УДК 535.36; 535.37; 539.2

ОБРАЗОВАНИЕ КОМПЛЕКСОВ В ПОЛИСАХАРИДНЫХ ГИДРОГЕЛЯХ ПО СПЕКТРАМ КОМБИНАЦИОННОГО РАССЕЯНИЯ СВЕТА В ЖИДКОМ И ВЫСУШЕННОМ ПЕКТИНОВОМ ГЕЛЕ

Г. А. Давыдова[1], М. Т. Махамадиев[2], Н. Н. Мельник[2],
Е. В. Переведенцева[2], И. И. Селезнева[1], Л. Л. Чайков[2]

Обнаружено появление люминесценции в гидрогеле пектина, а также пропадание или ослабление в спектрах комбинационного рассеяния (КР) гидрогелей некоторых линий, присутствующих в спектрах сухих образцов, и появление новых линий. Это заставляет предположить образование в гидрогеле комплексов, состоящих из звеньев пектин–вода–пектин, наличие которых обусловлено появлением в пектиновом геле водородных связей.

Ключевые слова: гидрогель пектина, высушенный образец, люминесценция, водородная связь.

Полисахариды активно исследуются оптическими методами в последние годы в связи с нуждами пищевой промышленности [1], медицины [2, 3] и даже электротехники [4]. В медицине активно используются полисахаридные гели, в частности пектиновые (рис. 1).

При этом часто используются методы комбинационного рассеяния света (КР) и ИК-спектроскопии (см., напр. [3, 5], и приведённую там литературу). Практически все КР исследования пектиновых гелей для нужд как медицины, так и пищевой промышленности выполняются на порошках или на образцах гелей, высушенных на различных подложках [3, 5–7], в то время как в практике используются гидрогели, т. е. гели, образованные гелеобразующим веществом, растворённым в воде. В ходе наших экспериментов выяснилось, что между КР-спектрами пектинового гидрогеля и высушенных на

[1] Институт теоретической и экспериментальной биофизики Российской академии наук, 142290 Россия, Московская обл., Пущино, Институтская ул., 3.

[2] ФИАН, 119991 Россия, Москва, Ленинский пр-т, 53; e-mail: chaykovll@lebedev.ru.

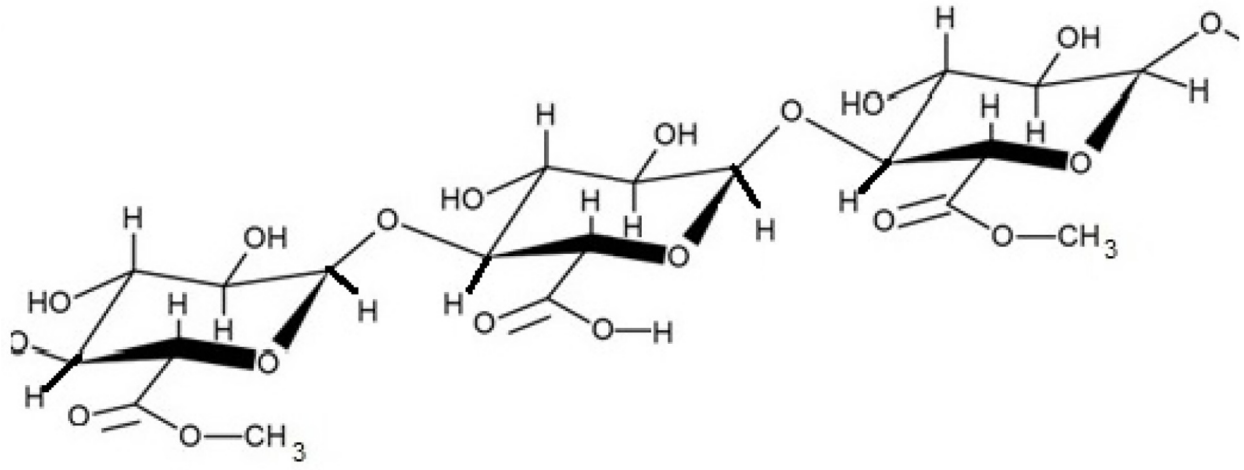


Рис. 1: *Структурная формула средне этерифицированного* ($< 50\%$) *пектина (поли-*α*-(*$1 \to 4$*)-галактуроновая кислота).*

подложках образцов имеется заметная разница (рис. 2). Настоящая работа посвящена изучению этой разницы и попытке её объяснения.

Использовались образцы гидрогеля с концентрацией цитрусового пектина 2% по массе (P9135-100G, Sigma-Aldrich, Burlington, MA, США), выдержанные в течение двух недель, приготовленные, как описано в [3] (Wet), и образцы того же геля, высушенные на воздухе на кварцевой подложке (Dry). Использованный нами пектин соответствовал рис. 1, и именно его мы и будем подразумевать далее под термином “пектин”. Для соответствия промышленным стандартам использовалась дистиллированная вода (удельное сопротивление $\rho \geq 2 \cdot 10^5$ Ω·см). Спектр КР воды (рис. 2) не показывает наличия каких-либо примесей в заметных количествах.

КР-спектры измерялись КР-спектрометром InVia (Renishaw, UK) [8] при возбуждении лазером с $\lambda = 785$ и 1064 нм и мощностью на входе кюветы 45 мВт. Спектры КР регистрировались по схеме обратного рассеяния. Кювету диаметром 27 мм заполняли слоем геля (или воды) толщиной 8–10 мм. Лазерный луч направлялся вертикально вниз и фокусировался в глубь кюветы через свободную поверхность геля с помощью линзы с фокусным расстоянием 8 мм (NPlan 50/0.50, Leica, Wetzlar, Германия). Время записи составляло 200 с. Измерения образцов высушенного геля на подложках выполнялись по той же схеме, но лазерный луч фокусировался на высушенном слое геля.

Из рис. 2 видно, что в гидрогеле возникает широкая мощная полоса, обусловленная, по-видимому, люминесценцией, которой нет в спектрах “сухих” образцов. Люминесцентная природа этой полосы подтверждается отсутствием такой полосы при возбуждении

на $\lambda = 1064$ нм (рис. 3). Для появления столь мощной люминесценции в гидрогеле должны появляться некие новые образования.

Известно, что пектин легко образует люминесцирующие комплексы с ионами металлов и некоторыми другими веществами [9]. В нашем случае это могут быть только комплексы пектина с водой, поскольку больше ничего в образцы не добавлялось.

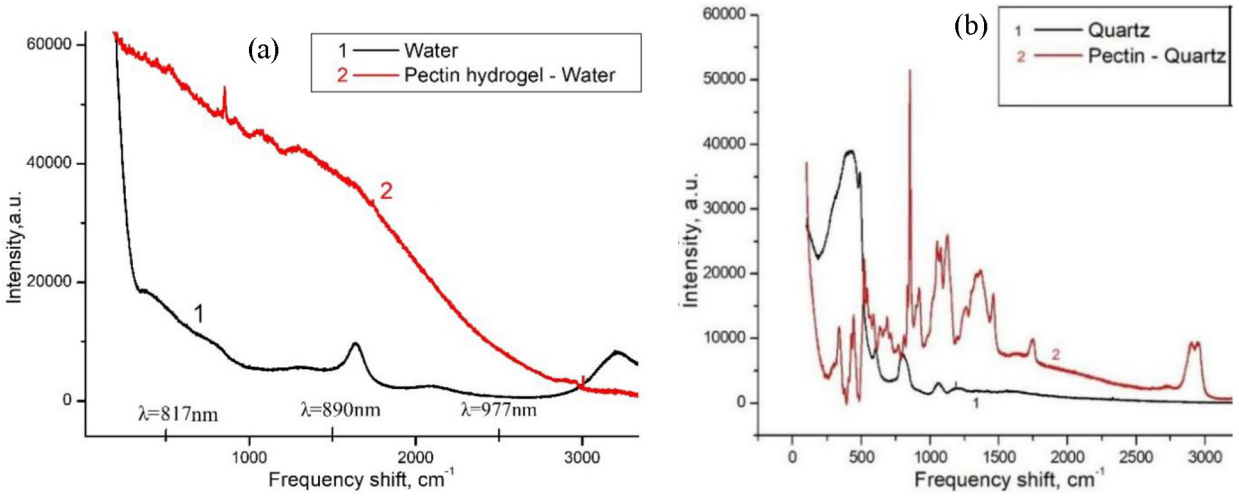


Рис. 2: *(a) спектр рассеяния в воде (чёрный, 1) и в гидрогеле пектина (красный, 2) после вычитания спектра воды (Pectin hydrogel – water); (b) КР-спектр кварцевой подложки (чёрный, 1) и высушенного на ней образца пектина (красный, 2) после вычитания спектра подложки (Pectin – Quartz). Возбуждение на $\lambda = 785$ нм (Frequency shift = 0).*

Но тогда, при образовании дополнительных связей в гидрогеле, в спектрах КР также должно проявляться отличие между гидрогелем и “сухим” образцом.

Заметим, что для исследования такой разницы нам пришлось ограничиться спектрами КР при возбуждении на $\lambda = 785$ нм, поскольку спектр при возбуждении на $\lambda = 1064$ нм слишком зашумлен, хотя “паспортная” линия КР пектина 852 см$^{-1}$ видна отчётливо, и линии 437, 490, 1114, 1363, 1640 см$^{-1}$ после сглаживания также просматриваются.

Для сравнения спектров КР гидрогеля и высушенного образца из спектра на рис. 2(a) нужно было вычесть спектр люминесценции. Форма этого спектра определялась аппроксимацией точек минимума спектра гидрогеля, в которых отсутствовали полосы и линии КР, двумя гауссианами, как это было сделано в [10, 11] для люминесценции молочного и пальмового жира (рис. 4).

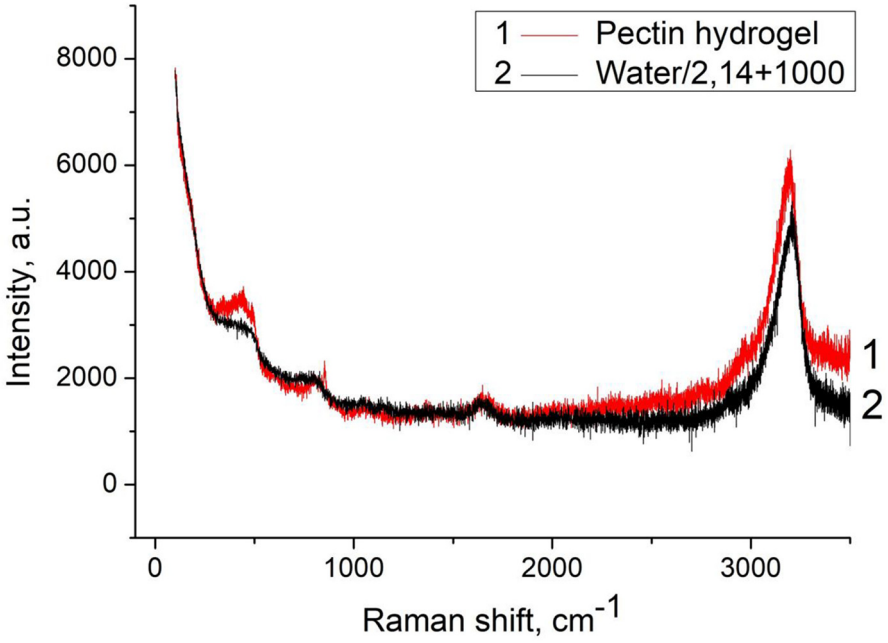


Рис. 3: *Спектры КР гидрогеля пектина (1, красный) и воды (2, чёрный) при возбуждении на* $\lambda = 1064$ *нм. Для удобства сравнения измеренный спектр чистой воды нормировался на значение интенсивности в спектре пектина при комбинационном сдвиге* 1500 *см*$^{-1}$ *на коэффициент* 2.14 *и сдвиг фона на* 1000 *а.и.*

Как видно из рис. 4, полоса люминесценции гидрогеля пектина при возбуждении на $\lambda = 785$ нм хорошо описывается выражением:

$$I_{\text{Lum}} = A_1 \exp(-2(((x - xc1)/w1)^2) + A_2 \exp(-2(((x - xc2)/w2)^2), \qquad (1)$$

где $A_1 = 40981$, $A_2 = 36967$, $w1 = 881.9$ см$^{-1}$, $w2 = 1323$ см$^{-1}$, $xc1 = 235.4$ см$^{-1}$, $xc2 = 1315.8$ см$^{-1}$. Здесь все величины x, $xc1, 2$ и $w1, 2$ приведены в единицах частотного сдвига для удобства дальнейших операций. Хорошая аппроксимация этой полосы двумя гауссианами также свидетельствует в пользу её люминесцентной природы.

Отличие спектров КР гидрогеля и высушенного образца действительно становится хорошо видно после вычитания спектра люминесценции из полного спектра гидрогеля (рис. 5). На рис. 5 приведены КР-спектры сухого образца после вычитания спектра кварцевой подложки (кривая 1) и гидрогеля после вычитания спектра воды и люминесценции (кривая 2). Видно, что в гидрогеле по сравнению с “сухим” образцом исчезает узкая полоса 1262 см$^{-1}$, соответствующая валентным колебаниям связи C_{ring} – H [5], и заметно ослабляются полосы 1459 см$^{-1}$ (поперечные колебания в группе CH_3), 1050 см$^{-1}$

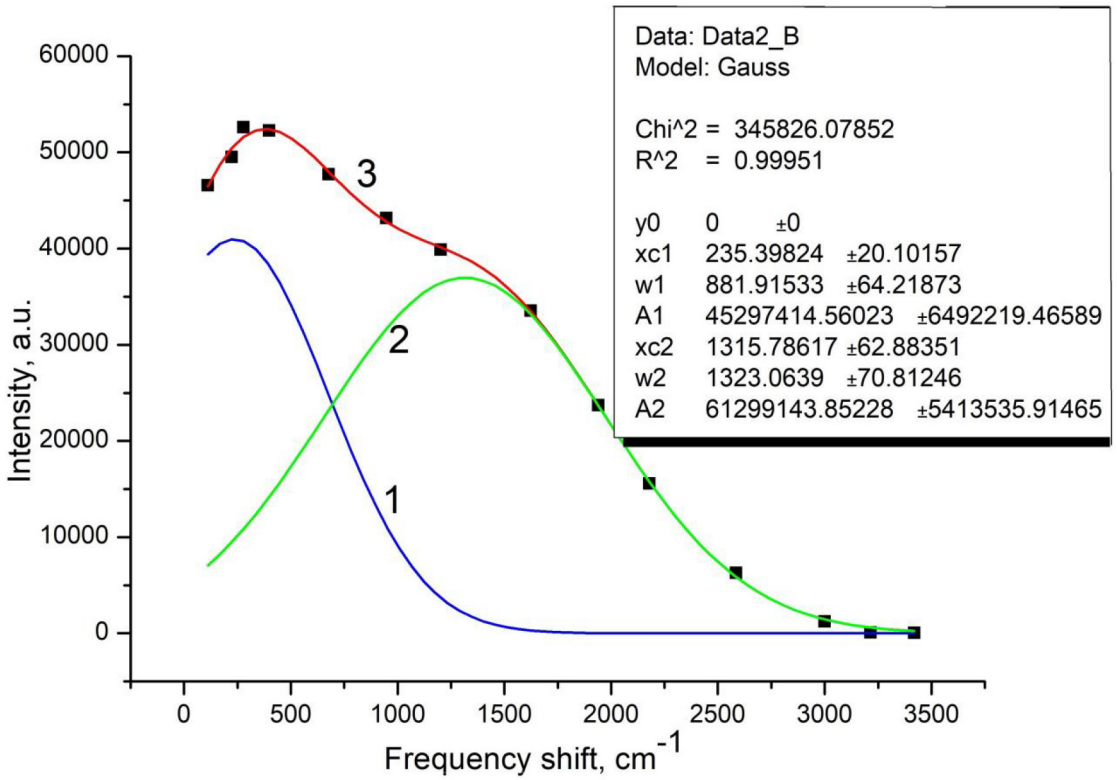


Рис. 4: *Результат аппроксимации спектра люминесценции двумя гауссианами. Точки – минимумы спектра гидрогеля пектина (кривая* 2 *рис.* 2*(а)), кривые* 1*, синяя и* 2*, зелёная – два гауссиана (см. формулу* (1)*),* 3*, красная – их сумма (спектр люминесценции). Здесь ось абсцисс размечена в единицах частотного сдвига для удобства дальнейших операций.*

(колебания C–C пиранозного кольца и C–O гликозидной связи) [5], 835 см$^{-1}$ (C_{ring} – OH) [5] и 425 см$^{-1}$ (деформационные в плоскости кольца) [12].

Вместе с тем в гидрогеле появляется множество новых полос по сравнению с “сухим” образцом.

В литературе мы не нашли подобного сравнения для пектина. Но в [13] приводятся КР-спектры для кристаллической фруктозы и её насыщенного раствора. В таком растворе также пропадает ряд линий КР, видимых в спектре сухого порошка кристаллической фруктозы: 430, 467, 527, 870, 627, 817 и 1264 см$^{-1}$, причём последние три восстанавливаются при добавлении золотых наночастиц. Однако авторов [13] не интересовало взаимодействие фруктозы с водой, они сосредоточились на влиянии наночастиц на спектр раствора для идентификации фруктозы и пектина по спектрам КР.

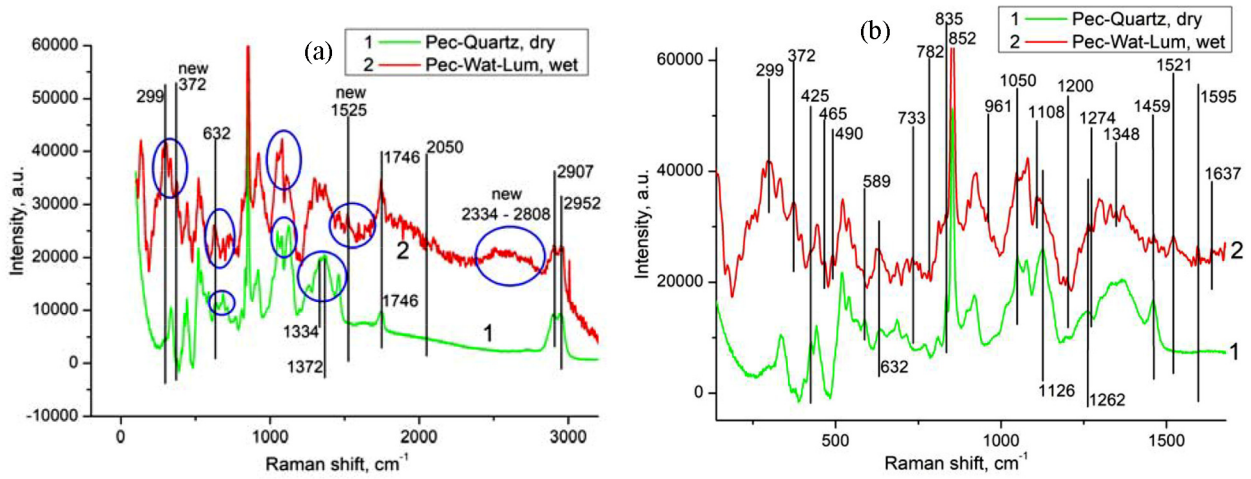


Рис. 5: *(a) различие в КР-спектрах "сухого" образца после вычитания спектра кварцевой подложки (зелёный,* 1*) и гидрогеля после вычитания спектра воды и люминесценции, формула* (1) *(красный,* 2*). Овалами выделены наиболее характерные отличия; (b) то же в диапазоне* 200–1600 $см^{-1}$.

Здесь уместно заметить, что имеется целый ряд описаний образования гелей пектина в воде, смотри например [14] и цитированные там работы. Однако эти описания предполагают высокую концентрацию пектина и наличие дополнительных веществ (сахаров, $CaCl_2$ и т. п.). При этом рассматривается в основном взаимодействие молекул пектина между собой, а вода оказывается в полостях между молекулами пектина и не играет активной роли в гелеобразовании, как например в [15].

Мы же попробуем оценить именно возможное взаимодействие пектина с водой в гидрогеле малой (2%) концентрации, которое может приводить к образованию геля и люминесцирующих комплексов.

На рис. 6 показаны два из всех возможных вариантов связей между молекулами пектин–вода–пектин, возникающих при образовании водородных связей в гидрогеле. Эти два варианта соответствуют имеющимся в сухом образце, но пропадающим в гидрогеле линиям 1262 $см^{-1}$ (C_{ring} – H) и 835 $см^{-1}$ (C_{ring} – OH) [5] и, в отличие от остальных, имеют приблизительно линейную форму на участках C_{ring} – H – O_{H2O} и C_{ring} – OH – O_{H2O} (1 и 2, соответственно).

Благодаря квазилинейной форме этих связей можно попробовать на основе простой модели осциллятора (рис. 7) грубо оценить частоту новых линий, возникающих в гидрогеле в результате появления водородных связей.

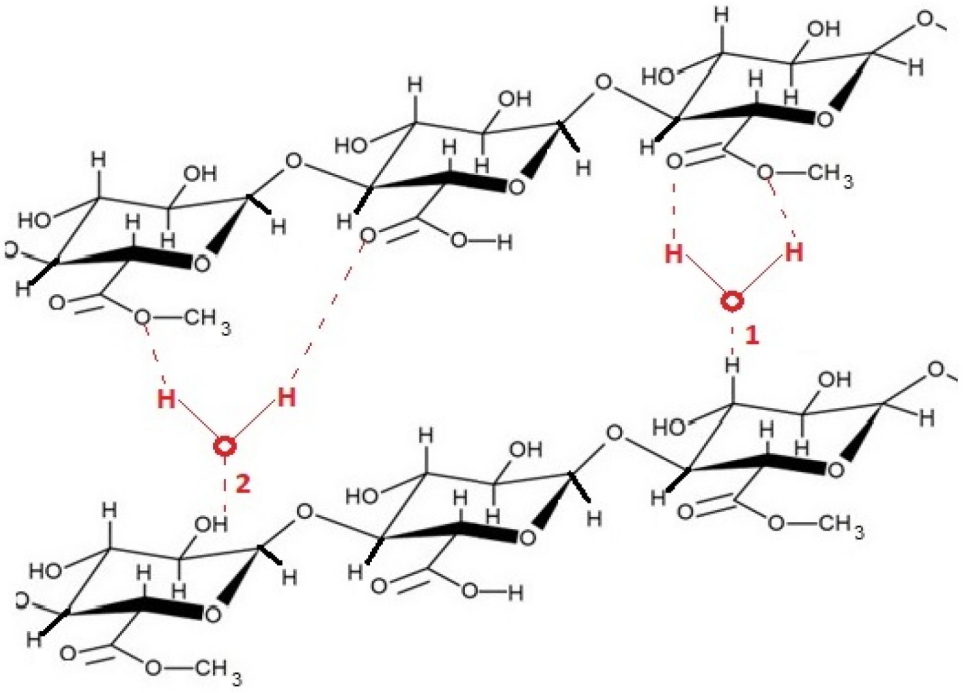


Рис. 6: *Две из возможных водородных связей пектин–вода–пектин, имеющие примерно линейную форму на участке, ближнем к нижней на рисунке молекуле пектина.*

Сначала будем считать пиранозное кольцо “неподвижной стенкой”. При появлении дополнительной связи, например, водородной H – O (175 см$^{-1}$) [16, 17], на массу m_1 при смещении на Δx будет действовать упругая сила $F = -(k_1 + k_2)\Delta x$, при этом $k_2 \cdot \Delta x$ будет частично модулироваться колебаниями m_2. Заметим, что в предполагаемой геометрии деформационные колебания молекулы воды (1637 см$^{-1}$, [5]) превращаются в линейные колебания атома кислорода. В результате колебания m_1 (и частоту линии, обусловленной колебаниями “стенка – m_1”) можно описать как

$$\Delta x_{m1} = \sin\left(\left(\sqrt{v_1^2 + v_2^2}\right) t\right) \cdot (1 - A + A\sin(v_3 t)) = (1 - A)\sin\left(\left(\sqrt{v_1^2 + v_2^2}\right) t\right) +$$

$$+(A/2)\left(\cos\left(\left(\sqrt{v_1^2 + v_2^2} - v_3\right) t\right) - \cos\left(\left(\sqrt{v_1^2 + v_2^2} + v_3\right) t\right)\right). \qquad (2)$$

Учитывая, что модуляция колебаниями m_2 будет частичной, оценка даёт следующие частоты: 364, 852, 1274, 2910 см$^{-1}$. Но поскольку связь C_{ring} – H практически перпендикулярна плоскости пиранозного кольца, следует учесть и изгибные деформационные колебания последнего (425 см$^{-1}$, [12]). Такой учёт дают ещё частоты 788 и 2486 см$^{-1}$ (остальные значения лежат вне диапазона измерений). Полоса 852 совпадает с основной

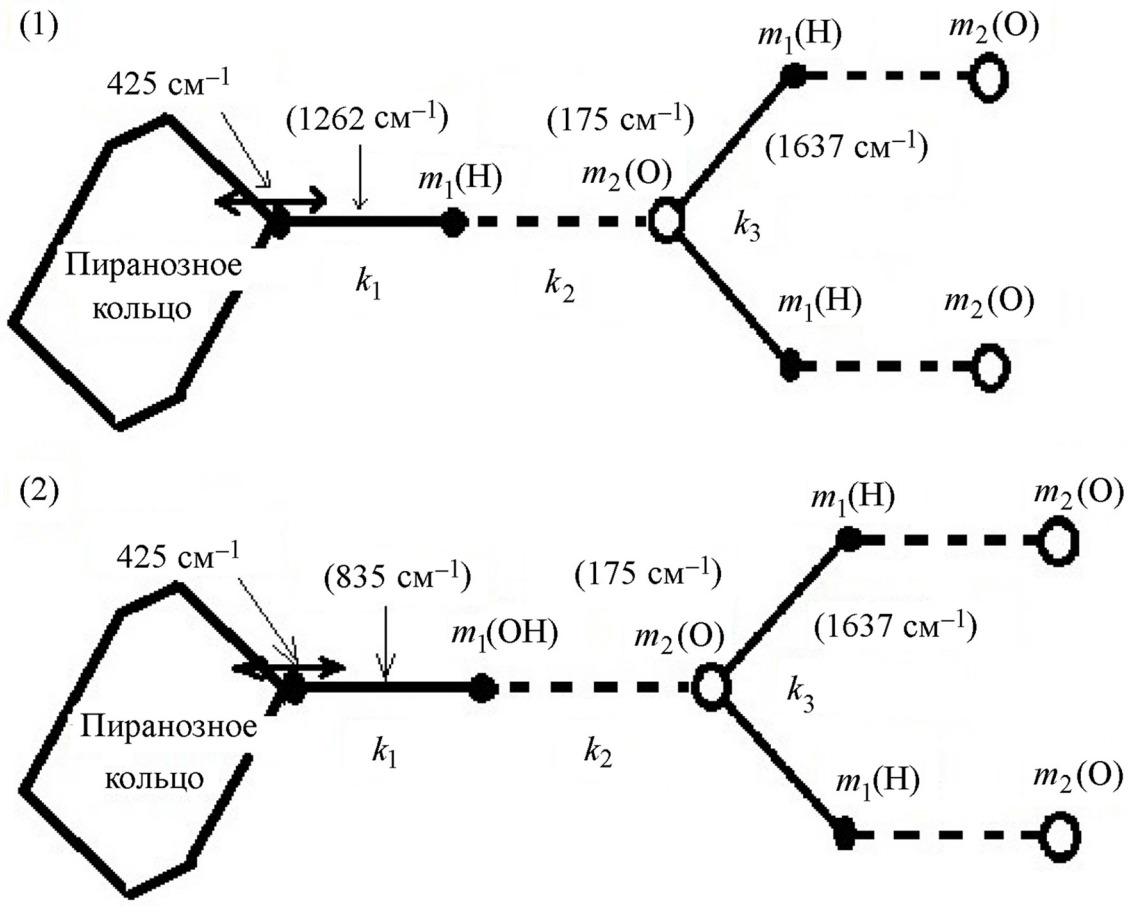


Рис. 7: *Модель классического осциллятора для оценки частот новых полос, появляющихся при образовании водородной связи по схемам* (1) *и* (2) *на рис.* 6.

"идентификационной" полосой пектина, и не может быть критерием совпадения с экспериментом. Но действительно, в гидрогеле появляется широкая полоса 2330–2810 см$^{-1}$ и ряд новых линий (782, 1274, 1348 см$^{-1}$) и заметно усиливается полоса 372 см$^{-1}$.

Аналогичные оценки для появления новых полос в результате изменения колебаний с частотой 835 см$^{-1}$ (внеплоскостные колебания C_{ring} – OH) с появлением водородных связей группы OH дают 784, 854 ("идентификационная" полоса пектина), 2490, 1209, 2915, 2065 см$^{-1}$. В полученном экспериментально спектре гидрогеля (по сравнению с сухим образцом) мы наблюдаем появление полос 782, 1200, 2050 см$^{-1}$ и, как уже отмечалось, широкой полосы 2334–2808 см$^{-1}$. Эти оценки и соответствующие экспериментально полученные новые полосы сведены в табл. 1.

Что же касается ослабленных в гидрогелях полос 1459, 1050 и 425 $см^{-1}$, то к ним такая сильно упрощённая модель плохо применима, поскольку в их связях задействованы поперечные колебания, и для оценок необходимо знать направления этих связей и колебаний.

Для более корректной оценки частот колебаний, появляющихся в гидрогеле за счёт изменения ряда колебаний в сухих образцах, следовало бы посчитать частоты движений атомов в сухом пектине и его гидрогеле. Однако это отдельная задача, выходящая за рамки настоящего краткого сообщения, и к тому же требующая огромных вычислительных мощностей и работы специалистов другой специальности.

Таблица 1

Оценка и экспериментальные значения полос, появляющихся под влиянием водородной связи (Ус. – усиливается, П. – появляется, М – маркерная полоса пектина)

Изменённая полоса	1262 (колебания связи C_{ring} – H)						835 (внеплоскостные колебания C_{ring} – OH)					
Оценка	364	788	852	1274	2486	2910	784	854	1209	2065	2490	2915
Эксперимент	372	782	852	1274	2334-2808		782	852	1200	2050	2334-2808	
Эффект	Ус.	П.	М	П.	П.		П.	М	П.	П.	П.	

Заметим, что в доступной литературе идентификация многих появившихся в гидрогеле полос с определёнными молекулярными колебаниями отсутствует. Но это естественно, поскольку практически все КР-измерения проводились в сухих образцах.

Таким образом, в КР-спектрах гидрогеля пектина малой концентрации (2%) обнаружено пропадание или ослабление некоторых линий, присутствующих в спектрах сухих образцов, и появление линий, отсутствующих в спектрах сухих образцов, а также появление широкой мощной полосы люминесценции в гидрогеле. Это заставляет предположить образование в гидрогеле комплексов, состоящих из звеньев пектин–вода–пектин, наличие которых обусловлено появлением в пектиновом гидрогеле водородных связей пектин–вода. Кроме того, это указывает на то, что спектроскопия гидрогелей может дать дополнительную информацию по сравнению со спектроскопией сухих образцов.

Следует также заметить, что при КР-исследованиях пектиновых гидрогелей можно, по-видимому, подобрать такую длину волны возбуждающего излучения, при которой

люминесценция не возбуждается, однако комплексы пектин–вода при этом из гидрогеля не исчезнут. Наличие в гидрогеле пектина таких комплексов следует, по-видимому, учитывать при практических применениях гидрогелей в медицине или пищевой промышленности.

Л И Т Е Р А Т У Р А

[1] C. Camerlingo, F. Zenone, I. Delfino, et al., Sensors **7**, 2049 (2007). DOI: 10.3390/s7102049.

[2] Н. Д. Олтаржевская, М. А. Коровина, Г. Е. Кричевский и др., Журнал им. проф. Б. М. Костючёнка **6**(2), 24 (2019). DOI: 10.25199/2408-9613-2019-6-2-24-31, https://www.researchgate.net/publication/337709564_The_opportunities_of_using_ polysaccharides _for_the_wound_treatment [accessed Oct 16 2024].

[3] G. A. Davydova, L. L. Chaikov, N. N. Melnik, et al., Polymers **16**, 287 (2024). https://doi.org/10.3390/polym16020287.

[4] Phillip M. Wu, Ching Yi Chung, Yan Ruei Chen, et al., PNAS Nexus **1**, 1 (2022). https://doi.org/10.1093/pnasnexus/pgac127.

[5] A. Synytsya, J. Copikova, P. Matejka, V. Machovic, Carbohydrate Polymers **54**, 97 (2003). DOI: 10.1016/S0144-8617(03)00158-9.

[6] Hanne Winning, Nanna Viereck, Tina Salomonsen, et al., Carbohydrate Research **344**, 1833 (2009). DOI: 10.1016/j.carres.2008.10.015.

[7] M. Chylińska, M. Szymańska-Chargot, A. Zdunek, Carbohydrate Polymers **154**, 48 (2016). http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.07.121.

[8] Доступно в Интернете: https://www.renishaw.com/en/invia-confocal-raman-microscope-6260 (дата обращения: 10 апреля 2025 г.).

[9] K. Y. Tang, L. Jiang, J. C. C. Yeo, et al., International Journal of Biological Macromolecules **166**, 869 (2021). https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.10.243.

[10] С. В. Кривохижа, М. Р. Купов, А. Н. Лобанов и др., Краткие сообщения по физике ФИАН **49**(12), 69 (2022). DOI: 10.3103/S1068335622120053.

[11] L. L. Chaikov, M. N. Kirichenko, S. V. Krivokhizha, et al., Appl. Sci. **13**, 8563 (2023). https://doi.org/10.3390/app13158563, https://www.mdpi.com/journal/applsci.

[12] M. Mathlouthi, D. V. Luu, Carbohydr. Res. **78**, 225 (1980). DOI: 10.1016/0008-6215(80)90002-6.

[13] C. Camerlingo, M. Portaccio, R. Tate, et al., Sensors (Basel) **17**(4), 839 (2017). DOI: 10.3390/s17040839. PMID: 28398254; PMCID: PMC5422200.

[14] N. S. Said, I. F. Olawuyi, W. Y. Lee, Gels **9**, 732 (2023). https://doi.org/10.3390/gels9090732.

[15] L. Cao, W. Lua, A. Mata, et al., Carbohydrate Polymers **242**, 116389 (2020). https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116389.

[16] А. В. Крайский, Н. Н. Мельник, А. А. Крайский, Опт. и спектр. **128**(2), 195 (2020). DOI: 10.21883/OS.2020.02.48960.339-18.

[17] А. В. Крайский, А. А. Крайский, Опт. и спектр. **132**(10), 1019 (2024). DOI: 10.61011/ OS.2024.10.59415.7005-24.

Поступила в редакцию 18 февраля 2025 г.
После доработки 28 апреля 2025 г.
Принята к публикации 29 мая 2025 г.