

УДК 577.151.45:57.037:664.868

Всероссийский научно-исследовательский институт технологии консервирования – филиал ФГБНУ «Всероссийский научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН

КОРРЕСПОНДЕНЦИЯ:

Кондратенко Владимир Владимирович
Адрес: 142703, Россия, Московская область, Ленинский городской округ, г. Видное, ул. Школьная, д.78
E-mail: nauka@vniitek.ru

ЗАЯВЛЕНИЕ О ДОСТУПНОСТИ ДАННЫХ:
данные текущего исследования доступны по запросу у корреспондирующего автора.

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ:

Кондратенко, В. В., & Кондратенко, Т. Ю. (2022). Методологический подход к определению последовательности ферментов для фрагментации полигликанового комплекса растительной ткани. *Хранение и переработка сельхозсырья*, (4), 85–101.
<https://doi.org/10.36107/spfp.2022.366>

ПОСТУПИЛА: 05.09.2022

ПРИНЯТА: 09.10.2022

ОПУБЛИКОВАНА: 14.10.2022

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ:

авторы сообщают об отсутствии конфликта интересов.



Методологический подход к определению последовательности ферментов для фрагментации полигликанового комплекса растительной ткани

В. В. Кондратенко, Т. Ю. Кондратенко

АННОТАЦИЯ

Введение. Максимальная ступенчатая ферментативная декомпозиция биополимерного комплекса матрикса клеточных стенок потенциально позволяет получать комплекс компонентов, обладающих ценными физико-химическими свойствами. Оптимальная форма активных агентов – гомоферментный препарат с максимально узким спектром целевых активностей. Однако в большинстве случаев даже гомоферментные препараты обладают побочными активностями. В результате свойства конечных продуктов, получаемых с использованием данных ферментных препаратов могут отличаться от требуемых.

Цель. Целью работы является разработка методологического подхода пассивной инактивации нецелевых активностей ферментных препаратов посредством определения рациональной последовательности их применения.

Материалы и методы. Объектом исследования была совокупность данных о спектре и величине целевых активностей комплексных и гомоферментных препаратов, имеющих потенциал использования для выделения полигликанов из матрикса клеточных стенок при последовательной обработке свекловичного жома. В работе использован исключающий итеративный комбинаторный подход, основанный на комплексном анализе целевых характеристик каждого ферментных препаратов с целью выявления критериев, позволяющих однозначно ранжировать варианты при каждой итерации, исключая при этом те, которые не удовлетворяют заданным условиям.

Результаты. Совокупность ферментных препаратов рассмотрена как абстрактное множество, целевые и паразитные активности которого сгруппированы в соответствии с компонентным составом матрикса клеточных стенок. На основании этого для всего рассматриваемого пула ферментных препаратов сформирована матрица активностей. В качестве критериев определены количество строк с ненулевым значением в пределах каждой целевой активности и количество столбцов с ненулевым значением в пределах каждого элемента множества ферментных препаратов. На основании анализа численных значений критериев в пределах каждой итерации каждому из них присвоен ранг. Заданы граничные условия. Элементы множества, не удовлетворяющие граничным условиям, отсеиваются. Подход апробирован на комплексе ферментных препаратов для декомпозиции жома сахарной свёклы.

Выводы. В результате проведённых исследований были разработаны система критериев, методологический подход и алгоритм определения последовательности применения гомоферментных препаратов для ступенчатого извлечения биологически активных компонентов полигликанового комплекса растительного сырья, основанные на пассивной инактивации нецелевых активностей. Предположительно, разработанные критерии, методологический подход и алгоритм его реализации, универсальны и применимы для анализа комплексов гомоферментных препаратов для их использования с целью глубокой переработки. Разработанный методологический подход является неотъемлемой составляющей дерева принятия решений для разработки технологий промышленного производства растительных полигликанов с гарантированными физико-химическими характеристиками.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА

гомоферментный препарат, пул ферментных препаратов, полигликановый комплекс, растительная ткань, последовательность

Methodological Approach to Determine the Sequence of Enzymes for Plant Tissue Polyglycan Complex Fragmentation

Russian Research Institute of Canning
Technology – branch of Gorbатов
Research Center for Food Systems

Vladimir V. Kondratenko, Tatyana Yu. Kondratenko

CORRESPONDENCE:

Vladimir V. Kondratenko

78, Shkolnaya Str., Vidnoye, Moscow
region, 142703, Russian Federation
E-mail: nauka@vniitek.ru

FOR CITATIONS:

Kondratenko, V. V., & Kondratenko, T. Yu.
(2022). Methodological Approach to
Determine the Sequence of Enzymes
for Plant Tissue Polyglycan Complex
Fragmentation. *Storage and processing of
Farm Products*, (4), 85–101. [https://doi.
org/10.36107/spfp.2022.366](https://doi.org/10.36107/spfp.2022.366)

RECEIVED: 05.09.2022

ACCEPTED: 09.10.2022

PUBLISHED: 14.10.2022

DECLARATION OF COMPETING

INTEREST: none declared.

ABSTRACT

Introduction. Maximum stepwise enzymatic decomposition of cell wall matrix biopolymer complex potentially allows obtaining a complex of components with valuable physicochemical properties which are widely used in food industry and medicine. At the same time, the goal of deep processing and maximum raw material conversion is achieved. Optimal form of active agents is a homoenzyme one with the narrowest possible spectrum of target activities. However, in most cases, even homoenzymes have side effects. As a result, the properties of the final products obtained using these enzymes may differ from those required.

Purpose. The aim of the work is to develop a methodological approach for the passive inactivation of non-target activities of enzyme preparations by determining the rational sequence of their application.

Materials and methods. The object of research was a set of data on the spectrum and magnitude of target activities of enzymes which have potential use for polyglycans obtaining from cell wall matrix during sequential processing of sugar beet pulp. In this research it was used an exclusion iterative combinatorial approach based on a comprehensive analysis of the target characteristics for each enzyme in order to identify criteria that allow for the unambiguous ranking of variants within each iteration, at the same time excluding those ones that do not meet the specified conditions.

Results and discussion. The pool of enzymes is considered as an abstract set, where target and parasitic activities are grouped according to the component composition within the cell wall matrix. Based on this, an activity matrix was formed for the entire pool of enzymes. The number of rows with a non-zero value within each target activity and the number of columns with a non-zero value within each element of the enzyme set were defined as criteria. Based on the analysis of the numerical values for criteria within the each iteration, a rank is assigned to each one. The boundary conditions were set. The elements of the set that do not satisfy the boundary conditions were discarded. The implementation algorithm of the methodological approach has an iterative form using combinatorial methods. The approach was tested on a complex of enzymes for sugar beet pulp polyglycan matrix decomposition.

Conclusions. As a result of this research a system of criteria, methodological approach and algorithm for determining the sequence of homoenzymes application for stepwise obtaining the biologically active components of plant raw material polyglycan complex have been developed. This system was based on passive inactivation of non-target activities. Presumably, the developed criteria, methodological approach and algorithm for its implementation are universal and applicable to the analysis of homoenzyme complexes for its use in deep processing. The developed methodological approach is an integral part of the decision-making tree for development the technologies of industrial production of plant polyglycans with the guaranteed physicochemical characteristics.

KEYWORDS

homoenzyme, enzyme pool, polyglycan complex, plant tissue, sequence



ВВЕДЕНИЕ

Полиглицановый комплекс матрикса клеточных стенок растительной ткани включает себя сложную разветвлённую сеть биополимеров (протопектиновой фракции пектиновых веществ, гемицеллюлоз, целлюлозы), соединённых друг с другом посредством нескольких видов химических связей: гликозидными, ионными (посредством «солевых мостиков»), боратыми, комбинированными и водородными (Pérez García et al., 2011; Yoo et al., 2012; Held et al., 2014; Voiniciuc et al., 2018; Amos & Mohnen, 2019; Siemińska-Kuczer et al., 2022; Du et al., 2022). Каждый из биополимеров, в силу специфичности и вариативности химического состава, молекулярной структуры и степени полимеризации, нативно обладает некоторым спектром физико-химических свойств (водоудерживающей (Panchev et al., 2010; Venzon et al., 2015; de Moura et al., 2017), сорбционной (Bok-Badura et al., 2018; Wang et al., 2021; Semenychева et al., 2020), студнеобразующей (Einhorn-Stoll et al., 2012; Yuliarti et al., 2017; Gawkowska et al., 2018; Lee et al., 2021), пенообразующей (Kazantsev et al., 2022) и эмульсиестабилизирующей (Nakauma et al., 2008; Duan et al., 2021; Bindereif et al., 2022) способностью, пре- и пробиотическими (Prandi et al., 2018; Ishisono et al., 2019; Larsen et al., 2019), холестерин стабилизирующими (Sundar Raj et al., 2012; Kumar et al., 2020), противораковыми (Zhang et al., 2015; Delphi & Sepehri, 2016; Wang et al., 2022) свойствами и др.), востребованных в различных отраслях человеческой деятельности. Соответственно, полноценная реализация технологического и биопотенциала компонентов матрикса клеточных стенок возможна только после их дифференцированного извлечения. В результате наших предыдущих исследований (Kondratenko et al., 2020; Kondratenko et al., 2021) был разработан критериальный подход к определению целесообразности и механизма дезинтеграции матрикса клеточных стенок на отдельные целевые компоненты с учётом существующих подходов, основанных на двух принципиально различающихся процессах — неспецифичном гидролизе гликозидных и межмолекулярных связей катионами H^+ , анионами комплексонов, комплексонатов и OH^- (Marry et al., 2000; Yapo et al., 2007; Elizaryev et al., 2020), и узкоспецифичном ферментативном гидролизе гликозидных и эфирных связей (Jung et al., 2012; Dominiak et al., 2014; Marjamaa & Kruus, 2018; Mota et al., 2018; Carpita & McCann, 2020; Abou-Elseoud et al., 2021;

Hennessey-Ramos et al., 2021). В отдельных случаях дискутируется дополнение непосредственного гидролитического процесса сторонними технологическими приёмами, такими, как, например, обработка ультразвуковым излучением (Abou-Elseoud et al., 2021). При этом в отношении определения условий как неспецифичного, так и ферментативного гидролиза имеет место отсутствие унифицированного системного подхода, а выбор агентов и само определение в большинстве случаев осуществляется глубоко эмпирическими методами. При выборе активных агентов наименьшую степень неопределённости следует отметить в отношении ферментативного гидролиза. В настоящее время известно подавляющее большинство ферментов, катализирующих гидролиз гликозидных и эфирных связей основных углеводных компонентов матрикса клеточных стенок растительного сырья (Bonnin et al., 2014; Gudmundsson, 2014; Xia & Li, 2019). Также известны многие продуценты этих ферментов, как растительной, так и микробиологической природы (Gudmundsson, 2014; Giovannoni et al., 2020). Соответственно, в силу многокомпонентности матрикса клеточных стенок растительной ткани, для эффективной её технологической декомпозиции необходимо формирование некоторого пула ферментных препаратов при условии ступенчатой реализации процесса. В свою очередь, состав данного пула детерминирован пулом целевых биополимеров и существующими представлениями о структуре их химических связей как друг с другом, так и другими компонентами матрикса (Рисунок 1). В силу необходимости гидролитического расщепления некоторой совокупности целевых химических связей, к каждому ферментному препарату пула предъявляются требования к специфичности по отношению к цели воздействия.

Всю совокупность существующих ферментных препаратов, ориентированных на расщепление гликозидных связей между отдельными углеводными звеньями, равно как и гидролизующих эфирные связи, можно условно разделить на две большие группы по специфичности к виду связей:

- гомоферментные препараты, в идеале — ориентированные на расщепление какого-либо одного целевого вида гликозидных связей;
- гетероферментные (комплексные ферментные) препараты, обладающие способностью к расщеплению некоторого спектра гликозидных связей.

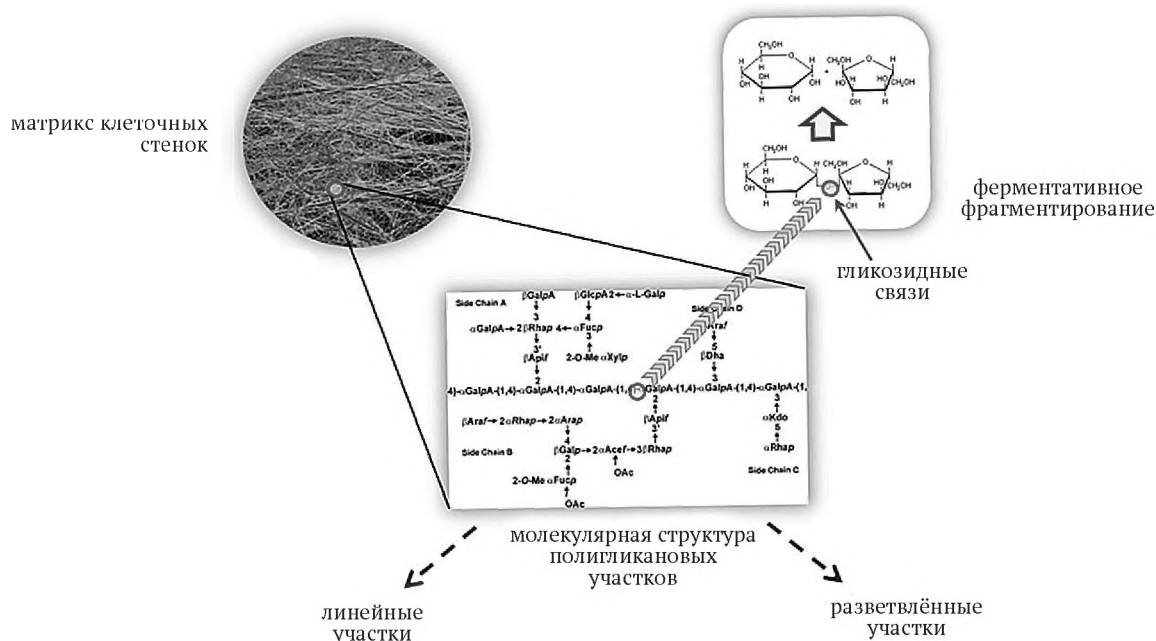


Рисунок 1

Формирование пула целевых компонентов матрикса клеточных стенок (все графические элементы рисунка взяты из открытых источников)

From "Requirement of borate cross-linking of cell wall rhamnogalacturonan II for arabidopsis growth", by M. A. O'Neill, S. Eberhard, P. Albersheim and A. G. Darvill, 2001, Science, 294(5543), pp. 846–849 (<https://doi.org/10.1126/science.1062319>). Copyright 2001 by Science.

Соответственно, для эффективной реализации нативного потенциала полигликанового комплекса растительной ткани необходима его последовательная — ступенчатая — ферментативная декомпозиция с использованием системы гомоферментных препаратов и выделением получаемых целевых продуктов ферментолитиза — компонентов матрикса клеточных стенок — на каждом этапе. При полной декомпозиции матрикса на целевые компоненты можно говорить о его глубокой переработке.

Однако в большинстве случаев промышленно производимые ферментные препараты характеризуются также наличием некоторого количества нецелевых активностей различной выраженности. В результате применение данных ферментных препаратов может приводить к «паразитному» выделению из матрикса клеточных стенок некоторого количества нецелевых компонентов для данной ступени процесса. В силу проблематичности непосредственного устранения «паразитных» активностей ферментных препаратов, возникает необходимость в их нивелировании. Перспективным подходом к решению данной задачи может быть

определение последовательности применения ферментных препаратов для маскировки нецелевых активностей при полной реализации целевого предназначения каждого из препаратов на своей ступени.

Цель работы — разработать методологический подход к определению необходимой последовательности применения гомоферментных препаратов для эффективной ступенчатой ферментативной декомпозиции нативного полигликанового комплекса растительной ткани.

Задачи исследований: (1) сформировать систему критериев оценки ферментных препаратов в их последовательности, (2) разработать алгоритм определения рациональной последовательности применения гомоферментных препаратов для нивелирования их «паразитных» активностей.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы

Совокупность данных о спектре и величине целевых активностей комплексных и гомоферментных препаратов, имеющих потенциал использования для выделения отдельных полиглицанов из матрикса клеточных стенок при последовательной обработке немелассированного свекловичного жома.

Методы

В работе использован исключающий итеративный комбинаторный подход, основанный на комплексном анализе целевых характеристик каждого рассматриваемого варианта с целью выявления критериев, позволяющих однозначно ранжировать варианты при каждой итерации, исключая при этом те, которые не удовлетворяют заданным условиям.

Процедура исследования

В комбинаторном подходе рассмотрена совокупность ферментных препаратов как некоторое абстрактное множество, целевые и паразитные активности которого сгруппированы в соответствии с целевых компонентным составом матрикса клеточных стенок. В результате сформирована матрица активностей пула ферментных препаратов. В качестве критериев определены количество строк с ненулевым значением в пределах каждой целевой активности, количество столбцов с ненулевым значением в пределах каждого элемента множества ферментных препаратов. На основании

анализа численных значений критериев и заданных граничных условий в пределах каждой итерации каждому из них присвоен ранг. Элементы множества, не удовлетворяющие граничным условиям, отсеиваются.

Анализ данных

Анализ проводили с использованием системы критериев на основе разработанного алгоритма определения рациональной последовательности использования гомоферментных препаратов в пакете табличного процессора Microsoft Excel 2010 (Microsoft Corporation).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Промышленно получаемые комплексные и гомоферментные препараты кроме целевой обладают ещё и некоторым множеством минорных активностей, наличие которых может приводить к частично неизбирательной декомпозиции и, как следствие, к недостижению исходных целей процесса. В этой связи принцип последовательности извлечения целевых продуктов ферментативного гидролиза косвенно предполагает путь решения проблемы: последовательную пассивную инактивацию нецелевых активностей ферментных препаратов следующего этапа посредством исчерпывающего удаления из реакционной среды объектов данных активностей в результате действия другого ферментного препарата на предыдущем этапе. Схематично данный подход представлен в Таблице 1.

Таблица 1

Принцип пассивной инактивации нецелевых активностей ферментных препаратов

Технологический этап	Ферментные препараты	Целевые активности				
		A_1	A_2	A_3	A_4	A_5
1	E_1	u_{11}	–	–	–	–
2	E_2	u_{21}^*	u_{22}	–	–	–
3	E_3	u_{31}	u_{32}	u_{33}	–	–
4	E_3	u_{41}	u_{42}	u_{43}	u_{44}	–
5	E_5	u_{51}	u_{52}	u_{53}	u_{54}	u_{55}

* Окрашенные ячейки соответствуют пассивно инактивированным целевым активностям.

Как видно из таблицы, критичным является не только состав пула целевых компонентов матрикса, пула ферментных препаратов и пула целевых активностей, но и последовательность применения ферментных препаратов в процессе ступенчатой фрагментации.

Таким образом, задача определения оптимальной последовательности гомоферментных препаратов для направленного ступенчатого фрагментирования нативного полигликанового комплекса растительного сырья может быть решена с использованием комбинаторного подхода.

Пусть на основании пула целевых полигликановых компонентов матрикса клеточных стенок и пула известных целевых гликозидных связей был сформирован некоторый пул гомоферментных препаратов, представляющий некоторое множество E .

Тогда, по определению, каждому элементу этого множества будет соответствовать один или несколько элементов множества целевых активностей A , определяемого совокупностью активностей всего пула ферментных препаратов. Если множество E содержит m элементов, где $m \in \mathbb{N}$, а множество A — n элементов, где $n \in \mathbb{N}$, то вся совокупность данных о ферментных препаратах и их активностях может быть сведена в матрицу целевых активностей (Таблица 2). В отдельных случаях, если видов гликозидных связей, характеризующих целевой компонент, несколько, и/или одна или несколько активностей (назовём их паразитными) фермента может привести к негативной трансформации целевого компонента в процессе фрагментации полигликанового комплекса, то целесообразно формировать детализированную матрицу активностей с подмножествами целевых P и паразитных S активностей (Таблица 3).

Таблица 2

Матрица целевых активностей пула ферментных препаратов

Множество ферментных препаратов E_i	Множество целевых активностей A_j					Количество активностей k_i
	A_1	A_2	A_3	...	A_n	
E_1	u_{11}	u_{12}	u_{13}	...	u_{1n}	k_1
E_2	u_{21}	u_{22}	u_{23}	...	u_{2n}	k_2
E_3	u_{31}	u_{32}	u_{33}	...	u_{3n}	k_3
...	...	...	...	...	...	...
E_m	u_{m1}	u_{m2}	u_{m3}	...	u_{mn}	k_m

Таблица 3

Фрагмент детализированной матрицы целевых активностей пула ферментных препаратов

Множество ферментных препаратов E_i	Множество целевых активностей A_j																				
	A_1										A_2										...
	подмножество целевых активностей P_{a1}				количество целевых активностей kp_{j1}	подмножество паразитных активностей S_{b1}				количество паразитных активностей ks_{j2}	подмножество целевых активностей P_{a2}				количество целевых активностей kp_{j2}	подмножество паразитных активностей S_{b2}				количество паразитных активностей ks_{j2}	...
	P_{11}	P_{21}	...	$P_{q[1]1}$		S_{11}	S_{21}	...	$S_{z[1]1}$		P_{12}	P_{22}	...	$P_{q[2]2}$		S_{12}	S_{22}	...	$S_{z[2]2}$		...
E_1	$u_{11(p11)}$	$u_{11(p21)}$	...	$u_{11(pq[1]1)}$	kp_{11}	$u_{11(s11)}$	$u_{11(s21)}$	...	$u_{11(sz[1]1)}$	ks_{11}	$u_{11(p12)}$	$u_{11(p22)}$	...	$u_{11(pq[2]2)}$	kp_{12}	$u_{11(s12)}$	$u_{11(s22)}$	...	$u_{11(sz[2]2)}$	ks_{12}	...
E_2	$u_{21(p11)}$	$u_{21(p21)}$	...	$u_{21(pq[1]1)}$	kp_{21}	$u_{21(s11)}$	$u_{21(s21)}$	...	$u_{21(sz[1]1)}$	ks_{21}	$u_{21(p12)}$	$u_{21(p22)}$	...	$u_{21(pq[2]2)}$	kp_{22}	$u_{22(s12)}$	$u_{21(s21)}$	...	$u_{21(sz[2]2)}$	ks_{22}	...
...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...

На следующем этапе необходимо ранжировать множество целевых активностей (а в случае детализированной матрицы — и входящие в них подмножества) по значимости, под которой следует понимать приоритет фрагментации, а в случае наличия паразитных активностей — выраженность влияния на качество извлекаемого компонента. В последнем случае нельзя исключать варианты, когда одно или несколько подмножеств паразитных активностей в свою очередь содержит один или несколько элементов, значимостью которых в первом приближении можно пренебречь — такие элементы необходимо промаркировать.

В итоге основная или детализированная матрица будет содержать требуемый пул гомоферментных препаратов. Если существующий ассортимент ферментных препаратов позволяет сопоставить каждому требуемому препарату — реально существующий в настоящее время, то такой пул является насыщенным. В противном случае требуемый пул может быть либо не полностью насыщен, либо полностью ненасыщен, то есть для любого элемента множества E в настоящее время не существует лабораторно, либо промышленно производимых ферментных препаратов. В случае ненасыщенности пула возникает необходимость формирования технического задания на создание недостающих элементов. При полной ненасыщенности дальнейшие действия по определению последовательности применения гомоферментных препаратов не имеют смысла.

В случае полностью либо частично насыщенного пула элементов множества E в матрицу (основную, либо детализированную) необходимо внести значения активностей u_{ij} , соответствующие существующим элементам.

На этом этапе заканчивается первая часть определения необходимой последовательности применения гомоферментных препаратов, алгоритм которой представлен на Рисунке 2.

Далее, если имеет место детализированная матрица, из неё следует исключить элементы множества E , для которых существуют ненулевые значения активностей, соответствующих немаркированным элементам подмножеств S . Это необходимо для предотвращения получения нецелевых результатов фрагментирования, могущих приводить

к ухудшению количества и качества одного или нескольких конечных продуктов. Маркированные активности в дальнейших преобразованиях не участвуют, но необходимы для внесения в итоговый пул гомоферментных препаратов для учёта при последующей разработке конкретных режимов ферментативной фрагментации.

Полученная матрица (основная или детализированная) включает в себя элементы множества E , каждому из которых соответствует одна или несколько активностей. Если одно или несколько подмножеств P множества A включают элементы, деление на которые практически имеет место, но технологически может быть лишено смысла (например, при рассмотрении арабинанов, галактанов и арабиногалактанов в случае их одновременного присутствия в качестве компонентов нативного полиглицанового комплекса растительной ткани), на последующих этапах преобразований их целесообразно суммировать и рассматривать (в рамках каждого из таких подмножеств P) исключительно в контексте единичных элементов множества A .

Тогда каждому элементу множества E в матрице целевых активностей будет соответствовать одна или более значений активностей i , следовательно, — сумма элементов множества A с ненулевыми значениями k_i .

Таким образом необходимо ранжировать элементы множества E по возрастанию значения k_i . При этом появляется граничное условие: должен существовать хотя бы один элемент множества E , для которого $k_i = 1$. При нарушении данного граничного условия дальнейшие преобразования лишены смысла.

Создадим пустую отдельную матрицу целевых активностей, куда из основной матрицы перенесём элементы множества E , значения k_i которых равны единице (Таблица 4).

В то же время из исходной матрицы (основной или детализированной) необходимо удалить перенесённые в отдельную матрицу элементы множества E и соответствующие их активностям элементы множества A . Таким образом, исходная матрица модифицируется в сторону уменьшения количества элементов как множества E , так и мно-

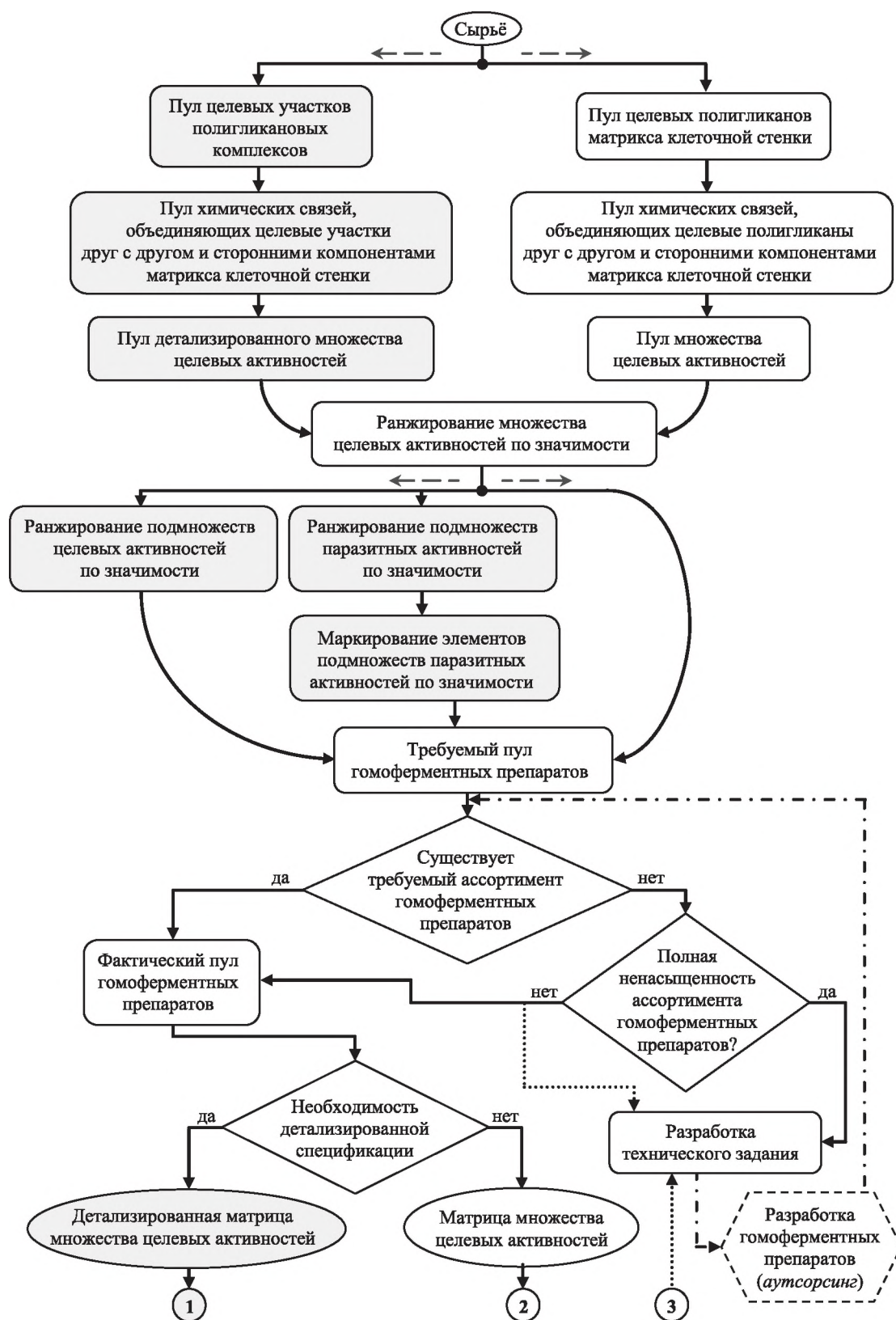


Рисунок 2

Алгоритм определения необходимой последовательности применения гомоферментных препаратов (Часть 1)

Таблица 4

Отдельная матрица целевых активностей пула ферментных препаратов

Множество ферментных препаратов E_i	Множество целевых активностей A_j					Количество активностей k_i
	A_1	A_2	A_3	...	A_n	
E_1	u_{11}	u_{12}	u_{13}	...	u_{1n}	1
E_2	u_{21}	u_{22}	u_{23}	...	u_{2n}	1
E_3	u_{31}	u_{32}	u_{33}	...	u_{3n}	1
...	...	...	...	...	...	...
E_c	u_{c1}	u_{c2}	u_{c3}	...	u_{cn}	1
Количество препаратов w_j	w_1	w_2	w_3	...	w_n	
Ранг целевой активности w_j^*	w_1^*	w_2^*	w_3^*	...	w_n^*	

жества A . Одновременно необходимо сделать пересчёт значений k_i и ранжировать элементы модифицированной исходной матрицы по возрастанию k_i . Модифицированная исходная матрица готова к следующей итерации.

В то же время из исходной матрицы (основной или детализированной) необходимо удалить перенесённые в отдельную матрицу элементы множества E и соответствующие их активностям элементы множества A . Таким образом, исходная матрица модифицируется в сторону уменьшения количества элементов как множества E , так и множества A . Одновременно необходимо сделать пересчёт значений k_i и ранжировать элементы модифицированной исходной матрицы по возрастанию k_i . Модифицированная исходная матрица готова к следующей итерации.

По аналогии с показателем k_i , соответствующем сумме количества активностей для каждого элемента множества E , для каждого элемента множества A отдельной матрицы целевых активностей введём

показатель w_j , соответствующий сумме активностей элемента множества A по всем E_i . Удалим из отдельной матрицы строки, соответствующие элементам множества E , для которых справедливо условие:

$$\begin{cases} w_j > 1, \\ u_{ij} \neq \max. \end{cases} \quad (1)$$

То есть, если несколько гомоферментных препаратов показывают сходную идентичность единичных целевых активностей, необходимо оставить только один, имеющий максимальное значение соответствующей активности.

Пересчитаем значения w_j с учётом удалённых строк. Присвоим столбцам целевых активностей A_i ранги w_i^* , принимающие следующие значения:

$$w_i^* = \begin{cases} 0, w_i = 0, \\ \{w_1 : w_{i-1}\}_{\max} + 1, w_i > 1. \end{cases} \quad (2)$$

На основе отдельной матрицы целевых активностей создадим отдельную матрицу рангов целевых активностей (Таблица 5).

Таблица 5

Отдельная матрица рангов целевых активностей пула ферментных препаратов

Множество ферментных препаратов E_i	Множество рангов целевых активностей A_j					Ранг ферментного препарата k_i^*
	A_1	A_2	A_3	...	A_n	
$E_{i(k1)}$	u_{11}^*	u_{12}^*	u_{13}^*	...	u_{1n}^*	1
$E_{i(k2)}$	u_{21}^*	u_{22}^*	u_{23}^*	...	u_{2n}^*	2
$E_{i(k3)}$	u_{31}^*	u_{32}^*	u_{33}^*	...	u_{3n}^*	3
...	...	...	...	...	...	...
$E_{i(kc)}$	u_{c1}^*	u_{c2}^*	u_{c3}^*	...	u_{cn}^*	c
Количество препаратов w_j	w_1	w_2	w_3	...	w_n	–
Ранг целевой активности w_j^*	w_1^*	w_2^*	w_3^*	...	w_n^*	–

Каждому значению целевой активности u_{ij} присвоим ранг u_{ij}^* , соответствующий условию:

$$u_{ij}^* = \begin{cases} 0, & w_i^* = 0; \\ w_i^*, & w_i^* \neq 0. \end{cases} \quad (3)$$

Также, по аналогии с показателем k_i , в отдельной матрице рангов для каждого элемента множества E введём показатель суммы рангов k_i^* :

$$k_i^* := \sum_{j=1}^n u_{ij}^*. \quad (4)$$

Проранжируем элементы множества E в порядке возрастания k_i^* . Таким образом в рамках производимой итерации получаем первую часть искомой последовательности применения гомоферментных препаратов.

Перенесём итоговую последовательность в итоговую матрицу целевых активностей, куда внесём значения всех целевых и паразитных активностей, соответствующих выбранным гомоферментным препаратам.

Повторим всю итерацию с модифицированной исходной (или детализированной) матрицей целевых

активностей, по результатам которой дополним итоговую матрицу целевых активностей.

Весь цикл необходимо повторять до полного вырождения модифицированной исходной матрицы (когда не соблюдается граничное условие по k_i), либо до её истощения (когда $E = \emptyset$).

По окончании итераций итоговая матрица целевых активностей будет содержать полный итоговый фактический пул гомоферментных препаратов, который целесообразно использовать для направленной ступенчатой фрагментации полигликанового комплекса анализируемого растительного материала, с последовательностью элементов, соответствующей оптимальному порядку применения.

Алгоритм данной (второй) части алгоритма определения необходимой последовательности применения гомоферментных препаратов представлен на Рисунке 3.

В качестве примера практической реализации разработанного методологического подхода рассмотрим пул отечественных ферментных препаратов

Таблица 6

Пул ферментных препаратов для ступенчатой ферментативной фрагментации полигликанового комплекса свекловичного жома

Препарат	Активность, ед./г													
	пектин ксиланы		гемицеллюлозы						целлюлоза					
			арабинаны, галактаны, арабино-галактаны						моно-, ди- и трисахариды					
	пектинлиаза	полигалактуроназа*	ксилаза	галактаза	арабино-галактаза	арабино-ксилаза	арабиназа (ракет-вл.)	арабиназа (линейн.)	КМЦ-аза	β-глюконоза	β-глюкозидаза	амицелаза	целобиаза	АФБ
Пектиназа RCA RGL	190	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Пектинлиаза PEL	10 500	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Полигалактуроназа <i>Asp. foetidus</i>	-	36 300	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Целлюлаза без пектиназы	-	-	30 644	-	-	-	-	-	21 054	30 371	-	-	-	-
Ксибетен Ксил.	-	-	5 687	-	-	-	-	-	1 705	1 399	-	-	-	-
Ксибетен Целлюл.	-	-	629	-	-	-	-	-	4 568	3 200	-	-	-	-
Эндоглюконоза II	-	-	-	-	-	-	-	-	40 000	17 000	2 700	150	200	500
Ксиланаза	-	-	2 200	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Арабиназа	670	12 385	6 693	1 601	52	11 540	481	1 785	102	260	-	-	-	-

* Окрашенные ячейки соответствуют паразитным активностям.

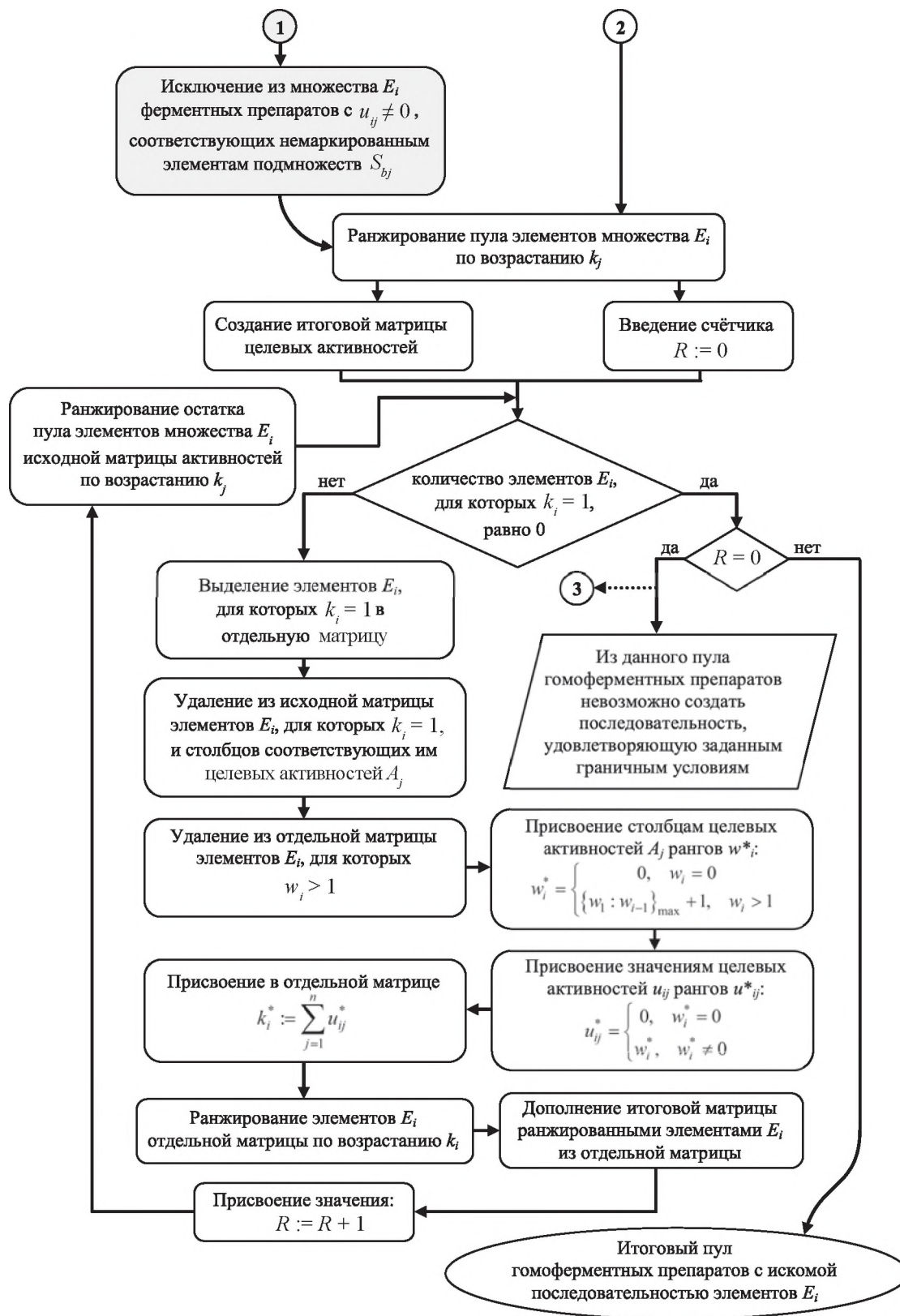


Рисунок 3

Алгоритм определения необходимой последовательности применения гомоферментных препаратов (Часть 2)

для ступенчатой фрагментации полигликанового комплекса свекловичного жома (Таблица 6).

Всё множество целевых активностей по целевым конечным продуктам можно классифицировать на относящиеся к пектиновым веществам, гемицеллюлозам и целлюлозе. Причём среди множества активностей, относящихся к гемицеллюлозам, можно выделить две группы — относящиеся к ксиланам, а также к арабино-галактанам, арабинанам и галактанам. Последнее подмножество, в силу одновременности присутствия в составе полигликанового комплекса свекловичного жома и удовлетворительного потенциала применение в комплексе, можно рассматривать как единичное подмножество активностей, относящееся к арабинано-галактановому комплексу.

Подобный вывод можно сделать и в отношении подмножества активностей, относящихся к олигосахаридам из целлюлоз. В то же время полигалактуроназную, β -глюкозидазную, авицелазную, целобиазную и АФБ- активности следует отнести к категории паразитных.

В результате применения к исходному пулу подхода, основанного на разработанном совокупном алгоритме, включающем в себя обе части, определены финальный пул гомоферментных препаратов и последовательность их применения для фрагмен-

тации полигликанового комплекса свекловичного жома с целью дифференциального извлечения пектиновых веществ, ксиланов, арабинано-галактанового комплекса и олигосахаридов с глюкозой в качестве элементарного звена (Таблица 7).

При этом у фермента «Целлюлаза без пектиназы» пассивно инактивирована одна, а у фермента «Арабиназа» — четыре целевых активностей. В результате каждый фермент, будучи применён в установленной последовательности, максимально реализует свой потенциал в заданной ему узкой области, а свойства получаемых продуктов определяются исключительно аутентичностью молекулярной структуры, но не суперпозицией свойств, задаваемых одновременно выделяемыми полигликанами других групп.

Разработанные критерии, а также подход и алгоритм его реализации, предположительно, являются универсальными и пригодны для анализа комплексов гомоферментных препаратов, с возможностью включения некоторого (минорного) количества комплексных ферментных препаратов.

Данный подход является неотъемлемой составляющей дерева принятия решений для разработки технологий промышленного производства растительных полигликанов с гарантированными физико-химическими характеристиками.

Таблица 7

Последовательность ферментных препаратов для ступенчатой ферментативной фрагментации свекловичного жома

№ п.п.	Препарат	Активность, ед./г								
		пектин	гемицеллюлозы					целлюлоза		
			ксиланы	арабинаны, галактаны, арабино-галактаны				олиго-сахариды		
				пектинлиаза	ксилаза	галактаза	арабино-галактаза	арабино-ксилаза	арабиназа (раветл.)	арабиназа (линейн.)
1	Пектинлиаза PEL	10 500	–	–	–	–	–	–	–	–
2	Ксилаза	–	2 200	–	–	–	–	–	–	–
3	Целлюлаза без пектиназы	–	30 644	–	–	–	–	–	21 054	30 371
4	Арабиназа	670*	6 693	1 601	52	11 540	481	1 785	102	260

* Окрашенные ячейки соответствуют пассивно инактивированным целевым активностям.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенных исследований были разработаны система критериев, методологический подход и алгоритм определения последовательности применения гомоферментных препаратов для ступенчатого извлечения биологически активных компонентов полигликанового комплекса растительного сырья, основанные на пассивной инактивации нецелевых активностей, опирающиеся на существующие представления о структурных особенностях участков биополимерного комплекса клеточных стенок растительной ткани, их практической или потенциальной целевой значимости и особенностях химических связей с остальными компонентами матрикса. В результате каждый фермент, будучи применен в установленной последовательности, максимально реализует свой потенциал в заданной ему узкой области, а свойства получаемых продуктов определяются исключительно аутентичностью молекулярной структуры, но не суперпозицией свойств, задаваемых одновременно выделяемыми полигликанами других групп.

Разработанные критерии, а также методологический подход и алгоритм его реализации, предположительно, являются универсальными и применимы для анализа комплексов гомоферментных препаратов, с возможностью включения некоторого (минорного) количества комплексных ферментных препаратов.

Разработанный методологический подход является неотъемлемой составляющей дерева принятия решений для разработки технологий промышленного производства растительных полигликанов с гаран-

тированными физико-химическими характеристиками, начало формирования которого положено нашими предыдущими исследованиями.

ВЫРАЖЕНИЕ ПРИЗНАТЕЛЬНОСТИ

Авторы выражают искреннюю благодарность зав. научно-исследовательской лабораторией физико-химии ферментативной трансформации полимеров кафедры химической энзимологии химического факультета Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова, зав. лаборатории биотехнологии ферментов Федерального исследовательского центра «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук, доктору химических наук Синицыну Аркадию Пантелеймоновичу за предоставление информации о спектре активностей комплексных и гомоферментных препаратов.

АВТОРСКИЙ ВКЛАД

Кондратенко В. В.: Научное руководство исследованием, концептуализация, разработка методологии исследования, написание — рецензирование и редактирование рукописи

Кондратенко Т. Ю.: Проведение исследования, верификация данных, формальный анализ — применение статистических и математических методов, визуализация, написание — подготовка черновика рукописи, подготовка и создание рукописи

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Abou-Elseoud, W. S., Hassan, E. A., & Hassan, M. L. (2021). Extraction of pectin from sugar beet pulp by enzymatic and ultrasound-assisted treatments. *Carbohydrate Polymer Technologies and Applications*, 2, Article 100042. <https://doi.org/10.1016/j.carpta.2021.100042>.
- Amos, R. A., & Mohnen, D. (2019). Critical review of plant cell wall matrix polysaccharide glycosyltransferase activities verified by heterologous protein expression. *Frontiers in Plant Science*, 10, Article 915. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00915>
- Bindereif, B., Karbstein, H. P., Zahn, K., & van der Schaaf, U. S. (2022). Effect of conformation of sugar beet pectin on the interfacial and emulsifying properties. *Foods*, 11(2), Article 214. <https://doi.org/10.3390/foods11020214>
- Bok-Badura, J., Jakóbi-Kolon, A., Karoń, K., & Mitko, K. (2018). Sorption studies of heavy metal ions on pectin-nano-titanium dioxide composite adsorbent. *Separation Science and Technology*, 53(7), 1034–1044, <https://doi.org/10.1080/01496395.2017.1329840>
- Bonnin, E., Garnier, C., & Ralet, M. C. (2014). Pectin-modifying enzymes and pectin-derived materials: applications and impacts. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 98, 519–532. <https://doi.org/10.1007/s00253-013-5388-6>

- Carpita, N. C., & McCann, M. C. (2020). Redesigning plant cell walls for the biomass-based bioeconomy. *Journal of Biological Chemistry*, 295(44), 15144–15157. <https://doi.org/10.1074/jbc.rev120.014561>
- De Moura, F. A., Macagnan, F. T., dos Santos, L. R., Bizzani, M., de Oliveira Petkowicz, C. L., & da Silva, L. P. (2017). Characterization and physicochemical properties of pectins extracted from agroindustrial by-products. *Journal of Food Science and Technology*, 54(10), 3111–3117. <https://doi.org/10.1007/s13197-017-2747-9>
- Delphi, L., & Sepehri, H. (2016). Apple pectin: A natural source for cancer suppression in 4T1 breast cancer cells in vitro and express p53 in mouse bearing 4T1 cancer tumors, *in vivo*. *Biomedicine Pharmacotherapy*, 84, 637–644. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2016.09.080>
- Dominiak, M., Søndergaard, K. M., Wichmann, J., Vidal-Melgosa, S., Willats, W. G. T., Meyer, A. S., & Mikkelsen, J. D. (2014). Application of enzymes for efficient extraction, modification, and development of functional properties of lime pectin. *Food Hydrocolloids*, 40, 273–282. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.03.009>
- Du, J., Anderson, C. T., & Xiao, C. (2022). Dynamics of pectic homogalacturonan in cellular morphogenesis and adhesion, wall integrity sensing and plant development. *Nature Plants*, 8, Article 332340. <https://doi.org/10.1038/s41477-022-01120-2>
- Duan, X., Yang, Z., Yang, J., Liu, F., Xu, X., & Pan, S. (2021). Structural and emulsifying properties of citric acid extracted satsuma mandarin peel pectin. *Foods*, 10(10), Article 2459. <https://doi.org/10.3390/foods10102459>
- Einhorn-Stoll, U., Kastner, H., & Senge, B. (2012). Comparison of molecular parameters; material properties and gelling behaviour of commercial citrus pectins. In P. A. Williams, G. O. Phillips (Eds.) *Gums and stabilisers for the food industry* 16 (pp. 199–206). The Royal Society of Chemistry. <https://doi.org/10.1039/9781849734554-00199>
- Elizaryev, A., Kostyukova, N., Vdovina, I., Riianova, E., Melnikova, A., & Sadykova, A. (2020). Low-waste production of pectin from beet pulp. *Ecological and Biological Well-Being of Flora and Fauna*, 203, Article 04012. <https://doi.org/10.1051/e3sconf/202020304012>
- Gawkowska, D., Cybulska, J., & Zdunek, A. (2018). Structure-related gelling of pectins and linking with other natural compounds: A review. *Polymers (Basel)*, 10(7), Article 762. <https://doi.org/10.3390/polym10070762>
- Giovannoni, M., & Gramegna, G., Benedetti, M., Mattei B. (2020). Industrial use of cell wall degrading enzymes: The fine line between production strategy and economic feasibility. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 8, Article 358. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.00356>
- Gudmundsson, M. (2014). *Structure and functional studies of plant cell wall degrading enzymes*. [Doctoral Dissertation, Swedish University of Agricultural Sciences] Uppsala, Sweden.
- Held, M. A., Jiang, N., Basu, D., Showalter, A. M., & Faik, A. (2014). Plant cell wall polysaccharides: Structure and biosynthesis. In K. Ramawat, J. M. Mérillon (Eds.) *Polysaccharides* (pp. 1–47). Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-03751-6_73-1
- Hennessey-Ramos, L., Murillo-Arango, W., Vasco-Correa, J., & Paz Astudillo, I. C. (2021). Enzymatic extraction and characterization of pectin from cocoa pod husks (*Theobroma cacao* L.) Using Celluclast 1.5 L. *Molecules*, 26, Article 1473. <https://doi.org/10.3390/molecules26051473>
- Ishisono, K., Mano, T., Yabe, T., & Kitaguchi, K. (2019). Dietary fiber pectin ameliorates experimental colitis in a neutral sugar side chain-dependent manner. *Frontiers in Immunology*, 10, Article 2979. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.02979>
- Jung, S. K., Parisutham, V., Jeong, S. H., & Lee, S. K. (2012). Heterologous expression of plant cell wall degrading enzymes for effective production of cellulosic biofuels. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2012, Article 405842. <https://doi.org/10.1155/2012/405842>
- Kazantsev, E. V., Kondratev, N. B., Rudenko, O. S., Petrova, N. A., & Belova, I. A. (2022). Formation of a foamy structure of confectionery pastille products. *Food Systems*, 5(1), 64–69. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2022-5-1-64-69>
- Kondratenko, V. V., Kondratenko, T. Yu., & Petrov, A. N. (2021). Directed homoenzymatic fragmentation of the plant protopectin complex: Assessment criteria. *Foods and Raw Materials*, 9(2), 254–261. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2021-2-254-261>
- Kondratenko, V. V., Kondratenko, T. Yu., Petrov, A. N., & Belozorov, G. A. (2020). Assessing protopectin transformation potential of plant tissue using a zoned criterion space. *Foods and Raw Materials*, 8(2), 348–361. <http://doi.org/10.21603/2308-4057-2020-2-348-361>
- Kumar, R. V., Srivastava, D., Singh, V., Kumar, U., Vishvakarma, V. K., Singh, P., Kumar, D., & Kumar, R. (2020). Characterization, biological evaluation and molecular docking of mulberry fruit pectin. *Scientific Reports*, 10, Article 21789. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-78086-8>
- Larsen, N., Bussolo de Souza, C., Krych, L., Barbosa Cahú, T., Wiese, M., Kot, W., Hansen, K.M., Blennow, A., Venema, K., & Jespersen, L. (2019). Potential of pectins to beneficially modulate the gut microbiota depends on their structural properties. *Frontiers in Microbiology*, 10, Article 223. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00223>
- Lee, B. H., Jung, H. T., Kim, H. S., & Yoo, S. H. (2021). Structural and gelling properties of very low methoxyl pectin produced by an alkali-treatment. *Korean Society of Food Science and Technology*, 53(2), 121–125. <https://doi.org/10.9721/KJFST.2021.53.2.121>
- Marjamaa, K., & Kruus, K. (2018). Enzyme biotechnology in degradation and modification of plant cell wall polymers. *Physiologia Plantarum*, 164(1), 106–118. <https://doi.org/10.1111/ppl.12800>
- Marry, M., McCann, M. C., Kolpak, F., White, A. R., Stacey, N. J., & Roberts, K. (2000). Extraction of pectic polysaccharides from sugar-beet cell walls. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80(1), 17–28. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0010\(20000101\)80:1<17::AID-JSFA491>3.0.CO;2-4](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0010(20000101)80:1<17::AID-JSFA491>3.0.CO;2-4)

- Mota, Th. R., de Oliveira, D. M., Marchiosi, R., Ferrarese-Filho, O., & dos Santos, W. D. (2018). Plant cell wall composition and enzymatic deconstruction. *AIMS Bioengineering*, 5(1), 63–77. <https://doi.org/10.3934/bioeng.2018.1.63>
- Nakauma, M., Funami, T., Noda, S., Ishihara, S., Al-Assaf, S., Nishinari, K., & Phillips, G. O. (2008). Comparison of sugar beet pectin, soybean soluble polysaccharide, and gum arabic as food emulsifiers. 1. Effect of concentration, pH, and salts on the emulsifying properties. *Food Hydrocolloids*, 22(7), 1254–1267. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2007.09.004>
- O'Neill, M. A., Eberhard, S., Albersheim, P., & Darvill, A. G. (2001). Requirement of borate cross-linking of cell wall rhamnogalacturonan II for arabidopsis growth. *Science*, 294(5543), 846–849. <https://doi.org/10.1126/science.1062319>
- Panchev, I. N., Slavov, A., Nikolova, K., & Kovacheva, D. (2010). On the water-sorption properties of pectin. *Food Hydrocolloids*, 24(8), Article 763e769. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2010.04.002>
- Pérez García, M., Zhang, Y., Hayes, J., Salazar, A., Zabolina, O. A., & Hong, M. (2011). Structure and interactions of plant cell-wall polysaccharides by two- and three-dimensional magic-angle-spinning solid-state NMR. *Biochemistry*, 50(6), 989–1000. <https://doi.org/10.1021/bi101795q>
- Prandi, B., Baldassarre, S., Babbar, N., Bancalari, E., Vandezande, P., Hermans, D., Bruggeman, G., Gatti, M., Elst, K., & Sforza, S. (2018). Pectin oligosaccharides from sugar beet pulp: molecular characterization and potential prebiotic activity. *Food & Function journal*, 9, 1557–1569. <https://doi.org/10.1039/C7FO01182B>
- Semenycheva, L. L., Kuleshova, N. V., Mitin, A. V., Belaya, T. A., & Mochkina, D. V. (2020). Molecular weight characteristics and sorption properties of pectin extracted from different substrates. Proceedings of Universities. *Applied Chemistry and Biotechnology*, 10(4), 728–737. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2020-10-4-728-737>
- Siemińska-Kuczer, A., Szymańska-Chargot, M., & Zdunek, A. (2022). Recent advances in interactions between polyphenols and plant cell wall polysaccharides as studied using an adsorption technique. *Food Chemistry*, 373B, Article 131487. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131487>
- Sundar Raj, A. A., Rubila, S., Jayabalan, R., & Ranganathan, T. V. (2012). A review on pectin: Chemistry due to general properties of pectin and its pharmaceutical uses. *Omics International*, 1(12), 1–4. <https://doi.org/10.4172/scientificreports.550>
- Venzon, S. S., Canteri, M. H., Granato, D., Junior, B. D., Maciel, G. M., Stafussa, A. P., & Haminiuk, C. W. (2015). Physicochemical properties of modified citrus pectins extracted from orange pomace. *Journal of Food Science and Technology*, 52(7), 4102–4112. <https://doi.org/10.1007/s13197-014-1419-2>
- Voiniciuc, C., Pauly, M., & Usadel, B. (2018). Monitoring polysaccharide dynamics in the plant cell wall. *Plant Physiology*, 176(4), 2590–2600. <https://doi.org/10.1104%2Fpp.17.01776>
- Wang, L., Zhao, L., Gong, F. I., Sun, C., Du, D., Yang, X., & Guo, X. (2022). Modified citrus pectin inhibits breast cancer development in mice by targeting tumor-associated macrophage survival and polarization in hypoxic microenvironment. *Acta Pharmacologica Sinica*, 43, 1556–1567. <https://doi.org/10.1038/s41401-021-00748-8>
- Wang, R., Li, Y., Shuai, X., Chen, J., Liang, R., & Liu, C. (2021). Development of pectin-based aerogels with several excellent properties for the adsorption of Pb²⁺. *Foods*, 10(12), Article 3127. <https://doi.org/10.3390/foods10123127>
- Xia, J. L., & Li, P. J. (2019). Pectic enzymes. In L. Melton, F. Shahidi, P. Varelis (Eds.) *Encyclopedia of food chemistry* (pp. 270–276). Academic Press, Oxford, UK. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.21645-4>
- Yapo, B. M., Robert, C., Etienne, I., Wathelet, B., & Paquot, M. (2007). Effect of extraction conditions on the yield, purity and surface properties of sugar beet pulp pectin extracts. *Food Chemistry*, 100(4), 1356–1364. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.12.012>
- Yoo, H. D., Kim, D., & Paek, S. H. (2012). Plant cell wall polysaccharides as potential resources for the development of novel prebiotics. *Biomolecules & Therapeutics*, 20(4), 371–379. <https://doi.org/10.4062/biomolther.2012.20.4.371>
- Yuliarti, O., Low Sok-Hoon, A., & Yee, S. (2017). Chong influence of pH, pectin and Ca concentration on gelation properties of low-methoxyl pectin extracted from *Cydonia barbata* Miers. *Food Structure*, 11, 16–23. <https://doi.org/10.1016/j.foostr.2016.10.005>
- Zhang, W., Xu, P., & Zhang, H. (2015). Pectin in cancer therapy: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 44(2), 258–271. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2015.04.001>

REFERENCES

- Abou-Elseoud, W. S., Hassan, E. A., & Hassan, M. L. (2021). Extraction of pectin from sugar beet pulp by enzymatic and ultrasound-assisted treatments. *Carbohydrate Polymer Technologies and Applications*, 2, Article 100042. <https://doi.org/10.1016/j.carpta.2021.100042>
- Amos, R. A., & Mohnen, D. (2019). Critical review of plant cell wall matrix polysaccharide glycosyltransferase activities verified by heterologous protein expression. *Frontiers in Plant Science*, 10, Article 915. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00915>
- Bindereif, B., Karbstein, H. P., Zahn, K., & van der Schaaf, U. S. (2022). Effect of conformation of sugar beet pectin on the interfacial and emulsifying properties. *Foods*, 11(2), Article 214. <https://doi.org/10.3390/foods11020214>
- Bok-Badura, J., Jakóbk-Kolon, A., Karoń, K., & Mitko, K. (2018). Sorption studies of heavy metal ions on pectin-nano-titanium dioxide composite adsorbent. *Separation Science and Technology*, 53(7), 1034–1044. <https://doi.org/10.1080/01496395.2017.1329840>

- Bonnin, E., Garnier, C., & Ralet, M. C. (2014). Pectin-modifying enzymes and pectin-derived materials: applications and impacts. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 98, 519–532. <https://doi.org/10.1007/s00253-013-5388-6>
- Carpita, N. C., & McCann, M. C. (2020). Redesigning plant cell walls for the biomass-based bioeconomy. *Journal of Biological Chemistry*, 295(44), 15144–15157. <https://doi.org/10.1074/jbc.rev120.014561>
- De Moura, F. A., Macagnan, F. T., dos Santos, L. R., Bizzani, M., de Oliveira Petkowicz, C. L., & da Silva, L. P. (2017). Characterization and physicochemical properties of pectins extracted from agroindustrial by-products. *Journal of Food Science and Technology*, 54(10), 3111–3117. <https://doi.org/10.1007/s13197-017-2747-9>
- Delphi, L., & Sepehri, H. (2016). Apple pectin: A natural source for cancer suppression in 4T1 breast cancer cells in vitro and express p53 in mouse bearing 4T1 cancer tumors, *in vivo*. *Biomedicine Pharmacotherapy*, 84, 637–644. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2016.09.080>
- Dominiak, M., Søndergaard, K. M., Wichmann, J., Vidal-Melgosa, S., Willats, W. G. T., Meyer, A. S., & Mikkelsen, J. D. (2014). Application of enzymes for efficient extraction, modification, and development of functional properties of lime pectin. *Food Hydrocolloids*, 40, 273–282. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.03.009>
- Du, J., Anderson, C. T., & Xiao, C. (2022). Dynamics of pectic homogalacturonan in cellular morphogenesis and adhesion, wall integrity sensing and plant development. *Nature Plants*, 8, Article 332340. <https://doi.org/10.1038/s41477-022-01120-2>
- Duan, X., Yang, Z., Yang, J., Liu, F., Xu, X., & Pan, S. (2021). Structural and emulsifying properties of citric acid extracted satsuma mandarin peel pectin. *Foods*, 10(10), Article 2459. <https://doi.org/10.3390/foods10102459>
- Einhorn-Stoll, U., Kastner, H., & Senge, B. (2012). Comparison of molecular parameters; material properties and gelling behaviour of commercial citrus pectins. In P. A. Williams, G. O. Phillips (Eds.) *Gums and stabilisers for the food industry 16* (pp. 199–206). The Royal Society of Chemistry. <https://doi.org/10.1039/9781849734554-00199>
- Elizaryev, A., Kostyukova, N., Vdovina, I., Riianova, E., Melnikova, A., & Sadykova, A. (2020). Low-waste production of pectin from beet pulp. *Ecological and Biological Well-Being of Flora and Fauna*, 203, Article 04012. <https://doi.org/10.1051/e3sconf/202020304012>
- Gawkowska, D., Cybulska, J., & Zdunek, A. (2018). Structure-related gelling of pectins and linking with other natural compounds: A review. *Polymers (Basel)*, 10(7), Article 762. <https://doi.org/10.3390/polym10070762>
- Giovannoni, M., & Gramegna, G., Benedetti, M., Mattei B. (2020). Industrial use of cell wall degrading enzymes: The fine line between production strategy and economic feasibility. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 8, Article 358. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.00356>
- Gudmundsson, M. (2014). *Structure and functional studies of plant cell wall degrading enzymes*. [Doctoral Dissertation, Swedish University of Agricultural Sciences] Uppsala, Sweden.
- Held, M. A., Jiang, N., Basu, D., Showalter, A. M., & Faik, A. (2014). Plant cell wall polysaccharides: Structure and biosynthesis. In K. Ramawat, J. M. Mérillon (Eds.) *Polysaccharides* (pp. 1–47). Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-03751-6_73-1
- Hennessey-Ramos, L., Murillo-Arango, W., Vasco-Correa, J., & Paz Astudillo, I. C. (2021). Enzymatic extraction and characterization of pectin from cocoa pod husks (*Theobroma cacao* L.) Using Celluclast 1.5 L. *Molecules*, 26, Article 1473. <https://doi.org/10.3390/molecules26051473>
- Ishisono, K., Mano, T., Yabe, T., & Kitaguchi, K. (2019). Dietary fiber pectin ameliorates experimental colitis in a neutral sugar side chain-dependent manner. *Frontiers in Immunology*, 10, Article 2979. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.02979>
- Jung, S. K., Parisutham, V., Jeong, S. H., & Lee, S. K. (2012). Heterologous expression of plant cell wall degrading enzymes for effective production of cellulosic biofuels. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2012, Article 405842. <https://doi.org/10.1155/2012/405842>
- Kazantsev, E. V., Kondratev, N. B., Rudenko, O. S., Petrova, N. A., & Belova, I. A. (2022). Formation of a foamy structure of confectionery pastille products. *Food Systems*, 5(1), 64–69. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2022-5-1-64-69>
- Kondratenko, V. V., Kondratenko, T. Yu., & Petrov, A. N. (2021). Directed homoenzymatic fragmentation of the plant protopectin complex: Assessment criteria. *Foods and Raw Materials*, 9(2), 254–261. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2021-2-254-261>
- Kondratenko, V. V., Kondratenko, T. Yu., Petrov, A. N., & Belozorov, G. A. (2020). Assessing protopectin transformation potential of plant tissue using a zoned criterion space. *Foods and Raw Materials*, 8(2), 348–361. <http://doi.org/10.21603/2308-4057-2020-2-348-361>
- Kumar, R. V., Srivastava, D., Singh, V., Kumar, U., Vishvakarma, V. K., Singh, P., Kumar, D., & Kumar, R. (2020). Characterization, biological evaluation and molecular docking of mulberry fruit pectin. *Scientific Reports*, 10, Article 21789. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-78086-8>
- Larsen, N., Bussolo de Souza, C., Krych, L., Barbosa Cahú, T., Wiese, M., Kot, W., Hansen, K.M., Blennow, A., Venema, K., & Jespersen, L. (2019). Potential of pectins to beneficially modulate the gut microbiota depends on their structural properties. *Frontiers in Microbiology*, 10, Article 223. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00223>
- Lee, B. H., Jung, H. T., Kim, H. S., & Yoo, S. H. (2021). Structural and gelling properties of very low methoxyl pectin produced by an alkali-treatment. *Korean Society of Food Science and Technology*, 53(2), 121–125. <https://doi.org/10.9721/KJFST.2021.53.2.121>
- Marjamaa, K., & Kruus, K. (2018). Enzyme biotechnology in degradation and modification of plant cell wall polymers. *Physiologia Plantarum*, 164(1), 106–118. <https://doi.org/10.1111/ppl.12800>
- Marry, M., McCann, M. C., Kolpak, F., White, A. R., Stacey, N. J., & Roberts, K. (2000). Extraction of pectic polysaccharides from sugar-beet cell walls. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80(1), 17–28. <https://doi.org/10.1002/>

- (SICI)1097-0010(20000101)80:1<17::AID-JSFA491>3.0.CO;2-4
- Mota, Th. R., de Oliveira, D. M., Marchiosi, R., Ferrarese-Filho, O., & dos Santos, W. D. (2018). Plant cell wall composition and enzymatic deconstruction. *AIMS Bioengineering*, 5(1), 63–77. <https://doi.org/10.3934/bioeng.2018.1.63>
- Nakauma, M., Funami, T., Noda, S., Ishihara, S., Al-Assaf, S., Nishinari, K., & Phillips, G. O. (2008). Comparison of sugar beet pectin, soybean soluble polysaccharide, and gum arabic as food emulsifiers. 1. Effect of concentration, pH, and salts on the emulsifying properties. *Food Hydrocolloids*, 22(7), 1254–1267. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2007.09.004>
- O'Neill, M. A., Eberhard, S., Albersheim, P., & Darvill, A. G. (2001). Requirement of borate cross-linking of cell wall rhamnogalacturonan II for arabidopsis growth. *Science*, 294(5543), 846–849. <https://doi.org/10.1126/science.1062319>
- Panchev, I. N., Slavov, A., Nikolova, K., & Kovacheva, D. (2010). On the water-sorption properties of pectin. *Food Hydrocolloids*, 24(8), Article 763e769. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2010.04.002>
- Pérez García, M., Zhang, Y., Hayes, J., Salazar, A., Zabolina, O. A., & Hong, M. (2011). Structure and interactions of plant cell-wall polysaccharides by two- and three-dimensional magic-angle-spinning solid-state NMR. *Biochemistry*, 50(6), 989–1000. <https://doi.org/10.1021/bi101795q>
- Prandi, B., Baldassarre, S., Babbar, N., Bancalari, E., Vandezande, P., Hermans, D., Bruggeman, G., Gatti, M., Elst, K., & Sforza, S. (2018). Pectin oligosaccharides from sugar beet pulp: molecular characterization and potential prebiotic activity. *Food & Function journal*, 9, 1557–1569. <https://doi.org/10.1039/C7FO01182B>
- Semenycheva, L. L., Kuleshova, N. V., Mitin, A. V., Belaya, T. A., & Mochkina, D. V. (2020). Molecular weight characteristics and sorption properties of pectin extracted from different substrates. *Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*, 10(4), 728–737. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2020-10-4-728-737>
- Siemińska-Kuczer, A., Szymańska-Chargot, M., & Zdunek, A. (2022). Recent advances in interactions between polyphenols and plant cell wall polysaccharides as studied using an adsorption technique. *Food Chemistry*, 373B, Article 131487. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131487>
- Sundar Raj, A. A., Rubila, S., Jayabalan, R., & Ranganathan, T. V. (2012). A review on pectin: Chemistry due to general properties of pectin and its pharmaceutical uses. *Omics International*, 1(12), 1–4. <https://doi.org/10.4172/scientificreports.550>
- Venzon, S. S., Canteri, M. H., Granato, D., Junior, B. D., Maciel, G. M., Stafussa, A. P., & Haminiuk, C. W. (2015). Physicochemical properties of modified citrus pectins extracted from orange pomace. *Journal of Food Science and Technology*, 52(7), 4102–4112. <https://doi.org/10.1007/s13197-014-1419-2>
- Voiniciuc, C., Pauly, M., & Usadel, B. (2018). Monitoring polysaccharide dynamics in the plant cell wall. *Plant Physiology*, 176(4), 2590–2600. <https://doi.org/10.1104/pp.17.01776>
- Wang, L., Zhao, L., Gong, F. I., Sun, C., Du, D., Yang, X., & Guo, X. (2022). Modified citrus pectin inhibits breast cancer development in mice by targeting tumor-associated macrophage survival and polarization in hypoxic microenvironment. *Acta Pharmacologica Sinica*, 43, 1556–1567. <https://doi.org/10.1038/s41401-021-00748-8>
- Wang, R., Li, Y., Shuai, X., Chen, J., Liang, R., & Liu, C. (2021). Development of pectin-based aerogels with several excellent properties for the adsorption of Pb²⁺. *Foods*, 10(12), Article 3127. <https://doi.org/10.3390/foods10123127>
- Xia, J. L., & Li, P. J. (2019). Pectic enzymes. In L. Melton, F. Shahidi, P. Varelis (Eds.) *Encyclopedia of food chemistry* (pp. 270–276). Academic Press, Oxford, UK. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.21645-4>
- Yapo, B. M., Robert, C., Etienne, I., Wathelet, B., & Paquot, M. (2007). Effect of extraction conditions on the yield, purity and surface properties of sugar beet pulp pectin extracts. *Food Chemistry*, 100(4), 1356–1364. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.12.012>
- Yoo, H. D., Kim, D., & Paek, S. H. (2012). Plant cell wall polysaccharides as potential resources for the development of novel prebiotics. *Biomolecules & Therapeutics*, 20(4), 371–379. <https://doi.org/10.4062/biomolther.2012.20.4.371>
- Yuliarti, O., Low Sok-Hoon, A., & Yee, S. (2017). Chong influence of pH, pectin and Ca concentration on gelation properties of low-methoxyl pectin extracted from *Cydonia barbata* Miers. *Food Structure*, 11, 16–23. <https://doi.org/10.1016/j.foosr.2016.10.005>
- Zhang, W., Xu, P., & Zhang, H. (2015). Pectin in cancer therapy: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 44(2), 258–271. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2015.04.001>