Ажибаева З.С.

УГЛЕВОДЫ И СВОЙСТВА ОЛИГО- И ПОЛИСАХАРИДОВ ИЗ ACANTOPHYLLUM SUBGLABRUM

Z.S. Ajibaeva

CARBOHYDRATES AND PROPERTIES OF OLIGO- AND POLYSACCHARIDES FROM THE ACANTOPHYLLUM SUBGLABRUME

УДК: 547.917.

В статье рассматривается углеводный состав растений Acantophyllum subglabrume и свойства олигосахаридов и пектиновых веществ.

In article the carbohydrate structure of plants Acantophyllum subglabrume both properties oligosaccharides andpectinaceous substances is considered.

Обсуждение результатов

A. subglabrum - многолетнее растение, широко распространенное по всей территории Кыргызстана, произрастает на сухих склонах предгорий, пастбищах, сенокосах и шлейфах гор, считается сорняком.

В настоящее время углеводам, выделенным из экологогически чистого сырья, уделяется все большее внимание. Поэтому поиск новых растительных источников с высоким содержанием углеводов и выделение из них физиологически активных веществ в индивидуальном виде, а также изучение их физико-химических свойств является одной из актуальных проблем.

Растения рода Acantophyllum известны как сапонинсодержащие растения и заготавливаются они под названием "мыльного корня" [1]. Выделенные из них углеводы и их свойства еще недостаточно изучены.

Объектом нашего исследования является растение Subglabrum, которое произрастает сплошными зарослями.

Ранее [1] нами было проведено изучение водорастворимых полисахаридов, содержащихся в растении Acantophyllum Subglabrum.

Настоящая работа посвящяна изучению содержания в растении углеводного состава в зависимости от периода вегетации в надземной и подземной части. Кроме того проводилось изучение свойств пектиновых веществ растения Acantophyllum Subglabrum.

Изучаемое сырье было собрано в Чуйской долине по периодам вегетации растений. Результаты количественного содерсания моно-, олиго- и полисахаридов представлены в таблице 1.

Таблица 1.

Количественное содержание моно-, олиго- и полисахаридов растений A. Subglabrum (к - корни, н/ч - надземная часть)

Исследуемая часть растений	Фаза развития	Редуцирующие сахара, %	Олиго-сахариды, %	Полисахариды, %
1	2	3	4	5
к	бутонизация	1,7	4,2	2,6
н/ч	-II-	1,3	3,7	0,7
к	цветение	1,3	4,0	6,4
н/ч	-II-	1,1	2,9	1,0
к	плодоношение	0,6	2,8	12,2
н/ч	-II-	0,4	1,4	1,1
к	отмирание	0,9	1,2	9,3
н/ч		0,2	0,6	1,0

Как видно из табл. 1, в растении A. Subglabrum углеводы обнаруживаются как на самых ранних стадиях развития, так и на протяжении всего вегетационного периода. По мере роста растения в корнях увеличивается содержание полисахаридов, достигая максимума 12,2 % в фазе плодоношения, а в надземной части содержание олигосахаридов достигает максимума 3,7% в фазе бутонизации.

Выяснив период, когда имеет место наиболее высокое содержание полисахаридов в наземной и подземной части, далее в работе мы использовали растения, заготовленные в период плодоношения, а так же в фазе бутонизации.

Таким образом, изучаемые нами растения можно рассматривать в качестве безотходного сырья.

Олигосахариды и пектиновые вещества выделялись нами по схеме, изложенной в работе [1].

Спирторастворимая часть олигосахаридов после сгущения анализировалась методом бумажной хроматографии и сравнивалась с истинными свидетелями, после чего было определено соотношение моносахаридов (табл.2).

Из табл. 2 видно, что спиртовый экстракт и пектиновые вещества состоят из набора Сахаров. В надземной части преимущественно находятся галактоза (45,2%), а в корнях глюкоза (10,4%) и галактоза (33,2%). В пектиновых веществах в надземной части присутствуют равномерно все сахара, а исключение составляет содержание галактозы (до 31%), в корнях преимущественно содержится арабиноза (9,8%) и галактоза (до 40,1%). После выделения олигосахаридов были выделены пектиновые вещества из надземной и подземной части растений, которые в химическом соотношении ранее не были изучены.

Таблица 2.

Характеристика олигосахаридов и пектиновых веществ из растений Subglabrum

Орган растения, тип углеводов	Выход, %	Соотношение моносахаридов					
		Mm	Glep	Gal	Xyl	Ara	Rha
н/ч олигосахарид	1,7	1Л	1,0	45,2	1,0	2,0	1,4
Корни, олигосахарид	3,4	-	10,4	33,2	1,0	1,1	2,3
н/ч, пектин	5,5	следы	1,3	31,0	1,2	1,5	1,3
Корни пектин	2,6	следы	2,2	40,1	1,0	9,8	2,2

Пектиновые вещества, выделенные по известной методике [2] представляют собой хлопьевидный желтоватый порошок, растворимый в диметилсульфоксиде, в воде и формамиде. Характеристика пектиновых веществ представлена в табл. 3.

Таблица 3

Характеристика пектиновых веществ

Исследуемый орган растений	Т пл.	$[\alpha]^{22}$ D1,K1 (С. 0,1; H_2O)	$m_{отн.}$ (С. 0,1; H_2O)	Молекулярная масса	ИК-спекторскопия ($см^{-1}$)
корни	275-300°	+145	1,4	37900	858,830
н/ч	280-290°	+140	1,3	35800	857, 832

В ИК-спектре имеются полосы поглощения 858, 830 и 857,832, характерные для α-конфигурации глю- козидной связи.

Частичным кислотным гидролизом пектиновых веществ, выделенных из корней и н/ч был получен галукгоронан, состоящий только из галаотуроновой кислоты с $[\alpha]^{22}D+172°$ и [α]D+173° (С.1,0), соогвественно.

Для подтверждения результатов ИК-спектроскопии и частичного гидролиза, исходные пектины (из корней) подвергали периодатному окислению 0,2М раствором периодата натрия при комнатной температуре. Пробу на анализ отбирали через каждые 24 ч, избыток периодата натрия оттитровали раствором тиосульфата натрия. По истечении 14 суток расход периодата натрия составил 0,66 моля и далее не менялся. После восстановления боргидридом натрия и кислотного гидролиза с помощью бумажной хромотографии были обнаружены галактоза, арабиноза и галактуроновая кислота, а также эритрит.

Сравнительно небольшой расход периодата натрия (0,66) и присуствие неокиленных моносахаридов свидетельствует о разветвленной структуре пектиновых веществ. Образование эритрита, согласно литературным данным [3], обусловлено преобразованием в основной цепи пектиновых веществ Д-галактопираноз, соединенных между собой α-(1→4) связями.

Таким образом, установлено, что молекулярный состав олигосахаридов и пектиновых веществ, выделенных из растений A. Subglabrum, состоит из набора Сахаров, отличающихся между собой по количественному соотношению компонентов. Пектиновые вещества содержат в преобладающем количестве галактуроновую кислоту. Полученные данные по определению оптического угла удельного вращения, периодатного окисления, частичного кислотного гидролиза и ИК-спектроскопии свидетельствует о наличии 1→4 га- лактопиранозных связей.

Экспериментальная часть

Объектом исследования служили растения A. Subglabrum, которые широко распрастранены на территории Кыргызстана. Был определен молекулярный состав олигосахаридов и пектиновых веществ, выделенных из этих растений. Сырье экстрагировали дистилированной водой.

Экстракты сгущали упариванием на роторном испарителе при 40-450°С.

Бумажную хроматографию проводили на бумаге Filtrak FN-7 (ГДР) восходящим и нисходящим методом с использованием следующих систем растворителей.

1. Н.бутанол - пиридин - вода (6:4:3)
2. Н.бутанол - этанол - вода (45:5:50)

Для проявления пятен применяли опрыскивание проявителем кислым анилин фталатом с последующим нагреванием бумаги до 120°С.

ИК-спектры снимали на приборе UR-20 в таблетках с КВг или в вазелиновом масле.

Угол удельного вращения определяли на сахариметре СУ-3 при 22° С с длиной трубки 10 см.

Количественное определение углеводов. Для определения моно-, олиго- и полисахаридов сквозь сито с отверстиями диаметром 2-3 мм пропускали сырье, которое затем по ГОСТу 214 - 70, помещали в круглодонную колбу вместимостью 250 мл, снабженную обратным холодильником, приливали 150 мл 96%-го этилового спирта и помещали на кипящую водяную баню. Смесь кипятили в течение 30 мин, после чего отфильтровывали через воронку Бюхнера. Оставшиеся сырье подвергали двукратной обработке 82%-ным этиловым спиртом и кипятили в течение 5 мин.

Определение редуцирующих Сахаров. Спиртовые растворы объединяли и сгущали под вакуумом до полного удаления спирта. Оставшийся водный экстракт переносили в 100 мл мерную колбу, доводили до метки дистиллированной водой, 10 мл пробы для определения моносахаридов переносили в коническую колбу емкостью 250 мл, добавляли по 10 мл раствора Фелинга I и П (растворыФелинг I и II готовили заранее), туда же добавляли 20 мл дистиллированной воды. Смесь осторожно доводили до кипения и кипятили в течение трех минут. По окончании

кипячения колбу быстро охлаждали холодной водой и сразу же оттитровывали при непрерывном перемешивании 0,1 и раствором тиосульфата натрия до перехода коричневой окраски в желтую. Затем к смеси прибавляли 5 мл 1 %-ного раствора крахмала и медленно дотитровывали раствор до перехода синей окраски в кремовую, присущую йодату меди.

Парраллельно в тах же условиях проводили контрольный опыт без добавления испьпуемого раствора. По разности объемов раствора тиосульфата натрия, пошедшего на титрирование контрольного опыта и на титрирование испытуемого раствора, находили объем раствора тиосульфата натрия, соотвествующий количеству образовавшейся при анализе восстановленной меди.

Содержание фруктозы в миллиграммах находили по табл. 4, учитывая, что 1 мл 0,1 н раствора тиосульфата натрия соотвествует 6,4 мг восстановленной меди. Содержание фруктозы в пересчете на абсолютно сухое сырье в процентах вычисляли по формуле:

$$X = \frac{a \cdot 100 \cdot 100\%}{\Gamma}$$

где а - количество фруктозы, найденное по табл. 4, мг; 100 - разбавление раствора, мл; Г- объем испытуемого раствора, взятого для титрирования, мл.

Таблица 4

Объемное определение Сахаров при помощи раствора Фелинга

Объем 0,1 н. Na_2S20_3, мл.	Медь, мг.	Глюкоза или фруктоза и.д. м
1	6,4	3,2
2	12,7	6,3
5	31,8	15,9
10	63,8	32,3 и.т.

Определение олигосахаридов. Из спиртового раствора были взяты пробы для определения моносахаридов, для чего отбирали по 50 мл, добавляли по 5 мл 10 %-го раствора HC1 и проводили гидролиз, выдерживая смесь на кипящей водяной бане в течение 45 минут. Затем гидролизат нейтрализовали раствором 10%-ного NaOH до pH= 6,5-7, отфильтровывали, доводили объем дистиллированной водой в мерной колбе до 100мл, затем отбирали 10 мл этого раствора и оттитровывали таким же методом, что и при определении редуцирующих Сахаров.

Расчет вели по следующей формуле:

$$X = \frac{a \cdot b \cdot d \cdot 100\%}{б \cdot г \cdot e}$$

где а-количество глюкозы или фруктозы, найденное в табл. 4, мг.; б - навеска сырья, взятого на анализ, г.; в - разбавление раствора, мл.; г – количество испытуемого раствора, взятого для титрования, мл; д - объем воды, добавленный до метки, мл; е - количество пробы, взятой для гидролиза, мл.

Определение полисахаридов. Навеску 5 г сырья (5 гр после обработки спиртом) заливали 200 мл H_20 и нагревали в течение 2 часов при 80-85°С. Затем остывший экстракт переносили в мерную колбу на 250 мл, доводили объем водой до метки. Из этого объема брали 100 мл для гидролиза инулина, перешедшего в раствор, для чего к 100 мл прибавляли 5 мл 10%-го раствора HC1 и нагревали в течение 45 минут при 90°С. После кислотного гидролиза раствор нейтрализовали 10%-ой щелочью до pH 6,5-7, фильтровали, переносили в мерную колбу на 200 мл и доводили объем до метки. Затем отбирали 10 мл этого раствора и оттитровывали таким же методом, что и при определении олигосахаридов. Расчет вели по формуле:

$$X = \frac{а \cdot в \cdot 250 \cdot 100\%}{в \cdot 100 \cdot г} \cdot 0{,}9$$

где а - количество моносахарида, найденное по таблице 4, мг; б - разбавление раствора, мг; в –навеска сырья, мг; г - количество испытуемого раствора, взятого для титрирования, мл; 0,9 - коэффициент пересчета на инулин; 100 - объем, взятого для гидролиза, мл; 250 - объем, взятый после гидролиза, мл.

Выделение пектиновых веществ. Остаток сырья после выделения олигосахаридов и глюкофрукгонатов обрабатывали смесью 0,5% раствора шавелевой кислоты и шавелекислого аммония (1:20) при 70°С.

После фильтрования экстракцию шрота повторяли еще три раза. Экстракты объединяли, упаривали под вакуумом до 15%-го содержания сухих веществ, затем осаждали пектин этиловым спиртом (1:3). Через сутки осадок отфильтровывали, промывали ацетоном и сушили.

Определение молекулярной массы пектиновых веществ [4]. Образцы пектиновых веществ и декстранов с ММ 10000,15000,20000 и 40000 по 0,1 г растворяли в 2 мл воды и вносили в колонку (64,Ох 1,6) с сефадексом G -100.

Элементы собиралли по 2 мл и анализировали с помощью гель-хромотографии [5].

Литература:

1. Ажибаева З.С. Полисахариды Acatophyllum Subglabrum и сгруктурва глюкоарабинагалактан // Известия ВУЗов, Бишкек 2011 №3, 2011, стр. 129-132.
2. Афанасьева Е.М. Полисахариды клубнокорней некоторых видов Eremurus Biel // Растительные ресурсы, 1972, том VIII, вып. 2 С. 194.
3. Bacon J.S.D., Edelman J. The carbohydrates of the Jerusalem Artichoke and other composite // Biochem. J. - 1951. - V. 48. - P. 114-117.
4. Ермаков А.И., Арасимович В.В., Смирнов М.И. // В кн." Методы биохимического исследования". - М., 1952. - С. 153.
5. Детерман Г. Гель-хромотография. М.: Мир, 1970.

Рецензент: к.хим.н. Литвиненко Т.А.