

## ФИЗИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

УДК 535:36;577.114; 544.35.03

### СВЕТОРАССЕЯНИЕ ВОДНЫХ РАСТВОРОВ ПРИРОДНОГО АНИОННОГО ПОЛИЭЛЕКТРОЛИТА ЗОСТЕРИНА В ШИРОКОМ ДИАПАЗОНЕ pH

Е.Р. Гасилова, И.А. Стрелина, Н.Д. Козина, Н.А. Жук

Институт высокомолекулярных соединений РАН, г. Санкт-Петербург

Методами статического и динамического (ДРС) рассеяния света исследованы разбавленные водные растворы зостерина (пектина, экстрагированного из морской травы *Zostera Marina*) в широком диапазоне pH. Зостерин является анионным полисахаридом разветвленного строения, основная цепь которого состоит из галактуроновой кислоты, содержащей карбоксильные группы, заряд которых регулируется с помощью pH. ДРС указывает на присутствие в растворах как индивидуальных макромолекул с гидродинамическим радиусом  $R_{h1} \sim 15$  нм, так и их агрегатов ( $R_{h2} \gg R_{h1}$ ). С ростом pH от 3.2 до 4.8 структурно-чувствительное отношение агрегатов ( $R_{g2}/R_{h2}$ ) увеличивается от 1.3 до 1.9, т.е. форма агрегатов становится более вытянутой с ростом заряда основной цепи. Агрегаты стабильны в 2% АсОН (pH = 3.2) и 0.1 М NaCl (pH = 4.8), но в 0.1 N NaOH (pH = 10.9) они начинают распадаться уже на следующий день.

**Ключевые слова:** пектин, светорассеяние, агрегаты.

**DOI:** 10.26456/vtchem5

Пектины представляют собой разветвленные анионные гетерополисахариды, содержащие карбоксильные группы в основной цепи [1]. Химическое строение пектинов зависит от их происхождения. Основная цепь всех пектинов состоит из (1→4) α-D-галактуроновой кислоты и ее метоксиловых эфиров [2]. Коммерческие пектины, экстрагируемые из яблок и цитрусовых, имеют высокую степень метоксилирования SM=70–80 % [3]. Эти пектины используются в основном в пищевой промышленности в качестве загустителей. Благодаря более низкой SM пектины из морских водорослей гораздо лучше связывают ионы металлов, чем яблочные и цитрусовые пектины [4–6]. Отличительными особенностями химического строения зостерина - пектина, выделяемого из морской водоросли *Zostera Marina*, являются низкая SM, а также наличие 1,2-присоединенных апиофуранозных олигосахаридов и монозвеньев апиозы в боковых цепях [7–9] (рис. 1). Зостерин используется в медицине в качестве высокоэффективного сорбента [10] и в системах доставки лекарств [11]. Представляет интерес

и его противоопухолевая активность [12]. Поскольку значительные ресурсы *Zostera Marina* находятся в России вдоль северных побережий Атлантического и Тихого океанов, исследования свойств зостерина актуальны.

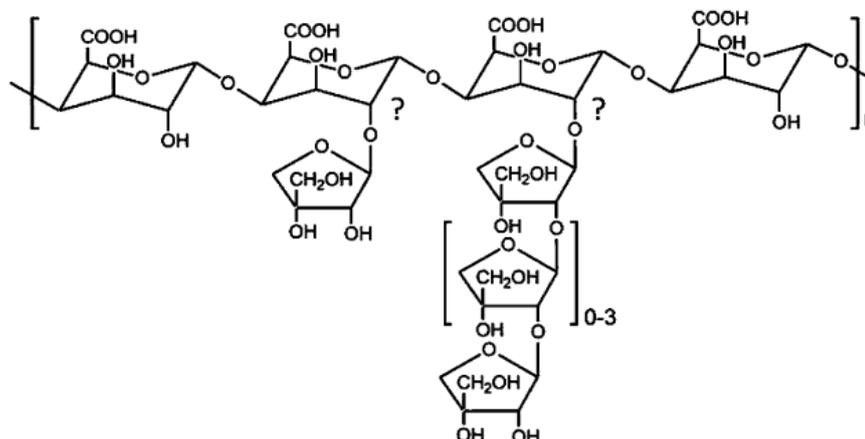


Рис. 1. Структурная формула фрагмента цепи зостерина по результатам ЯМР спектроскопии [9]

Агрегация пектинов с высокой СМ связана с гидрофобными взаимодействиями  $-CH_3$ -групп, а в пектинах с низкой СМ в основном с присутствием следов двухвалентных ионов [11; 13]. Светорассеяние, как известно, чрезвычайно чувствительно к присутствию незначительной доли агрегатов, обычно существующих в водных растворах пектинов [14]. Нас интересовало, каким образом увеличение отрицательного заряда основной цепи при повышении рН влияет на свойства растворов зостерина. С этой целью в настоящей работе были исследованы разбавленные водные растворы зостерина в широком диапазоне рН методами динамического (ДРС) и статического (СРС) рассеяния света.

### Экспериментальная часть

Измерения ДРС и СРС проводили одновременно на установке Photocor-FC при 25 °С на длине волны  $\lambda = 632.8$  нм. Температура раствора поддерживалась с точностью до 0.1°. Угол рассеяния варьировали в диапазоне  $40 \leq \theta \leq 130^\circ$ . Время релаксации ( $\tau$ ) автокорреляционной функции интенсивности рассеянного света  $g_2(t)$  определяли с помощью программы DynaLS. Показатели преломления измеряли на рефрактометре RA-620 ( $\lambda = 589$  нм). Для определения рН использовали рН-метр Sartorius PB-11. Ампулы для светорассеяния были предварительно обеспылены, растворитель фильтровали с помощью мембранного полиакриламидного фильтра с диаметром пор

200 нм. Гидродинамические радиусы ( $R_h$ ) определяли методом ДРС, радиусы инерции ( $R_g$ ) – методом СРС, используя экстраполяцию Зимма.

Зостерин, предоставленный фирмой Аквамир, был переосажден, высушен, диализован относительно воды с помощью диализной мембраны фирмы Orange Scientific с размерами пор 12-14 KDa и, наконец, лиофильно высушен. Для растворения использовали дистиллированную воду.

### **Результаты и их обсуждение**

На рис. 2 представлено характерное для растворов зостерина бимодальное распределение интенсивности рассеянного света от  $\tau$ . Подобные бимодальные распределения наблюдались во всем диапазоне рН. Минорный компонент отнесен к индивидуальным макромолекулам, мажорный – к агрегатам зостерина. Коэффициенты поступательной диффузии  $D$  рассчитаны по формуле  $1/\tau = Dq^2$ , где  $q$  – волновой вектор, равный  $4\pi n_s \sin(\theta/2)/\lambda$ , где  $n_s$  – показатель преломления растворителя. Кажущийся гидродинамический радиус равен  $R_h^{app} = kT/(6\pi D\eta)$ , где  $k$  – постоянная Больцмана,  $\eta$  – вязкость растворителя. Термин кажущийся означает то, что радиус оценен при данной концентрации и данном угле рассеяния. Истинные значения  $R_h$ , представленные в табл. 1, определены двойной экстраполяцией  $D$  к нулевому углу рассеяния и бесконечному разбавлению. Характерные концентрационные зависимости  $R_h^{app}(\theta \rightarrow 0)$  и  $R_{g2}^{app}$  приведены на рис. 3. Согласно таблице 1,  $R_{h1}$  не зависит от рН в пределах погрешности измерений ( $\pm 5$  нм). Из табл. 1 следует, что с ростом рН от 3.2 до 4.8 структурно-чувствительное отношение  $R_{g2}/R_{h2}$  растет от 1.3 до 1.9, что говорит об увеличении асимметрии формы агрегатов [15]. На рис. 4 представлены концентрационные зависимости кажущейся обратной молекулярной массы, равной

$$1/M_w^{app} = Kc/I_q(q \rightarrow 0),$$

где  $K$  – оптический фактор,  $I_q$  – Рэлеевское отношение. Оптический фактор равен  $(2\pi n_s \partial n / \partial c)^2 / (N_A \lambda^4)$ , где  $N_A$  – число Авогадро,  $\partial n / \partial c$  – инкремент показателя преломления. Рэлеевское отношение определяется как

$$I_q = I_t \frac{I - I_s}{I - I_d} \left( \frac{n_s}{n_t} \right)^2$$

где  $I$  и  $I_s$  – интенсивности рассеяния света раствором и растворителем,  $I_d$  – темновой ток,  $n_t$  и  $I_t$  – показатель преломления и Рэлеевское отношение эталонной жидкости (толуола) соответственно.

Согласно Эллиасу [16], кривые 2 и 3 свидетельствуют об открытой модели ассоциации. Закрытая модель ассоциации наблюдается только в 2% АсОН – в растворителе, в котором меньше всего отрицательно заряженных карбоксильных групп основной цепи.

В отличие от стабильных значений  $M_w^{app}$  растворов в 2% АсОН и 0.1M NaCl,  $M_w^{app}$  растворов в 0.1 N NaOH уменьшалась уже на следующие сутки, что указывает на медленный распад агрегатов вследствие электростатического отталкивания отрицательно заряженных карбоксильных групп.

Таблица 1  
Результаты статического и динамического рассеяния света растворами зостерина

Растворитель	pH	$R_{h1}$ , нм	$R_{h2}$ , нм	$R_{g2}/R_{h2}$
2% CH <sub>3</sub> COOH	3.2	15	186	1.3
0.1M NaCl	4.8	16	91	1.9
0.1N NaOH	10.9	14	*)	*)

$R_{h1}$  – гидродинамический радиус индивидуальных макромолекул;

$R_{h2}$  – гидродинамический радиус агрегатов;

\*) агрегаты распадаются со временем.

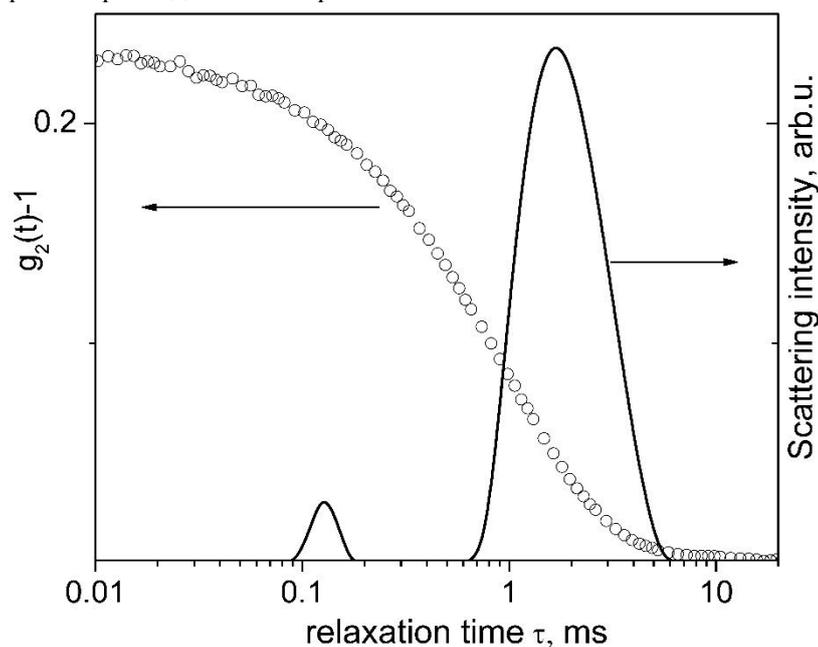


Рис. 2. Характерная автокорреляционная функция интенсивности рассеянного света и соответствующее ей бимодальное распределение времен корреляции при  $\theta=90^\circ$  на примере раствора зостерина в 0.1 M NaCl,  $c=0.3$  г/л

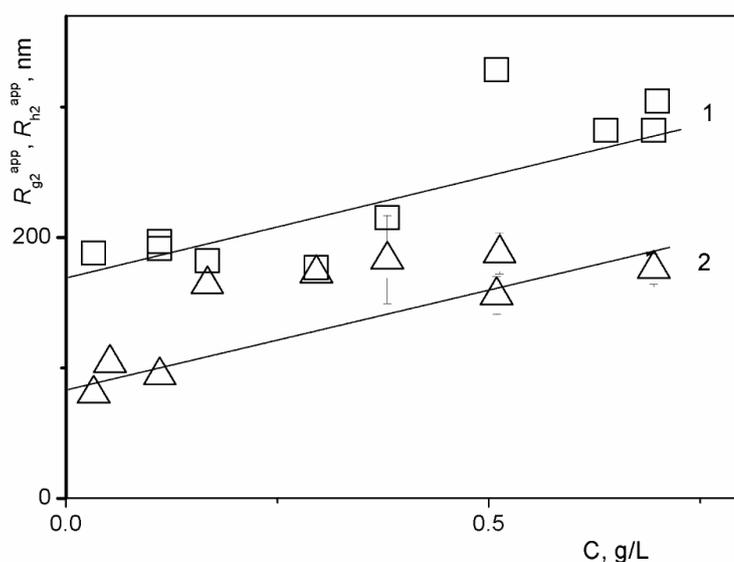


Рис. 3. Концентрационные зависимости кажущихся гидродинамических радиусов (1) и радиусов инерции (2) агрегатов зостерина в 2% уксусной кислоте.

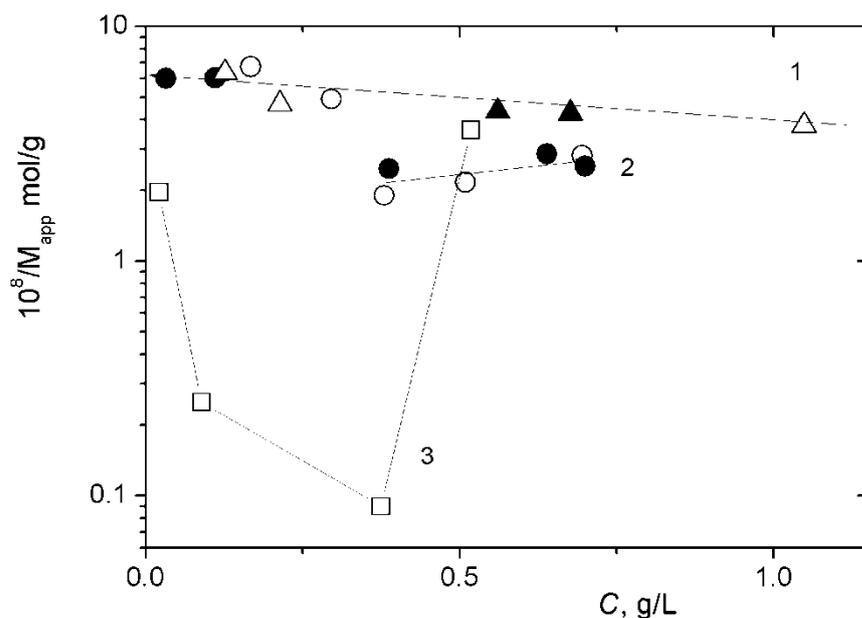


Рис. 4. Концентрационная зависимость обратной кажущейся молекулярной массы растворов зостерина в 2% уксусной кислоте (1), 0.1 M NaCl (2) и 0.1 N NaOH (3)

### Список литературы

1. Thakur B.R., Singh R.K., Handa A.K., Rao M.A. // 1997. V. 37. P. 47–73.
2. Fishman M.L., Chau H.K., Qi P.X., Hotchkiss A.T., Garcia R.A., Cooke P.H. // Food Hydrocolloids. 2015. V. 46. P. 153–159.

3. Voragen A.G.J., Coenen G.J., Verhoef R.P., Schols H.A. // J. Struct. Chem. 2009. V. 20. P. 263–275.
4. Schiewer S., Patil S.B. // Bioresour. Technol. 2008. V. 99. P. 1896–1903.
5. Khotimchenko M., Kovalev V., Khotimchenko Y. // J. Hazard. Mater. 2007. V. 149. P. 693–699.
6. Khotimchenko Y., Khozhaenko E., Kovalev V., Khotimchenko M. // Mar. Drugs. 2012. V. 10. P. 834–848.
7. Fishman M.L., Cooke P.H., Chau H.K., Coffin D.R., Hotchkiss A.T. // Biomacromolecules. 2007. V. 8. P. 573-578.
8. Pismanov M., Muller B.L. // Glycobiology. 2016. V. 26. P. 430–442.
9. Gloaguen V., Brudieux V., Closs B., Barbat A., Krausz P., Sainte-Catherine O., Kraemer M., Maes E., Guerardel Y. // J. Nat. Prod. 2010. V. 73. P. 1087–1092.
10. Туркина М.Я., Печерина Т.В. // Эфферентная терапия. 2007. Т. 13. С. 39–44.
11. Morris G.A., Kok S.M., Harding S.E., Adams G.G. // Biotechnol. Gen. Eng. Rev. 2010. V. 27. P. 257–284.
12. Lu Y., Shan X., Zhao X., Cai C., Zhao X., Lang Y., Zhu H., Yu G. // Mar. Drugs. 2015. V. 13. P. 3710–3731.
13. Grant G.T., Morris E.R., Rees D.A., Smith P.J.C., Thom D. // FEBS Lett. 1973. V. 32. P. 195–198.
14. Ousalem M., Busnel J.P., Nicolai T. // Int. J. Biol. Macromol. 1993. V. 15. P. 209–213.
15. Burchard W. Light scattering: Principles and development / Ed. by W. Brown. Oxford, UK: Clarendon Press., 1996. P. 439-475.
16. Elias H.G. Light Scattering from Polymer Solutions / Ed. by M.B. Huglin. New York: Acad. Press., 1972. P. 397-458.

## **LIGHT SCATTERING OF AQUEOUS SOLUTIONS OF NATURAL ANIONIC POLYELECTROLYTE ZOSTERIN IN A WIDE pH RANGE**

**E.R. Gasilova, I.A. Strelina, N.D. Kozina, N.A. Zhuk**

Institute of macromolecular compounds, Russian Academy of Sciences,  
St.-Petersburg

Dilute aqueous solutions of zosterin (pectin extracted from the seagrass *Zostera Marina*) are studied in a wide pH range by dynamic (DLS) and static light scattering. Zosterin is an anionic branched polysaccharide the main chain of which consists from galacturonic acid which charge is regulated by pH. DLS points out the presence of both individual macromolecules of hydrodynamic radius  $R_{h1} \sim 15$  nm and their aggregates of  $R_{h2} \gg R_{h1}$ . Upon increasing pH from 3.2 to 4.8, the aggregates' structure-sensitive ratio  $R_{g2}/R_{h2}$  increases from 1.3 to 1.9, indicating that the aggregates become more elongated upon increasing the main chain charge. The aggregates in 2% AcOH (pH=3.2) and 0.1M NaCl (pH=4.8)

are stable, but the aggregates in 0.1N NaOH (pH=10.9) start to disrupt already next day.

**Keywords:** *pectin, light scattering, aggregates*

*Об авторах*

ГАСИЛОВА Екатерина Рэмовна – кандидат физико-математических наук, старший научный сотрудник, ФГБУН «Институт высокомолекулярных соединений РАН», e-mail: Katja.Gasilova@gmail.com

СТРЕЛИНА Ирина Анатольевна – ведущий инженер, ФГБУН «Институт высокомолекулярных соединений РАН», e-mail: strelina@imc.macro.ru

КОЗИНА Нина Дмитриевна – бакалавр, Санкт-Петербургский государственный университет промышленных технологий и дизайна, Высшая школа технологии и энергетики, e-mail: ndkozina@gmail.com

ЖУК Надежда Артуровна – магистр, Санкт-Петербургский государственный университет промышленных технологий и дизайна, Высшая школа технологии и энергетики, e-mail: himiya6@yandex.ru

Поступила в редакцию 7 декабря 2017 г.