ВЫСОКОМОЛЕКУЛЯРНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ. Серия Б, 2022, том 64, № 4, с. 283–289

ПРИРОДНЫЕ ПОЛИМЕРЫ

УДК 541.64:547.973.3

ВЫДЕЛЕНИЕ И ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ПЕКТИНА ИЗ СЫРЬЯ INONOTUS HISPIDUS

© 2022 г. С. Б. Хайтметова[a,*], А. С. Тураев[a], Г. А. Халилова[a]

[a] *Институт биоорганической химии им. А.С. Садыкова Академии наук Республики Узбекистан*
100125 Ташкент, ул. Мирзо Улугбека, 83, Узбекистан

**e-mail: xsb75@mail.ru*

Поступила в редакцию 26.03.2022 г.
После доработки 23.05.2022 г.
Принята к публикации 14.06.2022 г.

Выделены пектиновые полисахариды из нетрадиционного сырья природного происхождения базидиального трутового гриба Inonotus hispidus разных субстратов. Приведены данные о содержании в них свободных и этерифицированных карбоксильных групп, метоксильных групп, степени этерификации, УФ- и ИК-спектры, а также сведения о размерах и молекулярной массе пектиновых частиц.

DOI: 10.31857/S2308113922700085

ВВЕДЕНИЕ

К наиболее сложноорганизованным компонентам клеточной ткани растений относятся пектиновые полисахариды – группа полисахаридов, широко представленных в различных растительных источниках [1–6].

Пектиновые вещества входят в состав клеточной стенки срединных пластинок, цитоплазмы растительных клеток. Они присутствуют практически во всех высших растениях. Выполняя, благодаря своим специфическим свойствам, ряд важных функций (регулировка водного режима тканей, транспорт водного тока и другие), они участвуют в процессах растяжения клеточных стенок. Пектины обнаружены в некоторых водорослях и морских травах, наибольшее количество пектиновых веществ находится в плодах и корнеплодах [7, 8].

Пектины состоят из макроцепей полигалактуроновой кислоты, часть карбоксильных групп пектина метоксилированы. Отношение содержания метоксилированных карбоксильных групп к их общему количеству определяет степень этерификации, в зависимости от которой пектины имеют различное практическое применение. Так, высокоэтерифицированные пектины (степень этерификации более 50%) используются в пищевой промышленности как структурообразователи при получении йогуртов, желе, мармелада и других продуктов. Низкоэтерифицированные пектины благодаря тому, что они могут образовывать комплексы с ионами d-металлов, способствуют детоксикации организма человека от ионов тяжелых металлов и радионуклидов [9, 10].

Пектины в растительных тканях никогда не бывают в свободном состоянии. Данный класс биополимеров является составной частью клеточных стенок – оболочек, покрывающих растительные клетки и создающих прочный скелет растения. Растворимый пектин находится в соке вакуоли и межклеточных слоях тканей зрелых плодов. Химический состав и строение первичной клеточной стенки зависит от вида растительной ткани, но в основном в сильно упрощенном виде ее анатомия одинакова, это каркасные фибриллы целлюлозы, покрытые оболочкой из макромолекул гемицеллюлоз ксилоглюкановой природы и погруженные в протопектиновый матрикс. Макромолекулы связаны между собой водородными связями [9, 11, 12]. Кроме того, пектины клеточных стенок образуют ковалентные связи с лигнином [13]. Образно эту конструкцию можно уподобить железобетону: целлюлоза выполняет в ней роль каркаса, а водонасыщенный гемицеллюлозно-пектиновый гель – роль бетона. Таким строением и объясняется высочайшая механическая прочность тканей растительного организма.

В качестве структурного элемента, входящего в состав клеточной ткани, и в качестве важного компонента межклеточного пространства пектин выполняет роль связывающего и упрочняющего элемента в тканях растений для сцепления соседних клеток [14–18]. Пектины представляют собой своеобразные природные ионообменники, спо-

собные осуществлять обмен до 70% катионов. Пектин стабилизируется кальцием, формированием гелевого матрикса вокруг целлюлозы и гемицеллюлозы [19].

По современным представлениям пектины – это коллоидные комплексы полисахаридов кислого характера, состоящие из арабинана, галактана и так называемой пектиновой кислоты. ММ пектинов колеблется от 3000 до 300000 [20].

Пектины входят в большую группу гликаногалактуронанов, основным компонентом которых являются остатки 1,4-α-D-GalpA-кислоты. Моносахаридный состав и структурные элементы пектинов могут различаться не только у различных видов растений, но и в отдельных образцах, выделенных из разных мест одного растения [21, 22].

Пектины различных источников отличаются друг от друга по свойствам. Лучше других изучены пектины плодов и овощей, пектины из базидиальных грибов практически не изучены. Цель настоящей работы – выделить пектин из нетрадиционного сырья природного происхождения и изучить его некоторые свойства.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Материалы и методы

Выделение пектиновых веществ. В качестве природного сырья для извлечения пектиновых веществ были выбраны базидиальные трутовые грибы – трутовик щетинистоволосый (Inonotus hispidus) из разных субстратов.

Использовали высушенные, измельченные, обессмоленные трутовые тела массой 5 г, которые помещали в колбу и заливали гидролизующей смесью (50 мл 1.1%-ного раствора HCl). Гидролиз и экстракцию проводили при температуре 85–90°C, продолжительность гидролиза 2 ч. Далее смесь отфильтровывали, фильтрат упаривали при температуре 60°C. Пектиновые вещества осаждали 96%-ным этиловым спиртом в соотношении фильтрат : этанол = 1 : 2. Пектин отфильтровывали через капроновые мембраны, высушивали на воздухе и измельчали.

Эксклюзионно-жидкостная хроматография. Молекулярно-массовые характеристики пектиновых веществ определяли на жидкостном хроматографе “Agilent 1260 Infinity” с использованием хроматографической колонки “PLAquagelOHMixed” (Англия), длиной 300 мм и внутренним диаметром 8 мм.

Определение физико-химических показателей. С помощью потенциометрического титрования находили содержание свободных и этерифицированных карбоксильных групп, общее количество карбоксильных групп, метоксильных групп и рассчитывали степень этерификации. Потенциометрическое титрование выполняли на основе метода, приведенного в работах [8, 23]. В качестве титранта использовали 0.1 н раствор гидроксида натрия.

ИК-спектроскопия. ИК-спектры исследуемых образцов регистрировали на ИК-фурье-спектрометре “IRTracer-100” (“Shimadzu”, Япония) в комплекте с приставкой нарушенного полного внутреннего отражения (НПВО) MIRacle-10 с призмой diamond/ZnSe (спектральный диапазон по шкале волновых чисел 4000–450 см$^{-1}$; разрешение 4 см$^{-1}$, чувствительность соотношения сигнал : шум = 60000 : 1; скорость сканирования 20 спектров в секунду).

УФ-спектрофотомерия. УФ-спектры снимали на спектрофотометре UV-1280 UV-VIS spectrophotometer, фирмы “Shimadzu” (Япония) в кварцевых кюветах толщиной 1 см относительно воды.

Определение размера частиц. Размер частиц водных растворов пектиновых веществ изучали с помощью анализатора “Litesizer” (“Litesizer 100”, “Anton Paar Company”, Austria). Использовали одноразовую измерительную ячейку, угол измерения обратного рассеяния. Измерение проводили при 25°C, время уравновешивания 1 мин, получен быстрый режим и максимальное количество прогонов 30 раз, время измерения 10 с. Показатель преломления водных растворов пектиновых веществ равен 1.56.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Выделение и исследование функциональных свойств пектинов из нетрадиционных сырьевых источников Inonotus hispidus, собранных из разных субстратов, а также изучение их физико-химических свойств, выявление новых областей практического применения является актуальной задачей. Исходя из этого в настоящей работе в качестве сырьевых источников были взяты базидиальные трутовые грибы [24].

В результате кислотного гидролиза из базидиального гриба Inonotus hispidus были выделены пектиновые вещества. Сухой пектин представляет собой светло-желтый или светло-коричневый порошок, обладает слабокислым вкусом, не имеет запаха. По органолептическим свойствам он не уступает яблочному пектину, 1%-ный водный раствор этого пектина имеет значение pH от 3.0 до 3.2 [25].

Как следует из табл. 1, максимальный выход пектиновых веществ, выделенных из базидиального гриба Inonotus hispidus, оказывается разным и зависит от вида субстратов, ММ образцов находятся в пределах (5.4–5.7) × 10^3.

Таблица 1. Максимальный выход пектиновых веществ из базидиального гриба Inonotus hispidus разных субстратов (гидролизующий агент 1.1% раствор HCl, продолжительность гидролиза 2 ч)

Субстрат	Коэффициент извлечения %	Выход, мас. %	Влажность, %	$M \times 10^{-3}$
Софора японская (Styphnolobium japonicum)	23	4.6	8.6	5.60
Тополь (Populus)	10.5	2.1	8.9	5.40
Грецкий орех (Juglans regia)	22.75	4.55	8.5	5.56
Тутовник (Morus)	23	4.6	8.7	5.70
Клен (Acer)	11.5	2.3	8.3	5.47

Исследованы ИК-спектры пектинов из базидиального гриба Inonotus hispidus разных субстратов, которые дают обширную информацию о строении пектиновых веществ [10, 26]. Благодаря сравнительной простоте и универсальности эксперимента ИК-спектроскопия стала распространенным методом исследования структуры растительных полисахаридов.

На рис. 1 приведен типичный ИК-спектр пектина из базидиального гриба Inonotus hispidus разных субстратов, полученный экстракцией солянной кислотой.

Проведенный статистический анализ ИК-спектров образцов разных субстратов базидиального и яблочного пектина как впервые полученных и исследованных нами, так и описанных в

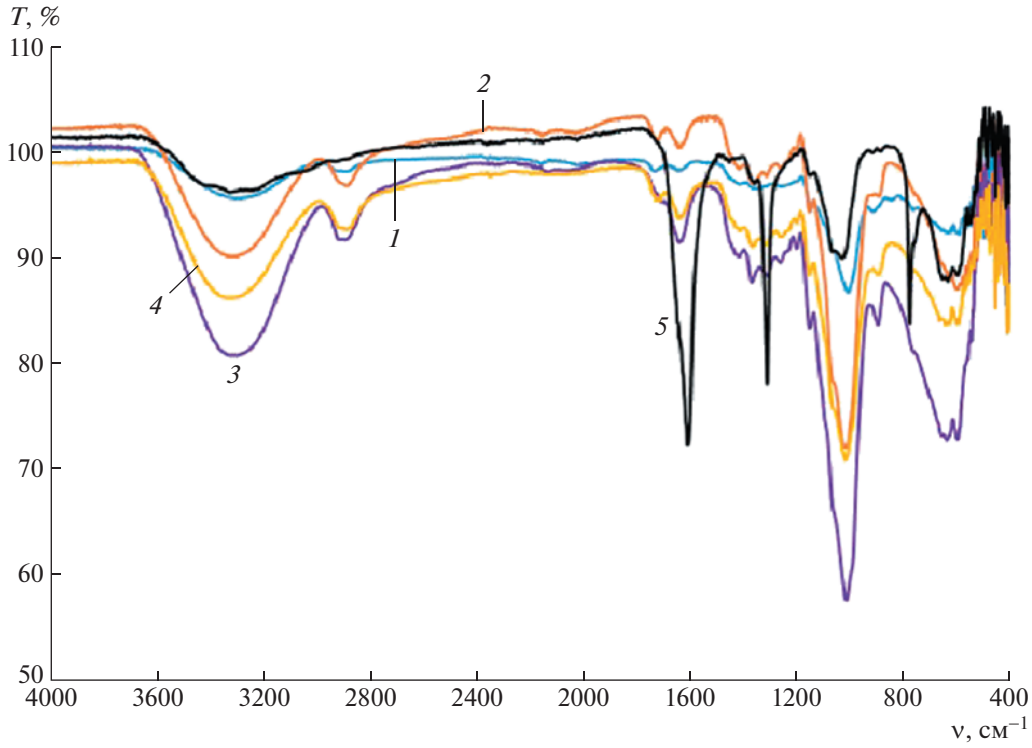

Рис. 1. ИК-спектры пектиновых веществ из базидиального трутового гриба Inonotus hispidus разных субстратов: *1* – софора японская, *2* – грецкий орех, *3* – тутовник, *4* – клен, *5* – тополь. Цветные рисунки можно посмотреть в электронной версии.

Таблица 2. Положение максимумов полос ($см^{-1}$) яблочного и базидиального пектина разных субстратов

Яблочный пектин	Пектин из Inonotus hispidus, субстрат Софора японская (Styphnolobium japonicum)	Пектин из Inonotus hispidus, субстрат Тополь (Populus)	Пектин из Inonotus hispidus, субстрат Тутовник (Morus)	Пектин из Inonotus hispidus, субстрат Клен (Acer)	Пектин из Inonotus hispidus, субстрат Грецкий орех (Juglans regia)	Преимущественные типы колебаний
3226–3443	3298	3329	3327	3338	3317	ν(OH)C, ν(H2O)
2935	–	–	–	–	–	Вазелиновое масло
2919	2900	2993	2899	2891	2893	ν (CH)
2846	2160	–	–	–	2150	ν (CH)
1742	1739	1733	1732	1732	1730	$\nu\ (C{=}O)_E$
1617	1647	1647	1645	1645	1637	
1435	1419	1435		1423	1419	$\delta_{as}(CH_3)_E$
1374	1363	1368	1371	1367	1363	$\delta_s(CH)_E$
1305	–	–	1317	1317	–	$\delta\ (CH)_K$
1276	1259	1259–1276	1259	1259	1259	
1146	–	1152	1153	1155	1155	ν (C–O–C)
1103	–	–	–	–	–	$\nu\delta(C{-}OH)_C$ $\nu\ (C{-}C,\ C{-}O)_K$
1021	1010	1020	1020	1018	1020	$\nu\ (C{-}C,\ C{-}O)_K$
955	918	894	896	896	–	$\gamma\ (OH)_C$
882	–	–	–	–	–	$\rho(CH_3)_E$
782, 721, 667, 619, 535, 514, 502	767, 644, 567, 545	607	646, 596, 422	644, 594, 457	607, 563	Пульсационные колебания пиранозных колец

литературе, позволило выявить основные функциональные группы полос поглощения полученных образцов пектина (табл. 2).

В области 3000–3600 $см^{-1}$ наблюдается интенсивная широкая асимметричная полоса, соответствующая валентным колебаниям групп –OH. Воздушно-сухие пектины содержат влагу, поэтому валентные колебания воды $n(H_2O)$ перекрываются полосами $n(OH)_C$ гидроксилов пектина.

Область 2000–1500 $см^{-1}$ относится к колебаниям групп C=O. Здесь возможно поглощение, относящееся к валентным колебаниям $n(C{=}O)$ трех групп: 1717–1733, 1636–1647 $см^{-1}$ [25]. При подготовке образцов пектина для записи спектров происходит замещение водорода карбоксильной группы на ионы калия. Это приводит к появлению удвоения некоторых полос и к уменьшению интенсивности полосы 1740 $см^{-1}$. Интенсивность полос поглощения при 1550 $см^{-1}$ согласуется с содержанием метоксильных групп в образцах, при 1317–1435 $см^{-1}$ интенсивная полоса поглощения наблюдается у базидиального пектина.

В табл. 3 представлены физико-химические свойства полученных нами пектиновых веществ из базидиальных грибов Inonotus hispidus различных субстратов.

Выделенные пектиновые вещества в одинаковых условиях из базидиального гриба Inonotus hispidus из разных субстратов по внешним данным представляют собой порошки от светло-

Таблица 3. Физико-химические показатели пектина Inonotus hispidus разных субстратов

Пектин из трутовика щетинистоволосого (Inonotus hispidus) разных субстратов	Содержание, %				Степень этерификации, %
	свободные карбоксильные группы	этерифицированные карбоксильные группы	общее количество карбоксильных групп	$-OCH_3$	
Софора японская (Styphnolobium japonicum)	2.25 ± 0.13	1.8 ± 0.13	4.05 ± 0.12	7.56 ± 0.13	44.44 ± 0.13
Тополь (Populus)	2.7 ± 0.15	2.25 ± 0.13	4.95 ± 0.13	7.73 ± 0.15	45.45 ± 0.11
Грецкий орех (Juglans regia)	2.25 ± 0.11	1.12 ± 0.15	3.37 ± 0.11	5.72 ± 0.12	33.33 ± 0.12
Тутовник (Morus)	3.15 ± 0.13	1.35 ± 0.10	4.5 ± 0.13	5.16 ± 0.13	30.00 ± 0.14
Клен (Acer)	3.37 ± 0.14	1.8 ± 0.11	5.17 ± 0.14	5.96 ± 0.11	34.78 ± 0.13

Таблица 4. Распределение размера частиц полученных пектинов Inonotus hispidus из разных субстратов

Пектин из Inonotus hispidus разных субстратов	Гидродинамический диаметр, нм	Полидисперсность, %	Коэффициент диффузии
Софора японская (Styphnolobium japonicum)	116.703	19.429	4.203
Тополь (Populus)	132.468	24.08	3.703
Грецкий орех (Juglans regia)	111.346	17.21	4.059
Тутовник (Morus)	145.349	21.29	3.375
Клен (Acer)	100.087	16.69	4.901

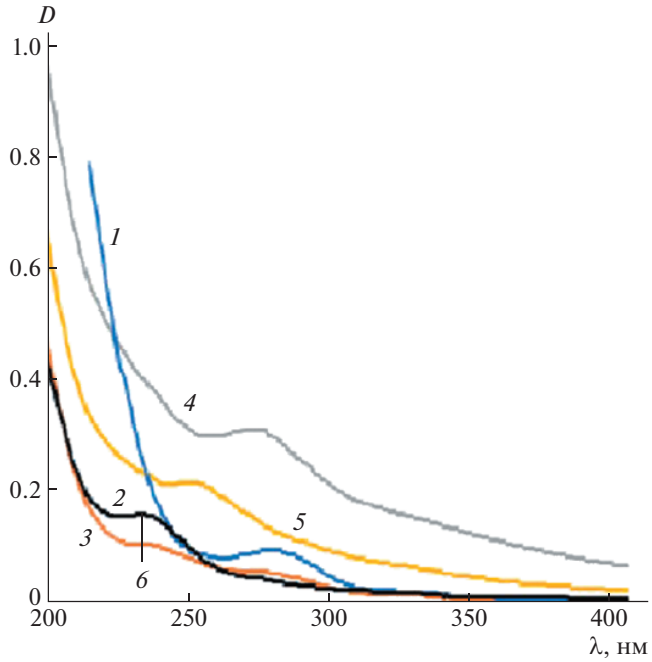

Рис. 2. УФ-спектры пектиновых веществ из базидиального трутового гриба Inonotus hispidus разных субстратов и яблочного пектина: : *1* – софора японская, *2* – грецкий орех, *3* – тутовник, *4* – клен, *5* – тополь, 6 – яблочный пектин.

желтого до светло-коричневого цвета. По степени этерификации их можно отнести к средноэтерифицированным пектинам. Значения степени этерификации изученных пектинов находятся в пределах 30–45.45%, содержание метоксильных групп – в интервале 5.16–7.73%, содержание свободных карбоксильных групп достигает 2.25–3.37%.

Пики поглощения УФ-спектров, характерные для пектиновых веществ, выделенных из базидиальных грибов, по сравнению с яблочным пектином, находятся в диапазоне от 239 до 284 нм (рис. 2).

В работе изучен размер частиц образцов пектиновых веществ.

Из табл. 4 видно, что параметры гидродинамического диаметра изученных пектинов лежат в интервале 100.087–145.349 нм, индекс полидисперсности достигает 16.69–24.08%, коэффициент диффузии находится в диапазоне 3.375–4.901. Исследования показали, что образцы пектинов состоят из компонентов разной молекулярной массы.

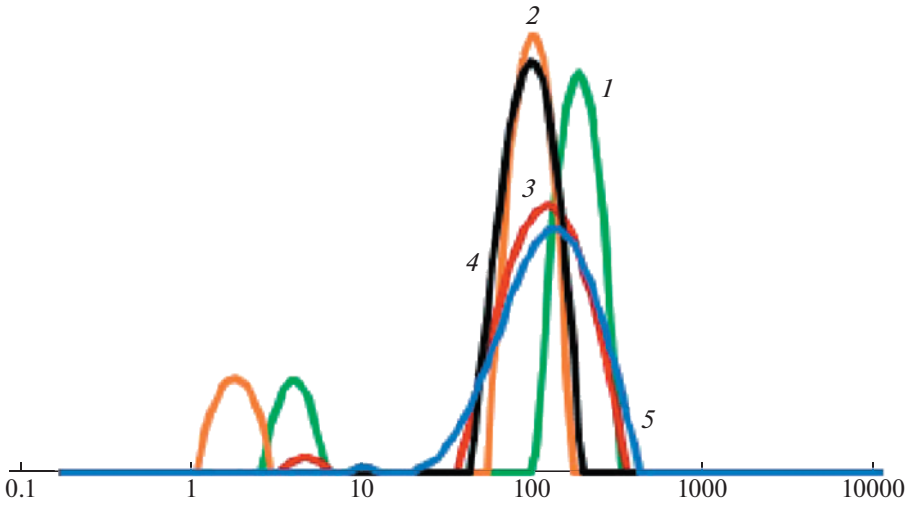

Рис. 3. Распределение пектиновых наночастиц по размерам: *1* – софора японская, *2* – грецкий орех, *3* – тутовник, *4* – клен, *5* – тополь.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, из базидиального трутового гриба Inonotus hispidus, собранного из разных субстратов, в лабораторных условиях выделены пектиновые вещества в чистом виде.

Установлено, что выход пектиновых веществ из базидиального трутового гриба Inonotus hispidus зависит от вида субстрата.

Выделенные из базидиального трутового гриба Inonotus hispidus–разных субстратов пектиновые вещества охарактеризованы комплексом физико-химических методов анализа, на основе которых вычислено содержание свободных и этерифицированных карбоксильных групп, общее количество карбоксильных групп, метоксильных групп, степень этерификации и определена ММ, а также размер частиц их водных растворов.

Показано, что по основным характеристикам выделенные в настоящей работе продукты сопоставимы с пектинами, выделяемыми из традиционного сырья.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Li Y.H., Niu Y.B., Wu H.J., Sun Y., Li Q.A., Kong X.H., Liu L., Mei Q.* // J. Food Sci. 2010. V. 75. № 8. P. 224.
2. *Cheng H., Li S., Fan Y., Gao X., Hao M., Wang J., Zhang X., Tai G., Zhou Y.* // Medical Oncology. 2011. V. 28. № 1. P. 175.
3. *Yapo B.M.* // Carbohydr. Polym. 2011. V. 86. P. 373.
4. *Guo X., Meng H., Zhu S., Tang Q., Pan R., Yu S.* // Carbohydr. Polym. 2016. V. 136. P. 316–321.
5. *Westereng B., Michaelsen T.E., Samuelsen A.B., Knutsen S.H.* // Carbohydr. Polym. 2008. V. 72. № 1. P. 32.
6. *Maxwell E.G., Belshaw N.J., Waldron K.W., Morris V.J.* // Trends Food Sci. Technol. 2012. V. 24. № 2. P. 64.
7. *Золотарева А.М., Чуркина Т.Ф., Цыбикова Д.Ц., Бабуева Ц.М.* // Химия растительного сырья. 1998. № 1. С. 29.
8. *Аверьянова Е.В., Школьникова М.Н.* Пектин: методы выделения и свойства. Бийск: Изд-во Алтайского гос. техн. ун-та им. И.И. Ползунова, 2015.
9. *Донченко Л.В.* Технология пектина и пектинопродуктов. М.: Дели, 2000.
10. *Минзанова С.Т., Миронов В.Ф., Коновалов А.И., Выштакалюк А.Б., Цепаева О.В., Миндубаев А.З., Миронова Л.Г., Зобов В.В.* Пектины из нетрадиционных источников: технология, структура, свойства и биологическая активность. Казань: Печать Сервис-XXI век, 2011.
11. *Mc Cann M.C., Roberts K.* // Pectins and Pectinases: Proceedings of an International Symposium. Wageningen, the Netherlands, 1996. P. 91.
12. *Carpita N.C., Gibeaut D.M.* // Plant J. 1993. P. 1130.
13. *Cathala B., Chabbert B., Joly C., Dole P., Monties B.* // Phytochem. 2001. V. 56. № 2. P. 195.
14. *Galant A.L., Luzio G.A., Widmer W.W., Cameron R.G.* // Food Hydrocolloids. 2014. V. 35. P. 661.
15. *Oechslin R., Lutz M.V., Amado R.* // Carbohydr. Polym. 2003. V. 51. P. 301.
16. *Abdel-Massih R.M., Rizkallah H.D., Saif Al-Din R., Baydoun E.A.H., Brett C.T.* // J. Plant Physiol. 2007. V. 164. P. 1.
17. *Wu Y., Ai L., Wu J., Cui S.W.* // Int. J. Biol. Macromol. 2013. V. 56. P. 76.

18. *Oomen R.J.F.J., Doeswijk'-Voragen C.H.L., Bush M.S., Vincken J.P., Borkhardt B., van den Broek L.A.M., Corsar J., Ulvskov P., Voragen A.G.J., McCann M.C., Visser R.G.F.* // Plant J. 2002. V. 30. № 4. P. 403.

19. *McKenna B.A., Nicholson T.M., Wehr B.J., Menzies N.W.* // Carbohydr. Res. 2010. V. 345. P. 1174.

20. *Ефремов А.А., Кондратюк Т.А.* // Химия растительного сырья. 2008. № 4. С. 171.

21. *Горшкова Т.А.* Растительная клеточная стенка как динамичная система. М.: Наука, 2007.

22. *Ovodov Yu.S.* // Russ. J. Bioorganic Chem. 2009. V. 35. № 3. P. 269.

23. *Бодякина И.М., Багрянцев В.А., Котов В.В., Лукин А.Л.* // Вестн. ВГУ, серия: Химия. Биология. Фармация. 2012. № 2. С. 9.

24. *Иванова Н.В., Попова О.В., Бабакин В.А.* // Химия растительного сырья. 2003. № 4. С. 43.

25. *Хайтметова С.Б., Тураев А.С., Мухитдинов Б.И., Халилова Г.А.* // Химия растительного сырья. 2021. № 4. С. 75.

26. *Филиппов М.П.* Инфракрасные спектры пектиновых веществ. Кишинев: Штиинца, 1978.