ISSN 2074-9414 (Print)
ISSN 2313-1748 (Online)

https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-4-733-742

Оригинальная статья
http://fptt.ru

Оптимизация условий мицеллярно-ферментативной экстракции пектина из плодов боярышника (*Crataegus monogyna* Jacq.)

А. Е. Новикова, Л. Н. Скрыпник*

Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта, Калининград, Россия

Поступила в редакцию: 11.06.2021

Принята после рецензирования: 02.07.2021
Принята в печать: 01.12.2021

**e-mail: LSkrypnik@kantiana.ru*
© А. Е. Новикова, Л. Н. Скрыпник, 2021

Аннотация.
Введение. Большая часть коммерчески доступного пектина выделяется из яблок и цитрусовых. Некоторые виды дикорастущих плодов, в том числе боярышника, отличаются высоким содержанием пектиновых веществ, характеризующихся ценными нутрицевтическими свойствами. Целью исследования стало изучение, моделирование и оптимизация процесса мицеллярно-ферментативной экстракции пектина из плодов боярышника.
Объекты и методы исследования. Мицеллярно-ферментативную экстракцию из плодов боярышника проводили с использованием 1 % раствора поверхностно-активного вещества Полисорбат-20 и смеси ферментов – целлюлазы и ксиланазы (в соотношении 4:1). Для оптимизации параметров экстракции использовали методологию поверхности отклика с дизайном эксперимента по статистическому плану Бокса-Бенкена. Температуру, время экстракции и модуль варьировали на трех уровнях: 20, 40 и 60 °C, 120, 180 и 240 мин, 15, 30 и 45 мл/г. Влияние параметров на выход пектина оценивали с помощью квадратичной математической модели в виде полиномиального уравнения второго порядка.
Результаты и их обсуждение. Рассчитаны уравнения регрессии и поверхности отклика, позволяющие предсказывать выход пектина при заданных параметрах экстракции с вероятностью 98,14 %. Установлены оптимальные условия мицеллярно-ферментативной экстракции пектина: температура – 41 °C, время – 160 мин, модуль – 32 мл/г. Расчетный выход пектина в оптимальных условиях составил 14,9 %, экспериментальный – 15,2 ± 0,4 %. Содержание галактуроновой кислоты в выделенном пектине составляло 58,5 %, степень этерификации – 51,5 %. Полученный пектин отличался высокой комплексообразующей способностью по отношению к ионам меди (564 мг Cu^{2+}/г), свинца (254 мг Pb^{2+}/г) и кобальта (120 мг Co^{2+}/г).
Выводы. Использование мицеллярно-ферментативной экстракции позволяет выделять из плодов боярышника пектин, который может использоваться как в пищевой промышленности, так и для разработки продуктов функционального назначения.

Ключевые слова. Боярышник, пектин, галактуроновая кислота, этерификация, экстракция, тяжелые металлы

Для цитирования: Новикова А. Е., Скрыпник Л. Н. Оптимизация условий мицеллярно-ферментативной экстракции пектина из плодов боярышника (*Crataegus monogyna* Jacq.) // Техника и технология пищевых производств. 2021. Т. 51. № 4. С. 733–742. https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-4-733-742.

Original article

Available online at http://fptt.ru/eng

Combined Surfactant and Enzyme-Assisted Extraction of Pectin from Hawthorn (*Crataegus monogyna* Jacq.) Fruits

Anastasia E. Novikova, Liubov N. Skrypnik*

Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russia

Received: June 11 2021

Accepted in revised form: July 02, 2021
Accepted for publication: December 01, 2021

**e-mail: LSkrypnik@kantiana.ru*
© A.E. Novikova, L.N. Skrypnik, 2021

Abstract.
Introduction. Commercial pectin is usually obtained from apples or citrus fruits. However, some wild fruits, such as hawthorn,

are also rich in pectin with valuable nutritional and medical properties. The research objective was to study and improve the process of combined surfactant and enzyme-assisted extraction of pectin from hawthorn fruits.
Study objects and methods. The study involved a 1% solution of Polysorbate-20 surfactant and a mix of two enzymes, namely cellulase and xylanase, in a ratio of 4:1. The response surface methodology with the Box-Behnken experimental design improved the extraction parameters. The experiment featured three independent variables – temperature, time, and solvent-to-material ratio. They varied at three levels: 20, 40, and 60°C; 120, 180, and 240 min; 15, 30, and 45 mL per g. Their effect on the parameters on the pectin yield was assessed using a quadratic mathematical model based on a second order polynomial equation.
Results and discussion. The response surface methodology made it possible to derive a second order polynomial regression equation that illustrated the effect of extraction parameters on the yield of polyphenols. The regression coefficient (R^2 = 98.14%) and the lack-of-fit test ($P > 0.05$) showed a good accuracy of the model. The optimal extraction conditions were found as follows: temperature = 41°C, time = 160 min, solvent-to-material ratio = 32 mL per 1 g. Under the optimal conditions, the predicted pectin yield was 14.9%, while the experimental yield was 15.2 ± 0.4%. The content of galacturonic acid in the obtained pectin was 58.5%, while the degree of esterification was 51.5%. The hawthorn pectin demonstrated a good complex-building ability in relation to ions of copper (564 mg Cu^{2+}/g), lead (254 mg Pb^{2+}/g), and cobalt (120 mg Co^{2+}/g).
Conclusion. Combined surfactant and enzyme-assisted extraction made improved the extraction of pectin from hawthorn fruits. The hawthorn pectin can be used to develop new functional products.

Keywords. Hawthorn, pectin, galacturonic acid, esterification, extraction, heavy metals

For citation: Novikova AE, Skrypnik LN. Combined Surfactant and Enzyme-Assisted Extraction of Pectin from Hawthorn (*Crataegus monogyna* Jacq.) Fruits. Food Processing: Techniques and Technology. 2021;51(4):733–742. (In Russ.). https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-4-733-742.

Введение

Разработка функциональных пищевых продуктов с полезными для здоровья свойствами является одной из основных целей исследований в области пищевых наук [1]. В последние несколько десятилетий внимание рынков к функциональным продуктам, обладающим нутрицевтическими свойствами, т. е. способным снижать риск развития различных заболеваний, активизировало научные исследования по изучению и экстракции биологически активных соединений из растений и продуктов растительного происхождения. Фрукты, ягоды и овощи содержат целый комплекс различных питательных фитонутриентов. Они способствуют предотвращению сердечно-сосудистых, нейродегенеративных и онкологических заболеваний, вызываемых развитием в клетках окислительного стресса [2–4].

Помимо культивируемых растений, широким потенциалом в качестве источников биологически активных соединений обладают лекарственные дикорастущие растения и травы, характеризующиеся полезными для здоровья свойствами, которые хорошо известны на протяжении веков [5, 6]. Одним из общепризнанных лекарственных растений является боярышник (*Crataegus* spp.). Растения боярышника представляют собой разветвленный кустарник или небольшое дерево с колючками и шипами, принадлежащее к семейству *Rosaceae* и подсемейству *Rosaceae*. Боярышник произрастает во всем мире и насчитывает около 280 видов, среди которых наиболее распространены *Crataegus monogyna*, *Crataegus laevigata*, *Crataegus mexicana* и др. [7].

Различные части боярышника, в частности плоды, цветы и листья, богаты питательными веществами. Они ассоциируются со многими полезными для здоровья лекарственными или нутрицевтическими свойствами: антимикробными, противовоспалительными, антиоксидантными, противораковыми и антикоагулянтными [8].

В медицине плоды и цветки боярышника используются как кардиотонические средства, защищающие от стенокардии, гипертонии, сердечной недостаточности, сердечной аритмии, миокардита, артериосклероза, бессонницы и беспокойства [8, 9]. Лекарственное действие плодов и цветков боярышника связано с содержанием в них флавоноидов (преимущественно гиперозида), хлорогеновой и кофейной кислот, тритерпеновых сапонинов (урсоловой и олеаноловой кислот) [10, 11].

Плоды боярышника также богаты пектинами. Пектин – широко используемая пищевая добавка, которая выполняет функции загустителя и желирующего агента [12]. Пектин боярышника отличается высокой вязкостью и более эффективен при образовании и стабилизации эмульсий, чем коммерчески доступный пектин из кожуры цитрусовых [13]. Установлено, что пектиновые полисахариды и олигосахариды боярышника проявляют кардиопротекторное действие, включая защиту сердечно-сосудистой системы, эндотелий-зависимую вазорелаксацию, улучшение коронарного кровообращения и гиполипидемические эффекты [14].

К настоящему моменту для экстракции пектина из различных продуктов растительного происхождения использовались как классические методы (экстракция минеральными кислотами), так и современные (ультразвуковая, микроволновая и ферментативная экстракция). Ферментативная экстракция, основанная

Таблица 1. Переменные факторы и уровни их варьирования

Table 1. Variable factors and their variation levels

Обозначение фактора	Фактор	Уровни		
		−1	0	+1
X_1	Время, мин	120	180	240
X_2	Модуль, мл/г	15	30	45
X_3	Температура, °С	20	40	60

на использовании ферментативных реакций, в результате которых разрушается клеточная стенка и увеличивается проницаемость клеток, обладает рядом преимуществ перед другими видами экстракции. Она позволяет повысить выход экстракции пектина и может использоваться при низких температурах, снижая потребление энергии [15]. Кроме того, одним из новых подходов в экстракции фитокомпонентов является использование поверхностно-активных веществ (ПАВ). Они уже успешно использовались для экстракции лектинов, алкалоидов, антрахинонов, изофлавонов, гидроксикоричных кислот, суммы фенольных соединений и антиоксидантов [16]. Мицеллы, которые образуются при определенной концентрации ПАВ, способны устанавливать химические и физические взаимодействия с гидрофильными или липофильными веществами. Пектин принадлежит к полисахаридам, которые имеют различную химическую структуру с широким диапазоном полярности. Это позволяет предположить, что применение ПАВ при его экстракции также позволит повысить выход пектина из растительного сырья. Анализ имеющихся в литературе данных показал, что ранее для экстракции пектина не применялась мицеллярно-ферментативная экстракция, включающая использование в качестве экстрагентов растворов, содержащих как поверхностно-активные вещества, так и ферменты.

В связи с этим целью исследования стало изучение, моделирование и оптимизация процесса мицеллярно-ферментативной экстракции пектина из плодов боярышника с использованием статистического плана Бокса-Бенкена.

Объекты и методы исследования

В качестве объектов исследования использовались плоды боярышника (*Crataegus monogyna* Jacq.), которые высушивались в сушильном шкафу (Binder BD 53, Германия) при 60 °С до постоянного веса (массовая доля влаги составляла 7,8 %). Далее высушенные плоды измельчались до размера частиц 0,1 мм и просеивались. Подготовленный материал хранился в плотно закрывающейся емкости при комнатной температуре.

Выделение пектина осуществляли методом мицеллярно-ферментативной экстракции с использованием поверхностно-активного вещества и ферментов. К навеске (1,00 г) измельченного растительного материала добавляли от 15 до 45 мл 0,05 Н раствора лимонной кислоты, смесь ферментов (целлюлазу и ксиланазу в соотношении 4:1) и неионногенное поверхностно-активное вещество Полисорбат-20 (Tween 20, Е432) с концентрацией 1 %. Экстракцию проводили в течение 120–240 мин при температуре от 20 до 60 °С. Исследуемые концентрации ПАВ и ферментов были подобраны в предварительных однофакторных экспериментах. Оптимизация параметров (температуры, времени и модуля) экстракции пектина проводилась по статистическому 3-х уровневому 3-х факторному плану Бокса-Бенкена с использованием программного обеспечения Minitab 19 (MINITAB Inc., США). Переменные факторы и уровни их варьирования при экстракции пектина представлены в таблице 1. Экспериментальный план состоял из 15 опытов с тремя центральными точками. Каждый опыт проводили в трех повторностях. Каждая повторность представляла собой отдельный блок. Эксперименты внутри блока проводились случайным образом, чтобы минимизировать эффекты необъяснимой изменчивости наблюдаемых ответов из-за посторонних факторов.

Для определения оптимальных условий использовалась квадратичная математическая модель в виде полиномиального уравнения второго порядка (1):

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^{k} B_i X_i + \sum_{i=1}^{k} B_i X_i^2 + \sum_{i>j}^{k} B_j X_i X_j \quad (1)$$

где Y – функция отклика; β_0, B_{ii}, B_{ij} – коэффициенты регрессии; X_i, X_j – значения параметров эксперимента; k – количество факторов (в данном случае $k = 3$).

Функцией отклика был выход пектина из сырья в %.

Для определения выхода пектина полученный экстракт отфильтровывали. Фильтрат разливали по 15 мл в пробирки объемом 50 мл. Затем в каждую пробирку, взвешенную заранее, добавляли 35 мл 95 % спирта. Подготовленные таким образом пробирки инкубировали при температуре +6 °С в течение 12 ч. По истечении этого времени пробирки ставили центрифугироваться на 25 мин при 3900 об/мин (Sigma 3-16P, Германия). Полученный осадок промывали 70 % спиртом и снова ставили центрифугироваться в течение 25 мин при 3900 об/мин. Операцию повторяли 3 раза. Полученный пектин высушивали при температуре 60 °С. Выход пектина из сырья определяли гравиметрически и выражали в процентах (%).

Качество полученного пектина оценивали по степени этерификации, массовой доли галактуроновой кислоты и комплексообразующей способности. Степень этерификации определяли титриметрическим методом [17]. Массовую долю галактуроновой кислоты определяли спектрофотометрическим

методом, основанным на образовании окрашенного в фиолетово-розовый цвет 5-карбоксифурфурола – продукта реакции уроновых кислот с карбазолом [18].

Комплексообразующую способность пектина, выделенного из плодов боярышника, оценивали по его способности связывать ионы свинца, меди и кобальта. Она выражается количеством ионов тяжелого металла, связывающихся с 1 г пектина. Количество связавшихся ионов определяли по разнице между вносимым и остаточным количеством ионов [19, 20].

Все эксперименты проводили в трех повторностях. Результаты представлены как среднее ± стандартное отклонение среднего значения (SE).

Результаты и их обсуждение

Дизайн эксперимента по оптимизации условий мицеллярно-ферментативной экстракции пектина из плодов боярышника проводился по статистическому 3-х уровневому 3-х факторному плану Бокса-Бенкена. Дизайн Бокса-Бенкена относится к группе методов, основанных на расчете поверхностей отклика и позволяющих проводить исследования по оптимизации условий с наименьшим количеством экспериментов по сравнению с другими статистическими подходами [21]. Результаты эксперимента были гомоскедастичны в соответствии с тестом Брауна-Форсайта на гомогенность дисперсии ($P \geq 0{,}05$). Это является обязательным условием для использования метода поверхностей отклика [22].

В результате проведенного исследования было получено полное квадратное полиномиальное регрессионное уравнение зависимости выхода пектина от факторов мицеллярно-ферментативной экстракции (2). Коэффициенты в данном уравнении рассчитаны исходя из не кодированных величин параметров экстракции. Это позволяет, подставляя реальные значения параметра, предсказывать выхода пектина при изменении условий экстракции.

$$\text{Пектин, \%} = 6{,}97 + 0{,}0090\,X_1 + 0{,}0374\,X_2 + 0{,}3208\,X_3 - 0{,}000088\,X_1 \cdot X_1 - 0{,}001381\,X_2 \cdot X_2 - 0{,}004315\,X_3 \cdot X_3 + 0{,}000317\,X_1 \cdot X_2 + 0{,}000221\,X_1 \cdot X_3 + 0{,}000017\,X_2 \cdot X_3 \quad (2)$$

где X_1 – время, мин; X_2 – модуль, мл/г; X_3 – температура, °С.

На основании уравнения были получены расчетные значения, которые сравнивались с экспериментальными (средние из трех повторностей). Полученные значения представлены в таблице 2.

На основании данных таблицы 2 был проведен дисперсионный анализ (ANOVA). Данный статистический метод был использован для проверки гипотез о значимости факторов выбранной математической модели [21, 22]. Результаты дисперсионного анализа представлены в таблице 3.

Сравнение экспериментальных и расчетных значений было проведено с помощью коэффициента детерминации R^2, а также значения P теста *lack-of-fit*. Суммарной мерой общего качества уравнения

Таблица 2. Сопоставление результатов полученных на основе уравнения регрессии с экспериментальными значениями

Table 2. Regression equation vs. experimental values

№ опыта	Факторы			Экспериментальное значение $Y_{эксп}$ ± SE	Расчетное значение $Y_{расч}$	Процент отклонения, %
	Время, мин	Модуль, мл/г	Т, С°			
1	120	15	40	11,96 ± 0,12	11,99	0,5
2	240	30	20	14,90 ± 0,18	14,88	0,2
3	180	30	40	12,73 ± 0,17	12,70	0,4
4	180	15	20	14,47 ± 0,21	14,46	0,1
5	180	30	40	12,53 ± 0,23	12,34	2,9
6	240	30	60	14,60 ± 0,24	14,61	0,1
7	120	45	40	12,94 ± 0,15	12,97	0,4
8	120	30	20	14,47 ± 0,07	14,40	0,8
9	240	15	40	13,16 ± 0,13	13,04	1,7
10	180	15	60	13,18 ± 0,11	13,14	0,6
11	240	45	40	13,34 ± 0,16	13,35	0,1
12	180	45	20	15,00 ± 0,14	14,88	1,3
13	120	30	60	13,38 ± 0,19	13,53	2,0
14	180	45	60	14,73 ± 0,23	14,88	1,7
15	180	30	40	13,18 ± 0,26	13,16	0,8

Таблица 3. Результаты дисперсионного анализа исследуемых параметров экстракции

Table 3. Results of analysis of variance of the studied extraction parameters

Источник вариации	Сумма квадратов	Средний квадрат	F-критерий Фишера	*P*-критерий
Модель	13,4227	1,4914	34,37	0,001
Линейная	1,5931	0,5310	12,24	0,010
X_1	0,5202	0,5202	61,75	0,018
X_2	0,2665	0,2665	0,71	0,056
X_3	0,8065	0,8065	73,52	0,008
Квадратичная	11,2237	3,7412	86,22	0,000
$X_1 \cdot X_1$	0,3683	0,3683	262,38	0,033
$X_2 \cdot X_2$	0,3567	0,3567	560,20	0,035
$X_3 \cdot X_3$	10,9975	10,9975	393,52	< 0,001
С учетом взаимного влияния 2-х факторов	0,6059	0,2020	4,65	0,065
$X_1 \cdot X_2$	0,3249	0,3249	0,77	0,041
$X_1 \cdot X_3$	0,2809	0,2809	109,48	0,052
$X_2 \cdot X_3$	0,0001	0,0001	33,21	0,964
Ошибка	0,2170	0,0434	–	–
Тест *lack-of-fit*	0,1797	0,0599	3,21	0,246
Коэффициент детерминации, R^2	0,9814			

регрессии соответствия его статистическим данным и основной характеристикой прогностической силы выбранной модели является коэффициент детерминации R^2. Значение *P* теста *lack-of-fit* показывает соответствие экспериментальных данных своей математической модели. Если *P* теста *lack-of-fit* принимает значения больше 0,05, то опытные данные соответствуют проверяемой модели. Сравнение экспериментального и модельного отклика представлено на рисунке 1. Значения

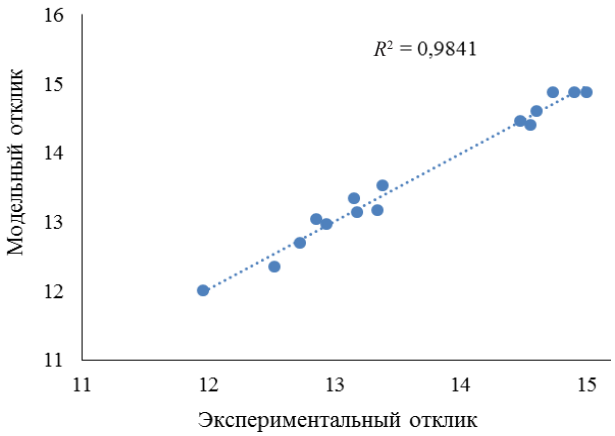

Рисунок 1. Сравнение экспериментальных и модельных откликов при мицеллярно-ферментативной экстракции пектина из плодов боярышника

Figure 1. Experimental and model responses during enzyme-assisted extraction of pectin from hawthorn fruits

R^2 = 0,9814 и $P_{lack\text{-}of\text{-}fit}$ = 0,246 подтверждают соответствие данных математической модели и ее возможность объяснить 98,14 % дисперсии [23].

На основе уравнения регрессии построены поверхности отклика, которые отражают влияние исследуемых переменных на выход пектина при его экстракции из плодов боярышника (рис. 2a–c). Светлой областью отмечены максимальные значения выхода пектина.

На рисунке 2a показано влияние времени экстракции и модуля на выход пектина. Экстракционный выход повышался с увеличением времени экстракции, достигая максимума при 160 мин. Анализ поверхностей отклика (рис. 2a, c) и результатов дисперсионного анализа (табл. 3) показал, что модуль, т. е. отношение объема растворителя на единицу навески, влиял на выход пектина в меньшей степени по сравнению с другими параметрами. Значимое влияние оказывал только квадрат этого фактора. Ранее в ряде работ было показано, что время экстракции пектина обуславливает эффективность процесса. При этом длительность процесса зависит от способа экстракции и вида растительного продукта [24].

Из рисунков 2b и 2c видно, что температура имела положительный линейный эффект и отрицательный квадратичный эффект на эффективность экстракции пектина из плодов боярышника. Самые высокие значения выхода были получены в средней точке. Повышение температуры до 40 °C увеличивало эффективность экстракции пектина. Однако дальнейшее увеличение этого параметра не приводило к увеличению его выхода. Температура является

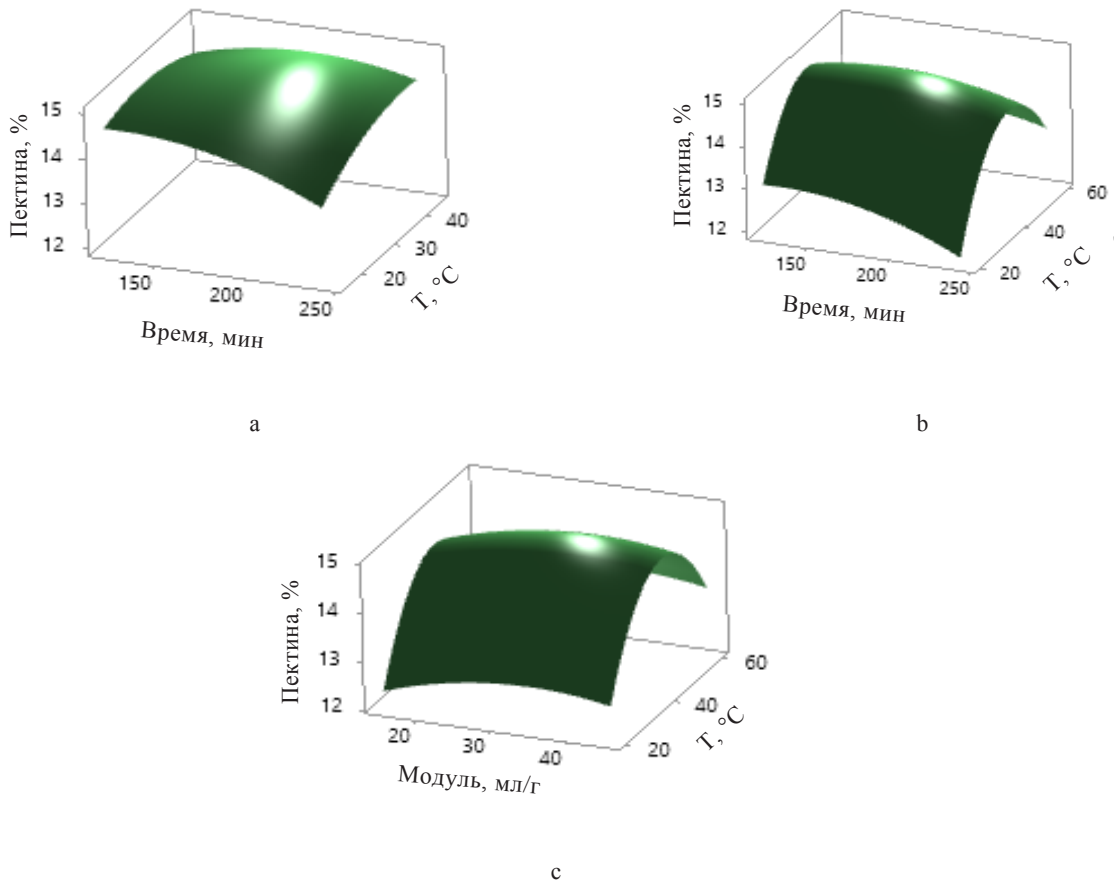

Рисунок 2. Поверхность отклика, отражающая зависимость содержания пектина от: a – времени и модуля; b – времени и температуры; c – модуля и температуры

Figure 2. Response surface: effect of a – time and module; b – time and temperature; c – module and temperature on pectin content

важнейшим фактором, влияющим на выход пектина при экстракции [25]. Как правило, при оптимизации температурного режима кислотной экстракции пектина из продуктов растительного происхождения исследуются высокие температуры (в пределах от 40–50 до 80–90 °C). Большинство коммерческих пектинов экстрагируют горячими кислотами (HCl или HNO_3) при повышенной температуре ~ 85 °C [26]. Использование поверхностно-активного вещества совместно с ферментами позволило добиться максимального выхода пектина при низких температурах.

На основе проведенного анализа поверхностей отклика были определены оптимальные параметры экстракции, использование которых приводит к максимальному выходу пектина из плодов боярышника. Результаты анализа представлены в таблице 4.

Из данных, представленных в таблице 4, видно, что оптимальными являются следующие значения параметров: температура – 41 °C; время – 160 мин; модуль – 32 мл/г. При заданных параметрах расчетный выход пектина составлял 14,9 %. Для валидации полученных результатов был проведен эксперимент по выделению пектина при указанных выше оптимальных параметрах. Выход пектина составил 15,2 ± 0,4 % (n = 5). Значимых различий между экспериментальными и прогнозируемым значениями выявлено не было ($P > 0,05$). Это доказало хорошую прогностическую способность математической модели и ее пригодность для оптимизации мицеллярно-

Таблица 4. Выбор оптимальных параметров мицеллярно-ферментативной экстракции пектина из боярышника

Table 4. Optimal parameters for enzyme-assisted extraction of pectin from hawthorn

Параметры	Время, мин	Модуль, мл/г	Температура, °C
Верхний уровень	240	45	60
Оптимум	160	32	41
Нижний уровень	120	15	20

Таблица 5. Выбор оптимальных параметров мицеллярно-ферментативной экстракции пектина из боярышника

Table 5. Optimal parameters for enzyme-assisted extraction of pectin from hawthorn

Показатель	Значение
Массовая доля галактуроновой кислоты, %	58,5 ± 1,2
Степень этерификации, %	51,5 ± 0,7
Комплексообразующая способность по отношению к ионам Cu^{2+}, мг Cu^{2+}/г	564,0 ± 7,6
Комплексообразующая способность по отношению к ионам Pb^{2+}, мг Pb^{2+}/г	253,8 ± 4,4
Комплексообразующая способность по отношению к ионам Co^{2+}, мг Co^{2+}/г	120,4 ± 3,1

ферментативной экстракции пектина из плодов боярышника.

Полученный при оптимальных параметрах экстракции пектин проверялся по основным параметрам качества: массовая доля галактуроновой кислоты, степень этерификации и способность связываться с ионами тяжелых металлов (Cu^{2+}, Pb^{2+}, Co^{2+}). Результаты анализов представлены в таблице 5.

Полученные образцы пектина были лишены запаха и имели бежево-коричневатый цвет. Исследование содержания галактуроновой кислоты в образцах пектина, выделенного из плодов боярышника мицеллярно-ферментативной экстракцией, показало, что ее массовая доля составляла 58,5 %. Коммерческие образцы пектина характеризуются высоким содержанием галактуроновой кислоты (более 65 %). Полученное относительно низкое значение содержания галактуроновой кислоты в выделенном при оптимальных условиях пектине связано с пониженной температурой, при которой проводилась мицеллярно-ферментативная экстракция. Ранее было показано, что температура экстракции напрямую влияет на качественные показатели пектина. В работе J. Chen и др. установлено, что пектин, экстрагируемый из цитрусов при температуре 40 °C и ниже, содержит в 1,3 раз меньше галактуровой кислоты, чем пектин, выделенный при 85 °C [26]. Однако полученный при низких температурах пектин отличается высокой вязкостью, сохранением разветвленных остатков нейтральных сахаров в структуре и проявляет высокую биологическую активность.

Степень этерификации представляет собой отношение числа этерифицированных карбоксильных групп к общему их содержанию в пектине. Степень этерификации влияет на желирование пектина. Поэтому пектины делятся на две категории: низкоэтерифицированный (степень этерификации < 50 %) и высокоэтерифицированный (степень этерификации > 50 %) [27]. Разные формы пектина имеют различное применение. Пектин с высоким содержанием метоксильных групп образует гели при нагревании в кислых растворах с низким pH (2,0–3,5) и в присутствии высоких концентраций сахара (55–75 %). Низкоэтерифицированный пектин может образовывать гель в широком диапазоне pH (2–6) с небольшим количеством сахара или без него в присутствии двухвалентных ионов, таких как кальций (Ca^{2+}) [15]. В образце пектина, выделенного из плодов боярышника, степень этерификации составила 51,5 %. Это говорит о том, что формально полученный пектин является высокоэтерифицированным. Однако на практике в пищевой промышленности обычно используются только пектины со степенью этерификации более 60 %. При рассмотрении вопроса о возможностях применения пектина из боярышника следует учитывать, что пектины со степенью этерификации менее 60 % являются хорошими комплексообразователями, способными связывать ионы тяжелых и радиоактивных металлов и выводить их из организма [28].

Результаты проведенных анализов по оценке комплексообразующей способности пектина, выделенного из плодов боярышника, показали, что он отличался высокой способностью связывать ионы меди (564 мг Cu^{2+}/г), свинца (254 мг Pb^{2+}/г) и кобальта (120 мг Co^{2+}/г). В работе М. Ю. Тамовой и др. было показано, что комплексообразующая способность свекловичного пектина составляет от 2 до 40 мг Cu^{2+}/г и от 3 до 40 мг Co^{2+}/г, яблочного – от 3,5 до 50 мг Cu^{2+}/г и от 2,5 до 40 мг Co^{2+}/г в зависимости от pH и степени этерификации [19]. В работе Л. П. Мыкоц и др. исследовалась комплексообразующая способность пектина, выделенного из калины, по отношению к ионам свинца [20]. Авторами установлено, что 1 г пектина из калины способен связывать до 194 мг Pb^{2+}.

Таким образом, выделенный в результате мицеллярно-ферментативной экстракции пектин из плодов боярышника можно рекомендовать в диетическом питании тем, кому приходится работать с тяжелыми металлами. С другой стороны, степень этерификации полученного пектина (51,5 %) позволяет его рекомендовать для использования и в пищевой промышленности. Например, при изготовлении кондитерских изделий и выпечки желейных тортов, а также при приготовлении мармеладов и безалкогольных напитков. Продукты с высокими значениями комплексообразования катионов тяжелых металлов можно будет отнести к функциональным продуктам, характеризующимся лечебными и профилактическими свойствами.

Выводы

В ходе проведенного исследования было установлено, что применение мицеллярно-ферментативной экстракции с использованием смеси

ферментов (целлюлазы и ксиланазы в соотношении 4:1) и ПАВ (1 % раствора Полисорбата-20) позволяет эффективно экстрагировать пектин из боярышника без использования дополнительного оборудования (ультразвуковых и микроволновых установок) с хорошим выходом целевого продукта. Полученное в ходе работы регрессионное уравнение экстракционного процесса, показывающее количественное влияние каждого фактора на выход пектина в процессе экстракции, позволяет управлять этим процессом и добиваться наибольшей эффективности. Полученный из боярышника пектин может использоваться как в пищевой промышленности, так и для разработки продуктов функционального назначения.

Критерии авторства

А. Е. Новикова – проведение экспериментальных исследований, обработка данных, подготовка первоначального варианта рукописи. Л. Н. Скрыпник – организация и руководство исследованиями, разработка методологии эксперимента, написание рукописи.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Contribution

A.E. Novikova performed the experimental research, processed the data processing, and drafted the manuscript. L.N. Skrypnik supervised the research, developed the experimental methodology, and proofread the manuscript.

Conflict of interest

The authors declare that there is no conflict of interest regarding the publication of this article.

Список литературы

1. Bioactive compounds from date fruit and seed as potential nutraceutical and functional food ingredients / S. Maqsood [et al.] // Food Chemistry. 2020. Vol. 308. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125522.

2. Therapeutic potential of natural antioxidants / K. V. Ramana [et al.] // Oxidative Medicine and Cellular Longevity. 2018. Vol. 2018. https://doi.org/10.1155/2018/9471051.

3. Durazzo A., Lucarini M. Editorial: The state of science and innovation of bioactive research and applications, health and diseases // Frontiers in Nutrition. 2019. Vol. 6. https://doi.org/10.3389/fnut.2019.00178.

4. *Abelmoschus esculentus* (L.): Bioactive components' beneficial properties – focused on antidiabetic role – for sustainable health applications / A. Durazzo [et al.] // Molecules. 2019. Vol. 24. № 1. https://doi.org/10.3390/molecules24010038.

5. Molecules from nature: Reconciling biodiversity conservation and global healthcare imperatives for sustainable use of medicinal plants and fungi / M.-J. R. Howes [et al.] // Plants People Planet. 2020. Vol. 2. № 5. P. 463–481. https://doi.org/10.1002/ppp3.10138.

6. *In vitro* and *in vivo* evaluation of antioxidant properties of wild-growing plants. A short review / R. C. Fierascu [et al.] // Current Opinion in Food Science. 2018. Vol. 24. P. 1–8. https://doi.org/10.1016/j.cofs.2018.08.006.

7. Characterization of hawthorn (*Crataegus* spp.) genotypes by SSR markers / M. Güney [et al.] // Physiology and Molecular Biology of Plants. 2018. Vol. 24. № 6. P. 1221–1230. https://doi.org/10.1007/s12298-018-0604-6.

8. Hawthorn (*Crataegus* spp.): An updated overview on its beneficial properties / A. Nazhand [et al.] // Forests. 2020. Vol. 11. № 5. https://doi.org/10.3390/f11050564.

9. Cloud A., Vilcins D., McEwen B. The effect of hawthorn (*Crataegus* spp.) on blood pressure: A systematic review // Advances in Integrative Medicine. 2020. Vol. 7. № 3. P. 167–175. https://doi.org/10.1016/j.aimed.2019.09.002.

10. Physicochemical characterization, antioxidant activity, and phenolic compounds of hawthorn (*Crataegus* spp.) fruits species for potential use in food applications / A. Alirezalu [et al.] // Foods. 2020. Vol. 9. № 4. https://doi.org/10.3390/foods9040436.

11. Primary, secondary metabolites and molecular characterization of hawthorn (*Crataegus* spp.) genotypes / A. Gurlen [et al.] // Agronomy. 2020. Vol. 10. № 11. https://doi.org/10.3390/agronomy10111731.

12. Emerging concepts in the nutraceutical and functional properties of pectin – A Review / F. Naqash [et al.] // Carbohydrate Polymers. 2017. Vol. 168. P. 227–239. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.03.058.

13. Physicochemical characterisation of hawthorn pectins and their performing in stabilising oil-in-water emulsions / J. C. Cuevas-Bernardino [et al.] // Reactive and Functional Polymers. 2016. Vol. 103. P. 63–71. https://doi.org/10.1016/j.reactfunctpolym.2016.03.024.

14. Extraction and isolation of pectin rich in homogalacturonan domains from two cultivars of hawthorn berry (*Crataegus pinnatifida*) / L. Roman [et al.] // Food Hydrocolloids. 2021. Vol. 113. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106476.

15. An overview of the traditional and innovative approaches for pectin extraction from plant food wastes and by-products: Ultrasound-, microwaves-, and enzyme-assisted extraction / M. Marić [et al.] // Trends in Food Science and Technology. 2018. Vol. 76. P. 28–37. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.03.022.

16. Skrypnik L., Novikova A. Response surface modeling and optimization of polyphenols extraction from apple pomace based on nonionic emulsifiers // Agronomy. 2020. Vol. 10. № 1. https://doi.org/10.3390/agronomy10010092.

17. Pistachio green hull pectin: Optimization of microwave-assisted extraction and evaluation of its physicochemical, structural and functional properties / M. Kazemi [et al.] // Food Chemistry. 2019. Vol. 271. P. 663–672. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.07.212.

18. Efficient extraction of pectin from sisal waste by combined enzymatic and ultrasonic process / Y. Yang [et al.] // Food Hydrocolloids. 2018. Vol. 79. P. 189–196. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.11.051.

19. Тамова М. Ю., Починок Т. Б., Булыгина Г. С. Оценка связывающей способности различных пектинов по отношению к ионам меди и кобальта // Известия высших учебных заведений. Пищевая технология. 2002. Т. 267–268. № 2–3. С. 23–24.

20. Мыкоц Л. П., Романцова Н. А., Гущина А. В. Изучение сорбционной способности пектина, выделенного из плодов калины обыкновенной, по отношению к ионам свинца // Фундаментальные исследования. 2013. № 3–1. С. 197–200.

21. Box–Behnken design based statistical modeling for the extraction and physicochemical properties of pectin from sunflower heads and the comparison with commercial low-methoxyl pectin / X. Peng [et al.] // Scientific Reports. 2020. Vol. 10. № 1. https://doi.org/10.1038/s41598-020-60339-1.

22. Elsayed N., Hammad K. S. M., Abd El-Salam E. A. E.-S. Plum (*Prunus domestica* L.) leaves extract as a natural antioxidant: Extraction process optimization and sunflower oil oxidative stability evaluation // Journal of Food Processing and Preservation. 2020. Vol. 44. № 10. https://doi.org/10.1111/jfpp.14813.

23. Box-Behnken design based multi-response analysis and optimization of supercritical carbon dioxide extraction of bioactive flavonoid compounds from tea (*Camellia sinensis* L.) leaves / J. P. Maran [et al.] // Journal of Food Science and Technology. 2015. Vol. 52. № 1. P. 92–104. https://doi.org/10.1007/s13197-013-0985-z.

24. Dao T. A. T., Webb H. K., Malherbe F. Optimization of pectin extraction from fruit peels by response surface method: Conventional versus microwave-assisted heating // Food Hydrocolloids. 2021. Vol. 113. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106475.

25. Dynamic modelling of pectin extraction describing yield and functional characteristics / N. M. Andersen [et al.] // Journal of Food Engineering. 2017. Vol. 192. P. 61–71. https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2016.08.006.

26. Extraction temperature is a decisive factor for the properties of pectin / J. Chen [et. al.] // Food Hydrocolloids. 2021. Vol. 112. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106160.

27. Rapid enzymatic method for pectin methyl esters determination / L. Łękawska-Andrinopoulou [et al.] // Journal of Analytical Methods in Chemistry. 2013. Vol. 2013. https://doi.org/10.1155/2013/854763.

28. Ptichkina N. M., Markina O. A., Rumyantseva G. N. Pectin extraction from pumpkin with the aid of microbial enzymes // Food Hydrocolloids. 2008. Vol. 22. № 1. P. 192–195. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2007.04.002.

References

1. Maqsood S, Adiamo O, Ahmad M, Mudgil P. Bioactive compounds from date fruit and seed as potential nutraceutical and functional food ingredients. Food Chemistry. 2020;308. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125522.

2. Ramana KV, Reddy ABM, Ravi Kumar Majeti NV, Singhal SS. Therapeutic potential of natural antioxidants. Oxidative Medicine and Cellular Longevity. 2018;2018. https://doi.org/10.1155/2018/9471051.

3. Durazzo A, Lucarini M. Editorial: The state of science and innovation of bioactive research and applications, health and diseases. Frontiers in Nutrition. 2019;6. https://doi.org/10.3389/fnut.2019.00178.

4. Durazzo A, Lucarini M, Novellino E, Souto EB, Daliu P, Santini A. *Abelmoschus esculentus* (L.): Bioactive components' beneficial properties – focused on antidiabetic role – for sustainable health applications. Molecules. 2019;24(1). https://doi.org/10.3390/molecules24010038.

5. Howes M-JR, Quave CL, Collemare J, Tatsis EC, Twilley D, Lulekal E, et al. Molecules from nature: Reconciling biodiversity conservation and global healthcare imperatives for sustainable use of medicinal plants and fungi. Plants People Planet. 2020;2(5):463–481. https://doi.org/10.1002/ppp3.10138.

6. Fierascu RC, Ortan A, Fierascu IC, Fierascu I. *In vitro* and *in vivo* evaluation of antioxidant properties of wild-growing plants. A short review. Current Opinion in Food Science. 2018;24:1–8. https://doi.org/10.1016/j.cofs.2018.08.006.

7. Güney M, Kafkas S, Keles H, Aras S, Ercişli S. Characterization of hawthorn (*Crataegus* spp.) genotypes by SSR markers. Physiology and Molecular Biology of Plants. 2018;24(6):1221–1230. https://doi.org/10.1007/s12298-018-0604-6.

8. Nazhand A, Lucarini M, Durazzo A, Zaccardelli M, Cristarella S, Souto SB, et al. Hawthorn (*Crataegus* spp.): An updated overview on its beneficial properties. Forests. 2020;11(5). https://doi.org/10.3390/f11050564.

9. Cloud A, Vilcins D, McEwen B. The effect of hawthorn (*Crataegus* spp.) on blood pressure: A systematic review. Advances in Integrative Medicine. 2020;7(3):167–175. https://doi.org/10.1016/j.aimed.2019.09.002.

10. Alirezalu A, Ahmadi N, Salehi P, Sonboli A, Alirezalu K, Khaneghah AM, et al. Physicochemical characterization, antioxidant activity, and phenolic compounds of hawthorn (*Crataegus* spp.) fruits species for potential use in food applications. Foods. 2020;9(4). https://doi.org/10.3390/foods9040436.

11. Gurlen A, Gundogdu M, Ozer G, Ercisli S, Duralija B. Primary, secondary metabolites and molecular characterization of hawthorn (*Crataegus* spp.) genotypes. Agronomy. 2020;10(11). https://doi.org/10.3390/agronomy10111731.

12. Naqash F, Masoodi FA, Rather SA, Wani SM, Gani A. Emerging concepts in the nutraceutical and functional properties of pectin – A Review. Carbohydrate Polymers. 2017;168:227–239. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.03.058.

13. Cuevas-Bernardino JC, Lobato-Calleros C, Román-Guerrero A, Alvarez-Ramirez J, Vernon-Carter EJ. Physicochemical characterisation of hawthorn pectins and their performing in stabilising oil-in-water emulsions. Reactive and Functional Polymers. 2016;103:63–71. https://doi.org/10.1016/j.reactfunctpolym.2016.03.024.

14. Roman L, Guo M, Terekhov A, Grossutti M, Vidal NP, Reuhs BL, et al. Extraction and isolation of pectin rich in homogalacturonan domains from two cultivars of hawthorn berry (*Crataegus pinnatifida*). Food Hydrocolloids. 2021;113. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106476.

15. Marić M, Grassino AN, Zhu Z, Barba FJ, Brnčić M, Rimac Brnčić S. An overview of the traditional and innovative approaches for pectin extraction from plant food wastes and by-products: Ultrasound-, microwaves-, and enzyme-assisted extraction. Trends in Food Science and Technology. 2018;76:28–37. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.03.022.

16. Skrypnik L, Novikova A. Response surface modeling and optimization of polyphenols extraction from apple pomace based on nonionic emulsifiers. Agronomy. 2020;10(1). https://doi.org/10.3390/agronomy10010092.

17. Kazemi M, Khodaiyan F, Labbafi M, Saeid Hosseini S, Hojjati M. Pistachio green hull pectin: Optimization of microwave-assisted extraction and evaluation of its physicochemical, structural and functional properties. Food Chemistry. 2019;271:663–672. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.07.212.

18. Yang Y, Wang Z, Hu D, Xiao K, Wu J-Y. Efficient extraction of pectin from sisal waste by combined enzymatic and ultrasonic process. Food Hydrocolloids. 2018;79:189–196. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.11.051.

19. Tamova MYu, Pochinok TB, Bulygina GS. Otsenka svyazyvayushchey sposobnosti razlichnykh pektinov po otnosheniyu k ionam medi i kobal′ta [Evaluating the binding capacity of various pectins in relation to copper and cobalt ions]. News of Institutes of Higher Education. Food Technology. 2002;267–268(2–3):23–24. (In Russ.).

20. Mykots LP, Romantsova NA, Gushchina AV. Research of the pectin isolated from fresh fruits of cranberry high for sorption ability in relation to ion of lead. Fundamental research. 2013;(3–1):197–200. (In Russ.).

21. Peng X, Yang G, Shi Y, Zhou Y, Zhang M, Li S. Box–Behnken design based statistical modeling for the extraction and physicochemical properties of pectin from sunflower heads and the comparison with commercial low-methoxyl pectin. Scientific Reports. 2020;10(1). https://doi.org/10.1038/s41598-020-60339-1.

22. Elsayed N, Hammad KSM, Abd El-Salam EAE-S. Plum (*Prunus domestica* L.) leaves extract as a natural antioxidant: Extraction process optimization and sunflower oil oxidative stability evaluation. Journal of Food Processing and Preservation. 2020;44(10). https://doi.org/10.1111/jfpp.14813.

23. Maran JP, Manikandan S, Priya B, Gurumoorthi P. Box-Behnken design based multi-response analysis and optimization of supercritical carbon dioxide extraction of bioactive flavonoid compounds from tea (*Camellia sinensis* L.) leaves. Journal of Food Science and Technology. 2015;52(1):92–104. https://doi.org/10.1007/s13197-013-0985-z.

24. Dao TAT, Webb HK, Malherbe F. Optimization of pectin extraction from fruit peels by response surface method: Conventional versus microwave-assisted heating. Food Hydrocolloids. 2021;113. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106475.

25. Andersen NM, Cognet T, Santacoloma PA, Larsen J, Armagan I, Larsen FH, et al. Dynamic modelling of pectin extraction describing yield and functional characteristics. Journal of Food Engineering. 2017;192:61–71. https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2016.08.006.

26. Chen J, Cheng H, Zhi Z, Zhang H, Linhardt RJ, Zhang F, et al. Extraction temperature is a decisive factor for the properties of pectin. Food Hydrocolloids. 2021;112. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106160.

27. Łękawska-Andrinopoulou L, Vasiliou EG, Georgakopoulos DG, Yialouris CP, Georgiou CA. Rapid enzymatic method for pectin methyl esters determination. Journal of Analytical Methods in Chemistry. 2013;2013. https://doi.org/10.1155/2013/854763.

28. Ptichkina NM, Markina OA, Rumyantseva GN. Pectin extraction from pumpkin with the aid of microbial enzymes. Food Hydrocolloids. 2008;22(1):192–195. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2007.04.002.