

УДК 635.11:664.292  
ББК 42.22:36.84  
Х-25

Хатко З.Н., МГТУ, г. Майкоп

## ИНФРАКРАСНЫЕ СПЕКТРЫ СВЕКЛОВИЧНОГО ПЕКТИНА

*В статье представлены результаты исследования ИК-спектров пленок свекловичного пектина, полученного в результате кислотного гидролиза свекловичного жома. Установлено, что на интенсивность поглощения полос характеристических групп, в частности, карбониллов карбоксильных групп, существенно влияют технологические условия получения пектина. По ИК-спектрам можно судить о структурных изменениях молекулы пектина и о характере влияния балластных веществ на физико-химические свойства пектина.*

ИК-спектры пектиновых веществ несут в себе информацию об их составе и строении, чистоте препаратов, абсолютном и относительном количестве функциональных групп и др. Выделенные в мягких условиях из растений пектиновые вещества обычно хорошо растворимы в воде и образуют довольно прочные пленки. Возможность получения некоторых производных ПВ в виде пленок позволяет исследовать их ИК-спектры, не нарушая структуру макромолекулы и без искажения интенсивностей полос.

Объективным критерием биохимической классификации пектиновых веществ следует считать природу их связи в растительной клетке. Относительно природы связей пектиновых веществ в растениях высказаны гипотезы, основанные на реакционной способности функциональных групп пектинов. Это, прежде всего, водородные связи, образуемые гидроксильными и карбоксильными группами. Более прочные карбоксил-карбоксильные взаимодействия с образованием мостиков из поливалентных катионов (обычно  $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{Mg}^{2+}$ ). И, наконец, эфирные связи с клетчаткой с участием гидроксильных и карбоксильных групп. Имеются данные и о связи пектиновых в клеточной стенке с белками. Для выделения пектиновых веществ из растительной массы необходимо разрушить эти связи. Но если условия выделения будут жесткими, то произойдет разрушение и самой молекулы пектина [1].

Из растений можно выделить три группы пектиновых веществ, отличающихся друг от друга природой связи в растительной клетке:

- ВПВ – пектиновые вещества, связанные механически и посредством водородных связей;

- КПВ – карбоксил-связанные пектиновые вещества, удерживающиеся в клетке благодаря карбоксил-карбоксильным взаимодействиям посредством образования димерных групп и кальциевых мостиков;

- ППВ – протопектин. Природа связей этой части пектиновых веществ достоверно не установлена. Экспериментальные данные не противоречат гипотезе о сложноэфирной связи между ППВ и другими полимерами клетки.

Карбоновые кислоты обычно существуют в виде димеров с очень прочными водородными мостиками между карбонильной и гидроксильной группами двух молекул. Карбонильные полосы поглощения карбоновых кислот (КК) лежат почти в той же спектральной области, что и у кетонов и альдегидов, однако кислоты могут быть идентифицированы путем изучения других областей спектра. Поскольку водородная связь в этих кислотах является чрезвычайно сильной, то и частоты валентных колебаний ОН настолько отличаются от нормальных значений, что становятся характеристическими, поэтому изучение соответствующей спектральной области позволяет установить присутствие карбоновых кислот [2].

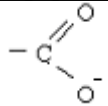
Имеются также другие области спектра, при исследовании которых можно получить некоторые данные, хотя и менее надежные чем те, о которых упоминалось раньше. Такими областями являются области вблизи 1400, 1250 и 920  $\text{cm}^{-1}$ . Происхождение полос здесь неясно. Первые две полосы относятся различными авторами к валентным колебаниям ординарной

связи С-О-. Третья полоса возникает, по-видимому, в результате деформационных колебаний ОН. Данные об этих спектральных областях можно успешно использовать для идентификации КК, особенно если при этом сравнивать полученную интенсивность карбонильного поглощения с его интенсивностью у известных кислот. Кроме того, при изучении частоты С=О можно иногда получить некоторые данные о непосредственном окружении группы СООН.

Присутствие КК легко установить в результате исследования соли или водного раствора кислоты, в котором происходит диссоциация кислот, которая приводит к тому, что оба атома кислорода, связанные с углеродом, становятся равноценными, причем исчезает полоса карбонильного поглощения и появляются две новые полосы вблизи 1550 и 1400 см<sup>-1</sup>, эти полосы возникают в результате симметричных и антисимметричных колебаний группы СОО. При добавлении минеральных кислот к водным растворам, содержащим диссоциированную карбоновую кислоту, степень диссоциации последней уменьшается и снова появляется полоса карбонового поглощения.

Таким образом, идентификация КК на основании изучения ИК-спектров обычно достаточно надежна, а иногда можно получить дополнительные данные, касающиеся окружения карбоксильной группы (таблица 1).

Таблица 1 – Спектральные области карбоновых кислот [3]

Наименование	Частота, см <sup>-1</sup>
Валентные колебания свободной группы ОН карбоксила	3560-3500 (ср.)
Валентные колебания связанной группы ОН карбоксила	2700-2500(сл.)
Колебания С = О: насыщенные алифатические кислоты $\alpha$ - галогензамещенные алифатические кислоты $\alpha, \beta$ - ненасыщенные кислоты ароматические кислоты кислоты, имеющие внутреннюю водородную связь	1725-1700 (с.) 1740-1720 (с.) 1715-1690 (с.) 1700-1680 (с.) 1670-1650 (с.)
Валентные колебания С-О или деформационные колебания ОН	1440-1395 (сл.) 1320-1211 (с.)
Деформационные (внеплоскостные) колебания ОН	950-900 (перем.)
	1610-1550 (с.) 1420-1300 (с.)
Прогрессия полос твердых жирных кислот	1350-1180 (сл.)

*Примечание. Все приводимые данные относятся к образцам, исследованным в твердом и жидком состоянии.*

Частоты валентных колебаний ОН карбоксильной группы кислот были изучены довольно подробно в связи с наблюдавшимися для них аномалиями, состоящими в том, что кислоты в твердом состоянии не обнаруживают полос поглощения ни свободной, ни связанной группы ОН. Некоторые жирные кислоты были использованы в виде паров при различных температурах и в виде растворов в растворителях. Показано, что если полоса валентных колебаний ОН мономеров расположена вблизи 3550 см<sup>-1</sup>, то для димеров имеется широкая область поглощения со многими под максимумами между 3000 и 2500 см<sup>-1</sup>. Аналогичные изменения происходят и в области поглощения карбонила. Димеры являются довольно прочными, и даже в относительно разбавленном растворе в четыреххлористом углероде и в виде паров при низких температурах кислоты имеют полосы, соответствующие как мономерам, так и димерам.

Исследования очень большого ряда кислот показали, что поглощение, связанное с колебаниями ОН, проявляются в виде широкой полосы с рядом более мелких пиков в интервале 3000...2500 см<sup>-1</sup>. В большинстве случаев главный пик наблюдается около 3000 см<sup>-1</sup>, а главная побочная полоса – около 2650 см<sup>-1</sup>. Хотя обычно эти полосы перекрываются в какой-то степени с полосами ОН, те не менее, общая картина весьма характерна. Димеризацией хорошо

можно объяснить сильное смещение частоты ОН, но только ею нельзя объяснить появление сателлитов и большой ширины поглощения. Высказывалось предположение, что фундаментальной частоте валентных колебаний ОН сопутствует ряд дополнительных частот, обусловленных взаимосвязью этих колебаний с более низкочастотными колебаниями димеров, которые сопровождаются растяжением по водородной связи. Согласно другой точки зрения: широкая полоса рассматривается как результат наложения ряда отдельных пиков, обусловленных водородными связями различной силы. Третьи утверждают, что все наблюдаемые в этой области частот пики можно удовлетворительно объяснить, если принять, что они представляют собой составные полосы низкочастотных колебаний, включая колебания группы  $\text{COOH}$ , и что интенсивность повышается за счет резонанса Ферми с основными колебаниями ОН.

Молекула пектина содержит звенья галактуроновой кислоты в неионизированной форме в виде метилового эфира. Все гидроксильные и карбоксильные группы образуют единую систему водородных связей. Наиболее прочную связь образуют ионизированные кислые группы. Неионизированные карбоксилы взаимодействуют между собой по типу димеров карбоновых кислот. В образцах пектина подавляющая масса метильных групп – сложноэфирные.

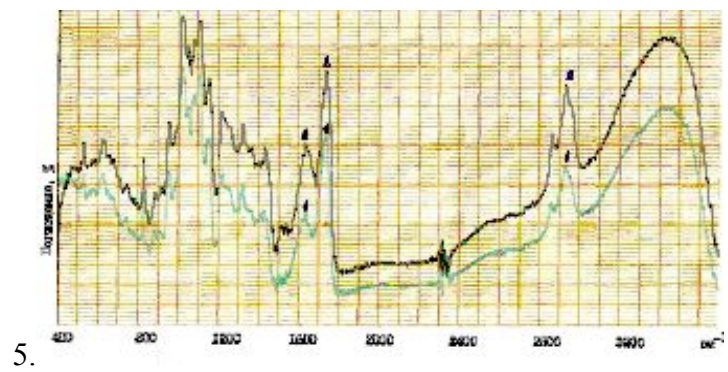
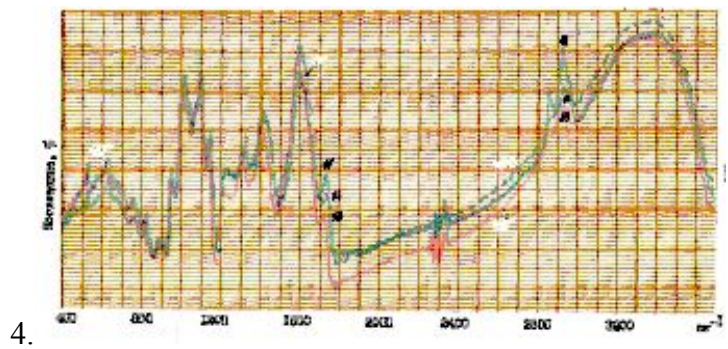
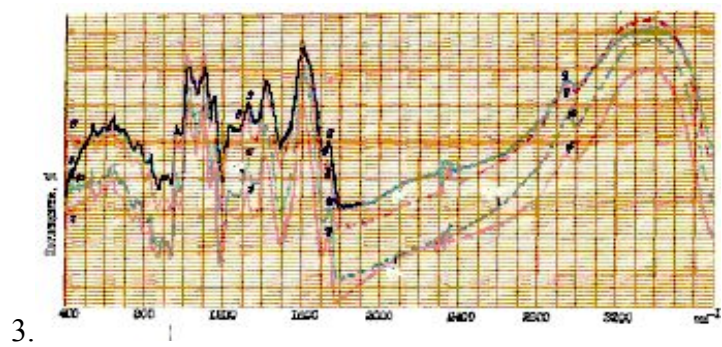
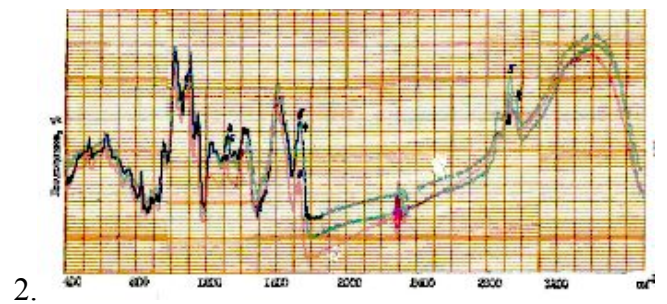
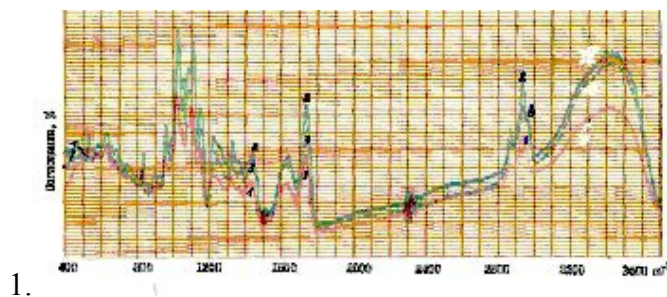
При исследовании ИК-спектров в области  $400\text{--}4000\text{ см}^{-1}$  пленок пектинов различной степени очистки обнаружено, что полосы в области  $1000\text{--}1200\text{ см}^{-1}$  не зависят от способа получения пектиновых веществ и могут служить для их идентификации. При этом, наличие пиранозного цикла подтверждается частотами полос поглощения в ИК-спектре при  $1025$  и  $1080\text{ см}^{-1}$  (кольцевые колебания пираноз и колебания С-О. Полоса  $1435\text{ см}^{-1}$  связана с  $-\text{OSN}_3$  группами. Полоса  $1740\text{ см}^{-1}$  отнесена к свободным и этерифицированным карбоксилам.

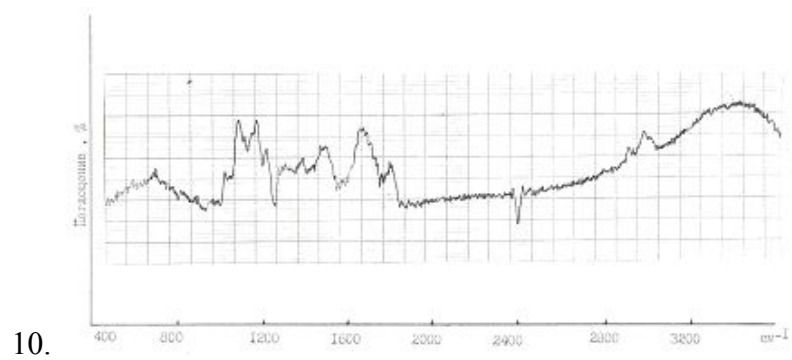
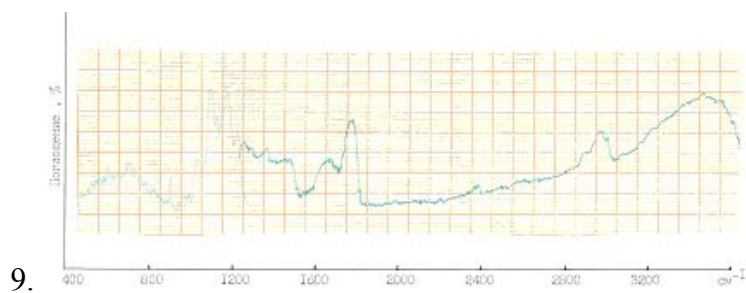
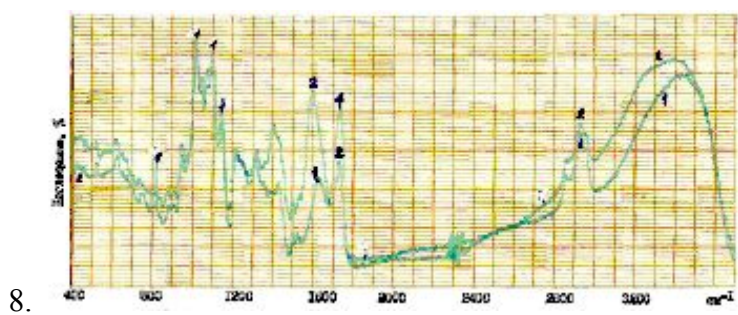
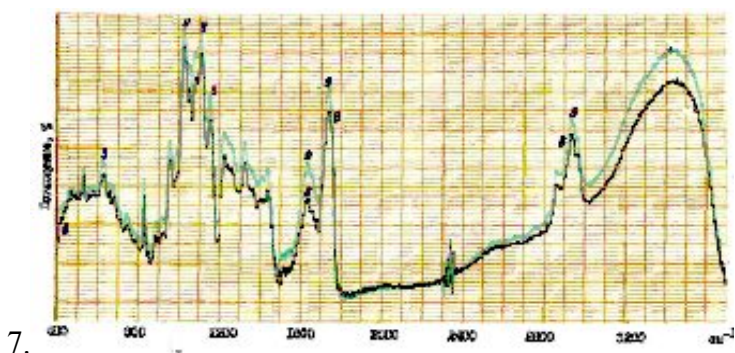
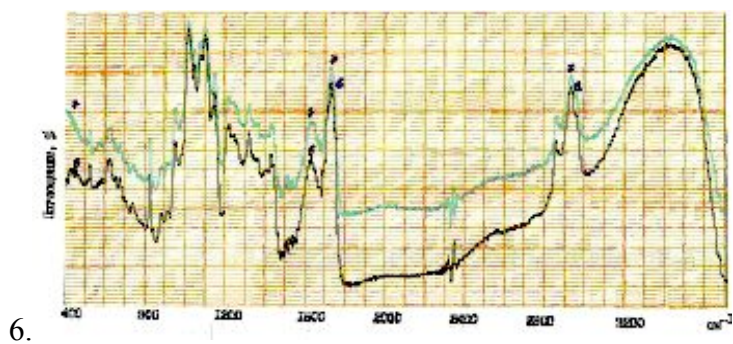
В спектрах всех производных пектиновых веществ полоса средней силы при  $960\pm 15\text{ см}^{-1}$  меняет свое положение в зависимости от состояния карбоксильной группы и не изменяется при деградации образцов. Интенсивная широкая ассиметричная полоса в районе  $3460\text{ см}^{-1}$  и плечом  $3300\text{ см}^{-1}$  гидроксильных групп пектиновых веществ, которые по сравнению с гидроксильными группами воды смещены в низкочастотную область. Это объясняется участием гидроксидов в системе Н-связей.

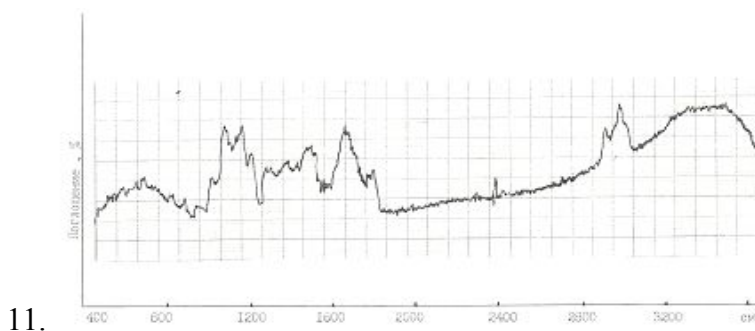
Свойства пектиновых веществ существенно зависят от содержания уронидной части и ее состояния [4]. Карбоксильные группы пектиновых веществ могут быть свободными, прометилованными или связанными с ионами металлов. От степени этерификации карбоксильных групп и замещения их атома водорода на металл в значительной мере зависит растворимость пектиновых веществ в воде. Способность к связыванию ионов металлов при прочих равных условиях определяется количеством свободных карбоксильных групп.

Цель работы заключалась в исследовании влияния условий выделения пектина из пектинового экстракта, а также степени очистки пектина от балластных веществ на содержание свободных карбоксильных групп в пектине. Нами проведено ИК-спектроскопическое исследование пленок свежловичного пектина, полученного в результате кислотного гидролиза сухого свежловичного жома, осажденного из пектинового экстракта при значениях рН  $0,7\text{--}9,1$ ; обработанного ионообменными смолами при соотношении ионитов  $0,6\text{--}2,8$ ; с последующей спиртовой очисткой сухого пектина [5]. Полученные пленки прописывались на спектрофотометре SPECORD. В ИК-спектрах свежловичного пектина нами исследовалась полоса поглощения свободных карбоксильных групп. Изменение количества свободных  $\text{COOH}$ -групп в пектиновых веществах в сравнении с количеством  $\text{COOH}$ -групп, связанных с металл-ионами (такими как кальций), можно определить, так как полосы поглощения свободных карбоксидов проявляются в области  $1700\text{--}1800\text{ см}^{-1}$ , а ионизированных групп при  $1650\text{ см}^{-1}$  [6]. Коэффициент удельного содержания карбониллов карбоксильных групп в молекуле пектина рассчитывался как отношение поглощения при длине  $1745\text{ см}^{-1}$  (колебания карбониллов карбоксильных групп) к поглощению при длине  $2940\text{--}2960\text{ см}^{-1}$  (колебания  $\text{CH}_2$ -групп).

Полученные в результате эксперимента ИК-спектры пленок свежловичного пектина представлены на рисунке 1.







11.

**Рис. 1. ИК-спектры пленок свежковичного пектина.**

**1-4:** пектин осажден из пектинового экстракта при различных значениях pH ((1) 0,7; (2) 1,0; (3) 1,4; (4) 2,0; (5) 2,8; (6) 3,3; (7) 3,9; (8) 4,4; (9) 5,0; (10) 6,0; (11) 7,0; (12) 8,3; (13) 9,1). **5-7:** пектин осажден из пектинового экстракта при различных значениях pH и очищен в сухом виде этиловым спиртом ((1) 0,7; (2) 5,0; (6) 3,3; (7) 4,4; (8) 1,4; (9) 3,9). **8:** пектин осажден из пектинового экстракта, обработанного катионитом (1) с последующей спиртовой очисткой в сухом виде; (2) без спиртовой очистки. **9-11:** пектин осажден после кипячения (1) 0,17 ч.; (2) 0,33 ч.; (3) 0,5 ч.

Из рисунка 1 видно, что при исследовании ИК-спектров пектиновых веществ полосы в области  $1000...1200\text{см}^{-1}$  не зависят от способа получения. Наличие пиранозного цикла подтверждается частотами полос поглощения в ИК-спектре при  $1025$  и  $1080\text{см}^{-1}$ . Сопоставление ИК-спектров (1-4) показывает, что в зависимости от pH пектинового экстракта изменяется интенсивность поглощения исследуемых образцов пектина. Особенно отчетливо эта зависимость проявляется в области  $1740\text{см}^{-1}$ . При осаждении пектина из пектинового экстракта вместе с ним соосаждаются балластные вещества, загрязняющие целевой продукт и существенно снижающие его физико-химические свойства. Их общее количество и химический состав зависят от вида и способа подготовки пектинового сырья, условий извлечения и осаждения пектина, а также очистки на разных этапах технологической схемы.

Анализ ИК-спектров (5-7) показал, что при спиртовой очистке порошка пектина увеличивается интенсивность всех полос поглощения. Это связано с тем, что содержащиеся в пектине балластные вещества связаны с ним не только химической связью, но и механически перемешаны. Они делают свободные карбоксильные группы стерически недоступными для образования комплексов с тяжелыми металлами. Спиртовая очистка пектина способствует удалению спирторастворимой части балластных веществ. Ионообменная обработка пектинового экстракта (8) повышает интенсивность полосы  $1740\text{см}^{-1}$ .

Исследование интенсивности поглощения полос позволило рассчитать коэффициент удельного содержания карбонил карбоксильных веществ в молекуле пектина в зависимости от различных технологических условий (таблица 2, 3). Как видно из таблиц, коэффициент удельного содержания карбонил карбоксильных веществ изменяется от 0,6 до 1,7 в зависимости от pH осаждения и от 1,2 до 1,6 в зависимости от степени обработки ионообменными смолами.

Таблица 2 – Влияние pH пектинового экстракта при осаждении пектина на коэффициент (К) удельного содержания карбонил карбоксильных веществ

Показания	pH пектинового экстракта при осаждении пектина												
	0,7	1,0	1,4	2,0	2,8	3,3	4,0	4,4	5,0	6,0	7,1	8,3	9,1
К	1,6	1,2	1,5	1,2	1,1	1,2	1,7	1,5	1,7	1,7	0,6	1,1	1,1

Таблица 3 – Влияние ионообменной обработки пектинового экстракта на коэффициент (К) удельного содержания карбонил карбоксильных веществ

Показания	Уд. расход катионита			Коэффициент соотношения анионита к катиониту								
	0,031	0,047	0,063	0,63	0,83	1,0	1,25	1,33	1,38	1,83	2,0	2,75
К	1,5	1,2	1,2	1,5	1,2	1,6	1,2	1,2	1,2	1,3	1,2	1,3

Изменения носят колебательный характер и согласуются с ранее полученными данными по комплексообразующей и студнеобразующей способности пектина в исследуемых условиях.

двух точках [7]. Комплексообразующая способность пектина максимальна при коэффициенте соотношения удельных расходов ионов  $1,38$  и по  $\text{COOH}$ -группам происходит выравнивание линий на этом участке  $1,38 \dots 2,75$ . Установлено, что при обработке пектинового экстракта ионообменными смолами при соотношении удельных расходов ионов  $1,0 \dots 2,5$  удельное содержание карбоксильных групп в молекуле пектина не изменяется. Спиртовая очистка сухого пектина способствует увеличению удельного содержания карбонильных карбоксильных групп в молекуле пектина.

Характер изменения удельного содержания карбонильных карбоксильных групп в молекулах неочищенного и очищенного пектина объясняет изменение комплексообразующей способности пектинов: чем больше содержание карбонильных карбоксильных групп в молекуле пектина, тем больше комплексообразующая способность пектина. Полученные данные свидетельствуют о нелинейности этой зависимости.

Анализ ИК-спектров (9-11) пектина, полученного в результате нейтрализации пектинового экстракта 25 %-ным раствором аммиака от  $\text{pH } 0,75$  до  $3,60$  и кипячения в течение  $0,5$  ч, показывает, что происходит значительное уменьшение интенсивности всех полос поглощения, что связано с изменением химического состава и увеличением содержания балластных веществ в пектине. Вместе с тем, пектиновые вещества в пектиновом экстракте показали термостабильность, содержание карбонильных карбоксильных групп и комплексообразующая способность пектина снижаются незначительно.

Таким образом, по результатам ИК-спектров можно судить о структурных изменениях молекулы пектина в зависимости от различных технологических условий и о характере влияния балластных веществ на физико-химические свойства пектина.

#### Литература

1. Филиппов М.П. Инфракрасные спектры пектиновых веществ. - Кишинев: Штиинца. - 1978. - 76с.
2. Филиппов М.П. Природа связи в растительной ткани, строение и инфракрасные спектры как основа классификации пектиновых веществ. Автореф. дис. доктора. хим. наук. - Одесса.- 1990. – 36 с.
3. Беллами Л. Инфракрасные спектры сложных молекул. Перевод с англ. В.М. Акимова, Ю.А. Пентина, Э.Г. Тетерина. Под редакцией к.х.н. Ю.А. Пентина. Изд-во иностр. лит-ры. М.:1963, 590 с.
4. Донченко Л.В. Технология пектина и пектинопродуктов / Учеб. Пособ. М.: ДеЛи, 2000. - 255с.
5. Пектин. Методы контроля в пектиновом производстве / Карпович Н.С., Донченко Л.В., Нелина В.В. и др.: Урожай, 1989. -88с.
6. Филиппов М.П. ИК-спектроскопическое определение карбоксильных групп в пектиновых веществах // Журнал аналитической химии. - 1973.Т.28. - Вып.5. - С.1030-1031.
7. Хатко З.Н. Влияние  $\text{pH}$  процесса осаждения свекловичного пектина на показатели его качества/З.Н. Хатко, Л.В. Донченко//Известия вузов. Пищевая технология.- 1999.- С.22-23.