

## Streszczenie

Pektyny są jednym z głównych składników roślinnych ścian komórkowych i są powszechnie stosowane w przemyśle spożywczym ze względu na ich właściwości żelujące. Polisacharydy te charakteryzują się złożoną budową chemiczną, która jest determinowana stadium rozwojowym i gatunkiem rośliny oraz metodą ekstrakcji. Z tego względu mechanizm sieciowania i żelowania pektyn nie jest dokładnie poznany i w dalszym ciągu stanowi przedmiot badań wielu naukowców. Pektyny rozpuszczalne w węglanie sodu (frakcja DASP), otrzymane w wyniku ekstrakcji sekwencyjnej materiału ściany komórkowej owoców i warzyw, wykazują zdolność do tworzenia regularnej sieci na mice. Jednakże wpływ takich czynników jak pH, stężenie frakcji DASP oraz obecność jonów dwuwartościowych na sieciowanie tej frakcji pektyn nie został jeszcze określony.

Celem rozprawy doktorskiej był opis procesu sieciowania pektyn rozpuszczalnych w węglanie sodu, charakteryzujących się niskim stopniem metylacji, otrzymanych z materiału ściany komórkowej jabłek. Proces sieciowania frakcji DASP, warunkowany pH roztworu pektyn, ich stężeniem oraz obecnością jonów dwuwartościowych, scharakteryzowano w oparciu o metodę dynamicznego rozpraszania światła, laserową elektroforezę dopplerowską, spektroskopię FT-IR, mikroskopię sił atomowych oraz na podstawie pomiarów reologicznych i pH.

Przeprowadzone w niniejszej pracy badania wykazały, że głównym składnikiem frakcji DASP był kwas galakturonowy stanowiący około 60-73 mol %. Pektyny te miały słabszy charakter kwasowy ( $pK_{app}=4,64$ ) niż kwas galakturonowy ( $pK_a=3,51$ ). W środowisku kwaśnym o pH 4 wystąpiło sieciowanie pektyn ze względu na słabe odpychające oddziaływania elektrostatyczne pomiędzy częściowo zdysocjowanymi makrocząsteczkami pektyn oraz tworzenie wiązań wodorowych. Sieciowanie frakcji DASP przy pH 9 było zaś spowodowane częściową neutralizacją ujemnego ładunku cząstek pektyn przez kationy sodu. W środowisku silnie zasadowym o pH 11 wysoka siła jonowa ośrodka dyspergującego sprzyjała procesowi agregacji.

Indeks agregacji wyznaczony w oparciu o analizę dynamicznego rozpraszania światła został po raz pierwszy wykorzystany do opisu procesu sieciowania pektyn. Parametr ten posłużył do wyznaczenia stężenia frakcji DASP, przy którym nastąpiło tworzenie trójwymiarowej sieci pektynowej, wynoszącego  $0,33 \pm 0,04\%$ . Sieciowanie frakcji DASP przy tym stężeniu zostało potwierdzone przez zmiany struktury makromolekularnej, lepkości i pH.

Wyniki analizy zależności pH roztworu pektyn i stopnia wiązania jonów wodorowych od stężenia frakcji DASP wskazały na udział wiązań wodorowych w procesie sieciowania.

Pektyny niskometylowane mają zdolność do sieciowania i żelowania w obecności jonów dwuwartościowych, głównie jonów wapnia. W pracy wykazano, że jony cynku także mogą uczestniczyć w procesie sieciowania. Dodatek  $Zn^{2+}$  do roztworu pektyn spowodował statystycznie istotny wzrost lepkości roztworu. Na podstawie analizy widm FT-IR zaproponowano mechanizm oddziaływania jonów cynku z badaną frakcją poprzez grupy  $-COO-$  oraz  $-OH$  reszt kwasu galakturonowego.

W niniejszej pracy wykazano, że czynniki, takie jak pH, stężenie pektyn oraz obecność dwuwartościowych jonów cynku wpływały na proces sieciowania frakcji DASP, prowadzony w stałej temperaturze.

**Słowa kluczowe:** pektyny, sieciowanie, właściwości kwasowo-zasadowe, nanostruktura, indeks agregacji, właściwości reologiczne, właściwości strukturalne, stopień wiązania jonów wodorowych

## Abstract

Pectin is one of the main component of plant cell walls and is commonly used in the food industry due to their gelling properties. These polysaccharides are characterized by a complex chemical structure, which is determined by the development stage and plant species as well as the extraction method. For this reason, the mechanism of pectin cross-linking and gelation is not well-defined and this is still studied by many scientists. Sodium carbonate-soluble pectin (the DASP fraction), obtained as a result of sequential extraction of cell wall material of fruits and vegetables, has an ability to form a regular network on mica. However, the influence of factors, such as pH, the DASP fraction concentration and the presence of divalent ions on the cross-linking of this pectin fraction has not been determined yet.

The aim of the doctoral dissertation was to describe the cross-linking process of sodium carbonate-soluble pectin, characterized by a low degree of methylation, obtained from cell wall material of apples. The cross-linking process of the DASP fraction, determined by pH of pectin solution, pectin concentration and the presence of divalent ions, was characterized on the basis of the method of dynamic light scattering, laser Doppler electrophoresis, FT-IR spectroscopy, atomic force microscopy, rheological measurements and pH.

Results showed that the main component of the DASP fraction was galacturonic acid, which was about 60-73 mol %. This pectin had a weaker acidic character ( $pK_{app} = 4.64$ ) than galacturonic acid ( $pK_a=3.51$ ). In acidic medium with pH 4, pectin formed a network due to low electrostatic repulsion between partially dissociated pectin macromolecules and the formation of hydrogen bonds. Cross-linking of the DASP fraction at pH 9 resulted from the partial neutralization of the negative charge of pectin particles by sodium cations. In a strongly alkaline medium with pH 11, the high ionic strength of the dispersing medium facilitated the aggregation process.

The aggregation index, determined on the basis of analysis of dynamic light scattering, has been used for the first time to characterize pectin cross-linking. This parameter has been applied to determine the DASP fraction concentration, at which the formation of three-dimensional pectin network occurred. This concentration was  $0.33 \pm 0.04\%$ . Cross-linking of the DASP fraction at this value of pectin concentration was confirmed by the changes of macromolecular structure, viscosity and pH. The results of analysis of the dependence of pH of pectin solution and hydrogen ion binding degree on the DASP fraction concentration indicated the participation of hydrogen bonds in the cross-linking process.

The low-methoxy pectin has an ability to cross-link and gel in the presence of divalent ions, mainly calcium ions. The study showed that zinc ions may also participate in the cross-linking process. The addition of zinc ions to the pectin solution caused a statistically significant increase in the viscosity of solution. On the basis of the analysis of FT-IR spectra, a mechanism of interaction of zinc ions with the investigated fraction through –COO- and –OH groups of galacturonic acid units has been proposed.

In this study, it has been shown that factors, such as pH, pectin concentration and the presence of divalent zinc ions, affected the cross-linking process of the DASP fraction, carried out at a constant temperature.

**Keywords:** pectin, cross-linking, acid-base properties, nanostructure, aggregation index, rheological properties, structural properties, hydrogen ion binding degree