

УДК 547.458

**ПЕКТИНОВЫЕ ПОЛИСАХАРИДЫ СВЕКЛОВИЧНОГО ЖОМА: ПОЛУЧЕНИЕ, МОДИФИКАЦИЯ И ОЦЕНКА КОМПЛЕКСООБРАЗУЮЩЕЙ СПОСОБНОСТИ****С.Т. Минзанова С.Т.<sup>1,2</sup>, Е.В. Чекунков<sup>1</sup>, До Тхи Бич Нгок<sup>2</sup>, И.Р. Низамеев<sup>1</sup>, В.А. Милюков<sup>1</sup>**<sup>1</sup> Институт органической и физической химии им. А.Е. Арбузова ФИЦ Казанский научный центр РАН, Казань, Россия<sup>2</sup> Казанский национальный исследовательский технологический университет, Казань, Россия

Ухудшение экологической обстановки обуславливает интерес ученых к растительным биополимерам как энтеросорбентам [1, 2]. Большое внимание привлекают пектиновые полисахариды (пектины) – биополимеры полиуронидной природы, в основе которых лежит полигалактуронозная кислота, представляющая собой линейную углеродную цепь с  $\alpha$ -1,4-связями между остатками D-галактопиранозилуронозной кислоты. Пектин – это уникальный биологически активный продукт, обладающий иммуномодулирующим, противовоспалительным, антибактериальным, противоопухолевым действием и антиоксидантной активностью [3]. Функциональные свойства пектинов (комплексобразующая и гелеобразующая способность) обуславливают их широкое применение в пищевой промышленности (E440) в качестве загустителей и стабилизаторов, а также в медицине в качестве детоксикантов. Исследованию сорбционных свойств и комплексобразующей способности пектинов и их производных посвящено большое число научных работ [4–11]. Именно пектины придают свойства катионообменника растительным волокнам, являющимся неотъемлемым компонентом полноценной человеческой пищи, и способствуют выведению из организма тяжелых металлов (Pb, Cd, Hg) [5]. Авторами [6] изучена сорбция ионов кадмия апельсиновыми и протонированными обработкой разбавленной соляной кислотой корками, а также корками после извлечения пектина в сравнении с выделенным из них пектином. В работе итальянских исследователей [7] использовался гель полигалактуроната кальция для моделирования накопления тяжелых металлов (Cr (III), Pb, Cd, Zn) в апоплазме корней растений. Установлено, что полигалактуронат кальция-железа (III) связывает соли мышьяковой кислоты. При значениях pH в диапазоне 2.5–6.2 в составе геля образуется нерастворимый арсенат железа  $\text{FeAsO}_4$  [8]. Коллективом авторов [9] исследован препарат для удаления антибиотиков из толстого кишечника, представляющий собой частицы активированного угля, взвешенные в массе геля пектината цинка. По мнению авторов, пектинат с содержанием цинка 0.08 мг/мг образует гель, достаточно стабильный в условиях желудочно-кишечного тракта, и в то же время не снижающий сорбционную активность угля. В статье [10] сообщается об обратимости комплексобразования пектина с тяжелыми металлами: комплексы распадаются при низких значениях pH из-за возрастания конкуренции с протонами. Исследование эффективности связывания ионов двухвалентной ртути альгинатом, пектатом и полигалактуронатом кальция показало, что наилучшим сорбентом для  $\text{Hg}^{2+}$  в кислой среде (pH 3.3) при 25 °C является пектат кальция. Альгинат обеспечивает самый низкий уровень сорбции, кальциевая соль полигалактуронозной кислоты занимает промежуточную позицию [11]. Известно, что коммерческие пектины получают из кожуры цитрусовых или яблочных выжимок, являющихся побочными продуктами консервной промышленности. Яблочные выжимки содержат 10–15 % пектина в пересчете на абсолютно сухой вес (АСВ) сырья, цитрусовая кожура содержит 20–30 %.

В работе изучена комплексобразующая способность пектинов, выделенных из свекловичного жома – многотоннажного отхода свеклосахарного производства России. Конкурентноспособность свекловичного жома как пектинсодержащего сырья обусловлена многотоннажностью и дешевизной. При среднем выходе сахара 12–13 % свеклосахарное производство России дает к массе переработанной свеклы 80–83 % сырого свекловичного жома.

**Цель исследования** – обоснование подходов к выделению пектина из свекловичного жома и его модификации, сравнительная оценка комплексобразующей способности полученных свекловичных пектинов.

**Объекты исследования:** свекловичный жом в качестве сырья для получения функционального продукта – пектина, в котором на сегодняшний день в Российской Федерации существует импортная зависимость. Элементный состав определен на элементном CHNS-O высокотемпературном анализаторе EuroEA3028-NT-OM (Италия) и представлен в таблице 1.

Таблица 1 – Элементный анализ свекловичного жома

Элементный состав / сырье	C, %	H, %	N, %	Содержание белков, %
Свекловичный жом гранулы	42,45	8,18	1,49	9,31

**Результаты.** Традиционно выделение пектина из свекловичного жома нами проводилось в реакторах с лопастной мешалкой согласно технологии, включающей последовательные этапы экстракции измельченного высушенного сырья теплой водой, растворами органических кислот, фильтрации, концентрирования экстракта, осаждения пектина и отделения его центрифугированием, сушки и измельчения [4, 12]. Нами было исследовано влияние температуры на выход пектина из свекловичного жома, согласно полученным данным (табл. 2), температура 75 °С является оптимальной и обеспечивает максимально возможный практический выход целевого продукта (~10 %) с позиции минимизации экономических затрат.

Таблица 2 – Зависимость выхода пектина на АСВ свекловичного жома

Температура, °С	Гидролизующий агент	Гидромодуль	Продолжительность, ч	Выход пектина на АСВ сырья, %
65.0	0.75 % C <sub>2</sub> H <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	1:7	5,0	7,01
75.0	0.75 % C <sub>2</sub> H <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	1:7	5,0	9,89

Научная основа предлагаемого в настоящей статье подхода заключается в комплексной механо-акустической обработке сырья и проведении процесса гидролиза-экстракции пектина из свекловичного жома в роторно-пульсационном аппарате (РПА) «Авиамотор» (рис. 1).



А



Б

Рисунок 1 – Внешний вид свекловичного жома (А) и процесс гидролиза-экстракции в роторно-пульсационном аппарате «Авиамотор» (Б)

По литературным данным [4], использование РПА позволяет интенсифицировать процесс гидролиза – экстракции пектина из растительного сырья, что также получило подтверждение в наших исследованиях (табл. 3). Целесообразность интенсификации обусловлена значительным уменьшением прямых энергозатрат, обусловленных сокращением продолжительности обработки сырья в РПА с 5 часов до 20 минут, снижением температуры процесса гидролиза-экстракции пектина до 45 °С и возможностью использования в качестве гидролизующих агентов не только органических, но и пищевых кислот, в частности, лимонной кислоты.

Результаты исследования физико-химических свойств свекловичных пектинов и их комплексообразующей способности в сравнительном аспекте представлены в таблице 4. Масса связанного свинца в контрольном и рабочих опытах рассчитывалась согласно методике определения комплексообразующей способности пектинов [4].

Таблица 3 – Зависимость выхода свекловичного пектина от гидролизующего агента

Гидролизующий агент	Скорость вращения ротора, об/мин	Гидромодуль	Продолжительность обработки, мин	T, °C	Выход пектина на АСВ сырья, %
РПА 0.75 % C <sub>2</sub> H <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	3000	1:7	20	45	7,51
РПА 0.75 % C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>7</sub>	3000	1:7	20	45	7,00

Таблица 4 – Результаты оценки комплексообразующей способности пектинов

Образец	Условия процесса гидролиза-экстракции		Степень этерификации пектина, %	Комплексообразующая способность, мг Pb <sup>2+</sup> /г
	Гидролизующий агент	Температура, °C		
Пектин свекловичный (ПСВ)	0.75 % p-p C <sub>2</sub> H <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	65,0	41,98	186,84
Пектин свекловичный	0.75 % p-p C <sub>2</sub> H <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	75,0	51,32	103,09
ПСВ (РПА, 3000 об/мин)	0.75 % p-p C <sub>2</sub> H <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	45,0	48,21	187,77
ПСВ (РПА, 3000 об/мин)	0.75 % p-p C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>7</sub>	45,0	26,17	<b>259,00</b>
Пектат натрия	5 % NaOH	–	–	<b>343,18</b>
Цитрусовый пектин		–	60,00	123,03

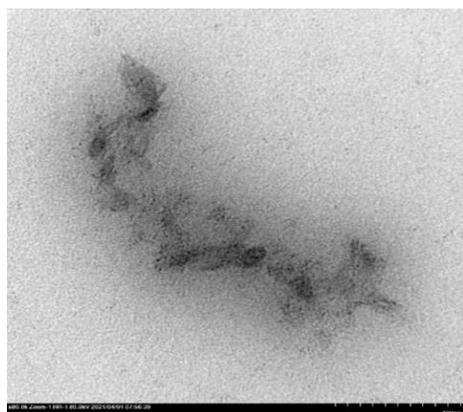


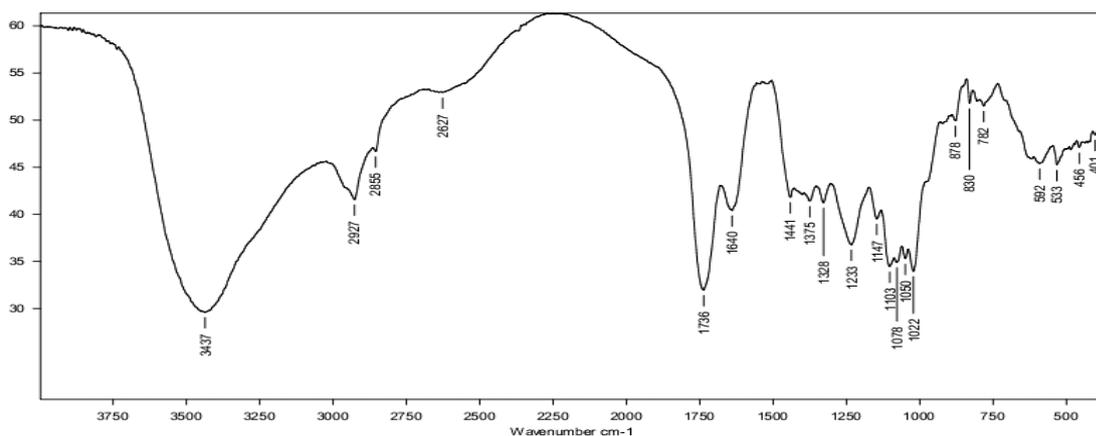
Рисунок 2 – Изображение свекловичного пектина, полученное с помощью ПЭМ

Сравнительный анализ комплексообразующей способности пектинов из свекловичного жома, полученных в условиях, представленных в таблицах 2, 3, свекловичного пектина после омыления 5 % раствором NaOH, а также цитрусового пектина (Германия) показал, что по сравнению с пектином из свекловичного жома цитрусовый пектин имеет более низкую комплексообразующую способность (123.03 мг Pb<sup>2+</sup>/г); обработка щелочью увеличивает ее до значения 343.18 мг Pb<sup>2+</sup>/г по сравнению с нативным свекловичным пектином. Максимальной комплексообразующей способностью, равной 259.0 мг Pb<sup>2+</sup>/г, обладает пектин, полученный обработкой свекловичного жома 0.75 %-ным раствором лимонной кислоты в условиях механо-акустического воздействия, при этом данный пектин имеет самую низкую степень этерификации (табл. 5). Показано, что пектиновые вещества, полученные из одного и того же источника (свекловичный жом) различными способами,

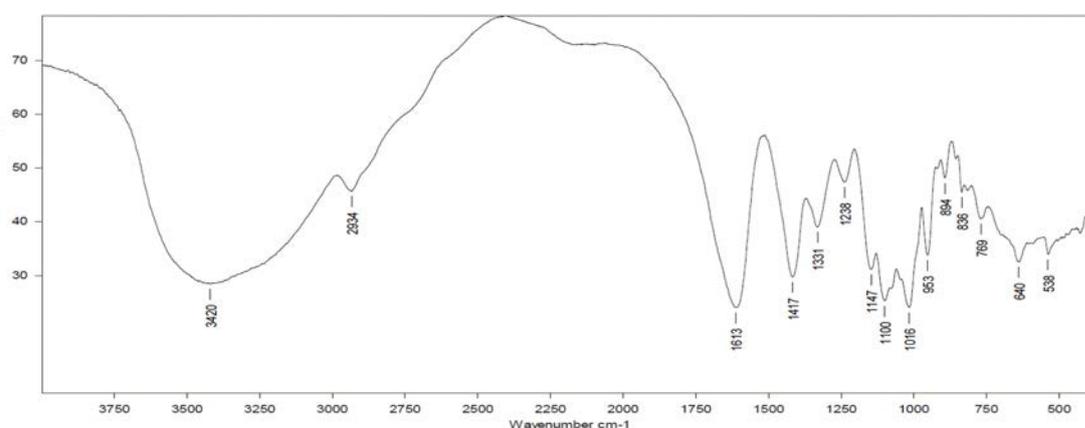
отличаются друг от друга степенью этерификации, т. к. содержат различное число свободных и этерифицированных карбоксильных групп.

В последнее время в литературе для характеристики морфологии пектиновых полисахаридов и их производных широко используются изображения ПЭМ [13]. Нами изображения ПЭМ получены с помощью просвечивающего электронного микроскопа Philips / FEI (FEI Co, США), оснащенного цифровой камерой Getan (Getan Inc, Калифорния, США) при ускоряющем напряжении 80 кВ. Показано (рис. 2), что образец свекловичного пектина (РПА, 0.75 % C<sub>2</sub> H<sub>2</sub> O<sub>4</sub>) представлен неупакованной линейной макромолекулой, имеющей боковые ответвления.

ИК спектры пектинов зарегистрированы на ИК-спектрометре Tensor 27 (Bruker, Германия) с разрешением 1 см<sup>-1</sup> в диапазоне 400–4000 см<sup>-1</sup> в таблетках KBr. В ИК спектре пектата натрия наблюдается полоса поглощений валентных колебаний групп С=О в ионизированной форме, в ИК спектре пектина (РПА, C<sub>6</sub> H<sub>8</sub> O<sub>7</sub>) наблюдается преобладание групп С=О в кислотной форме (рис. 3А). ИК спектры всех выделенных нами свекловичных пектинов содержат характеристичные полосы, соответствующие структурным фрагментам коммерческого стандартного цитрусового пектина (ОН, СН, СООН, СООР, СО, пиранозный цикл).



А



В

Рисунок 3 – ИК спектры: (А) свежловичного пектина (РПА,  $C_6 H_8 O_7$ ); (В) пектата натрия

Впервые исследована комплексообразующая способность свежловичного пектина (РПА,  $C_6 H_8 O_7$ ) с ионами кобальта и получены водорастворимые металлокомплексы (ПГNaCo), степень замещения ионов натрия на ионы кобальта составляет 20 %. Найдено содержание Co и Na в комплексах: Co – 2,16 %, Na – 1,92 %. Синтез ПГNaCo на основе свежловичного пектина проводился по способу [14], разработанному для получения металлокомплексов на основе цитрусового пектина.

Изучена антимикробная активность ПГNaCo на основе свежловичного пектина по отношению к штаммам грамположительных бактерий: *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*; грамотрицательных бактерий: *Escherichia coli*, грибов: *Trichophyton mentagrophytes var. gypsum* и *Candida albicans* в сравнительном аспекте с ПГNaCo на основе цитрусового пектина.

Показано, что ПГNaCo на основе цитрусового пектина в 5 %-ой концентрации более эффективный, проявляет антимикробную активность ко всем исследованным тест-штаммам, ПГNaCo на основе свежловичного пектина (концентрация 5 %) проявляет активность по отношению к *Bacillus cereus* и *Escherichia coli*.

### Заключение

Внедрение в практику технологических модулей по производству пектина в районах с развитой сахарной промышленностью не только решение эколого-экономических проблем, но и возможность получения необходимого отечественного функционального продукта, обладающего высокой комплексообразующей способностью. Благодаря этому свойству, пектин включают в рацион питания людей, имеющих контакт с тяжелыми металлами и радионуклидами. По данным Всемирной организации здравоохранения оптимальная рекомендуемая доза пектина составляет 4 г в сутки, в условиях радиоактивного загрязнения до 16 г. в сутки [4, 12].

В рамках проведенных исследований из свекловичного жома – многотоннажного отхода сахарной промышленности при различных условиях процесса гидролиза-экстракции получены и охарактеризованы пектиновые полисахариды с последующей оценкой их комплексообразующей способности. Полученные результаты демонстрируют, что наибольшей комплексообразующей способностью по отношению к ионам свинца обладает пектин, деэтерифицированный обработкой щелочью (343.18 мг Pb<sup>2+</sup>/г), что обусловлено гидролизом метиловых эфиров и освобождением карбоксильных групп – сайтов связывания свинца. Высокая комплексообразующая способность наблюдается у пектина, полученного обработкой свекловичного жома раствором лимонной кислоты в РПА (259.0 мг Pb<sup>2+</sup>/г). Благодаря комплексообразующей способности, пектины можно использовать как органическую матрицу для доставки в организм необходимых макро- и микроэлементов. На основе свекловичного пектина (РПА, C<sub>6</sub> H<sub>8</sub> O<sub>7</sub>) получены металлокомплексы с ионами кобальта, проявившие антимикробную активность по отношению к *Bacillus cereus* и *Escherichia coli*.

Следует отметить, что способность пектиновых полисахаридов связывать тяжелые металлы целесообразно и перспективно учитывать при разработке эффективных промышленных биосорбентов для очистки высокотоксичных промышленных сточных вод и проектировании очистных сооружений, что согласуется с литературными данными [15].

**Работа выполнена в рамках приоритетного направления развития науки, технологий и техники в Российской Федерации «Рациональное природопользование» (указ Президента РФ № 899 от 7 июля 2011 г.), способствует решению экологической проблемы и расширению спектра функциональных продуктов.**

#### Литература

1. Wai W.W., AlKarkhi A.F.M., Easa A.M. Comparing biosorbent ability of modified citrus and durian rind pectin // Carbohydrate Polymers, 2010. N. 79 (11). – P. 584–589.
2. Arn Mignon, et al. Superabsorbent polymers: A review on the characteristics and applications of synthetic, polysaccharide-based, semi-synthetic and ‘smart’ derivatives // European Polymer Journal, 2019. N. 117. – P. 165–178.
3. Minzanova S.T., et al. Biological Activity and Pharmacological Application of Pectic Polysaccharides: A Review // Polymers, 2018. N. 10(12). – P. 1407–37. Doi 10.3390/polym10121407.
4. Голубев, В.Н., Пектин: химия, технология, применение – М.: Издательство АТН РФ, 1995. – 390 с.
5. Rabindra Prasad Dhakal, Kedar Nath Ghimire, Katsutoshi Inoue, Masayuki Yano, Kenjiro Makino. Acidic polysaccharide gels for selective adsorption of lead (II) ion // Separation and Purification Technology, 2005. N. 42. – P. 219–225.
6. Schiewer S., Iqbal M. The role of pectin in Cd binding by orange peel biosorbents: A comparison of peels, depectinated peels and pectic acid. // Journal of Hazardous Materials, 2010. N. 177. P. 899–907.
7. Conrad K. Correlation between the distribution of lignin and pectin and distribution of sorbed metal ions (lead and zinc) on coir (*Cocos nucifera* L.) // Bioresource Technology, 2008. N. 99 (17). – P. 8476–8484.
8. Deiana S., Deiana L., Premoli A., Senette C. Accumulation and mobilization of arsenate by Fe(III) polyions trapped in a Calypogalacturonate network // Plant Physiology and Biochemistry, 2009. N. 47 (7). – P. 615–622.
9. Khoder M., Tsapis N., Huguet H., Besnard M., Gueutin C., Fattal E. Removal of ciprofloxacin in simulated digestive media by activated charcoal entrapped within zinc-pectinate beads // International Journal of Pharmaceutics, 2009. N. 379 (2). – P. 251–259.
10. Schiewer S., Patil S.B. Modeling the effect of pH on biosorption of heavy metals by citrus peels. // Journal of Hazardous Materials, 2008. N. 157 (1). – P. 8–17.
11. Cataldo S. et al. Mercury(II) removal from aqueous solution by sorption onto alginate, pectate and polygalacturonate calcium gel beads. A kinetic and speciation based equilibrium study // Reactive & Functional Polymers, 2013. N. 73 (1). – P. 207–217.
12. Донченко Л.В., Фирсов Г.Г. Пектин: основные свойства, производство и применение, М.: ДеЛи, 2007. – 276 с.
13. Agata Jakóbk-Kolon, Joanna Bok-Badura, Krzysztof Karoń, Krzysztof Mitko, Andrzej Milewski. Hybrid pectin-based biosorbents for zinc ions removal // Carbohydrate Polymers. 2017. N. 169. – P. 213–219.
14. Minzanova S.T., et al. New metal complexes of citrus pectin with magnesium ions: synthesis, properties, and immunomodulatory activity // Russian Chemical Bulletin, 2021. Vol. 70. No. 3. P. 433–443. DOI: 1066–5285/21/7003–0433.
15. Ульянова В.В. Очистка сточных вод от ионов тяжелых металлов сорбентами на основе модифицированных отходов керамического производства и сельхозпереработки. Автореферат на соискание ученой степени кандидата технических наук по специальности 03.02.08 – Экология (в химии и нефтехимии), Саратов, 2015. – 16 с.