

## КОНФОРМАЦІЯ МАКРОМОЛЕКУЛ ПЕКТИНУ У ВОДНИХ РОЗЧИНАХ

Пектинові речовини — одна із головних складових частин колоїдно-диспергованих речовин дифузійного соку. Відповідно до наукових досліджень останніх років [1] основою пектинових речовин цукрових буряків є полігалактуронова кислота, побудована із ланцюгів D-галактуронової кислоти в піранозній формі, з'єднаних  $\alpha$ -1,4-глікозидними зв'язками.

До складу полісахариду входять також нейтральні моноцукриди: L-арабіноза (до 9,6 %), D-галактоза (до 4,9), L-рамноза (до 1,5), D-ксилоза (до 1), D-маноза (до 0,6 %). Карбоксильні групи D-галактуронової кислоти етерифіковані метоксигрупами та етоксигрупами. Водні розчини пектинів мають високу в'язкість, яка пояснюється сольватацією макромолекули, тобто утворенням шару рідини навкруг молекули.

Агрегативна стійкість пектинових речовин, як природних високомолекулярних поліелектролітів, зумовлена складною хімічною будовою макромолекули, ступенем полімеризації і довжиною молекулярного ланцюга, ступенем етерифікації і дисоціації карбоксильних груп. При значеннях ступеня етерифікації <40 % спостерігається зміна конформації, а це, у свою чергу, сприяє агрегуванню пектинових макромолекул і утворенню міцних внутрішньомолекулярних зв'язків [2].

Відомо [3], що молекули пектину мають переважно ниткоподібну структуру і належать до лінійних полімерів з довжиною молекули порядку  $10^5$  см. У водних розчинах молекула пектину набуває форми спіралі [4]. Ця конформація характерна для макромолекул, у яких дальній конформаційний порядок у вигляді спіралі іммобілізований, наприклад, водневими зв'язками. Конформаційні характеристики зумовлюють таку важливу властивість полімеру, як гнучкість ланцюга, тобто здатність змінювати свою конформацію внаслідок внутрішньомолекулярного теплового руху або дії зовнішніх сил [5].

Всяка ниткоподібна макромолекула, залежно від певних умов (температури, рН середовища, наявності електролітів, концентрації розчину) може набувати тієї чи іншої форми, змінювати свою конформацію. В пектинових речовинах ці зміни тісно пов'язані з дисоціацією вільних карбоксильних груп, тобто з іонним характером молекули.

Повнота коагуляції та осадження пектинових речовин на попередній дефекації значно впливає на адсорбційну здатність  $\text{CaCO}_3$ , що утворюється на I сатурації, на загальний ефект очищення дифузійного соку від нецукрів і подальші технологічні процеси. Мета цієї роботи — вивчення конформації макромолекул пектину у водних розчинах у процесі попередньої дефекації за допомогою найсучасніших методів дослідження.

Коливальна спектроскопія, зокрема Raman-спектроскопія, є одним із найінформативніших методів вивчення будови сполук у розчинах, який дає змогу отримати інформацію, часто недоступну іншим методам дослідження. Коливальні спектри молекул мають характерне положення максимумів смуг, інтенсивність їх і форму. Дослідження змін цих параметрів під впливом міжмолекулярних взаємодій відкриває можливість вивчення особливостей будови розчинів, наявності в них стійких асоціатів протягом певної тривалості перебігу

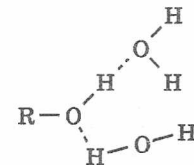
процесів, конформаційних змін молекул різних речовин у розчині.

Були записані спектри в діапазоні коливань від 3600 до 2800  $\text{cm}^{-1}$  і від 1800 до 700  $\text{cm}^{-1}$  на лазерному Raman-спектрометрі, який обладнаний подвійним монохроматором (ДФС-24, ЛОМО), лазером  $\text{Ar}^+$  (LGN-503), при потужності 1,3 Вт на хвилях завдовжки 488,0 і 514,5 нм, має систему підрахунку фотонів, основний канал, управління якого здійснюється за допомогою IBM персонального комп'ютера 3 DX 386.

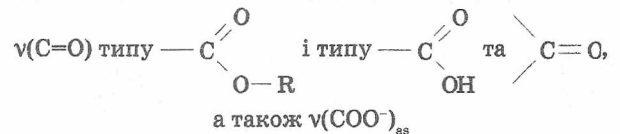
Готували розчини бурякового пектину: наважку 1,0 г розчиняли в 400  $\text{cm}^3$  дистильованої води. Розливали отриманий розчин за допомогою піпетки в 10 склянок (по 40  $\text{cm}^3$ ) і підлужували розчином  $\text{NaOH}$  концентрацією 0,01 моль/л до значень рН 8,0; 8,5; 9,0; 9,25; 9,5; 9,75; 10,0; 10,5 і 11,0. Розчин у десятій склянці не підлужували (використовували далі як контрольний). Отримані проби з різним значенням рН і вихідний розчин пектину переводили в мірні колбочки на 50  $\text{cm}^3$ , доводили водою до риски, збовтували і фільтрували крізь беззолні фільтри. Після цього перевіряли остаточне значення рН кожної проби і контрольного розчину; рН розчину вихідної проби становило 3,0.

У спектрах вихідного розчину пектину і модельних розчинів спостерігається велика кількість смуг, розташування максимумів яких і їх інтерпретацію наведено в працях [6, 7].

Із збільшенням рН розчину до 8,5 в спектрі пектину відбуваються такі зміни: збільшується інтенсивність смуг в області до 3550  $\text{cm}^{-1}$  і одночасно зменшується інтенсивність смуг в інтервалі від 3500 і до 3150  $\text{cm}^{-1}$ . Ці зміни можна розглядати як послаблення міцності водневих зв'язків у системі типу



В області валентних коливань  $\nu(\text{CH})$ ,  $\nu(\text{CH}_2)$ ,  $\nu(\text{CH}_3)$  груп (3050...2800  $\text{cm}^{-1}$ ) виявлено зменшення кількості та положення смуг, що свідчить про зміни симетрії. В інтервалі валентних коливань карбоксильних груп



— асиметричних іонізованих карбоксильних груп в діапазоні коливань 1800...1690  $\text{cm}^{-1}$  спостерігаємо зміну положення смуг, збільшується частота в середньому на 15  $\text{cm}^{-1}$ . Це добре узгоджується з припущенням про послаблення водневих зв'язків у системі.

При подальшому збільшенні рН розчинів пектину від 8,5 до 9,0 в спектрі мають місце такі зміни. Збільшується інтенсивність коливань в області до 3330  $\text{cm}^{-1}$  (рис. 1, крива 1 і 2). З'являється широка смуга з розмитим максимумом при 3174  $\text{cm}^{-1}$  і значно зменшується інтенсивність смуг валентних коливань  $\nu(\text{CH})$ ,  $\nu(\text{CH}_2)$ ,  $\nu(\text{CH}_3)$  (3050...2800  $\text{cm}^{-1}$ ). В інтервалі частот 1800...1400  $\text{cm}^{-1}$  спостерігається збільшення інтенсивності та зміна положення

ня і форми смуг валентних коливань карбоксильних, карбонільних та іонізованих карбоксильних груп (рис. 1, крива 1 і 2).

Коли рН розчину пектину досягає 9,25, значно змінюються положення, форма і суттєво змінюється інтенсивність більшої смуги спектра. Збільшення інтенсивності смуг валентних коливань  $\nu(\text{OH})$  груп і зміщення їх максимуму в бік хвиль меншої довжини свідчать про підсилення міцності водневих зв'язків у системі. Зменшення кількості смуг валентних коливань  $\nu(\text{CH})$ ,  $\nu(\text{CH}_2)$ ,  $\nu(\text{CH}_3)$  груп (3050...2800  $\text{cm}^{-1}$ ) і зміна їх положення і форми свідчать про зміну симетрії силового поля відповідно до результатів роботи [7]. Усі наведені вище факти можна пояснити як зміну конформації макромолекул пектину при рН 9,25.

В інтервалі валентних коливань карбоксильних  $\nu(\text{COO}^-)_{\text{ас}}$  асиметричних і карбоксильних  $(\text{COO}^-)_{\text{с}}$  симетричних іонізованих груп (в інтервалі частот від 1649 до 1504  $\text{cm}^{-1}$ ) спостерігаються зміна положення смуг, зменшення частоти коливань у середньому на 22,5  $\text{cm}^{-1}$  при збільшенні рН від 3,0 до 9,25, що свідчить про зменшення кількості іонізованих карбоксильних груп в макромолекулах пектину:

Положення максимумів смуг,  $\text{cm}^{-1}$ ,  
у Раман-спектрі пектину

рН 3,0	рН 9,25	Різниця	Віднесення смуг
1649	1641	-8	$\nu(\text{COO}^-)_{\text{ас}}$
1594	1559	-35	$\nu(\text{COO}^-)_{\text{ас}}$
1563	1543	-20	$\nu(\text{COO}^-)_{\text{ас}}$
1504	1477	-27	$\nu(\text{COO}^-)_{\text{с}}$
Середнє		-22,5	

Відповідно до праць [4, 8] зі зменшенням ступеня іонізації макромолекула стискається в напрямку своєї осі, згортається в компактну глобулу, внаслідок чого форма макромолекули, очевидно, наближається до сферичної. У водних розчинах макромолекула пектину має форму спіралі, карбоксильні групи якої розташовані одна під одною. Завдяки високій щільності розташування іонізованих груп (в основному карбоксильних груп) макромолекули пектинових речовин змінюють свою конформацію [4]. Внаслідок електролітичної дисоціації кожна дисоційована група отримує від'ємний заряд. Створюються близько розташовані одноіменно заряджені центри, між якими діють сили відштовхування. Ці сили розкручують спіралеподібну молекулу, збільшують її лінійні розміри і в'язкість [4, 8].

Форма молекули пектинових речовин має великий вплив на в'язкість. Залежно від умов (температура, рН середовища, наявність електролітів, концентрація розчину) макромолекула може набувати тієї чи іншої форми.

Величина від'ємного заряду макромолекули пектину, як відомо, залежить від ступеня етерифікації та кількості іонізованих карбоксильних груп; зі зменшенням цієї кількості макромолекула стискається в напрямку своєї осі. Повністю позбавлена заряду молекула пектину займає мінімальний об'єм, в'язкість пектинового розчину зменшується. Така система характеризується мінімальною гідратацією молекул, низькою електропровідністю і нестійкістю до коагуляції [9].

Зменшення кількості іонізованих карбоксильних груп  $\nu(\text{COO}^-)_{\text{ас}}$  і  $\nu(\text{COO}^-)_{\text{с}}$  в діапазоні рН 3,0...9,25 пектинових речовин свідчить про те, що під впливом введеного електроліту NaOH відбуваються стиснення подвійного електронного шару, нейтралізація від'ємного заряду часточок пектину, що призведе до зменшення електрокінетичного потенціалу і нестійкості розчинів до коагуляції. Цьому сприяє зменшення гідрофільності часточок пектину (див. рис. 1). Відповідно до рис. 1 із збільшенням рН розчину від 3,0 до 9,25 спостерігається зменшення інтенсивності коливань і положення максимумів смуг валентних коливань гідроксильних груп в інтервалі від 3650 до 3100  $\text{cm}^{-1}$  в середньому на 14  $\text{cm}^{-1}$ , що свідчить про зменшення кількості цих груп у системі:

Положення максимумів смуг,  $\text{cm}^{-1}$ ,  
у Раман-спектрі пектину

рН 3,0	рН 9,25	Різниця	Віднесення смуг
3567	3517	-50	$\nu(\text{OH})$
3435	3416	-19	$\nu(\text{OH})$
3281	3281	0	$\nu(\text{OH})$
3198	3164	-34	$\nu(\text{OH})$
3103	3135	+32	$\nu(\text{OH})$
Середнє		-14,2	

Складні внутрішньомолекулярні перетворення у макромолекулі пектину, зміна симетрії силового поля, ступеня іонізації карбоксильних груп і гідрофільності макромолекули зумовлюють зміну конформації макромолекул пектину при рН 9,25 і частково проливають світло на питання, чому при такому значенні рН спостерігається максимальне осадження пектинових речовин на прогресивній переддефекції [10].

Подальше збільшення рН розчину до 9,5 сприяє збільшенню інтенсивності й невеликому зміщенню максимуму смуг валентних коливань гідроксильних груп (рис. 2). Виявлено перерозподіл інтенсивностей і зміну контурів валентних коливань  $\nu(\text{CH})$ ,  $\nu(\text{CH}_2)$ ,  $\nu(\text{CH}_3)$  і  $\delta(\text{CH})$ ,  $\delta(\text{CH}_2)$ ,  $\delta(\text{CH}_3)$  груп. Збільшення рН розчину до рН 9,75 сприяє зростанню інтенсивності симетричних валентних коливань іонізованих карбоксильних груп, що можна пояснити збільшенням кількості цих груп у макромолекулах пектину (рис. 2).

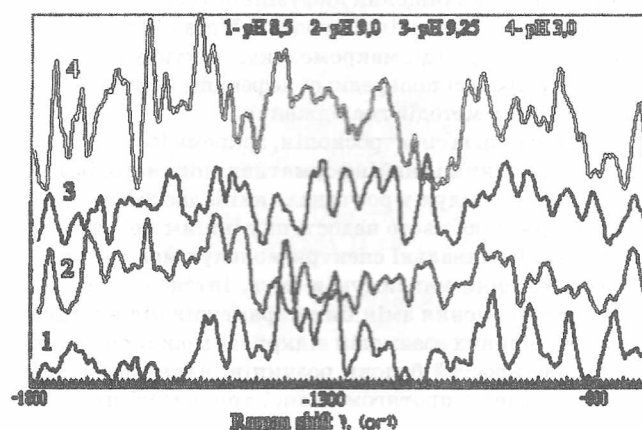
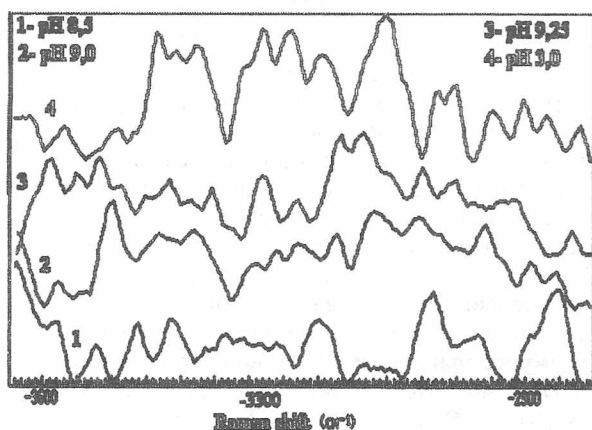


Рис. 1. Раман-спектри водних розчинів пектину

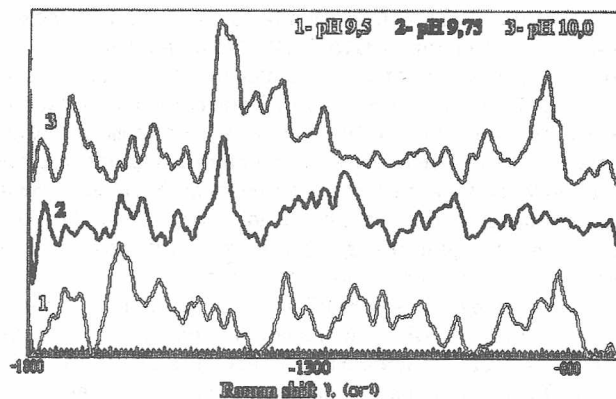
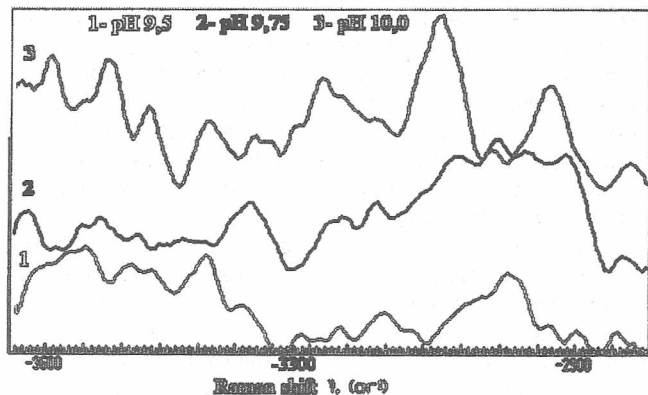


Рис. 2. Раман-спектри водних розчинів пектину

Коли рН розчину досягає значення 10,0, спостерігається подальше збільшення інтенсивності симетричних валентних коливань іонізованих карбоксильних груп  $\nu(\text{COO}^-)$ , та іонізованих асиметричних  $\nu(\text{COO}^-)_{\text{ас}}$  груп, що підтверджує раніше зроблені висновки про збільшення кількості цих груп у макромолекулах пектину (див. рис. 2). Подальше збільшення рН розчину до 10,5 і далі до 11,0 зумовлює зміну положення максимуму смуг валентних коливань гідроксильних груп і значне зростання інтенсивності в інтервалі частот від 1800 до 800  $\text{cm}^{-1}$ . Всі ці зміни спектра свідчать про гідроліз деякої частини складноєфірних груп макромолекули пектину.

**Висновки.** Встановлено, що в області рН 9,25 у водних розчинах пектину мають місце складні внутрішньомолекулярні перетворення, спостерігається значна зміна інтенсивності, положення максимумів і форм смуг валентних коливань  $\nu(\text{OH})$ ,  $\nu(\text{COO}^-)_{\text{ас}}$  і  $\nu(\text{COO}^-)$ , інтенсивності коливань  $\nu(\text{CH})$ ,  $\nu(\text{CH}_2)$ ,  $\nu(\text{CH}_3)$  груп, що свідчить про зміну симетрії силового поля. Всі ці зміни можна пояснити як зміни конформації макромолекул пектину, зміни "кроку" спіралі.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Шелухина Н.П. Разработка научных основ технологий свекловичного пектина: Дис. ... д-ра техн. наук. — К., 1986. — 322 с.

2. Kohnova L., Kohn R. Funkčně a fiziologické vlastnosti pektinu vo vyzine // *Chemicke Listy*. — 1981. — Т. 75, № 10. — С. 1051-1060.

3. Хенглейн Н.Ф. Пектины // *Биохим. методы анализа растений*. — М.: Ин. лит. — 1960. — С. 280-323.

4. Шелухина Н.П., Ашубаева З.Д., Аймухамедова Г.В. Пектиновые вещества, их некоторые свойства и производные. — Фрунзе: Илим, 1970. — 73 с.

5. Axelos M.A., Lefebvre Y., Tribault Y.F. Conformation at a low methoxyl citrus pectin in aqueous solution // *Food Hydrocolloids*. — 1987. — Vol. 1, № 5-6. — P. 569-570.

6. Филлипов М.П. Инфракрасные спектры пектиновых веществ. — Кишинёв: Штиинца, 1978. — 75 с.

7. Cael J.J., Koenig J.L., Blackwell J. Infrared and Raman spectroscopy of carbohydrates // *Carbohydrate Research*. — 1973. — 29. — P. 123-134.

8. Юдинцева И.В., Вакалов И.А. Оптимальные условия спиртового осаждения свекловичного пектина // *Хлебопекарная и кондитерская пром-сть*. — 1973. — № 6. — С. 41-42.

9. Kertesz I.I. The pectic substances. — New York: Interscience Publishers. — 1951. — 628 p.

10. Олянская С.П. Коагуляция ВМС и ВКД диффузионного сока // *Сахар*. — 1999. — № 2. — С. 12-14.

Надійшла до редколегії 01.12.99 р.