

2001-233

МЕЖВЕДОМСТВЕННЫЙ ДИССЕРТАЦИОННЫЙ СОВЕТ
Д. 02. 99. 90.

На правах рукописи
УДК 547. 917

УСУБАЛИЕВА ГУЛМАЙРАМ КАДЫРКУЛОВНА

УГЛЕВОДЫ COUSINIA LEIOSERHALA,
SPORADOSERHALA
И УСТАНОВЛЕНИЕ СТРУКТУРЫ ИХ
ГЛЮКОФРУКТАНОВ

Специальность: 02.00.03 -Органическая химия

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата химических наук

БИШКЕК-2000

Работа выполнена в лаборатории химии и технологии растительных веществ Института химии и химической технологии Национальной Академии Наук Кыргызской Республики.

Научный руководитель: зав.лаб., к.х.н., с.н.с. Турдумамбетов К.

Официальные оппоненты: зав.лаб. химии угля и гумусовых соединений ИХ и ХТ НАН КР, с.н.с., д.х.н. МОРОЗОВ А.А.

Зав.каф. химии и технологии горно-металлургического института, к.х.н., доцент ТОКТОСУНОВА Б.Б.

Ведущая организация: Институт химии растительных веществ АН Республики Узбекистан

Защита состоится "12" января 2001 года в 9⁰⁰ часов на заседании Межведомственного Диссертационного Совета Д 02.99.90 при Институте химии и химической технологии НАН Кыргызской Республики по адресу: 720071, г. Бишкек, Чуйский проспект, 267

С диссертацией можно ознакомиться в центральной научной библиотеке НАН Кыргызской Республики (г. Бишкек, Чуйский проспект, 265-а).

Автореферат разослан "12" дек 2000 года.

Ученый секретарь Межведомственного
Диссертационного Совета
кандидат химических наук

Стрельцова И.Ф.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования. Глюкофруктаны имеют большая значения в обменных процессах живых организмов, многие из них используются в медицинской, фармацевтической, пищевой и микробиологической отраслях промышленности. Полисахаридные молекулы, построенные из остатков D-фруктозы, содержатся во многих высших растениях, прежде всего в представителях Сложноцветных, где они выполняют функцию пищевого резерва. Структурно-химическая зависимость глюкофруктанов, закономерность их распространения в природе и механизмы функционирования в клеточных структурах изучены недостаточно полно.

С целью расширения сырьевой базы по получению глюкофруктанов проведены исследования по определению углеводного состава рода *Cousipia* семейства Сложноцветных, а также их использованию в качестве ежегодного возобновляемого источника растительного сырья для получения глюкофруктанов (инулин, фруктоза и т.д.).

На территории Кыргызстана произрастает 73 вида растений рода *Cousipia*, что составляет более 30% от их распространности в СНГ. Это сорные колючие одно-, двух- и многолетние растения высотой 20-150 см, образующие сплошные заросли на пустырях и пастбищах.

Расширение источников сырья для получения глюкофруктанов, изучение содержания фруктозансодержащих углеводов в растениях рода *Cousipia* в зависимости от условий их произрастания и фаз развития с целью выявления их оптимального количества, установления химической структуры глюкофруктанов, разработки комплексной технологической схемы их получения, внедрения в производство разработанного способа определяют актуальность научного поиска.

Цель работы. Расширение сырьевой базы получения глюкофруктанов, для осуществления которой необходимо было изучить динамику накопления фруктозансодержащих углеводных молекул в зависимости от условий их произрастания, фаз развития, возрастных различий и видов растений рода *Cousipia*; разработать оптимальные методы выделения глюкофруктанов, установить их структуру, предложить эффективный способ получения глюкофруктанов, фруктозы для внедрения его в производство.

Научная новизна. Впервые проведено комплексное исследование углеводного состава двух видов рода *Cousipia* семейства Сложноцветных. Выявлены качественные и количественные изменения в составе моно-, олиго- и полисахаридов в углеводном комплексе в зависимости от фазового состояния, условий и места произрастания рас-

тений, почвенно-климатических изменений в течение года. Установлено, что для всех изученных видов растений рода *Cozippia* характерно наличие глюкофруктанов с преобладанием их содержания в подземных органах растений в фазе цветения-плодоношения. Изучена их структура и определено, что выделенные глюкофруктаны представляют собой полисахариды, которые характеризуются присутствием в структуре инулиновых β -(2 \rightarrow 1) типов гликозидных связей. В глюкофруктанах из *S. Zrogadoserpalata* установлены два типа связей между фруктофуранозными остатками: инулина β -(2 \rightarrow 1) и левана β -(2 \rightarrow 6).

Практическая значимость. На основании результатов исследований углеводного комплекса растений рода *Cozippia* разработаны технологии получения глюкофруктанов и D-фруктозы.

Полученный по предложенной технологической схеме глюкофруктан может найти применение в пищевой промышленности, в качестве диагностирующего средства в медицине и как реактив в химической промышленности. На его основе может быть налажено производство медицинской D-фруктозы. Предлагаемый способ получения глюкофруктана позволяет использовать местное сырье и исключить из технологии дорогостоящие реактивы.

Научная новизна и практическая значимость разработки подтверждается патентами Кыргызской Республики.

Апробация работы. Апробация проводилась на научных семинарах IX и XТ НАН КР, конференции молодых ученых и студентов Медицинской академии КР в 1999 г.

Публикация. По теме диссертации опубликовано 16 печатных работ, в том числе получено 2 патента Кыргызской Республики, составлены технические условия и 2 технологических регламента.

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из введения, трех глав, выводов, списка литературы, включающего 119 источников, и приложения. Работа изложено на 100 страницах машинописного текста, содержит 9 рисунков, 28 таблиц, 1 блок схемы.

КРАТКОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

I.I. Общая характеристика углеводов *Cozippia*:

Leioserpalata и *Zrogadoserpalata*

Cozippia (С) *Leioserpalata* (двухлетник) и *S. Zrogadoserpalata* (многолетник) широко распространены на территории республики, представляют сплошные заросли на пустырях, пастбищах, сенокосах,

сорные растения высотой 20-150 см.

С целью комплексного использования растительного сырья и создания безотходной экологически чистой технологии его переработки было проведено исследование на содержание углеводов. Эти растений входят в ряд основных по распространению представителей семейства Сложноцветных родов *Compositae* флоры Кыргызстана.

Воздушно-сухие или свежесобранные измельченные пробы надземных и подземных органов растений сначала обрабатывали 96%-ным, затем 82%-ным спиртом (1:30). В концентрированном спиртовом экстракте определяли содержание олигосахаридов, в остатках сырья-пектиновые вещества.

В результате предварительных исследований было показано, что в надземной части растений преобладают олигосахариды (4,9-5,0%) а в подземных органах-водорастворимый-полисахарид (19,0-21,5%). Основными моносахаридами в водорастворимых полисахаридах из корней являются глюкоза и фруктоза. В состав пектиновых веществ входит галактуроновая кислота, галактоза, глюкоза, ксилоза и арабиноза.

Учитывая практический интерес к полисахаридам (глюкофруктанам) и выясняя оптимальные сроки сбора растительного сырья, исследовали динамику их накопления.

1.2. Изучение динамики накопления глюкофруктанов *C. Leioserpha* и *C. Zrogadoserpha*

Для выявления периода максимального содержания глюкофруктанов в *C. Leioserpha* и *Zrogadoserpha* изучена динамика накопления глюкофруктанов и их мономерный состав по фазам вегетации растений, которые были собраны в Ферганской и Чуйской долинах в следующие фазы развития: бутонизация, цветения, плодоношения и отмирание надземной части.

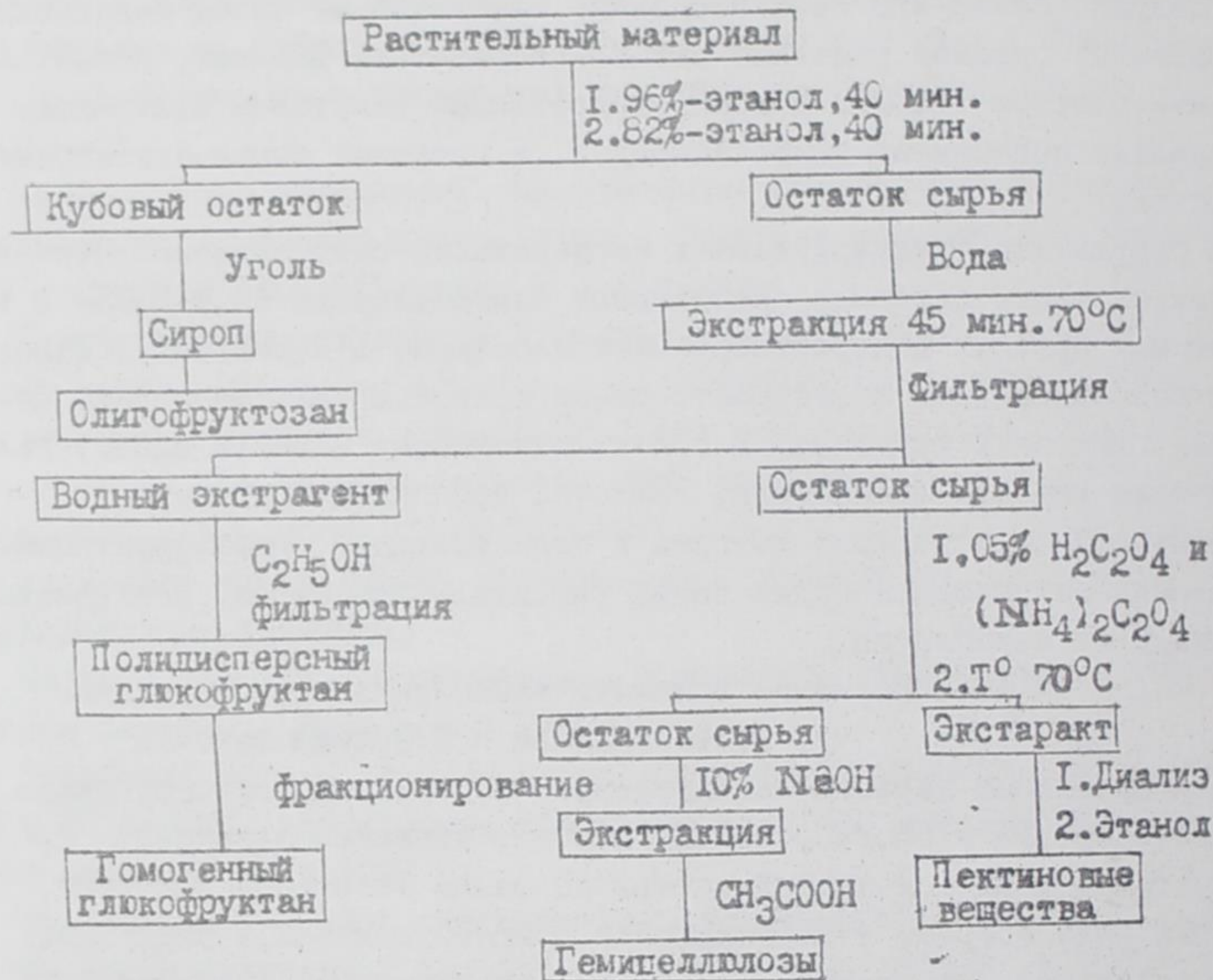
Установлено, что максимальное количество глюкофруктанов в подземных органах двухлетника-*C. Leioserpha* содержится в период цветения, многолетника *C. Zrogadoserpha*-в фазе плодоношения. Глюкофруктаны в различных частях растения распределены неодинаково. В подземных органах растения во все периоды развития глюкофруктанов больше, чем в надземной части. В связи с этим мы подвергали углубленному химическому изучению глюкофруктаны из подземных органов.

1.3. Олигосахариды растений *C. Leioserpha* и *C. Zrogadoserpha*

Олигосахариды выделяли из спиртовых экстрактов (см. блок-схему). Это гигроскопичные, в большинстве случаев бесцветные, иногда с

желтоватым оттенком порошки, легко растворимые в воде. При кислотном гидролизе выделенных олигосахаридов 0,5%-ной серной кислотой в гидролизатах методом БХ обнаруживаются глюкоза и фруктоза.

Блок-схема
Разделение углеводов *Сouzipia*



Методом препаративной бумажной хроматографии из сиропа двух видов *Сouzipia* нами были выделены по три олигосахариды (табл. I).

Изодированные олигосахариды идентифицированы по содержанию фруктозы (ф) и глюкозы (г) (2:1) как дисахарид сахарозы, трисахарид-как кестоза и тертасахарид-как стахиоза (табл. I).

Количественное содержание фруктоза во всех образцах олигосахаридов определяли по методу Кольтгофа. Соотношение глюкозы и фруктозы относительно R_f определяли бумажной хроматографией (табл. I).

Углы удельного вращения определяли на сахариметре СУ-3 (10 см, 5,6 мл). Для определения молекулярных масс применяли гель-хроматографию на колонке (1,2x65) с сефадексом G-25, анализ проводили фенол-серным методом (табл. I).

Таблица I
Характеристика фруктозанов

Вид	Фруктоза-ны	Относите-льно сахара-зы	$[\alpha]_D^{25}$ (C.I. H ₂ O) (=)	Содер-жание, Φ	Соотно-шение ΓΦ	Молеку-лярная масса	Сахара
C. Leioserpha	1	1,0	70,3	57,0	1:1	362	Дисахарид
	2	0,77	24,5	68,0	1:2	517	Трисахарид
	3	0,69	14,3	75,0	1:3	671	Тетрасах.
C. Zrogadoserpha	1	1,00	70,1	51,7	1:1	360	Дисахарид
	2	0,78	24,4	68,1	1:2	514	Трисахарид
	3	0,69	14,2	75,2	1:3	670	Тетрасах.

Установлено, что первым гомологом ряда фруктозанов, содержащимся в спиртовом сиропе углеводовсодержащих растений, является дисахарид-сахароза, затем следует три-, тетра- и т.д. сахара. Полнота разделения ряда гомологов сахаров (фруктозанов) зависит от плотности хроматографической бумаги, системы растворителей и проявителя.

Таким образом, по данным углов удельного вращения, молекулярным массам, соотношениям фруктозы и глюкозы и по количественному содержанию фруктозы, выделенные нами три препарата являются: дисахарид-сахарозой, трисахарид-кестозой и тетрасахарид-стахиозой.

I.4. Глюкофруктаны растений C. Leioserpha и Zrogadoserpha

На основании полученных данных по содержанию и составу углеводного комплекса можно предположить, что в C. Leioserpha и C. Zrogadoserpha преобладают полисахариды глюкофруктанового типа.

Глюкофруктаны представляют собой белые аморфные порошки, труднорастворимые в холодной воде и легко растворимые при 60°C (табл.2).

Исходный глюкофруктан легко гидролизуеться 0,5%-ной соляной кислотой, после нейтрализации гидролизата карбонатом кальция методом хроматографии на бумаге (FN-12) в системе н.бутанол-пиридин-вода обнаружены фруктоза и глюкоза. Следовательно, выделенные полисахариды можно отнести к классу глюкофруктанов.

В ИК-спектрах, которые сняты на приборе UR-20 в таблетках с KBr, имеются полосы поглощения при 820 см⁻¹ (колебание пиранозного кольца), 860 см⁻¹ (β-гликозидные связи) и 940 см⁻¹ (фуранозное кольцо), характерные для глюкофруктанов типа инулина и левана.

Углы удельного вращения глюкофруктанов из обоих растений оказались отрицательными (табл.2).

Таблица 2

Характеристика исходного глюкофруктана

Вид	Выход ГФ, %	$[\alpha]_D^{22}$	Молекулярная масса	ИК-спектр, см ⁻¹	Соотношение Г:Ф
<i>S. Leioserphala</i>	21,5	-39,5	13500-34000	820, 860, 940	1:19
<i>S. Sprogadoserphala</i>	19,0	-39,6	11000-33400	820, 860, 940	1:19

Таким образом, данные ИК-спектроскопии в сочетании с отрицательным удельным вращением доказывают преобладание β-гликозидных связей, а легкость кислотного гидролиза свидетельствует в пользу фуранозной формы D-фруктозы.

Молекулярные массы определяли на колонке с сефадексом G-75. Колонку калибровали, образцы декстранов с молекулярной массой 40000, 20000, 15000 и 10000. Элюент собирали порциями по 2,0 мл. Определение содержания глюкофруктанов в элюентах вели фенол-серным методом. Молекулярная масса глюкофруктанов из обоих растений оказались неоднородной, т.е. исходный глюкофруктан является полидисперсным (табл.2).

1.5. Пектиновые вещества растений *S. Leioserphala* и *S. Sprogadoserphala*

Из остатков сырья, из которого полностью удалены моно-, олиго- и полисахариды, были выделены последовательно пектиновые вещества (ПВ) и гемицеллюлозы (ГЦ) (табл.3).

Пектиновые вещества представляют собой белый волокнистый материал, растворимый в воде и обладающий отрицательной пробой на крахмал. Выход ПВ составляет 2-6%. Количественный мономерный состав моносахаридов отличается лишь их соотношением (табл.3).

Таблица 3

Содержание ГЦ и ПВ, мономерный состав ПВ

Вид	Чаза и исследуемый орган	ГЦ, %	ПВ, %	Мономерный состав ПВ						
				Г	Р	А	Х	Г	Г	У
I	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
<i>S. Leioserphala</i>	Бутоны н/ч	6,8	2,0	1,0	1,0	1,7	1,8	1,8	3,0	
	к	6,7	2,9	1,2	1,0	1,2	1,2	1,2	1,4	
	Цветы н/ч	5,6	6,0	1,0	1,2	1,9	1,4	1,4	2,6	
	к	7,4	2,0	1,0	1,1	1,0	1,0	1,1	1,4	
Плодонош.	н/ч	5,0	5,8	1,0	1,2	1,7	1,4	1,3	2,6	
	к	7,4	2,8	1,5	1,0	1,0	1,0	1,0	1,4	

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
C. Sprogadoserpha	Бутониз. н/ч	10,5	3,6	1,0	1,0	1,0	1,3	1,3	1,3	1,1	
	к	9,2	3,3	1,4	1,0	1,3	1,2	1,2	1,2	1,2	
Цветен.	н/ч	9,3	3,3	1,4	1,0	1,6	1,9	1,9	2,2		
	к	9,6	3,4	1,7	1,6	1,6	1,4	1,0	1,8		
Плодонош.	н/ч	7,9	4,1	2,5	1,0	1,0	1,2	1,4	2,2		
	к	8,9	3,3	2,0	1,0	1,0	1,0	1,0	2,0		

Количественное соотношение сахаров, определенное методом ГЖХ (в виде ацетатов полиолов), приведено в табл.3, при этом в каждом случае минимальное содержание моносахаридов принято за единицу.

Соотношение пектиновых веществ и гемицеллюлоз в различной степени подтверждено сезонным колебанием. Так, в корнях C. Leioserpha в фазе бутонизации и цветения содержится 6,7-7,4% гемицеллюлоз, 2,8-2,9% пектиновых веществ, в корнях C. Sprogadoserpha 8,9-9,6% гемицеллюлоз и 3,3-3,4% пектинов соответственно (табл.3).

Зольность пектина после перекристаллизации составляет 0,9%, а влажность - 4,5%. Полидисперсность изучали методом гель-фильтрации на колонке (2,5x45 см) с сефадексом G-150, которую элюировали водой и анализировали фенол-серным методом. Средневесовая молекулярная масса ПВ составляла 7000-13000 для C. Sprogadoserpha, а для C. Leioserpha 6200-12000.

Значение углов удельного вращения находится в интервале от +142 до +152. В ИК-спектрах ПВ имеются полосы поглощения при 925 см^{-1} , характерные для пиранозного кольца, при $1005-1125\text{ см}^{-1}$, принадлежащие валентными колебаниями -C-O и -C-O-C- пиранозных и фуранозных колец, при $1225-1400\text{ см}^{-1}$, относящиеся к деформационным колебаниям гидроксильных групп, при 1595 см^{-1} , характерные для ионизированного карбоксила, при 1725 см^{-1} , обусловленные валентными колебаниями сложноэфирной карбоксильной группы, при 2990 см^{-1} , относящиеся к валентным асимметричным колебаниям СН-групп, при 3300 см^{-1} - валентным колебаниям OH-групп.

В продуктах периодатного окисления пектина (20 мг, 5 мл 0,25M NaIO_4 , 12-е сутки, 10°C) с последующим восстановлением полиальдегида (30 мг NaBH_4 , 12 ч.) и гидролиза (0,5 н H_2SO_4 , 8 ч. 100°C) обнаружили методом бумажной хроматографии (система н.бутанол-пиридин-вода, 6:4:3 и пропанол-1-этилацетат-вода 7:2:1), при проявлении насыщенным водным раствором периодата калия и затем 1%-ным раствором перманганата калия, эритрит и глицерин. Образование эритрита обусловлено преобразованием Д-глюкопираноз, соединенных

I—4 связями. Глицерин, вероятно, образовался за счет концевых остатков D-глюкозы.

2. СТРОЕНИЕ ГЛЮКОФРУКТАНОВ С. LEUCOSERICALA

2.1. Выделение гомогенных глюкофруктанов и определение их моносахаридного состава

Строение гомогенных глюкофруктанов определяли фракционированием этиловым спиртом, качественный моносахаридный состав в их гидролизатах—бумажной хроматографией. Моносахариды оказались представленными в основном фруктозой и глюкозой в следовых количествах. Количественное соотношение сахаров устанавливали методом Кольтгофа. Фракции (ф) 3 и 5 составляют основную часть глюкофруктанов, поэтому они явились основным объектом исследования.

Как показали данные гель-хроматографических исследований, глюкофруктаны во фракции 3 и 5 различаются молекулярной массой (табл.4).

В ИК-спектрах глюкофруктанов фракции 3 и 5 имеются полосы поглощения при 820, 860 и 940 см^{-1} , характерные для глюкофруктанов типа инулина и левана. При этом поглощение в области 820 и 940 см^{-1} относится к колебаниям пиранозного и фуранозного колец соответственно, а полосы 860 см^{-1} — к β -гликозидным связям. Углы удельного вращения глюкофруктанов Ф-3 и Ф-5 соответственно равны -39,5 и -40,0. Отрицательное значение угла удельного вращения указывает на D-конфигурацию остатков фруктозы и β -конфигурацию гликозидных центров в глюкофруктанах (табл.4).

2.2. Периодатное окисление глюкофруктанов.

Периодатное окисление глюкофруктанов проводили 0,05 M раствором периодата натрия при 20-22°C, расход периодата натрия остается постоянным после 120 ч. от начала реакции. Данные о расходе периодата натрия и количестве выделившейся муравьиной кислоты на 1 моль ангидрогексозного звена приведены в табл.4.

Таблица 4

Характеристика глюкофруктанов Ф-3 и Ф-5

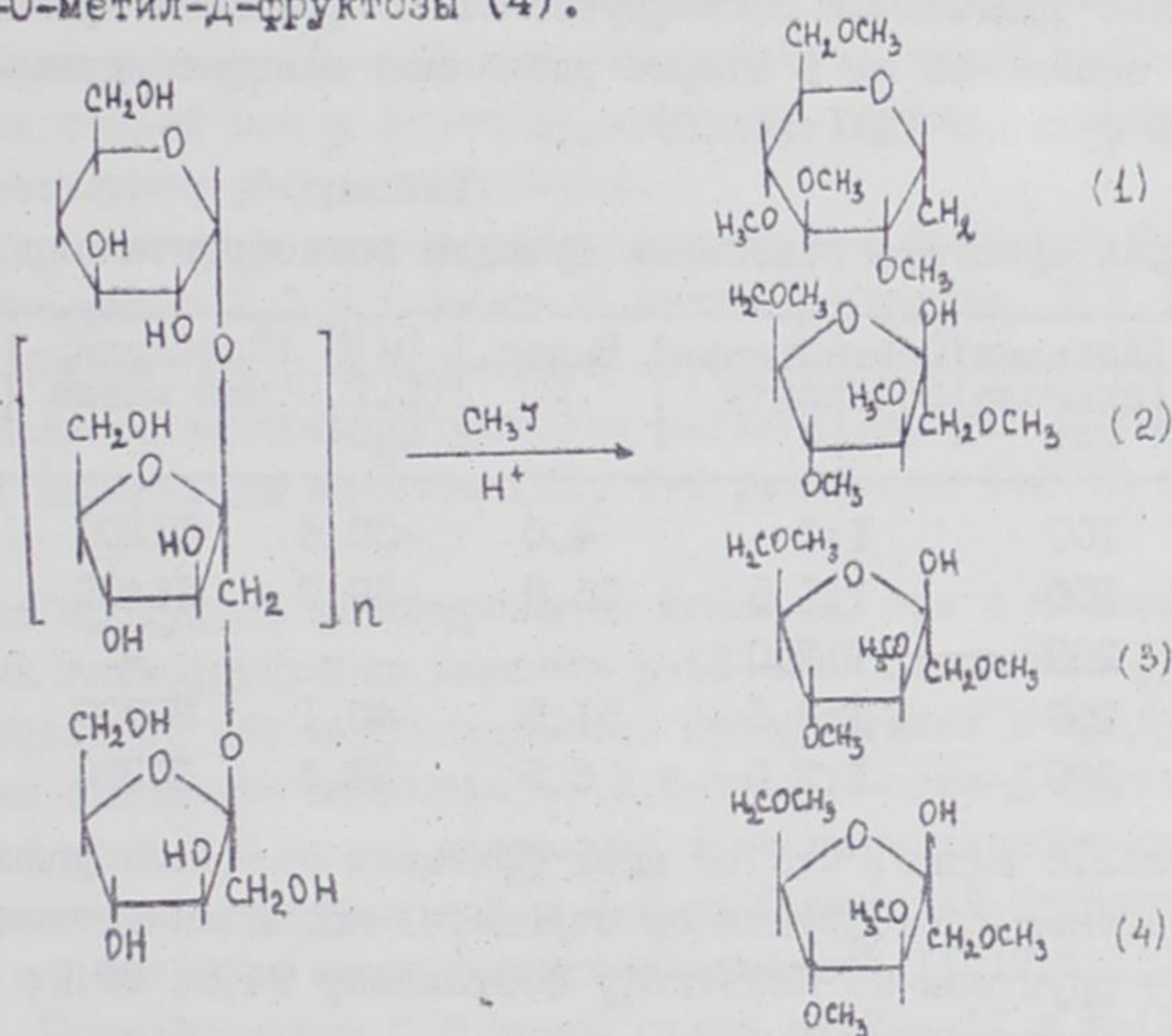
Фракции	Молекулярная масса	$[\alpha]_D^{22}$ (1,0% H ₂ O)	ИК-спектры, см ⁻¹	Периодатное окислен.	
				NaIO ₄ моль	HCOOH моль
3	13800	-39,5	820,860,940	0,97	0,047
5	34000	-40,0	820,860,940	0,95	0,042

В продуктах распада по Смиту в обоих образцах бумажной хроматографией обнаружили глицерин, что свидетельствует о наличии в глюкофруктанах β -(2 \rightarrow 1) связи типа инулина. Глюкофруктаны в отдельных фракциях отличаются по содержанию фруктозы и средневесовыми молекулярными массами.

2.3. Метилирование глюкофруктанов

Метилирование глюкофруктанов проводили по методу Хакамори. Полноту метилирования определяли тонкослойной хроматографией и ИК-спектроскопическими методами. Получены перметилаты с выходом 84,0 и 86,0% с коэффициентом угла удельного вращения $[\alpha]_D^{25} = -50,0$, $[\alpha]_D^{25} = -52,0^\circ$ (С.И.О. в хлороформе).

В продуктах гидролиза перметилатов методами тонкослойной и газожидкостной хроматографии обнаружили 2,3,4,6-тетра-О-метил-Д-глюкозы (1), 1,3,4,6-тетра-О-метил-Д-фруктозы (2), 3,4,6-три-О-метил-Д-фруктозы (3) (основной продукт) и следовые количества 1,3,4-три-О-метил-Д-фруктозы (4).



Количественное соотношение метилированных соединений, установленное методом газожидкостной хроматографии, для глюкофруктанов во Φ -3 и Φ -5 соответственно составляли 3-5-14-1 и 3-5-10-1. Анализ продуктов метилирования показал, что в полимерной цепи изученных глюкофруктанов имеются β -(2 \rightarrow 1) связанные фруктофуранозные остатки, что подтверждается присутствием в продуктах

метилирования основного вещества 3,4,6-три-0-метил-Д-фруктозы.

2.4. ЯМР¹³C спектроскопия

Присутствие β-(2→1) связей между структурными звеньями микромолекулы глюкофруктанов подтверждается также данными ЯМР¹³C спектроскопии, а именно, величиной химического сдвига 104,25-104,24 м.д. углеводного атома С₂ фруктофуранозного остатка и сигналами в области 75,7-75,6 м.д. принадлежащим к С₄ (табл.5).

Таблица 5

Значение спектра ЯМР¹³C глюкофруктанов отдельных фракций

Остатки и № фракции	С-1	С-2	С-3	С-4	С-5	С-6
β-(2→1)						
3	62,34	104,24	78,5	75,7	82,2	62,24
5	61,80	104,25	78,4	75,6	82,3	62,20

3. СТРОЕНИЕ ГЛЮКОФРУКТАНОВ С. SPORAДОСЕРНАЛА

С целью разделения глюкофруктанов по фракциям проводилось дробное осаждение их в спирте различной концентрации. При этом выделены фракции (Ф) (табл.6).

Таблица 6

Характеристика отдельных фракций глюкофруктанов

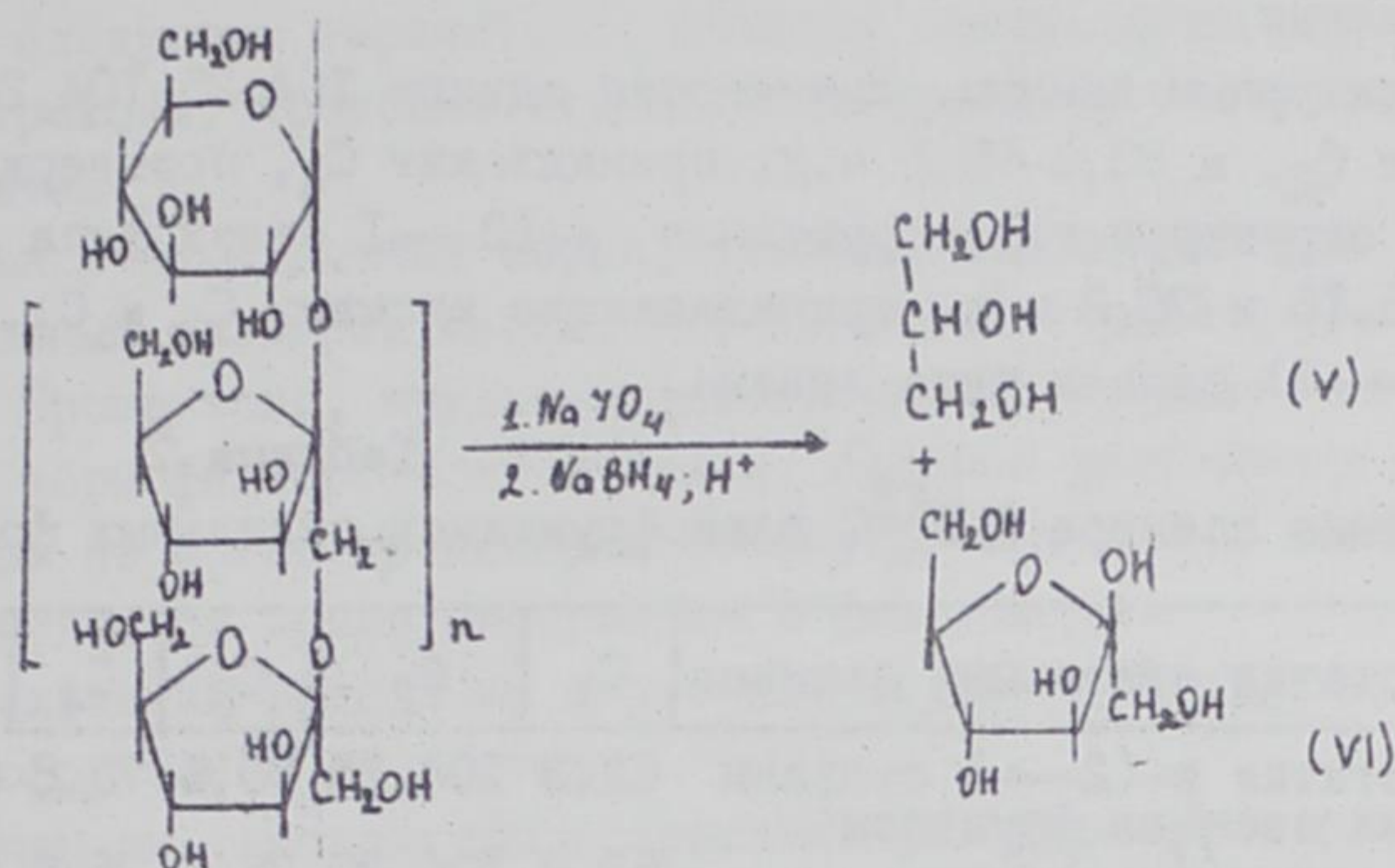
№ фракции	Добавка этанола мл.	Соотношение экстракт+ спирт	Выход, %	$[\alpha]_D^{20}$ (С. I, 0 Н ₂ O)	Молекулярная масса	Фруктоза %
1	100	1:1	4,0	-38,6	11200	94,8
2	150	1:1,5	36,0	-39,0	16400	96,0
3	200	1:2,0	-	-	-	-
4	250	1:2,5	51,5	-40,1	28000	97,0
5	300	1:3,0	6,5	-39,6	30300	98,0

Из табл.6 видно, что во всех фракциях значение углов удельного вращения глюкофруктанов отрицательно. Количественное содержание фруктозы по Кольтгофу составляет 94,8; 96,0; 97,0 и 98,0% соответственно.

При периодатном окислении Ф-1, Ф-2, Ф-4 и Ф-5 расход периодата натрия составляет соответственно 0,97; 0,96; 0,97 и 0,96 моль на 1 моль ангидрогексозного звена. При этом выделяется соответственно 0,041; 0,042; 0,041, и 0,042 моля муравьиной кислоты.

В продуктах распада по Смитту во всех образцах методами бумаж-

ной и гозожидкостной хроматографии обнаружены глицерин (V), а в Ф-4 кроме глицерина, следы фруктозы (VI):



Доминантным продуктом является глицерин, количество которого в 15 раз превосходит фруктозу.

Эти данные свидетельствуют о присутствии в рассматриваемых глюкофруктанах как β -(2 \rightarrow 1) типа инулиновых, так и β -(2 \rightarrow 6) типа левановых связей между фруктофуранозными остатками и незначительном разветвлении у фруктофуранозы.

Метилированием в гидролизате перметилата фракциях Ф-1, Ф-2, Ф-4 и Ф-5 обнаружены 2,3,4,6-тетра-0-метил-Д-глюкоза, 1,3,4,6-тетра-0-метил-Д-фруктоза и 3,4,4-три-0-метил-Д-фруктоза (основной продукт). Количественное соотношение метилированных соединений во фракциях определяли методом ГЖХ, Ф-1 равнялось 1:2,13 соответственно.

Анализ продуктов метилирования показал, что в полимерной цепи изученных глюкофруктанов имеются β -(2 \rightarrow 1) связанные фруктофуранозные остатки, что подтверждается присутствием в продуктах метилирования основного вещества (3,4,6-три-0-метил-Д-фруктозы).

В продуктах Ф-4 кроме названных выше перметилатов еще имеются 1,3,4-три-0-метил-Д-фруктоза и 3,6-ди-0-метил-Д-фруктоза, по данным ГЖХ соотношение перметилатов составляло 1:2:7,5:5:1 соответственно. Глюкофруктаны Ф-4 имеют связи β -(2 \rightarrow 1) и β -(2 \rightarrow 6), так как присутствуют 7,5 частей 3,4,6-три-0-метил-Д-фруктозы и 5 частей 1,3,4-три-0-метил-Д-фруктозы, а 3,6-ди-0-метил-Д-фруктозы свидетельствует о разветвлении по гидроксилу при C_4 в инулиновой части молекулы.

Эти данные подтверждаются также ЯМР¹³C спектроскопией. Как видно из приведенных данных (табл.7) для Ф-4 (рис.), значения хи-

мических сдвигов соответствуют $2 \rightarrow 1$ и $2 \rightarrow 6$ связям в фруктофуранозных остатках.

По литературным данным, химические сдвиги 104,25-104,20 м.д. принадлежат C_2 , а 75,8-75,6 м.д., принадлежат C_4 , подтверждает присутствие в структуре глюкофруктанов β -(2 \rightarrow 1) связи типа инулина. Сигналы 105,16 и 76,3 м.д. принадлежащие атомами C_2 и C_4 , относятся к β -(2 \rightarrow 6) связям типа левана.

Таблица 7

Значение спектра ЯМР¹³C глюкофруктанов отдельных фракций

№ фракции	Остатки связанных звеньев	C_1	C_2	C_3	C_4	C_5	C_6
1	Остатки β -(2 \rightarrow 1) связанных звеньев фруктозы	62,3	104,25	76,5	75,8	82,3	62,2
2	-----//-----	62,3	104,20	76,4	75,8	82,3	62,2
3	-----//-----	63,2	104,20	78,3	75,6	82,1	63,2
4	-----//-----	62,2	104,20	78,5	76,0	82,4	63,6
4	Остатки β -(2 \rightarrow 6) связанных звеньев фруктозы	62,0	104,16	78,4	76,3	81,0	64,2

Таким образом, глюкофруктаны С.Зрогадосерпаза Ф-1, Ф-2 и Ф-3 состоят из фруктофуранозных остатков, соединенных β -(2 \rightarrow 1) связями по типу инулина. Различие реакций состоят лишь в степени их полимеризации и молекулярных массах. Ф-4 представляет собой новый тип соединений этого класса, содержащих как инулиновые β -(2 \rightarrow 1), так и левановые β -(2 \rightarrow 6) гликозидные связи.

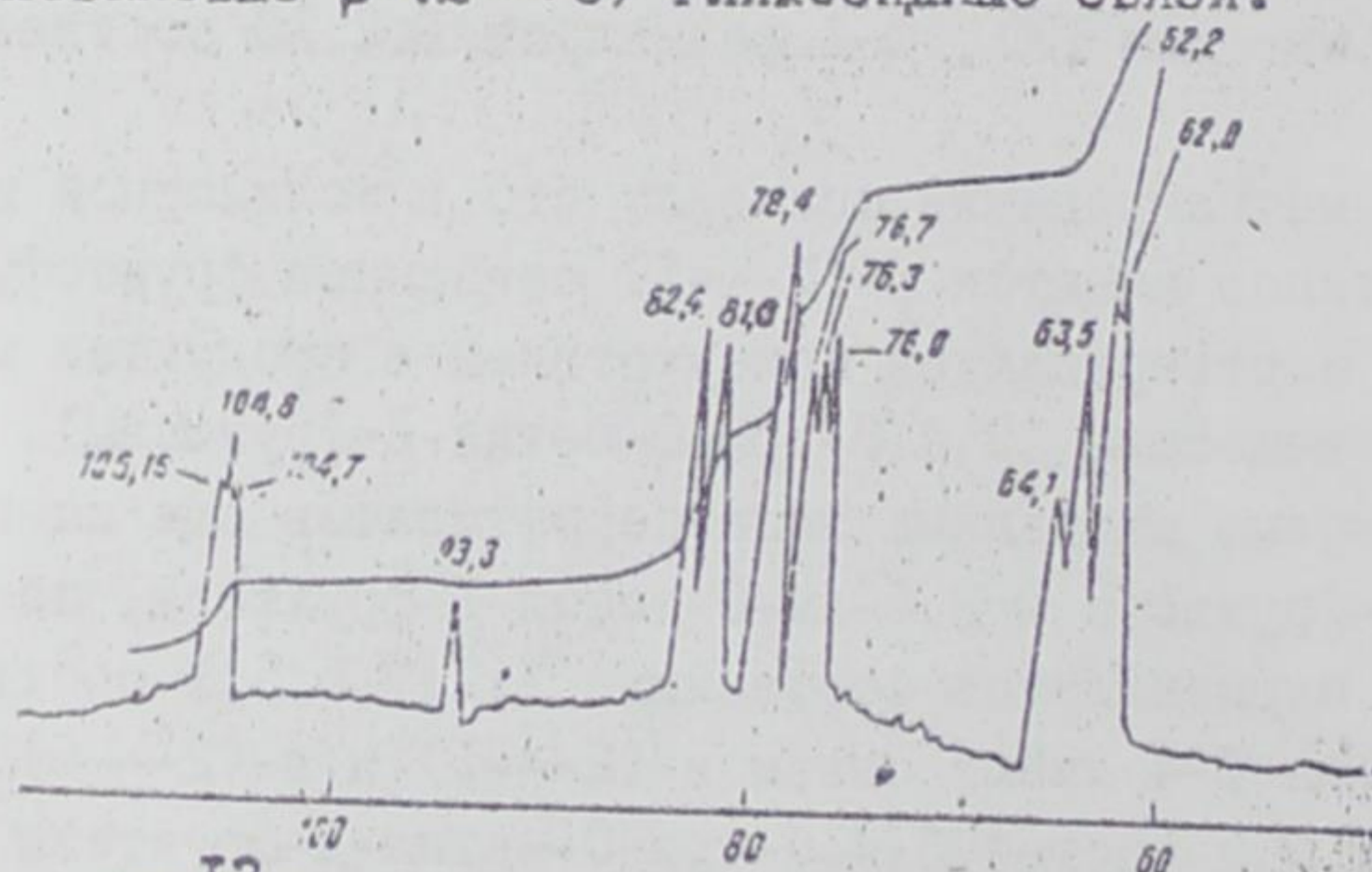


Рис. ЯМР¹³C спектры глюкофруктанов Ф-4

4. РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ ГЛЮКОФРУКТАНА

Учитывая большую экономическую значимость проблемы расширения источников сырья по получению глюкофруктанов, с целью их практического использования в дальнейшем была разработана технология

получения глюкофруктанов из растений *Cousipia*.

Разработан оптимальный метод выделения глюкофруктанов в зависимости от следующих параметров: степени измельчения сырья, температуры экстракции, продолжительности экстракции, соотношения сырья и экстрагента.

При сильном измельчении сырья, степень измельченности 1 мм, происходит сильный разогрев массы, что приводит к разложению глюкофруктанов. Кроме того, трудно отфильтровывать продукт, поскольку забиваются поры фильтровальной ткани, сильное уплотнение сырьевой массы и вода не может проникнуть во внутренние слои, вследствие чего увеличивается время экстракции и фильтрации.

При измельчении выше 3 мм сырье полностью не экстрагируется, выход глюкофруктанов снижается.

С увеличением температуры возрастает растворимость глюкофруктана в воде, достигая максимальной при 70-80°C. При более высокой температуре происходит частичная деполимеризация глюкофруктанов, затрудняется его фильтрация и требуется дополнительное количество растворителя для промывания осадка, ухудшается качество отхода-шрота. Помимо этого сушка полученного глюкофруктана приводит к ороговению.

Выяснено, что качественный продукт с наибольшим выходом можно получить при степени измельченности сырья 2-3 мм, времени экстракции 40-50 мин. температура 70-80°C, соотношения сырья и экстрагента (вода) 1:6. Нами разработан наиболее оптимальный метод получения глюкофруктанов (табл.8).

Преимуществом разработанной технологии являются упрощение технологического процесса (в известном 12 стадий, в предлагаемом-9); выделенке с высоким выходом целевого продукта (в известном 22%, в предлагаемом 26%); продолжительность процесса (в известном методе 56 ч., а в предлагаемом 25 ч.).

5. РАЗРАБОТКА СПОСОБА ПОЛУЧЕНИЯ Д-ФРУКТОЗЫ

С целью упрощения технологии получения фруктозы нами разработан способ ее получения непосредственно из растительного сырья, без стадии выделения глюкофруктанов (табл.9).

Преимуществом разработанной технологии: повышение выхода целевого продукта (в известном 11%, в предлагаемом 13%); упрощение технологического процесса (в известном 21-стадии, в предлагаемом -9).

Для получения Д-фруктозы в качестве сырья использовали корни

Таблица 8

Сопоставительный анализ прототипа и предлагаемого способа

Прототип А.С.685290	Предлагаемый способ
1. Измельчение сырья (2 мм)	1. Измельчение сырья (2-3 мм)
2. 4 кратная экстракция (89°C, 60 мин)	2. Экстракция (70°C, 50 мин)
3. 4 кратн. фильтрация, 4 кратн. промывка	3. Фильтрация
4. Очистка экстракта аллюмокалиевыми квасцами	4. Дробное осаждение этанолом (1:0,5).
5. Фильтрация	5. Фильтрация
6. Осветление экстракта актив. углем	6. Осаждение этанолом (1:1,5)
7. Фильтрация	7. Фильтрация
8. Упарка экстракта	8. Сушка и упаковка глюкофруктана
9. Осаждение глюкофруктана этанолом	Продолжительность процесса 25 ч
10. Кристаллизация 48 ч	Выход готового продукта 25-26%.
11. Фильтрация глюкофруктана	
12. Сушка и упаковка глюкофруктана	
Продолжительность процесса 56 ч.	
Выход готового продукта 22-23%	

Таблица 9

Сопоставительный анализ прототипа и предлагаемого способа

Прототип А.С.312870	Предлагаемый способ
Все стадии выделения глюкофруктана	1. Гидролиз сырья (45 мин)
13. Гидролиз глюкофруктана (60 мин)	2. Нейтрализация
14. Нейтрализация	3. Фильтрация
15. Фильтрация	4. Упарка экстракта до сиропа
16. Упарка экстракта до сиропа	5. Обработка сиропа этанолом 96%
17. Обработка сиропа абсолютн. спиртом	6. Фильтрация
18. Фильтрация	7. Выдержка 24 ч при 10°C
19. Выдержка 24 ч при 10°C	8. Фильтрация
20. Фильтрация	9. Кристаллизация Д-фруктозы (48 ч. при 10°C)
21. Кристаллизация Д-фруктозы (48 ч. при 10°C)	Продолжительность процесса 85 ч.
Продолжительность процесса 145-150 ч.	Выход готового продукта 13%
Выход готового продукта 11%	

Composita, из которых предварительной обработкой были извлечены олигосахариды и сесквитерпеновые лактоны. Сырья гидролизовали 0,5%-ной соляной кислотой при 80-82°C в течение 40-45 мин. Гидролизат нейтрализовали мелом, фильтровали, упаривали до получения сиропа с показателем преломления 1,498-1,500, обрабатывали кипящим 96%-ным этиловым спиртом 30 мин при соотношении 1:8, далее фильтровали и кристаллизовали при 10-12°C.

В В В О Д Ы

1. Впервые изучен углеводный состав двух видов растений семейства Сложноцветных родов *Composita* флоры Кыргызстана. Выяснены качественный и количественный составы подземных и надземных частей растений. Установлено, что содержание углеводов зависит от фазового состояния, почвенно-климатических условий, места произрастания и изменяется в течение года.

2. Разработана принципиальная схема последовательного разделения углеводного состава из двух видов *Composita*. Представлена физико-химическая характеристика олигосахаридов и пектиновых веществ. Выяснено, что водорастворимый полисахарид является глюкофруктаном.

3. Физическими и химическими методами (кислотный гидролиз, измерение угла удельного вращения, периодатное окисление и последующие разложение по Смитту, метилирование по Хакамори, ГЖХ, ИК- и ЯМР¹³C спектроскопией) установлено, что глюкофруктаны из *S. Zrogaoserpai* представляют собой полисахариды, состоящие из фруктофуранозных остатков, связанных по типу инулина β -(2 \rightarrow 1), а глюкофруктаны из *S. Zrogaoserpai* являются новым типом соединений этого класса, содержащим как инулиновые β -(2 \rightarrow 1), так и левановые β -(2 \rightarrow 6) гликозидные связи.

4. Разработаны технологии получения глюкофруктана и D-фруктозы, подтвержденные патентами Кыргызской Республики.

Основные содержание диссертации отражена
в следующих работах

1. Турдумамбетов К., Усубалиева Г.К., Шигайбаева Ж.Д., Сулайманов М. Способ получения D-фруктозы. - Кыргызпатент №213.02.07.98.
2. Турдумамбетов К., Усубалиева Г.К., Омуркулова Э. Физико-химическая характеристика глюкофруктанов из *Helianthus Tuberosus* L. // Сб. научн. тр. ИХ и Хт НАН КР. - Бишкек: Илим, - Ч. III. 1998. - С. 106-108.
3. Усубалиева Г.К., Турдумамбетов В., Сатыбеков К., Сыдыков Ж. Выде-

- ление и характеристика фруктозанов *Conzipia Leioserpha*. // Сб. научн. тр. IX и XI НАН КР. - Бишкек: Илим, Ч. III. 1998. - С. III-III2.
4. Турдумамбетов К., Усубалиева Г.К., Омуркулова Э. Выделение и характеристика пектива *Conzipia Leioserpha* juv // Сб. научн. тр. IX и XI НАН КР. - Бишкек: Илим, Ч. III. 1998. - С. III3-III4.
5. Турдумамбетов К., Усубалиева Г.К., Сыдыков Ж. Исследование пектиновых веществ из растений *Conzipia Srogadoserpha* juv. // Сб. научн. тр. IX и XI НАН КР. - Бишкек: Илим, Ч. III. 1998. - С. III5-III6.
6. Усубалиева Г.К., Турдумамбетов К., Сыдыков Ж. О хоматографическом разделении групп фруктозанов из *Conzipia Srogadoserpha*. // Сб. научн. тр. IX и XI НАН КР. - Бишкек: Илим, Ч. III. 1998. - С. III7-III8.
7. Турдумамбетов К., Усубалиева Г.К., Жоробекова Ш.Ж. Исследование углеводов *Conzipia Srogadoserpha* juv и установление структуры их глюкофруктанов // Изв. НАН КР. - 1999. - № 2. - С. 34-38.
8. Бердикеев А., Турдумамбетов К., Усубалиева Г.К. Углеводы *Camassia Leyhtlina* // Изв. НАН КР. - 1999. - № 2. - С. 81.
9. Турдумамбетов К., Усубалиева Г.К., Токтоматов Т.А., Сыдыков Ж. Исследование растений *Topinambur*. 5-я международн. конф. молодых уч. и студ. стран Центр. Азии, Казахстана и России. 21-23 апр. 1999 г. - С. 17.
10. Турдумамбетов К., Усубалиева Г.К., Сыдыков Ж. Углеводы некоторых видов растений *Topinambur* // Вестник. - № 2. - Технологический университет "Дастан". - 1999. - С. 197-203.
11. Турдумамбетов К., Усубалиева Г.К., Жоробекова Ш.Ж. Способ получения инулина. - Кыргызпатент. - № 331.31.03.99.
12. Турдумамбетов К., Усубалиева Г.К., Жоробекова Ш.Ж. Углеводы *Conzipia Leioserpha* (RP) juv и физико-химическая характеристика глюкофруктанов // Изв. НАН КР. - 2000. - № 2. - С. 32-35.
13. Турдумамбетов К., Усубалиева Г.К., Сыдыков Ж., Гончарева Р. Разработка технология получения глюкофруктанов // Сб. научн. тр. IX и XI НАН КР. - 2000. - Бишкек: Илим, Ч. IV.
14. Усубалиева Г.К., Турдумамбетов К., Сыдыков Ж., Гончарева Р. Исследование растений *Kuzinini Rasseyanogolovay* // Сб. научн. тр. IX и XI НАН КР. - Бишкек: Илим, Ч. IV. 2000.
15. Усубалиева Г.К., Турдумамбетов К., Сыдыков Ж., Гончарева Р. Количественное определение двух видов *Kuzinini* // Сб. научн. тр. IX и XI НАН КР. - Бишкек: Илим, Ч. IV. 2000.

АННОТАЦИЯ

"Кузиния *Leioserphala*, *Sporadoserphala* осумдукторунун углеводдору жана алардын глюкофруктандарынын структурасын тузуу".

Диссертация Кыргызстандын аймагындагы өсүүчү, составында углеводдору бар болгон *Composita* уруусунун изилдөөгө арналган. Углеводдук компоненттеги моно-и олиго- жана полисахарид, ошондой эле пектин заттарынын составынын өзгөрүү динамикасы изилденген. Изилдөөнүн натыйжасында осумдуктун эки турунун глюкофруктандын көп кездешкен мезгили, гүлдөө жана гүлдөп бүткөн мезгилге таандык экендиги аныкталган.

Нативдуу глюкофруктанды белүп алуу жолу иштелип чыккан. Эркин турундагы глюкофруктандар β -(2 \rightarrow 1) турундагы инулин сыяктуу структурадагы гликозиддик байланышта экендиги көрсөтүлгөн. Ал эми *Sporadoserphala* осумдугундагы глюкофруктан инулин турундагы β -(2 \rightarrow 1) жана леван турундагы β -(2 \rightarrow 6) структурасынан турары аныкталган.

Глюкофруктандын структурасын аныктоодо төмөнкү химиялык жана физикалык методдор: гидролиз, кагаз жана тонкослойдук хроматография, гель-фильтрация, периодаттык окисления, метилирование, ГЖХ, ИК жана ЯМР¹³C спектрлери колдонулган.

Глюкофруктан тамак аш жана медицина тармактарында эң керектуу болгон инулин, фруктоза сиробу жана фруктозанын булагы болуп эсептелет.

АННОТАЦИЯ

УГЛЕВОДЫ РАСТЕНИЙ *COMPOSITA LEIOSERPHALA*, *SPORADOSERPHALA*
И СТРУКТУРА ИХ ГЛЮКОФРУКТАНОВ

Работа посвящена изучению углеводного состава двух видов сорных растений рода *Composita* прорастающих сплошными зарослями республики. Изучены количественные изменения состава моно-, олиго- и полисахаридов, а также пектиновых веществ в углеводном комплексе. Установлено, что в изученных двух видах растений характерно наличие глюкофруктанов с преобладанием их содержания в подземных клубнях в фазе цветения и плодоношения. Показано, что индивидуальные полисахариды являются глюкофруктанами, характеризующиеся присутствием в структуре инулиновых β -(2 \rightarrow 1) типов гликозидных связей. Одна фракция из растений *Sporadoserphala* содержит два типа связей между фруктофуранозными остатками, инулина β -(2 \rightarrow 1) и левана β -(2 \rightarrow 6). В работе по установлению строения и состава глюкофруктанов использовались химические и физические методы: кислот-

ный гидролиз, бумажная и тонкослойная хроматография, гель-фильтрация, периодатное окисление, распад по Смитту, метилирование и др. Достоверность полученных результатов подтверждалась данными ГЛХ, ЯМР ^{13}C и ИК спектроскопии. Практическое значение работы состоит в том, что глюкофруктаны могут служить источником сырья в пищевой и медицинской промышленности для производства инулина, фруктозных сиропов и D-фруктозы.

A B S T R A C T

CARBOHYDRATES COUSINIA LEIOCEPHALA, SPORADOCEPHALA AND ESTABLISHMENT OF STRUCTURE THEIR GLUCOFRUCTANOV

The work is devoted to study of carbohydrate composition of Cousini species fructane-contained weed plants' 22 kind, populating over the region of Kyrgyzstan. The dynamics of change of mono-, oligo-, polysaccharides and also pectine substances composition's in carbohydrates complex was studied; it was established that the presence of glucofructane is typical for all the examined plant kinds. The methods of isolation, purification and native polysaccharides separation into polydisperse components number were elaborated. It was shown that individual glucofructanes are the linear structure polysaccharides, characterised by β -(2 \rightarrow 1) type glycoside bonds presence in structure. One fraction from plants Sporadocephala contains two type bonds between fructofuranoses remains, inulina β -(2 \rightarrow 1) and levana β -(2 \rightarrow 6). Glucofructanes may served as raw material source in food industry for inulina, fructose syrups and D-fructose production, their obtaining technology was realised into Chemical Reagents Plant (Shostka c.) and Fruzeboifara (Bishkek c.).

T. Kuiba