

ЛИТЕРАТУРА

1. Формирование массовой индустрии композиционных материалов для повышения конкурентоспособности гражданских секторов экономики. Минпромторг РФ. Режим доступа: http://csr-nw.ru/files/csr/file_content_1234.pdf. (дата обращения 03.10.2016).
2. Корнилова Н.Л., Чистобородов Г.И., Федосов С.В. Будущее отрасли – технический текстиль, функциональные материалы с новыми или улучшенными эксплуатационными свойствами // Изв. вузов. Технология текст. пром-сти. 2014. № 4 (352). С. 24-28.
3. Федосов С.В., Акулова М.В., Кокшаров С.А. и др. Теоретические основы теплопереноса в перспективных технологиях производства материалов текстильной и строительной отраслей промышленности // Изв. вузов. Технология текст. пром-сти. 2015, № 6. С. 170-175.
4. Кокшаров С.А., Корнилова Н.Л., Федосов С.В. Получение армированных композиционных материалов с нанопористым текстильным носителем и щеточным строением полимерного межфазного слоя // Росс. хим. ж. 2015. Т. LIX. №3. С. 112-123.
5. Кокшаров С.А. О применении метода динамического светового рассеяния для оценки размера наночастиц в бикомпонентном гидрозоле // Изв. вузов. Химия и хим. технология. 2015. Т. 58. № 1. С. 33-36.
6. Кокшаров С.А., Корнилова Н.Л., Федосов С.В. Модификация полиэфирного волокна для создания композитных материалов с регулируемой жесткостью // Изв. вузов. Химия и химическая технология 2016. Т. 59 № 6. С. 105-111.

УДК 677.11.08

ЗАДАЧИ НАНОСТРУКТУРНОЙ МОДИФИКАЦИИ БИОПОЛИМЕРНОЙ СИСТЕМЫ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ЭФФЕКТИВНЫХ ФИТОСОРБЕНТОВ

THE PROBLEMS OF NANOSTRUCTURED BIOMODIFICATION FOR BIOPOLYMERIC SYSTEM IN PLANT RAW TO OBTAINING OF EFFECTIVE PHYTOSORBENTS

С.В. Алеева, О.В. Лепилова
S.V. Aleeva, O.V. Lepilova

Институт химии растворов им. Г.А. Крестова РАН (г. Иваново)
G.A. Krestov Institute of Solution Chemistry of the Russian Academy of Sciences (Ivanovo)
E-mail: sva@isc-ras.ru

Оценено специфическое влияние обработки биомассы травянистых растений адсорбирующимися целлюлолитическими ферментами и их композицией с протеазами на изменение удельной поверхности материалов, степени структурного высвобождения пектиновых веществ и сорбционной емкости по белковому маркеру. Методом корреляционного анализа дифференцирован вклад механизмов физической и химической адсорбции при поглощении альбумина и показаны возможности увеличения хемосорбционной составляющей в 1,4...1,5 раза на фоне возрастания роли структурного фактора в 4,2...5,1 раза.

Ключевые слова: клетчатка; полиурониды; структурный белок; локальная биодеструкция; структурное высвобождение пектина; удельная поверхность; физическая адсорбция; хемосорбция; белковосвязывающая способность.

The specific effect of treatment for herbaceous plants biomass by cellulolytic enzymes and their compositions with the proteases for the change of the materials specific surface area, to the degree of structural pectin liberation and to the sorption capacity to protein marker having been evaluated. By the correlation analysis method the contribution of physical and chemical adsorption at the albumin sorption having been differentiated and the possibility of increasing the chemisorption of 1.4...1.5 times at the increasing role of structural factors 4.2...5.1 times having been shown.

Keywords: herbaceous plants; fiber; polyuronide; structural protein; local biodegradability; structural pectin liberation; specific surface area; physical adsorption; chemisorption; ability to bind protein.

В настоящее время производство фитокомпозитов для диетического питания является интенсивно развивающейся отраслью биохимии и биотехнологии, которая ориентирована на повышение ценности и усиление положительного влияния препаратов и снижение их возможных побочных воздействий. Среди имеющегося ассортимента диетических добавок и фитопродуктов широкое распространение получили, так называемые, «пищевые волокна» [1-3], сырьевой базой для получения которых могут служить, в том числе, травянистые растения. В состав пищевых волокон входят некрахмальные полисахариды, такие как целлюлоза, гемицеллюлоза, пектины, а также лигнин, относящийся к классу гетероцепных биополимеров, и полипептиды.

Важнейшей функцией диетических фитокомпозитов на основе пищевых волокон является проявление ими свойств энтеральных сорбентов, специфика действия которых заключается в способности связывать экзо- и эндогенные вещества в желудочно-кишечном тракте путем адсорбции, абсорбции, ионного обмена, комплексообразования [4]. При этом в отличие от сорбентов в целом, для группы энтеросорбентов важное значение имеет не только общая характеристика сорбционной емкости (количество вещества, которое может поглотить сорбент на единицу своей массы), но также и способность сорбировать соединения с разным размером и массой молекулы.

Физико-химические свойства растительных материалов определяются их полимерным составом. Посредством воздействия на определенные полимерные спутники целлюлозы биохимическими методами пространственно локализованного воздействия белковых катализаторов можно обеспечить достижение требуемого уровня заданных функциональных характеристик на определенных стадиях обработки биополимерных систем [5]. Так, на примере облагораживания льняных волокнистых материалов, в работах [6,7] показано, что целенаправленная ферментативная деструкция пектиновых веществ в поверхностном слое инкрустов и в зонах межклетных образований, препятствующих дроблению лубоволокнистых пучков, при сохранении гемицеллюлоз обеспечивает достижение уникального сочетания высокой тонины и прочности льняной пряжи. Разрушение полимерных компонентов срединных пластинок, включая лигнин и природные окрашенные соединения, способствует достижению высокого уровня белизны текстильных материалов при обеспечении улучшенных капиллярных свойств [8,9]. Деструкция лигнина в одревесневших межклетных образованиях технического волокна с сохранением разветвленного лигно-углеводного комплекса в структуре полимерного матрикса клеточной стенки элементарных волокон открывает новые возможности придания льняным полотнам уникальных эффектов перманентного (устойчивого к стиркам) мягчения, а также формирования ворсовой фактуры [10,11].

Отработанные подходы к использованию ферментативного катализа в процессах наноструктурной модификации биополимерных систем и методы оптимизации состава полиферментных композиций могут получить дальнейшее развитие для решения задач повышения физиологической активности травянистых растений и создания на их основе высокоэффективных фитокомпозитных сорбентов. В этом случае также необходимо определить структурный уровень модификации растительной биомассы с учетом ее полимерного состава и распределения в полимерной матрице.

Объектами исследования является биомасса следующих видов травянистых растений: зверобой *Hyperici herba*, солодка *Glycyrrhiza glabra*, ревень *Rhéum officinále* и лопух *Arctium*. Характеризуя расположение полимеров в клетчатке растительного сырья (см. рис.1), следует отметить, что нейтральные углеводы (целлюлоза и гемицеллюлозы), пектиновые вещества и полипептиды ориентированы в трех взаимно перпендикулярных направлениях.

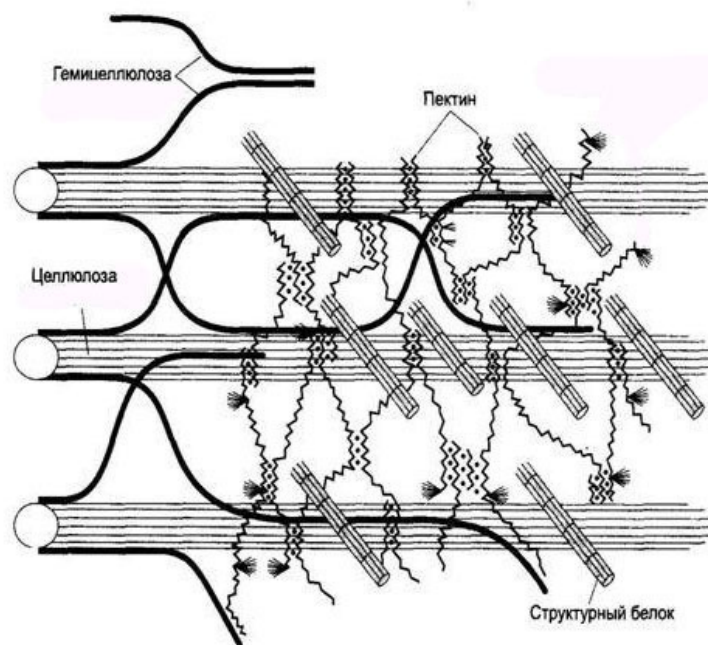


Рис.1. Структура углеводно-белкового комплекса в клетчатке растительного сырья [12]

Логично ожидать, что для развития внутренней поверхности растительных тканей, способной сорбировать соединения с крупными размерами и большой массой молекулы, необходимо добиться точечной деструкции нейтральных полисахаридов с максимальным обеспечением сохранности разветвленной структуры пектиновых веществ. С этих позиций целесообразно использовать препараты целлюлазного действия, такие как В200 мiх 3В (ЦП 1), в котором основной деполимеризующий компонент эндоглюканаза обладает способностью к прочному адсорбционному связыванию с целлюлозным субстратом и локализованному разрушению целлюлозных фибрилл по механизму «множественной атаки». Кроме того, фермент проявляет активность к β -глюканам и ксилоглюканам, составляющих основу гемичеселлюлозных соединений, которые ориентированы вдоль оси фибрилл целлюлозы.

Пектиновые вещества, проявляющие выраженную хемосорбционную активность [13], целесообразно не только сохранить, но и максимально повысить их доступность для взаимодействий с сорбируемыми соединениями. Дополнительную подвижку внутренней структуры растительных тканей может обеспечить разрушение белковых соединений, ортогонально расположенных по отношению к целлюлозе и взаимодействующих с карбоксильными группами макромолекул пектинов, скрепляя тем самым поперечно сшитую сетку углеводно-белкового комплекса, который составляет основу межфибриллярного матрикса. В этой связи вторым вариантом активации процессов разрушения клетчатки и высвобождения пектиновых веществ является применение целлюлазного препарата в модификации ЦП 2 с дополнительным введением в его состав протеолитических ферментов, которые обладают субстратной специфичностью в отношении структурных белков клеточной стенки.

Для решения задач, направленных на обеспечение развития внутренней поверхности биомассы растительных материалов, проведена сопоставительная оценка эффективности применения ферментных композиций ЦП 1 и ЦП 2 в процессах обработки анализируемых объектов исследования.

Модифицирование структуры растительных объектов препаратами ЦП 1 или ЦП 2 осуществляли по режиму, который предусматривает обработку биомассы в растворе ферментных композиций при температуре $40 \pm 0,1^\circ\text{C}$, pH 6,5 и модуле ванны 1:10 при варьировании продолжительности воздействия $t=1,5 \dots 2,5$ ч с последующей промывкой водой.

Состояние поровой структуры образцов травянистых растений оценено по показателю площади удельной поверхности мезопоровых пространств $S_{уд(мезо)}$, определяемому методом сорбции метиленового голубого в соответствии с ГОСТ 13144-79. Структурное высвобождение пектиновых веществ $G_{ПВ}$ охарактеризовано по изменению количества полимера, извлекаемого раствором щавелевой кислоты, обладающей селективным экстрагирующим действием [14]. Изменение сорбционной активности субстратов A_B оценено по отношению к модельному белковому соединению - сывороточный альбумин с молекулярной массой 66000.

На примере четырех видов травянистых растений получены согласующиеся результаты влияния биомодификации на эффективность развития внутренней поверхности поровых пространств в образцах растительных материалов и повышения в их структуре доступности пектиновых веществ, а также на улучшение белковосвязывающей способности объектов по мере увеличения длительности биообработки. В качестве примера на рис.2 представлены полученные результаты для биомодифицированной растительной массы зверобоя.

Полученные данные подтверждают, что структурная модификация растительных объектов под действием целлюлолитических ферментов препарата ЦП 1 обеспечивает эффективное увеличение показателя $S_{уд(мезо)}$ в 2,0...2,5 раза относительно исходного уровня для немодифицированных растительных объектов. Очевидно, что такое резкое увеличение площади удельной поверхности мезопоровых пространств связано не только с разрушением фибрилл целлюлозы, а прежде всего, с разрывом гемицеллюлозных «стяжек». Модификация структуры сопровождается повышением в 1,15...1,3 раза доступности пектинов для химических взаимодействий, что позитивно отражается на эффективности сорбции белкового маркера. Однако, не смотря на структурные преобразования, система по-прежнему остается прочно сшитой гликопротеиновой полиуронидной сеткой. В частности, сравнительный анализ кинетики биохимического воздействия ферментными препаратами ЦП 1 и ЦП 2 наглядно демонстрирует, что в первом случае даже после 2,5 часов биомодификации уровень развития удельной поверхности биомассы значительно уступает значению величины $S_{уд(мезо)}$ для варианта обработки, предусматривающего 1,5-часовое воздействие препаратом ЦП 2 с протеолитической поддержкой.

Причина столь высокой эффективности применения биопрепарата ЦП 2 заключается в возможности его воздействия на биополимерный матрикс одновременно в двух направлениях, обеспечивая с одной стороны расщепление нейтральных углеводов клетчатки, а с другой – деструкцию белковых компонентов связующего вещества. Это обуславливает не только 4...5-кратное возрастание величины $S_{уд(мезо)}$, но также способствует практически полному высвобождению полиуронидов в структуре растительной матрицы, что проявляется в значительном повышении хемосорбционной способности пектинов в отношении модельного сорбата - альбумина.

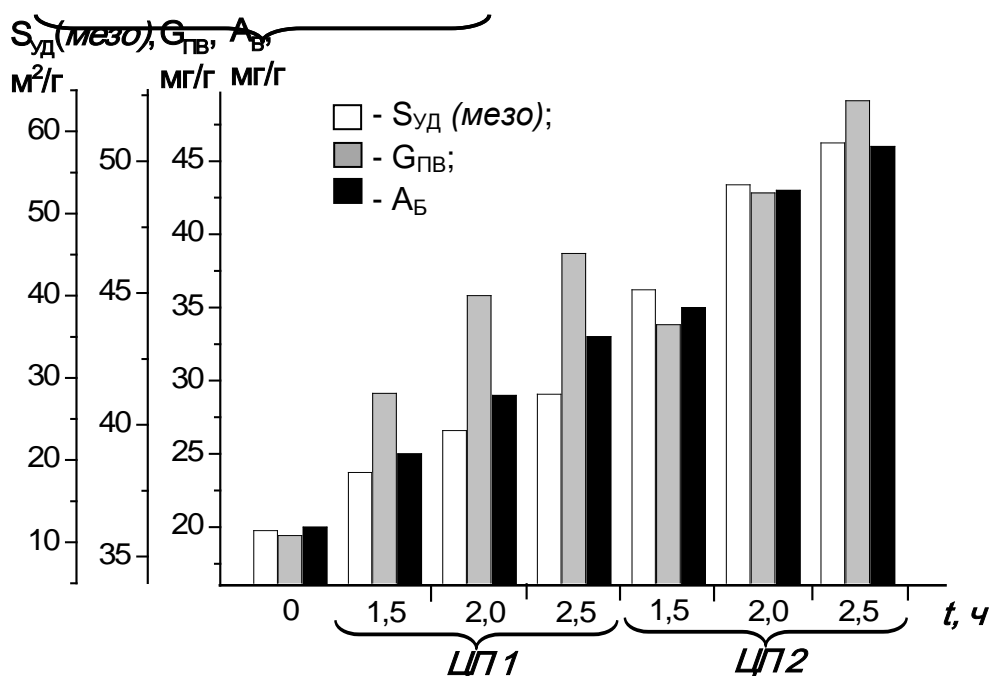


Рис. 2. Результаты оценки площади удельной поверхности мезопорových пространств, структурного высвобождения пектиновых веществ и изменения сорбционной емкости биомассы зверобоя *Hyperici herba* по отношению к белковым соединениям

Применение белкового маркера позволяет количественно охарактеризовать эффективность механизмов физической адсорбции на поверхности субстрата и межчастичных взаимодействий полипептидов с функциональными группами полиуронидной составляющей клетчатки.

На базе экспериментальных данных, полученных для всех анализируемых видов травянистых растений, проведена дифференциация вклада механизмов физической и химической адсорбции в совокупный результат поглощения растительным субстратом белкового соединения. Математическая обработка данных проведена методом регрессионного анализа с использованием программы Statgraphics PLUS 2000 Professional. Зависимости, которые позволяют с высокой степенью аппроксимации описать экспериментальные данные и закономерности в изменении адсорбционной емкости сравниваемых субстратов, имеют согласующий вид:

$$\text{- зверобой: } A_B^z = 0,0554 + 4,6508 \cdot G_{ПВ} + 0,3706 \cdot S_{уд}(\text{мезо}), R = 0,9971 \quad (1)$$

$$\text{- солодка: } A_B^c = 0,0318 + 3,6232 \cdot G_{ПВ} + 0,9129 \cdot S_{уд}(\text{мезо}), R = 0,9860 \quad (2)$$

$$\text{- ревеня: } A_B^p = 0,0378 + 5,1031 \cdot G_{ПВ} + 0,3646 \cdot S_{уд}(\text{мезо}), R = 0,9959 \quad (3)$$

$$\text{- лопух: } A_B^l = 0,0115 + 5,0901 \cdot G_{ПВ} + 0,4726 \cdot S_{уд}(\text{мезо}), R = 0,9876 \quad (4)$$

Сопоставительный анализ значений приращенных множителей в уравнениях (1-4) позволяет сделать следующие заключения:

- преобладающая роль в проявлении белковосвязывающей способности растительной биомассы принадлежит «пектиновому компоненту» при $G_{ПВ}$;
- свободный член уравнения имеет пренебрежимо малые значения, что позволяет сопоставить вклад химического и физического факторов в адсорбционные характеристики сравниваемых растительных образцов.

Обобщенная корреляционная зависимость с учетом всей совокупности анализируемых растительных объектов имеет вид:

$$A_B^{ОБЩ} = 0,0905 + 5,2660 \cdot G_{ПВ} + 0,3952 \cdot S_{уд}(мезо), R = 0,9912 \quad (5)$$

Для исходных растительных объектов и материалов, биомодифицированных препаратами ЦП 1 и ЦП 2, осуществлена дифференциация влияния структурного высвобождения пектиновых веществ и развития элементов поровой структуры субстрата на изменение его адсорбционной емкости по белку. Результаты представлены на рис. 3.

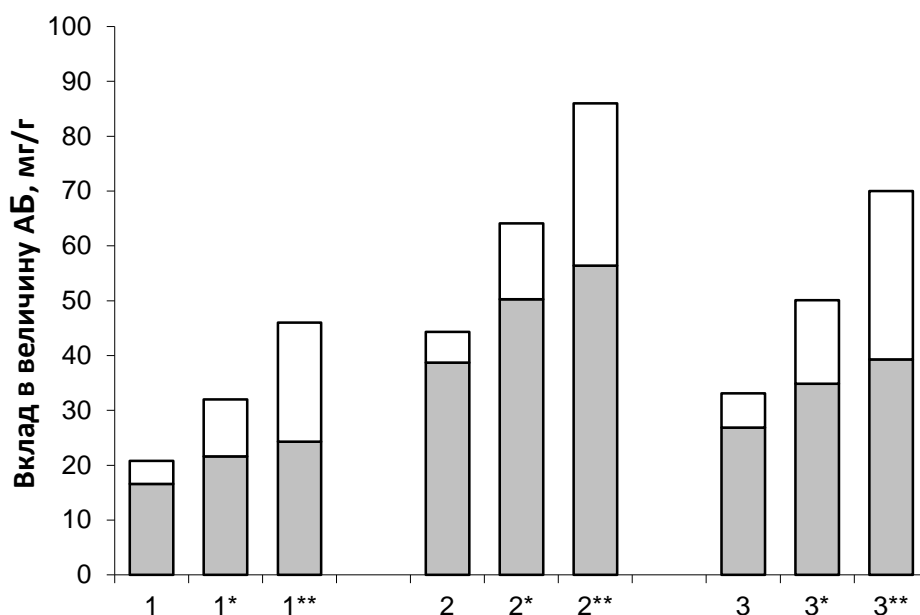


Рис. 3. Дифференциация вклада доступности пектиновых веществ (серый сегмент столбца - $G_{ПВ}$) и развития элементов поровой структуры субстрата (белый сегмент столбца - $S_{уд}$) в достигаемую величину адсорбционной емкости по белку для исходных травянистых субстратов (1-3) и образцов, биомодифицированных препаратами ЦП 1 (1*-3*) и ЦП 2 (1**-3**):

- 1,1*,1** - зверобой *Hyperici herba*;
- 2,2*,2** - ревеня *Rhéum officinale*;
- 3,3*,3** - лопух *рода Arctium*.

Представленные данные позволили количественно оценить роль определяющего фактора в проявлении сорбционных свойств исследуемых растительных субстратов в отношении белковых соединений. Превалирующей характеристикой является хемосорбционная способность биомассы. Вклад доступности пектиновых веществ в исходных образцах растительных материалов в величину совокупного показателя A_B составляет 70...87 % при весомости структурного фактора на уровне 13...30 %.

Относительно уровня значений для исходных растительных материалов ферментативная обработка препаратом ЦП 1 позволяет увеличить в 1,2...1,3 раза количество сорбированных белков, удерживаемых в структуре биомассы пектиновыми веществами. Однако относительный вклад хемосорбционной способности образцов снижается, поскольку обеспечивается развитие дополнительных механизмов удержания белков при их физической сорбции. Нетрудно видеть, что вклад структурного фактора в совокупный результат A_B возрастает в 2,3...2,5 раза за счет развития мезопоровых пространств в структуре полимера.

Эффективное структурное высвобождение пектинов при комбинированном воздействии на полимеры клетчатки препаратом ЦП 2 способствует повышению сорбции белков в 1,7...1,8 раза относительно уровня для исходной биомассы. При этом наряду с увеличивающимся приростом хемосорбционной составляющей в 1,4...1,5 раза, важным результатом биомодификации является возрастание в 4,2...5,1 раза вклада физической

адсорбции в общий показатель поглощения белка. В этом случае доля структурного фактора для белкового маркера может достигать 55 %.

Таким образом, в ходе исследований установлено, что реализация разработанных приемов пространственно локализованного воздействия ферментов на определенные полимерные спутники целлюлозы растительной массы обеспечивает избирательное расщепление примесных соединений, способствующее технологически необходимому развитию мезопоровых пространств и повышению хемосорбционной активности полиуронидных соединений.

ЛИТЕРАТУРА

1. Asp N.-G. Dietary fibre analysis – an overview // Eur. J. Clin. Nutr. 1995. Vol. 49. N 3 (Suppl.). P. S42-S47.
2. Englyst H.N., Hudson G.J. The classification and measurement of dietary carbohydrates // Food Chem. 1996. Vol. 57. N 1. P. 15-21.
3. Дудкин М.С., Щелкунов Л.Ф. Пищевые волокна – новый раздел химии и технологии пищи // Вопросы питания. 1998. № 3. С. 36-38.
4. Хотимченко Ю.С., Одинцова М.В., Ковалев В.В. Полисорбовит. – Томск: Изд-во НТЛ, 2001. 132 с.
5. Кокшаров С.А., Алеева С.В. Биохимическая модификация полисахаридов в процессах текстильного производства // Научные основы химической технологии углеводов / Под ред. А. Г. Захаров. – М.: Изд. ЛКИ. 2008. С. 401-523.
6. Aleeva S.V., Koksharov S.A. Chemistry and technology of biocatalyzed nanoengineering of linen textile materials // Russian Journal of General Chemistry. 2012. Vol. 82. N 13. P. 2279-2293.
7. Koksharov S.A., Aleeva S.V., Lepilova O.V. Nanostructural biochemical modification of flax fiber in the process of its preparation for spinning // AUTEX Research Journal. 2015. Vol. 15. N 3. P. 215-225.
8. Лепилова О.В., Алеева С.В., Кокшаров С.А. Влияние продуктов ферментативной деструкции углеводных примесей льняного волокна на разрушение лигнина // Известия вузов. Химия и химическая технология. 2007. Т. 50. № 7. С. 71-74.
9. Алеева С.В., Кокшаров С.А. Исследование и описание изменения капиллярности льняной ткани в условиях ферментативной обработки // Известия вузов. Химия и химическая технология. 2012. Т.55. № 3. С. 91-95.
10. Алеева С.В. Влияние содержания лигнина и гемицеллюлоз на жесткость льняных тканых полотен // Известия вузов. Технология текстильной промышленности. 2013. № 5 (347). С. 129-131.
11. Алеева С.В., Кокшаров С.А. Оценка гигроскопических и теплофизических свойств льняных полотен с новыми эффектами ворсовой фактуры // Известия вузов. Технология текстильной промышленности. 2015. № 5 (358). С. 43-48.
12. Lucas W.J., Wolf S. Plasmodesmata: the intercellular organelles of green plants // Trends in Cell Biology. 1993. N 3. P. 308-315.
13. Chistyakova G.V., Koksharov S.A. Features of pectin biodegradation in the presence of sodium ethylenediaminetetraacetate // Russian Journal of General Chemistry. 2014. Vol. 84. N 4. P.763-766.
14. Лепилова О.В., Алеева С.В., Кокшаров С.А. Оценка степени извлечения и свойств пектина лопуха *Arctium lappa* L. при экстрагировании цитратом аммония // Химия растительного сырья. 2015. № 2. С. 249-251.