, т.е. количеству поглощённой ими воды и степени её проникновения. Набухание таких систем напрямую зависит от химической структуры полимерных композитов и обратно от плотности поперечных связей между ними.

Набухание и упругость полимерных гелей (как нейтральных, так и полиэлектролитных) были предметом многочисленных теоретических и экспериментальных исследований. Однако задача количественного описания и предсказания свойств слабо сшитых гелей, особенно биodeградируемых полимеров, все ещё не решена до конца. Это связано с рядом обстоятельств, важнейшими из которых являются влияние прямых электростатических и гидрофобных взаимодействий на движущие силы набухания, большой диапазон деформаций цепей сетки, требующий учёта отклонений от гауссовой статистики, влияние объёмных и кулоновских взаимодействий на

упругость сетки. Хотя учёт этих факторов в принципе разработан (за некоторым исключением), несовершенство сетки и неоднородность реальных гелей, которые трудно охарактеризовать прямыми методами, приводят к необходимости проведения систематических экспериментальных исследований набухания и упругих свойств слабосшитых полимерных гидрогелей.

В физике полимеров взаимодействие молекул полимера и жидкости описывается уравнением Флори-Ренера (одноименная теория равновесного набухания [87]). Оно описывает равновесное набухание слабо сшитого полимера с точки зрения плотности сшивки и качества растворителя. В модели Флори и Ренера степень набухания полимера находится в равновесии между его эластичными и термодинамическими силами, образующимися при смешивании полимера и растворителя [88]. Указанная теория даёт изменение свободной энергии при набухании полимерного геля аналогично теории раствора Флори-Хаггинса:

$$\Delta G = \Delta G_{\text{см.}} + \Delta G_{\text{эласт.}} \quad (1.1)$$

Теория рассматривает силы, возникающие из трех источников:

1. Энтропии изменение вызвано путём смешивания полимера и растворителя $\Delta S_{\text{см.}}$.

2. Теплота смешивания полимера и растворителя, которая может быть положительной, отрицательной или нулевой, так что

$$\Delta U_{\text{см.}} \Delta G_{\text{см.}} = \Delta G_{\text{см.}} - T \Delta S_{\text{см.}} \quad (1.2)$$

3. Изменение энтропии, вызванное уменьшением числа возможных цепных конформаций через набухание $\Delta G_{\text{эласт.}}$.

Пеппас и Мерилл [89] модифицировали теорию Флори и Ренера для случая получения гидрогелей из растворов полимеров, при котором благодаря эластичным силам, наличие воды влияет на изменение химического потенциала внутри системы [88-91]. Изменение химического потенциала при смешивании можно определить по теплоте и энтропии смешивания

$$\Delta\mu_{mix} = RT(\ln(1 - \nu_{2,s}) + \nu_{2,s} + \chi_1 \nu_{2,s}) \quad (1.3)$$

где $\nu_{2,s}$ - удельный объем полимера, χ_1 - параметр взаимодействия полимер-растворитель. Используя соответствующие термодинамические соотношения, химический потенциал смешивания и учитывая вклад упругости полимера для гелей в присутствии воды, уравнение для химического потенциала можно выразить как [91]:

$$\Delta\mu_{elastic} = RT \left(\frac{V_1}{\nu M_c} \right) \left(1 - \frac{2\bar{M}_c}{M_n} \right) \nu_{2,r} \left(\left(\frac{\nu_{2,s}}{\nu_{2,r}} \right)^{1/3} - \frac{\nu_{2,s}}{2\nu_{2,r}} \right) \quad (1.4)$$

где $\nu_{2,s}$ - удельный объем полимера при релаксации, V_1 - молярный объем агента набухания (воды), M_c - молекулярная масса полимерных цепей между точками соединения, а M_n - молекулярная масса полимерных цепей, если не было введено поперечных связей. Путём объединения уравнений 3 и 4 набухающие свойства нейтрального полимерного композита в присутствии воды можно записать как:

$$\frac{1}{M_c} = \frac{2}{M_n} - \frac{(\nu / V_1) [\ln(1 - \nu_{2,s}) + \nu_{2,s} + \chi_1 \nu_{2,s}]}{\nu_{2,r} \left(\left(\nu_{2,s} / \nu_{2,r} \right)^{1/3} - (\nu_{2,s} / 2\nu_{2,r}) \right)} \quad (1.5)$$

Химическая структура полимера влияет на набухание в результате наличия функциональных групп полимерных цепей внутри гидрогелей. Например, гидрогели с гидрофильными группами набухают больше по сравнению с гидрогелями с гидрофобными группами; последние в присутствии воды не увеличиваются в объёме [92]. Для класса «умных» гидрогелей, объем при набухании изменяется в зависимости от окружающих условий, pH или температуры [93].

Перенос воды в полимерные гидрогели исследовался в течение последних нескольких десятилетий, и был внесён ряд заметных вкладов в понимание отклонений от классической диффузии Фика [91]. Из-за вязкоупругих свойств полимеров, которые усиливаются наличием сшитых сеток, может наблюдаться аномальная диффузия воды. Это поведение

связано с чистой Фиковской диффузией и переносом в системах полимер-вода [94].

Транспорт во всех этих физических ситуациях обычно можно свести к трем типам движущих сил: градиенту концентрации воды, градиенту напряжения полимера и осмотическим силам. Осмотическое поведение наблюдается в результате гидрофильности полимерной сетки; его величина усиливается, когда гидрофильное растворенное вещество внедряется в матрицу, например, в случае устройств с контролируемым высвобождением набухания.

Альфри и др. [95] идентифицировали перенос с существованием резкого фронта воды, движущегося с постоянной скоростью. Их результаты показали, что полимер, помещенный в термодинамически совместимую воду, будет набухать и перестраиваться, чтобы приспособиться к воде, что приводит к аномальному переносу, в то время как присутствие воды будет ограничено диффузией в поровом пространстве внутри полимера, что приведет к переносу Фика. Скорость поглощения воды и совместимость полимера с определенной водой приводит к возникновению напряжений между эластичными и стекловидными участками набухающего полимера, которые, как было обнаружено, растрескиваются или растрескиваются в присутствии особенно активной воды.

В заключение можно сказать, что существует несколько рамок для анализа кинетики быстрого набухания гелей. Несколько недавних теорий из литературы [91] показали, что можно предсказать точное поведение набухания как нейтральных, так и ионных гелей в различных условиях. Такие результаты можно использовать для анализа поведения гелей в различных условиях. Однако следует отметить, что точный анализ таких систем значительно сложнее из-за присутствия других термодинамических компонентов, таких как ионы и соединения с малой молекулярной массой.

1.4. Постановка задач диссертационной работы

Из анализа приведённых литературных источников [70-91] можно выделить два основных направления в области исследования съедобных плёнок и покрытий. Первое направление охватывает области реологии и стабильности растворов, особенно в тех случаях, когда формовочный композит является раствором двух или более полимеров, или дисперсной системой типа суспензии, эмульсии, наноэмульсии. Второе направление исследований связано с изучением механических, оптических, термических свойств, влаго- и газопроницаемости, растворимости в воде, маслостойкости, морфологии и микроструктуры поверхности плёнок и покрытий, антимикробных свойств и др.

Из широкого круга исследованных к настоящему времени полимеров для производства съедобных плёнок и покрытий наибольший интерес представляют биополимеры глюкоманнана и зеина. Это доступные биodeградируемые нетоксичные биополимеры с возобновляемым сырьевым ресурсом, применяющиеся в пищевой и фармацевтической промышленности. В последние годы, применение съедобных плёнок стало ориентироваться не только на упаковку пищевых продуктов, но и на создание систем терапевтического действия: пробиотиков и лекарств.

В исследованиях, проводимых в последнее десятилетие в Институте химии им. В.И. Никитина НАНТ совместно с американскими учёными из Восточного регионального научного центра госдепартамента США по сельскому хозяйству, съедобные плёнки были предложены также для создания оболочек лекарственных средств для их доставки в толстый кишечник [21, 63, 96]. При этом для улучшения механических свойств и снижения гидрофильности крахмала использовали смеси с другими полимерами. В Республике Таджикистан есть отличный сырьевой источник для производства съедобной упаковки – это глюкоманнан из корнеклубней *Эремурсы Гиссарского* (*Eremurus hissaricus vved.*) и зеин из кукурузной муки. Методы получения и состав этих биополимеров достаточно изучены в

работах [97-101].

Представленные выше исследования показали, что плёнки КГМ/Зеин имеют потенциальное применение при упаковке пищевых продуктов.

Впервые нами [101-103] получены композиционные плёнки на основе ГМ из *E. hissaricus* с белком зеина, как одним из наиболее перспективных плёнкообразующих природных полимеров. Развитие научных исследований и прикладных разработок по производству съедобных плёнок и покрытий на основе этих доступных биополимеров, которые хорошо совмещаются с большинством других пищевых полимеров, является перспективным направлением для решения новых задач в национальной продовольственной программе Республики Таджикистан.

ГЛАВА 2. ОБЪЕКТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

2.1. Подготовка и характеристики исходных веществ

Корнеплоды *Эремуруса Гиссарского* (*E. Hissaricus*) собирали в определённой фазе роста в биолого-исследовательской станции Сияккух Республики Таджикистан (на высоте 2150-2300 м над уровнем моря). Образцы очищали, сушили, взвешивали и анализировали для оценки динамики накопления и распределения компонентов биомассы на каждой стадии сбора. Корни, собранные в конце августа месяца, использовались для экстракции полисахаридов, описанных в этом исследовании. Высушенные корни измельчали в порошок (при 4000 об/мин.) с использованием лабораторной мельницы (Retsch GM 200, Германия). Высушенный порошок кипятили с обратным холодильником в экстракторе Сокслета для удаления жирно-восковых веществ, в соответствии с процедурой [104].

Обезжиривание и выделение олиго- и полисахаридов проводили по методике, описанной в работе [105]. Полученный по данной методике водорастворимый полисахарид - глюкоманнан (ГМ) очищали переосаждением в спирте и сушили при температуре 40-60 °С.

В работе использовали зеин, который выделяли из обезжиренной кукурузной муки по методу, описанному ранее [62]. Tween-80 или E433 («Mita Chemicals Ltd», Германия) использовали в качестве поверхностно-активного вещества, глицерин («ч.д.а.», ГОСТ 6259) в качестве пластификатора, этанол (ГОСТ 5962) - как вспомогательный реагент. Все реагенты, использованные в работе, были аналитически чистыми или очищались переосаждением из соответствующих растворителей.

2.2. Получение водорастворимого полисахарида

Обезжиренные порошки корнеклубней *Эремуруса Гиссарского* (*E. hissaricus*), собранные в период летнего покоя были подвергнуты экстракции водой и кислотой для получения водорастворимых и кислоторастворимых

полисахаридов. Водный экстракт был получен путём добавления 150 мл горячей деионизированной воды к 30 г обезжиренного порошка корнеклубней в течение суток при постоянном перемешивании. После фильтрации через материал из двойного слоя нейлоновой ткани в остаточную массу дополнительно добавляли 100 мл горячей деионизированной воды и снова оставляли перемешиваться на магнитной мешалке в течение 4 часов; за этим также следовала фильтрация через двойной слой нейлоновой ткани. Полученные экстракты объединялись, осаждались с добавлением 96% раствора этанола и отделялись центрифугированием. Осадок дважды промывался 96% раствором этанола. Выделенный водорастворимый полисахарид (ВРП) осушали и определяли выход, который составил 26.33%. Этот образец использовался для дальнейшего анализа. Из спиртового экстракта были выделены фенольные вещества и подробно анализированы [106].

Остаток после первой экстракции гидролизovali с использованием соляной кислоты при рН 2.0 методом флэш-экстракции на автоклаве [107]. Фракции полисахарида, нейтральные сахара и микрогели были получены из растворов гидролизата путем диафильтрации с последующим осаждением 96%-ным раствором этанолом, центрифугированием и далее подверглись ионообменной хроматографии для изолирования основного полисахарида, в соответствии, с ранее описанным сотрудниками нашей лаборатории методом [108]. Этот полисахарид с выходом 7.95% получил название кислоторастворимый полисахарид (КРП).

2.2.1. Очистка водорастворимого полисахарида

а) Депротенинизация и обесцвечивание

600 мл водного раствора каждого полисахарида переносился в делительную воронку и депротенинировался путем добавления 1800 мл смеси 4:1 CHCl_3 : $n\text{-BuOH}$, как описано в методе Севаджа [109]. После энергичного встряхивания воронки в течение 5 минут смесь оставляли на 15

минут для достижения равновесия и разделения на две фазы. Фракции белков в растворе полисахарида были экстрагированы из нижнего слоя (органическая фаза). Эта процедура повторялась три раза. Таким образом, полисахарид из водного раствора извлекался 3 объемами этанола. После фильтрации осадок промывали абсолютным этанолом и диэтиловым эфиром, соответственно, и сушили до остаточной влажности 10%.

б) Фракционирование полисахарида с помощью анионообменной хроматографии

Образец очищенного полисахарида в количестве 200 мг повторно растворяли в 20 мл деионизированной воды и расфракционировали с помощью анионообменной хроматографии. Колонку (хроматографические колонки Bio-Rad Econo-Column®, 2.5×50 см # 7372551) с адсорбентом марки диэтиламиноэтил целлюлозы (ДАЭЦ -DEAE Sepharose Fastflow, Sigma GE17-0709-01, США) уравнивали дистиллированной водой, а затем последовательно элюировали дистиллированной водой и растворами NaCl с увеличивающейся ионной силой (0.1, 0.3, 0.5, 0.7 и 2M) со скоростью потока 5 мл/мин. Элюенты собирали в пробирку на 10 мл, а затем разделившиеся фракции (отдельный пик) объединяли и концентрировали для получения основных фракций ультрафильтрацией с использованием мембраны (Millipore) с пропускающей способностью по молекулярным весам (MWCO) 10 кДа. Общее содержание сахаров во фракциях полисахарида определяли фенол-сернокислотным методом, как указано ниже.

2.2.2. Методы анализа состава водорастворимого полисахарида

а) Определение общего количества белка по методу Брэдфорда

Общее содержание белка в каждом из экстрактов (элюатов) определяли классическим методом Брэдфорда [110] и калибровали с использованием образцов сывороточного альбумина в диапазоне 1-10 мкг/мл. Значение поглощения измеряли при 595 нм. Поскольку комплекс белка с красителем стабилен в течение 60 минут, значения поглощения регистрировали до этого

предела времени и в пределах 10 минут друг от друга. Концентрация белка в образцах была рассчитана путём сравнения значений оптической плотности (A_{595}) со значением A стандартного кривого.

б) Анализ красителей на спектрофотометре видимого диапазона

Для расчёта степени обесцвечивания неочищенных и очищенных растворов полисахаридов измерялась оптическая плотность при 450 нм с помощью спектрофотометра в видимой области спектра. Длину волны детектирования (450 нм) определяли сканированием всего диапазона длин волн.

в) Определение содержания сахаров в полисахариде фенол-серноокислым методом

Общее содержание сахаров в каждой фракции полисахарида определяли модифицированным фенол-серноокислотным методом [111]. Раствор полисахарида (0.5 мл) и 5% раствора фенола (вес / объем, 0.5 мл) помещали в закрытые пробирки, в которые быстро добавляли 2.5 мл концентрированной серной кислоты. Пробирки закрывали, перемешивали на качалке в течение 5 секунд, и кипятили в водяной бане в течение 15 мин. Пробирки охлаждали до комнатной температуры и значения оптической плотности измеряли при 480 и 490 нм. В качестве холостого опыта использовалась дистиллированная вода вместо раствора полисахарида. Общее количество сахаров в полисахариде рассчитывали по стандартной кривой, выполненной для глюкозы, которая была построена с использованием серии концентраций 20, 40, 60, 80 и 100 мкг/мл.

г) Определение моносахаридного состава

Анализ моносахаридного состава полисахарида проводили с помощью высокоэффективной анионообменной хроматографии с импульсным амперометрическим детектированием (HPLC-PAD) после метанолиза, в соответствии с процедурой, описанной в работе [112], с небольшой модификацией. Использовали ВЭЖХ систему с детектором PAD Dionex ICS-

3000 (Dionex Corp, Саннивейл, Калифорния), которая включала колонку CarboPac PA-20 и защитную предколонку, скорость потока установили 0.5мл/мин. Нейтральные и кислые моносахариды разделяли, используя подвижную фазу 1мМ NaOH, которая нагнеталась изократически хроматографическим насосом высокого давления в течение 15 минут, затем применялся градиент буфера 0-130 мМ ацетата натрия (CH₃COONa) в 100 мМ NaOH в течение 30 минут. Колонку элюировали 1.0 М CH₃COONa в течение 0.8 минут, после чего подвижную фазу обратно подключали к раствору 1 мМ NaOH в течение 30 минут до последующего введения образца.

2.2.3. Методы исследования структуры полисахаридов

а) ИК-Фурье спектроскопия

Образец полисахарида сушили при 110°C в течение 30 минут и анализировали с помощью ИК-Фурье спектроскопии с использованием спектрометра Nicolet™iS™50 (Киото, Япония), оснащённого встроенным ATR, с монокристаллом алмаза, контролируемым программным обеспечением Omnic. Образец регистрировали в диапазоне сканирования 400-4000 см⁻¹ со 128 сканирований со спектральным разрешением 2 см⁻¹ [101].

ИК-Фурье спектры сухих образцов зеина, глюкоманнана и плёнок на их основе были записаны также на приборе Spectrum 65 FT-IR (Perkin Elmer, Швейцария). ИК-спектры были сняты с использованием приставки нарушенного полного внутреннего отражения (НПВО), (Attenuated total reflection-ATR, MIRACLE) с кристаллом ZnSe [102].

Устройство контроля давления обеспечивало хороший контакт между образцом и кристаллом. Фоновый спектр был получен в воздухе.

б) ЯМР-спектроскопия

Образец ВРП растворяли в D₂O с добавлением d4-триметилсилилпропановой кислоты в качестве внутреннего эталонного стандарта. Их спектр был получен на ЯМР-спектрометре 14 Tesla Agilent

DD2 (Санта-Клара, Калифорния) с использованием 5-мм зонда One NMR с градиентами импульсного поля по оси z, работающими при 25 и 40°C. В ЯМР-спектрах сигналы измерений при двух температурах показали очень малозаметные различия. Одномерные спектры ЯМР 1D-1H были получены с углом импульса 45°, задержкой релаксации 1с и шириной спектра 8 м.д., используя 32 тыс. точек и усреднённые по 64-256 последовательных циклов (режим накопления). Спектры 1D-13C были получены с углом импульса 45°, задержкой релаксации 0.2 с и шириной спектра 220-250 м.д. с использованием развязки протонов по всей длине, 32 тыс. точек данных и в среднем составляли более 30000 - 100000 последовательных циклов. Все 1D ЯМР-спектры обрабатывались с использованием базы данных электронной библиотеки MestreNova [113].

В эксперименте zTOCSY использовалось время перемешивания 100 мс. Эксперименты по двумерной гетероядерной корреляции, HSQC, HSQCTOXY и HMBC, были усилены градиентом и использовали адиабатические импульсы. Эти спектры имели спектральную ширину 8 м.д. в измерении с прямым обнаружением (¹H) и 201 м.д. в измерении с косвенным обнаружением (¹³C), и были получены с углами импульсов 90°, усреднены по 96 последовательных циклов, использовались 2 тыс. точек при измерении с прямым обнаружением. В эксперименте HSQCTOXY время смешивания (t_2) составляло 100 мс, и были проведены три эксперимента HMBC с константами взаимодействия 8, 10 и 12 Гц. Все 2D-спектры были обработаны с использованием программы VNMRJ (Санта-Клара, Калифорния) и визуализированы с использованием Sparky (Goddard & Kneller, 2008).

в) Определение молекулярной массы и молекулярно-массового распределения глюкоманнана высокоэффективной эксклюзивной жидкостной хроматографией

Для определения молекулярной массы (ММ) и молекулярно-массового распределения (ММР) полисахарида готовили его раствор (2-5.0 мг/мл) в подвижной фазе путём перемешивания при комнатной температуре (20°C) в

течение ночи. Подвижная фаза состояла из 50 мМ NaNO₃, содержащей 0.01% NaN₃ (pH-6.50). Растворы фильтровали через 0.45 мкм фильтр (Millex HV, PVDF, Millipore Corp., Billerica, MA) на шприце перед тем, как вводить его в систему высокоэффективной эксклюзионной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) - (1200 Series, Agilent Technologies, Santa Clara, CA). Система доставки растворителя состояла из вакуумного дегазатора, автосамплера и насоса высокого давления. Объем ввода образца составлял 200 мкл, а скорость потока поддерживалась на уровне 0.7 мл/мин. Образец вводили трёхкратно и в расчётах использовали среднее значение полидисперсности (M_w/M_n , M_z/M_n), среднечисловую молярную массу (M_n), средневесовую молярную массу (M_w), z-среднюю молярную массу (M_z), характеристическую вязкость [η_w] и гидродинамический радиус [R_h].

Для защиты рабочей колонки были включены последовательно две защитные колонки (TSK-GEL® PWXL 6,0мм IDx4,0 см L, 12 мкм, Tosoh Bioscience, Токио, Япония). Температуру колонок поддерживали при 35°C и они последовательно были подключены к основным детекторам системы ВЭЖХ: спектрофотометру UV-1260 Infinity (Agilent Technologies, Санта-Клара, Калифорния), фотометру HELEOS II для многоугольного лазерного рассеяния света (LS) (Wyatt Technology, Santa Barbara, CA), дифференциальному вискозиметру модели 255-V2 (DP) (Wyatt). Одна была размещена перед разделительной колонкой и состояла из набора трёх эксклюзивных колонок моделей TSK-GEL® PWXL (7.8 x 300 мм, размер частиц 13 мкм, Tosoh Bioscience, Токио, Япония), и другая до детектора с показателем преломления (RI) Optilab rEX-495 (Wyatt).

ВЭЖХ колонки калибровались с помощью пуллулана P-50 (Shodex STANDARD P-82, JM Science, Гранд-Айленд, Нью-Йорк) с узкой полидисперсностью для нормализации интенсивности рассеяния света под углом 90°. Бычий сывороточный альбумин (Sigma-Aldrich, Сент-Луис, Миссури, США) также был использован для калибровки всех детекторов: UV, LS, DP и RI. Процент выхода образца из колонки был получен из

соотношения элюированной массы, найденной из интегрирования сигнала RI к введённой массе. Все сигналы от четырёх детекторов были проанализированы с помощью программного обеспечения ASTRA (V.7.1.2.5, Wyatt Technology).

Все образцы были отсканированы при 280 нм. Изменение коэффициента преломления в зависимости от концентрации полимера dn/dc в растворе 50 мМ NaNO_3 равное 0.132, было взято из работы [114].

2.3. Методы получения, очистки и анализа зеина

Навеску кукурузной муки заливали 5-кратным объёмом водно-спиртового раствора, и белок экстрагировали на магнитной мешалке при комнатной температуре в течение 2 ч. Экстракт центрифугировали при 4000 об/мин в течение 15 мин., надосадочную жидкость сливали, а осадок вновь ставили на экстракцию белка. Третью экстракцию проводили при 60°C в течение 2 ч. 3-кратным объёмом водного этанола. Полученные экстракты охлаждали, белок высаживали 0.1 М NaCl раствором в холодильнике в течение ночи, центрифугировали при 4000 об/мин 5 мин., осадок дважды промывали от ионов хлора и сушили в эксикаторе над КОН. Из муки кукурузы последовательной экстракцией извлекали вначале легкорастворимые белки - альбумины и глобулины (водой и 0.1 М NaCl), затем 75% раствором этанола - зеины и 0.05 н. раствором щёлочи - глютелины [62].

2.4. Методы формирования плёнок на основе биополимеров

Плётки были приготовлены путём смешивания спиртового раствора зеина и водного раствора ГМ в присутствии эластомера глицерина в количестве 0.25 мл и 0.1 мл поверхностно-активного вещества полисорбата (Tween-80). Брали 0.5 г порошка ГМ, полученного из *E. Hissaricus*, предварительно смачивали добавлением 3-4 капель 95%-го раствора этанола до набухания полисахарида, затем прибавляли 20 мл дистиллированной воды и перемешивали на магнитной мешалке при 55°C в течение 20 мин. Далее постепенно добавляли 30 мл дистиллированной воды и перемешивали до

полного растворения полисахарида.

Раствор зеина готовили растворением 0.5 г зеина в 10 мл 80%- го раствора этилового спирта перемешиванием на магнитной мешалке при 500 об/мин в течение 30 минут с последующим добавлением 0.25 г глицерина, продолжая перемешивание в течение 15 минут на магнитной мешалке до полного растворения зеина.

На следующем этапе готовые растворы (зеина и ГМ) одновременно смешивали, затем полученную смесь наносили на стеклянную пластинку для формирования плёнки. Полученные плёнки сушили в сушильном шкафу в течение 14 часов при температуре 50-60°C и выдерживали при комнатной температуре (25-27°C) в течение 8 дней перед анализом взаимодействия компонентов ИК-Фурье спектроскопией, испытанием на набухание и растворимостью в воде [102].

2.5. Методы исследования физико- механических свойств плёнок

2.5.1. Деформационно-прочностные свойства

Исследование зависимости напряжения от величины деформации полученных плёнок проводили согласно ГОСТ-14236 на приборе ВРПС (вискозиметр растяжения с постоянной скоростью) (КБ Института нефтехимического синтеза АН СССР) [103].

Из полученных плёнок с помощью специального ножа вырубали образцы в виде «двойных лопаток» с длиной рабочей части 22 мм и шириной 2.5 мм. Растяжение образцов проводили в режиме одноосной вытяжки с постоянной скоростью 2 мм/мин при температуре 23 °С.

Величину напряжения, действующего на образец, определяли по формуле

$$\sigma = P/S, \quad (2.1)$$

где σ - механическое напряжение (Па), P - нагрузка, действующая на образец (Н), S - площадь поперечного сечения образца (м²).

Относительную деформацию образца при растяжении (ε) определяли согласно формуле

$$\varepsilon = \frac{l - l_0}{l_0} = \frac{\Delta l}{l_0} \quad (2.2)$$

где l_0 - начальная длина образца (м), l - длина образца после вытяжки, Δl - абсолютная деформация (м), ε - является безразмерной величиной, она может быть выражена также в процентах.

Пределные деформационно-прочностные характеристики образцов - разрывную прочность (σ_p) и деформацию разрыва (ε_p) определяли по конечным значениям напряжения и относительной деформации на кривых зависимости $\sigma(\varepsilon)$.

Модуль упругости образцов (E) определяли из кривых деформации по наклону линейных участков зависимостей ($\Delta\sigma/\Delta\varepsilon$).

2.5.2. Влагопроницаемость плёнок

Влагопроницаемость (ВП) плёнок определяли в соответствии с методиками, приведенными в работе [58] и китайского стандарта [115]. Безводный CaCl_2 (3 г) помещали в чашку ($d = 1.8$ см), тщательно запечатывали З/ГМ плёнкой и помещали в эксикатор при 25°C . Эксперимент проводили при температуре 25°C при равновесном давлении над раствором NaCl и влажности, равной 75%. Влагопроницаемость ($\text{мг}/\text{см}^2 \cdot \text{ч}$) при атмосферном давлении рассчитывали по уравнению:

$$ВП = \frac{m - m_0}{t \cdot s}, \quad (2.4)$$

где m и m_0 - конечный и начальный вес чашки (мг), s - рабочая площадь композитной пленки (см^2), t - время достижения равновесия (ч).

2.5.3. Степень набухания плёнок

Для измерения набухания гидрогелей использовались следующие экспериментальные методы: гравиметрическое измерение после погружения

в жидкость, использование специализированных приборов для измерения изменения объёма и измерения коэффициента поглощения красителя декстрана. Степень набухания плёнок определяли гравиметрическим измерением на влаге дистиллированной воды в соответствии с процедурами, представленными в работах [116].

На аналитических весах ALC-110.4 (Sartorius, Германия) взвешивали небольшой кусочек образца плёнки, помещали в эксикатор над дистиллированной водой и оставляли для набухания. Далее, каждые 30 мин. брали набухшую плёнку и взвешивали с точностью $0.05 \pm \text{мг}$. Данную процедуру повторяли до тех пор, пока масса образца не приняла постоянного значения. Степень набухания образцов (W) при атмосферном давлении и комнатной температуре (25°C) рассчитывали по уравнению:

$$W = \frac{(m - m_0)}{m_0}, \quad (2.5)$$

где m и m_0 - масса набухшего и высушенного образца, соответственно.

2.5.4. Растворимость плёнок в воде

Растворимость плёнок в воде определяли в соответствии с методикой, описанной в работе [117]. Отрезали небольшой кусок плёнки, взвешивали её массу (m_0 , г) и помещали её в центрифужную пробирку с водопроводной водой на определённое время (1.5, 2.0, 3.0, 5.0 час.). Затем нерастворимую часть плёнки центрифугировали (10 минут со скоростью 3000 об/мин.), осадок геля сушили при 70°C в течение 14-16 часов и определили количество растворившейся фракции.

Растворимость плёнки в воде (%) рассчитывали по следующей формуле:

$$PB = \frac{m_0 - ((M + m) - M)}{m_0} \cdot 100\% = \frac{m_0 - m}{m_0} \cdot 100\%,$$

где m_0 - сухая масса образца до погружения в воду, m - сухая масса образца после погружения в воду, M - масса центрифужной пробирки (г).

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Применение съедобных плёнок и покрытий является довольно новым, и такие покрытия часто используются для защиты свежих продуктов от потери вида, цвета (глянца) и влаги [118]. Основы для приготовления пищевых плёнок и покрытий подразделяются на три группы, а именно гидроколлоиды (например, полисахариды и белки), липиды (например, воски и жирные кислоты) и их смеси [119]. Полисахариды придают материалу хороший кислородный барьер, упругие механические свойства и стабильную химическую структуру. Однако из-за присутствия гидрофильных групп полисахариды имеют тенденцию поглощать воду через диффузию и поверхностное взаимодействие полимер-вода. Следовательно, для выравнивания баланса таких свойств в покрытия добавляют и гидрофобные полимеры [4, 90, 118, 119]. Биополимеры - это наиболее распространённые органические соединения в природе, которые можно возобновлять, перерабатывать и утилизировать без вреда на экосистему. Таким образом, пищевые продукты, покрытые биоплёнкой, содержащей биологически активные консерванты, показали достаточное снижение уровня O_2 (до 5%) и повышение уровня CO_2 (12% и выше) на поверхности во время хранения. Этого уровня кислорода недостаточно для активации анаэробных микроорганизмов.

Для упаковочных целей отрасли широко используют биопленки из полисахаридов, производных целлюлозы, хитозана, желатина, полипептидов, лигнина и др. В литературе достаточно исследован конкретный вклад каждого компонента и их синергетическое влияние на прочность, водопоглощение и прозрачность композиционных плёнок [1-9].

В последние годы повысился интерес к глюкоманнану (полисахарид глюкозы и маннозы), в основном, глюкоманнану из конжачного растений, произрастающего в странах восточной Азии, как к наиболее перспективному виду сырья для промышленного производства биопластиков [32-40]. В данной диссертационной работе мы защищаем результаты исследования

свойства глюкоманнана, полученного из корнеклубней растений рода Эремурус (*Eremurus*), произрастающего в горных склонах Таджикистана в качестве основного биополимера для производства пищевых плёнок.

3.1. Получение и очистки глюкоманнана из растений Эремуруса Гиссарского (*E. hissaricus*)

Растение рода Эремурус (*Eremurus*), известное как лисиный хвост или пустынные свечи, включает более 50 видов, и оно в основном распространено в горах Центральной и Западной Азии. В Таджикистане встречается около 29 видов этого рода. *Eremurus hissaricus* (*E. hissaricus*), выращиваемый в Таджикистане, является традиционно важным лекарственным растением [120], корни которого часто используются для лечения таких состояний, как язвы, заболевания желудка и печени [121]. Биоактивные компоненты растительного сырья обычно представляют собой комплексы, состоящие из многих типов встречающихся в природе соединений, таких как липиды, углеводы, белки, полифенолы, витамины, органические кислоты, летучие органические соединения и т. д. [122].

Углеводный состав у корней этих растений разнообразный и состоит главным образом из глюкоманнанов, фректоманнанов и галактоманнанов. Водорастворимый экстракт из *Eremurus Spectabilis* и *Eremurus lactiflorus* содержит глюкоманнан и глюкофруктан [123].

Анализ литературных данных показывает, что полисахариды из растений *E. hissaricus*, которые наиболее распространены в районе южного склона Гиссарского хребта Республики Таджикистан, недостаточно исследованы. В доступной литературе сведения по вопросам выделения и очистки, а также физико-химических и потребительских свойств полисахаридов из корнеклубней *E. hissaricus* отсутствуют. Не исследованы также вопросы выделения и изучения основных компонентов биохимических соединений, таких как жировая фракция, фенольные соединения, белки и

азотистые соединения, водорастворимые сахара, моно-, олиго- и полисахариды из целых корней *E. hissaricus*.

3.1.1. Выделение полисахарида из корнеклубней *E. hissaricus*

Порошок обезжиренных корней *E. hissaricus* был источником как водорастворимых, так и кислых полисахаридов. Эти экстракты получали, сначала добавлением 150 мл горячей деионизированной воды к 30 г обезжиренного порошка и давая раствору простоять в течение ночи при непрерывном перемешивании. После грубой фильтрации через двойной слой нейлоновой ткани остаточную массу смешивали с дополнительным 100 мл горячей воды и снова оставляли перемешиваться на магнитной мешалке в течение 4 часов; за этим также следовала фильтрация через двойной слой нейлоновой ткани. Полученные экстракты объединяли и осаждали добавлением 96% этанола и разделяли центрифугированием. Осадок дважды промывали 96% этанолом и сушили при 50-60°C на сушилке с вентиляцией. Выделенный водорастворимый полисахарид (ВРП) составляет 26.33% от исходной массы порошка. Этот образец был использован для дальнейшего анализа.

3.1.2. Очистка полисахарида

Шестьсот миллилитров полисахаридного экстракта после центрифугирования переносили в делительную воронку и депротенизировали, добавляя 1800 мл смеси CHCl_3 : n-BuOH (4:1). После энергичного встряхивания воронки в течение 5 минут смесь оставляли на 15 минут для достижения равновесия и разделения на две фазы. Любые накопленные остаточные белки экстрагировали из нижних слоев (органическая фаза) и удаляли, отбрасывая органическую фазу. Эта процедура повторялась трижды. Конечный полисахарид осаждали 3 объемами этанола из водной фазы. После фильтрации осадок промывали абсолютным этанолом и диэтиловым эфиром, соответственно. Содержание белка определяли методом Бредфорда [101].

Затем полисахарид фильтровали, и осадок промывали абсолютным этанолом и диэтиловым эфиром, соответственно. Во время экстракции белков в бутанол/хлороформном экстракте обнаружили присутствие акриламида. Это было подтверждено спектрами FTIR (рис. 3.1) путем сравнения спектральных полос с полосами акриламидного стандарта (Sigma). За исключением двух пиков низкой интенсивности при 2854 см^{-1} и 2968 см^{-1} , спектр экстракта полностью соответствовал спектру акриламида. Мы подтвердили, что все примеси акриламида были удалены путём промывания образца ВРП смесью вода-этанол.

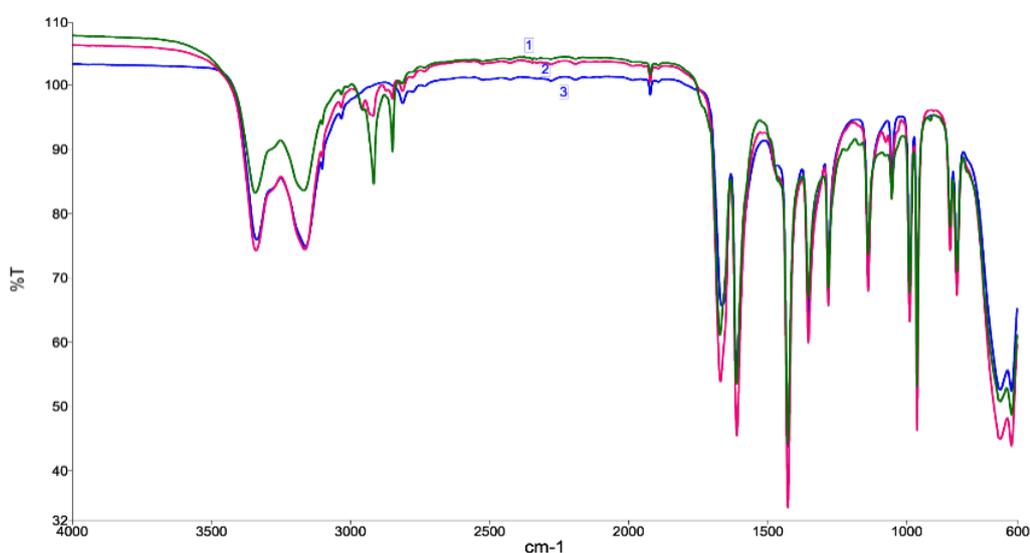


Рис. 3.1. ИК-Фурье спектры бутанол/хлороформного экстракта из корней *E. hissaricus* (1), свежих (2) и стандартного образца акриламида (3).

Образец очищенного полисахарида в количестве 200 мг повторно растворяли в 20 мл деионизированной воды и выделяли с помощью анионообменной хроматографии. Хроматографическую колонку (Bio-Rad Econo-Column®, 2.5×50 см # 7372551) с диэтиламиноэтилцеллюлозы (ДЭАЭЦ - DEAE Sepharose Fast Flow, Sigma GE17-0709-01, США) уравнивали дистиллированной водой и затем полисахарид последовательно элюировали дистиллированной водой и растворами NaCl с увеличением ионной силы (0.1, 0.3, 0.5, 0.7 и 2 М) при скорости потока 5 мл / мин. Элюенты собирали в пробирку по 10 мл, а затем объединяли и

концентрировали для получения основных фракций (ультрафильтрацией с использованием мембраны Millipore™ 10 кДа MWCO). Общее содержание сахара в полисахариде определяли фенол-серноокислотным методом, как указано в работе [101].

3.2. Состав и структура полисахарида

Моносахаридный состав ВРП анализировали с помощью высокоэффективной анионной хроматографии (ВЭАХ) с пульсирующей амперометрическим детектором (PAD) совместно с учёными из Восточного регионального исследовательского центра госдепартамента США по сельскому хозяйству (ВРИЦ ГД США), как описано в работе [101]. Было обнаружено, что первичный образец ВРП состоит из D-маннозы и D-глюкозы в молярном соотношении 1.7:1 (таблица 3.1), что соответствует полисахариду глюкоманнана.

Таблица 3.1. Моносахаридный состав исходного ВРП и его очищенной фракции на ДЭАЭЦ (ВРП Ф1)

| Образец | Glc | Man | Ara | Gal | Xyl | Rha | Fuc | GalA | GlcA |
|---------|-------|-------|------|------|------|------|------|------|------|
| ВРП | 37.28 | 57.25 | 0.42 | 1.46 | 0.59 | 0.34 | 0.01 | 2.29 | 0.35 |
| ВРПФ1 | 36.37 | 61.51 | 0.22 | 0.61 | 0.56 | 0.49 | 0.02 | 0.08 | 0.13 |

3.2.1. Анализ ИК-Фурье спектров полисахарида

Анализ спектров исходного и очищенного от белков полисахарида проводили путем сравнения их ИК-Фурье спектров. Для этого образцы были высушены и сняты их спектры. Как видно из рис. 3.2 спектры исходных и очищенных образцов отличаются по ряду характерных колебательных полос поглощения. Широкая полоса поглощения при 3351 см^{-1} относится к валентным колебаниям О–Н сахара. Она сдвигается в сторону более высоких значений частот (3370 см^{-1}) после удаления протеина, что может быть связано с ослаблением водородных связей с протеинами. Узкая полоса при

2885 cm^{-1} , обусловленная симметричными валентными колебаниями С–Н эфирных групп (метильных или ацетильных), не претерпевает изменений. Остаются неизменными также полосы поглощения в области 1020 и 1068 cm^{-1} , относящиеся квалентным колебаниям гликозидных С–О–С связей. Валентные колебания С–О эфирных связей наблюдаются для неочищенных и очищенных образцов ВРП при 1725 cm^{-1} .

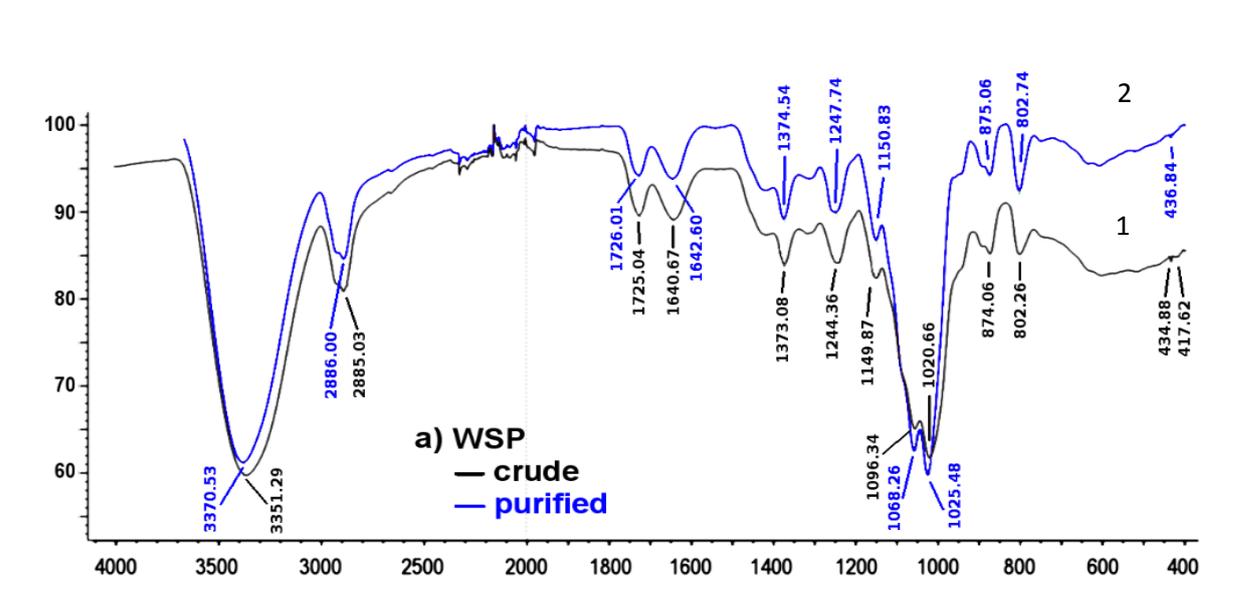


Рис. 3.2. ИК-Фурье спектры образцов ВРП до (1) и после (2) очистки.

Слабые полосы при 875 и 802 cm^{-1} в спектре очищенного ВРП приписываются С-1-Н (β -) и (α -) конфигурации пиранозного цикла сахарного остатка [123], находящегося в линейном или разветвлённом полисахариде, соответственно. Это согласуется с результатами анализа других видов растений *Egremigus*, произрастающих в России [124] и Иране [125], где комбинации этих пиков считались диагностическими для манноза в β -конфигурации сахарного остатка полисахарида. Присутствие β -1,4-гликозидных и β -1,4-маннозидных связей в глюкоманнине также связано с валентными колебаниями С–О–С, расположенными в областях 1068, 1025 и 1247 cm^{-1} [126]. Пики при 1374 cm^{-1} свидетельствуют о валентных колебаниях

C–H связей в пиранозном кольце. Слабая полоса при 1247 см^{-1} была отнесена к метилу (CH_3) ацетильных групп ВРП.

Таким образом, при сравнении ИК-Фурье спектров как неочищенного, так и очищенного ВРП не обнаружены какие-либо сдвиги частот, за исключением небольшого смещения частоты поглощения в области гидроксильных групп (рис. 3.2). Это является свидетельством того, что данный полисахарид изолирован свободным от протеина.

3.2.2. Анализ молекулярной массы и молекулярно-массового распределения водорастворимого полисахарида методом высокоэффективной эксклюзионной хроматографии

На рис. 3.3 показаны профили ВЭЖХ (высокоэффективной эксклюзионной жидкостной хроматографии): ультрафиолетового (UV), лазерного светорассеяния (LS), вискозиметрического (DP) и рефрактометрического (RI) для образца ВРП.

Интегрирование по частям кривых молярной массы от объема элюирования, полученных из детектора LS, позволяет идентифицировать два пика (субпопуляции) на основании экспоненциальной аппроксимации [127].

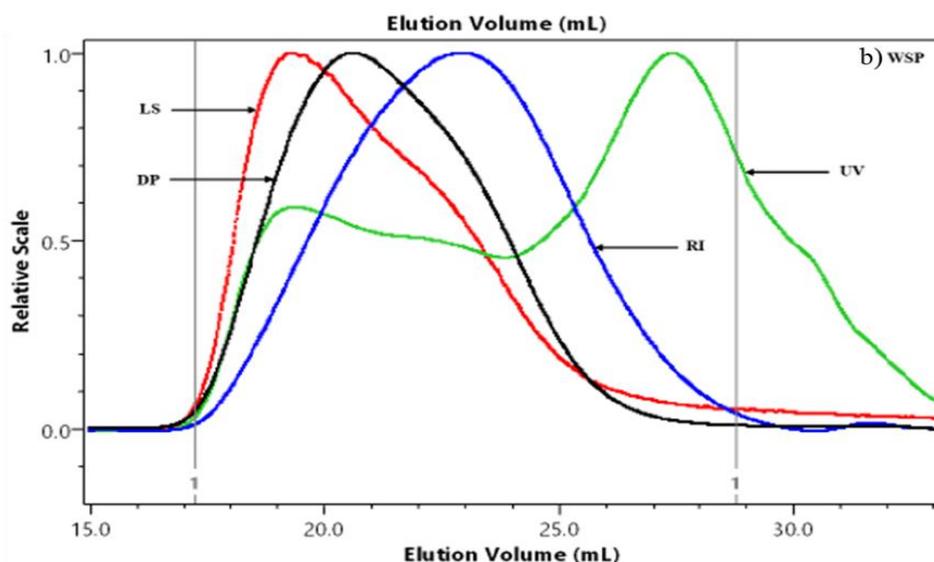


Рис. 3.3. Наложенные ВЭЖХ хроматограммы с UV, LS, DP и RI детекторов образца ВРП из *E. hissaricus*.

Основной пик макромолекулы ВРП (LS профиль) элюируется при 17.2-21.6 мл и представляет 33.6% молярной массы, а второй пик элюируется при 21.6-26.5 мл и составляет 66.4% от молярной массы. Пик белка ВРП (WSP) имеет бимодальное распределение, при этом большая часть элюируемого белка находится в диапазоне более низких молярных масс.

На рис. 3.4 представлены LS-хроматограммы и кривые молекулярно-массового распределения (ММР) образцов полисахаридов, экстрагированных из корнеклубней растений *E. hissaricus*. Хроматограмма LS ВРП (WSP) представляет больше аналогичных компонентов во всем диапазоне молярных масс по сравнению с кислоторастворимым полисахаридом (КРП) (ASP). Из хроматограммы также следует, что с увеличением объёма элюирования наблюдается неуклонное снижение ММР.

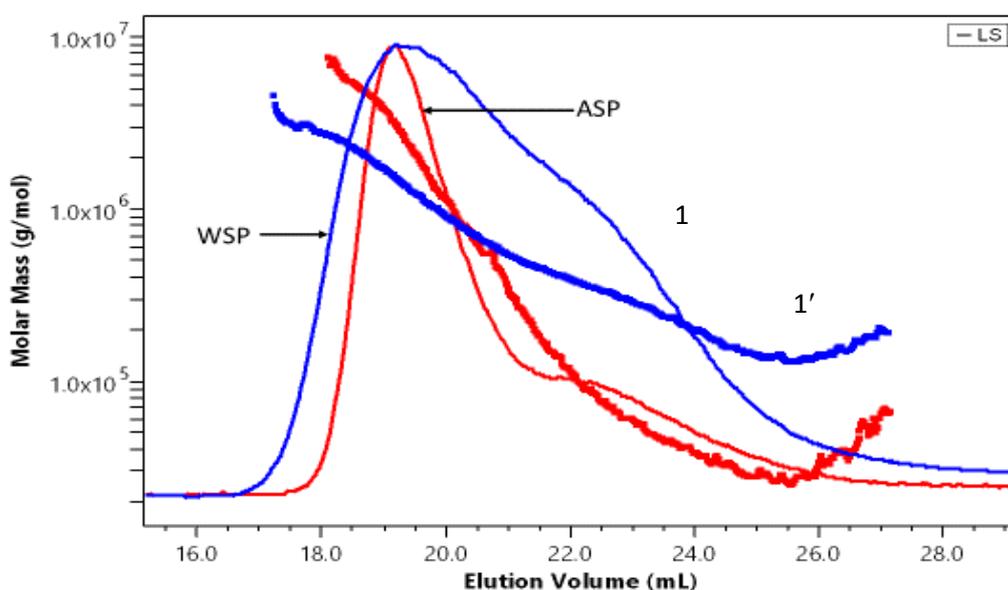


Рис. 3.4. Хроматограммы LS детектора и кривые ММР образцов полисахаридов, экстрагированных из корнеклубней растений *E. hissaricus*. Профиль хроматограммы и кривые ММР ВРП (WSP) обозначены как 1 и 1'.

Результаты анализа молярной массы, ММР и гидродинамические характеристики ВРП приведены в таблице 3.2. В таблице представлены также результаты измерений полидисперсности (M_w/M_n , M_z/M_n), среднечисловой молярной массы (M_n), средневесовой молярной массы (M_w), z-средней молярной массы (M_z), характеристической вязкости $[\eta_w]$, гидроди-

Таблица 3.2. Данные молярной массы, ММР и гидродинамические характеристики ВРП

| Образцы | Объем элюирования | Выход фракций (%) | MG, % | M_w/M_n | M_z/M_n | M_n | M_w | M_z , | η_w , мл/мг | $R_h(v)$, нм |
|---------|----------------------|-------------------------|----------|-----------|-----------|---------|----------|----------|---------------------|------------------|
| | (мл) | | | | | | | | | |
| ИПС | 17.2-26.5 | 100 | 11.76 | 1.76(.09) | 3.67(.2) | 287(22) | 495(12) | 1030(23) | 533(2) | 48.5(.4) |
| Пик 1 | 17.2-21.6 | 33.6(.7) | | 1.32(.01) | 1.85(.04) | 763(19) | 1006(27) | 1414(59) | 896(8) | 59.9(9) |
| Пик 2 | 21.6-26.5 | 66.4(.7) | | 1.15(.03) | 1.31(.06) | 218(21) | 250(17) | 284(18) | 355(11) | 25.9(.5) |

ИПС = интегральная площадь хроматограммы LS, количество микрогелей (MG, %), значение полидисперсности (M_w/M_n), (M_z/M_n), среднечисленная молярная масса (M_n), средневесовая молярная масса (M_w), Z-средняя молярная масса (M_z), характеристическая вязкость (η_w), гидродинамический радиус (R_h) стандартное отклонение (в скобках) представлено из трёх измерений.

намический радиус [R_h (v)], и выход микрогеля (MG), полученного центрифугированием или удалённого микрофльтрацией из каждого образца.

Полученные значения M_w , η_w , $R_h(v)$, проанализированные в виде одного пика для всей хроматограммы (ИПС), были следующими: 495 кДа, 533 мл/мг и 48.5 нм, соответственно. Хотя на хроматограммах LS бимодальный пик ВРП проявляется слабо (рис. 3.4) программа ASTRA (ASTRA software V.7.1.2.5, Wyatt Technology) позволила рассчитать значение всех молекулярных и гидродинамических параметров отдельно для каждой фракции (пиков).

3.2.3. Анализ 1D- и 2D- ЯМР спектров полисахарида

Эксперименты одномерной (1D) и двумерной ЯМР спектроскопии (2D) были выполнены на ЯМР-спектрометре Agilent 2DD 14 Тесла (Санта-Клара, Калифорния) с использованием зонда One NMR 5 мм с градиентами импульсного поля по оси z, в лаборатории нашего коллаборатора в Восточном региональном научном центре (ВРНЦ) Госдепартамента США по сельскому хозяйству¹. Образцы ВРП растворяли в D₂O с добавлением 4-триметилсилилпропановой кислоты (ТМСП) в качестве внутреннего стандарта и эксперименты проводили при 40°C и 70°C. Между двумя температурами наблюдалось очень мало заметных различий, поэтому мы приводим данные, полученные только при 70°C.

Спектры 1D-¹H и ¹³C представлены на рис. 3.5. Как видно, аномерная область спектра 1D-¹³C ВРП содержит два сильных резонанса при 105.3 и 102.9 м.д. и один слабый пик при ~107.2 м.д. Пик при 102.90 м.д., по-видимому, разделён; это свидетельствует о том, что разделенные пики представляют собой один и тот же тип сахара (полисахариды, имеющие разные структуры).

¹Диссертант благодарит др. Гари Страчана (GaryStrachan) из ВРНЦ Госдеп США по сельскому хозяйству за успешное выполнение ЯМР анализов и совместные публикации полученных результатов [101].

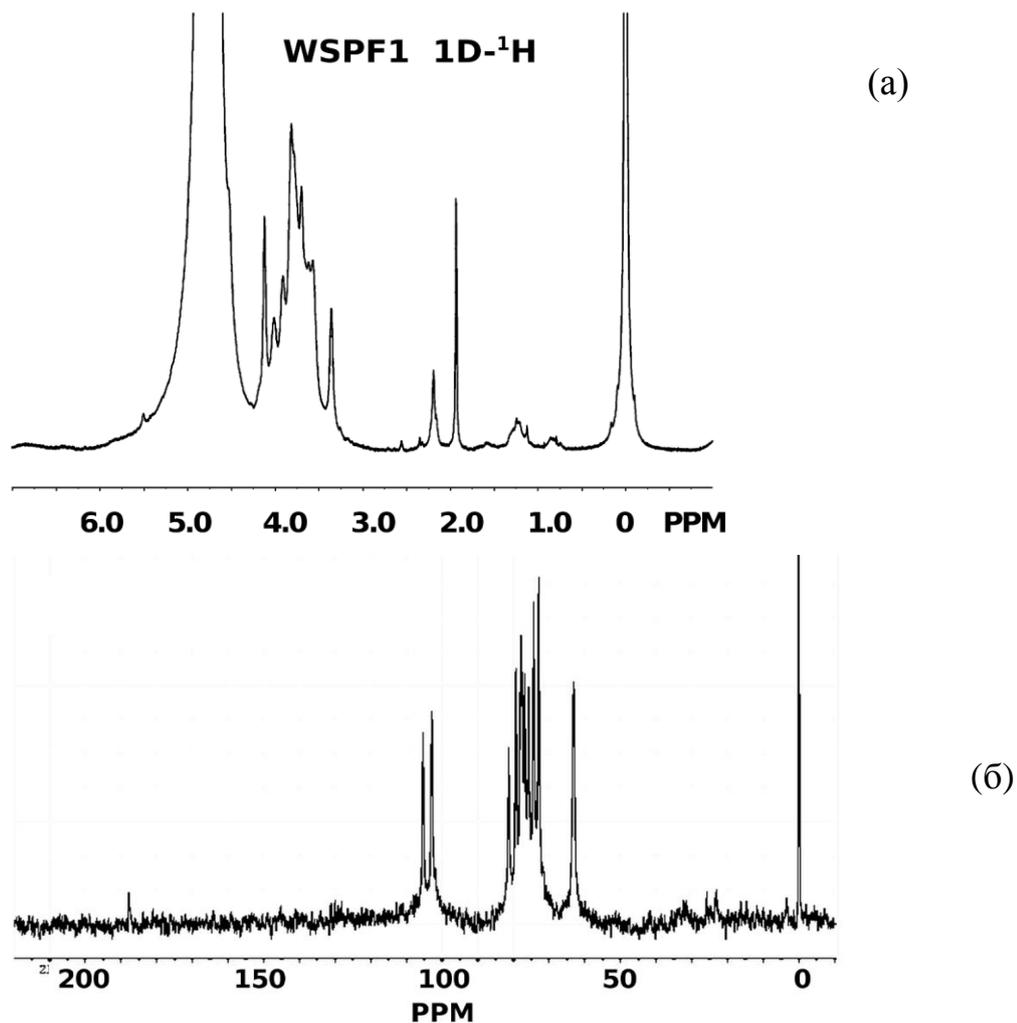


Рис. 3.5. 1D-¹H (а) и ¹³C (б) ЯМР спектры ВРП в D₂O при 70°C.

Присутствие аномерных атомов углерода в двумерном (2D) спектре ¹H-¹³C-HSQC (рис. 3.6) указывает на присутствие трёх типов сахаров, имеющих одинаковые характеристики. Имеется также пара аномерных пиков от двух сахаров одного типа с почти совпадающими резонансами 1H/1C при 4.75/102.3 и 4.762/103.1 м.д., и второго типа сахарного остатка, у которого аномерный пик находится в области 4.53/105.3 м.д., а также видно присутствие третьего сахара со слабым пиком при 4.64/107.2 м.д., что согласуется с одномерными спектрами (1D).

Анализ аномерной области спектра НМВС показывает, что константа спин-спинового взаимодействия J_{CH} для первых двух из этих аномерных пиков составляет ~ 158 Гц, а для второго- ~ 154 Гц. Это указывает на то, что

оба остатка имеют аксиальную ориентацию атома водорода в положение С1 (H-1) и, следовательно, принадлежат к β -конфигурации сахарного остатка в полисахариде [128, 129].

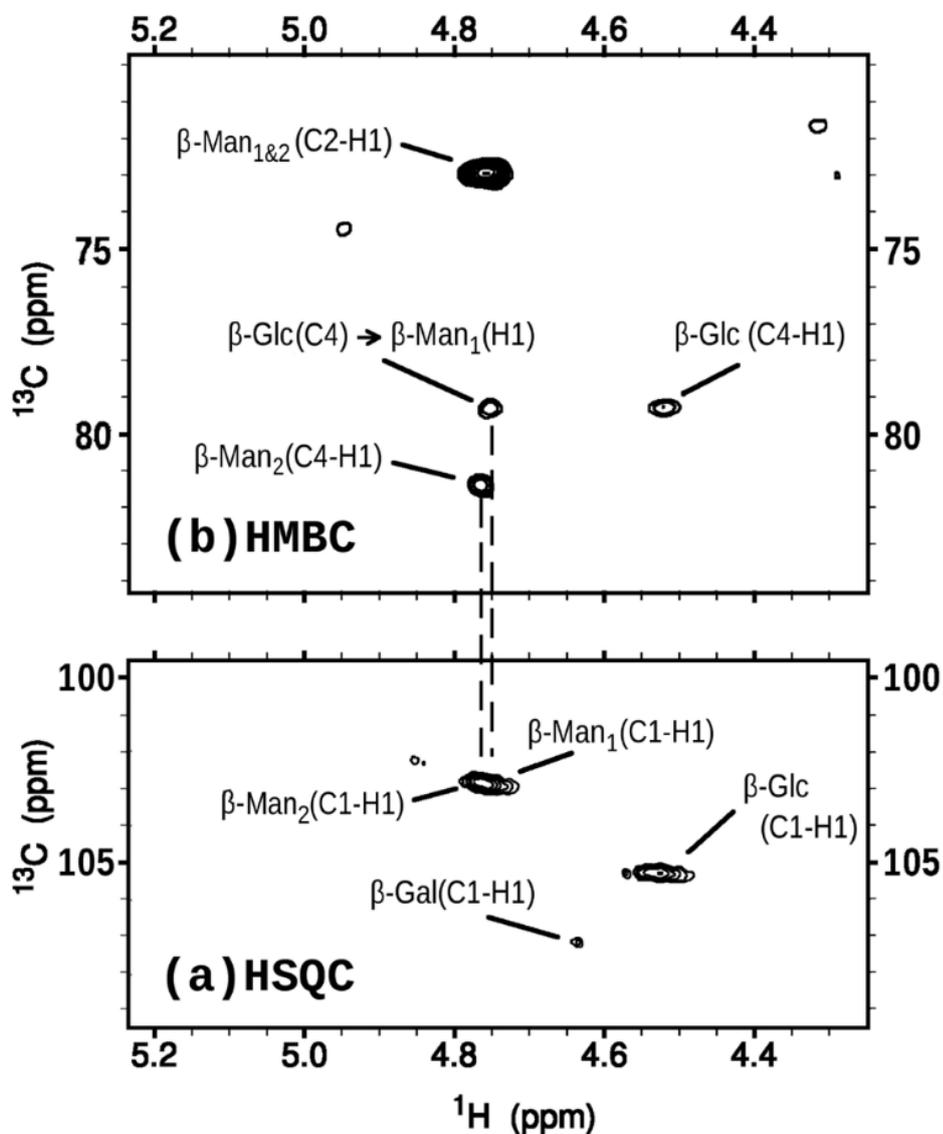


Рис. 3.6. Аномерные области С1 образца ВРП в спектре HSQC (а), в то время как его корреляции сквозных связей показаны в спектре HMBC (10 Гц) (б). Пунктирными линиями обозначены корреляции между остатками. Наблюдаются два остатка $\beta\text{-Man}$ с немного разными резонансами H1 и C1. $\beta\text{-Man}_2$ (H1) имеет корреляцию сквозных связей в HMBC с C4 другой маннозы, тогда как корреляции $\beta\text{-Man}_1$ (H1) указывают на то, что они связаны с C4- $\beta\text{-Glc}$. Резонансы маннозы становятся неразличимыми в позиции C2, поэтому резонанс маннозы C2 назначается как Man1 и 2 (C2).

Сравнение значений резонанса, найденных для этих моносахаридов, с литературными данными [129-134] приводит к выводу, что первая группа аномеров (с центром при $\sim 4.76/102.7$ м.д.) проявляется за счёт β -Man, а пик при $4.53/105.3$ м.д. относится к β -Glc. Это согласуется с результатами анализа моносахаридного состава, т.е. данный полисахарид в основном состоит из β -Man и β -Glc (табл. 3.2.3).

Корреляцию по сквозным связям третьего и самого слабого аномерного пика нельзя было надёжно приписать к C2, но его химические сдвиги находятся в пределах ожидаемых значений для β -Gal. Сравнивая данный пик в HSQC спектре с идентичными резонансами галактозильных остатков, имеющих гораздо более сильную интенсивность, можно сделать вывод, что данный факт скорее показывает присутствие несвязанных с ВРП остатков β -Gal.

Используя корреляционные эксперименты 2D ЯМР, резонансов других атомов в спектрах ^1H и ^{13}C были указаны связи для каждой сахарной единицы, присутствующей в данном полисахариде (табл.3.3). Они основаны на химических сдвигах, константах взаимодействия и корреляционных связях из всех 2D-экспериментов (гомоядерный ^1H - ^1H gCOSY и zTOCSY, и гетероядерный ^1H - ^{13}C gHSQCAD, gHMBCAD (8 Гц и 10 Гц) и HSQC-TOCSY). Эти результаты согласуются с литературными данными значений химических сдвигов как ^1H , так и ^{13}C [129-135], и подтверждают, что ВРП представляет собой линейный полисахарид – глюкоманнан.

Кроме того, спектры HMBC и HSQC ВРП содержат сигналы, связанные с метоксигруппой при $3.82/55.7$ м.д. ($^1\text{H}/^{13}\text{C}$), однако это не может быть отнесено к конкретному моносахариду, так как требует дополнительного ферментативного гидролиза и установления места связывания метильных или ацетильных групп классическими методами метилирования, периодатного окисления и расщепления по Смиуту.

Таблица 3.3. Результаты анализа моносахаридов ВРП на основе 2D-COSY, TOCSY, HSQC, HSQCTOXY и HMBC экспериментов.

| | C1 | C2 | C3 | C4 | C5 | Unassigned C | C6 | H1 | H2 | H3 | H4 | H5 | Unassigned H | H6 |
|---------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-----------------|-------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-----------------|------------------------|
| β -Gal (weak) | 107.1 | 81.33 | - | - | - | 71.53, 74.50 | 63.13 63.23 63.11 | 4.648 | 3.7 | - | - | - | 5.495,4.203, | 4.05, 3.94, 3.73 |
| β -Man1 | 102.5 | 72.89 | 74.3 | 77.95 | - | | | 4.753 | 4.11 | 3.809 | 3.577 | - | 4.000, 3.929, | |
| β -Man2 | 103.1 | 72.89 | 74.3 | 81.34 | - | | | 4.762 | 4.11 | 3.809 | 3.708 | - | 3.852,3.843, | |
| β -Glc | 105.3 | 75.77 | 76.82 | 79.29 | 77.54 | | | 4.528 | 3.369 | 3.704 | 3.826 | 3.635 | 3.759 | |

Хотя спектр $1D-^1H$ (рис.3.5а) ВРП в значительной степени неразрешен и не поддаётся интерпретации, его наиболее заметной особенностью является сильный пик метила ацетильных групп при 2.19 м.д. Углеродные резонансы этой ацетильной группы наблюдаются в спектре $1D-^{13}C$ (рис. 3.5б) в виде хорошо разрешённого пика метила при 23.3 м.д. и карбонильных групп при 175.9 м.д. Эта ацетильная группа подтверждается спектрами 2D НМВС и HSQC, где видно, что карбонильные группы при 176 м.д. соединяются с метильными при 2.19/23.26 м.д. Ацетильная группа не может быть отнесена к конкретному моносахариду. Степень ацетилирования в образцах не могла быть точно рассчитана по спектру $1D-^1H$, из-за существенного искажения базовой линии в аномерной области от пика стандарта. Однако ацетильная группа отчётливо видна в спектрах $1D-^{13}C$.

К сожалению, спектр углерода не был количественно обработан, что привело к появлению пиков, которые имеют значительное, но переменное количество увеличения интенсивности сигнала. При этом, сравнение интегральных интенсивностей пиков ацетильного и аномерного углерода даёт лишь приблизительную оценку того, что ацетилирование составляет менее 6%.

Таким образом, водорастворимые полисахариды были выделены из корней клубней растения *E. hissaricus*. Были определены моносахаридный состав, гидродинамические свойства и их тонкая структура с использованием ВЭАХ (РАD детектора) хроматографии, МУЛС (UV, LS, PD, IR детекторов), ИК-Фурье и гомо- и гетероядерной 1D и 2D ЯМР-спектроскопии. Это позволило нам заключить, что корни *E. hissaricus* содержат водорастворимый глюкоманнан (GlcMan-ГМ) полисахарид.

ВРПГМ характеризуется высокой молекулярной массой (495 кДа), но относительно низкой полидисперсностью по молярной массе. Более того, ВРПГМ имеет высокую вязкость (533 мл/мг) и более высокий гидродинамический радиус (48.5 Å) по сравнению с кислоторастворимым полисахаридом, выделенным из корнеплодов этого растения. Распределение

молярной массы образца ВРПГМ имеет две отдельные полосы в кривых ММР, что указывает на наличие двух основных структурных вариантов: линейного полисахарида, создающегося из последовательных цепей ГМ (рис. 3.7) и короткоцепного Glc-Man с небольшим разветвлением из галактозы (Gal).

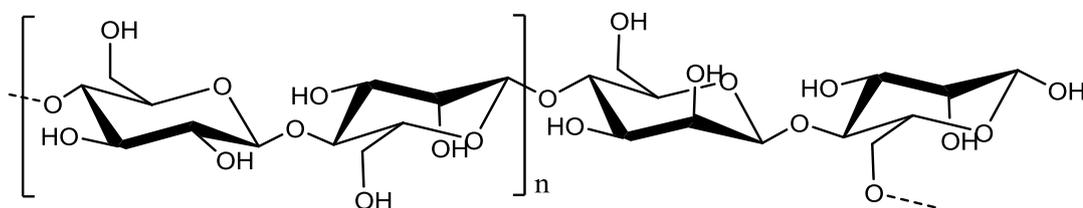


Рис. 3.7. Структура ВРП UV (GlcMan), выделенного из корнеклубней растений *E. hissaricus*.

Полосы поглощения ИК-Фурье в области 880-890 см^{-1} подтверждают наличие бета-пиранозной конфигурации основной цепи полисахарида.

3.3. Формирование пищевой плёнки на основе ГМ и зеина

В заключение главы 1 на основе анализа литературного обзора приводится, что для производства съедобных плёнок и покрытий в данной работе были выбраны биополимеры глюкоманнана и протеинов. Эти биополимеры доступные в флоре Республики Таджикистан, нетоксичные и являются материалами с возобновляемым сырьевым ресурсом, применяющимися в пищевой и фармацевтической промышленности.

В последние годы, применение съедобных плёнок стало ориентироваться не только на упаковку пищевых продуктов, но и на создание систем терапевтического действия: пробиотиков и лекарств. В этом аспекте большое внимание исследователей привлекли полисахариды на основе ГМ, полимеры глюкозы и маннозы, которые благодаря своим превосходным плёнкообразующим свойствам, хорошей эластичности, низкой газопроницаемости и технологическим преимуществам являются перспективными для разработки упаковочных биоразлагаемых материалов [32-40].

Обезжиривание корнеклубней и выделение олиго- и полисахаридов проводили по методике, описанной в работах [98-101]. Полученный, таким образом ВРП ГМ, достаточной для формирования плёнок, очищали переосаждением в спирте и сушили при температуре 40-60°C. В работе также использовали белок-зеин, который выделяли из обезжиренной кукурузной муки по методу, описанному ранее [62].

Tween-80 или E433 («Mita Chemicals Ltd», Германия) использовали в качестве поверхностно-активного вещества, глицерин («ч. д. а.», ГОСТ 6259) в качестве пластификатора, этанол (ГОСТ 5962) - как вспомогательный реагент. Плёнки, полученные из смеси зеина и глюкоманнана с разным соотношением биополимеров согласно методу, описанному в работе [102], представлены в табл. 3.4.

Таблица 3.4. Содержание исходных компонентов и предварительные характеристики полученных композитных плёнок

| № образца | Шифр пленки | Толщина, мкм | Зеин, г | ГМ, г | Зеин, % | Визуальный вид |
|-----------|-------------|--------------|---------|-------|---------|---------------------------------------|
| 1 | ГМ | – | – | 1.0 | – | прозрачные, липкие |
| 2 | З/ГМ=1.00 | 230 | 0.500 | 0.5 | 50.0 | прозрачные, липкие |
| 3 | З/ГМ=1.25 | 250 | 0.625 | 0.5 | 55.0 | прозрачные, липкие |
| 4 | З/ГМ=1.50 | 230 | 0.750 | 0.5 | 60.0 | полупрозрачные, эластичные |
| 5 | З/ГМ=1.75 | 190 | 0.875 | 0.5 | 63.5 | матовые, эластичные |
| 6 | З/ГМ=2.00 | 230 | 1.000 | 0.5 | 65.0 | непрозрачные, хрупкие |
| 7 | Зеин | – | 1.000 | 0 | 100.0 | непрозрачные, деформируются при сушке |

Полученные композитные плёнки в зависимости от содержания биополимеров имеют различные механические характеристики и внешний

вид. В табл. 3.4 приводятся содержание исходных компонентов и предварительные характеристики полученных композитных плёнок. Содержание ПАВ и глицерина во всех плёнках были постоянными и составляли 7% и 20% от массы компонентов, соответственно.

С увеличением содержания зеина в составе композита до соотношения зеин/ГМ = 1.75 образцы переходят к механически устойчивым плёнкам. Образцы из индивидуальных растворов полимеров имеют либо пониженные механические свойства, либо неустойчивую форму и непригодны к дальнейшему использованию, поэтому их свойства не обсуждаются в работе. С увеличением доли зеина от 50% до 65% качество плёнок улучшалось, они становились более эластичными по сравнению с плёнками, приготовленными из индивидуального зеина или ГМ. Однако дальнейшее добавление зеина свыше 65% приводило к ухудшению механических характеристик плёнок.

3.3.1. ИК-Фурье спектроскопические исследования процесса формирования полимерных плёнок

На рис. 3.8 приведены ИК-спектры полученных композитов при различных соотношениях биополимеров: 1- З/ГМ=1.0; 2- З/ГМ=1.25 и 3- З/ГМ=2.0. Из проведенных исследований следует, что в полученных плёнках происходит молекулярное взаимодействие зеина и ГМ. Например, в спектрах плёнок З/ГМ (рис. 3.8) полоса при 1646 см^{-1} , характерная для колебаний ν_{CO} (амид I) зеина, по-видимому, перекрывается характеристической полосой ГМ при 1642 см^{-1} . В спектре композитов (плёнок) наблюдается только одна, но более интенсивная полоса при 1646 см^{-1} . Кроме того, наблюдаются различия в интенсивности полос поглощения в ИК-спектрах: повышается интенсивность валентных колебаний карбонильной группы 1642 см^{-1} и деформационных колебаний у амида II связей при 1541 см^{-1} , свидетельствующих о формировании прочных связей зеина с молекулой полисахарида.

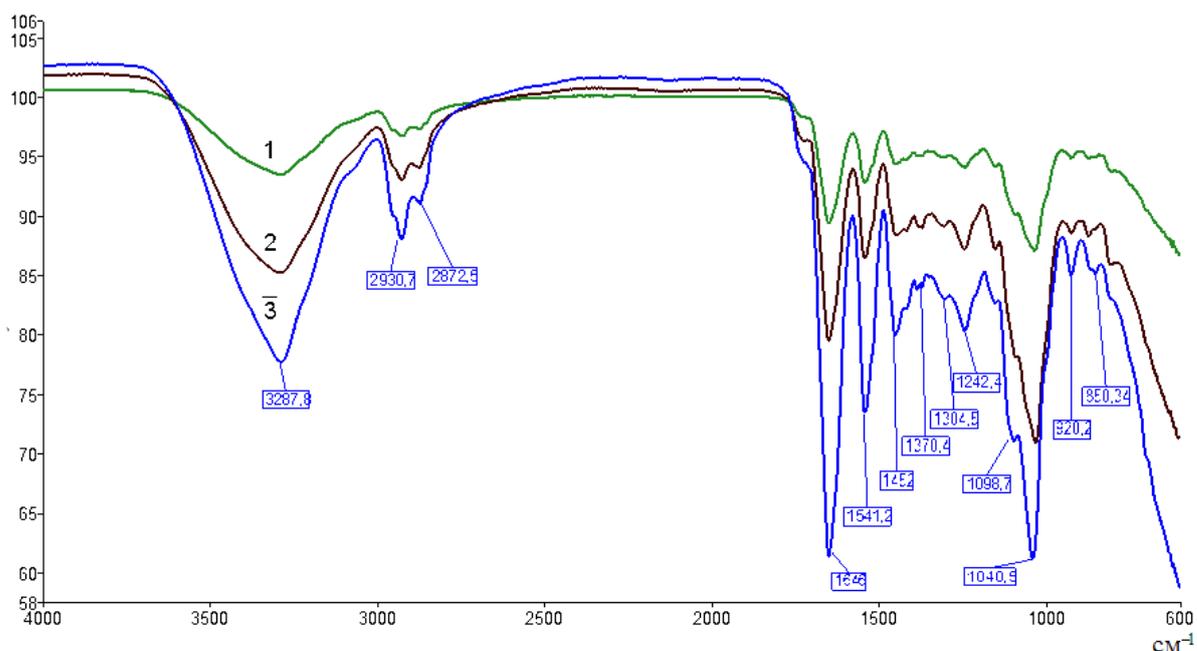


Рис. 3.8. ИК-спектры композитных плёнок на основе зеина и ГМ при различных соотношениях биополимеров зеин/ГМ: 1-1.0; 2-1.25; 3-2.0.

Эта полоса является асимметричной, свидетельствующей о существовании низкочастотной и высокочастотной полос, относящихся к компонентам амида I и амида II, соответственно. Это указывает на образование водородно-связанного композита (агрегата).

Данное взаимодействие усиливается с увеличением доли зеина от 1.0 до 1.75, а дальнейшее увеличение зеина не влияет на интенсивность этой полосы (рис. 3.9.), что говорит об оптимальном соотношении биополимеров при получении композита.

Этот эффект может быть следствием возможных взаимодействий между ОН-группами в ГМ с протонированными аминогруппами из белка. Полоса, соответствующая колебаниям амидных групп II зеина (при 1533 см^{-1}), выглядит как полоса низкой интенсивности, смещённая на 1541 см^{-1} . Эти сдвиги предполагают существование взаимодействий между белком и полисахаридом.

Кроме того, изменение положения полос, их интенсивности в ИК-спектрах указывает на появление гидрофобных взаимодействий между биополимерами, что подтверждается растягиванием узкого пика при 2931 см^{-1} от

–СН эфирной (метильной или ацетильной) группы, а также усилением поглощения основного углеводного скелета в области 1040-1098 см^{-1} , обусловленного глюкозидными валентными колебаниями С–О–С [135].

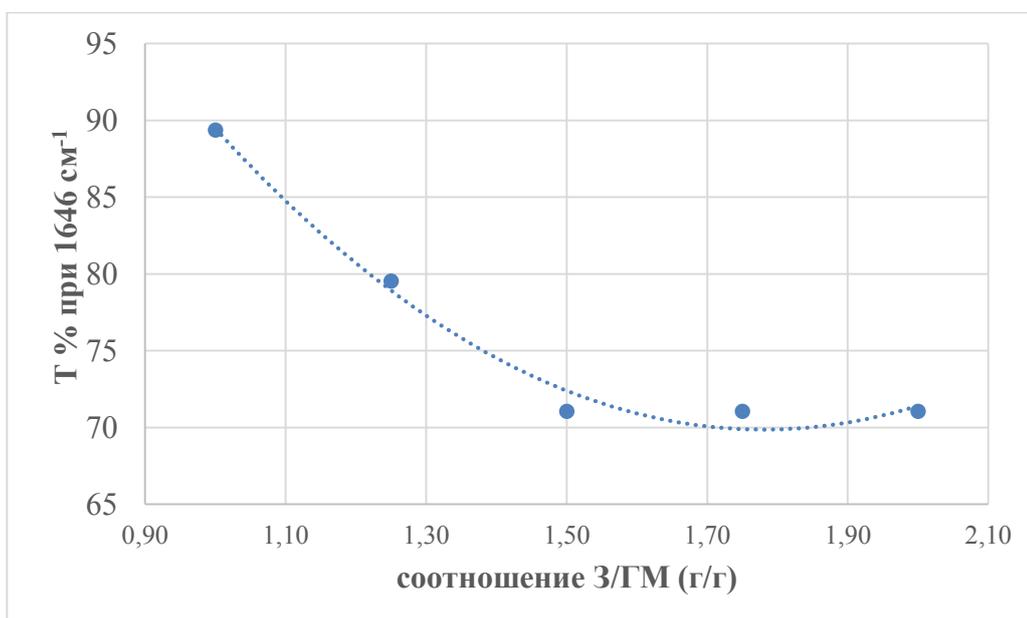


Рис. 3.9. Влияние соотношения З/ГМ на интенсивность полосы поглощения при 1646 см^{-1} .

Данное явление предполагает существование водородных связей между биополимерами, аналогично тому, что сообщалось для смесей зеин-альгинат и ксантан-альгинат [135]. Все изменения макроскопических свойств плёнок (внешний вид, эластичность) соответствовали свойствам биополимеров. Хорошая совместимость между зеином и ГМ, благодаря кластерной структуре фракции протеина [136] и линейности макромолекулы полисахарида [101], способствовали их взаимодействию через водородные и гидрофобные связи, что было подтверждено результатами ИК-Фурье спектроскопии.

Таким образом, результаты исследования показали возможность формирования плёнок на основе биополимеров З/ГМ, а образец с шифром З/ГМ=1.50 (или З/ГМ=1.75) можно предложить в качестве оптимального варианта при применении биоразлагаемого композита в сельскохозяйственной области для хранения пищевых продуктов (особенно фруктов) при длительной транспортировке и сохранении их полезных свойств.

3.3.2. Исследование физико- механических свойств плёнок

Упаковочный материал с хорошими механическими свойствами может защитить пищевые продукты внутри упаковки от механических и физических нагрузок. Следовательно, механические свойства являются важными характеристиками упаковочного материала, определяющими срок хранения пищевых продуктов.

На рис. 3.10 представлены зависимости относительной деформации от напряжения образцов композитов разного содержания З/ГМ. По предельным значениям напряжения и деформации на кривых $\sigma(\varepsilon)$ были определены величины разрывной прочности (σ_p) и деформации разрыва (ε_p) образцов (рис. 3.11). Величины σ_p , ε_p , а также рассчитанных модулей упругости занесены также в таблицу 3.5. На приведенных зависимостях можно отметить следующие особенности:

1) Кривые деформации композитов, содержащие 1.0-1.5 З/ГМ соответствуют слабо упрочняющимся при растяжении эластическим системам (рис. 3.10, кривые 1-3); незначительное возрастание наклонов кривых по мере растяжения связано со слабым ориентационным упрочнением образцов. Указанным композитам соответствуют относительно низкие значения прочности и более высокие значения деформации разрыва по сравнению с образцами, содержащими большее количество З/ГМ (рис. 3.11). При этом в указанной области З/ГМ величины предельных механических характеристик композитов мало отличаются друг от друга [103].

2) Для кривых деформации композитов с содержанием 1.75 З/ГМ характерна начальная упругая область (рис. 3.10, кривая 4), которая становится более отчетливой при возрастании З/ГМ до 2.0 (рис. 3.10, кривая 5). Расчеты показывают, что модули упругости мембран с содержанием З/ГМ 1.75 и 2.0 составляют 50 и 200 МПа, соответственно (таблица 3.5).

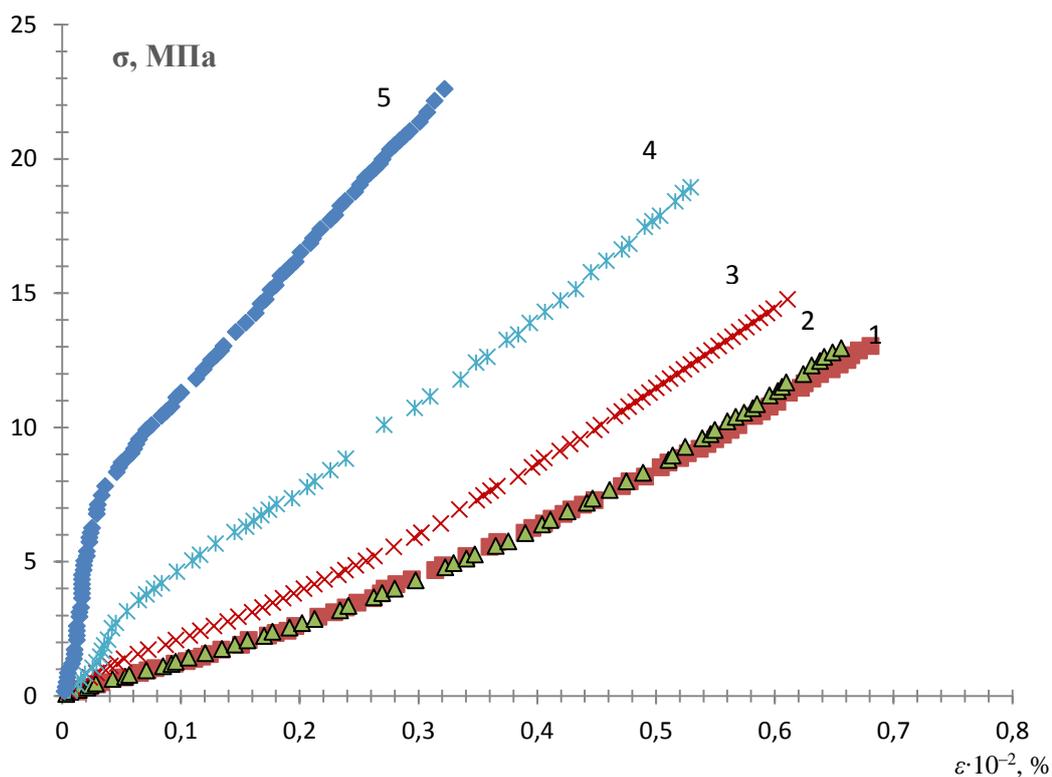


Рис. 3.10. Деформационные кривые композитных плёнок с разным соотношением зеин/ГМ: 1- 1.0; 2- 1.25; 3- 1.5; 4- 1.75; 5- 2.0.

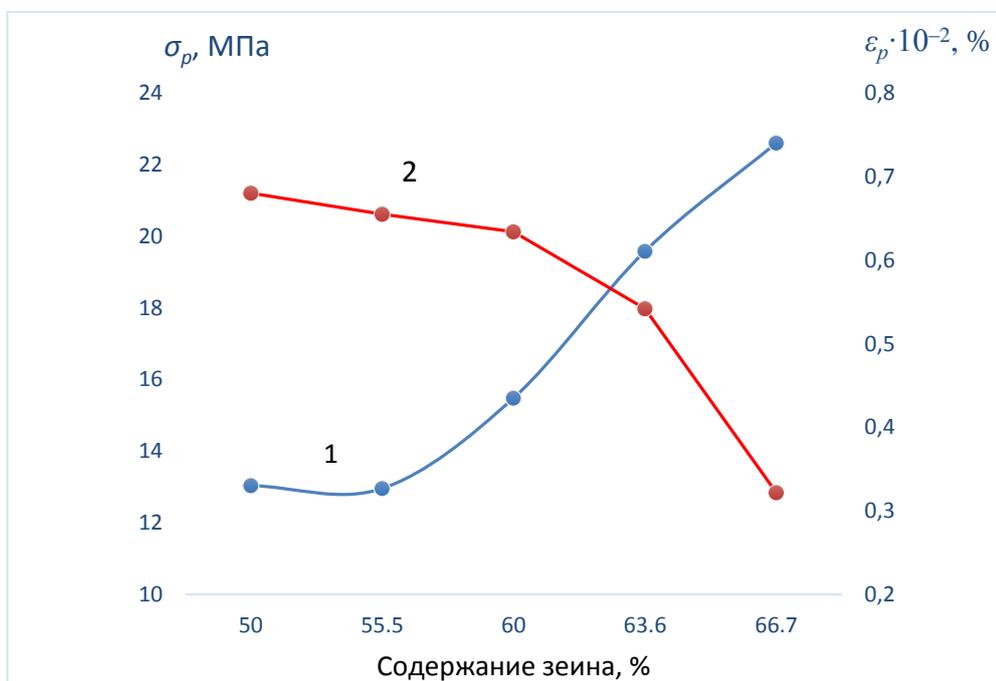


Рис. 3.11. Зависимости разрывной прочности (1) и деформации разрыва (2) композитных плёнок с разным соотношением зеин/ГМ.

Таблица 3.5. Физико-механические характеристики образцов плёнок
разного соотношения зеин/ГМ

| Шифр образца | σ_p , МПа (прочность при разрыве) | ε_p , % (относительное удлинение при разрыве) | E , МПа (модуль упругости) |
|--------------|---|--|---------------------------------|
| З/ГМ=1.0 | 13.04 | 68.0 | - |
| З/ГМ=1.25 | 12.96 | 65.5 | - |
| З/ГМ=1.5 | 15.48 | 63.4 | - |
| З/ГМ=1.75 | 19.58 | 54.2 | 50 |
| З/ГМ=2.0 | 22.60 | 32.2 | 200 |

В изученной области составов значения прочности мембран возрастают от 19 до 73%, а деформационные свойства ухудшаются от 4 до 53% с увеличением доли З/ГМ в композите, соответственно. Следовательно, увеличение доли гидрофобного полимера-зеина способствует упрочнению композита и его более упругому поведению [103, 137].

Таким образом, возрастание содержания зеина в композитах сопровождается вариацией характера зависимостей $\sigma(\varepsilon)$, увеличением прочности, модуля упругости и ухудшением их деформационных свойств [103].

3.3.3. Влагопроницаемость плёнок

Известно, что качественные упаковочные плёнки должны сохранять хорошие барьерные свойства, обеспечивающие низкую проницаемость как водяного пара, так и кислорода. Плёнки из зеина или его композиты с другими биополимерами могут быть хорошим влагозащитным барьером благодаря своей гидрофобной природе [138, 139], однако низкие механические свойства таких плёнок не позволяют применять их на практике. Влагопроницаемость (ВП) композитных плёнок, содержащих зеин и ГМ, обусловлена соотношением фракции гидрофильного ГМ в составе биополимеров.

Влияние пластификатора на паропроницаемость плёнок изучалось в

работах [4, 5, 9-11, 45]. Установлено, что пластификатор увеличивает проницаемость плёнок. Поверхностно активные вещества в отсутствие глицерина влияют на механические свойства плёнок, при этом проницаемость практически остаётся неизменной. В качестве пластификатора вводили глицерин, Tween 20, Span 80 и соевый лецитин использовали в качестве поверхностно-активных веществ. Установлено, что проницаемость увеличивается с увеличением температуры от 5 до 40°C, показана зависимость проницаемости плёнок от содержания пластификатора в их составе. Глицерин благодаря своей гидрофильности увеличивает скорость диффузии воды в пленке.

В работе [103] нами исследована влагопроницаемость композитных плёнок с разным соотношением З/ГМ. Было показано [140], что проницаемость плёнок для водяного пара значительно изменяется в зависимости от относительной влажности и температуры окружающей среды. Поэтому паропроницаемость композитных плёнок З/ГМ определялась нами с использованием метода гравиметрии при температуре 25°C и относительной влажности воздуха 40% в течение недели.

Результаты исследований по влагопроницаемости композитных плёнок с разным соотношением З/ГМ приведена в табл. 3.6 и графически представлена на рис. 3.12. Как видно из рисунка зависимость ВП от времени для всех соотношений З/ГМ имеет нелинейный характер; в течение восьми часов при контакте с водяным паром наблюдается быстрый рост ВП, далее она несколько уменьшается, достигая минимального значения (при $t=28$ часа) и вновь монотонно начинает расти в пределах исследованных времен эксперимента. Из приведенных результатов эксперимента следует, что влагопроницаемость З/ГМ плёнок демонстрирует сложный процесс взаимодействия молекул воды с полимерной структурой композита, как наблюдалось для композитных плёнок на основе крахмала [141].

Таблица 3.6. Влагопроницаемость композитных плёнок с разным соотношением зеин/ГМ.

| Время, часы | № образца | | | | |
|----------------|---|------|------|------|------|
| | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| | Влагопроницаемость, мг/см ² ·ч | | | | |
| 3.0 | 3.63 | 3.11 | 2.47 | 2.80 | 1.63 |
| 8.0 | 4.66 | 4.27 | 3.45 | 3.54 | 2.13 |
| 28.0 | 3.52 | 3.30 | 2.82 | 2.77 | 1.68 |
| 54.8 | 4.89 | 4.62 | 4.01 | 3.91 | 2.51 |
| 95.5 | 5,12 | 4.93 | 4.33 | 4.27 | 2.81 |
| 145.5 | 6.05 | 5.81 | 5.14 | 5.13 | 3.47 |

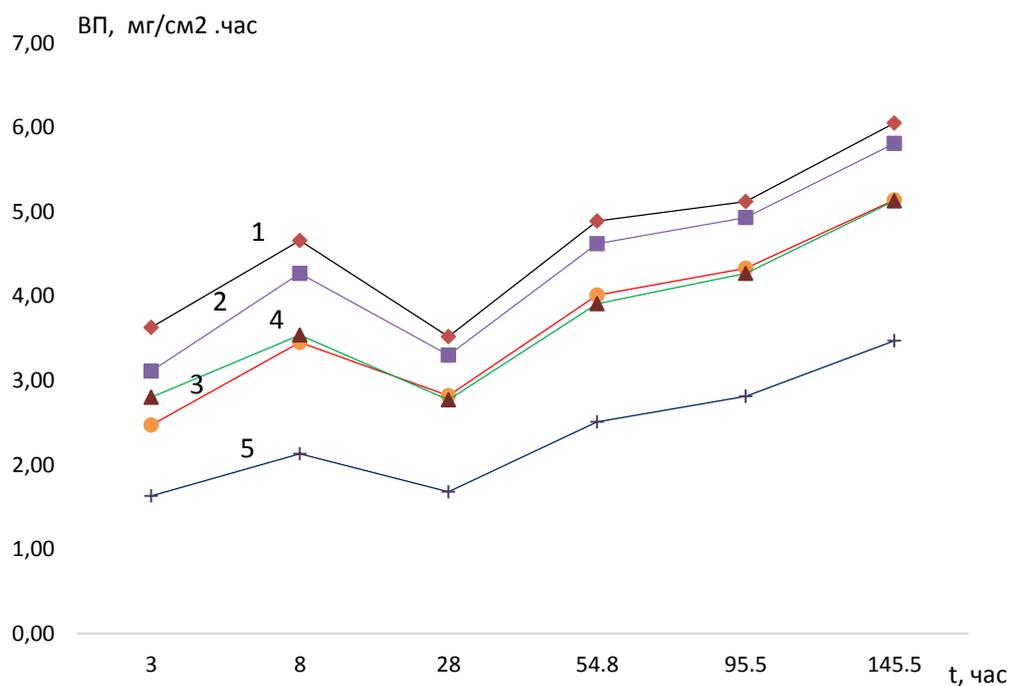


Рис. 3.12. Зависимости ВП композитных плёнок с соотношением З/ГМ:

1- 1.0; 2- 1.25; 3- 1.5; 4- 1.75; 5- 2.0 от времени наблюдения.

Проницаемость, как правило, зависит от ряда параметров, таких как температура, толщина плёнки и содержания пластификатора. Такой ход кривой зависимости ВП от времени указывает на формирование слоистой

структуры З/ГМ в композите. Значения влагопроницаемости З/ГМ намного ниже (в 100-1000 раза) по сравнению с таковыми для других композитов, например, композитов на основе крахмала и производных целлюлозы [138-141], что объясняется влиянием гидрофобного белка зеина, прочно связанного с полисахаридным матриксом глюкоманнана.

Из рис. 3.12 видно, что плёнки с большим содержанием ГМ показали самые высокие значения влагопроницаемости ($6.05 \text{ мг/см}^2 \cdot \text{ч}$), в то время как плёнки с высоким содержанием зеина имели самые низкие значения ВП ($3.47 \text{ мг/см}^2 \cdot \text{ч}$).

В отличие от временной зависимости ВП, приведенной выше, зависимость ВП от массового соотношения З/ГМ проявляет линейный характер, что наблюдалось также для других композиционных систем на основе полисахаридов (рис. 3.13). С ростом фракции зеина в составе композита от 50 до 65% влагопроницаемость снижается и достигает численного значения практически в два раза ниже начального. Этот факт также может служить подтверждением формирования упорядоченной гидрофобной слоистой плёнки с включением зеина между плоскостями изшитых с глицерином цепей ГМ.

Исследования, проведенные в [142] показали, что при низких концентрациях (меньше 5%) полисахаридов в композитном материале паропроницаемость пленок, модифицированных альгинатом натрия, значительно выше, чем для пленок, содержащих добавки метилированной целлюлозы (метилцеллюлозы). При концентрациях полисахаридов в полимерной пленке 5-20%, величина ее проницаемости для паров воды составляет $60-90 \text{ г/см}^2 \cdot \text{сутки}$ ($2.5-3.7 \text{ г/см}^2 \cdot \text{час}$), что соответствует характеристикам, оптимальным для раневых покрытий. Эти значения в тысячу раз больше значений ВП композитных З/ГМ пленок.

Известно [141], что полимеры с высокой кристалличностью обычно менее проницаемы из-за их упорядоченной структуры, и, следовательно, массоперенос газа в полукристаллических полимерах происходит

главным образом через аморфную фазу, в данном случае аморфным полимером является ГМ. Самые высокие значения ВП показали композиты с соотношением З/ГМ 1,0 равное $3.47 \text{ мг/см}^2 \cdot \text{час}$ (рис. 3.13).

Проницаемость для водяного пара отрицательно влияет на характеристики пищевых пленок. Поэтому включение в полимер гидрофобных соединений, таких как жирные кислоты, воски, поверхностно-активные вещества и смолы, обычно используется для преодоления этого недостатка [138].

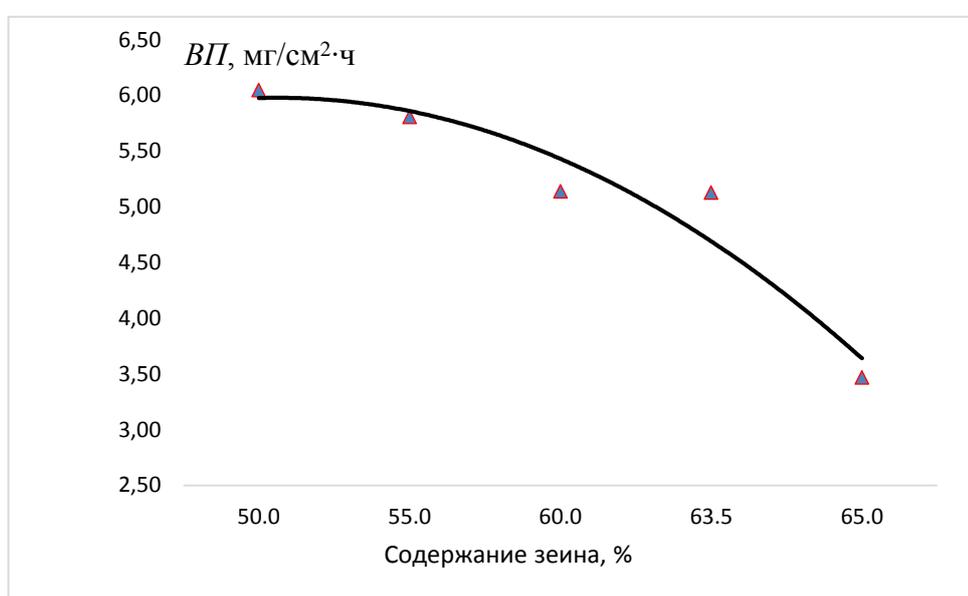


Рис. 3.13. Зависимость максимальной влагопроницаемости композитных плёнок с разным содержанием зеина за 6 суток.

Сравнение влагопроницаемости плёнок из З/ГМ с пленками, полученными из производных целлюлозы [143], показывают, что они обладают намного меньшей влагопроницаемостью по сравнению с последними.

Таким образом, результаты проведенных нами исследований влагопроницаемости (с учётом также и механических свойств пленок) показывают, что композитные плёнки с содержанием гидрофобного зеина 60–63% (З/ГМ=1.5-1.75) наиболее оптимальны для получения

биоразлагаемых упаковочных материалов с удовлетворительными влагоудерживающими и влагозащитными свойствами. Дальнейшее возрастание содержания гидрофобного зеина до 65% приводит к уменьшению гидрофобности композита, однако при этом пленки становятся хрупкими и их использование нецелесообразно в качестве упаковочного материала.

3.3.4. Кинетика набухания композитных плёнок с разным соотношением З/ГМ

Как известно [90], набухание является необходимой стадией во многих процессах модификации и полимеров, например, при их пластификации. Однако во многих случаях набухание материалов нежелательно, поскольку оно приводит к изменению размеров и формы изделий из них после смачивания. Упаковочные материалы при набухании в воде не только изменяют размеры, но и теряют первоначальную механическую прочность значительно.

Как было отмечено в методической части диссертации, способность композитов к набуханию оценивали по степени набухания, которая определяется количеством поглощенной веществе паров воды, отнесенным к единице веса композита. Результаты проведенных исследований приведены в табл. 3.7 и графически представлены на рис. 3.14.

Как видно, зависимости $W=f(t)$ биокомпозитов представляют собой типичные кинетические кривые, характерные для ограниченно набухающих полимеров (рис. 3.14). При этом у разных композитов равновесная степень набухания (W_{\max}) устанавливается через разные промежутки времени. Следовательно, при нахождении композитов в парах воды в течение длительного времени, образцы набухают по-разному. Наибольшей набухаемостью обладают композиты З/ГМ=1.0 и с повышением относительной доли гидрофобного компонента - зеина набухаемость пленок уменьшается и она достигает равновесного значения за более короткие времена.

Как известно [85], глюкоманнан придает материалу стабильную химическую структуру, хороший кислородный барьер и упругие механические свойства. Однако из-за присутствия гидрофильных групп глюкоманнан поглощает воду через диффузию и поверхностное взаимодействие полимер-вода. Увеличение степени набухания за первые 2 часа может быть связано с осмотическим проникновением молекул воды в биополимерные композиты, которое приводит к сегментальному движению гидрофильных цепей глюкоманнана, способствующее увеличению расстояния между полисахаридными цепями.

Таблица 3.7. Степень набухания композитных пленок с разным соотношением З/ГМ.

| Время, час | Степень набухания (W) | | | | |
|---------------|-----------------------|-----------|----------|-----------|----------|
| | З/ГМ=1.0 | З/ГМ=1.25 | З/ГМ=1.5 | З/ГМ=1.75 | З/ГМ=2.0 |
| 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 0.5 | 0.103 | 0.090 | 0.074 | 0.060 | 0.049 |
| 1 | 0.187 | 0.166 | 0.156 | 0.142 | 0.099 |
| 1.5 | 0.252 | 0.228 | 0.207 | 0.197 | 0.129 |
| 2 | 0.300 | 0.279 | 0.257 | 0.243 | 0.146 |
| 2.5 | 0.337 | 0.311 | 0.302 | 0.286 | 0.154 |
| 3 | 0.365 | 0.334 | 0.320 | 0.305 | 0.157 |
| 3.5 | 0.392 | 0.348 | 0.338 | 0.318 | 0.159 |
| 4 | 0.412 | 0.363 | 0.348 | 0.328 | 0.164 |
| 4.5 | 0.438 | 0.371 | 0.355 | 0.333 | 0.168 |
| 5 | 0.459 | 0.371 | 0.355 | 0.337 | 0.172 |
| 5.5 | 0.470 | 0.374 | 0.356 | 0.337 | 0.170 |
| 6 | 0.475 | 0.378 | 0.358 | 0.338 | 0.170 |
| 6.5 | 0.477 | 0.379 | 0.358 | 0.338 | 0.171 |
| 7 | 0.478 | 0.382 | 0.359 | 0.339 | 0.173 |
| 7.5 | 0.478 | 0.38 | 0.360 | 0.339 | 0.173 |

Напротив, в композитах с соотношением З/ГМ>1.5, из-за жесткой сетки, подвижность биополимерных цепей ограничена, поэтому их степень набухания существенно ниже по сравнению с композитами, содержащими большее количество ГМ.

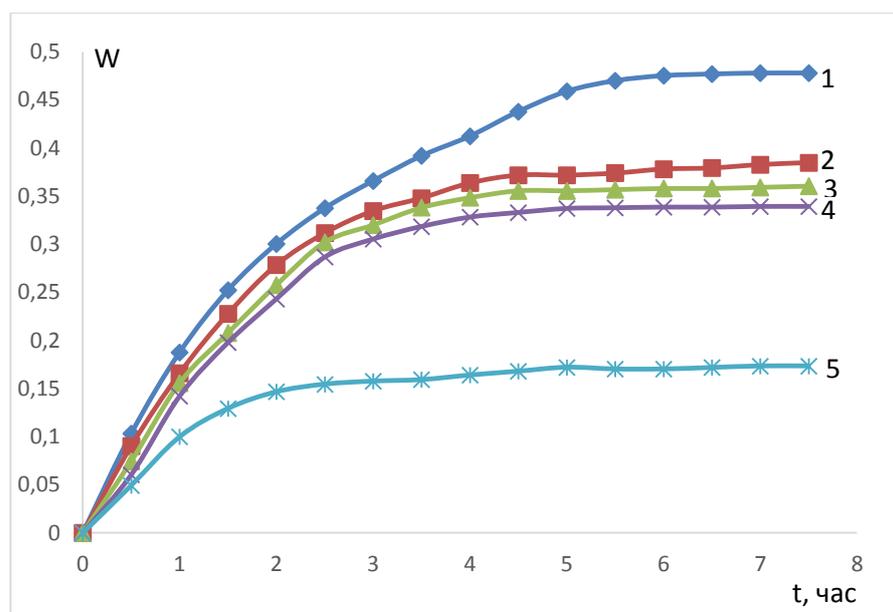


Рис. 3.14. Временная зависимость степени набухания композитов разного соотношения З/ГМ: 1- 1.00; 2- 1.25; 3- 1.50; 4- 1.75; 5- 2.00.

В пленках, полученных путем молекулярного взаимодействия зеина и глюкоманнана гидрофобный полимер - зеин способствует выравниванию баланса указанных выше свойств. Жесткая сетка межмолекулярных контактов ограничивает подвижность биополимерных цепей в композитах с соотношением $Z/ГМ > 1.5$, поэтому их степень набухания существенно ниже по сравнению с композитами, содержащими большее количество глюкоманнана. Действительно, как видно из рис. 3.14 с возрастанием доли зеина в пищевой пленке гидрофильные свойства композитов ухудшаются.

Исследования показали, что процесс набухания, которая лимитируется скоростью диффузии паров воды в фазу композитов описывается кинетическим уравнением первого порядка:

$$\frac{dW}{dt} = k(W_{\max} - W), \quad (3.14)$$

где k - константа скорости набухания, характеризующая способность вещества к набуханию, W - степень набухания в момент времени t .

Интегрируя уравнение (3.14) получим:

$$\ln \frac{W_{\max}}{W_{\max} - W} = kt \quad (3.15)$$

В нижеследующей таблице приведены величины параметров набухания в зависимости от времени для композитов разного соотношения З/ГМ.

Таблица 3.8. Кинетика изменения параметров набухания, входящих в уравнения 3.14 и 3.15 для биокомпозитов разного состава.

| Время, час | З/ГМ=1.0 | | З/ГМ=1.25 | |
|---------------|---------------------------------|-----------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|
| | $\ln \frac{W_{max}}{W_{max}-W}$ | Скорость набухания, dW/dt (1/час) | $\ln \frac{W_{max}}{W_{max}-W}$ | Скорость набухания, dW/dt(1/час) |
| 0.5 | 0.243 | 0.190 | 0.270 | 0.165 |
| 1.0 | 0.496 | 0.137 | 0.574 | 0.128 |
| 1.5 | 0.749 | 0.109 | 0.916 | 0.102 |
| 2.0 | 0.988 | 0.088 | 1.325 | 0.080 |
| 2.5 | 1.221 | 0.068 | 1.706 | 0.059 |
| 3.0 | 1.442 | 0.054 | 2.112 | 0.040 |
| 3.5 | 1.715 | 0.048 | 2.474 | 0.029 |
| 4.0 | 1.980 | 0.043 | 3.107 | 0.020 |
| 4.5 | 2.481 | 0.037 | 3.743 | 0.015 |
| 5.0 | 3.225 | 0.032 | 3.743 | 0.012 |
| 5.5 | 4.090 | 0.027 | 4.148 | 0.010 |
| 6.0 | 5.071 | - | 5.247 | - |
| Время, час | З/ГМ=1.5 | | З/ГМ=1.75 | |
| | $\ln \frac{W_{max}}{W_{max}-W}$ | Скорость набухания, dW/dt(1/час) | $\ln \frac{W_{max}}{W_{max}-W}$ | Скорость набухания, dW/dt(1/час) |
| 0.5 | 0.230 | 0.142 | 0.195 | 0.131 |
| 1.0 | 0.568 | 0.120 | 0.543 | 0.110 |
| 1.5 | 0.856 | 0.095 | 0.870 | 0.084 |
| 2.0 | 1.251 | 0.070 | 1.262 | 0.064 |
| 2.5 | 1.826 | 0.049 | 1.856 | 0.042 |
| 3.0 | 2.197 | 0.035 | 2.300 | 0.029 |
| 3.5 | 2.795 | 0.023 | 2.781 | 0.019 |
| 4.0 | 3.401 | 0.017 | 3.428 | 0.014 |
| 4.5 | 4.277 | 0.011 | 4.034 | 0.009 |
| 5.0 | 4.277 | 0.008 | 5.133 | 0.006 |
| 5.5 | 4.500 | 0.007 | 5.133 | 0.005 |
| 6.0 | 5.193 | - | 5.826 | - |

| 3/ГМ=2.0 | | |
|------------|---------------------------------|----------------------------------|
| Время, час | $\ln \frac{W_{max}}{W_{max}-W}$ | Скорость набухания, dW/dt(1/час) |
| 0.5 | 0.33 | 0.100 |
| 1.0 | 0.86 | 0.072 |
| 1.5 | 1.37 | 0.045 |
| 2.0 | 1.87 | 0.023 |
| 2.5 | 2.22 | 0.011 |
| 3.0 | 2.88 | 0.005 |
| 3.5 | 2.37 | 0.004 |
| 4.0 | 2.91 | 0.003 |
| 4.5 | 3.46 | 0.002 |
| 5.0 | 4.87 | 0.002 |
| 5.5 | 4.01 | 0.001 |
| 6.0 | 4.01 | - |

На основе приведенных табличных данных построены зависимости степени набухания от времени в координатах $\ln \frac{W_{max}}{W_{max}-W} = f(t)$ (рис. 3.15), кинетика изменения скорости набухания (рис. 3.16), а также определены значения константы скорости набухания для каждого состава композита (рис. 3.17).

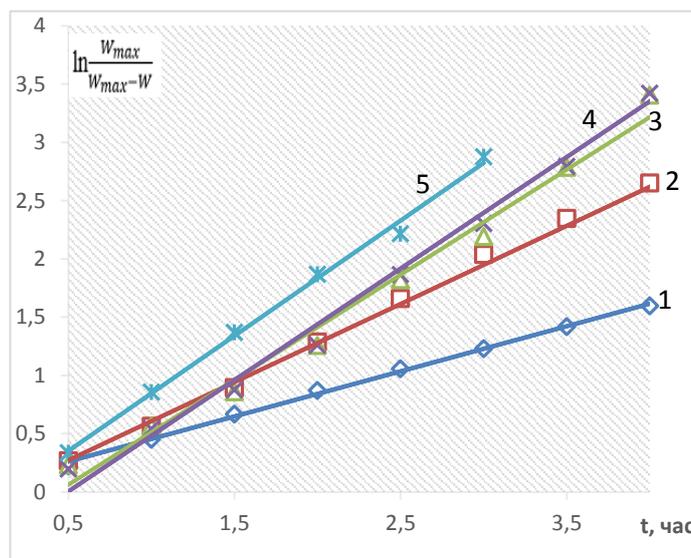


Рис. 3.15. Зависимости отношений степени набухания от времени в полулогарифмических координатах пленок 3/ГМ: 1- 1.0, 2- 1.25, 3- 1.5, 4- 1.75, 5- 2.0.

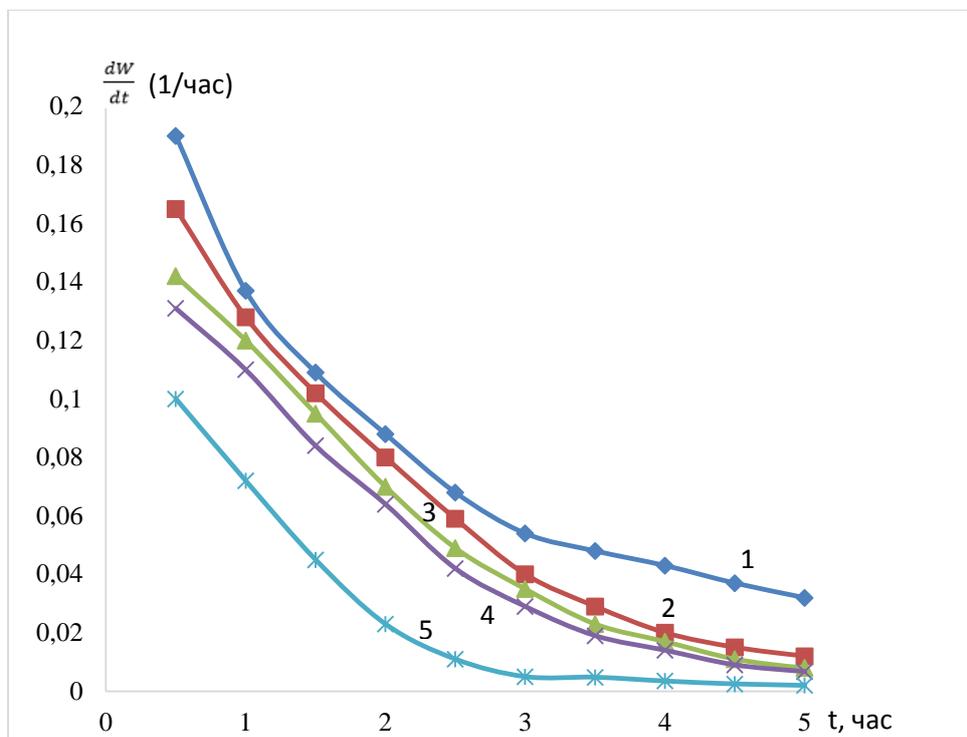


Рис. 3.16. Зависимости скорости набухания от времени для пленок 3/ГМ: 1- 1.0, 2- 1.25, 3- 1.5, 4- 1.75, 5- 2.0.

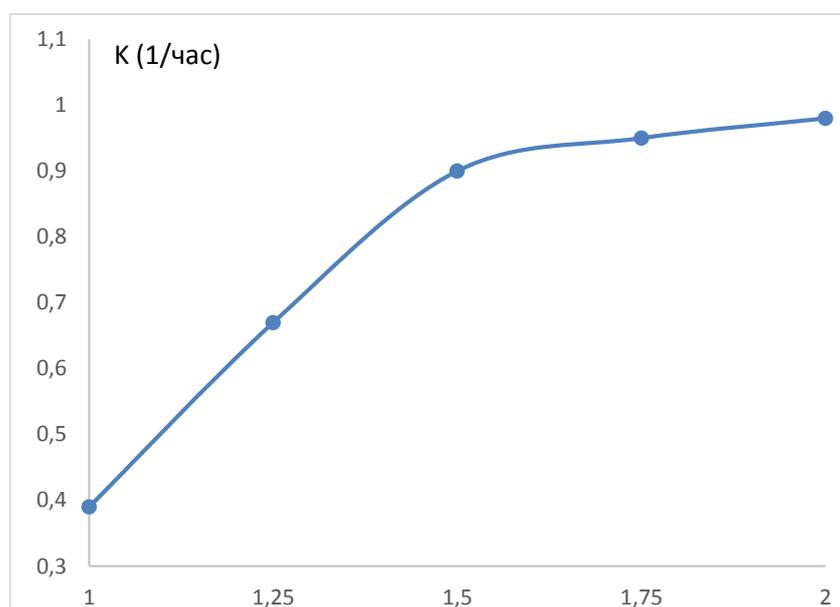


Рис. 3.17. Зависимость константы скорости набухания от состава композита 3/ГМ.

Для получения максимальных значений степени набухания и оценки скорости набухания были проведены аппроксимации кривых набухания с

помощью линейной функции линии тренда по программе Excel-2016 (Приложения: рис. П 1 (а-д). Полученные данные сведены в табл. 3.9.

Как видно из представленных уравнений линий тренда все кривые достоверно описываются линейными уравнениями с коэффициентами аппроксимации (R^2) равными ~ 0.99 . Из анализа кинетических кривых набухания получены величины максимального и равновесного степени набухания (значения степени набухания плёнок в области перегиба кривых) (табл. 3.9).

Таблица 3.9. Величины максимального значения степени набухания ($W_{\text{макс}}$) и аппроксимационные уравнения линии тренда.

| Соотношение З/ГМ | $W_{\text{макс}}$ | Уравнение аппроксимации | R^2 |
|------------------|-------------------|-------------------------|-------|
| 1.00 | 0.478 | $y = 0.387t + 0.067$ | 0.99 |
| 1.25 | 0.380 | $y = 0.670t - 0.062$ | 0.99 |
| 1.50 | 0.360 | $y = 0.901t - 0.389$ | 0.98 |
| 1.75 | 0.339 | $y = 0.957t - 0.476$ | 0.99 |
| 2.00 | 0.173 | $y = 0.988t - 0.1417$ | 0.99 |

В приведенных уравнениях аппроксимации y представляет собой отношение $\ln \frac{W_{\text{макс}}}{W_{\text{макс}} - W}$.

Таким образом, проведенные исследования позволили нам оценить характер изменения степени набухаемости полученных гидрогелевых пленок на основе зеина и глюкоманнана, определить оптимальное соотношение биополимеров для получения плёнок с контролируемой набухаемостью. Показано, что высокая степень набухания композиционных пленок З/ГМ обеспечивается за счет нейтрального полисахарида глюкоманнана. Повышенная набухаемость и водоудерживающая способность смесей ГМ/зеин может быть обусловлена особенностями структуры ГМ. Глюкоманнан, выделенный из растений *E. hissaricus*, представляет собой неионный полисахаридный гидрофильный коллоид, состоящий в основном из

гидроксильных и ацетильных групп [101]. Гидратированные молекулы ГМ способны к быстрым конформационным изменениям, расширяются и могут вызывать изменение конформации, тем самым приводя к увеличению способности набухать и обеспечить влагуудерживающие способности композитных пленок З/ГМ.

3.3.5. Исследование растворимости плёнок в воде

Растворимость - ключевой фактор, определяющий использование плёнки в широком диапазоне применений в качестве упаковочного материала. Плёнки с разной степенью растворимости могут иметь различное использование. Чем выше содержание гидрофильного компонента в композите, тем выше его растворимость, и наоборот, чем больше доля гидрофобного компонента в композите, тем ниже его растворимость [9].

Плёнка с плохой водостойкостью быстро растворяется, вызывая увеличение диффузии компонентов от поверхности к массе пищи, что приводит к низкому защитному эффекту на поверхности пищи [144]. Потенциальное применение может потребовать нерастворимости в воде для повышения целостности продукта и водостойкости. В некоторых случаях растворимость пленки в воде перед потреблением продукта может быть полезной [145].

Результаты исследования растворимости плёнок в воде с разным соотношением зеин/ГМ приведены в табл. 3.10 и графически представлены на рис. 3.18.

Плёнки, полученные на основе ГМ, представляют собой композиты с высокой растворимостью из-за присутствия в них гидрофильных гидроксильных групп (рис. 3.7). Растворение композитных З/ГМ плёнок, независимо от содержания гидрофобного полимера - зеина, осуществляется в два этапа (рис. 3.18). Вначале при контакте с водой в течение до 1.5 часа

плёнки подвергаются растворению от 28.9 до 45.42% для соотношения З/ГМ от 2.0 до 1.0, соответственно.

Таблица 3.10. Растворимость пленок на основе зеина и глюкоманнана в воде.

| № образца | Соотн. Зеин/ГМ | Толщина, мкм | Зеин, % | Растворимость, % | | | |
|-----------|----------------|--------------|---------|------------------|-------|-------|-------|
| | | | | Время, час. | | | |
| | | | | 1.5 | 2 | 3 | 5 |
| 1 | ГМ | – | 0.0 | - | - | - | - |
| 2 | 1.00 | 230 | 50.0 | 45.42 | 54.40 | 61.89 | 71.77 |
| 3 | 1.25 | 250 | 55.0 | 40.96 | 46.09 | 49.60 | 54.70 |
| 4 | 1.50 | 230 | 60.0 | 38.50 | 44.30 | 46.30 | 48.48 |
| 5 | 1.75 | 190 | 63.5 | 35.25 | 39.87 | 42.03 | 44.02 |
| 6 | 2.00 | 230 | 65.0 | 28.94 | 35.29 | 39.38 | 40.34 |
| 7 | Зеин | – | 100.0 | - | - | - | - |

Затем растворимость плёнок в течение оставшегося времени до 5 часов происходит медленно, кроме плёнки с соотношением З/ГМ 1.0. Эта картина даёт полное представление о водопоглощающей способности при постоянной (комнатной) относительной влажности, а также о влиянии поглощения воды на скорость размягчения и барьерные свойства плёнок.

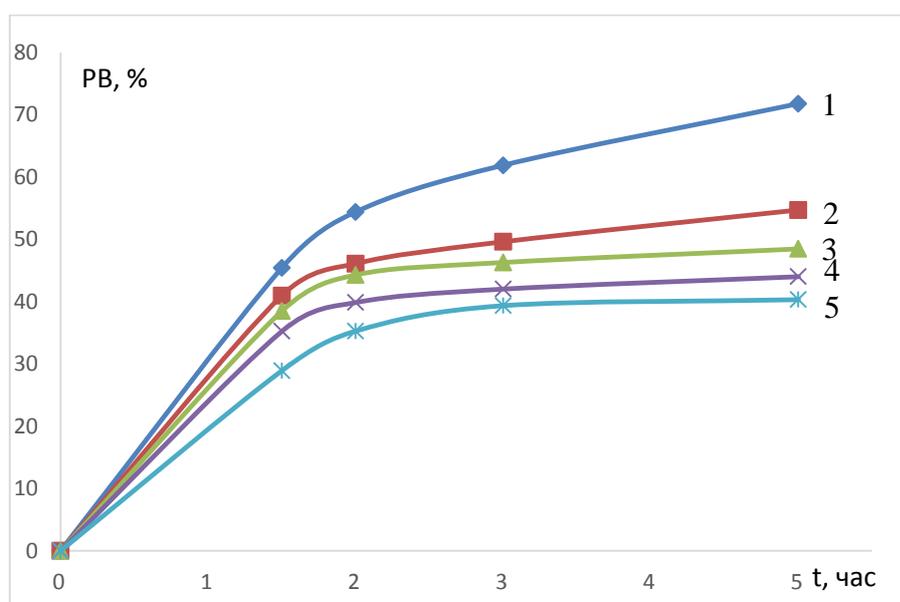


Рис. 3.18. Зависимость растворимости пленок с разным соотношением зеин/ГМ от времени.

На рис. 3.19 представлены максимальные значения растворимости в зависимости от состава пленок на возрастающем, линейном участке диаграммы растворимости ($t \sim 1$ час) (кривая 1) и на втором участке ($t \sim 5$ час.) диаграммы (кривая 2), когда величины растворимости достигают области плато. Из рисунка видно, что за первые часы взаимодействия с водой растворимость пленок уменьшается практически линейно с возрастанием относительной доли гидрофобного зеина в биополимерном композите. Практически такое же монотонное снижение растворимости, возможно, с чуть более высокой скоростью, с увеличением относительной доли зеина в композите наблюдается для пленок, взаимодействующих более длительное время с водой в области концентраций $Z/\Gamma M = 1.5-2$. Однако, как видно из приведенных данных рисунка, существенное уменьшение растворимости пленок (более чем на 15%) наблюдается для композитов $Z/\Gamma M = 1.25$. Следовательно, влагозащитные свойства зеина лучше проявляются при возрастании времени контакта с водой.

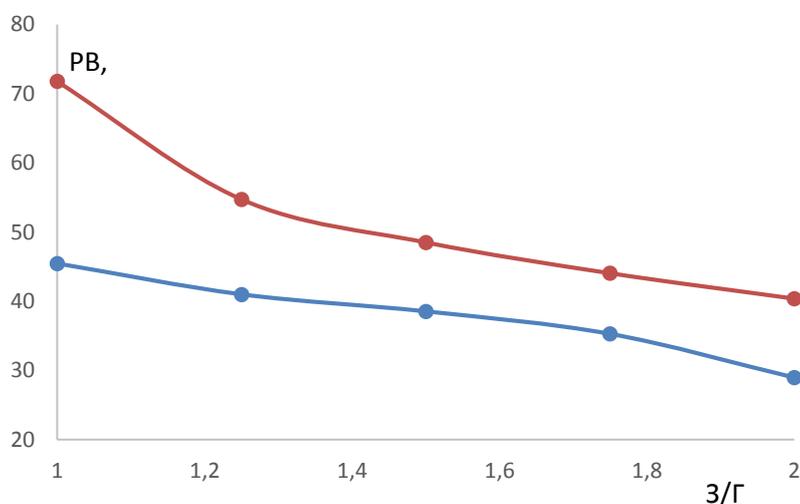


Рис. 3.19. Зависимость растворимости пленок от соотношения $Z/\Gamma M$ для 1.5 (1) и 5 часов (2) контакта с водой.

Из рисунка видно, что за первые часы взаимодействия с водой растворимость пленок уменьшается практически линейно с возрастанием относительной доли гидрофобного зеина в биополимерном композите. Практически такое же монотонное снижение растворимости, возможно, с

чуть более высокой скоростью, с увеличением относительной доли зеина в композите наблюдается для плёнок, взаимодействующих более длительное время с водой в области концентраций $Z/ГМ=1.5-2$. Однако, как видно из приведенных данных рисунка, существенное уменьшение растворимости плёнок (более чем на 15%) наблюдается для композитов $Z/ГМ=1.25$. Следовательно, влагозащитные свойства зеина лучше проявляются при возрастании времени контакта с водой.

Таким образом, из совокупности приведенных результатов следует, что комозитные плёнки с содержанием гидрофобного зеина 60–63% (зеин/ $ГМ=1.5-1.75$) могут быть рекомендованы как оптимальный состав гидрофильно-гидрофобного композита для получения биоразлагаемых упаковочных материалов с удовлетворительными эксплуатационными свойствами.

ПРИЛОЖЕНИЕ

Таблица П.1 (а-д). Влагопроницаемость З/ГМ плёнок разного состава

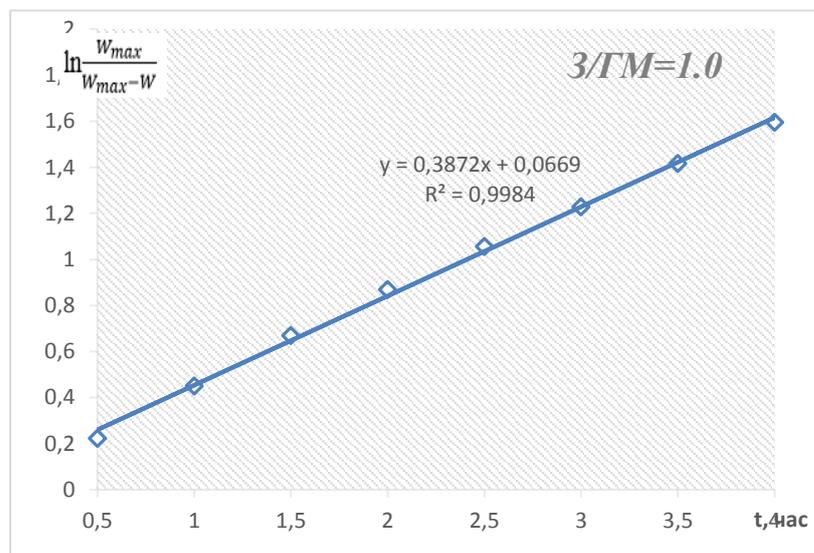
| З/ГМ=1.00 (а) | | | | | |
|---------------|------------------------|---------|-----------------------|------------------------|---------------------------|
| Время, ч. | m ₀ , мг | m, мг | S, см ² | m- m ₀ , мг | ВП, мг/см ² ·ч |
| 3.0 | 12956.4 | 12984.1 | 2.5434 | 27.7 | 3.63 |
| 8.0 | | 13015.7 | | 59.3 | 4.66 |
| 28.0 | | 13135.6 | | 179.2 | 3.52 |
| 54.8 | | 13286 | | 329.6 | 4.89 |
| 95.5 | | 13493.6 | | 537.2 | 5.15 |
| 145.5 | | 13726.9 | | 770.5 | 6.05 |

| З/ГМ=1.25 (б) | | | | | |
|---------------|------------------------|---------|-----------------------|------------------------|---------------------------|
| Время, ч. | m ₀ , мг | m, мг | S, см ² | m- m ₀ , мг | ВП, мг/см ² ·ч |
| 3.0 | 14146.2 | 14169.9 | 2.5434 | 23.7 | 3.10 |
| 8.0 | | 14200.6 | | 54.4 | 4.27 |
| 28.0 | | 14314.3 | | 168.1 | 3.30 |
| 54.8 | | 14458.2 | | 312.0 | 4.62 |
| 95.5 | | 14660.4 | | 514.2 | 4.93 |
| 145.5 | | 14885.9 | | 739.7 | 5.81 |

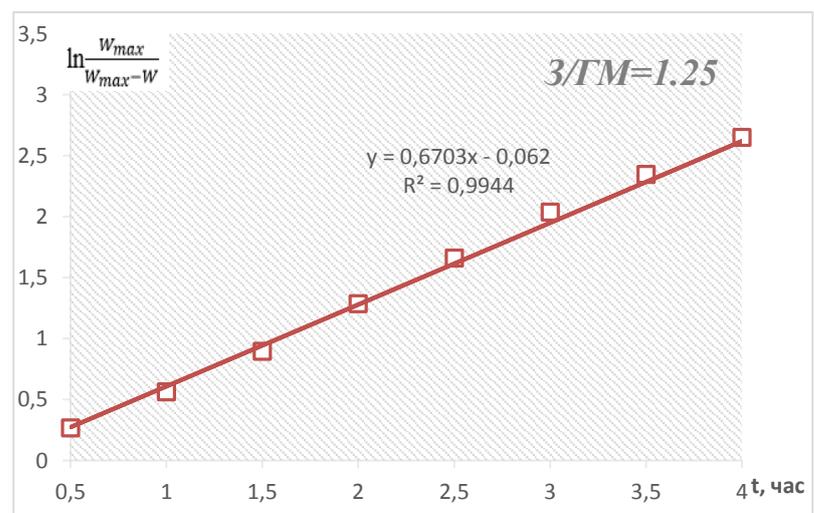
| З/ГМ=1.50 (в) | | | | | |
|---------------|------------------------|---------|-----------------------|------------------------|---------------------------|
| Время, ч. | m ₀ , мг | m, мг | S, см ² | m- m ₀ , мг | ВП, мг/см ² ·ч |
| 3.0 | 14184.4 | 14203.3 | 2.5434 | 18.9 | 2.47 |
| 8.0 | | 14228.4 | | 44.0 | 3.46 |
| 28.0 | | 14328.0 | | 143.6 | 2.82 |
| 54.8 | | 14454.4 | | 270.0 | 4.00 |
| 95.5 | | 14636.0 | | 451.6 | 4.33 |
| 145.5 | | 14838.6 | | 654.2 | 5.14 |

| З/ГМ=1.75 (г) | | | | | |
|---------------|------------------------|---------|-----------------------|------------------------|---------------------------|
| Время, ч. | m ₀ , мг | m, мг | S, см ² | m- m ₀ , мг | ВП, мг/см ² ·ч |
| 3.0 | 13155.7 | 13177.1 | 2.5434 | 21.4 | 2.80 |
| 8.0 | | 13200.8 | | 45.1 | 3.54 |
| 28.0 | | 13297.1 | | 141.4 | 2.78 |
| 54.8 | | 13419.9 | | 264.2 | 3.92 |
| 95.5 | | 13601.5 | | 445.8 | 4.27 |
| 145.5 | | 13809.1 | | 653.4 | 5.13 |

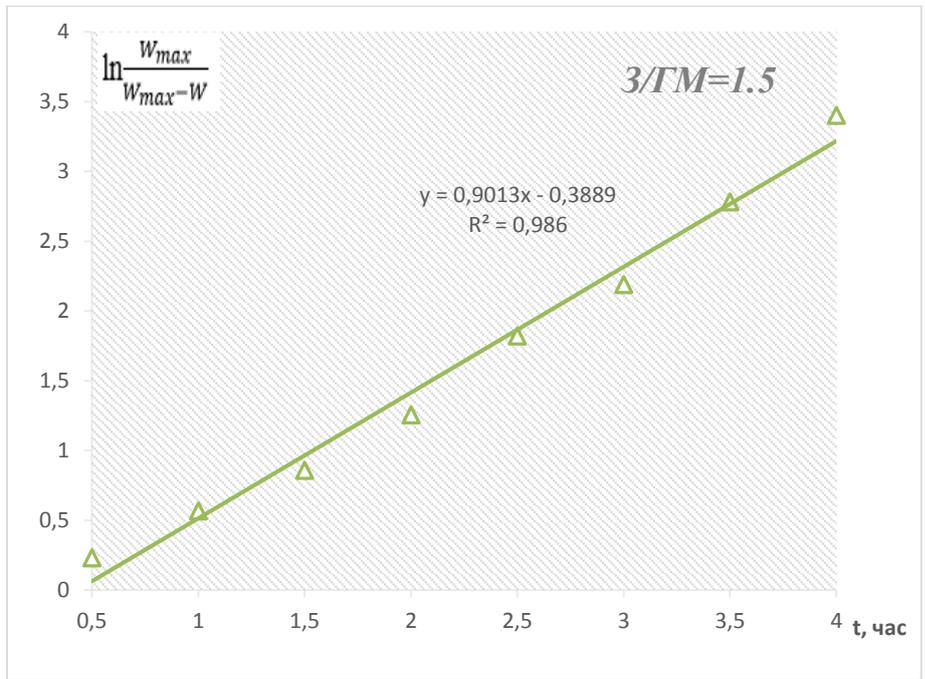
| 3/ГМ=2.00 (д) | | | | | |
|---------------|------------------------|---------|-----------------------|------------------------|---------------------------|
| Время, ч. | m ₀ , мг | m, мг | S, см ² | m- m ₀ , мг | ВП, мг/см ² ·ч |
| 3.0 | 14553.9 | 14566.4 | 2.5434 | 12.5 | 1.63 |
| 8.0 | | 14581.0 | | 27.1 | 2.13 |
| 28.0 | | 14639.8 | | 85.9 | 1.68 |
| 54.8 | | 14723.7 | | 169.8 | 2.51 |
| 95.5 | | 14847.8 | | 293.9 | 2.81 |
| 145.5 | | 14995.8 | | 441.9 | 3.47 |



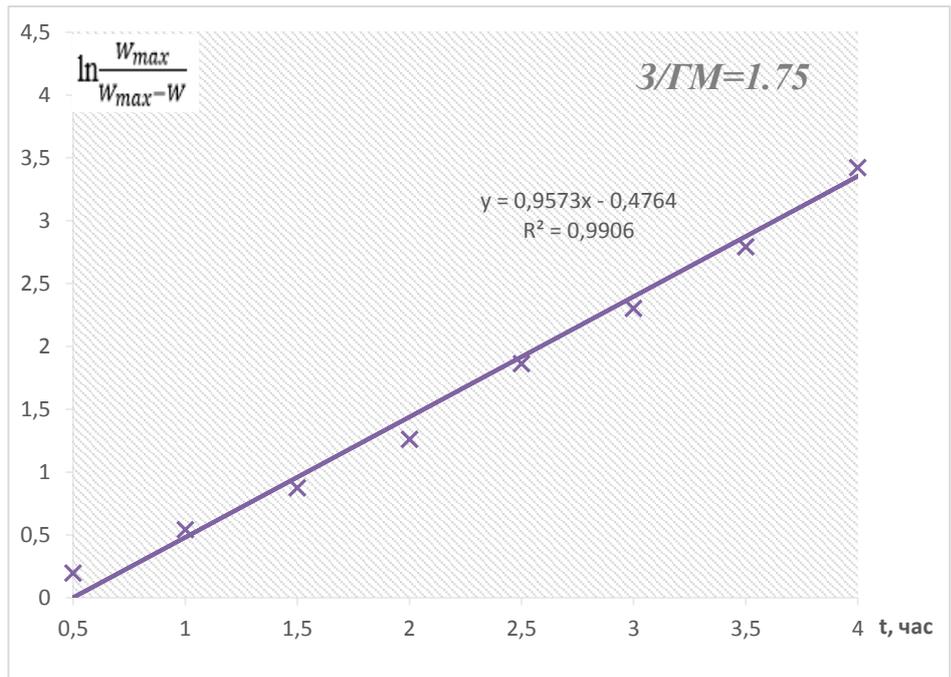
(a)



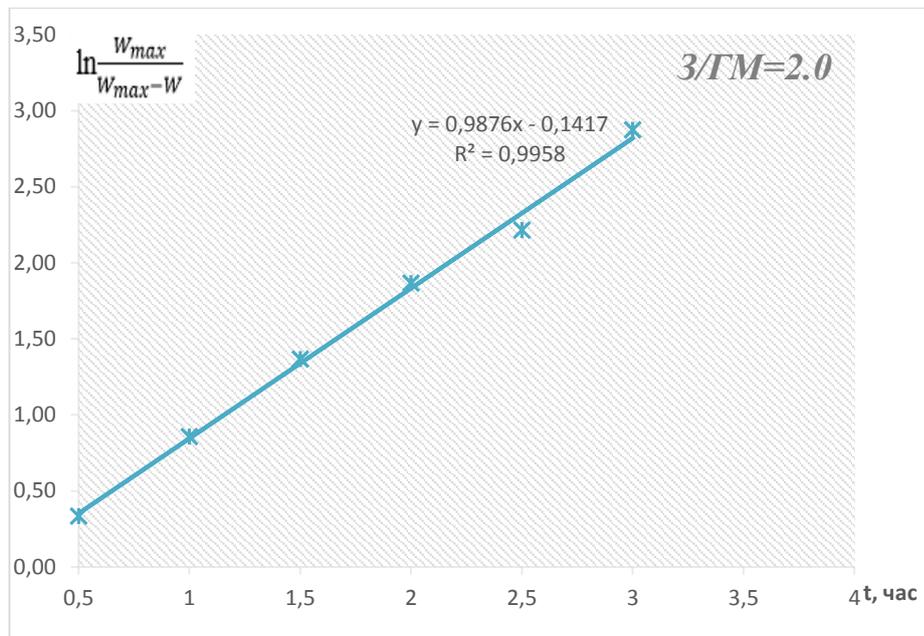
(б)



(B)



(Г)



(д)

Рис. П 1 (а-д). Аппроксимации кривых набухания композитов разного соотношения компонентов 3/ГМ с помощью линейной функции линии тренда: а- 1.0, 2- 1.25, 3- 1.5, 4- 1.75, 5- 2.0.

ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ВЫВОДЫ

1. Получены биополимерные композиты на основе глюкоманнана из корнеплодов *E. hissaricus* с белком зеина и охарактеризованы их физико-химические и механические свойства.

2. Установлена структура глюкоманнана, полученного из растений *E. hissaricus* с использованием 1D- и 2D- ЯМР и ИК-Фурье спектроскопии. Определена молекулярная масса, молекулярно-массовое распределение и гидродинамические свойства глюкоманнана.

3. Установлен механизм взаимодействия глюкоманнана и зеина. Показано, что хорошая совместимость композитов обеспечивается через взаимодействие водородных и гидрофобных связей компонентов.

4. Разработан способ приготовления биоразлагаемых плёнок, предложен состав композита ($Z/GM=1.5-1.75$) в качестве оптимального варианта применения биоразлагаемого композита в сельскохозяйственной области.

5. Изучены особенности кривых деформации в зависимости от состава пленок, установлены предельные деформационно-прочностные характеристики и модули упругости композитов. Показано, что возрастание содержания зеина в композитах сопровождается изменением характера зависимостей $\sigma(\epsilon)$, увеличением прочности, модуля упругости и ухудшением деформационных свойств пленок.

6. Изучена кинетика изменения степени набухаемости и влагопроницаемости гидрогелевых пленок Z/GM , определено оптимальное соотношение биополимеров для получения композитов с контролируемой набухаемостью и влагопроницаемостью. Показано, что высокие степени набухания и водопроницаемости композитов ($Z/GM=1.0-1.25$) обусловлены сегментальным движением гидратированных молекул ГМ, способных к быстрым конформационным изменениям. Напротив, слабая набухаемость и влагопроницаемость пленок ($Z/GM>1.5$) связана с присутствием гидрофобного зеина, с его жесткой сеткой межмолекулярных контактов, ограничивающих подвижность цепей биополимера.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ghosh, P. Polymer Science and Technology, Plastics, Rubbers, Blends and Composites [Text] / P. Ghosh // New Delhi: Tata McGraw-Hill, 2001. third edition, PP. 502-522. -541 p.
2. Гольдаде, В.А. Современные тенденции развития полимерной пленочной упаковки [Текст] / В.А. Гольдаде // Полимерные материалы и технологии, 2015. -Т. 1. -№ 1. -С. 63-71.
3. Tharanathan, R.N. Biodegradable films and composite coatings: past, present and future [Text] / R.N. Tharanathan // Trends Food Sci. Technol., 2003. - Vol. 14(3). -P.71-78. [https://doi.org/10.1016/S0924-2244\(02\)00280-7](https://doi.org/10.1016/S0924-2244(02)00280-7)
4. Ahmed, S. Bio-based Materials for Food Packaging. Green and Sustainable Advanced Packaging Materials [Text] / S. Ahmed // Editor. Springer Nature Singapore Pte Ltd, 2018. -303 p. <https://doi.org/10.1007/978-981-13-1909-9>
5. Grumezescu, A. M. Food Packaging and Preservation in Handbook of Food Bioengineering [Text] / Edited by A. M. Grumezescu and A. M. Holban // Academic Press is an imprint of Elsevier, 2018. -Vol. 9.- 541 p.
6. Савицкая, Т. А. Съедобные полимерные плёнки и покрытия: история вопроса и современное состояние (обзор) [Текст] / Т. А. Савицкая // Полимерные материалы и технологии, 2016. -Т.2. -№2. -С.6-36. <http://doi.org/10.32864/polymmattech-2016-2-2-6-36>
7. Fakhoury, F.M. Edible films made from blends of manioc starch and gelatin-influence of different types of plasticizer and different levels of macromolecules on their properties [Text] / F.M. Fakhoury, S.M. Martelli, L.C. Bertan et al // LWT Food Sci. Technol., 2012.- Vol. 49(1). -P. 149-154. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.04.017>.
8. Krocha, J.M. Edible and biodegradable polymer films: Challenges and Opportunity [Text] / J.M. Krocha, De Mulder-JohnstonC. // Food Technol., 1997. - Vol. 51(2). -P. 61-74.
9. Labuza, T.P. Prediction of moisture protection requirements for foods [Text] / T.P. Labuza, R. Contreras-Medellin // Cereal Foods World. -1981. -Vol.

26.- № 7. -P. 335–340.

10. Biquet, B. Relative diffusivities of water in model intermediate moisture foods [Text] / B. Biquet, S. Guilbert // LWT - Food Science and Technology, 1986.- Vol. 19. - P. 208-214.

11. Kester, J. Edible films and Coating: a review [Text] / J. Kester, O. Fennema // Food Technol., 1986. - Vol. 48(12). -P. 47–59.

12. Pavlath, A.E. Edible films and coatings: why, what, and how? [Text] / A.E. Pavlath, W. Orts // Edible Films and Coatings for Food Applications / ed. M.E. Embuscado, K.C. Huber. – New-York: Springer, 2009. - Ch. 1.- P. 1-23.

13. <http://www.thecultureist.com/2012/09/19/lavazza-edible-coffee-cup-cookie> [Electronic resource] / The cultureist // Drinking Coffee Just Got Sweeter with Lavazza's Edible Cookie Cup - 2012. - Date of access: 03.03.2016.

14. Комаров, С.М. Мечты о съедобной упаковке [Текст] / С.М. Комаров // Химия и жизнь, 2014. - № 9. - С. 30–34.

15. Dhanapal, A. Edible films from Polysaccharides [Text] / A. Dhanapal [et al.] // Food Science and Quality Management, 2012. -Vol. 3. -P.9–18.

16. Kohout, M.P. BASF Freshseal CHC Helps Keep Packed Tomatoes firmer and Fresher Longer / M.P. Kohout, M.A. Ritenour, J.J. Salvatore // Proceedings of the Florida State Horticultural Society. -2007. -Vol. 120. - P.217-221.

17. Handbook of Hydrocolloids [Text] / G.O. Phillips, J.A. Williams// - 2-nd Edition. - Boston: CRC Press, 2009. - 948 p.

18. Valencia-Chammoro, S. Antimicrobial Edible films and Coatings for Fresh and Minimally Processed Fruits and Vegetables (A Re-view) [Text] / S. Valencia-Chammoro [et al.] // Critical Reviews in Food and Science Nutrition, 2011. - Vol. 51. - № 9. - P.872-900.

19. Rojas-Graü, M.A. Apple puree-alginate edible coating as carrier of antimicrobial agents to prolong shelf life of fresh-cut apples [Text] / M.A. Rojas-Graü [et al.]// Postharvest Biology and Technology, 2007. - № 45. - P.254-264.

20. Sipahi, R.E. Improved multilayered antimicrobial alginate-based edible coating extends the shelf life of freshcut watermelon (*Citrus lanatus*) [Text] /

R.E. Sipahi [et al.] // LWT-Food Science and Technology, 2013. -Vol. 51, № 1.- P. 9-15.

21. Liu, LS. Controlled release systems for agricultural and food applications. Review in New delivery systems for controlled drug release from naturally occurring materials [Text] / LS Liu, J. Kost, M.L. K. Fishman, Hicks // Ed. N. Parris, LS Liu, C. Song and V.P. Shastri. ACS Symposium series 992, -2008. -P. 265-281.

22. Benelhadj, S. Properties of lysozyme *Arthrospira platensis* (Spirulina) protein complexes for antimicrobial edible food packaging [Text] / S. Benelhadj [et al.]// Algal Research, 2016. -Vol. 15. -P.43-49.

23. Rossman, J. Commercial Manufacture of Edible films [Text] / J. Rossman // Innovations in Food Packaging. Ed. J.H. Han. -Academic Press, 2014. - Ch. 13. - P. 367–391.

24. Cian, R.E. Development of naturally activated edible films with antioxidant properties prepared from red seaweed *Porphyra columbina* biopolymers [Text] / R.E. Cian [et al.] // Food Chemistry, 2014.- Vol. 146. - P. 6-14.

25. Shen, Z. Development and characterization of biodegradable chitosan films containing two essential oils [Text] / Z. Shen, D.P. Kamdem // International Journal of Biological Macromolecules, 2015. -Vol. 74. -P. 289-296.

26. Palit, S. Application of nanotechnology, nanofiltration and drinking and wastewater treatment - a vision for the future. In: Book-water purification [Text] / S. Palit // Academic Press (Elsevier), Grumezescu AM (ed) Chapter 17, USA, 2017. -PP. 587–320.

27. Henriette, M.C. de Azeredo Nanocomposites for food packaging applications [Text] / M.C. Henriette de Azeredo // Food Res. Int., 2009. -Vol. 42. - P. 1240–1253. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.03.019>.

28. Yadav, S.K. Realizing the potential of nanotechnology for agriculture and food technology [Text] / S.K. Yadav // Tissue Sci. Eng., 2017. -Vol. 8(1). <https://doi.org/10.4172/2157-7552.1000195>

29. Ray, S. The potential use of polymer- clay nanocomposites in food

packaging [Text] / S. Ray, S.Y. Quek, A. Easteal, X.D. Chen. // Int. J. Food Eng., 2006. - Vol. 2(4) <https://doi.org/10.2202/1556-3758.1149>.

30. Klemm, D. Nanocelluloses as innovative polymers in research and application, advances in polymer science [Text] / D. Klemm, D. Schumann, F. Kramer, N. Hebler, M. Hornung, H.P. Schmauder, S. Marsch // Polysaccharides, 2006. -Vol. 205. -P. 49-96.

31. Katsuraya, K. Constitution of konjac glucomannan: chemical analysis and ¹³C NMR spectroscopy [Text] / K. Katsuraya, K. Okuyama, K. Hatanaka, R. Oshima, T. Sato, K. Matsuzaki // Carbohydr. Polym., 2003. -Vol. 53 (2). -P. 183-189. [https://doi.org/10.1016/S0144-8617\(03\)00039-0](https://doi.org/10.1016/S0144-8617(03)00039-0).

32. Lua, J. Preparation and characterization of konjac glucomannan/poly (diallyldimethylammonium chloride) antibacterial blend films [Text] / J. Lua, X.D. Wang, C.B. Xiao, // Carbohydr. Polymers, 2008. -Vol. 73 (3). -P. 427-437. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2007.12.021>.

33. Abbaszadeh, A. New insights into xanthan synergistic interactions with konjac glucomannan: A novel interaction mechanism proposal [Text] / A. Abbaszadeh, W. MacNaughtan, G. Sworn, T. J. Foster // Carbohydrate Polymers, 2016. -Vol.144. -P.168–177.<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.02.026>.

34. Xu, X. Characterization of konjac glucomannan–gellan gum blend films and their suitability for release of nisin incorporated therein [Text] / X. Xu, B. Li, J.F. Kennedy // Carbohydr. Polym., 2007. -Vol. 70 (2). -P. 192-197. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2007.03.017>.

35. Li, B. Preparation and temperature effect on the swelling behavior of konjac glucomannan-methylcellulose blend film [Text] / B. Li, Z. Xu, B.J. Xie // Eur. Food Res. Technol., 2006.-Vol. 223(1). - P. 132-138. <https://doi.org/10.1007/s00217-005-0166-z>.

36. Lin, W.H. New chitosan/konjac glucomannan blending membrane for application in pervaporation dehydration of caprolactam solution [Text] / W.H. Lin, Q. Li, T.R. Zhu, // J. Ind. Eng. Chem., 2012. -Vol. 18 (3). -P. 934-940.

37. Wu, Ch. Structural characterization and properties of konjac

glucomannan/curdlan blend films [Text] / Ch. Wu, Sh. Peng, C.R. Wen, X.M. Wang, L.L. Fan, R.H. Deng, J. Pang // Carbohydr. Polym., 2012. - Vol. 89 (2). -P. 497–503. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.03.034>.

38. Chen, J. F. Preparation and characterization of a novel superabsorbent of konjac glucomannan-poly (acrylic acid) with trimethylolpropane trimethacrylate cross-linker [Text] / J. F. Chen, W.Y. Zhang, X. Li // RSC Adv., 2015. -Vol. 5 (48), -P. 38417-38423. <https://doi.org/10.1039/C5RA04522C>.

39. Cheng, L.H. Effects of acid modification on physical properties of konjac glucomannan (KGM) films [Text] / L.H. Cheng, A. Abd Karim, C.C. Seow // Food Chem., -2007. -Vol. 103 (3). -P. 994–1002. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.09.052>.

40. Wang, L. The cryoprotective effect of different konjac glucomannan (KGM) hydrolysates on the glass carp (*Ctenopharyngodon idella*) myofibrillar during frozen storage [Text] / L. Wang, G.Q. Xiong, Y.B. Peng, W.J. Wu, X. Li, J. Wang, Y. Qiao, L. Liao, A. Ding. // Food and Bioprocess Technol., 2014. - Vol. 7 (12). -P.3398-3406. <https://doi.org/10.1007/s11947-014-1345-3>.

41. Gao, Hao-Xiang. A functional polysaccharide film forming by pectin, chitosan, and tea Polyphenols [Text] / Hao-Xiang Gao, Zheng He, Qun Sun, Qiang He, Wei-Cai Zeng // Carbohydrate Polymers, 2019. -Vol. 215. -P. 1-7. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.03.029>.

42. Lei, Yanlin. Investigation of the structural and physical properties, antioxidant and antimicrobial activity of pectin-konjac glucomannan composite edible films incorporated with tea polyphenol [Text] / Yanlin Lei, Hejun Wu, Chun Jiao, Yao Jiang, Rui Liu, Di Xiao, Junyu Lu, Zhiqing Zhang, Guanghui Shen, Shanshan Li. // Food Hydrocolloids, 2019. -Vol. 94. -P. 128-135. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.03.011>.

43. Sucheta S.K.R. Evaluation of structural integrity and functionality of commercial pectin based edible films incorporated with corn flour, bee trout, orange peel, muesli and rice flour [Text] / Shushil Kumar Rai Sucheta, Kartikey Chaturvedi, Sudesh Kumar Yadav // Food Hydrocolloids, 2019. -Vol. 91. -P. 127-

135. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.01.022>.

44. Du, Yu. Development of antimicrobial packaging materials by incorporation of gallic acid into Ca²⁺ crosslinking konjac glucomannan/gellan gum films [Text] / Yu Du, Jishuai Sun, LinWang, Chunhua Wu, Jingni Gong, Lishan Lin, Ruojun Mu, Jie Pang // Intern. Journ. of Biological Macromolecules, 2019. - Vol. 137. -P.1076-1085. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.06.079>.

45. Ramu Ganesana, Abirami. Composite film for edible oil packaging from carrageenan derivative and konjac glucomannan: Application and quality evaluation [Text] / Abirami. Ramu Ganesana, M. Shanmugam, P. Ilansuriyan, R. Anandhakumar, Balamuralikrishnan Balasubramanian // Polymer Testing, 2019. - Vol. 78, 105936 <https://doi.org/10.1016/j.polymertesting.2019.105936>.

46. Huang, Yi-Cheng. Alkali-treated konjac glucomannan film as a novel wound dressing [Text] / Yi-Cheng Huang, Hao-Wen Chu, Chih-Ching Huang, Wen-Ching Wu, Jenn-Shou Tsai // Carbohydrate Polymers, 2015. -Vol. 117. -P. 778–787. <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.10.047>.

47. Du, Yu. Fabrication of novel Konjac glucomannan/shellac film with advanced functions for food packaging [Text] / Yu Du, Lin Wang, Ruojun Mu, Yuyan Wang, Yuanzhao Li, Dan Wu, Chunhua Wu, Jie Pang // Intern. Journ. of Biological Macromolecules, 2019. -Vol. 131. -P. 36-42. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.02.142>.

48. Wang, Le. Interactions between carboxymethyl konjac glucomannan and soy protein isolate in blended films [Text] / Le Wang, Man Xiao, Shuhong Dai, Jia Song, Xuewen Ni, Yapeng Fang, Harold Corke, Fatang Jiang // Carbohydrate Polymers, 2014. -Vol.101. -P.136-145. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.09.028>.

49. Neto, Reginaldo Jose Gomes. Characterization and in vitro evaluation of chitosan/konjac glucomannan bilayer film as a wound dressing [Text] / Reginaldo Jose Gomes Neto, Giovana Maria Genevro, Letícia de Almeida Paulo, Patrícia Santos Lopes, Mariana Agostini de Moraes, Marisa Masumi Beppu //

Carbohydrate Polymers, 2019. -Vol. 212. -P. 59-66. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.02.017>.

50. Ni, Yongsheng. Facile fabrication of novel konjac glucomannan films with antibacterial properties via microfluidic spinning strategy [Text] / Yongsheng Ni, Wanmei Lin, Ruojun Mu, Chunhua Wu, Zheyu Lin, Su Chen, Jie Pang // Carbohydrate Polymers, 2019. -Vol. 208. -P. 469-476. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.12.102>.

51. Lin, W. Microfluidic spinning of poly (methyl methacrylate)/konjac glucomannan active food packaging films based on hydrophilic/hydrophobic strategy [Text] / Wanmei Lin, Yongsheng Ni, Jie Pang // Carbohydrate Polymers, 2019. -Vol. 222, 114986. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.114986>.

52. Lin, W. Robust microfluidic construction of konjac glucomannan-based microfilms for active food packaging [Text] / W. Lin, Y. Ni, D. Liu, Y. Yao, J. Peng // Intern. Journ. of Biological Macromolecules, 2019. -Vol. 137. -P. 982-991. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.07.045>.

53. Wu, Ch. Preparation and characterization of konjac glucomannan-based bionanocomposite film for active food packaging [Text] / Chunhua Wu, Yuanzhao Li, Yu Du, Lin Wang, Cailing Tong, Yaqin Hu, Jie Pang, Zhiming Yan // Food Hydrocolloids, 2019. -Vol. 89. -P. 682-690. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.11.001>.

54. Wang, J. Transparent konjac glucomannan/cellulose nanofibril composite films with improved mechanical properties and thermal stability [Text] / Jinyu Wang, Xin Chen, Chenggang Zhang, Abdul Rehman Akbar, Zhuqun Shi, Quanling Yang, Chuanxi Xiong // Cellulose, 2019. -Vol. 26. -P. 3155-3165. <https://doi.org/10.1007/s10570-019-02302-6>.

55. Altan, A. Carvacrol loaded electrospun fibrous films from zein and poly (lactic acid) for active food packaging [Text] / A. Altan, Z. Aytac, T. Uyar // Food Hydrocolloids, 2018. -Vol. 81. -P. 48-59. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.02.028>.

56. Aytac, Z. Antibacterial electrospun zein nanofibrous web encapsulating thymol/cyclodextrin-inclusion complex for food packaging [Text] / Z. Aytac, S. Ipek, E. Durgun, T. Tekinay, T. Uyar // Food Chemistry, 2017. -Vol. 233. -P. 117-124. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.04.095>.

57. Fabra, M.J. High barrier polyhydroxyalcanoate food packaging film by means of nanostructured electrospun interlayers of zein [Text] / M.J. Fabra, A. Lopez-Rubio, J. M. Lagaron // Food Hydrocolloids, 2013. -Vol. 32(1). -P. 106-114. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2012.12.007>.

58. Wang, Kai. Structural characterization and properties of konjac glucomannan and zein blend films [Text] / Kai Wang, Kao Wu, Man Xiao, Ying Kuang, Harold Corke, Xuewen Ni., Fatang Jiang // Intern. Journ. of Biological Macromolecules, 2017. -Vol. 105. -P. 1096-1104. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.07.127>.

59. Parris, N. Encapsulation of essential oils in zein nanospherical particles [Text] / N. Parris, P.H. Cooke, K.B. Hicks // Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2005. -Vol.53(12). -P.4788-4792. <https://doi.org/10.1021/jf040492p>.

60. Wu, L.Y. Wettability, surface microstructure and mechanical properties of films based on phosphorus oxychloride- treated zein [Text] / L.Y. Wu, Q.B. Wen, X. Q. Yang, M.S. Xu, S.W. Yin // Journal of the Science of Food and Agriculture, 2011. -Vol. 91(7). -P.1222-1229. <https://doi.org/10.1002/jsfa.4303>.

61. Shukla, R. Zein: the industrial protein from corn [Text] / R. Shukla, M. Cheryan // Industrial Crops and Products, 2001. -Vol. 13(3). -P. 171-192. [https://doi.org/10.1016/S0926-6690\(00\)00064-9](https://doi.org/10.1016/S0926-6690(00)00064-9)

62. Касымова, Г.Ф. Выделение и характеристика зеинов кукурузы, произрастающей в Таджикистане [Текст] / Г.Ф. Касымова, Д.Т. Бобокалонов, М.Д. Халикова, З.К. Мухидинов, М.А. Куканиев // Изв. АН Республики Таджикистан. Отд. физ-мат., хим., геол. и тех. наук, 2007. - №2. - С. 42-50.

63. Muhidinov, Z.K. Pectin-Zein Hydrogels for delivery of Drugs and Nutrients. In Gum and Stabilisers for the Food Industry 16 [Text] / Z.K. Muhidinov, Kh. I. Teshayev, G. F. Kasimova, A.S. Nasriddinov, LS. Liu // RSC

publishing, Cambridge UK. ed. P.A. Williams and G.O. Fillips, 2012. - P. 401-406.

64. Hurtado-López, P. Zein microspheres as drug/antigen carriers: a study of their degradation and erosion, in the presence and absence of enzymes [Text] / P. Hurtado-López, S. Murdan // *Journal of Microencapsulation*, 2006. -Vol. 23(3). -P. 303-314. <https://doi.org/10.1080/02652040500444149>.

65. Chen, Yu. Effect of zein-based microencapsules on the release and oxidation of loaded Limonene [Text] / Yu Chen, Meng Shu, Xiaoxue Yao, Kao Wu, Kun Zhang, Yating He, Katsuyoshi Nishinari, Glyn O. Phillips, Xiaolin Yao, Fatang Jiang // *Food Hydrocolloids*, 2018. -Vol. 84. -P. 330-336. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.05.049>.

66. Escamilla-García, M. Physical and structural characterisation of zein and chitosan edible films using nanotechnology tools [Text] / M. Escamilla-García, G. Calderón-Domínguez, J.J. Chanona-Pérez, R.R. Farrera-Rebollo, J.A. Andraca-Adame, I. Arzate-Vázquez, J.V. Mendez-Mendez, L.A. Moreno-Ruiz // *Int. J. Biol. Macromol.*, 2013. -Vol. 61. -P. 196-203. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2013.06.051>.

67. Oymaci, P. Improvement of barrier and mechanical properties of whey protein isolate based food packaging films by incorporation of zein nanoparticles as a novel bionanocomposite [Text] / P. Oymaci, S.A. Altinkaya // *Food Hydrocol.*, 2016. -Vol. 54. -P. 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.08.030>.

68. Li, Ch. Effect of drying temperature on structural and thermomechanical properties of konjac glucomannan-zein blend films [Text] / Ch. Li, K. Wu, Y. Su et al. // *Intern. Journ. of Biological Macromolecules*, 2019. -Vol. 138. -P. 135-143. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.07.007>.

69. Wang, L. Characterization and antibacterial activity evaluation of curcumin loaded konjac glucomannan and zein nanofibril films [Text] / L. Wang, Mu R.J., Li Y. et al. // *LWT - Food Science and Technology*, 2019. -Vol. 113.-108293.

70. Vostrejs, P. Active biodegradable packaging films modified with grape seeds lignin [Text] / P. Vostrejs, D. Adamcová, M.D. Vaverková, V. Enev, M.

Kalina, M. Machovsky, M. Šourková, I. Marova, A. Kovalcik// RSC Adv., - 2020. -№49. -Vol. 10. <https://doi.org/10.1039/d0ra04074f>.

71. Закирова, А.Ш. Влияние биополимеров на физико-механические свойства пленок [Текст]/ А.Ш. Закирова, А.В. Канарский, Ю.Д. Сидоров// Пищевая промышленность, 2012. -№6. -С. 18-19.

72. Соломина, Л.С. Получение пищевого декстрина экструзионным методом [Текст] / Л.С. Соломина, В.И. Тарановская, Д.А. Соломин // Хранение и переработка сельхозсырья, 2011. -№ 3. - С. 28-31.

73. Краус, С.В. Физико-химические свойства полимерных композиций с использованием крахмала [Текст]/ С.В. Краус [и др.] // Хранение и переработка сельхозсырья, 2011. - № 1. - С. 8-11.

74. Arvanitoyannis, I. Physical properties of polyol-plasticized edible films made from sodium caseinate and soluble starch [Text] / I. Arvanitoyannis, C.G. Biliaderis // Food Chemistry, 1998. -Vol. 62(3). -P. 333-342. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(97\)00230-6](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(97)00230-6).

75. Закирова, А.Ш. Ферментативная модификация амилопектина [Текст]/ А.Ш. Закирова, А.В. Канарский, З.А. Канарская// Вестник Казан. технол. универс., 2013. -Т. 16. -№7. -С. 164-167.

76. Wang, L. Physical assessment of composite biodegradable films manufactured using whey protein isolate, gelatin and sodium alginate / L. Wang, M.A.E. Auty, J.P. Kerry // Journal of Food Engineering, 2010. -Vol. 96(2). -P. 199–207. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2009.07.025>.

77. Chen, J. Structural characterization and properties of starch/konjac glucomannan blend films [Text]/ Jianguang Chen, Changhua Liu, Yanqing Chen, Yun Chen, Peter R. Chang // Carbohydrate Polymers, 2008. -Vol. 74(4). -P. 946-952. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2008.05.021>.

78. Yoshimura, M. Rheological studies on mixtures of corn starch and konjac-glucomannan [Text]/ M. Yoshimura, T. Takaya, K. Nishinari // Carbohydrate Polymers, 1998. -Vol. 35(1-2). -P. 71-79. [https://doi.org/10.1016/S0144-8617\(97\)00232-4](https://doi.org/10.1016/S0144-8617(97)00232-4).

79. Carvalho, R.A. Edible películas producidas con gelatina y casein cross-linked con transglutaminase [Text]/ R.A. Carvalho, C. Grosso // Food Research International, 2006. -Vol. 39. -P. 458-466.

80. Avérous, L. Biocomposites based on plasticized starch: Thermal and mechanical behaviors [Text]/ L. Avérous, N. Boquillon // Carbohydrate Polymers, 2004. -Vol.56(2). -P. 111-122. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2003.11.015>.

81. Yanlin, Lei. Investigation of the structural and physical properties, antioxidant and antimicrobial activity of pectin-konjac glucomannan composite edible films incorporated with tea polyphenol [Text]/Yanlin Lei, Hejun Wu, Chun Jiao, Yao Jiang, Rui Liu, Di Xiao, Junyu Lu, Zhiqing Zhang, Guanghui Shen, Shanshan Li// Food Hydrocolloids, 2019. -Vol. 94. - P. 128-135. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.03.011>.

82. Mchugh, T.H. Sorbitol- vs glycerol-plasticized whey protein edible films: Integrated oxygen permeability and tensile property evaluation [Text]/ T.H. Mchugh, J.M. Krochta, // Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1994. -Vol. 42(4). - P. 841-845. <https://doi.org/10.1021/jf00040a001>

83. Nisar, T. Characterization of citrus pectin films integrated with clove bud essential oil: Physical, thermal, barrier, antioxidant and antibacterial properties [Text] / T. Nisar, Z.C. Wang, X. Yang, Y. Tian, M. Iqbal, Y. Guo // International Journal of Biological Macromolecules, 2018. -Vol. 106. -P. 670-680. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.08.068>

84. Galus, S. Development and characterization of composite edible films based on sodium alginate and pectin [Text] / S. Galus, A. Lenart // Journal of Food Engineering, 2013. -Vol. 115(4). -P. 459-465. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2012.03.006>

85. Wang, K. Structural characterization and properties of konjac glucomannan and zein blend films [Text]/ K. Wang, K. Wu, M. Xiao, Y. Kuang, H. Corke, X. Ni, // International Journal of Biological Macromolecules, 2017. -Vol. 105. -P. 1096-1104. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.07.127>

86. Talón, E. Antioxidant edible films based on chitosan and starch

containing polyphenols from thyme extracts [Text]/ E. Talón, K.T. Trifkovic, V. A. Nedovic, B.M. Bugarski, M. Vargas, A. Chiralt, et al. // Carbohydrate Polymers, 2017. -Vol. 157(10). -P. 1153-1161. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.10.080>

87. Flory, P.J. Statistical mechanics of cross-linked polymer networks. I. Rubberlike elasticity [Text] / P.J. Flory, J. Rehner // J. Chem. Phys., 1943. -Vol. 11. -P. 512-520. <https://doi.org/10.1063/1.1723792>.

88. Sperling, L.H. Introduction to Physical Polymer Science. 4-th ed. Hoboken: [Text] / L.H. Sperling //Wiley-Interscience. -2006. - 845 p.

89. Peppas, N.A. Crosslinked poly(vinyl alcohol) hydrogels as swollen elastic networks [Text] / Peppas N.A., Merrill E.W. // J. Appl. Polym. Sci., 1977. -Vol. 21. -P. 1763-1770.

90. Bhuvaneshwari, S. Development and characterization of chitosan film / S. Bhuvaneshwari, D. Sruthi, V. Sivasubramanian, N. Kalyani, J. Sugunabai / International Journal of Engineering Research and Applications., 2014. -Vol. 1(2), -P. 292-299.

91. Peppas, N. A. Kinetics of Smart Hydrogels. In book: Reflexive Polymers and Hydrogels [Text] / N. A. Peppas // March 2004. -P. 99-113. [http:// dio. org. 10.1201/9780203485354.sec2](http://dio.org.10.1201/9780203485354.sec2)

92. Huang, Y. A Molecular Theory of Polymer Gels [Text] / Y. Huang, I. Szleifer, A. Nicholas, N.A. Peppas // Macromolecules, 2002. -Vol. 35. -P. 1373-1380.

93. Peppas, N.A. Physicochemical foundations and structural design of hydrogels in medicine and biology [Text] / N.A. Peppas, Y. Huang, M. Torres-Lugo, J.H., J. Ward Zhang // Ann Rev Biomed Eng., 2000. -Vol. 2. -P. 9-29.

94. Kwei, T.K. Diffusion in glassy polymers. V. Combination of Fickian and Case II mechanisms [Text] / T.K. Kwei, T.T. Wang, H.M. Zupko // Macromolecules, 1972. -Vol. 5, -P. 645-649.

95. Alfrey, T. Diffusion in glassy polymers [Text] / T. Alfrey, Jr., E.F. Gurnee, W.G. Lloyd // J. Polym. Sci. C., 1966. -Vol. 12. -P. 249-261.

96. Пектин - основа для создания функциональной пищи [Текст] / З.К.

Мухидинов, Д.Т. Бобокалонов, С.Р. Усманова // Душанбе: ООО «Сифат-Офсет», 2019. -192 с.

97. Икромова, Д.Н. Некоторые физико-химические характеристики олигосахаридов из корнеклубней эремуруса гиссарского (*E. hissaricus*) [Текст] / Д.Н. Икромова, А.С. Джонмуродов, С.Р. Усманова, З.К. Мухидинов, А. Абдуллаев, С. Гулмамад, Б.Б. Джумаев // Доклады Академии наук Республики Таджикистан, 2017. -Т. 60. - №9. - С. 436-442.

98. Ашуров, А.И. Полисахариды из эремуруса гиссарского (*Eremurus hissaricus*vved.) [Текст] / А.И. Ашуров, С.Р. Усманова, Г. Султонмамад, Ё.Х. Сафаров, З.К. Мухидинов // Актуальная биотехнология, 2017. - №2 (21). - С. 235-237.

99. Физиология и биохимия Эремуруса (*Eremurus hissaricus*vved) [Текст] / А. Абдуллаев, Е.Х. Сафаров, Б.Б. Джумаев, З.К. Мухидинов // Душанбе: ООО «Сифат-Офсет», 2019. - 119 с., 62 библиогр.

100. Muhidinov, Z. K. Characterization of a polysaccharide from *Eremurus hissaricus* roots growing in Tajikistan [Text] / Z. K Muhidinov, J.T. Bobokalonov, I.B. Ismoilov, Liu LS, G. Strahan, Hotchkiss A.T. // 7th World Congresson Biopolymers and Polymer Chemistry, Osaka , Japan, June 03-June 08, 2018. -P. 20.

101. Muhidinov, Z.K. Characterization of two types of polysaccharides from *Eremurus hissaricus* rootsgrowing in Tajikistan [Text] / Z.K. Muhidinov, J.T. Bobokalonov, I.B. Ismoilov, G.D. Strahan, H.K. Chau, T.A. Hotchkiss, Liu LS. // Food Hydrocolloids, 2020. -Vol. 105, 105768 <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.105768>

102. Исмаилов, И. Б. Формирование биоразлагаемых композитов на основе зеина и глюкоманнана [Текст] / И. Б. Исмаилов, Т. С. Маликов, А. С. Насриддинов, А. С. Джонмуродов, З. К Мухидинов. // Доклады Академии наук Республики Таджикистан, 2019. -Т. 62, № 3-4. -С. 207-214.

103. Исмаилов, И.Б. Физико-механические свойства биоразлагаемых композитов на основе зеина и глюкоманнана [Текст] / И.Б. Исмаилов, Х.М. Абдуллаев, А.С. Насриддинов, З.К. Мухидинов // Полимерные материалы и

технологии, 2020. -Т. 6. -№ 1. -С. 25-32. <https://doi.org/10.32864/polymmat-tech-2020-6-1-25-32>

104. Jonmurodov, A. S. Value Added Products from Plant Processing [Text] / A. S. Jonmurodov, J. Bobokalonov, S. Usmanova, Z. Muhidinov, L. Liu // Agricultural Sciences, 2017. -Vol. 8. -№8. -P. 857–867. <https://doi.org/10.4236/as.2017.88063>.

105. Ашуров, А.И. Биологически активные компоненты корнеклубней эремуруса гиссарского (*E. hissaricus*) [Текст] / А.И. Ашуров, С.Р. Усманова, З.К. Мухидинов, Л.Ш. Лиу // Пищевая технология, 2018. -№1 (361). -С. 35-38.

106. Бобокалонов, Д.Т. Изучение полифенольных соединений корнеклубней Эремуруса Гиссарского (*E. Hissaricus*) методом капиллярного зонного электрофореза [Текст] / Д.Т. Бобокалонов, С.Р. Усманова, И.Б. Исмоилов, З.У. Шерова, З.К. Мухидинов // Актуальная биотехнология, 2018. -№3(26), -С. 275-279.

107. Muhidinov, Z. Physico-Chemical Characterization of Pectic Polysaccharides from Various Sources Obtained by Steam Assisted Flash Extraction (SAFE) [Text] / Z. Muhidinov, K. Teshaev, A. Jonmurodov, D. Khalikov, M. Fishman // Macromolecular Symposia, 2012. -Vol. 317-318(1). -P. 142-148. <https://doi.org/10.1002/masy.201100108>

108. Mukhiddinov, Z. K. Isolation and structural characterization of a pectin homo and ramnogalacturonan [Text] / Z. K. Mukhiddinov, D. K. Khalikov, F.T. Abdusamiev, C.C. Avloev // Talanta, 2000. -Vol. 53(1). -P. 171-176. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18968102>.

109. Staub, A.M. Removal of Protein-Sevag Method [Text] / A.M. Staub // Methods in Carbohydrate Chemistry, 1965. -Vol. 5. -P. 5-6.

110. Cuesta, G. Quantitative determination of pneumococcal capsular polysaccharide serotype 14 using a modification of phenol–sulfuric acid method [Text] / G. Cuesta, N. Suarez, M. I. Bessio, F. Ferreira, H. Massaldi // Journal of Microbiological Methods, 2003. -Vol. 52(1). -P. 69-73. [https://doi.org/10.1016/S0167-7012\(02\)00151-3](https://doi.org/10.1016/S0167-7012(02)00151-3).

111. Bradford, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding [Text] / M. M. Bradford // *Analytical Biochemistry*, 1976. -Vol. 72(1-2). -P. 248-254. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3).

112. Zhao, Z. Y. The role of modified citrus pectin as an effective chelator of lead in children hospitalized with toxic lead levels [Text] / Z. Y. Zhao, L. Liang, X. Fan, Z. Yu, A. T Hotchkiss, B. J. Wilk, I. Eliaz // *Alternative Therapies in Health and Medicine*, 2008. -Vol. 14(4). -P. 34-38. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18616067>.

113. Maciejewski, M. W. NMR box: A Resource for Biomolecular NMR [Text] / M. W. Maciejewski, A. D. Schuyler, M. R. Gryk, I. I. Moraru, P. R. Romero, E. L. Ulrich, J. C. Hoch // *Computation Biophysical Journal*, 2017. -Vol. 112(8). - P. 1529-1534. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2017.03.011>.

114. Fishman, M. L. Flash extraction of pectin from orange albedo by steam injection [Text] / M. L. Fishman, P. N. Walker, H. K. Chau, A. T. Hotchkiss // *Biomacromolecules*, 2000. -Vol. 4(4). - P. 880-889. <https://doi.org/10.1021/bm020122e>.

115. Chinese National Standard GB/T 1037-1988. Plastic Film and Shee of Water Vapor Permeability Test Method, 1988.

116. Bera, H. Mucoadhesive-floating zinc-pectinate-sterculia gum interpenetrating polymer network beads encapsulating ziprasidone HCl [Text] / H. Bera, S. Boddupalli, A.K. Nayak // *Carbohydr. Polym.*, -2015.-Vol. 131. -P. 108-118.

117. Wu, J.L. Properties and antimicrobial activity of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) skin gelatin-chitosan films incorporated with oregano essential oil for fish preservation [Text] / J.L. Wu, S.Y. Ge, H. Liu, S.F. Wang, J.H. Chen, J.H. Wang, Li, Q. Zhang // *Food Packag*, 2014. -Vol. 2 (1). -P. 7-16. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2014.04.004>

118. Edible film and coatings for food applications [Text] / Embuscado, M.E. Huber K.C. // New York, USA: Springer, 2009.- 403 p.

119. Bourtoom, T. Edible films and coatings: Characteristics and properties

[Text] / T. Bourtoom // *Internat. Food Research Journal*, 2008. -Vol. 15(3). -P.237-248.

120. Флора Таджикской ССР // Изд-во АН СССР, М.-Л., 1991. - Т. 10. - 624 с.

121. Каримов, Х.Х. Некоторые эколого-физиологические особенности эфемероидов Западного Памира-Алая [Текст] / Х.Х. Каримов // *Экологическая физиология растений Таджикистана*, Душанбе, 1996. - С. 5-32.

122. Сафаров, Е. Содержание углеводов в корнеклубнях Эремуруса Гиссарского [Текст] / Е. Сафаров, А. Абдуллаев, Б.Б. Джумаев, З.К. Мухидинов // *Вестник национального университета*, 2016. -№1/3 (200). -С. 183-186.

123. Wiercigroch, E. Raman and infrared spectroscopy of carbohydrates: A review. [Text] / E. Wiercigroch, E. Szafraniec, K. Czamara, M.Z. Pacia, K. Majzner, K. Kochan, K. Malek // *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular. Spectroscopy*, 2017. -Vol. 185. -P. 317-335. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2017.05.045>

124. Smirnova, N. I. The Structure and Characteristics of Glucomannans from *Eremurus iaeand E. zangezuristicus*: Assignment of Acetyl Group Localization in Macromolecules [Text] / N. I. Smirnova, N.M. Mestechkina, V.D. Shcherbukhin // *Applied Biochemistry and Microbiology*, 2001. -Vol. 37(3). -P. 287-291. <https://doi.org/10.1023/A:1010237419780>

125. Jahanbin, K. Isolation, purification and structural characterization of a new water-soluble polysaccharide from *Eremurus stenophyllus* (boiss & buhse) baker roots [Text] / K. Jahanbin, A. Abbasian, M. Ahang // *Carbohydrate Polymers*, 2017. -Vol. 178(15 December), -P. 386393. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.09.058>

126. Huang, Yu. H., Preparation and characterization of a quaternary ammonium derivative of konjac glucomannan [Text] / Yu. H. Huang, Y., Ying, H. C. Xiao // *Carbohydrate Polymers*, 2007. -Vol. 69(1). -P. 29-40. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2006.08.024>.

127. Fishman, M. L. Flash extraction of pectin from orange albedo by steam injection [Text] / M. L. Fishman, P. N. Walker, H. K. Chau, A. T. Hotchkiss // *Biomacromolecules*, 2000. -Vol. 4(4). -P. 880-889. <https://doi.org/10.1021/bm020122e>.

128. Agrawal, P. K. NMR spectroscopy in the structural elucidation of oligosaccharides and glycosides [Text] / P. K. Agrawal // *Phytochemistry*, 1992. -Vol. 31(10). -P. 3307-3330. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1368855>.

129. Bock, K., Assignment of anomeric structure to carbohydrates through geminal¹³C-H coupling constants [Text] / K. Bock, I. Lundt, C. Pedersen // *Tetrahedron Letters*, 1973. -Vol. 14(13). -P. 1037-1040. [https://doi.org/10.1016/S0040-4039\(01\)95898-8](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(01)95898-8).

130. Bock, K. Carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy of Monosaccharides [Text] / K. Bock, C. Pedersen // In R. S. Tipson & D. Horton (Eds.), *Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry*, 1983. -P. 27-66. Academic Press. [https://doi.org/10.1016/S0065-2318\(08\)60055-4](https://doi.org/10.1016/S0065-2318(08)60055-4).

131. Klaus, B. Carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance Data for Oligosaccharides [Text] / B. Klaus, C. Pedersen, H. Pedersen // In R. S. Tipson & D. Horton (Eds.), *Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry*, 1984. -P.193-225. Academic Press. [https://doi.org/10.1016/S0065-2318\(08\)60125-0/](https://doi.org/10.1016/S0065-2318(08)60125-0/)

132. Jansson, P.E. Sequence determination of oligosaccharides and regular polysaccharides using NMR spectroscopy and a novel Web-based version of the computer program CASPER [Text] / P.E. Jansson, R. Stenutz, G. Widmalm // *Carbohydrate Research*, 2006. -Vol. 341(8). -P. 1003-1010. <https://doi.org/10.1016/j.carres.2006.02.034/>

133. Katsuraya, K. Constitution of konjac glucomannan: chemical analysis and ¹³C NMR spectroscopy [Text] / K. Katsuraya, K. Okuyama, K. Hatanaka, R. Oshima, T. Sato, K. Matsuzaki // *Carbohydrate Polymers*, 2003. -Vol. 53(2). -P. 183–189. [https://doi.org/10.1016/S0144-8617\(03\)00039-0/](https://doi.org/10.1016/S0144-8617(03)00039-0/)

134. Rakhimov, D. A. Glucomannan from *Narcissus poeticus* Studied by PMR and ¹³C NMR Spectroscopy [Text] / D. A. Rakhimov, A. S. Shashkov, K.

S. Zhaunbaeva, M. K. Malikova, N. D. Abdullaev // Chemistry of Natural Compounds, 2004. -Vol. 40(4). -P. 358-361. <https://doi.org/10.1023/B:CONC0000048247.79714.4e/>

135. Alcantara, A.C.S. Bionanocomposites based on alginate–zein/layered double hydroxide materials as drug delivery systems [Text] / A.C.S. Alcantara, P. Aranda, M. Darder, E. Ruiz-Hitzky // J. Mater. Chem., -2010. -№20. -P. 9495–9504.

136. Штанчаев, А.Ш. Турбидиметрическое титрование зеина кукурузной муки [Текст] / А.Ш. Штанчаев, А.С. Насриддинов, Х.И. Тешаев, З.К. Мухидинов, Д.Х. Халиков // Доклады Академии наук РТ, 2007. -Т.50. -№9-10. -С.748-752.

137. Исмаилов, И.Б. Механические свойства биоразлагаемых композитов на основе зеина и глюкоманнана [Текст] / И.Б. Исмаилов, Х.М. Абдуллаев, А.С. Насриддинов, З.К. Мухидинов // «Globalscienceandinnovations 2019: CentralAsia», Нур-Султан, Казахстан, 25-28/09 -2019. -№ 2(3). -С.35-39.

138. Ghadermazi, R. Effect of various additives on the properties of the films and coatings derived from hydroxypropyl methylcellulose - A review [Text] / R. Ghadermazi, S. Hamidpur, K. Sadeghi, R. Ghadermazi, A. Khosrowshahii // Food Sci Nutr., 2019.-Vol.7(11).-P.3363–3377.[https://doi.org/ 10.1002/ fsn3.1206](https://doi.org/10.1002/fsn3.1206).

139. Cho, S. Y. Edible oxygen barrier bilayer film pouches from corn zein and soy protein isolate for olive oil packaging [Text] / S. Y. Cho, S. Y. Lee, C. Rhee // LWT - Food Science and Technology, 2010. -Vol. 43(8). -P. 1234-1239.

140. González, S. Physical and antifungal properties of hydroxypropylmethylcellulose based films containing propolis as affected by moisture content[Text] / S. González, M. Cháfer, A. Chiralt, C. González - Martínez // Carbohydrate Polymers, 2010. -Vol. 82(4). -P. 1174-1183. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.06.051>

141. Ozcalik, O. Barrier properties of corn zein nanocomposite coated polypropylene films for food packaging applications [Text] / O. Ozcalik, F.

Tihminlioglu // Journal of Food Engineering, 2013. -Vol. 114(4). -P. 505-513.

142. Bertuzzi, M.A. Water vapor permeability of edible starch based films [Text] / M.A. Bertuzzi, E.F. Castro, A. M. Vidaurre, J.C. Gottifredi // Journal of Food Engineering, 2007. -№ 80. -P. 972- 978.

143. Villalobos, R. Effect of sur- factants on water sorption and barrier properties of hydroxypropyl methylcellulose films [Text] / R. Villalobos, P. Hernández- Muñoz, A. Chiralt // Food Hydrocolloids, 2006. -Vol. 20(4). -P. 502–509. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2005.04.006>

144. Ozdemir, M. Optimization of edible whey protein films containing preservatives for mechanical and optical properties [Text] / M. Ozdemir, J.D. Floros // Journal of Food Engineering, 2008. -Vol. 84(1). -P. 16-123. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2007.04.029>

145. Pérez-Gago, M.B. Water vapor permeability, solubility, and tensile properties of heat-denatured versus native whey protein films [Text] / M.B. Pérez-Gago, P. Nadaud, J.M. Krochta // J. Food Sci., 1999. -Vol. 64(6). -P. 1034-1037. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2621.1999.tb12276.x>

146. Исмоилов, И.Б. Некоторые физико-механические и химические свойства биоразлагаемых композитных плёнок на основе зеина и глюкоманнана[Текст] / И.Б. Исмоилов, Х. М. Абдуллаев, А.С. Джонмуродов, А.С. Насриддинов, З.К. Мухидинов // Политехнический вестник. Серия Интеллект. Иновация. Инвестиция, 2021.- №2. -С.13-17.