

Синтез и исследование композитных материалов на основе яблочного пектина и катионов меди

Элмаддин И. Мамедов ¹	elik.mam@mail.ru	 0009-0004-1375-1054
Владимир А. Кольцов ²	kolcov.mich@mail.ru	 0000-0002-2841-6126
Елена Н. Калмыкова ¹	veter1407@rambler.ru	

1 Липецкий государственный технический университет, ул. Московская, 30, г. Липецк, 398055, Россия

2 Федеральный научный центр им. И.В. Мичурина, ул. Мичурина, 30, г. Мичуринск, 393774, Россия

Аннотация. В работе представлены результаты синтеза металлокомпозитных материалов на основе яблочного пектина и катионов двухвалентного металла – Cu^{2+} ; определения степени этерификации и содержания свободных карбоксильных групп исходного пектина методом кислотно-основного титрования, определения степени включения указанного катиона в полисахаридную макромолекулу методом ИК-спектроскопии, а также фунгицидной активности исходного пектина и медных комплексов в отношении *Penicillium sp.* По результатам титрования установлено, что яблочный пектин обладает высокой степенью этерификации ($\text{СЭ} = 50,7\%$) и низким содержанием карбоксильных групп ($\text{K}_c = 2,79\%$), что предполагает его низкую желеобразующую активность. Установлено, что увеличение концентрации соли выше $0,005 \text{ г-экв/л.}$ приводит к снижению доли получающегося водорастворимого комплекса. Оптимальное значение концентрации $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, при которой образуется наибольшая масса водорастворимого комплекса, составляет $0,005 \text{ г-экв/л.}$ По данным ИК-спектроскопии произведен расчет степени замещения катионов натрия на катионы меди, которая составила 18% . Показано, что исходный яблочный пектин не обладает фунгицидной активностью, в то время как медный комплекс на его основе способен подавлять рост культуры уже при действии 10 мкл вещества, а при увеличении объема до 50 мкл проявляется еще более активная фунгицидная активность медного комплекса.

Ключевые слова: пектин, металлокомплекс, степень замещения, ИК-спектроскопия, кислотно-основное титрование, противогрибковая активность.

Synthesis and study of composite materials based on apple pectin and copper cations

Elmaddin I. Mamedov ¹	elik.mam@mail.ru	 0009-0004-1375-1054
Vladimir A. Koltsov ²	kolcov.mich@mail.ru	 0000-0002-2841-6126
Elena N. Kalmykova ¹	veter1407@rambler.ru	

1 Lipetsk State Technical University, Moscovskaya Av., 30, Lipetsk, 398055, Russia

2 Federal Scientific Center. I.V. Michurin, Michurina Av., 30, Michurinsk, 393774, Russia

Abstract. The paper presents the results of synthesis the metal-composite materials based on apple pectin and divalent metal cations - Cu^{2+} ; determining the degree of esterification and the content of free carboxyl groups of the native pectin by acid-base titration, determining the degree of inclusion of the specified cation in the polysaccharide macromolecule and studying by IR spectroscopy and fungicidal activity of native pectin and copper complexes against *Penicillium sp.* According to the results of titration, it was found that apple pectin has a high degree of esterification ($\text{DE} = 50.7\%$) and a low content of carboxyl groups ($\text{K}_c = 2.79\%$), which suggests its low gelling activity. It was found that the increase in salt concentration is above 0.005 g-eq/l. leads to a decrease in the proportion of the resulting water-soluble complex. The optimal concentration of $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, at which the largest mass of the water-soluble complex is formed, is 0.005 g-eq/l. According to IR spectroscopy, the degree of substitution of sodium cations for copper cations was calculated, which amounted to 18% . It was shown that the native apple pectin does not have fungicidal activity, while the copper complex based on it is able to suppress the growth of the culture already under the action of $10 \mu\text{l}$ of the substance, and with an increase in volume to $50 \mu\text{l}$, an even more active fungicidal activity of the copper complex appears.

Keywords: pectin, metal complex, degree of substitution, IR spectroscopy, acid-base titration, antifungal activity.

Введение

В настоящее время разработка композитных материалов на основе полисахаридов с различными органическими и неорганическими наполнителями привлекает активное внимание исследователей различных областей естествознания. Химическая модификация этих природных биополимеров позволяет получить производные с новыми физико-химическими и биологическими свойствами, что

значительно расширяет рамки их практического применения в пищевой и фармацевтической промышленности, косметологии и медицине [1, 2].

Известно, что пектины являются эффективными биосорбентами, способными очищать организм от радионуклидов, метаболитов (глюкозы, холестерина), токсикантов и прочих низкомолекулярных биологически активных веществ.

Для цитирования

Мамедов Э.И., Кольцов В.А., Калмыкова Е.Н. Синтез и исследование композитных материалов на основе яблочного пектина и катионов меди // Вестник ВГУИТ. 2023. Т. 85. № 2. С. 247–255. doi:10.20914/2310-1202-2023-2-247-255

For citation

Mamedov E.I., Koltsov V.A., Kalmykova E.N. Synthesis and study of composite materials based on apple pectin and copper cations. Vestnik VGUIT [Proceedings of VSUET]. 2023. vol. 85. no. 2. pp. 247–255. (in Russian). doi:10.20914/2310-1202-2023-2-247-255

This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International License

Наряду с указанными свойствами этому классу биополимеров свойственно проявление противоязвенной, ранозаживляющей, иммуномодулирующей, антиоксидантной и противомикробной активности [3].

Другим активно развивающимся в последнее время направлением является использование этого класса биополимеров в качестве средства адресной доставки лекарственных препаратов с пролонгированным действием, а также матрикса для создания композитных материалов с заданными свойствами. Одним из направлений модификации является получение металлокомплексов на основе пектинов, выделенных из различных природных источников, с включением различных катионов (Ag^+ , Ni^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} , Fe^{2+} , Mg^{2+} , Zn^{2+}).

За последние 20 лет получение металлокомплексов на основе пектинов привлекает внимание российских и зарубежных ученых. Основные области исследований направлены на поиск новых путей синтеза; изучение физико-химических и биологических свойств.

К настоящему времени установлено, что комплексообразование повышает терапевтическую активность лигандов, снижает их токсичность. Кроме того, авторы отмечают, что терапевтический эффект комплексов (например, иммунологическая активность, детоксицирующее и радиозащитное действие) значительно выше по сравнению с исходным пектином. В работах [4, 5] приводятся результаты серии исследований, посвященных изучению комплексообразования пектиновых полисахаридов с макро- и микроэлементами (Fe^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} , Ca^{2+} , Zn^{2+} и Mn^{2+}) с целью получения новых водорастворимых форм, обладающих различными физиологическими свойствами.

Так, выраженными противоанемическими свойствами характеризуются пектаты железа, повышающие уровень гемоглобина и количество эритроцитов в крови, а также способствующие интенсивному восстановлению гематологических показателей после кровопотери [5]. Среди полученных авторами соединений обнаружено, что некоторые пектиновые комплексы, содержащие ионы кобальта и никеля, проявляют антимикробную активность [6].

В работе [7] авторы сообщают о результатах синтеза комплексов на основе яблочного пектина различной степени этерификации с катионами меди. С помощью метода спектрофотометрии показано, что пектин образует с катионами меди комплексы состава 2:1. Методом ИК-спектроскопии установлено, что координационное взаимодействие пектинов с катионами Cu^{2+} происходит не только за счет карбоксильных

групп, но и гидроксильных групп пектиновой матрицы. Методом совмещенного термического анализа (термогравиметрия – дифференциальная сканирующая калориметрия) показана более высокая термическая стабильность пектиновых металлокомплексов по сравнению с исходным пектином.

В работе [8] представлены результаты синтеза комплексов на основе яблочного пектина и ионов серебра. При сопоставлении данных ИК-спектроскопии исходного и модифицированного пектина авторы отмечают незначительные различия между ними. Авторами указано, что полученные комплексы могут быть рекомендованы в качестве бактерицидного средства при лечении инфекционных заболеваний слизистых оболочек (носа, зева).

Среди других композитных материалов на основе пектинов в последние годы внимание исследователей привлекает катион Mg^{2+} [9]. Создание фармацевтических препаратов на основе полисахаридных комплексов магния расширяет перспективу их более широкого практического применения не только в качестве средств антистрессового действия, но и для лечения кардиологических заболеваний, а также регуляции метаболических процессов и активации ферментативных реакций. Общей особенностью этих препаратов является отсутствие побочных эффектов при приеме. В статье также предложен двустадийный способ получения металлокомплексов, обеспечивающих максимальный выход; дана оценка физико-химических свойств и иммуномодулирующей активности пектата магния. В статье также отмечается, что комплексы на основе пектата и пектината натрия являются источниками незаменимых макроминералов (магния и натрия) в биодоступной (водорастворимой) форме, которые оказывают стимулирующее воздействие на иммунную систему. Преимуществами этих соединений авторы указывают отсутствие ulcerогенного (раздражающего) воздействия на желудочно-кишечный тракт и хорошую растворимость в воде, что повышает активность их метаболизма.

В зарубежной литературе также имеются сведения о пектиновых металлокомплексах. Например, в статье [10] авторы сообщают о результатах синтеза комплексов на основе яблочного пектина и ионов железа (III), изучении физико-химических свойств и биологической активности. В работах [11–16] авторами приведены сведения о получении композитных материалов на основе пектинов с катионами серебра, меди, платины, палладия, селена и цинка и указана информация об их противовоспалительных, антиоксидантных и антимикробных свойствах.

Цель работы – получение водорастворимых комплексов с катионами меди на основе яблочного пектина, определение степени этерификации и содержания свободных карбоксильных групп исходного пектина методом кислотно-основного титрования, определение степени включения катионов меди в полисахаридную макромолекулу методом ИК-спектроскопии и исследование противогрибковой активности полученных комплексов.

Материалы и методы

В качестве объекта исследования был выбран полисахарид растительного происхождения – яблочный пектин торговой марки «С. Пудовъ», Россия.

Основные реактивы, используемые в работе: гидроксид натрия NaOH 0,1 н.; медь сернокислая 5-водная ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$), ч.; концентрированная соляная кислота (HCl), х.ч.; бромтимоловый синий ($\text{C}_{27}\text{H}_{28}\text{Br}_2\text{O}_5\text{S}$), 0,4%, ч.д.а.; красный крезол ($\text{C}_{21}\text{H}_{18}\text{O}_5\text{S}$) 0,4%, ч.д.а.; красного фенол ($\text{C}_{19}\text{H}_{14}\text{O}_5\text{S}_1$), 0,4%, ч.д.а.; этанол ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$), 96%, х.ч.; глюкоза ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$), ч.; натрий азотнокислый (NaNO_3), ч.; калий фосфорнокислый однозамещенный (KH_2PO_4), ч.; магний сернокислый 7-водный ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), ч.; калий хлористый (KCl), ч.; вода дистиллированная; агар-агар.

Приборы и оборудование: аналитические весы Госметр ВЛ-210, магнитная мешалка с подогревом ММ-5, настольная центрифуга ЦЛН-2, ИК-Фурье спектрометр IRAffinity-1, термостат UT-4612.

Степень этерификации и содержание свободных карбоксильных групп исходного пектина определяли в соответствии с методикой в работе [17]. Метод основан на титриметрическом определении свободных и, после омыления, этерифицированных карбоксильных групп полигалактуроновой кислоты в выделенном пектине. Исходный пектин растворяли в дистиллированной воде. Для лучшего растворения пектин можно смочить этиловым спиртом. Отбирали часть от общего объема и нагревали до 40 °С. Колбу плотно закрывали и взбалтывали до полного растворения пектина. Пробу титровали раствором NaOH (0,1 Н) в присутствии смешанного индикатора Хинтона. В раствор добавляли 6 капель индикатора и титровали до тех пор, пока, не появилось тёмно-розовое окрашивание, которое не исчезало в течение 1 минуты. Учитывали объем израсходованного раствора NaOH, приливали 50 мл того же раствора NaOH, закрывали колбу и оставляли на 3 ч для омыления этерифицированных карбоксильных групп. После в раствор добавляли

50 мл раствора соляной кислоты HCl и вновь оттитровывали раствором NaOH.

Степень этерификации СЭ, %, пектина вычисляли по формуле (1):

$$\text{СЭ} = \frac{V_2}{V_1 + V_2} \cdot 100\% \quad (1)$$

где V_1 – объем раствора гидроксида натрия 0,1 Н, используемого на первое титрование, мл; V_2 – объем раствора гидроксида натрия 0,1 Н, используемого на второе титрование, мл.

Содержание свободных карбоксильных групп K_c , %, определяли по формуле (2):

$$K_c = \frac{V_1 \cdot 0,45}{p} \quad (2)$$

где V_1 – объем 0,1 Н раствора гидроксида натрия, используемого на первое титрование, мл; p – навеска пектина, г.

Синтез пектиновых металлокомплексов осуществляли по методике, предложенной авторами в работе [18]. Навеску пектина (0,6 г) растворяли в 30 мл воды для получения 2%-ного раствора и перемешивали в течение 2-х часов на магнитной мешалке при температуре 55–60 °С. Далее в перемешиваемую суспензию добавляли 0,1 н. раствор NaOH до pH = 9 и перемешивали 2 часа для получения пектата натрия. Затем добавляли водный раствор соли двухвалентного металла ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) и оставляли перемешивать 30 минут. Далее целевой продукт осаждали двукратным объемом этанола, центрифугировали и сушили.

ИК-спектры полученных комплексов регистрировали с помощью ИК-Фурье спектрометра IRAffinity-1 в диапазоне длин волн 4000–400 cm^{-1} . Для снятия ИК-спектров в виде тонких пленок пробы высушивали непосредственно на монокристалле кремния в сушильном шкафу при 50 °С. Затем пластинку кремния с нанесенным образцом помещали в прибор и регистрировали полученный спектр.

Расчет степени замещения катионов натрия на катионы меди в медных комплексах осуществлялся по ИК-спектрам пектата натрия и целевых комплексов по отношению интенсивностей полос пропускания карбоксианиона (COO^-) в спектре пектата натрия в области 1604 cm^{-1} , и в спектре медного комплекса в области 1603 cm^{-1} по формуле (3):

$$\text{СЗ} = \left(1 - \frac{B}{A} \right) \cdot 100\% \quad (3)$$

где B – интенсивность полосы пропускания карбоксианиона в металлокомплексе; A – интенсивность полосы пропускания карбоксианиона в пектате натрия.

Противогрибковый эффект исходного пектина и пектиновых комплексов с катионами меди определяли с использованием грибковой культуры *Penicillium sp.*, полученной в биологической лаборатории отдела токсикологии и микологии ОГБУ «Липецкая областная ветеринарная лаборатория», г. Липецк.

Для приготовления питательной среды брали 20–30 г. сухого порошка агара Чапека, заливали его 1000 мл водопроводной воды и вымачивали 2 ч при комнатной температуре. Воду сливали и измеряют ее объем для определения количества воды, впитавшейся агаром. Затем агар промывают 2–3 раза дистиллированной водой. Взвешивают остальные компоненты среды и растворяют их в таком объеме дистиллированной воды, который составляла слитая при вымачивании агара. К полученному раствору добавляют отмытый агар-агар, после чего варят среду в автоклаве текучим паром в течение 1 ч. Полученную среду фильтровали, разливали по колбам и стерилизовали в автоклаве при

давлении 0,05 МПа в течение 20 мин; pH питательной среды составлял в пределах 6,0–6,8.

Выращивание микроорганизмов осуществляли путем помещения в центр чашки Петри с агаровым гелем образец тонкого среза предварительно выращенной грибковой культуры размером 2 х 2 мм и выдерживали в термостате при 37 °С в течение 3÷4 суток.

В качестве фунгицидных препаратов использовали исходный и модифицированный полисахарид. Растворы ингибиторов готовили по вышеописанной методике, но с использованием 5% концентрации пектина. Объем пробы раствора ингибитора варьировали в диапазоне 10÷50 мкл. Ингибирующий эффект регистрировали через 3÷7 дней.

Результаты и обсуждение

Из литературных данных известно, что структура повторяющегося звена яблочного пектина представляет собой рамногалактуронан с чередующимися 1,2 и 1,4 связями, рисунок 1 [19].



Рисунок 1. Химическая структура яблочного пектина
Figure 1. Chemical structure of apple pectin

Информация о наличии эфирных групп в яблочном пектине носит разноречивый характер в литературных источниках указываются значения 10, 34 и 66% [7], поэтому нами было проведено титриметрическое определение свободных карбоксильных и ОМе-групп. Процесс титрования включает использование титранта NaOH и смешанного индикатора Хинтона, который меняет свой цвет на темно-розовый вблизи точки эквивалентности. Для исследования брали растворы полисахаридов одинаковой концентрации. На первом этапе титрования раствором NaOH определяется количество свободных карбоксильных групп. На втором этапе обработкой избытком той же щелочи осуществляется снятие эфирных групп и увеличение количества карбоксильных групп. Далее добавляли соляную кислоту с целью нейтрализации щелочи, вызывающей омыление эфирных групп. Для проведения расчетов брали среднее значение объема раствора щелочи – NaOH, который пошел на каждый этап титрования. По формуле (1) рассчитана степень этерификации пектиновых веществ, которая составила 50,7% ($V_1 = 6,2$ мл, $V_2 = 6,4$ мл). Полученные на первой стадии титрования (значение объема титранта V_1), используют для расчета определения содержания карбоксильных групп в соответствии с формулой (2), которое составило 2,79% ($V_1 = 6,2$ мл, $p = 1$ г).

По результатам титрования установлено, что яблочный пектин обладает высокой степенью этерификации ($CЭ = 50,7\%$) и низким содержанием карбоксильных групп ($K_c = 2,79\%$), что предполагает его низкую желирующую активность.

Существует разные способы получения пектиновых металлокомплексов [4–7]. Ранее было показано [20], что при низкой степени этерификации свободные COOH-группы конформационно сближаются, что приводит к повышению линейной плотности заряда макромолекулы и, следовательно, к возрастанию силы взаимодействия с катионами металлов. Наличие эфирных групп препятствует такому сближению, поэтому уменьшает степень включения катионов в пектиновый комплекс. В этой связи авторами был предложен двухстадийный способ получения металлокомплексов, который включал стадию щелочного гидролиза полисахарида для удаления ОМе-групп галактуроновых звеньев с последующим образованием пектата натрия.

Важным фактором, который учитывался при синтезе пектиновых металлокомплексов, является температура [18]. Нами было также исследовано влияние температуры в диапазоне 25 ÷ 60 °С на эффективность деэтерификации яблочного пектина. Методом кислотно-основного титрования подтверждено отсутствие ОМе-групп после обработки щелочью при 60 °С.

Действие щелочи при комнатной температуре обеспечивает лишь частичную деэтерификацию пектиновой макромолекулы, не превышающую 30%, что, соответственно,

приводит к снижению степени включения катионов двухвалентных металлов в полисахаридную цепь, рисунок 2.

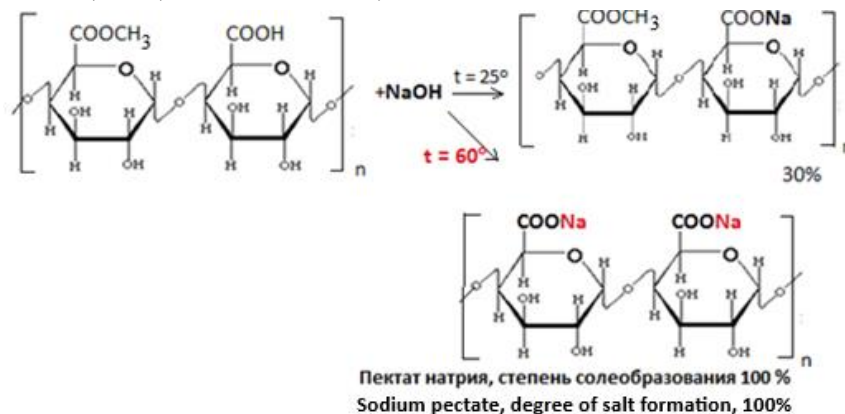


Рисунок 2. Образование частично или полностью деэтерифицированного пектата натрия
Figure 2. Formation of partially or fully de-esterified sodium pectate

В литературных источниках содержатся сведения о значительно более высокой степени усвояемости биогенных элементов (например, цинка [21, 22]) в организме в виде хелатных комплексов на основе белков по сравнению с раствором неорганической соли при той же концентрации катиона металла.

Полисахариды, имеющие большое число полярных гидроксильных, карбоксильных и метоксильных групп, характеризуются достаточно сложной системой водородных связей, поэтому они также могут использоваться в качестве матрицы для образования хелатных комплексов, рисунок 3.

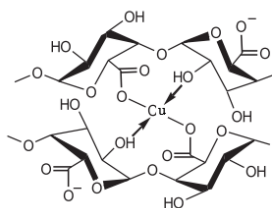


Рисунок 3. Схема металлокомплекса
Figure 3. Scheme of the metal complex

Следующим этапом получения биокм-плексов меди была обработка полигалактуроната натрия водным раствором сульфата меди. При этом могут образовываться как водорастворимые комплексы, так и нерастворимые (гели). Необходимость получения водорастворимых комплексов обусловлена их более высокой биологической активностью в метаболических реакциях, поэтому исследовано влияние концентрации соли (в диапазоне 0,0025 ÷ 0,015 г.-экв/л)

на получение биоусвояемых комплексов. Каждый образец, представляющего собой смесь различных по растворимости комплексов, осаждали концентрированным этанолом, гелевую фракцию удаляли центрифугированием и определяли массу растворимого продукта после гравиметрическим методом. График зависимости выхода водорастворимого комплекса от концентрации представлен на рисунке 4.

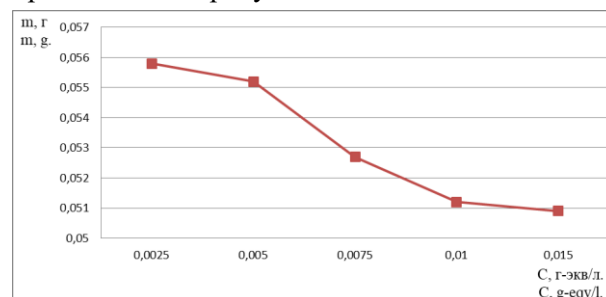


Рисунок 4. Зависимость выхода водорастворимых пектиновых металлокомплексов от концентрации сульфата меди

Figure 4. Dependence of the yield of water-soluble pectin metal complexes on the concentration of copper sulfate

Установлено, что увеличение концентрации соли выше 0,005 г.-экв/л. приводит к снижению доли получающегося водорастворимого комплекса. Оптимальное значение концентрации $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, при которой образуется наибольшая масса водорастворимого комплекса, составляет 0,005 г.-экв/л (выход металлокомплекса = 87%).

В таблице 1 представлены основные характеристические частоты сигналов ИК-спектров яблочного пектина, пектата натрия и пектинового комплекса с катионами Cu^{2+} .

Таблица 1.

Основные характеристические частоты ИК спектров (в см^{-1}) яблочного пектина, пектата натрия и пектинового комплекса с катионами Cu^{2+}

Table 1.

Main characteristic frequencies of IR spectra (см^{-1}) of apple pectin, sodium pectate and pectin complex with Cu^{2+} cations

Типы колебаний Type of vibrations	Яблочный пектин Apple pectin	Пектат натрия Sodium pectate	ПГNaCu PGNaCu
$\nu(\text{OH})_{\text{C}}, \nu(\text{H}_2\text{O})$	3385	3372	3370
$\nu(\text{CH})_{\text{E}}, \nu(\text{CH})_{\text{K}}$	2932	2928	2928
$\nu(\text{C}=\text{O})_{\text{E}}, \nu(\text{C}=\text{O})_{\text{A}}$	1744	—	—
$\nu(\text{COO}-)$	—	1604	1603
$\delta(\text{H}_2\text{O})$	1627	—	—
$\nu, \delta(\text{C-OH})_{\text{A}}$	—	1412	1414
$\delta_{\text{s}}(\text{CH}_3)_{\text{E}}$	1424	—	—
$\delta(\text{CH}_3)_{\text{K}}$	1317	1323	1325
$\nu(\text{C-O-C})$	—	—	1136
$\nu(\text{C-C})(\text{C-O})_{\text{K}}$	1099, 1010	1117, 1005	1001
Пульсационные колебания пиранозных колец Pulsating vibrations of pyranose rings	836, 729, 624, 572, 522	820, 754, 633, 525	820, 756, 633, 527

Во всех спектрах обнаружены сигналы функциональных групп $\nu(\text{OH})_{\text{C}}$ (3385 см^{-1}), $\nu(\text{CH})_{\text{E}}$ и $\nu(\text{CH})_{\text{K}}$ (2932 см^{-1}), $\nu(\text{C}=\text{O})_{\text{E}}$ и $\nu(\text{C}=\text{O})_{\text{A}}$ (1744 см^{-1}), пиранозный цикл ($836, 729, 624, 572, 522 \text{ см}^{-1}$), характерные для пектина.

Контроль за эффективностью включения катионов Cu^{2+} проводили также методом ИК-спектроскопии, (рисунок 5). В ИК спектре пектата натрия исчезновение сигнала при 1744 см^{-1}

(валентные колебания карбониллов карбоксильных и сложноэфирных групп) свидетельствует о замещении протонов H^+ и сложноэфирных групп на ионы Na^+ . Усиление интенсивности полосы пропускания карбоксианиона в области 1604 см^{-1} свидетельствует об образовании солевой формы пектина. Следовательно, в результате синтеза получается комплекс состава: пектат-натрий-медь (ПГNaCu).

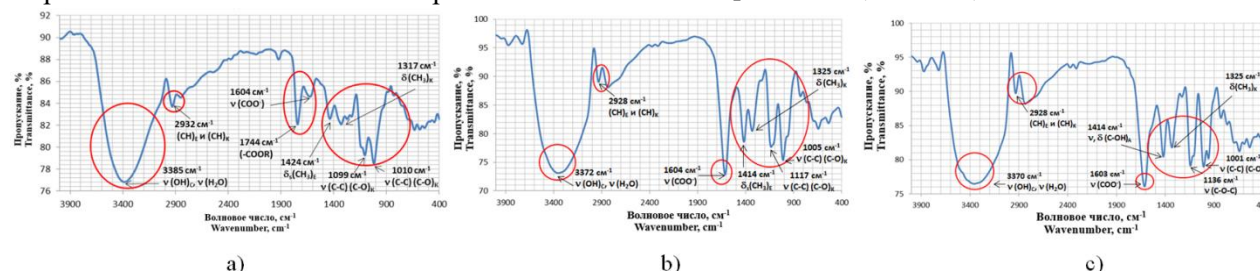


Рисунок 5. ИК-спектры: а) исходный пектин, б) пектат натрия, с) пектат-медный комплекс

Figure 5. IR spectra: a) native pectin, b) sodium pectate, c) pectate-copper complex

На рисунке 5 (с) представлен ИК-спектр комплекса ПГNaCu, который отличается не только от исходного пектина, но и от пектата натрия.

Смещение валентных колебаний гидроксильных групп пектина ($3600\text{--}3200 \text{ см}^{-1}$) в низкочастотную область на $12\text{--}15 \text{ см}^{-1}$ указывает на разрыв или ослабление водородных связей в результате образования координационных связей катионов металла с гидроксильными группами моносахаридов, рисунок 3. В области $1119\text{--}1136 \text{ см}^{-1}$ наблюдается смещение полосы пропускания валентных колебаний пиранозного цикла (C–O) на $1\text{--}17 \text{ см}^{-1}$, что обусловлено связыванием ионов металлов с кислородным атомом гидроксидов, что коррелирует с ранее опубликованными данными [7, 9]. Снижение интенсивности полосы пропускания при 1603 см^{-1} (сигнал карбоксильных групп) свидетельствует о замещении

ионов натрия катионами меди. Расчет степени замещения (СЗ) осуществлялся по формуле (3) и составил 18%.

Противогрибковую активность исследовали с использованием аэробной грибковой культуры рода *Penicillium*, вызывающей поражение кожи и паху носа. Характеристику противогрибкового действия полисахаридных препаратов осуществляли по регистрации ингибирования роста грибковых культур при действии на них водных растворов исходного пектина и медного комплекса. Для ингибирования использовали водные 3% растворы различных объемов (10 и 50 мкл), которые наносили в чашку Петри на поверхность свежесформированных колоний грибковой культуры. При этом установлено, что добавление 50 мкл раствора комплекса оказывает более выраженный ингибирующий эффект, рисунок 6.

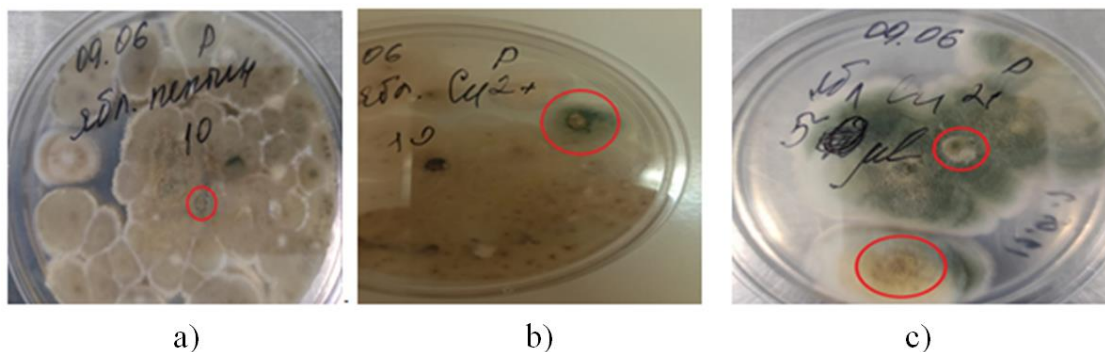


Рисунок 6. Ингибирование исходным пектином и пектиновым комплексом роста грибковой культуры *Penicillium sp.*: а) исходный пектин, б) медный комплекс 10 мкл., с) медный комплекс 50 мкл

Figure 6. Inhibition of growth of fungal culture *Penicillium sp.* by the native pectin and the pectin complex: a) native pectin, b) pectate-copper complex 10 μ l, c) pectate-copper complex 50 μ l

С каждым образцом эксперимент проводили в 3-х повторях. Посевы выдерживали от 3 до 7 суток при температуре 25 °С. За положительный противогрибковый результат принималась концентрация препарата в среде, при которой отсутствовал видимый рост культуры.

Исходный яблочный пектин не показал противогрибковой активности (рисунок 6а), о чем свидетельствует отсутствие ореола распространения капли нанесенного раствора на поверхность грибковой культуры.

Медный комплекс продемонстрировал подавление роста грибов уже при нанесении 10 мкл препарата, что подтверждается образованием четкого ореола по границе диффузии раствора медного комплекса (рисунок 6б). Увеличение объема ингибитора (две точки по 50 мкл, рисунок 6с) демонстрирует более активное угнетение роста *Penicillium sp.*, на что указывает не только присутствие ореола нанесенной капли, но и изменение цвета внутри зоны задержки роста, а также увеличение диаметра зоны в 1,5–2 раза.

Заключение

В ходе выполненной работы получены металлокомплексы на основе яблочного пектина и катионов меди с выходом 87%.

Методом кислотно-основного титрования определена степень этерификации ($CЭ = 65,5\%$) и содержание свободных карбоксильных групп яблочного пектина $K_c = 2,61\%$.

Установлено, что оптимальная концентрация сульфата меди для получения водорастворимых комплексов составляет $C_n = 0,005$ г.-экв/л.

Метод ИК-спектроскопии позволил подтвердить включение катионов натрия по смещению и изменению интенсивности сигналов исходного пектина. Методом ИК-спектроскопии определена степень замещения катионов натрия на катионы меди ($CЗ = 18\%$).

При исследовании противогрибковой активности определен оптимальный объем раствора металлокомплекса (50 мкл), необходимый для регистрации ингибирующей активности грибковой культуры *Penicillium sp.* Показано, что исходный яблочный пектин не обладает фунгицидной активностью, в то время как медный комплекс на его основе способен подавлять рост культуры уже при действии 10 мкл, а при увеличении его объема до 50 мкл происходит не только расширение зоны воздействия ингибитора в 1,5–2 раза, но и изменение цвета внутри диска задержки роста, что может указывать на гибель грибковых гифов.

Полученные результаты открывают перспективу практического применения пектиновых комплексов с ионами меди для создания противогрибковых мазей, гелей, пластырей с пролонгированным антимикробным действием.

Благодарности

Авторы выражают благодарность директору и сотрудникам отдела токсикологии и микологии ОГБУ «Липецкая областная ветеринарная лаборатория» за предоставленную возможность проведения микробиологических исследований.

Литература

- 1 Bush P.L. Pectin: Chemical Properties, Uses and Health Benefits. New York: Nova Science Publishers, 2014. 268 p.
- 2 Kuzmann E., Garg V., Oliveira A., Klencsár Z. et al. Mössbauer study of the effect of pH on Fe valence in iron-polygalacturonate as a medicine for human anaemia // Radiation Physics and Chemistry. 2015. V. 107. P. 195–198.
- 3 Lara-Espinoza C., Carvajal-Millán E., Balandrán-Quintana R., López-Franco Y. et al. Pectin and Pectin-Based Composite Materials: Beyond Food Texture // Molecules. 2018. V. 23. P. 942.

- 4 Minzanova S.T., Mironov V.F., Vyshtakalyuk A.B., Tsepaeva O.V. et al. Complexation of pectin with macro – and microelements. Antianemic activity of Na, Fe and Na, Ca, Fe complexes // *Carbohydrate Polymers*. 2015. V. 134. P. 524–533.
- 5 Minzanova S.T., Mironov V.F., Mironova L.G., Nemtarev A.V. et al. Synthesis, properties, and antianemic activity of new metal complexes of sodium pectinate with iron and calcium // *Russian Chemical Bulletin*. 2019. V. 68. № 1. P. 48–54.
- 6 Minzanova S.T., Mironov V.F., Mironova L.G., Nizameev I.R. et al. Synthesis, properties, and antimicrobial activity of pectin complexes with cobalt and nickel // *Chemistry of Natural Compounds*. 2016. V. 52. P. 26–31.
- 7 Мударисова Р.Х., Куковинец О.С., Колесов С.В., Глазырин А.Б. Металлокомплексы низкометоксилированных пектинов с ионами меди(II) // *Вестник Башкирского университета*. 2021. Т. 26. № 1. С. 40–46.
- 8 Михеева Л.А., Тры А.В. Выделение пектина из растительного сырья и изучение его некоторых химических свойств // *Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация*. 2013. № 2. С. 53–56.
- 9 Minzanova S.T., Mironov V.F., Khabibullina A.V., Arkhipova D.M. et al. New metal complexes of citrus pectin with magnesium ions: synthesis, properties, and immunomodulatory activity // *Russian Chemical Bulletin, International Edition*. 2021. V. 70. № 3. P. 433–443.
- 10 Xuemei M., Jing J., Yu J., Wang J. et al. Synthesis and Characterization of a Novel Apple Pectin–Fe(III) Complex // *ACS Omega*. 2021. V. 1. № 2. P. 1391–1399.
- 11 Nemiwal M., Zhang T., Kumar D. Pectin modified metal nanoparticles and their application in property modification of biosensors // *Carbohydrate Polymer Technologies and Applications*. 2021. V. 2. P. 100164.
- 12 Al-Muhanna M.K.A., Hileuskaya K.S., Kulikouskaya V.I., Kraskouski A.N. et al. Preparation of stable sols of silver nanoparticles in aqueous pectin solutions and properties of the sols // *Colloid Journal*. 2015. V. 77. №. 6. P. 683–690.
- 13 Venkatakrishnan S., Veerappan G., Elamparuthi E., Veerappan A. Aerobic synthesis of biocompatible copper nanoparticles: promising antibacterial agent and catalyst for nitroaromatic reduction and C–N cross coupling reaction // *RSC Advances*. 2014. V. 4. № 29. P. 15003–15006.
- 14 Baran T. Pd(0) nanocatalyst stabilized on a novel agar/pectin composite and its catalytic activity in the synthesis of biphenyl compounds by Suzuki-Miyaura cross coupling reaction and reduction of o-nitroaniline // *Carbohydrate Polymers*. 2018. V. 195. P. 45–52.
- 15 Qiu W.Y., Wang Y.Y., Wang M., Yan, J.K. Construction, stability, and enhanced antioxidant activity of pectin-decorated selenium nanoparticles // *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2018. V. 170. P. 692–700.
- 16 Pomwilard M.-M., Somchue W., Shiowatana J., Siripinyanond A. Flow field-flow fractionation for particle size characterization of selenium nanoparticles incubated in gastrointestinal conditions // *Food Research International*. 2014. V. 57. P. 203–209.
- 17 Клебанова Н.А., Тарасова А.В., Седакова В.А., Клебанов А.В. Титриметрическое определение карбоксильных групп продуктов ферментации высоко- и низкоэтерифицированных пектинов // *Проблемы устойчивого развития регионов Республики Беларусь и сопредельных стран: сборник научных статей XI Международной научно-практической интернет-конференции. Могилев, 2022. С. 5–8.*
- 18 Минзанова С.Т., Архипова Д.М., Хабибуллина А.В., Миронова Л.Г. и др. Получение новых металлокомплексов пектината натрия с ионами кобальта и никеля и их антимикробная активность // *Доклады академии наук*. 2019. Т. 487. № 5. С. 511–514.
- 19 Wu X., Mort A. Structure of a Rhamnogalacturonan Fragment from Apple Pectin: Implications for Pectin Architecture // *International Journal of Carbohydrate Chemistry*. 2014. P. 1–6.
- 20 Миронов В.Ф., Карасева А.Н., Цепяева О.В., Выштакалюк А.Б. и др. Некоторые новые аспекты комплексообразования пектиновых полисахаридов с катионами d-металлов // *Химия и компьютерное моделирование. Бутлеровские сообщения*. 2003. № 3. С.45–50.
- 21 Gupta M., Mahajan V., Mehta K., Chauhan P. Zinc Therapy in Dermatology: A Review // *Dermatology Research and Practice*. 2014. P. 1–12.
- 22 Миронов В.Ф., Карасева А.Н., Выштакалюк А.Б., Минзанова С.Т. и др. Водорастворимые цинк- и никельсодержащие металлокомплексы пектиновых полисахаридов. Биологическая активность цинковых металлокомплексов // *Химия и компьютерное моделирование. Бутлеровские сообщения*. 2004. Т. 5. № 3. С. 36–38.

References

- 1 Bush P.L. Pectin: Chemical Properties, Uses and Health Benefits. New York, Nova Science Publishers, 2014. pp 268.
- 2 Kuzmann E., Garg V., Oliveira A., Klencsár Z. et al. Mössbauer study of the effect of pH on Fe valence in iron-polygalacturonate as a medicine for human anaemia. *Radiation Physics and Chemistry*. 2015. vol. 107. pp. 195–198.
- 3 Lara-Espinoza C., Carvajal-Millán E., Balandrán-Quintana R., López-Franco Y. et al. Pectin and Pectin-Based Composite Materials: Beyond Food Texture. *Molecules*. 2018. vol. 23. pp. 942.
- 4 Minzanova S.T., Mironov V.F., Vyshtakalyuk A.B., Tsepaeva O.V. et al. Complexation of pectin with macro – and microelements. Antianemic activity of Na, Fe and Na, Ca, Fe complexes. *Carbohydrate Polymers*. 2015. vol. 134. pp. 524–533.
- 5 Minzanova S.T., Mironov V.F., Mironova L.G., Nemtarev A.V. et al. Synthesis, properties, and antianemic activity of new metal complexes of sodium pectinate with iron and calcium. *Russian Chemical Bulletin*. 2019. vol. 68. no 1. pp. 48–54.
- 6 Minzanova S.T., Mironov V.F., Mironova L.G., Nizameev I.R. et al. Synthesis, properties, and antimicrobial activity of pectin complexes with cobalt and nickel. *Chemistry of Natural Compounds*. 2016. vol. 52. pp. 26–31.
- 7 Мударисова Р.Х., Куковинетс О.С., Колесов С.В., Глазырин А.Б. Metal complexes of low-methoxylated pectins with copper(II) ions. *Bulletin of the Bashkir University*. 2021. vol. 26. no. 1. pp. 40–46. (in Russian).
- 8 Mikheeva L.A., Try A.V. Isolation of pectin from vegetable raw materials and the study of some of its chemical properties. *Bulletin of the Voronezh State University. Series: Chemistry. Biology. Pharmacy*. 2013. no. 2. pp. 53–56. (in Russian).
- 9 Minzanova S.T., Mironov V.F., Khabibullina A.V., Arkhipova D.M. et al. New metal complexes of citrus pectin with magnesium ions: synthesis, properties, and immunomodulatory activity. *Russian Chemical Bulletin, International Edition*. 2021. vol. 70. no 3. pp. 433–443.

- 10 Xuemei M., Jing J., Yu J., Wang J. et al. Synthesis and Characterization of a Novel Apple Pectin–Fe(III) Complex. *ACS Omega*. 2021. vol. 1. no. 2. pp. 1391–1399.
- 11 Nemiwal M., Zhang T., Kumar D. Pectin modified metal nanoparticles and their application in property modification of biosensors. *Carbohydrate Polymer Technologies and Applications*. 2021. vol. 2. pp. 100164.
- 12 Al-Muhanna M.K.A., Hileuskaya K.S., Kulikouskaya V.I., Kraskouski A.N. et al. Preparation of stable sols of silver nanoparticles in aqueous pectin solutions and properties of the sols. *Colloid Journal*. 2015. vol. 77. no. 6. pp. 683–690.
- 13 Venkatakrishnan S., Veerappan G., Elamparuthi E., Veerappan A. Aerobic synthesis of biocompatible copper nanoparticles: promising antibacterial agent and catalyst for nitroaromatic reduction and C–N cross coupling reaction. *RSC Advances*. 2014. vol. 4. no. 29. pp. 15003–15006.
- 14 Baran T. Pd(0) nanocatalyst stabilized on a novel agar/pectin composite and its catalytic activity in the synthesis of biphenyl compounds by Suzuki–Miyaura cross coupling reaction and reduction of o-nitroaniline. *Carbohydrate Polymers*. 2018. vol. 195. pp. 45–52.
- 15 Qiu W.Y., Wang Y.Y., Wang M., Yan J.K. Construction, stability, and enhanced antioxidant activity of pectin-decorated selenium nanoparticles. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2018. vol. 170. pp. 692–700.
- 16 Pomwilard M.-M., Somchue W., Shiowatana J., Siripinyanond A. Flow field-flow fractionation for particle size characterization of selenium nanoparticles incubated in gastrointestinal conditions. *Food Research International*. 2014. vol. 57. pp. 203–209.
- 17 Klebanova N.A., Tarasova A.V., Sedakova V.A., Klebanov A.V. Titrimetric determination of carboxyl groups of fermentation products of high – and low-esterified pectins. Problems of sustainable development of regions of the Republic of Belarus and neighboring countries: collection of scientific articles of the XI International Scientific and Practical Internet Conference. Mogilev. 2022. pp. 5–8. (in Russian).
- 18 Minzanova S.T., Arkhipova D.M., Khabibullina A.V., Mironova L.G. et al. Preparation of new metal complexes of sodium pectinate with cobalt and nickel ions and their antimicrobial activity. *Reports of the Academy of Sciences*. 2019. vol. 487. no. 5. pp. 511–514. (in Russian).
- 19 Wu X., Mort A. Structure of a Rhamnogalacturonan Fragment from Apple Pectin: Implications for Pectin Architecture. *International Journal of Carbohydrate Chemistry*. 2014. pp. 1–6.
- 20 Mironov V.F., Karaseva A.N., Tsepaeva O.V., Vyshtakalyuk A.B. et al. Some new aspects of complex formation of pectin polysaccharides with d-metal cations. *Chemistry and Computer Modeling. Butler messages*. 2003. no. 3. pp. 45–50. (in Russian).
- 21 Gupta M., Mahajan V., Mehta K., Chauhan P. Zinc Therapy in Dermatology: A Review. *Dermatology Research and Practice*. 2014. pp. 1–12.
- 22 Mironov V.F., Karaseva A.N., Vyshtakalyuk A.B., Minzanova S.T. et al. Water-soluble zinc – and nickel-containing metal complexes of pectin polysaccharides. Biological activity of zinc metal complexes. *Chemistry and computer modeling. Butler messages*. 2004. vol. 5. no. 3. pp. 36–38. (in Russian).

Сведения об авторах

Элмaddin И. Мамедов аспирант, кафедра физического металловедения, Липецкий государственный технический университет, ул. Московская, 30, г. Липецк, 398055, Россия, elik.mam@mail.ru

 <https://orcid.org/0009-0004-1375-1054>

Владимир А. Кольцов канд. с.-х. наук, старший научный сотрудник, лаборатория передовых послеуборочных технологий, Федеральный научный центр им. И.В. Мичурина, ул. Мичурина, 30, г. Мичуринск, 393774, Россия, kolcov.mich@mail.ru

 <https://orcid.org/0000-0002-2841-6126>

Елена Н. Калмыкова д-р хим. наук, доцент, кафедра химии, Липецкий государственный технический университет, ул. Московская, 30, г. Липецк, 398055, Россия, veter1407@rambler.ru

Вклад авторов

Элмaddin И. Мамедов обзор литературных источников по исследуемой проблеме, проведение эксперимента, выполнение расчётов, несет ответственность за плагиат

Владимир А. Кольцов консультация в ходе исследования

Елена Н. Калмыкова консультация в ходе исследования, написание рукописи, корректировка её до подачи в редакцию

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Information about authors

Elmaddin I. Mamedov graduate student, physical metallurgy department, Lipetsk State Technical University, Moskovskaya Av., 30, Lipetsk, 398055, Russia, elik.mam@mail.ru

 <https://orcid.org/0009-0004-1375-1054>

Vladimir A. Koltsov Cand. Sci. (Agric.), senior researcher, laboratory of advanced post-harvest technologies, Federal Scientific Center. I.V. Michurin, Michurina Av., 30, Lipetsk, 393774, Russia, kolcov.mich@mail.ru

 <https://orcid.org/0000-0002-2841-6126>

Elena N. Kalmykova Dr. Sci. (Chem.), associate professor, chemistry department, Lipetsk State Technical University, Moskovskaya Av., 30, Lipetsk, 398055, Russia, veter1407@rambler.ru

Contribution

Elmaddin I. Mamedov review of the literature on an investigated problem, conducted an experiment, performed computations, responsible for plagiarism

Vladimir A. Koltsov consultation during the study

Elena N. Kalmykova consultation during the study, wrote the manuscript, correct it before filing in editing

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

Поступила 04/04/2023	После редакции 28/04/2023	Принята в печать 01/06/2023
Received 04/04/2023	Accepted in revised 28/04/2023	Accepted 01/06/2023