

DOI: 10.18372/2310-5461.69.20540
УДК 582.261/.279:502.51(26)(045)

А. Ю. Караюмер, аспірантка
Державний університет «Київський авіаційний інститут»,
orcid.org/0000-0002-7031-1096
e-mail: shipilova091198@gmail.com

А. Д. Кустовська, канд. хім. наук, доц.
Державний університет «Київський авіаційний інститут»,
orcid.org/0000-0002-6836-3305
e-mail: akust7@gmail.com

СТРУКТУРНА ОРГАНІЗАЦІЯ ТА ФУНКЦІОНАЛЬНІ ПАРАМЕТРИ ПЕКТИНІВ *ZOSTERA MARINA* ВИЛУЧЕНИХ ІЗ БІОМАСИ АКВАТОРІЙ ЧОРНОГО ТА ЕГЕЙСЬКОГО МОРІВ

Вступ

Морські трави родини *Zosteraceae*, зокрема *Zostera marina*, розглядаються як перспективне джерело пектинових комплексів, структура яких формується під впливом підвищених концентрацій Ca^{2+} , Mg^{2+} та Na^+ морського середовища [1]. На відміну від наземних рослин, полігалактуронан морських трав характеризується зміненим ступенем метоксилювання та амідуювання, специфічною густиною карбоксильних груп та іонних зв'язків [2], що зумовлює унікальні властивості таких пектинів і актуальність їхнього порівняльного аналізу.

Основу пектинових систем становить α -(1→4)-зв'язаний D-галактуронан, частково модифікований естерними фрагментами [3], здатний формувати «egg-box» структури за участі Ca^{2+} [4,5]. Вміст двовалентних катіонів, геохімічні умови акваторії та будова клітинної стінки визначають ступінь зшивання та гелеутворюючу здатність пектинів морських рослин [6–8]. На ці параметри суттєво впливають і технологічні умови осадження: кислотне осадження спричиняє деметоксилювання та коосадження зольних компонентів [9], тоді як спиртове забезпечує селективну преципітацію полігалактуронанів і підвищує чистоту продукту [10].

Тому актуальним є системне вивчення пектинових комплексів *Zostera marina*, виділених за різними схемами екстракції й осадження, з метою встановлення закономірностей формування полімерних мереж та визначення оптимальних умов отримання пектину для біотехнологічних і фармацевтичних застосувань.

Постановка проблеми

Попри наявність значної кількості досліджень щодо пектинових речовин рослинного походження, пектини морських трав *Zostera marina*

залишаються недостатньо вивченими у контексті їхньої структурної організації та функціональних властивостей. Систематичних досліджень, які б оцінювали ступінь впливу мінерального складу середовища на ці процеси, практично немає.

Додатковою невирішеною проблемою є те, що хімічні параметри пектину *Z. marina* можуть істотно залежати від географічного походження біомаси, оскільки акваторії різних морів відрізняються рівнем солоності, співвідношенням йонів та ступенем антропогенного навантаження. Це потенційно впливає на ступінь метоксилювання, молекулярну масу, частку нейтральних цукрів і гелеутворювальну активність пектинових комплексів.

Разом із тим, метод осадження пектину (кислотний, алкогольний, змішаний) також здатний змінювати структурні параметри полімеру – від ступеня естерифікації до конформаційної стабільності гелю.

Таким чином, комплексна оцінка того, як поєднаний вплив регіону вилучення біомаси та методу осадження визначає структуру та функціональні властивості пектинів *Zostera marina*, залишається актуальним науковим завданням, важливим як для фундаментальної хімії біополімерів, так і для подальшого прикладного використання пектинів у біотехнологічних процесах.

Аналіз останніх досліджень та публікацій

Структура та функціональна поведінка пектинів рослинного походження досліджені досить широко, а ключові роботи докладно описують роль доменів гомогалактуронан (HG) і рамногалактуронан-I (RG-I), ступеня метоксилювання та дії двовалентних катіонів у формуванні гелеутворення та реологічних властивостей полігалактуронанів [11–14]. Концепція «egg-box» розглядається як фундаментальна модель для пояснення іонного зшивання пектинів із низьким ступенем

метоксилування, що надає цінні орієнтири для аналізу структурних параметрів у морських рослинах, де концентрація Ca^{2+} природно підвищена [4, 13].

Дослідження пектинів морських макрофітів, включно з *Zostera marina*, показали перспективність цих полісахаридів як джерела унікальних структурних форм завдяки впливу морського середовища та специфічного елементного складу біомаси [7, 8, 15–18]. Накопичені дані про варіабельність вмісту Ca^{2+} , Mg^{2+} та мікроелементів у *Zostera* підтверджують здатність цих катіонів участувати у стабілізації клітинної стінки та впливати на густину та організацію полігалактуронанів [17–19]. Такі результати створюють основу для вивчення того, як геохімічні умови акваторій формують структурну специфіку морських пектинів.

Паралельно значний обсяг робіт присвячений оптимізації методів екстракції та осадження пектину, зокрема порівнянню кислотного, спиртового та хелатного способів, які суттєво впливають на ступінь естерифікації, зольність та чистоту продукту [20, 21, 23–25]. Відомо, що кислотні методи сприяють деметоксилуванню, тоді як спиртове осадження дозволяє зберегти полімерну цілісність та знизити вміст мінеральних домішок. Ці напрацювання створюють методологічну основу для дослідження впливу технологічних параметрів на структурно-функціональні властивості морських пектинів.

Ці результати свідчать про наявність суттєвої наукової бази щодо структури пектинів, ролі іонів та впливу методів екстракції, що забезпечує

необхідні теоретичні передумови для проведення комплексного аналізу пектинів *Zostera marina*.

Метою даної роботи є проведення комплексного порівняльного аналізу пектинів *Zostera marina*, виділених із біомаси різних морських акваторій, з використанням різних екстракційних і осаджувальних методів (амоній-оксалат, кислотне та спиртове осадження), та визначення впливу цих методів на структурну організацію і функціональні властивості пектинів.

Виклад основного матеріалу

Сировина

В дослідженні були використані зразки водоростевої сировини *Zostera M.* зібрані у акваторіях Егейського та Чорного морів (табл.1). Результати щодо впливу сезону та місця збору біомаси на вихід і властивості цільових продуктів наведені у нашій попередній публікації [16].

Підготовка до обробки та дослідження будови

Сухі водорості, забруднені сміттям, що потрапило у біомасу під час шторму, піддавали механічному очищенню. Водорості розподіляли шарами на металічній решітці та струшували. При цьому дрібні забруднення під дією сил тяжіння просипалися через отвори у решітці. Далі біомаса піддавалась візуальному контролю і за наявності ниток від риболовних сіток, синтетичних волокон, або іншого сміття великого розміру, такі домішки видалялися вручну. Суха біомаса водоростей промивалась два рази проточною водою та рівномірно розподілялась для висушування природнім шляхом при температурі 18–25°C.

Таблиця 1

Зразки водоростевої сировини *Zostera M*

№ п/п	Склад зразку	Місце збору	Період збору	Акваторія
1	<i>Zostera M.</i>	Кушадаси, Туреччина	жовтень	Егейське море
2	<i>Zostera M.</i>	Кушадаси, Туреччина	червень	Егейське море
3	<i>Zostera M.</i>	Очаків, Україна	жовтень	Чорне море

Екстрагування жиру

Наважку водоростей зважували з точністю 0,0001 г та поміщали у екстрактор Сокслета. Як розчинник використовували гексан. Температура водяної бані 75±3 °C. Тривалість процесу екстракції – 6 годин.

По завершенню екстракції водорості висушували за кімнатної температури (20±2 °C), а розчинник відганяли. Колбу із жировою фракцією висушували в сушильній шафі при температурі 105 ° до встановлення постійної маси. Після охолодження у ексикаторі колбу зважували з точністю до 0,0001 г та розраховували масу жиру.

Виділення пектину

Кислотний гідроліз водоростевої сировини проводили при температурі 70±2 °C у присутності гідролізуючого агента HCl (1%-й мас. розчин, гідромодуль 1:10) протягом 3,5 год. Розчин-гідролізат відокремлювали від залишків водорості фільтруванням.

Твердий залишок морської трави промивали дистильованою водою та піддавали наступній екстракції розчином амоній оксалату ((NH₄)₂C₂O₄) концентрацією 1%-й мас. та гідромодулі 1:15. Температура процесу становила 90–95 °C, тривалість – 2–3 години. По завершенню процесу тве-

рду фракцію відділяли від розчину фільтруванням, промивали та направляли на подальше виробництво паперових напівфабрикатів.

З розчину-гідролізату осаджували пектин, застосовуючи два типи осадження:

1. Розчином HCl (15 %, гідромодуль 1:5).
2. Етанолом (94 %, гідромодуль 1:3).

Осаджені фракції відділяли від розчину, промивали водою/спиртом та сушили при 40 °С, подрібнювали та використовували для аналізів.

ІЧ-спектроскопічний аналіз

Для ідентифікації структурних особливостей отриманих пектинових екстрактів проводили ІЧ-спектроскопічний аналіз методом Фур'є-перетворення (FTIR). Дослідження виконували на спектрометрі Thermo Nicolet iS50, оснащеному ATR-насадкою (№ AUP1910288) Реєстрацію та обробку спектрів здійснювали відповідно до вимог стандартів ASTM E1252 (методичні підходи до отримання ІЧ-спектрів для якісного аналізу) та ASTM E573 (практики внутрішнього відбиття).

Проби наносили безпосередньо на робочу поверхню ATR-кристалу, після чого проводили реєстрацію спектрів у всьому робочому діапазоні пропускання приладу. Для документування зовнішнього вигляду зразків використовували криміналістичну лінійку та вбудований фотомодуль смартфона Samsung SM-G780G/DS; як фонову основу застосовували білий акриловий лист (64×38×0,25 см). Умови проведення дослідження відповідали стандартним лабораторним параметрам: температура повітря становила 18–26 °С, відносна вологість – 40–60 %, атмосферний тиск – 99,4–100,6 кПа. Для роботи використовували стандартний набір реактивів та лабораторного посуду.

Визначення хімічного складу мінеральної складової

Для визначення мінеральної складової зразки попередньо висушували до сталої маси, подрібнювали та зважували з точністю ±0,1 мг. Мінералізацію здійснювали шляхом прожарювання у муфельній печі. Проводили поетапне нагрівання – спершу до 250–300 °С з витримкою 30 хв для видалення летких компонентів, а далі до 500–550 °С із витриманням протягом 4–6 годин. Після завершення прожарювання тиглі залишали у печі до охолодження приблизно до 200 °С, перенесли в ексикатор і доводили до кімнатної температури. Отриману золу використовували для подальшого елементного аналізу методом енергодисперсійної рентгенівської флуоресценції (EDXRF) на спектрометрі ElvaX Basic (Elvatech, Україна). Визначення проводили у діапазоні атомних номерів від Cl ($Z = 17$) до U ($Z = 92$).

Обробка результатів

Вихід пектину (% від сухої маси біомаси) визначали ваговим методом після висушування осаду до сталої маси при 40–45 °С:

$$W = \frac{M_{\text{продукту}}}{M_{\text{сировини}}} \cdot 100 \%$$

де: W – вихід продукту, %; $M_{\text{(продукту)}}$ – маса отриманого продукту, г; $M_{\text{(сировини)}}$ – маса вихідної сировини (водоростей), г.

Ідентифікацію функціональних груп та попередній структурний аналіз здійснювали за допомогою програмного забезпечення KnowItAll Informatics System 2023 (v.23.2.50.0, John Wiley & Sons, Inc.). Пошук відповідності ІЧ-спектрів проводили в бібліотечній базі за алгоритмом Correlation з увімкненими ручними коригуваннями Baseline та Optimized. Порівняння виконували в повному доступному спектральному діапазоні (Ranges: Full).

Ступінь естерифікації пектинових речовин оцінювали на основі аналізу відносної інтенсивності характеристичних смуг у FTIR-спектрах, отриманих методом ATR. Підхід ґрунтується на співвідношенні коливань, що відповідають етерифікованим та неетерифікованим карбоксильним групам у структурі полігалактуронової кислоти.

У спектрах пектину аналізували два ключові діапазони:

- смуга валентних коливань C=O естерифікованих карбоксильних груп (~1740–1755 cm^{-1}), що відображає наявність метилестерів;

- смуга асиметричних коливань COO⁻ неетерифікованих карбоксилатів (~1600–1630 cm^{-1}), характерна для полісахаридних залишків без метилування.

Для кожного зразка визначали площу (або висоту) піків у зазначених діапазонах з використанням програмного забезпечення KnowItAll (ручна оптимізована базова лінія). Ступінь етерифікації розраховували за формулою:

$$DE(\%) = \frac{A_{1740}}{A_{1740} + A_{1630}} \times 100,$$

де A_{1740} – інтегральна інтенсивність смуги естерифікованих карбоксильних груп; A_{1630} – інтенсивність смуги неетерифікованих карбоксилатів.

Результати та їх обговорення

Порівняння мінерального складу

Кількісний аналіз трьох зразків *Zostera marina* показав варіації вмісту основних фракцій (табл. 2). Органічні речовини становили від 59,12 % до 72,01 %, що узгоджується з літературними даними [7, 15, 24]. Мінеральна фракція коливалася в межах 12,40–25,47 %, пектинова – 1,40–4,45 %,

а ліпідна – 1,06–3,42 %. Таблиця 2 демонструє істотні відмінності між зразками, що свідчить про вплив місця збору, вікової стадії рослин та

умов середовища (солоність, іонний склад води, тип ґрунту).

Таблиця 2

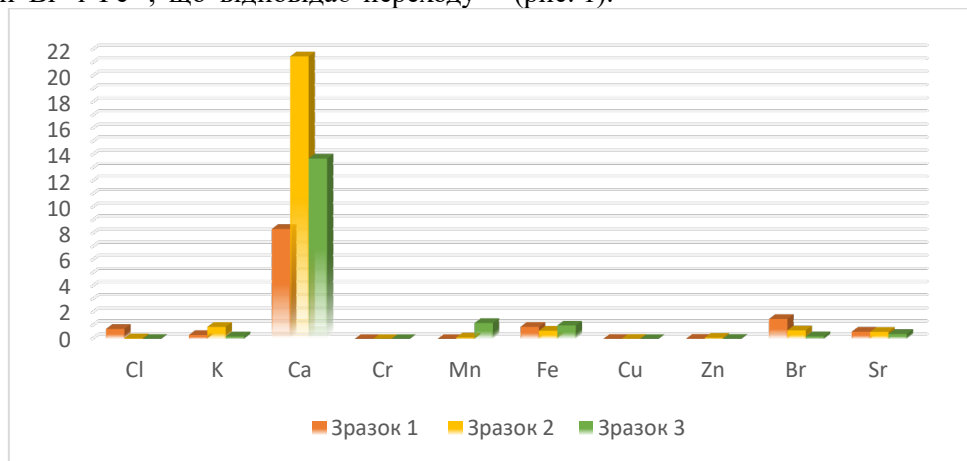
Хімічний склад морських трав *Zostera Marina*

% масовий Зразок	Вода	Мінеральні речовини	Органічні речовини	Ліпідна фракція	Пектинова фракція	Твердий залишок
1	15,59	12,40	72,01	3,34	3,03	41,85
2	15,41	25,47	59,12	3,42	1,40	38,72
3	17,74	16,71	65,55	1,06	4,45	43,73

Зразки 1 і 2, що походять з Егейського моря, демонструють близькі за структурою мінеральні профілі (рис. 1.), зокрема підвищений вміст Br^- та Sr^{2+} , що відповідає галогенізованам та висококарбонатним умовам регіону. Водночас сезонні особливості проявляють суттєві варіації у складі золи: зразок 2 характеризується максимальними концентраціями Ca^{2+} та Fe^{2+} , що свідчить про активну біомінералізацію у період росту рослини. Зразок 1 демонструє знижений вміст Ca^{2+} та підвищені рівні Br^- і Fe^{2+} , що відповідає переходу

рослин до пізньої фази вегетації, яка посилюється накопичення мікроелементів, пов'язане з деградацією тканин. Також у низьких концентраціях зустрічаються Cu та Zn . Таким чином, сезон росту є ключовим фактором, що визначає відмінності у ступені мінералізації та хімічному складі зольної фракції в межах одного морського басейну.

Порівняння зразків, зібраних в осінній період у різних акваторіях, виявило суттєві відмінності, зумовлені геохімічною специфікою середовища (рис. 1).

Рис. 1. Порівняння вмісту макро- та мікроелементів морських трав *Zostera Marina*

Як зазначалось вище, зразок 1 збагачений Br^- та Sr^{2+} натомість зразок 3 характеризується значним вмістом Mn^{2+} (до 1,20 %), що відповідає манган-збагаченим донним умовам Чорного моря та впливу річкових стоків [26–28]. Таким чином, геохімія регіону відіграє визначальну роль у формуванні елементного складу біомаси, навіть за однакових сезонних умов.

Вміст Sr^{2+} у зольній морських характерно підвищений у зразках 1 і 2. Стронцій може замінювати Ca^{2+} у матриці полігалактуронатів, зберігаючи координаційну геометрію, проте формує менш компактні та менш жорсткі перехресні зшивання через більший іонний радіус. Це потенційно знижує густину та механічну стабільність гелів у

порівнянні з класичними Ca -пектиновими структурами.

Навпаки, Mn^{2+} , який у значній кількості присутній у зразку 3, не здатний ефективно підтримувати «egg-box» тип зшивання через різні параметри гідратації та електронної будови. Його присутність сприяє формуванню м'яких, менш упорядкованих та менш жорстких пектинових комплексів. Таким чином, виявлення Mn у зольній фракції у підвищеній кількості може слугувати маркером потенційно нижчої структурної стабільності пектину, отриманого з такої біомаси. Порівняння трьох зразків *Zostera marina* показує синергетичний вплив морського басейну, сезону та фази росту на формування їх елементного складу (табл.3).

Таблиця 3

Порівняння елементного складу зразків *Zostera marina*

Параметр	Зразок		
	1	2	3
Сезон збору	Осінь	Літо	Осінь
Акваторія	Егейське море	Егейське море	Чорне море
Характеристика середовища	Висока солоність, мулисті ґрунти, багаті галогенами		Низька солоність, мінералізація континентального типу
Елементний склад			
Вміст у золі, % мас.	Br (1,51 %) Sr (0,54 %) Fe (0,91 %)	K (0,91 %) Mn (0,11 %) Br (0,64 %) Sr (0,53 %)	Mn (1,20 %) Sr (0,36 %) Br (0,19 %)
Інтерпретація геохімічного профілю	Осіньна деградація тканин сприяє накопиченню Fe, Br	Літній пік біомінералізації накопичення Ca, Sr.	Осіньний сезон, але інша мінералізація сприяє накопиченню Mn.

Сумарний вплив цих чинників визначає не лише хімічні характеристики зольної фракції, але й потенційні структурні властивості пектинових екстрактів, їхню здатність до Ca-залежного зшивання та формування стабільних полігалактуронатних комплексів

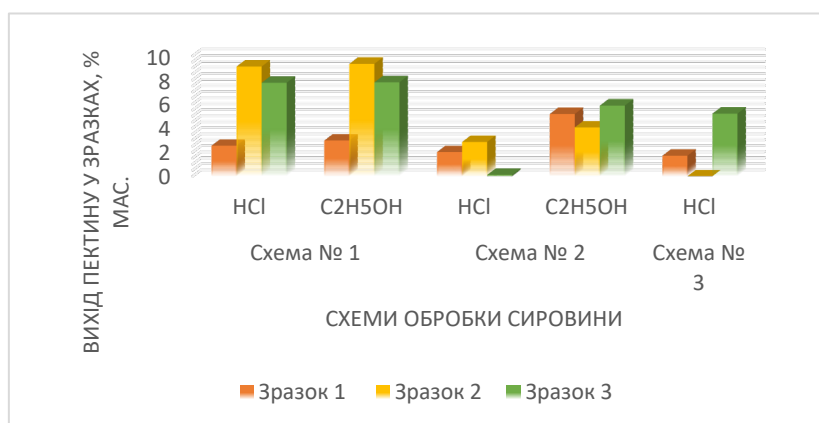
Вплив сезонності на вміст пектинів

Біомасу морських трав було оброблено за трьома схемами, що наведені на рисунку 2. Оскільки морські трави суттєво відрізняються за сезоном росту, вмістом органічної речовини, ступенем одерев'янілості тканин та екологічними умовами, вибір схеми екстракції має вирішальний вплив на кінцевий вихід пектину.

Клітинна стінка *Zostera* містить значну кількість ліпідів інтегрованих у матрицю целюлозно-пектинових структур. Обробка біомаси н-гексаном приводить до селективного вилучення гідрофобної фракції забезпечуючи доступ кислотного агента до пектинових ланцюгів на наступних етапах. У результаті формується знежирена клітинна матриця, збіднена на пігменти та стероли, але структурно збережена в полісахаридній частині.

Обробка амоній оксалатом викликає реакцію подвійного обміну між кальцій-пектиновим комплексом та оксалат-іонами, внаслідок чого Ca^{2+} кількісно переходить у малорозчинний осад CaC_2O_4 . Пектин при цьому переводиться в амонійну форму, яка характеризується підвищеною розчинністю та відсутністю міжланцюгового зшивання.

Видалення кальцію зі структури пектинового полімеру є ключовим моментом технологічної схеми, оскільки дозволяє отримати полісахарид у максимально диспергованому, реакційно здатному стані. Застосування схеми 1 продемонструвало чітку залежність виходу пектину від сезону збору. Зразок 2 дав найвищий вихід (>9%), що відповідає максимальному накопиченню протопектину в активний період росту. Зразок 1 демонструє помірний вихід, що є наслідком зниження ступеня полімеризації та ущільненням клітинних стінок у кінці вегетації. Натомість зразок 3 у порівнянні зі зразком 1, що зібрані у однаковий період дає у 3 рази вищий вихід пектину при осадженні кислотою та 2,5 вищий вихід при осадженні спиртом (рис. 3).

Рис. 2. Схеми обробки морських трав *Zostera Marina*

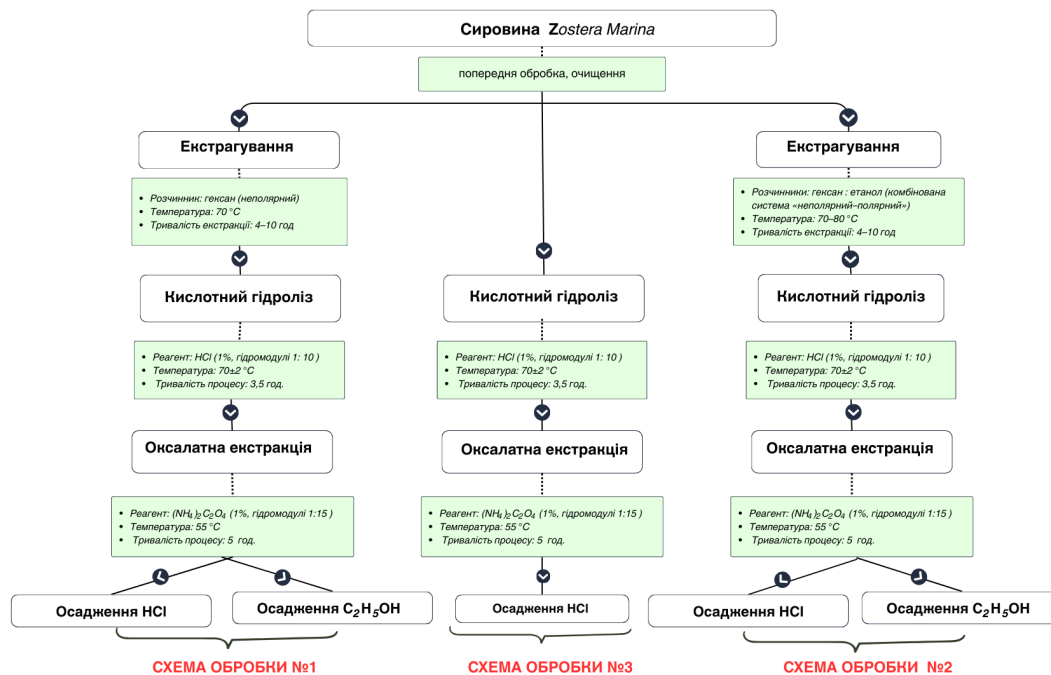


Рис. 3. Порівняння трьох технологічних схем екстракції пектину з морських трав *Zostera marina*

Схема обробки 2 чутливо реагує на іонний склад біомаси. Для зразка 1 схема дала найбільший вихід серед усіх застосованих методів, що свідчить про полегшення гідролізу після застосування змішаного розчинника та збереження полімерної цілісності. Для зразка 3 спостерігалася суттєва залежність виходу пектину від методу осадження: кислотне – мінімальний вихід (0,115 %), етанольне – високий 5,87 %). Це вказує на переважання гідрофільних кальцій- та манган-асоційованих форм пектину, характерних для чорноморської зостери. Зразок 2 за схемою 2 дав нижчий вихід у порівнянні зі схемою 1, що може бути пов'язано з вилученням частини легкорозчинних пектинових компонентів ще на етапі розчинників. Схема 3 виявилася найменш ефективною пектином для всіх зразків. Хоча зразок 3 показав найбільший вихід при цьому для зразка 2 – пектин практично не осаджувався. Порівняння трьох технологічних схем екстракції демонструє, що ефективність вилучення пектину визначають два основні чинники. Сезон – літні зразки дають найвищий вихід у схемі 1; осінні зразки можуть бути оброблені за схемами 1 та 2 в залежності від акваторії. Акваторія – осінні зразки зібрані у акваторії Егейського моря краще обробляти за схемою 2 з осадженням спиртом, тоді як осінні зразки з Чорного моря дають більший вихід при обробці схемою 1 незалежно від способу осадження.

Жодна схема не є універсальною – вибір оптимальної технології повинен враховувати сезон, геохімію середовища та структурну організацію вихідної біомаси.

FTIR аналіз пектинів

FTIR-спектри пектинової фракції, отриманої зі зразка 1, а також еталонного полігалактуронової кислоти (Polygalacturonic acid), наведені на рис. 4 спектральні криві демонструють типові смуги поглинання, характерні для пектинових полісахаридів, що дозволяє здійснити якісну оцінку їхнього складу та ступеня етерифікації.

У спектрі досліджуваного зразка спостерігається виражена смуга в діапазоні $1725\text{--}1735\text{ см}^{-1}$, яка відповідає валентним коливанням карбонільної групи естерів ($\text{C}=\text{O}$). Цей пік є індикатором присутності метилованих галактуронових залишків, тобто етерифікованих форм пектину. Пік у зоні $1617\text{--}1625\text{ см}^{-1}$ відноситься до асиметричних коливань COO^- -груп карбоксилатів (деестерифіковані залишки галактуронової кислоти). Супутня смуга в області $1415\text{--}1440\text{ см}^{-1}$ відповідає симетричним коливанням COO^- . Співвідношення інтенсивностей цих смуг до 1730 см^{-1} використовується для оцінки ступеня етерифікації. У діапазоні $1200\text{--}1000\text{ см}^{-1}$ спостерігаються інтенсивні пікові області, характерні для коливань C-O-C у глікозидних зв'язках, та/або деформаційних коливань скелета піронозного кільця. Домінування цих піків підтверджує полісахаридну природу зразка та відповідність структурі полігалактуронанів. У результаті автоматичного пошуку встановлено, що спектр зразка демонструє високу відповідність спектру polygalacturonic acid (CAS 25990-10-7; BWX #88), із показником $\text{HQI} = 82.24$ (за максимального значення 99). Характерні піки та їх інтенсивність узгоджуються зі спектрами полігалактуронової кислоти. Порівняння спектру отриманого пектину (синя кри-

ва) з полігалактуроною кислотою (червона крива) демонструє співпадіння основних вуглеводних зон ($1200\text{--}1000\text{ cm}^{-1}$), що підтверджує домінування полігалактуронових ланцюгів.

У зразка пектину пік 1730 cm^{-1} інтенсивніший, що вказує на вищий вміст метилованих груп, тоді як у *Polygalacturonic acid* (низькоестерифікований зразок) ця смуга є слабкою або відсутня. У ділянці $1600\text{--}1630\text{ cm}^{-1}$ пік карбоксилатів у еталону більш виражений, що узгоджується з його природою як низькоестерифікованої полігалактуронової кислоти. Таким чином, досліджуваний зразок містить вищу частку естерних груп, ніж еталонний полігалактуронан.

Отриманий спектр зразка демонструє помірну інтенсивність піку 1730 cm^{-1} характерну для зразків зі середнім ступенем естерифікації площею становить 61.1% , а за висотою – 57.05% . Отримані дані знаходяться в межах $50\text{--}60\%$. Відсутність виражених домішок білкової та фенольної природи (немає піків $1500\text{--}1550$ та $1510\text{--}1520\text{ cm}^{-1}$), що свідчить про ефективне очищення. Отриманий продукт є низько- або середньоестерифікованим пектином, придатним для структуроутво-

рюючих застосувань у присутності іонів Ca^{2+} (механізм «яєчної коробки»). Спектри пектинової фракції зразку 3 та порівняння спектру проби з *Polygalacturonic acid* наведені на рис. 5. Діапазон $2441\text{--}1816\text{ cm}^{-1}$ було виключено зі спектрального аналізу як область нерелевантного шуму/забруднення.

У спектрі зразка 3 спостерігаються типові для пектинів смуги поглинання. $3200\text{--}3000\text{ cm}^{-1}$ – валентні коливання O–H – помітна широка інтенсивна смуга на $\sim 3233\text{ cm}^{-1}$, характерна для гідроксильних груп полісахаридів та внутрішньомолекулярного водневого зв'язування. 1730 cm^{-1} – естерні карбоніли (COO–R). Пік у цій області відповідає метоксильованим та естерифікованим групам полігалактуронової кислоти, максимум естерного поглинання ідентифіковано на: 1705.6 cm^{-1} (оцифровані дані). $1600\text{--}1630\text{ cm}^{-1}$ карбоксилат-іон (COO⁻) Відповідає деіонізованому або деестерифікованому фрагментам, максимум спостерігається на 1643.0 cm^{-1} . Інтенсивні смуги в діапазоні $1100\text{--}1020\text{ cm}^{-1}$ свідчать про присутність полігалактуронових ланцюгів. Ділянка добре корелює зі спектром полігалактуронової кислоти (еталон).

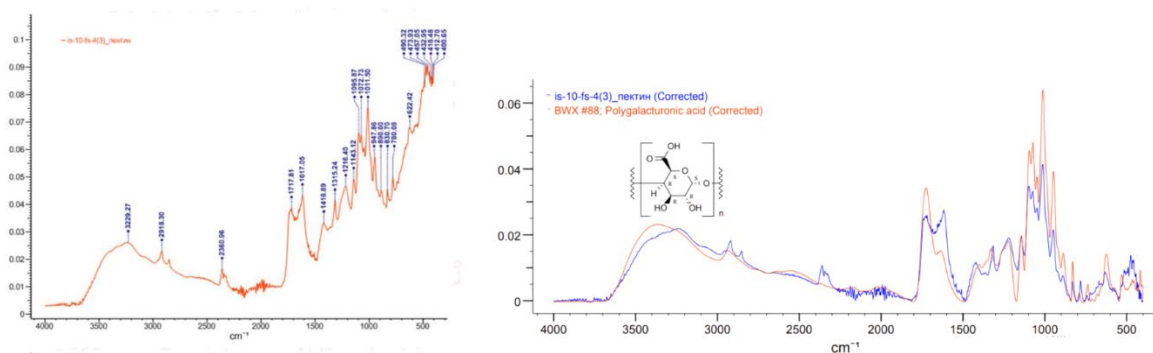


Рис. 4. Результати спектру зразка 1

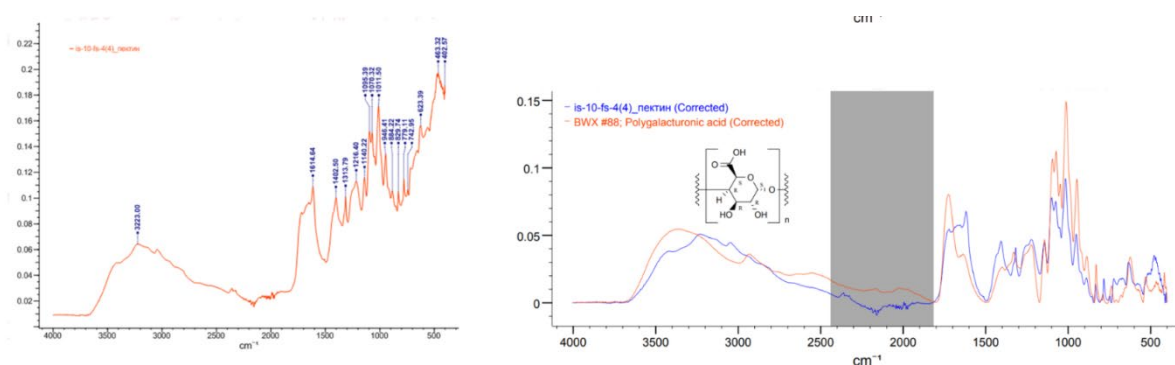


Рис. 5. Результати спектру зразка 3

Для кількісної оцінки ступеня естерифікації було проведено цифрове оцифрування спектра та інтегрування відповідних областей – COO–R та COO. Ступінь естерифікації за площею становить 49,87 %, а за висотою – 38,72 %. Отримані дані знаходяться в межах 38–50 %, що характерно для низькоестерифікованих пектинів. Оскільки метод площ менш чутливий до зміни масштабу зображення, а метод висот – до шуму, а тому

середнє значення – 44 ± 6 % Це підтверджує, що зразок № 3 є частково деестерифікованим пектином, що узгоджується з його FTIR-спектральним профілем та еталонними даними для полігалактуронових полімерів. Порівняння спектрів зразків 1 (Егейське море) та 3 (Чорне море) демонструє суттєві структурні відмінності, насамперед у гідрофільності та ступені впорядкованості полігалактуронанів (рис. 6).

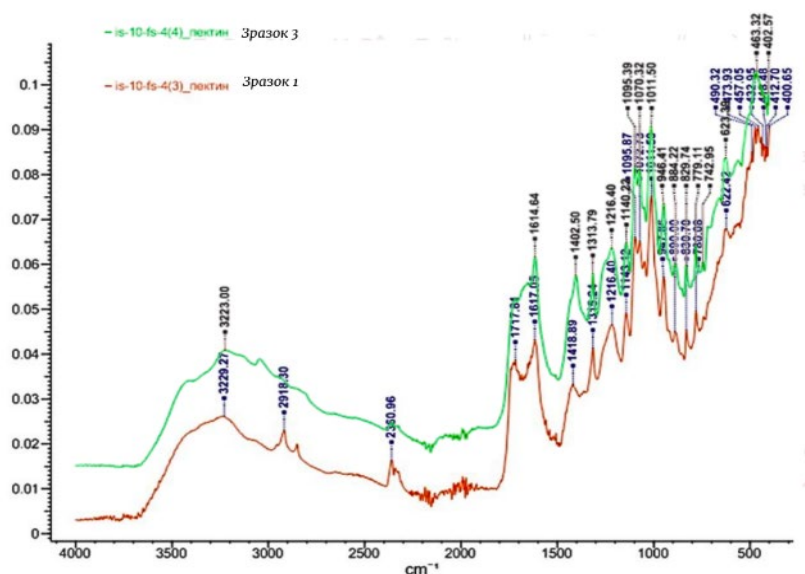


Рис. 6. Порівняння спектрів зразків 1 та 3

Зразок 3 характеризується значно ширшою та інтенсивнішою смугою O–H (≈ 3223 cm^{-1}), вираженішими C–H піками (2950 – 2850 cm^{-1}) та сильнішими сигналами естерних карбонілів і карбоксилатів (1740 – 1700 та 1630 – 1600 cm^{-1}). Це свідчить про більшу частку метоксильованих фрагментів, а також іонно зшитих комплексів із Ca^{2+} , Mn^{2+} та Sr^{2+} , характерних для чорноморської зоостери. Потужні та чіткі піки у вуглеводній області 1200 – 1000 cm^{-1} відображають високий ступінь полімерної впорядкованості.

Натомість у спектрі зразка 1 інтенсивність O–H, C–H та естерних смуг помітно нижча, що відповідає частково деметоксильованому, менш структурованому полігалактуронатом, типових для осінньої біомаси Егейського моря.

Функціональні властивості пектинів

Пектинова фракція клітинної стінки представлена переважно α -(1 \rightarrow 4)-зв'язаними залишками D-галактуронової кислоти. Дія хлоридної кислоти призводить до протонування глікозидного оксигену, що спричиняє підвищення електрофільності аномерного атома карбону та активацію гідролітичного розриву зв'язку. Стадія протікає через оксокарбонієвий проміжний катіон і завершується нуклеофільною атакою води, внаслідок

чого утворюються укорочені фрагменти полігалактуронану та олігогалактуронатні ланцюжки. Такий кислотний препроцесинг зменшує ступінь полімеризації й підвищує доступність карбоксильних груп, що є необхідною передумовою подальших реакцій комплексоутворення та обміну іонів Ca^{2+} .

Зразки, отримані кислотним осадженням загальною демонстрували інтенсивніший коричневий відтінок. Найбільш насичений колір спостерігався у зразків із високим вмістом Fe та Br зразки 1 та 3, що підтверджує участь цих елементів у формуванні забарвлених комплексів (рис.6). Спиртове осадження забезпечувало найсвітліші та однорідніші зразки, особливо для пектинів із зразку 2. Етанол ефективно руйнує гідрофільні комплекси та видаляє частину пігментів, тому такі препарати мають вищу чистоту та меншу кількість хромофорних домішок. Мінеральний профіль біомаси *Zostera marina* суттєво визначає характер міжланцюгових взаємодій у пектинових фракціях та якість отриманих гелів. Найвагомим структуроутворюючим елементом є кальцій. Найвищий вміст Ca у літнього зразка 2 забезпечує повноцінне зшивання ланцюгів, тому цей зразок демонструє максимальну гелеутворюючу здатність та формування щільних і пружних гелів, особливо після спиртового осадження.

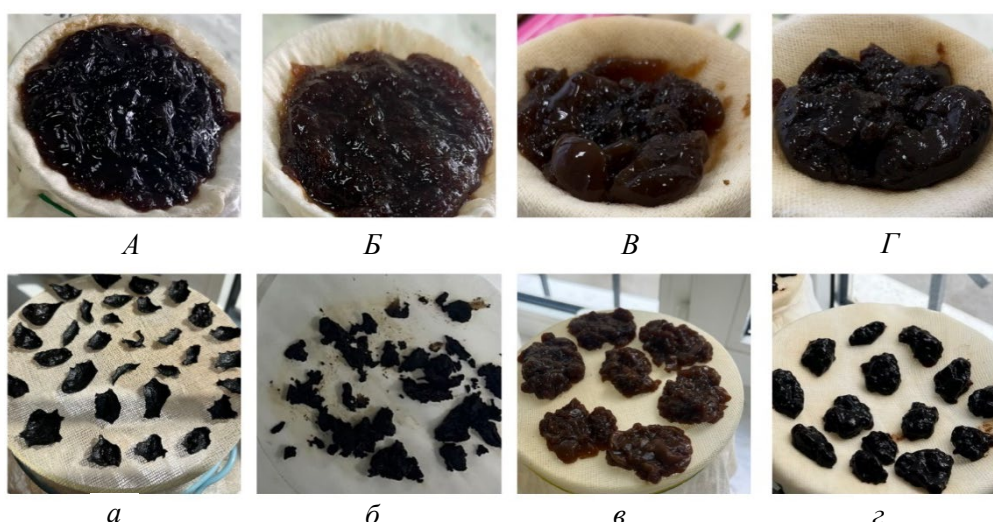


Рис. 7. Зовнішній вигляд пектинів до/після висихання:
 А, а – зразок 3 (осаджений HCl); Б, б – зразок 3 (осаджений C₂H₅OH);
 В, в та Г, г – зразок 2 та 1 (осаджений HCl);

Зменшення концентрації кальцію, характерне для осіннього зразка 1, призводить до неповного формування «egg-box» зон та менш рівномірної міжланцюгової структури, що проявляється у вигляді нестійких гелів.

Підвищений у цьому зразку вміст Fe сприяє виникненню темнішого забарвлення та утворенню локально твердих, але нерегулярних доменів. У зразку 3 визначальним чинником є порівняно високий вміст Mn²⁺. Марганець конкурує з Ca²⁺ за ті самі карбоксильні вузли, але не здатний формувати стабільні міжланцюгові зшивки, утворюючи м'які еластичні гелі. Помірна кількість Ca забезпечує лише обмежене «egg-box» зшивання, тоді як надлишок Mn призводить до формування менш щільної структури [29].

Таким чином, функціональні властивості, зовнішній вигляд та реологічна поведінка пектинів безпосередньо залежать від співвідношення Ca²⁺, Mn²⁺ та Fe, а також їх участі у формуванні або руйнуванні міжланцюгових доменів. Високий Ca забезпечує пружні, добре структурно впорядковані гелі; Mn сприяє м'якості та еластичності; Fe формує нестійкі пектини. Це повністю узгоджується з сезонною динамікою, акваторіальною специфікою та експериментальними спостереженнями для трьох досліджених зразків.

Висновки

У даній роботі експериментально підтверджено, що структурні та функціональні властивості пектинів *Zostera marina* суттєво залежать від геохімічних характеристик морських акваторій та сезону вилучення біомаси. Показано, що біомаса, зібрана влітку в Егейському морі, характеризується підвищеним вмістом Ca²⁺ і зниженою часткою галогенів, що зумовлює формування струк-

турно впорядкованих полігалактуронатних доменів та найвищу гелеутворюючу здатність пектину. Осінні зразки з тієї ж акваторії містять менше Ca, але більше Fe та Br, що зумовлює утворення жорстких, проте менш пружних гелевих структур.

Встановлено, що пектинові фракції з Чорного моря мають нижчий вміст Ca²⁺, але підвищений вміст Mn²⁺, що призводить до формування еластичних, слабкозшитих гелів. Така поведінка пов'язана з геохімічними особливостями Чорного моря та меншою карбонатністю його вод.

Доведено, що метод екстракції та спосіб осадження суттєво впливають на вихід пектину та його функціональні параметри. Спиртове осадження забезпечує вищий вихід та світліший колір пектинів, тоді як кислотне осадження формує щільніші гелі, але призводить до часткової деградації структури полімеру. Оксалатна екстракція дозволяє частково зберегти етерифікацію пектинових ланцюгів, однак знижує ступінь зшивання через зв'язування Ca²⁺. Лужна обробка призводить до суттєвого зменшення DE та різкого погіршення гелеутворення.

Виявлено, що оптимальні технологічні параметри для отримання високо функціонального пектину відрізняються залежно від регіону вилучення біомаси: для літніх зразків Егейського моря найбільш ефективною є схема №1, тоді як для чорноморської біомаси — схема №2, що забезпечує максимальний вихід та механічну стабільність гелів.

Отримані результати розширюють уявлення про вплив мінерального середовища та сезонних факторів на структуру полігалактуронатів морських трав і дозволяють оптимізувати умови виділення пектину під конкретні технологічні завдання у харчовій, фармацевтичній та біоматеріальній промисловості.

ЛІТЕРАТУРА

- [1] Oliveira, M. E. C., Rosa, M. F., Cavalcante, F. L., Pereira, P. H. F. Extraction and characterization of pectins from marine plants. *Carbohydrate Polymers*. 2018. Vol. 195. P. 472–479. DOI: 10.3390/app11146596
- [2] Yang, Z., Zhang, Y., Jin, G., Lei, D., Liu, Y. *Insights into the impact of modification methods on the structural characteristics and health functions of pectin: A comprehensive review. International Journal of Biological Macromolecules*. 2024, Vol. 232, Article 129851. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2024.129851
- [3] Voragen, A. G. J., Schols, H. A., Visser, R. G. P. Pectin: structure and engineering. In: *Polysaccharides: Structural Diversity and Functional Versatility*. 3rd ed. Boca Raton: CRC Press, 2015. P. 379–420.
- [4] Grant, G. T., Morris, E. R., Rees, D. A., Smith, P. J. C., Thom, D. The “egg-box” model for calcium–pectate gelation. *FEBS Letters*. 1973. Vol. 32, No. 1. P. 195–198. DOI: [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(73\)80770-7](https://doi.org/10.1016/0014-5793(73)80770-7)
- [5] Morris, E. R., Powell, D. A., Gidley, M. J. Conformations and interactions of pectins. *Food Hydrocolloids*. 2012. Vol. 28, No. 1. P. 31–40. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2011.12.030.
- [6] Shao, Z., Duan, D. *The Cell Wall Polysaccharides Biosynthesis in Seaweeds: A Molecular Perspective. Frontiers in Plant Science*. 2022, Vol. 13. DOI: 10.3389/fpls.2022.902823
- [7] Haug, A., Larsen, B. Studies on water-soluble polysaccharides of marine plants. *Acta Chemica Scandinavica*. 1962. Vol. 16. P. 1908–1918.
- [8] Rioux, L. E., Turgeon, S. L., Beaulieu, M. Characterization of pectin extracted from brown algae *Zostera marina*. *Journal of Applied Phycology*. 2009. Vol. 21, No. 4. P. 451–460. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2007.01.009>
- [9] Levigne, S., Ralet, M.-C., Thibault, J.-F. Characterization of pectins extracted from fresh sugar beet under different conditions using an experimental design. *Carbohydrate Polymers*. 2002. Vol. 49. P. 145–153. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0144-8617\(01\)00314-9](https://doi.org/10.1016/S0144-8617(01)00314-9)
- [10] Bagherian, H., Ashtiani, F. Z., Fouladitajar, A., Mohtashamy, M. Comparisons between alcohol and acid precipitation methods for pectin extraction. *Food Hydrocolloids*. 2011. Vol. 25. P. 1645–1651. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2006.03.016>
- [11] Voragen, A. G. J., Coenen, G.-J., Verhoef, R. P., Schols, H. A. Pectin, a versatile polysaccharide present in plant cell walls. *Structural Chemistry*. 2009.
- [12] Willats, W. G. T., et al. Pectin: cell biology and prospects for functional analysis. *Plant Molecular Biology*. 2001.
- [13] Braccini, I., Pérez, S. Molecular basis of Ca²⁺-induced gelation in HG pectins. *Biomacromolecules*. 2001. Vol. 2, No. 4. P. 1089–1096. DOI: <https://doi.org/10.1021/bm010008g>
- [14] Freitas, C.M.P.; Coimbra, J.S.R.; Souza, V.G.L.; Sousa, R.C.S. Structure and Applications of Pectin in Food, Biomedical, and Pharmaceutical Industry: A Review. *Coatings* 2021, 11, 922. <https://doi.org/10.3390/coatings11080922>
- [15] Khotimchenko, The mercury binding activity of pectin isolated from the seagrass *Zostera marina*, *Russ J Mar Biol*, № 32, с. 312 DOI: 10.1134/S1063074006050099
- [16] Караюмер А. Ю., Кустовська А. Д. Використання волокнистих відходів комплексної переробки водоростевої біомаси роду *Zostera* для виробництва паперових матеріалів. *Наукоємні технології*. 2025. № 2(66). С. 278–287. DOI: 10.18372/2310-5461.66.19918.
- [17] Kamermans, P., Hemminga, M. Mineral composition variability in *Zostera marina*. *Marine Ecology Progress Series*. 1999.
- [18] Lahlou, F. Z., et al. Mineral uptake and ion distribution in seagrasses. *Botanica Marina*. 2018.
- [19] Orth, R. J., Carruthers, T., Dennison, W., et al. A global crisis for seagrass ecosystems. *BioScience*. 2006. Vol. 56(12). P. 987–996. DOI: [https://doi.org/10.1641/0006-3568\(2006\)56\[987:AGCFSE\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1641/0006-3568(2006)56[987:AGCFSE]2.0.CO;2)
- [20] Rengasamy, R., Kulkarni, M. G. Marine-derived pectins: chemistry and industrial relevance. *Carbohydrate Polymers*. 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules13092069>
- [21] Oliveira, T. I. S., et al. Effect of extraction and precipitation methods on pectin structure. *Food Hydrocolloids*. 2016. DOI: https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2008.01849.x?urlappend=%3Futm_source%3Dresearchgate.net%26medium%3Darticle
- [22] Liu, J., et al. Structural modification of low-methoxyl pectin under different extraction conditions. *Carbohydrate Research*. 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2025.100885>
- [23] Popov, A. M., Chubarenko, I. P. Sorption properties of pectin extracted from *Zostera marina* toward cerium ions. *Journal of Hazardous Materials*. 2020.
- [24] Sergushkina, O., et al. Adhesive and cryoprotective properties of marine plant polysaccharides. *Journal of Applied Phycology*. 2023. DOI: <https://doi.org/10.37871/jbres1655>
- [25] Gorshkova, T., Mikshina, P., et al. Cell-wall polysaccharides of *Posidonia oceanica*: structure and properties. *Carbohydrate Polymers*. 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/plants12173155>
- [26] Fourqurean, J. W., Marbà, N., Duarte, C. M. Seagrass ecosystems as globally significant carbon stocks. *Nature Geoscience*. 2015. Vol. 5. P. 505–509. DOI: <https://doi.org/10.1038/ngeo1477>

- [27] Wijsman, J., Herman, P., Middelburg, J., et al. Geochemical characteristics of the Black Sea sediments. *Marine Chemistry*. 2001. Vol. 75(1). P. 45–60.
- [28] Kara, A., Ayhan, V., Turker, U. Halogens in Aegean marine sediments. *Chemosphere*. 2018. Vol. 195. P. 692–703. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-319-61667-4_9
- [29] Siew CK, Williams PA, Young NW. New insights into the mechanism of gelation of alginate and pectin: charge annihilation and reversal mechanism. *Biomacromolecules*. 2005 Mar-Apr;6(2):963-9. doi: <https://doi.org/10.1021/bm0493411>

Караюмер А. Ю., Кустовська А. Д.

СТРУКТУРНА ОРГАНІЗАЦІЯ ТА ФУНКЦІОНАЛЬНІ ПАРАМЕТРИ ПЕКТИНІВ ZOSTERA MARINA ВИЛУЧЕНИХ ІЗ БІОМАСИ АКВАТОРІЙ ЧОРНОГО ТА ЕГЕЙСЬКОГО МОРІВ

У роботі представлено порівняльне дослідження хімічного та елементного складу *Zostera marina* з Егейського та Чорного морів, а також впливу сезону збору на структурні особливості та функціональні властивості полігалактуронатів. Як об'єкти дослідження використано три зразки: осінній та літній – з Егейського моря (Туреччина) і осінній – з Чорного моря (Україна). Встановлено, що літні зразки характеризуються підвищеним вмістом Ca^{2+} , який сприяє формуванню впорядкованих «egg-box» структур між полігалактуронатними ланцюгами та забезпечує найвищу гелеутворюючу здатність пектинів. Осінні зразки містять більше Fe та Br, що супроводжується зміною щільності й пружності гелевих структур та появою інтенсивнішого забарвлення. Для чорноморського зразка визначальним є підвищений вміст Mn^{2+} , який конкурує з Ca^{2+} за карбоксильні вузли полімерного ланцюга, що обумовлює формування еластичних, слабкозшитих гелів. Структурні відмінності між зразками підтверджено методом FTIR-спектроскопії. Оцінено вплив трьох технологічних схем екстракції на вихід, ступінь етерифікації та функціональні властивості пектинових фракцій. Показано, що кислотна схема призводить до часткової деградації полімеру та нестабільних гелів; оксалатна дозволяє зберегти етерифікацію і формує еластичні гелі; спиртове осадження забезпечує найвищий вихід і світлий колір пектину. Встановлено, що оптимальні технологічні параметри відрізняються залежно від регіону збору біомаси. Отримані результати демонструють визначальний вплив геохімії морського середовища та технологічних параметрів екстракції на структуру й функціональність пектинів морських трав і можуть бути використані для оптимізації технологій їх виділення та застосування у харчовій, фармацевтичній та біоматеріальній промисловості.

Ключові слова: пектин; *Zostera marina*; морська біомаса; FTIR-аналіз; органічні відходи; водорості; екологічна безпека; сталий розвиток

Karaiumer A., Kustovska A.

STRUCTURAL ORGANIZATION AND FUNCTIONAL PARAMETERS OF ZOSTERA MARINA PECTINS EXTRACTED FROM THE BIOMASS OF THE BLACK AND AEGEAN SEA AQUATORIES

This study presents a comparative analysis of the chemical and elemental composition of *Zostera marina* collected from the Aegean and Black Sea regions, as well as the effect of harvest season on the structural characteristics and functional properties of polygalacturonates. Three samples were investigated: autumn and summer collections from the Aegean Sea (Turkey) and an autumn collection from the Black Sea (Ukraine). It was established that summer samples are characterized by elevated Ca^{2+} content, which promotes the formation of ordered «egg-box» structures between polygalacturonate chains and ensures the highest gelling capacity of the extracted pectins. Autumn samples contain higher levels of Fe and Br, which is associated with changes in gel density and elasticity, as well as more intense coloration of the pectin product. In the Black Sea sample, elevated Mn^{2+} content plays a defining role: manganese competes with Ca^{2+} for carboxyl binding sites along the polymer chain, resulting in the formation of elastic, weakly cross-linked gels. Structural differences between samples were confirmed by FTIR spectroscopy. The effect of three extraction schemes — acidic, oxalate-based, and alcohol precipitation — on pectin yield, degree of esterification, and functional properties was evaluated. Acidic extraction was shown to cause partial polymer degradation and yield unstable gels; oxalate extraction preserves esterification and produces more elastic structures; alcohol precipitation provides the highest yield and the lightest coloration of the pectin product. It was further established that optimal technological parameters differ depending on the region of biomass collection. The findings demonstrate the decisive influence of marine geochemistry and extraction methodology on the structure and functionality of seagrass pectins, and may serve as a basis for optimizing isolation technologies and expanding their application in the food, pharmaceutical, and biomaterials industries.

Keywords: pectin; *Zostera marina*; marine biomass; FTIR analysis; organic waste; seaweeds; environmental safety; sustainable development

Дата першого надходження: 05.12.2025 р.

Дата прийняття до друку: 10.03.2026 р.

Дата публікації: 27.04.2026 р.