

**ДОСЛІДЖЕННЯ ПРОЦЕСІВ ГІДРАТАЦІЇ ЦУКРОЗИ З
ВИКОРИСТАННЯМ ІЧ-СПЕКТРОСКОПІЇ
INVESTIGATION PROCESSES OF HYDRATATION OF SUCROSE
USING IR-SPECTROSCOPY**

О.В. Подобій, к.т.н.

О.М. Мірошников, к.х.н.

С.П. Олянська, к.т.н.

Podobiy O., Miroshnykov O. ,Olaynska S.

Проведено спектроскопічні дослідження впливу добавок дипептидів на характер міжмолекулярних взаємодій у водних розчинах цукрози. Аналіз отриманих даних показав, що гідратація цукрози визначається водневими зв'язками, іон-дипольними та гідрофобними взаємодіями.

Ключові слова: спектроскопія, цукроза, гідратація, структура, конформація.

In this work influence of oligopeptides on the character on a intermolecular in water sucrose solutions is investigated. The analysis of the obtained outcomes allows concluding, that the hydration of sucrose is conditioned as hydrogen bonds and ion-dipole interactions and hydrophobic interactions.

Key words: spectroscopy, sucrose, hydration, structure, conformation.

В мелясі цукрового виробництва втрачається більше 10 % цукрози, яка вводиться із цукровими буряками, або 70-75 % всіх її втрат. Існує ряд теорій мелясоутворення, накопичено велику кількість експериментального матеріалу по розчинності цукрози в присутності

нецукрів, дослідженню складу заводських меляс, їх в'язкості. Проте теорії та причини утворення меляси досі містять багато невідомого, того, що потребує пояснення.

В умовах бурякоцукрового виробництва лише частина нецукрів органічного та мінерального походження видаляється при очищенні на дефекозатурації, решта, проходячи по верстату заводу, переходять у мелясу.

Серед азотвмісних нецукрів, які входять до складу меляси, особливий інтерес викликають амінокислоти – амфотерні сполуки, які утворюють солі із кислотами і з основами, так як містять одночасно і основну аміно-, і кислотну карбоксильну групи. У великих кількостях в мелясі містяться такі амінокислоти: глютамін, аспарагін, гліцин, лейцин, ізолейцин, аланін, валін; в менших – тирозин, цистін, серін, лізин, аргінін, триптофан та інші [1,2].

За даними А.Р. Сапронова [3] всі амінокислоти, підсилюють реакцію утворення барвних речовин, приймають безпосередню участь в реакціях меланоїдиноутворення і діють як каталізатори, обумовлюють підвищення забарвленості продуктів. В реакції утворення меланоїдинів приймають участь також і продукти лужного розкладу білків – пептиди, які виявляються в дифузійному соку і при подальшому очищенні дифузійного соку видаляються не повністю [2,3]. Наявність амінокислот в розчині впливає на кристалізаційну здатність цукрози.

Структурування в білкових системах, пов'язані з конформаційними змінами макромолекули. Рентгеноструктурний аналіз глобулярних білків показує, що їх поліпептидні ланцюги скручені досить компактно, так що в середині глобули розміщуються гідрофобні неполярні (неіонізовані) радикали АК, які утворюють неполярне ядро глобули. Всі або майже всі полярні радикали амінокислот знаходяться на поверхні такої глобули в гідратованому стані [4]. Лише невелика кількість гідрофобних радикалів може залишатись на поверхні білкових

молекул, утворюючи “гідрофобні кластери”, що відіграє певну роль в стабілізації структури. Гідрофобна взаємодія у водних розчинах білка виступає як фактор стабілізації конформацій на різних рівнях організації білків. Велика гідрофільна поверхня білкових молекул сприяє зв’язуванню води.

Мета даної роботи – вивчення впливу продуктів розкладу білка на процеси гідратації цукрози. Ми зупинились на методі інфрачервоної спектроскопії (ІЧ), яка дає можливість отримати різноманітну інформацію для біополімерів. Коливальні частоти багатоатомних молекул визначаються масами атомів, що входять до складу молекули, геометрією молекули та міжатомними силами, що виникають у разі порушення рівноважної конфігурації молекул.

В роботі з’ясовували вплив дипептидів: Glycyl-DI-Valine, Glycyl-DI-Tryptophane, Glycyl-DI-Norvaline на процеси гідратації цукрози. Готували розчини цукрози з масовою часткою (40...64%) та додавали до них розчини дипептидів з масовою часткою (10...12%). Використовували дипептиди марки “Reanal”.

Спектри були записані в діапазоні коливань $3600...2800\text{ см}^{-1}$ та $1800...700\text{ см}^{-1}$ на лазерному РАМАН-спектрометрі з подвійним монохроматором, оснащеному лазером $\text{Ar}^+(\text{LYN} - 503)$ потужністю 1,3 Вт на обох каналах пучків фотонів (з $\lambda = 488,0$ і $514,5\text{ нм}$), системою рахування фотонів, основним каналом і керованим персональним комп’ютером.

В ІЧ-спектрах водних розчинів цукрози з добавкою пептидів простежуються зміни, які виникають залежно від добавки амінокислоти. У вихідних спектрах розчинів DI-Alanine та DI-Glycine в діапазоні $3600...2900\text{ см}^{-1}$ спостерігаються смуги з такими максимумами: для DI-Alanine з трьома максимумами при 3035 см^{-1} , 3075 см^{-1} , 3120 см^{-1} та при 3510 см^{-1} , а також широка смуга в діапазоні $3210...3370\text{ см}^{-1}$ з максимумом при

3250 cm^{-1} ; DI-Glycine – з двома максимумами в діапазоні 3170...3070 cm^{-1} , 3430...3315 cm^{-1} , 2070...2970 cm^{-1} [5].

Смуги з коливанням при 3250 і 3120 cm^{-1} , обумовлені коливаннями груп амід А та амід Б відповідно [6], а з максимумом при 3510 і 3430 cm^{-1} – “вільним” валентним коливанням групи N-H. У діапазоні 1700...1600 cm^{-1} спостерігаються смуги, характерні для пептидів [6], для DI-Alanine при 1600, 1640, 1660 cm^{-1} і для DI-Glycine – 1620, 1670 та 1725 cm^{-1} . Ці смуги характерні для вторинних амідів, поліпептидів і білка і пов’язані головним чином із валентними коливаннями C=O [5].

Порівняння смуг валентних коливань $\nu(\text{OH})$ груп систем з DI-Alanine і DI-Glycine, показало, що ці смуги зміщуються в область меншої довжини хвилі, причому інтенсивність для систем з DI-Glycine дещо менша, а це свідчення зміцнення водневих зв’язків в системі з DI-Alanine.

В ІЧ-спектрах дипептидів (рис.1) простежуються відносно сильні характеристичні смуги поглинання в областях 1800...700 cm^{-1} та 3600...2900 cm^{-1} . Простежуються зміни інтенсивності та положення максимумів смуг поглинання як для розчинів дипептидів, так і для розчинів з добавкою цукрози, які можна використати при дослідженні конформації та структури водних розчинів цукрози.

Аналіз положення та інтенсивності симетричних та асиметричних смуг валентних коливань в водних розчинах цукрози (50%) з добавкою Glycyl-DI-Valine, Glycyl-DI-Tryptophane та Glycyl-DI-Norvaline (рис. 1) показав, що валентні коливання гідроксильних груп $\nu(\text{OH})$ зміщені у бік зменшення довжин хвиль, причому найінтенсивніше зміщення для системи Glycyl-DI-Norvaline. Валентні коливання $\nu(\text{N-H})$ груп також зміщуються в напрямку зменшення довжин хвиль, причому найінтенсивніше це спостерігається для систем з Glycyl-DI-Tryptophane, а найслабше – Glycyl-DI-Norvaline. Зсув спектру в більш короткохвильову область для другого дипептиду свідчить про посилення ефекту „дальньої” гідратації завдяки більшому гідрофобному фрагменту в

молекулі триптофану, порівняно з молекулою валіну. Аналізуючи валентні коливання $\nu(\text{CH})$ груп, також помічаємо зміщення валентних коливань: для системи Glycyl-DI-Tryptophane – до 2955 cm^{-1} , Glycyl-DI-Norvaline – 2980 cm^{-1} , Glycyl-DI-Valine – до 2780 cm^{-1} .

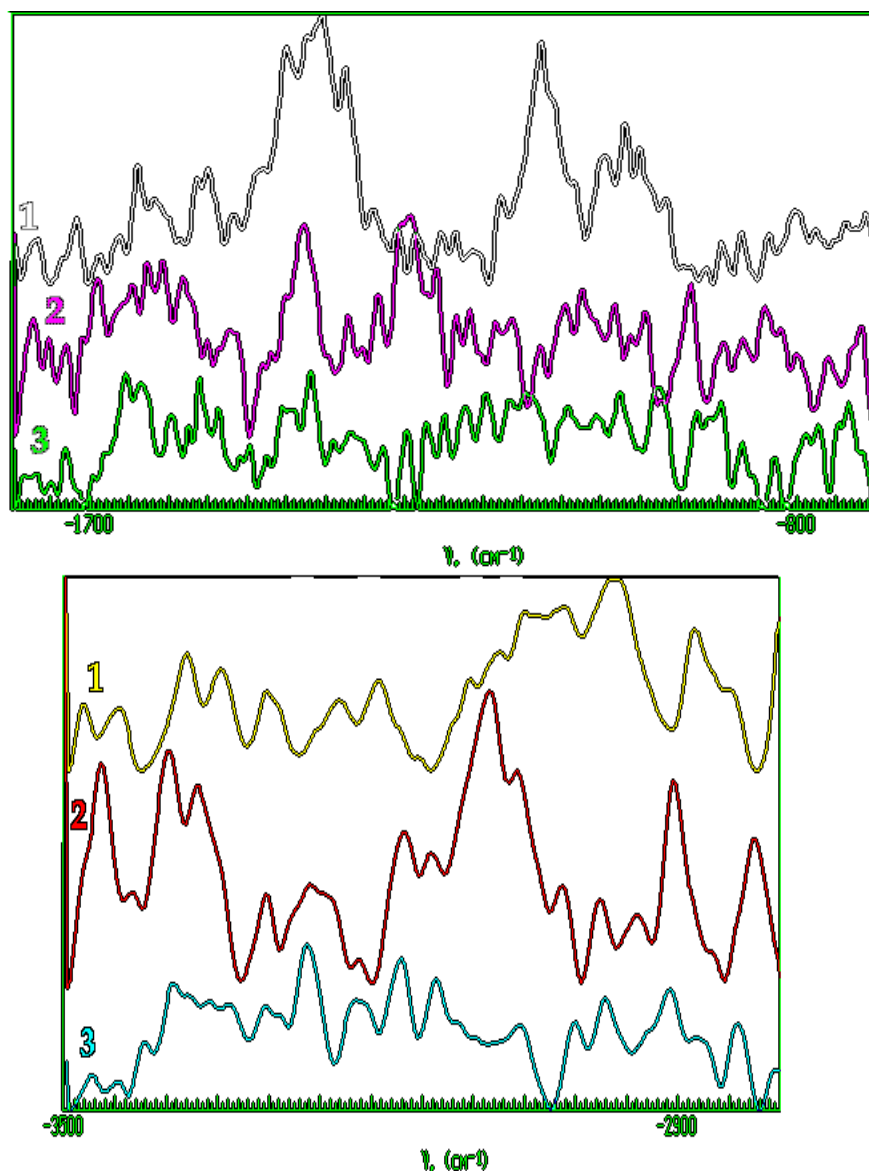


Рис. 1. РАМАН спектри цукрози (50 %) з добавкою Glycyl-DI-Valine (1), Glycyl-DI-Tryptophane (2) та Glycyl-DI-Norvaline (3)

В області валентних коливань $\nu(\text{OH})$ -груп інтенсивність смуг при $3000\ldots2450\text{ cm}^{-1}$ характерна лише для систем цукроза – Glycyl-DI-Valine і з $3150\ldots3050\text{ cm}^{-1}$ для систем цукроза – Glycyl-DI-Tryptophane (рис. 1). В

області валентних коливань при $1800...700\text{ см}^{-1}$ спостерігається, апроксиматично, інтенсивність головних смуг. Деякі розбіжності в інтенсивності смуг поглинання пептидів можна пояснити різною симетрією гідратів в системах цукроза – Glycyl-DI-Valine і цукроза – Glycyl-DI-Tryptophane.

В спектрах мономерів крім характерних дублетних смуг $\nu(\text{N-H})$ (первинні аміді) або синглетної смуги у випадку вторинних амідів, присутні смуги “амід I” – з валентними коливаннями $\nu(\text{C=O})$ при $1650...1720\text{ см}^{-1}$, з деформаційними δNH при $1500...1550\text{ см}^{-1}$, які відповідають так званим коливанням “амід II” та $\nu(\text{CH})$ при $1200...1300\text{ см}^{-1}$ - “амід III”[4,7].

Таблиця 1

Віднесення частоти $\nu, \text{см}^{-1}$ в ІЧ-спектрах цукрози з добавками
дипептидів до природи відповідних коливань

Добавка					Природа коливань [6, 7]
DI-Glycine	DI-Valine	Glycyl-DI-Valine	Glycyl-DI-Tryptophane	Glycyl-DI-Norvaline	
3430 – 3315	3370 – 3210	3000 – 2450	3150 – 3050	3320 – 3240	Валентні коливання νOH , $\nu\text{N-H}$ аміногруп
2920	2940	2750	2955	2980	νCH в насичених сполуках
1725 – 1620	1660 – 1600	1590 – 1545	1645 – 1600	1650 – 1610	Валентні коливання $\nu\text{C=C}$, $\nu\text{C=N}$, $\nu\text{C=O...H}$
1400	1435	1360	1400	1400	Деформаційні коливання $\delta\text{C-H}$ для CH_2
1090 – 1040	1080 – 1040	1080 – 1010	1080 – 1030	1040	Деформаційні коливання $\delta\text{C-O}$, валентні $\nu\text{C-O}$, $\nu\text{C-O-C}$, $\nu\text{C-C}$ циклічних структур

Системи цукрози з амінокислотами є класичним прикладом комплексів ОН-вмісних протонодонорів з N-вмісними

протоноакцепторами. Вони визначаються поєднанням електронноакцепторних властивостей кисню гідроксила, що призводять до збільшення рухливості протону, з одного боку, та неподільною електронною парою азоту протоноакцептора – з іншого. Оскільки для пояснення впливу структурних параметрів молекул взаємодіючих компонентів на міцність міжмолекулярного водневого зв'язку існують різні підходи, то можна припустити, що міцність водневого зв'язку пов'язана, перш за все, з електронною будовою ізолюваних молекул.

Аналізуючи одержані спектри, можна припустити, що у водному розчині цукроза – Glycyl-DI-Norvaline утворюються напівклатратні структури будуються на основі п'яти молекул води. Стосовно систем цукроза – Glycyl-DI-Valine і цукроза – Glycyl-DI-Tryptophane формуються клатрати на основі шести молекул води, що зумовлено більш вираженою гідрофобністю цих дипептидів [8].

Вплив дипептидів на гідратацію водних цукрових розчинів зумовлений ефектом „дальньої” гідратації у разі більшого гідрофобного залишку, про що свідчить аналіз експериментальних даних.

Характер міжмолекулярного водневого зв'язку багато в чому залежить від партнера по взаємодії. Чим сильніше виражені відмінності компонентів суміші, тим менші добавки приводять до різкої, скачкоподібної зміни властивостей суміші. Тому можна припустити, що введення у водний розчин цукрози незначної кількості добавки призводить до структурування розчину. Зсув смуги в більш короткохвильову область свідчить про посилення „дальньої” гідратації завдяки більш вираженій гідрофобності у порівнянні із цукрозою.

Висновки. Отримані в роботі дані стосовно конформацій пептидів та цукрози можуть бути використані для розширення уявлень про характер взаємодії цукрози та органічних нецукрів та будуть сприяти розвитку теорії мелясоутворення.

На основі співставлених дослідних даних ІЧ-спектрів встановлено, що в системах відбуваються складні внутрішньо- та міжмолекулярні взаємодії, які виникають за рахунок водневих зв'язків, іон-дипольних (близька гідратація) та гідрофобних взаємодій (дальня гідратація).

ЛІТЕРАТУРА

1. Оробинский И.П., Иванов С.З. Влияние некоторых аминокислот на кристаллизацию сахарозы // Известия Вузов. Пищ. техн., №2, 1970. – с.168-170.
2. Бобровник Л. Д. Физико-химические основы очистки в сахарном производстве. – К.: Вища шк., 1994. – 255 с.
3. Герасименко А. А., Гривцева Э., Олянская С. П. Меласса и мелассообразование в свеклосахарном производстве. – К.: Высшая школа, 1984. – 318 с.
4. Ленинджер А. Молекулярные основы структуры и функции клетки: Пер. с англ. / Под ред. А.А. Баева и Я.М. Варшавского. – Мир, 1997. – 957 с.
5. Подобій О.В. Удосконалення технології вилучення цукрози із міжкристального розчину утфелю останньої кристалізації: Дис. ... кандидата техн.наук: 05.18.05; – Захищена 19.03.08; Затв. 02.07.08. – К., 2008. – 120 с.
6. Структура и стабильность биологических макромолекул: Пер. с англ. / Под ред. М.В. Волькенштейна. – М.: Мир, 1973. – 548 с.
7. Олянская С.П. Высокоэффективная технология очистки сока и получения белково-витаминных концентратов: Монография. – К.: НУПТ, 2005. – 373 с.
8. Bobrivnyk L., Klimovich V., Myroshnikov O. and Podobiy O. Spectroscopic study of the influence of some inorganic and organic substances on the character of hydration in sucrose solutions //

Proceeding of 21-th General Assembly C. I. T. S. – Antwerpen, Belgium,
24-29 may 1999. – P. 421–426.

Надійшла до редколегії 26.03.09 р.

Подобій Олена Валеріївна – канд.техн.наук,
доцент кафедри фізичної і колоїдної хімії, НУХТ
03028, Київ-28, проспект Науки,21, к 106/2
Тел. 287-93-04 (р.)

Мірошников Олег Миколайович – канд. хім. наук,
професор кафедри фізичної і колоїдної хімії ,НУХТ.
02232, Київ-232, вул. Оноре де Бальзака, буд.77, кв.367
Тел. 530-51-25 (д.)
287-93-04 (р.).

Олянська Світлана Пантелеймонівна – канд.техн.наук,
доцент кафедри технології цукру, цукристих речовин та полісахаридів,
НУХТ
Київ- 03115, вул. Генерала Вітрука 3/11, кв.21
Тел. 424-72-95