
ХИМИЯ

УДК 544.777:723.5

ВЛИЯНИЕ НАДМОЛЕКУЛЯРНОЙ СТРУКТУРЫ ПЕКТИНОВ И ПЕКТИН-МОНТМОРИЛЛОНИТНЫХ КОМПЛЕКСОВ НА ХЕМОСОРБЦИЮ МИКОТОКСИНОВ

Алеева С.В.*, Лепилова О.В., Кокшаров С.А.

Институт химии растворов им. Г.А. Крестова Российской академии наук

*svetlana19750710@gmail.com

Обсуждаются подходы к моделированию строения полимерной цепи и межмолекулярных ассоциатов в пектинах растительного сырья. Прослежено влияние структурной организации пектинов и пектин-монтмориллонитных композитов на кинетические показатели pH-регулируемой сорбции тестового алкалоида в пищеварительной системе человека и сельскохозяйственных животных. Результаты исследований позволяют прогнозировать сорбционное связывание азаетероциклических соединений и определить дозировку пектинсодержащих препаратов для профилактики микотоксикоза.

Ключевые слова: пектины, состав галактуронатных звеньев, надмолекулярная структура, монтмориллонит, интеркаляция, кинетика абсорбции алкалоидов.

INFLUENCE OF THE SUPRAMOLECULAR STRUCTURE OF PECTINS AND PECTIN-MONTMORILLONITE COMPLEXES ON MYCOTOXINS CHEMISORPTION

Aleeva S.V., Lepilova O.V., Koksharov S.A.

G.A. Krestov Institute of Solution Chemistry Russian Academy of Sciences

Approaches to modeling the structure of the polymer chain and intermolecular associates in plant pectins are discussed. The influence of the structural organization of pectins and pectin-montmorillonite composites on the kinetic parameters of pH-controlled sorption of the test alkaloid in the digestive system of humans and farm animals has been traced. The results of the studies make it possible to predict the sorption binding of azaheterocyclic compounds and to determine the dosage of pectin-containing preparations for prevention of mycotoxicosis.

Keywords: pectins, composition of galacturonate units, supramolecular structure, montmorillonite, intercalation, kinetics of alkaloid absorption.

Актуальность исследования обусловлена стремительным ростом количества выявляемых микотоксинов (МТ), опасных для здоровья человека и животных. В начале тысячелетия к их числу относили 300 соединений [1], 5 лет назад – почти 400 [2], а в данный момент – более 500 [3]. Распространенной мерой инактивации МТ является использование адсорбентов, выбор которых осуществляется с учетом полярно-

сти нейтрализуемых соединений. Однако методы предварительной сорбции малоэффективны в случае загрязнения продуктов широкой группой МТ, относящихся к классу алкалоидов, примеры которых приведены на *рис. 1*.

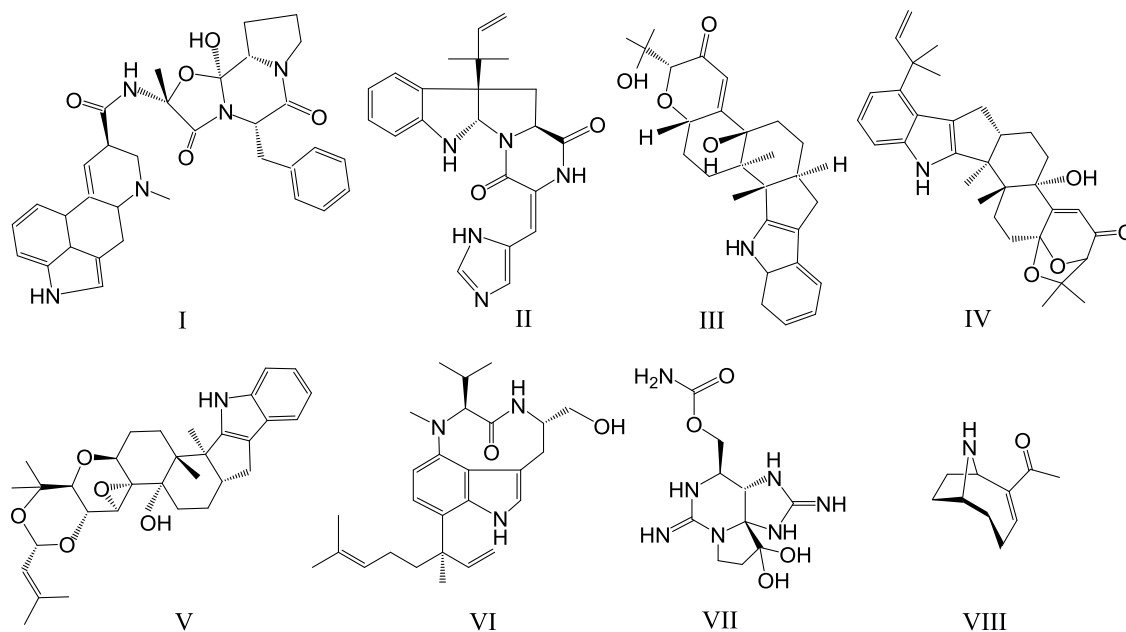


Рис. 1. Строение микотоксинов из группы алкалоидов (www.chemspider.com):

I – эрготамин; II – рокефортин; III – паксиллин; IV – β -афлатрем;

V – терпендол С; VI – лингбиатоксин; VII – сакситоксин; VIII – анатоксин-а

Такие соединения (I, II) имеются среди часто встречающихся МТ, на содержание которых в кормах и продуктах питания в России введены нормативные ограничения [4]. Недавно выявлена большая группа производных индол-терпена (III-V) с разными формами треморгенного и нейротоксичного действия [5]. Широкий набор алкалоидов присутствует среди метаболитов токсигенных видов цианобактерий – сине-зеленых водорослей, вызывающих цветение водоемов [6]. Многие цианотоксины (VI-VIII) накапливаются в рыбе и моллюсках и представляют опасность в микро- и наномолярных концентрациях. Приведенные формулы азаетероциклических соединений поясняют невозможность их предварительного сорбционного блокирования, поскольку при попадании в сильноокислую среду желудка они подвергаются протонированию, обретают растворимость и способность беспрепятственно всасываться в стенки тонкого кишечника.

Нами изучены процессы связывания азаетероциклических МТ с помощью пектинсодержащих кормовых фитодобавок и энтеросорбентов [7–9]. Проблема в том, что пектины малоактивны в сильно-кислой среде желудка (рН 1,5–2,5) в связи с подавлением диссоциации $-\text{COOH}$ -групп галактуронатного звена. Связывание алкалоидов необходимо провести за время прохождения пищи (кормовой массы) в дуоденальной зоне кишечника (двенадцатиперстная кишка) с благоприятным уровнем рН от 4,5 до 6,8 ед. Однако длина этого отдела кишечника у человека составляет всего 25–30 см, у коров 120 см, и длительность сорбции не превышает 20 мин для человека и 30 мин для крупного рогатого скота.

Состояние пектиновых веществ в структуре растительных тканей можно охарактеризовать как трехмерную сетку, в которой соседние макромолекулы сшиты ионами Ca^{2+} в блоки, получившие образное наименование «egg-box» (яичный лоток) [11], а отходящие от них гибкие сегменты оплетают ортогонально ориентированные микрофибриллы целлюлозы с примыкающими к ним макромолекулами гемицеллюлоз. Размеры ячеек в надмолекулярной структуре пектинов определяются толщиной микрофибриллярных пучков, а плотность образования межмолекулярных сшивок обусловлена содержанием звеньев в кальций-пектатной форме.

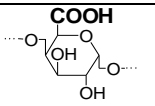
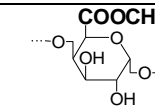
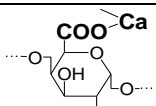
При расщеплении клетчатки в ходе пищеварительного процесса пектин сохраняет нативную блочно-ячеистую структуру. Для ее изучения при выделении пектинов из растительного сырья мы используем метод

энзимной деструкции их полимерного окружения и экстракцию дистиллированной водой с наложением ультразвуковой кавитации [12]. Идентификацию продуктов методом ИК-спектроскопии, сопоставление их химического строения и сорбционных свойств проводим в сравнении с коммерческими образцами яблочного и цитрусового пектина.

Основными показателями химического строения пектинов для моделирования их надмолекулярной структуры являются приведенные в *табл. 1* данные соотношения незамещенной (**Н**), метоксилированной (**М**) и кальций-пектатной (**К**) форм звеньев, а также молекулярной массы (**Мм**) и степени полимеризации (**СП**).

Таблица 1

Физико-химические характеристики препаратов пектина

Образец пектина	Долевое содержание звеньев, отн. ед.			Мм, кДа	СП
	 символы: Н ; ○	 символы: М ; ●	 символы: К ; ●		
P_A	0,31	0,50	0,19	36,9 ± 0,9	192 ± 5
P_C	0,15	0,65	0,20	13,0 ± 0,6	68 ± 3
P_{Rh}	0,28	0,53	0,19	23,3 ± 0,6	120 ± 3
P_{BP}	0,16	0,61	0,23	64,2 ± 0,4	365 ± 2
P_{FF}	0,30	0,55	0,15	81,5 ± 3,4	425 ± 17
P_{FP}	0,22	0,58	0,20	29,1 ± 0,5	150 ± 3
P_{FX}	0,27	0,37	0,36	151,6 ± 1,9	790 ± 10
P_{FS}	0,56	0,34	0,10	21,1 ± 0,4	110 ± 2

Препараты пектина: **P_A** – яблочный (Apple); **P_C** – цитрусовый (Citrus); **P_{Rh}** – ревеня (Rhubarb); **P_{FF}** – льняного волокна (Flax fiber); **P_{FP}** – паренхимы льна (Flax parenchyma); **P_{FX}** – ксилемы льна (Flax xylem); **P_{FS}** – оболочки семян льна (Flaxseed shell).

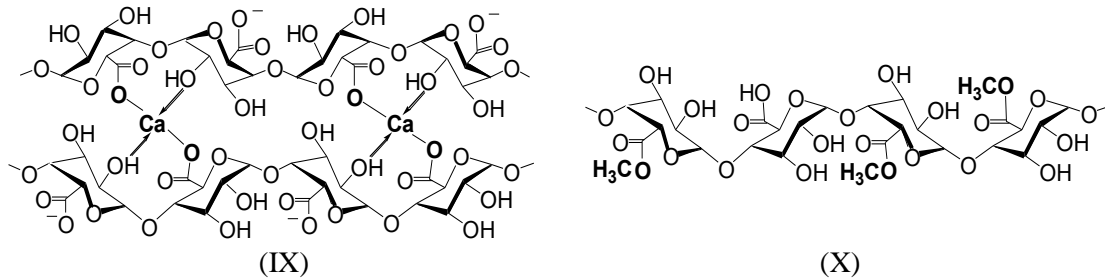
Первую группу показателей получали методом ИК-спектроскопии пленок исходного пектина и серии вспомогательных образцов с последовательным переводом **Н**- и **М**-форм галактуронатного звена в **К**-форму с регистрацией изменений интенсивности полосы валентных колебаний связи карбоксильных групп с ионами металлов при 1620 см⁻¹ [9, 12]. Показатели **Мм** и **СП** определяли по данным характеристической вязкости гидрогелей пектина [8, 12]. Для получения характеристик индивидуальных макромолекул полиуронидов растительное сырье подвергали предварительному декальцинированию в растворе комплексона.

Данные *табл. 1* демонстрируют, что состав звеньев в гомогалактуронатных доменах существенно различается не только для разных ботанических источников, но и для разных растительных тканей, например, в стебле льна-долгунца. Пониженный уровень **Мм** и **СП** для образца **P_C** отражает деструкцию полимера в условиях промышленных способов выделения пектина [12]. Аналогично различие в значениях показателей для образцов **P_{FP}** и **P_{FF}** связано с протеканием при луговом расстиле льносолемы расщепления пектинов в клетках паренхимы, окружающей лубоволокнистые пучки. Наибольший размер макромолекул зафиксирован для пектинов ксилемы – древесной части льняного стебля.

В пищевой индустрии основное внимание уделяется содержанию **М**-звеньев с подразделением пектинов на низко- или высокометоксилированные, когда доля **М**-формы соответственно меньше или больше половины. Мы акцентируем внимание на важную роль **К**-звеньев, которые обуславливают структуру зерен ассоциированного полимера, образующихся как в технологии получения препаратов пектина, так и естественным путем в ходе пищеварительного процесса.

Специфика формирования межмолекулярных ассоциатов в тканях растений и их разрушения при выделении пектинов детально рассмотрена ранее [7, 12]. В основе моделирования блочно-ячеистой структуры ассоциатов лежат следующие исходные постулаты. Звено в **К**-форме не может находиться

индивидуально в составе гибкого сегмента ячейки, поскольку ион Ca^{2+} взаимодействует одновременно с двумя карбоксильными группами в соседних макромолекулах. Одиная сшивка цепей неустойчива, и стабильное конформационное образование «egg-box» возникает только при наличии нескольких мостиков в соседних звеньях [11]. В формировании блока участвуют как минимум четыре звена (по два в каждой цепи), создающие пару в **K**- и **H**-формах (IX). Единичное (неспаренное) **H**-звено может присутствовать в составе гибких ответвлений только в окружении метоксилированных остатков (X).



Наиболее вероятное расположение структурных субъединиц в ассоциатах прокомментируем на примере образца P_{Rh} [9]. При $\text{СП} = 120$ (табл. 1) макромолекула имеет совокупный состав звеньев $\text{K}_{24}\text{H}_{32}\text{M}_{64}$ при следующем распределении: $[(\text{K}_3\text{H}_2)(\text{M}_8\text{H}_2)]_8$. Каждая цепочка проходит через 8 блоков, которые состоят из трех **K**-звеньев и двух встроенных между ними **H**-звеньев. Блоки разделены ответвлениями из восьми **M**-звеньев с двумя встроенными **H**-звеньями.

В табл. 1 **K**-, **H**-, и **M**-звеньям присвоены графические символы, используемые на рис. 2 для визуализации наиболее вероятного формирования сшивающих блоков и ответвлений в структуре P_{Rh} и P_{C} . Схемы раскрывают отличия объектов, теряющиеся за цифровой информацией о соотношении форм звеньев. Дефицит **H**-формы в препарате P_{C} обуславливает меньшую длину участков, задействованных в блоках «egg-box». Пропорционально сокращается длина гибких сегментов, что влияет на способность полимера к набуханию при увлажнении.

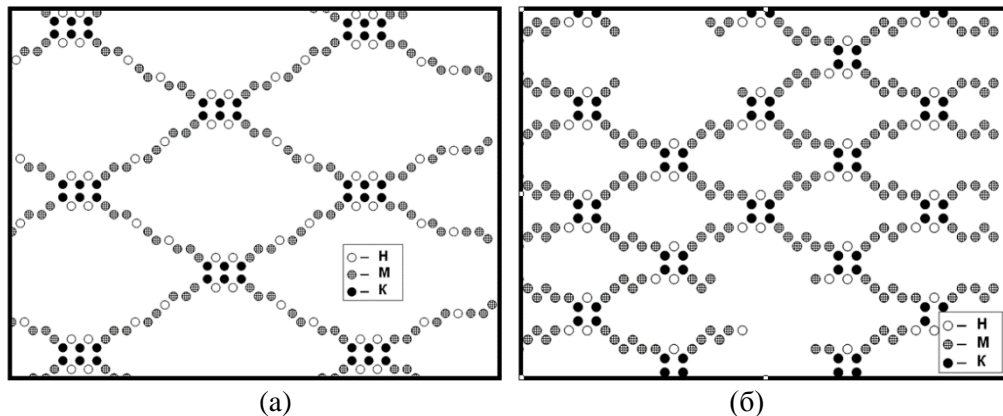


Рис. 2. Схемы сетчатой структуры пектина в образцах P_{Rh} (а) и P_{C} (б)

Высокая ажурность ячеек в образце P_{Rh} обуславливает отмечаемые специалистами гиперэластичные свойства гелей на основе камéды ревеня. В таком состоянии полиурониды функционируют в пищеварительной системе при употреблении сравниваемых пектинсодержащих продуктов. Разная ажурность структуры пектинов проявляется и во взаимодействии с монтмориллонитом (**Mt**).

При получении комплексов пектина с монтмориллонитом ($\text{P}_i\text{-Mt}$) проводили предварительное насыщение минерала водой [9], что обеспечивает подвижность его слоистой структуры. При введении в кашу **Mt** сухого пектина происходит перераспределение влаги, но ее количества недостаточно для полной гидратации фазы пектина. Это ограничивает взаимное проникновение фаз и сохраняет активное состояние внутреннего объема межслоевых пространств **Mt**. Возможность интеркаляции в бикомпонентных системах подтверждают результаты рентгеноструктурных исследований высушенных образцов (рис. 3а).

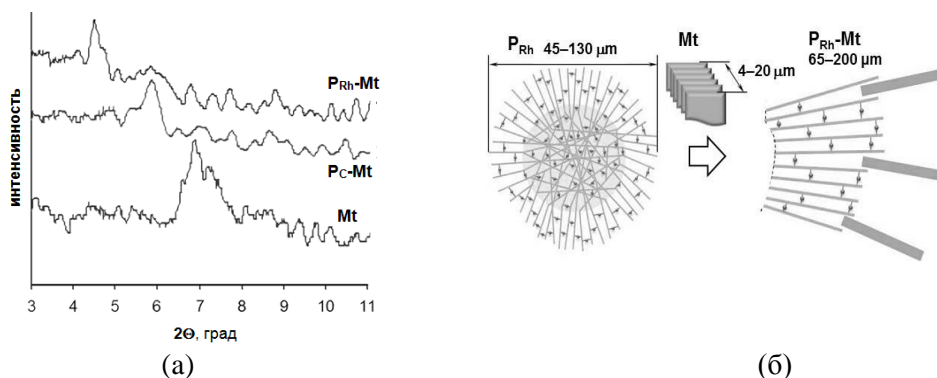
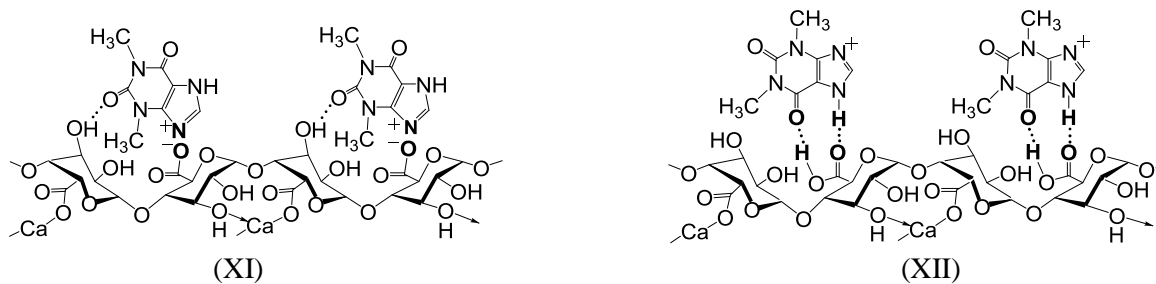


Рис. 3. Рентгенограммы исходного **Mt** и образцов **P_C-Mt** и **P_{Rh}-Mt** в соотношении 90:10 (а) и схема формирования интеркалированного пектинового зерна (б)

Смещение пика базального рефлекса в сторону меньших углов дифракции 2θ в присутствии **P_{Rh}** отражает увеличение межплоскостного расстояния между кремний-кислородными слоями **Mt** с 1,28 до 1,96 нм, т. е. толщина межслоевых пространств возрастает с 0,32 до 1,0 нм. Смещение максимума дифракции $2\theta \rightarrow 5,9$ град на рентгенограмме образца **P_C-Mt** характеризует увеличение толщины галереи до 0,6 нм. Различия в эффекте интеркаляции согласуются со спецификой структуры полимеров. Наличие **H**-звеньев с диссоциирующим карбоксилем в гибких сегментах **P_{Rh}** (рис. 2а) обуславливает проявление сил электростатического отталкивания между участками макромолекул. Интеркаляция напряженных концевых фрагментов в структуру набухшего **Mt** (рис. 3б) обеспечивает после удаления влаги фиксацию слоистого минерала в более раздвинутом состоянии, чем малонапряженные концевые участки макромолекул **P_C**.

Кинетику иммобилизации МТ изучали по результатам статической сорбции теofilлина. Как в гранулах пектина, так и в частицах гибридных композитов для взаимодействия с теofilлином доступны все **H**-звенья, в т. ч. в составе сшивающих блоков. В умеренно кислой среде в дополнение к ионным взаимодействиям положение сорбата фиксируется водородной связью с гидроксилом соседнего галактуронатного звена (XI). В сильнокислой среде сорбция происходит за счет образования водородных связей с недиссоциированной карбоксильной группой (XII).



Различие проявляемой сорбционной активности пектинов и влияния добавок **Mt** (10 мас. %) продемонстрировано на рис. 4 на примере образцов **P_C** и **P_{Rh}**.

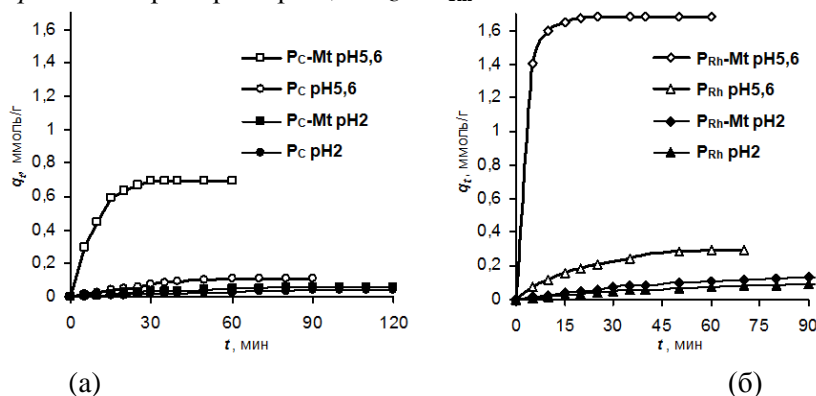


Рис. 4. Кинетика адсорбции теofilлина при 40 °С образцами **P_C** и **P_C-Mt** (а), **P_{Rh}** и **P_{Rh}-Mt** (б)

При анализе кинетики сорбции важно учитывать, что растворы пектинов представляют собой коллоидные системы, в которых массоперенос подразделяется на стадии внешней диффузии к поверхности частиц и внутренней диффузии в структуре набухшего зерна. Описание сорбционных кривых в рамках диффузионных моделей Бойда, Морриса – Вебера и гелевой диффузии позволяет провести количественное сравнение препаратов пектина по показателям длительности t_1 и степени достижения равновесия F_1 на стадии внешнедиффузионного лимитирования, констант скорости диффузии k_D на 1-й и 2-й стадиях массопереноса, эффективного коэффициента диффузии D в структуре набухшего зерна (табл. 2).

Таблица 2

Диффузионные параметры сорбции теофиллина образцами пектина (40 °С, рН 5,6)

Пектин	Модель внешней диффузии Бойда		Модель Морриса – Вебера (ммоль г ⁻¹ мин ^{-0,5})		Модель гелевой диффузии $D \cdot 10^{11}$, м ² с ⁻¹
	t_1 , мин	$F_1 = q_e/q_t$	$k_{D1} \cdot 10^2$	$k_{D2} \cdot 10^2$	
P_A	25	0,42	3,22	2,73	1,07
P_C	25	0,48	1,55	1,29	1,15
P_{Rh}	15	0,54	4,96	3,87	5,11
P_{FF}	15	0,66	5,11	4,06	4,50
P_{FP}	10	0,42	3,22	2,61	1,02
P_{FX}	15	0,33	2,67	2,17	0,27
P_{FS}	20	0,86	11,19	5,37	7,25

Диффузионное торможение, характерное для базовых образцов **P_A** и **P_C**, может быть снижено при использовании препаратов с более рыхлой надмолекулярной структурой. Лучшие результаты выделены в табл. 2 заливкой. При этом более половины и даже 86 % от уровня равновесной сорбционной ёмкости q_e может быть реализовано при прохождении дуоденальной зоны кишечника.

Кинетику сорбционного взаимодействия при рН 2 адекватно описывает модель псевдопервого порядка (ППП), а при рН 4,5-6,5 – модель псевдвторого порядка (ПВП). Анализ позволяет определить величину предельной сорбционной ёмкости субстрата q_e^* и констант скорости сорбции k_1 и k_2 , которые выборочно приведены в табл. 3 для некоторых полимерных и гибридных сорбентов.

Таблица 3

Кинетические параметры сорбции теофиллина

Сорбент пектин / композит	Модель ППП (рН 2) $k_1 \cdot 10^3$, мин ⁻¹	Модель ПВП (рН 5,6)	
		k_2 , Г·ммоль ⁻¹ ·мин ⁻¹	q_e^* , ммоль·г ⁻¹
P_A	6,1	0,13	0,29
P_{FX}	0,4	0,051	0,33
P_{FS}	1,7	0,20	0,68
P_C / P_C-Mt (90:10)	6,0 / 9,0	0,07 / 0,14	0,24 ^{*)}
P_{Rh} / P_{Rh}-Mt (90:10)	19,0 / 36,0	0,17 / 0,48	0,97^{*)}
P_{FF} / P_{FF}-Mt (80:20)	6,4 / 18,0	0,13 / 0,54	0,37 / 1,85
P_{FP} / P_{FP}-Mt (80:20)	4,8 / 11,0	0,13 / 0,37	0,27 / 1,44

Примечание: ^{*)} – указаны значения k_2 для варианта, моделирующего предварительное прохождение желудка (рН 2, 120 мин) с последующим анализом кинетики сорбции при рН 5,6.

Выявлена зависимость для прогнозирования уровня предельной сорбционной ёмкости пектиновых субстратов по данным их химического строения:

$$q_e^* = 0,00887 + 1,1289 \cdot \mathbf{H} - 0,1022 \cdot \mathbf{K} - 0,1417 \cdot \mathbf{M}, \quad r = 0,9365.$$

В структуре гибридных сорбентов частицы интеркалированного **Mt** являются своеобразным концентратом, повышающим содержание сорбата во внешней среде для пектинового ядра, что интенсифицирует связывание теофиллина на адсорбционных центрах пектина, обеспечивая прирост q_e^* в 5–6 раз.

В заключение отметим практическую ценность проводимого исследования. Она состоит в том, что представленные в *табл. 3* характеристики сорбционных свойств объектов позволяют обосновать дозировку пектинсодержащих препаратов для предупреждения микотоксикоза из расчета удельного связывания алкалоидов в организме человека (XIII) и сельскохозяйственных животных (XIV):

$$q_{20} = 20 / \left(\frac{1}{k_2 q_e^{*2}} + \frac{20}{q_e^*} \right) \quad (\text{XIII}); \quad q_{30} = 30 / \left(\frac{1}{k_2 q_e^{*2}} + \frac{30}{q_e^*} \right) \quad (\text{XIV}).$$

Исследования выполнены в рамках Государственного задания ИХР РАН (проект № 122040500050-5) с использованием приборной базы ЦКП «Верхневолжский региональный центр физико-химических исследований».

Библиография

1. Ахмадышин Р.А., Канарский А.В., Канарская З.А. Микотоксины – контаминанты кормов // Вестник Казанского технол. ун-та. 2007. № 2. С. 88–103.
2. Gruber-Dorninger C. et al. Emerging mycotoxins: beyond traditionally determined food contaminants // J. Agric. Food Chem. 2017. V. 65, N 33. P. 7052–7070.
3. Chatterjee S. et al. Mycotoxin monitoring, regulation and analysis in India: A success story // Foods. 2023. V. 12. P. 705.
4. Tutelyan V. Deoxynivalenol in cereals in Russia // Toxicol. Lett. 2004. V. 153. P. 173–179.
5. Kozak L. et al. Tremorgenic and neurotoxic paspaline-derived indole-diterpenes: biosynthetic diversity, threats and applications // Appl. Microbiol. Biotechnol. 2019. V. 103. P. 1599–1616.
6. Сухаревич В.И., Поляк Ю.М. Глобальное распространение цианобактерий: Причины и последствия (обзор) // Биология внутренних вод. 2020. № 6. С. 562.
7. Koksharov S.A., Aleeva S.V., Lepilova O.V. The influence of the structure of pectin substances of flax fodder supplements on absorption binding of azaheterocyclic mycotoxins // Russ. J. Gen. Chem. 2021. V. 91, S. 1. P. S60–S83.
8. Кокшаров С.А., Алеева С.В., Лепилова О.В. Кинетика сорбции теофиллина в гидрогелях пектинов с различающимися структурными свойствами // Журн. физ. хим. 2022. Т. 96, № 4. С. 562–569.
9. Kornilova N. et al. Enterosorbents based on rhubarb biomass with a hybrid polymer-inorganic coating for the immobilization of azaheterocyclic mycotoxins // Coatings. 2023. V 13, N 4. 684.
10. Pascale N., Respondek F. Pectin, a traditional dietary and prebiotic ingredient // Agro Food Industry Hi Tech. 2021. V. 32, N 1. P. 17–20.
11. Powell D.A. et al. Conformations and interactions of pectins. Influences of residue sequence on chain association in calcium pectate gels // J. Mol. Biol. 1982. V. 155, N 4. P. 517–531.
12. Lepilova O.V. et al. Supramolecular structure of banana peel pectin and its transformations during extraction by acidic methods // Int. J. Biol. Macromol. 2023. V. 242, Pt. 2. P. 124616.