

Spektroskopia FTIR w podczerwieni w ocenie wiązań wodorowych hydrożeli ziół

ANNA PIELESZ, DOROTA BINIAŚ,
JOANNA WIECZOREK

Wydział Nauk o Materiałach i Środowisku
Instytut Inżynierii Tekstyliów
i Materiałów Polimerowych
Akademia Techniczno-Humanistyczna
w Bielsku-Białej

Streszczenie

W ostatnich latach bioaktywne hydrogele oparte na naturalnych źródłach roślinnych, są często przedmiotem badań w biotechnologii i farmacji. W tej pracy dokonano przeglądu badań strukturalnych i konformacyjnych wybranych bioaktywnych hydrożeli, izolowanych z następujących ziół: morskoczułki *Fucus vesiculosus* L., żywokost *Symphytum officinale*, macierzanka *Thymus pulegioides*, kozieradka *Trigonella foenum-graecum* L., podbiał *Tussilago farfara* L., hyzop *Hyssopus officinalis*, prawoślaz *Althaea officinalis* L., siemie lniane *Linum usitatissimum* L. i skrzyp *Equisetum arvense* L., różnicując je na gelee nieoczyszczone i oczyszczone.

Hydrogele zbudowane są z trójwymiarowej sieci polimerów polisacharydowych. Jedną z najważniejszych właściwości hydrożeli alginianowych jest zdolność do absorpcji, uwalniania i retencji związków chemicznych, w tym głównie wody. Widma FTIR pokazują obszary zmian w zakresie wiązań wodorowych $3500\text{--}3100\text{ cm}^{-1}$, charakterystyczne dla wiązań wodorowych (intermolekularnych i intramolekularnych).

Słowa kluczowe: spektroskopia FTIR, wiązania wodorowe w hydrożelach ziół i morskoczułki

FT-IR spectroscopic analysis in monitoring of hydroxyl stretching vibrations in plant hydrogels

Summary

In recent years, some bioactive hydrogels isolated from natural sources have attracted much attention in the field of biochemistry and pharmacology. This article attempts to review the current structural and conformational characterization of some importantly bioactive hydrogels isolated from following plant: *Symphytum officinale*, *Thymus pulegioides*, *Trigonella foenum-graecum* L., *Tussilago farfara* L., *Hyssopus officinalis*, *Althaea officinalis* L., *Equisetum arvense* L. *Linum usitatissimum* L. and *Fucus vesiculosus* L.

Hydrogels are cross-linked three-dimensional polysaccharide macromolecular networks that contain a large fraction of water within their structure. FT-IR spectroscopic analysis showed a strong band at $3500\text{--}3100\text{ cm}^{-1}$ attributed to hydroxyl (the intermolecular and the intramolecular hydrogen bonds) stretching vibrations changes.

Key words: FT-IR spectroscopic, hydroxyl stretching vibrations in plant hydrogels

WPROWADZENIE

Do najczęściej obecnie stosowanych polimerów syntetycznych [1] należą termoplastyczne poliestry α -hydroksykwasów karboksylowych, np. kwasu polimlekowego i kwasu poliglikolowego, jak również kopolimery z obu tych grup. Oprócz wymienionych syntetycznych polimerów, biopolimerami stosowanymi w przemyśle farmaceutycznym są polisacharydy, jak chityna, kwas alginowy i alginiany. Polisacharydy są strukturalnymi składnikami ściany komórko-

wej roślin, w tym ziół i alg. Wyróżnia się dwa główne typy polisacharydów ściany komórkowej: sztywne włóknikowe polimery chitynowe lub celulozowe, oraz wypełniające wolne przestrzenie β - i α -glukany i glikoproteiny.

Polisacharydy luźno związane z zewnętrzną warstwą ściany komórkowej, jako rozpuszczalne w wodzie mogą być wydzielane poza komórkę. Glukany są cząsteczkami o budowie liniowej lub rozgałęzionej utworzonymi przez reszty glukozy, połączone wiązaniami α - lub β -glikozydowymi. Inną grupę polisacharydów biologicznie czynnych stanowią heteroglikany, które dzieli się na galaktany, fukany, ksylany i mannany, na podstawie składników cukrowych tworzących ich szkielet. Łańcuchy boczne heteroglikanów mogą zawierać arabinozę, mannozę, fukozę, galaktozę, ksylozę, kwas glukuronowy i glukozę, jako główne składniki połączone ze sobą w różny sposób.

Alginiany są polisacharydami, które mają zdolność do tworzenia form żelowych o szeroko opisywanych w literaturze właściwościach aplikacyjnych w chemii spożywczej, farmacji i medycynie. Istotną cechą β -glukanu i alginianów jest ich zdolność do stymulowania biosyntezy kolagenu przez aktywowane fibroblasty. Dzięki temu przyspieszają procesy regeneracji tkanek i uczestniczą w gojeniu się ran. Pozyskiwanie alginianów z brunatnic polega na tym, że alga morska jest ekstrahowana z rozcieńczonego roztworu. Wolny kwas alginowy jest otrzymywany przez obróbkę powstałej gęstej i lepkiej masy kwasami nieorganicznymi. Uwodnienie kwasu alginowego prowadzi do kształtowania wysokiej lepkości „kwaśnego żelu”. Po żelowaniu cząsteczki wody są fizycznie usidlone wewnątrz matrycy alginianu, ale są jeszcze na tyle wolne, by wędrować. Ma to podstawowe znaczenie aplikacyjne.

Niezależnie od przedmiotu badań i zastosowań aplikacyjnych produktu, najważniejsze jest poznanie budowy i funkcji przedmiotu analizy. Wiele współczesnych metod analitycznych znajduje z powodzeniem zastosowanie w analizie fizykochemicznej alg i ziół. Metody magnetycznego rezonansu jądrowego ^1H i ^{13}C NMR, spektroskopia w podczerwieni i Ramanie, analiza termiczna (DSC i TGA) oraz metody rentgenowskie (WAXS i SAXS) służą do oceny składu alg, oraz do ich charakterystyki na poziomie struktury cząsteczkowej i nadcząsteczkowej. Metody chromatograficzne i elektroforetyczne np. elektroforeza kapilarna (CE) i micelarna chromatografia kapilarna (MECC) są znanymi technikami analizy polisacharydów, zaś elektroforeza na nośniku poliakryloamidowym w obecności siarczanu dodecylu

sodu SDS-PAGE służy do badania białek. Do oznaczeń polisacharydów w morskich ziołach, służy często [2] elektroforeza CAE (cellulose acetate electrophoresis CAE lub cellulose acetate membrane electrophoresis CAME), powszechnie używana technika diagnostycznej analityki medycznej. Ilustracja zmian struktury powierzchni otrzymanych hydrożeli za pomocą skaningowego mikroskopu elektronowego (SEM) (potwierdzenie właściwości bakteriostatycznych żeli), często towarzyszy badaniom strukturalnym.

Współczesne badania podstawowe polisacharydów, w tym alginianów i śluzów, koncentrują się na poznaniu nanostruktury biopolimerów. Istotnym celem projektu jest także przygotowanie aktywnych biologicznie hydrożeli na bazie powyższych polisacharydów. Ocena relatywnych zmian wiązań wodorowych w hydrożelach w czasie ich powstawania i modyfikacji jest istotnym elementem takich badań. Prześledzenie zmian w strukturze cząsteczkowej i nadcząsteczkowej polimerów, jest niezbędne w projektowaniu produktu o konkretnych właściwościach i zastosowaniach.

Wyniki badań różnych autorów [3–13] opublikowane dotychczas, wskazują na konieczność podjęcia takich analiz, jako istotnego warunku w trakcie przygotowania aktywnych biologicznie hydrożeli na bazie powyższych polisacharydów. Różnice w aktywności przeciwnowotworowej oraz działanie antybakteryjne polisacharydów w żelach, wynikają z wielkości cząsteczki i stopnia jej rozgałęzienia oraz rozpuszczalności w wodzie. Polisacharydy mogą przyjmować konformację potrójnej lub pojedynczej helisy, jak również przypadkowego zwoju. Uważa się, że konformacja potrójnej helisy β -D-glukanów jest istotna dla ich aktywności immunostymulującej [14].

MATERIAŁ I METODA

Obiektem badań były suszone zioła oraz nasiona: morskich Flos (Zakład Konfekcjonowania Ziół FLOS, Morsko); morskich Witherba (Witherba, Piotrków Trybunalski); skrzyp (Zakład Zielarski „KAWON – HURT” Gostyń); hyzop – Kawon; macierzanka – Kawon; prawoślaz – Kawon; podbiał – Kawon; kozieradka (nasiona) – Kawon; len zwyczajny (nasiona) – Kawon; żywokost („Herbapol – Lublin S.A”. Lublin).

Suchą plechę morskich oczyszczano z lipidów i związków barwnych, przez moczenie ziół w 3,7% formaldehydzie, natomiast pozostałe zioła oczysz-

czano w etanolu (10g ziół utarto w moździerzu i zalano ok. 50 ml etanolu i pozostawiono na 5 dni). Tak przygotowaną mieszaninę pozostawiano na kilka godzin w suszarce KBC G-65/250 w temp. 30°C. Odtłuszczone zioła poddano ekstrakcji w rozpuszczalniku (wodzie lub HCl), który pozwolił na wydzielenie polisacharydów.

Ekstrakcję prowadzono w wytrząsarce z łaźnią wodną typu Elpin Water Bath Shaker 357, o różnym czasie trwania i w różnych temperaturach, co miało wpływ na jakość otrzymywanych matryc. Ekstrakt przesączono przez lejek Buchnera i zatężono pod próżnią przy użyciu wyparki typu Unipan – Pro 350P.

W szczególności: 10 g ziół utarto w moździerzu i zalano 100 ml 0,1M HCl, wytrząsano w temp. 80°C przez 2 godziny. Następnie przesączono przez lejek Büchnera. Otrzymane roztwory zatężono pod próżnią. W trakcie i przed końcem zatężania przemyto 96% etanolem. Żelujący precypitat wylano na szalkę Petriego i suszono przez 24 godziny w temp ok. 30°C.

Identyfikację wiązań wodorowych w badanych próbkach wykonano przy wykorzystaniu spektrofotometrii w podczerwieni, z zastosowaniem transformacji Fouriera (FTIR) na spektrofotometrze Nicolet 6700 za pomocą przystawki dyfuzyjnej, która umożliwia wykonanie pomiarów spektroskopowych bez ingerencji mechanicznej w próbkę. Widma próbek rejestrowano w funkcji absorbancji, w zakresie liczb falowych 4000–400 cm^{-1} , z rozdzielczością 4 cm^{-1} . Każda próbka poddawana była badaniu czterokrotnie. Widma uśredniano i normalizowano, usuwając zakłócenia wywołane wpływem atmosfery i tła rozpraszania.

Preparaty do badań sporządzono z mikrogranulek, które ucierano następnie w moździerzu na drobny proszek i umieszczano bezpośrednio na przystawce dyfuzyjnej. Wykonano serię pomiarów dla następujących próbek: żel z morskizynu (oczf); żel z morskizynu i skrzypu w stosunku 1:1 (oczf); żel z morskizynu (oczf) z dodatkiem fukoidyny; żel z morskizynu (oczf) z dodatkiem barwnika błękitu toluidyny TB.

Badania pozostałych ziół jako tzw. żele nieodtłuszczone (nocz) przeprowadzono w średniej podczerwieni na spektrofotometrze Nicolet 6700, przy zastosowaniu przystawki fotoakustycznej MTEC Photoacoustic Model 300. Warunki pomiaru: rozdzielczość – 6 cm^{-1} , zakres pomiarowy 400–6000 cm^{-1} , liczba skanów – 32. Każda próbka poddawana była badaniu pięciokrotnie.

Badania pozostałych ziół jako tzw. żele odtłuszczone (ocze) przeprowadzono w średniej podczer-

wieni na spektrofotometrze Nicolet 6700, przy zastosowaniu detektora DTGS KBr. Warunki pomiaru: rozdzielczość – 6 cm^{-1} , liczba skanów – 32; zakres pomiarowy 400–4000 cm^{-1} , korekcja Kramersa–Kroniga. Każda próbka poddawana była badaniu pięciokrotnie.

WYNIKI I DYSKUSJA

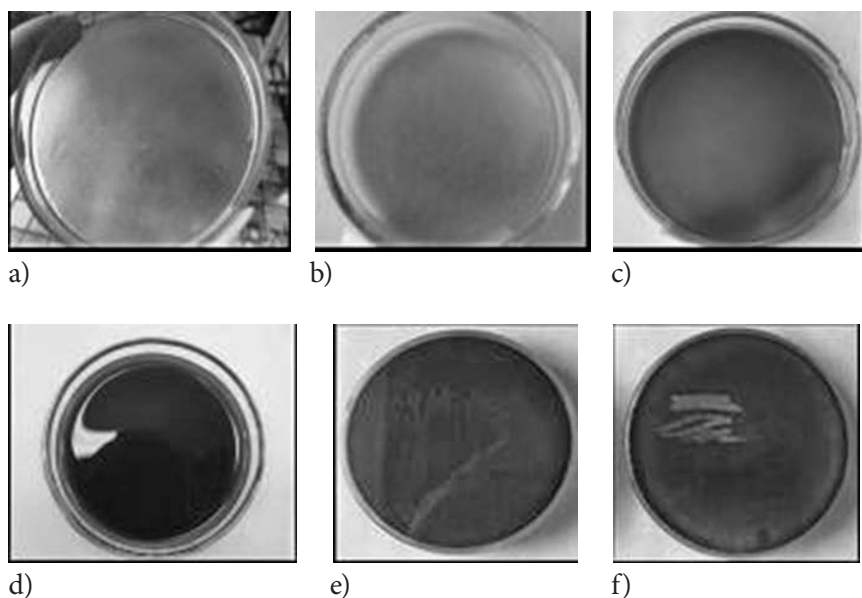
Pomimo istotnego postępu w zakresie nauk medycznych i związanego z nim dynamicznego rozwoju technik biochemicznych i biotechnologicznych, paradoksalnie coraz częściej sięga się obecnie do źródeł medycyny naturalnej. Obserwuje się ogólnosiwiatowy wzrost zainteresowania i wykorzystania roślin do produkcji związków farmakologicznych, kosmetyków i suplementów diet.

W układach biologicznych o zmiennym rozmieszczeniu obszarów krystalicznych i amorficznych, podstawowe znaczenie mają relacje między wiązaniami/oddziaływaniami wodorowymi o charakterze intra i intermolekularnym. Prześledzenie zmian w strukturze cząsteczkowej i nadcząsteczkowej polimerów z uwzględnieniem tego typu wiązań, jest niezbędne w projektowaniu hydrożeli o konkretnych właściwościach i zastosowaniach farmakologicznych i biomedycznych.

Przykłady zdjęć otrzymanych żeli zamieszczono na rycinie 1. Barwa żeli jest uzależniona od oczyszczenia ziół. W przypadku ziół nieoczyszczonych zawarte w próbkach polifenole, słuzy roślinne, glikozydy, alkaloidy, garbniki, antrazwiązki i antocyjany powodują ich zabarwienie. Niekorzystne zmiany strukturalne, np. depolimeryzacja, zmiany w rozpuszczalności w wodzie żeli, ale przede wszystkim zmiany w uporządkowaniu struktury polisacharydów stabilizowanych wiązaniami wodorowymi, mogą zachodzić w czasie otrzymywania żeli użytkowych.

Widma FTIR pokazują obszary zmian w zakresie wiązań wodorowych (3420 cm^{-1}) oraz vibracji grup C-H (2930 cm^{-1}), odpowiedzialne za aktywność biologiczną żeli. Obszar analizy pasm dotyczących wiązań wodorowych i wody zaokludowanej w żelu obejmuje zakres 3600–3200 cm^{-1} , który nie jest obserwowany w widmie Ramana ze względu na nakładanie się pasm C-H [3]. Z kolei przedmiotem analiz Matsuhira i współpracowników [15] były czerwone algi morskie, a w szczególności polisacharydy znajdujące się w tych algach (agar, agaroza, karageniany).

Autorzy identyfikowali słabe sygnały oddziaływań wodorowych i dwa silne sygnały pochodzące od



RYC. 1. Przykłady matryc hydrożelowych: a) z kwasu alginowego; b) żel z oczyszczonego morskczynu; c) żel z nieoczyszczonego morskczynu; d) żel nieoczyszczony z morskczynu i skrzypu (1:1); e) żel z nieoczyszczonego żywokostu; f) żel z nieoczyszczonej macierzanki

FIG. 1. Examples of hydrogel films: a) from alginic acid b) defatted film from *Fucus vesiculosus* L., c) non-defatted film from *Fucus vesiculosus* L., d) non-defatted film from *Fucus vesiculosus* L. and *Equisetum arvense* L. (1:1), e) non-defatted film from *Symphytum officinale*, f) non-defatted film from *Thymus pulegioides*

oddziaływań grup C-H ($2969,5\text{ cm}^{-1}$ i $2905,6\text{ cm}^{-1}$). W szczegółowych badaniach należy się skoncentrować na obszarze $3500\text{--}3400\text{ cm}^{-1}$, określanym jako intramolekularne wiązania wodorowe oraz na obszarze $3400\text{--}3100\text{ cm}^{-1}$, określanym jako intermolekularne wiązania wodorowe. Natomiast pik 3560 cm^{-1} jest charakteryzowany we włóknach celulozowych jako pasmo wolnych grup wodorotlenowych, opisujące zmiany hydrofobowe polimeru, w kontekście oddziaływań międzyfazowych [16].

Posługując się dwuwymiarową spektroskopią korelacyjną [17], udało się w modyfikowanej celulozie doprecyzować pasma odpowiedzialne za intermolekularne (3409 cm^{-1}) i intramolekularne ($3461, 3478, 3369\text{ cm}^{-1}$) wiązania wodorowe. W tabeli 1 zestawiono częstości charakterystyczne dla wiązań wodorowych, a obejmujące wybrane pozycje literaturowe.

Najczęściej przedmiotem oceny zmian struktury polimerowej są przesunięcia w całym zakresie spektralnym, obserwowane w trakcie barwienia polimeru. Przykładem tego typu analiz jest rycina 2.

Zasadniczym przedmiotem oceny zmian struktury polimerowej stabilizowanej wiązaniami wodorowymi w tej pracy, są przesunięcia w zakresie wiązań wodorowych w trakcie projektowania hydrożeli o konkretnych właściwościach i zastosowaniach. Interesujące są także badania zawartości polisacharydów, w szczególności kwasów uronowych, wyekstrahowanych ze ścian komórkowych pektyn, pulpi oliwek i pomarańczy [18].

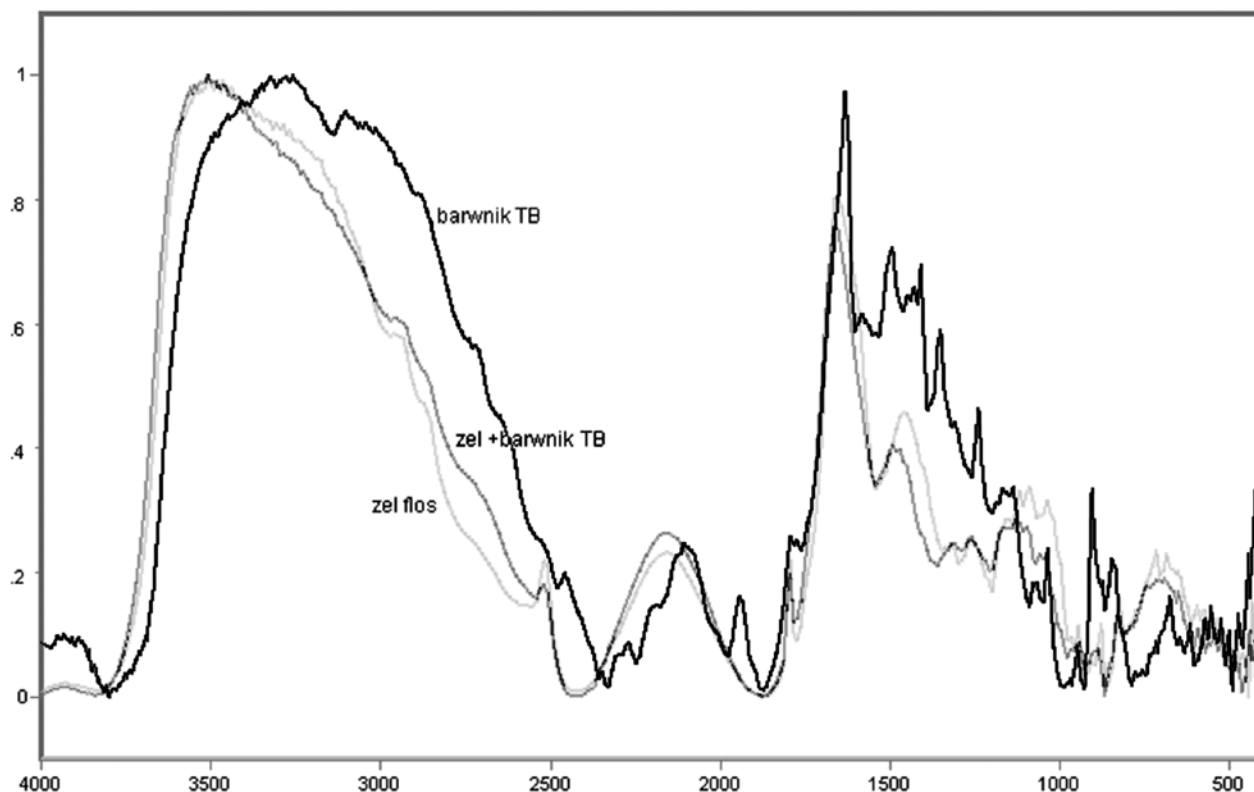
Termin „pektyny” odnosi się do kwasu galakturonowego, jako zestryfikowanego fragmentu oraz

TABELA 1. Obszary zmian w zakresie wiązań wodorowych

TABLE 1. Analysis attributed to hydroxyl stretching vibrations changes

Wiązania wodorowe	Literatura
3420	[3]
3427,5	[4]
3420,2	[5]
3450, 3410, 3365, 3342, 3340, 3328, 3275	[6]
3500, 3219, 3191–3165,	[7]
3480, 3432, 3328	[8]
3375, 3310–3305	[9]
3280	[10]
3400–3600	[11]
3384, 3280, 3280–3150, 3350, 3367	[12–13]

rozgałęzionych reszt polimerowych, zawierających arabinozę i/lub galaktozę, a nazywanych ramnogalakturonianami [18]. Ściany komórkowe owoców i warzyw są źródłem tego typu pektyn [19]. Dla pektyn identyfikowano niewielkie przegięcie przy częstości 2600 cm^{-1} przypisywane wibracjom O-H [3], a mogące wpływać na pozycję pasma.



RYC. 2. Widma FTIR: a) barwnik błękit toluidyny; b) żel z morskczynu Flos; c) żel z morskczynu z dodatkiem barwnika błękit toluidyny

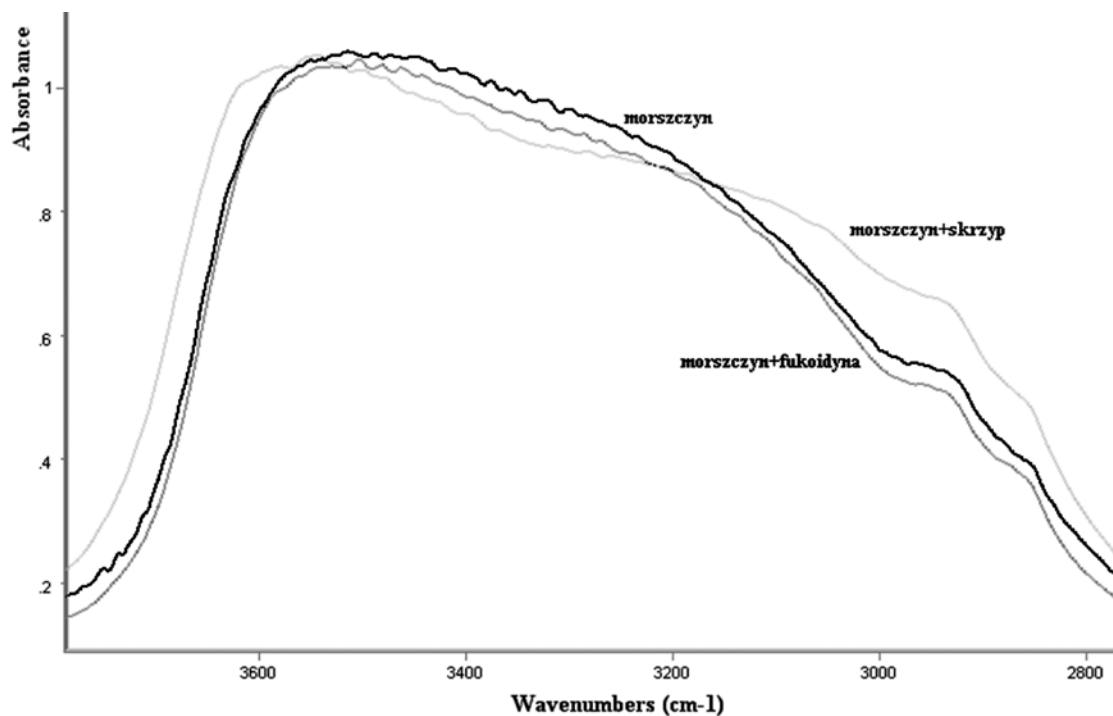
FIG. 2. FTIR spectrum: a) Toluidine Blue dye, b) defatted film from *Fucus vesiculosus* L., c) defatted film from *Fucus vesiculosus* L. with Toluidine Blue dye

Wiele składników roślinnych ma poza wartościami odżywczymi, również duże znaczenie w zapobieganiu chorobom cywilizacyjnym, dlatego też prowadzenie badań w tym kierunku wydaje się zasadne. Do związków czynnych zawartych w naturalnych środkach leczniczych, w tym w ziołach i algach, zaliczane są substancje o różnorodnej budowie, m. in.: polisacharydy, polifenole i śluz roślinne. Jednym z takich związków, występujących w algach, w tym w dostępnym w Polsce w postaci suszonej morskczynie *Fucus vesiculosus* L. jest fukoidyna, zawierający fukozę sulfonowany polisacharyd. Drugim jest występujący w ziołach β -D-glukan, identyfikowany po raz pierwszy pod nazwą pleuran i lentinan wewnątrz ściany komórkowej dalekowschodnich grzybów. β -glukany są polisacharydami występującymi w ścianach komórkowych niektórych bakterii, alg i roślin. Obecne są także w bambusie, grzybach – głównie w boczniku, drożdżach i niektórych trawach.

Przyswajalność i aktywność biochemiczna związków czynnych (fukoidyny i β -glukanów) uzależniona

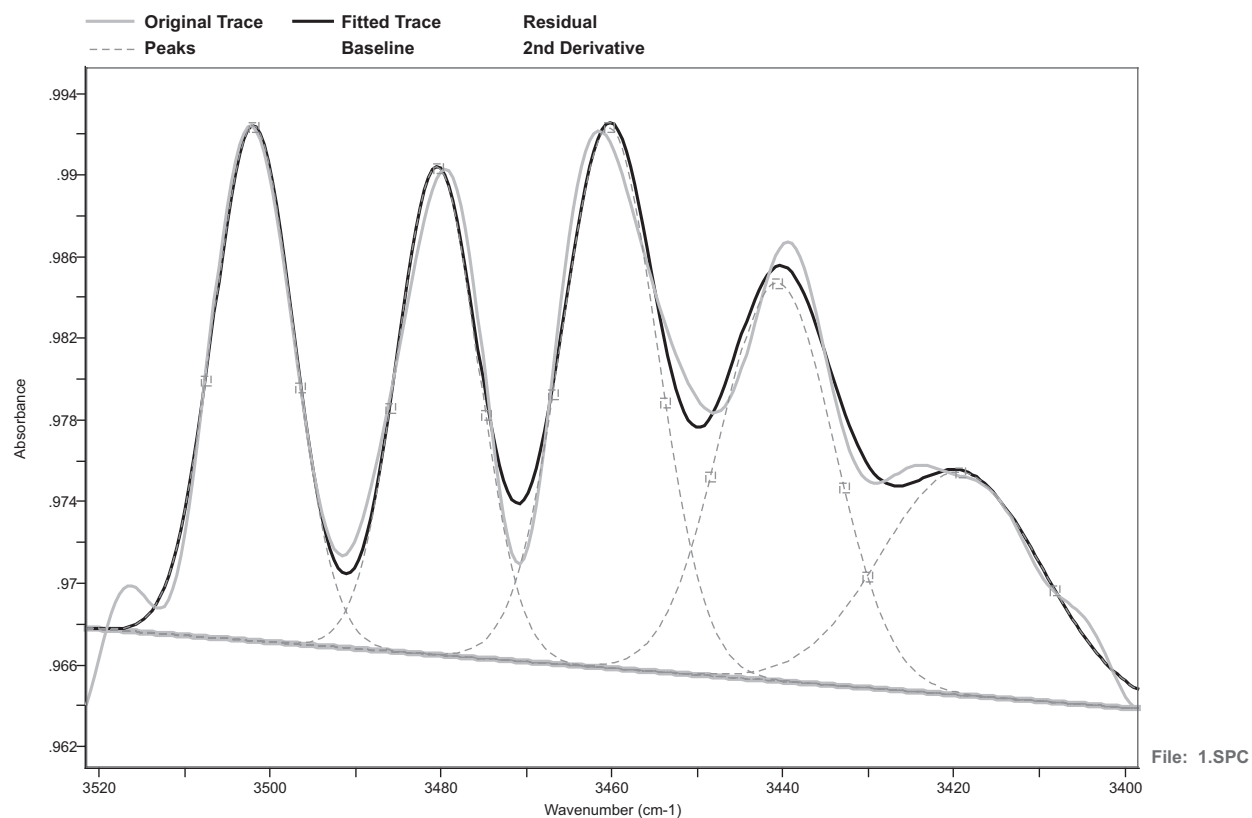
jest od ich otrzymywania z naturalnych źródeł. Niekorzystne zmiany strukturalne mogą zachodzić w czasie otrzymywania żeli użytkowych, β -glukanów czy hydrolizatów fukoidyny, prowadząc do zmniejszenia masy cząsteczkowej polisacharydu, lepkości granicznej, rozgałęzienia łańcucha, ale przede wszystkim do zmian w uporządkowaniu struktury polisacharydów stabilizowanej wiązaniami wodorowymi.

Na rycinie 3 wyróżniono najważniejsze pasma w obrębie wiązań wodorowych dla żeli z morskczynu, żeli morskczynu modyfikowanych dodatkiem fukoidyny oraz dla żeli mieszanych z morskczynu i skrzypu. Natomiast na rycinie 4 przedstawiono fragment widma FTIR żelu z morskczynu w obszarze 3520–4300 cm^{-1} po rozłożeniu na pasma Gaussa. Taki sposób prezentacji wyników towarzyszy często typowej analizie przesunięć częstości spektralnych. Ponieważ prezentowane w tej pracy wyniki mają charakter pilotażowy, zrezygnowano z analizy metodą rozkładu, natomiast zaprezentowano wyniki z zastosowaniem metody różniczkowej (drugiej pochodnej widm FTIR).



Ryc. 3. Widma FTIR: żel z morszczynu; żel z morszczynu modyfikowany dodatkiem fukoidyny; żel mieszany z morszczynu i skrzypu (1:1)

FIG. 3. FTIR spectrum: defatted film from *Fucus vesiculosus* L., defatted film from *Fucus vesiculosus* L. with fucoidan, defatted film from *Fucus vesiculosus* L. and *Equisetum arvense* L. (1:1)



Ryc. 4. Fragment widma FTIR żelu z morszczynu w obszarze 3520–4300 cm^{-1} po rozłożeniu na pasma Gaussa

FIG. 4. The fragment of FTIR spectrum from *Fucus vesiculosus* L. at 3520–4300 cm^{-1} regions: resolved into Gaussian-shaped bands

TABELA 2. Obszary zmian w zakresie wiązań wodorowych w polisacharydach hydrożeli morskczynu i ziół

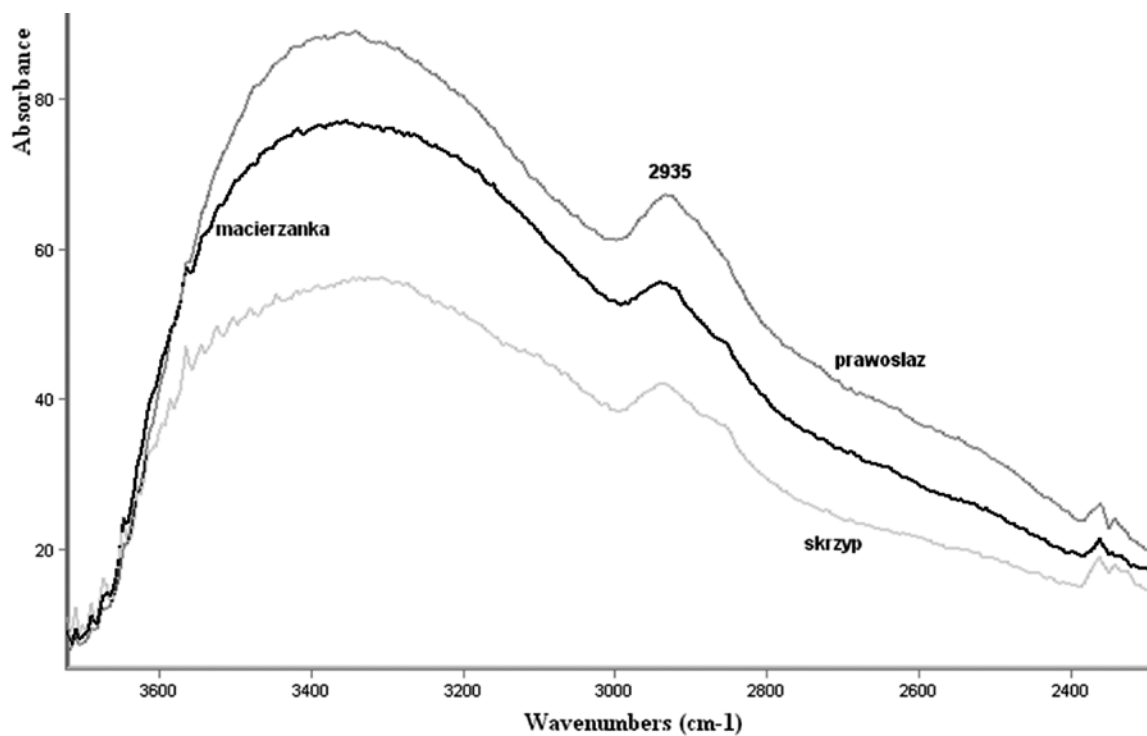
TABLE 2. Analysis attributed to hydroxyl stretching vibrations changes in polysaccharide hydrogels isolated from *Fucus vesiculosus* L. and plants

Wiązania wodorowe intramolekularne (3500–3400 cm ⁻¹)	Wiązania wodorowe intermolekularne (3400–3100 cm ⁻¹)	Wolne grupy OH	Analizowane próby
3493, 3471, 3447	3367, 3344, 3276	3556	Morszczyn (oczf)
3491, 3478, 3466, 3450, 3424,	3316, 3223, 3128	3557	Morszczyn (nocz)
3498, 3491, 3484, 3476, 3450, 3424	3387, 3248, 3181	3562	Morszczyn (ocze)
3485, 3454, 3442, 3417	3377, 3270, 3196	3549	Morszczyn + fukoidyna (oczf)
3481, 3460, 3426	3383, 3367, 3353, 3339, 3309, 3240	3546	Morszczyn + skrzyp (oczf)
3471, 3450, 3440, 3404	3318, 3297, 3236, 3220	3554	Morszczyn + barwnik TB (oczf)
3500, 3478, 3441, 3429	3332, 3297, 3205, 3097	3566	Żywokost (nocz)
3490, 3460, 3416	3306, 3273, 3213 3194	3569	Żywokost (ocze)
3498, 3475, 3414	3309, 3281, 3254, 3175, 3158	3563	Macierzanka (nocz)
3478, 3470, 3399	3365, 3335, 3253, 3107	3578	Macierzanka (ocze)
3456, 3403	3362, 3237, 3176	3563	Kozieradka (nocz)
3495, 3466, 3435, 3402	3376, 3244, 3196,	3567	Kozieradka (ocze)
3500, 3458, 3414	3390, 3371, 3333, 3165	3563	Podbiał (nocz)
3486, 3449, 3415	3359, 3334, 3259	3582	Podbiał (ocze)
3500, 3444	3381, 3290, 3270, 3194, 3182	3563	Hyzop (nocz)
3500, 3491, 3480, 3428, 3419, 3408	3357, 3289, 3225, 3216	3563	Hyzop (ocze)
3504, 3497, 3490, 3467, 3445, 3432	3378, 3306, 3264, 3241, 3144	3570	Prawoślaz (nocz)
3491, 3476	3386, 3360, 3232, 3213, 3156	3546	Prawoślaz (ocze)
3493, 3485, 3457	3374, 3350, 3244, 3162	3558	Siemię lniane (nocz)
3500, 3487, 3447, 3414	3351, 3342, 3269, 3206, 3173, 3124	3563	Siemię lniane (ocze)
3498, 3485, 3477, 3452, 3425	3340, 3331, 3279, 3240, 3150	3571	Skrzyp (nocz)
3503, 3486, 3448	3395, 3357, 3309, 3117	3568	Skrzyp (ocze)

oczf – oczyszczony w formaldehydzie; ocze – oczyszczony w etanolu; nocz – nieoczyszczony.

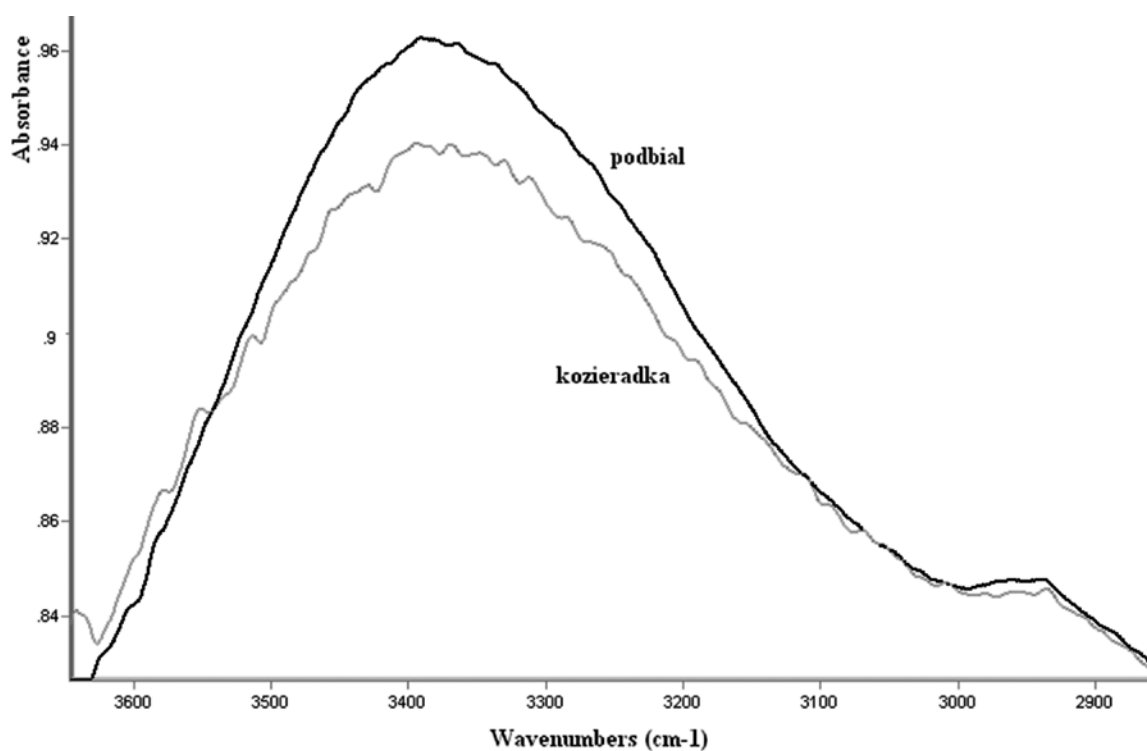
W tabeli 2 zestawiono wiązania wodorowe w polisacharydach hydrożeli morskczynu i wybranych w tej pracy ziół. W niniejszych badaniach koncentrowano się na obserwacji zmian w uporządkowaniu struktury polisacharydów stabilizowanej wiązaniami wodorowymi. Przeanalizowano także i umieszczono w tabeli 2 i na rycinach 5 i 6, fragmenty widm FTIR

przykładowych nieoczyszczonych i oczyszczonych żeli z macierzanki, prawoślazu i skrzypu. W tabeli 2 zestawiono również pasma wiązań wodorowych dla żeli następujących wybranych ziół: morskczyn *Fucus vesiculosus* L., żywokost *Symphytum officinale*, macierzanka *Thymus pulegioides*, kozieradka *Trigonella foenum-graecum* L., podbiał *Tussilago farfa-*



RYC. 5. Widma FTIR: nieoczyszczone żele z macierzanki, prawoślazu i skrzypu

FIG. 5. FTIR spectra: non-defatted films from *Thymus pulegioides*, *Althaea officinalis* L., and *Equisetum arvense* L.



RYC. 6. Widma FTIR: oczyszczone żele z podbiału i kozieradki

FIG. 6. FTIR spectra: defatted films from *Tussilago farfara* L. and *Trigonella foenum-graecum* L.

ra L., hyzop *Hyssopus officinalis*, prawoślaz *Althaea officinalis* L., siemę lniane *Linum usitatissimum* L. i skrzyp *Equisetum arvense* L., różnicując je na żele nieoczyszczone i oczyszczone.

W celu zaobserwowania zmian w pozycji wiązań wodorowych ujednolicono procedurę analityczną. Zestawiono częstości po przeliczeniu surowych widm FTIR na ich drugie pochodne. W ten sposób wyeliminowano z widm surowych częstości szumów, zaś w tabeli 2 zestawiono pasma o największej intensywności. Generalnie obserwuje się przesunięcia w zakresie wiązań intra i intercząsteczkowych oraz wolnych grup OH, spowodowane metodyką preparacji żeli, sposobem odcyszczania oraz metodą rejestracji widm. Prezentowane w tej pracy wyniki mają charakter pilotażowy, w kolejnych badaniach zostaną poszerzone.

Także inni autorzy zajmują się analizą wiązań wodorowych w próbkach po modyfikacji chemicznej. Stwierdzono [3], że modyfikacje w obrębie grup metylowych pektyn typu metylacji C-6 lub/ oraz łącznie acetylacji O-2,3, prowadzą do zwiększenia intensywności pasm w obszarze 3500–3200 cm⁻¹ oraz zmniejszenia intensywności pasm w obszarze 2940–2960 cm⁻¹ na ich widmach FTIR. Zmiany w intensywności analizowanych pasm są znaczne (6%–63%). To zjawisko tłumaczy fakt, że grupy karboksylowe wspólnie z hydroksylowymi uczestniczą w systemie wiązań/oddziaływań wodorowych, które stabilizują strukturę w hydrożelu. Acetylacja natomiast ma prowadzić do zmniejszenia zawartości wolnych grup wodorotlenowych i osłabienia sieci oddziaływań wodorowych. Dlatego też na zmniejszenie ilości wiązań wodorowych w polimerze, większy wpływ ma proces acetylacji niż metylowania. Zaś oba powyższe procesy działające łącznie, prowadzą do globalnego zmniejszenia ilości wiązań wodorowych [3].

Dlatego istotnym celem niniejszej pracy było przygotowanie aktywnych biologicznie hydrożeli na bazie powyższych ziół i morskich oraz prześledzenie zmian w strukturze, przesunięciach częstości wiązań wodorowych niniejszych polimerów.

WNIOSKI

1. Przygotowanie hydrożeli na bazie ziół i morskich oraz prześledzenie zmian w przesunięciach częstości wiązań wodorowych, jest istotnym elementem współczesnych badań strukturalnych naturalnych substancji aktywnych biologicznie.

2. Widma FTIR pokazują istotne obszary zmian w zakresie wiązań wodorowych 3500–3100 cm⁻¹, charakterystyczne dla wiązań intermolekularnych i intramolekularnych, charakteryzujące wyznaczniki metodyczne projektowanych aktywnych hydrożeli.
3. Prezentowane wyniki pokazują istotne elementy analityczne w prezentowaniu wyników projektowanych aktywnych hydrożeli.

LITERATURA

- [1] MÜLLER R. H., HILDEBRAND G. E.: Technologia nowoczesnych postaci leków. PZWL (2003) 212 – 217.
- [2] PIELESZ A., BINIAŚ W.: Cellulose acetate membrane electrophoresis and FTIR spectroscopy as methods of identifying a fucoidan in *Fucus vesiculosus* L. Carbohydrate Research (2010) 345, 2676–2682.
- [3] SYNITSYA A., CÔPIKOVA J., MATEJKA P., MACHOVIC V.: Fourier transform Raman and infrared spectroscopy of pectins. Carbohydrate Polymers (2003) 54, 97–106.
- [4] LEAL D., MATSUHIRO B., ROSSI M., CARUSO F.: FT-IR spectra of alginic acid block fractions in three species of brown seaweeds. Carbohydrate Research (2008) 343. 308–316.
- [5] ISHURD O., ZGHEEL F., ELGHAZOUN M., ELMABRUK M., KERMAGI A., KENNEDY J. F., KNILL CH.: A novel (1→4)-α-D-glucan isolated from the fruits of *Opuntia ficus indica* L. Carbohydrate Polymers (2010) 82, 848–853.
- [6] MARECHAL Y., CHANZY H.: The hydrogen bond network in I_β cellulose as observed by infrared spectrometry. J. Mol. Struct. (2000) 523, 183–196.
- [7] KUBO S., KADLA J. F.: Hydrogen bonding in lignin: a Fourier transform infrared model compound study. Biomacromolecules (2005) 6, 2815–2821.
- [8] FACKLER K., STEVANIC J. S., TERS T., HINTERSTOISSER B., SCHWANNINGER M., SALMEN L.: Localisation and characterisation of incipient brown-rot decay within spruce wood cell walls using FT-IR imaging microscopy. Enzyme and Microbial Technology (2010) 47, 257–267.
- [9] FACKLER K., SCHWANNINGER M., GRADINGER C., SREBOTNIK E., HINTERSTOISSER B., MESSNER K.: Fungal decay of spruce and beech wood assessed by near infrared spectroscopy in com-

- bination with uni- and multivariate data analysis. *Holzforschung* (2007) 61, 680–687.
- [10] LIANG C. Y., MARCHESSAULT R. H.: Infrared spectra of crystalline polysaccharides. I. Hydrogen bonds in native celluloses. *J. Polym. Sci.* (1959) 37, 385–95.
- [11] SCHWANNINGER M., RODRIGUES J., PEREIRA H., HINTERSTOISSER B.: Effects of short-time vibratory ball milling on the shape of FT-IR spectra of wood and cellulose. *Vib Spectrosc* (2004) 36, 23–40.
- [12] FOCHER B., NAGGI A., TORRI G., COSANI A., TERBOJEVICH M.: Structural differences between chitin polymorphs and their precipitates from solutions-evidence from CP-MAS ¹³C-NMR, FT-IR and FT-Raman spectroscopy. *Carbohydr. Polym.* (1992) 17, 97–102.
- [13] FOCHER B., PALMA M. T., CANETTI M., G. TORRI G., COSENTINO C., GASTALDI G.: Structural differences between non-wood plant celluloses: evidence from solid state NMR, vibrational spectroscopy and X-ray diffractometry. *Industrial Crops and Products* (2001) 13, 193–208.
- [14] ZHANG M., CUI S. W., CHEUNG P. C. K., WANG Q.: Antitumor polysaccharides from mushrooms: a review on their isolation process, structural characteristics and antitumor activity. *Trends Food Sci. Tech.* (2007) 18, 4–19.
- [15] MATSUHIRO B.: Vibrational spectroscopy of seaweed galactans. *Hydrobiologia* (1996) 326/327, 481–489.
- [16] JANARDHAN S., SAIN M.: Isolation of Cellulose Nanofibers: Effect of Biotreatment on Hydrogen Bonding Network in Wood Fibers. *International Journal of Polymer Science* (2011) 1–6.
- [17] GUO, Y., WU P.: Investigation of the hydrogen-bond structure of cellulose diacetate by two-dimensional infrared correlation spectroscopy. *Carbohydrate Polymers* (2008) 74, 509–513.
- [18] COIMBRA M. A., BARROS A., BARROS M., RUTLEDGE D. N., DELGADILLO I.: Multivariate analysis of uronic acid and neutral sugars in whole pectic samples by FT-IR spectroscopy. *Carbohydrate Polymers* 37 (1998) 241–248.
- [19] MCDUGALL G. J., MORRISON I.M., STEWART D., HILLMAN J. R.: Plant Cell Walls as Dietary Fibre: Range, Structure, Processing and Function. *J. Sci. Food Agric.* (1996) 70, 133–150.

Adres do korespondencji

Akademia Techniczno-Humanistyczna
Wydział Nauk o Materiałach i Środowisku
Instytut Inżynierii Tekstyliów
i Materiałów Polimerowych
ul. Willowa 2, 43-309 Bielsko-Biała
e-mail. apielesz@ath.bielsko.pl

