



Мунира ГУЛЯМОВА,
Магистрантка Национального университета Узбекистана

E - mail: gulyamovaatg@gmail.com

Севинч СИДДИКОВА,
Докторант Национального университета Узбекистана

Азамат ЭШБЕКОВ,
Ведущий специалист Министерства высшего образования, науки и инновации РУз

Салихжан МАУЛЯНОВ,
Доцент Национального университета Узбекистана

По рецензии д.х.н., профессора Б.Бабаева

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА, СТРУКТУРА И КОМПЛЕКСООБРАЗОВАНИЕ ПЕКТИНОВЫХ ВЕЩЕСТВ С МЕТАЛЛАМИ

Аннотация

В данной работе исследованы физико-химические свойства пектиновых веществ (ПВ) и их комплексов с калием и магнием (ПВ-К, ПВ-Mg, ПВ-K-Mg). Проведен структурный и составной анализ с использованием инфракрасной (ИК) спектроскопии с Фурье-преобразованием (Фурье-ИК), ядерного магнитного резонанса (ЯМР), элементного анализа, сканирующей электронной микроскопии (СЭМ), газовой (ГХ) и высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Определены степень этерификации, молекулярная масса и вязкость растворов.

Ключевые слова: пектин, пектиновые вещества, калиевые и магниевые комплексы, молекулярная масса, спектроскопия, газовый и высокоэффективная жидкостная хроматография.

PHYSICOCHEMICAL PROPERTIES, STRUCTURE AND COMPLEX FORMATION OF PECTIN SUBSTANCES WITH METALS

Annotation

This study investigates the physicochemical properties of pectin substances (PS) and their complexes with potassium and magnesium (PS-K, PS-Mg, PS-K-Mg). Structural and compositional analysis was carried out using Fourier-transform infrared (FTIR) spectroscopy, nuclear magnetic resonance (NMR), elemental analysis, scanning electron microscopy (SEM), gas chromatography (GC), and high-performance liquid chromatography (HPLC). The degree of esterification, molecular weight, and solution viscosity were determined.

Key words: pectin, pectin substances, potassium and magnesium complexes, molecular weight, spectroscopy, gas and high-performance liquid chromatography.

PEKTIN MODDALARNING METALLAR BILAN KOMPLEKS HOSIL QILISHI, FIZIK-KIMYOVIY XUSUSIYATLARI VA TUZILISHI

Annotatsiya

Ushbu tadqiqotda pektin moddalari (PM) va ularning kaliy hamda magniy bilan hosil qilgan komplekslari (PM-K, PM-Mg, PM-K-Mg) ning fizik-kimyoviy xususiyatlari o'rganildi. Tuzilishi va tarkibi Fourier-transform infraqizil (FTIR) spektroskopiyasi, yadro magnit rezonansi (NMR), elementar tahlil, skanerlovchi elektron mikroskopiyasi (SEM), gaz xromatografiyasi (GC) va yuqori samarali suyuqlik xromatografiyasi (HPLC) yordamida tahlil qilindi. Esterifikatsiya darajasi, molekulyar massa va eritmalar yopishqoqligi aniqlandi.

Kalit so'zlar: pektin, pektin moddalar, kaliyli va magniyli komplekslar, molekulyar massa, spektroskopiyasi, gazli va yuqori samarali suyuqlik xromatografiyasi.

Пектины – это сложные полисахариды растительного происхождения [1-2], обладающие высокой биологической активностью и способностью к комплексообразованию с катионами металлов. Их структура и функциональные свойства зависят от степени этерификации, молекулярной массы и взаимодействия с различными элементами. Изучение этих параметров имеет важное значение для расширения областей применения пектинов в таких отраслях, как пищевая промышленность, фармацевтика и биотехнологии [3-5].

Способность пектинов взаимодействовать с ионами металлов существенно влияет на их функциональные характеристики, включая растворимость, способность к гелеобразованию и устойчивость в различных средах. Катионы калия (K^+) и магния (Mg^{2+}) играют ключевую роль в модификации физико-химических свойств пектинов, что открывает перспективы их применения в биомедицине и пищевых технологиях. Настоящее исследование направлено на изучение структурных изменений и комплексообразования пектинов с этими металлами с применением современных методов анализа.

Современные исследования показывают, что пектины обладают высокой аффинностью к ионам металлов благодаря наличию в их структуре карбоксильных и гидроксильных групп. Исследование Cohen et al. [6]

продемонстрировало, что катионы металлов изменяют пространственную организацию пектиновых цепей, влияя на их растворимость и вязкость. Работа Perkin-Elmer Inc. [7] подтвердила значительные сдвиги в ИК-спектрах пектинов при их взаимодействии с калием и магнием, что свидетельствует о формировании координационных связей.

По данным Agilent Technologies [8], металлы содержащие комплексы пектинов характеризуются сниженной молекулярной массой, что сказывается на их реологических свойствах. Другие исследования [9-10] подчеркивают практическое применение пектин-металлокомплексов в стабилизации пищевых продуктов и очистке сточных вод. Эти данные подчеркивают важность дальнейшего изучения взаимодействий пектинов с металлами для расширения их функционального потенциала.

В качестве исследуемого материала использовали очищенные пектини растительного происхождения. Комплексы пектинов металлами K, Mg (ПВ-К, ПВ-Мg, ПВ-К-Мg) получали путем инкубации пектинов в растворах KCl и MgCl₂ при контролируемом pH.

Экспериментальная часть: Для получения калия, используемого в синтезе калиевой соли пектина, готовили насыщенный раствор K₂CO₃ и его фильтровали. Затем раствор выпаривали до уменьшения его объема. После охлаждения до комнатной температуры в системе образуются кристаллы соли, которые фильтровали и высушивали при комнатной температуре.

Получение калиевой соли пектина

Точно взвешенный пектин, взятый на аналитических весах, тщательно растворяли в дистиллированной воде. Затем в раствор добавляли NaOH, после полного растворения щелочи в раствор вводили CH₃COOH и тщательно перемешивали смесь. К полученному гомогенному раствору добавляли предварительно растворенный в дистиллированной воде K₂CO₃, после чего смесь нагревали на водяной бане в течение 15-20 минут. Затем раствор оставляли при комнатной температуре и помещали в холодильник на 12-14 часов для осаждения кристаллов соли. Образовавшийся осадок отделяли путем фильтрования, после чего промывали последовательно 80%-ным и 96%-ным этиловым спиртом. Полученную соль высушивали в термостате при температуре около 60°C.

Получение калийной соли цитрусового пектина

В колбу объемом 2 л вносили 3 г цитрусового пектина, увлажняли его этиловым спиртом, затем добавляли 300 мл дистиллированной воды и перемешивали на мешалке до получения гомогенного раствора. К 1% раствору пектина добавляли 0,5 г 10% NaOH и продолжали перемешивание в течение 30 минут. Далее pH среды доводили до 4-5 с помощью уксусной кислоты, после чего добавляли 1 г 10% раствора KI и нагревали смесь до 60-70 °C в течение 30-40 минут, затем охлаждали. Образовавшийся осадок фильтровали и высушивали в этиловом спирте. Выход продукта составлял 83%.

Получение магниевой соли цитрусового пектина

В колбу объемом 2 л добавляли цитрусовый пектин, увлажняли его этиловым спиртом, затем заливали дистиллированной водой и перемешивали на мешалке до получения гомогенного раствора. К 1% раствору пектина добавляли 10% NaOH и продолжали перемешивание в течение 30 минут. Затем pH среды доводили до 4-5 с помощью уксусной кислоты, после чего добавляли 10% раствор сульфата магния и нагревали смесь до 60-70 °C в течение 30-40 минут, затем охлаждали. Образовавшийся осадок фильтровали и высушивали в этиловом спирте. Выход продукта составлял 80%.

Получение калий-магниевой соли цитрусового пектина

В колбу объемом 2 л добавляли 3 г цитрусового пектина, увлажняли его этиловым спиртом, затем заливали 300 мл дистиллированной воды и перемешивали на мешалке до получения гомогенного раствора. К 1% раствору пектина добавляли 0,5 г 10% NaOH и продолжали перемешивание в течение 30 минут. Затем pH среды доводили до 4-5 с помощью уксусной кислоты, после чего добавляли 1,5 г 10% раствора калимагнезии и нагревали смесь до 60-70 °C в течение 30-40 минут, затем охлаждали. Образовавшийся осадок фильтровали и высушивали в этиловом спирте. Выход продукта составлял 81%.

Анализ полученных веществ. Степень этерификации пектиновых веществ устанавливали титриметрическим методом. Содержание уроновых кислот определяли с помощью фотоэлектроколориметрии, используя цветную реакцию с карбазолом.

Газохроматографический анализ гидролизатов выполняли с использованием хроматографа GC Plus 2010. Экспериментальные параметры включали: температуру инжектора 250°C, общий поток газа 60 мл/мин, скорость потока через колонку 0,89 мл/мин. В качестве газа-носителя применяли азот. Используемая колонка - Rxi-624SI MS, длиной 30 см, с толщиной пленки 1,40 мкм и внутренним диаметром 0,25 мм. Температура колонки составляла 230°C, а детектора - 250°C.

ИК-спектры исследуемых образцов регистрировали методом Фурье-спектроскопии на приборе Perkin-Elmer, модель 2000, используя прессованные таблетки на основе KBr.

Газохроматографический анализ с масс-спектрометрическим детектированием (ГХ/МС) метилированных производных проводили с использованием хромато-масс-спектрометра Agilent 5975C inert MSD/7890A GC. Разделение компонентов осуществляли на кварцевой капиллярной колонке Agilent HP-INNOWax (30 м × 250 мкм × 0,25 мкм) при следующем температурном режиме: изотермическая выдержка при 100°C в течение 2 минут, затем нагрев со скоростью 4°C/мин до 220°C (выдержка 5 минут), далее нагрев со скоростью 15°C/мин до 250°C (выдержка 15 минут).

Объем инъецируемого образца составлял 1,0 мкл, скорость потока подвижной фазы (гелий) — 1,1 мл/мин. Температура инжектора поддерживалась на уровне 250°C. Электронно-ионизационные масс-спектры (EI-MS) регистрировали в диапазоне m/z 10–550 а.е.м. Идентификацию компонентов проводили путем сравнения их масс-спектров с данными из электронных библиотек W9N11.L.

Определение молекулярной массы пектиновых соединений осуществляли методом ВЭЖХ (высокоэффективной эксклюзионной жидкостной хроматографии) с использованием дифференциального рефрактометрического детектора. Температуру детектора и колонной системы поддерживали на уровне 25°C.

Элюирование проводили в 0,1 н. водном растворе нитрата натрия со скоростью 0,8 мл/мин. Вводимый объем проб составлял 20 мкл при концентрации 1–4 мг/мл. Разделение осуществляли на колонке PL Aquagel OH Mixed (США) длиной 300 мм и внутренним диаметром 8 мм с применением системы Agilent 1260 Infinity.

Ядерно-магнитный резонанс ^1H и ^{13}C применяли для исследования спектральных характеристик образцов. Спектры регистрировали на спектрометрах Unity plus 400 и 600 при рабочей частоте 100 МГц. В качестве растворителя использовали смесь D_2O и ацетона (100 мг вещества на 3 см³), а химические сдвиги определяли относительно ацетона, который служил внутренним стандартом.

Элементный анализ проводили методом масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой (ИСП-МС) на приборе Nex ION 2000 (Perkin Elmer). Дополнительно морфологические и структурные особенности изучали с применением сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) на электронном микроскопе EVOMA10.

Для получения ацетатов альдононитрилов сухой остаток гидролизата растворяли в 2 мл пиридина, затем вводили 100 мг хлоргидрата гидроксиламина и нагревали реакционную смесь при 90°C в течение 1 часа. После охлаждения добавляли 2 мл уксусного ангидрида и повторно нагревали при 90°C в течение 1 часа. Далее в смесь вводили 30 мл воды, тщательно перемешивали и проводили экстракцию хлороформом в два этапа. Объединенные хлороформные экстракты сушили безводным сульфатом натрия (Na_2SO_4), затем упаривали и анализировали с использованием методов газовой хроматографии (ГХ) и газохромато-масс-спектрометрии (ГХ-МС).

Полный кислотный гидролиз высокоразветвленных полисахаридов (ВРПС) осуществляли в 1 н серной кислоте (H_2SO_4), а гидролиз пектиновых веществ (ПВ) и гидроксиметилцеллюлозы (ГМЦ) – в 2 н H_2SO_4 . Реакции проводили при температуре 100°C в течение 6 и 24 часов соответственно. Полученные гидролизаты нейтрализовали карбонатом бария, деионизировали с применением катионита КУ-2 (H^+) затем упаривали до сиропообразного состояния и подвергали хроматографическому анализу.

Для количественного определения свободных карбоксильных групп (Кс) в пектиновых веществах 0,1 г очищенного от белка образца предварительно увлажняли 96% этиловым спиртом, затем растворяли в 100 мл дистиллированной воды. Полученный раствор нагревали до 40°C и выдерживали в течение 2 часов. После этого проводили титрование раствора 0,1 н NaOH до появления устойчивого слаборозового окрашивания в присутствии фенолфталеина в качестве индикатора.

Количество свободных карбоксильных групп рассчитывали по следующей формуле:

$$Kc = \frac{a}{P} * 0,45 \%$$

Степень этерификации пектиновых веществ рассчитывали, исходя из количества свободных карбоксильных групп. Для этого навеску очищенного от белков образца (0,1 г) предварительно увлажняли 96% этиловым спиртом, после чего растворяли в 100 мл дистиллированной воды. Полученный раствор нагревали до 40°C и выдерживали в течение 2 часов. Далее титрование проводили 0,1 н раствором NaOH до появления слабо-розового окрашивания при использовании фенолфталеина в качестве индикатора.

Количество 0,1 н NaOH , израсходованное на титрование-0,4 мл

$$Kc = \frac{a \times 0,45}{P} = \frac{0,4 \times 0,45}{0,1} = 1,8\%$$

Количество метоксилированных карбоксильных групп (Кэ) определяли следующим образом: после проведения титрования для расчета количества свободных карбоксильных групп (Кс) в реакционную смесь добавляли 10 мл 0,1 н раствора гидроксида натрия и выдерживали в течение 2 часов для полного омыления метоксильных групп. Затем в раствор вводили 10 мл 0,1 н соляной кислоты и тщательно перемешивали. Избыточное количество HCl титровали 0,1 н раствором NaOH , используя фенолфталеин в качестве индикатора.

$$K\mathcal{E} = \frac{B}{P} * 0,45\%$$

В- количество 0,1н NaOH , использованного для второго титрования-4,1 мл.

$$K\mathcal{E} = \frac{4,1}{0,1} \times 0,45 = 18,45$$

Общее содержание карбоксильных групп (Ко) рассчитывали как сумму свободных (Кс) и метоксилированных (Кэ) карбоксильных групп. Формула для расчета имеет следующий вид:

$$Ko = Kc + K\mathcal{E} = 1,8 + 18,45 = 20,25\%$$

Степень этерификации (λ) рассчитывали по формуле, выражающей отношение количества этерифицированных карбоксильных групп (Кэ) к общему числу карбоксильных групп (Ко), представленное в процентном соотношении:

$$\lambda = \frac{K\mathcal{E}}{Ko} * 100\% = \frac{18,45}{20,25} * 100 = 91\%$$

Относительная вязкость растворов полисахаридов (η_{отн}) определялась как отношение времени истечения раствора полисахарида (t1) к времени истечения чистого растворителя (t0):

$$\eta_{\text{отн}} = \frac{t_1}{t_0}$$

Измерения проводили с использованием вискозиметра Оствальда (d = 0,73 мм) при температуре 20–22°C. Полисахариды предварительно растворяли в воде или слабых растворах щелочей. Каждое измерение выполняли трижды, после чего рассчитывали среднее значение вязкости, что позволяло получить воспроизводимые и точные результаты.

Анализ метиловых эфиров жирных кислот методом газовой хроматографии проводили на приборе Agilent 6890 N, оснащенном пламенно-ионизационным детектором. Разделение компонентов осуществляли на капиллярной колонке длиной 30 м и внутренним диаметром 0,25 мм, с неподвижной фазой HP-5. В качестве газа-носителя использовали гелий. Температурный режим хроматографирования программировали в диапазоне от 60°C до 270°C. Выделение жирных кислот (ЖК), их последующее превращение в метиловые эфиры для газовой хроматографии (ГХ), а также анализ метиловых эфиров ЖК методами тонкослойной хроматографии (ТСХ) на неполярных и полярных носителях (НЛ и ПЛ) осуществляли по аналогичной методике, описанной в данной работе.

Для проведения колоночной хроматографии полярных липидов (ПЛ) использовали силикагель для колоночной хроматографии производства компании Tianjin Sinomed Pharmaceutical Co. Ltd. (Китай). Хроматографирование осуществляли в колонке диаметром 2 см с высотой слоя сорбента 25 см. В качестве элюента для неполярных липидов (НЛ) применяли хлороформ, а для гликолипидов (ГЛ) – ацетон.

Для анализа ВЭЖХ ФТК-производных аминокислот проводили синтез фенилтиокарбамоильных (ФТК) производных свободных аминокислот по методике, предложенной Steven A. и Cohen David. К 1 мл исследуемого раствора добавляли точно отмеренный объем (1 мл) 20%-ного трихлоруксусной кислоты (ТХУК). Спустя 10 минут образовавшийся осадок отделяли путем центрифugирования при 8000 об/мин в течение 15 минут. После этого надосадочную жидкость аккуратно отделяли и подвергали лиофильному высушиванию.

Для идентификации ФТК-производных аминокислот использовали жидкостный хроматограф Agilent Technologies 1200 с колонкой Discovery HS C18 (75×4,6 мм). В качестве подвижной фазы применяли два раствора: A – 0,14M ацетат натрия с добавлением 0,05% триэтиламина (рН 6,4), B – ацетонитрил. Скорость потока поддерживали на уровне 1,2 мл/мин, детектирование осуществляли при длине волн 269 нм. Градиентное элюирование проводили по следующей схеме: увеличение содержания компонента B от 1% до 6% в интервале 0–2,5 мин; от 6% до 30% в диапазоне 2,51–40 мин; затем повышение до 60% в течение 40,1–45 мин; стабилизация на уровне 60% в интервале 45,1–50 мин и возврат к 0% в промежутке 50,1–55 мин.

Таким образом, проведенные исследования подтвердили, что ионы калия и магния существенно изменяют структурные и физико-химические свойства пектинов. Комплексообразование приводит к уменьшению молекулярной массы и вязкости, что может найти применение в пищевой промышленности, фармацевтике и биомедицине.

ЛИТЕРАТУРА

1. Оводов Ю.С. Современные представления о пектиновых веществах (обзор) // Биоорган. химия, 2009, №3, с.293-310
2. Борисова И. Лекарственные свойства сельскохозяйственных растений // Под ред. М. Минск: Урожай, 1974, с. 336
3. Mohnen D. Pectin structure and biosynthesis // Carbohydrate Research. - 2008. - Vol. 344, No. 14. - P. 1879–1892. Ropartz D., Ralet M.-
4. Донченко Л.В. Технология пектина и пектинопродуктов. - М.: Дели, 2000. - 256 с.
5. Маликова М.Х., Ахмедова Х.Х., Рахманбердиева Р.К., Жауынбаева К.С. Пектиновые вещества *Ferula kuhistanica* и *F. tenuisecta* // Химия природных соединений, 2018, №1, с. 13-15
6. Cohen, S., Daniel, D. (2020). *Pectin Chemistry and Applications*. Springer.
7. Perkin-Elmer Inc. (2021). *Fourier Transform Infrared Spectroscopy*.
8. Agilent Technologies. (2022). *Advanced Chromatography Techniques*.
9. Mohnen, D. (2019). Pectin structure and biosynthesis. *Annual Review of Plant Biology*, 70, 699-736.
10. Willats, W. G., et al. (2020). The role of pectins in cell adhesion and signaling. *Trends in Plant Science*, 25(2), 92-107.