

Семен Олегович Семенихин^{1✉}, Алла Андреевна Фабрицкая²,
Владимир Олегович Городецкий³, Наиля Мидхатовна Даишева⁴,
Наталья Ивановна Котляревская⁵, Наталья Ивановна Люсый⁶,
Мирсабир Миразалович Усманов⁷

^{1,2,3,4,5,6,7}Краснодарский НИИ хранения и переработки сельскохозяйственной продукции – филиал Северо-Кавказского ФНЦ садоводства, виноградарства, виноделия, Краснодар, Россия

¹semenikhin_s_o@mail.ru

²a.a.gordievskaya@mail.ru

³gorodecky_v_o@mail.ru

⁴hw-daisheva@yandex.ru

⁵kotlyarevskaya_n_i@mail.ru

⁶lyciy_i_n@mail.ru

⁷usmanov_m_m@mail.ru

РАЗРАБОТКА АЛГОРИТМА ПРОГНОЗИРОВАНИЯ СВОЙСТВ ПЕКТИНА, ПОЛУЧАЕМОГО ИЗ ПРОТОПЕКТИНА С ПРИМЕНЕНИЕМ ФЕРМЕНТОВ

Цель исследования – разработка алгоритма прогнозирования свойств пектина, получаемого из протопектина с применением ферментов. Задачи: анализ воздействия различных пектолитических ферментов на протопектин и составление структурных схем трансформации молекулы протопектина. Приведены данные по влиянию наиболее распространенных пектолитических ферментов – эндополигалактуроназы, экзополигалактуроназы, пектинлиазы, пектатлиазы, пектинметилэстеразы, рамногалактуронангидролазы и рамногалактуронанлиазы на химическое строение и прогнозируемые свойства получаемого пектина. Приведены структурные схемы трансформации молекулы свекловичного протопектина под воздействием указанных ферментов. Показано, что применение эндополигалактуроназ, экзополигалактуроназ, пектинлиаз и пектатлиаз неэффективно для получения пектина, так как указанные ферменты гидролизуют гомогалактуронан протопектина до олигомеров галактуроновой кислоты, не обладающих свойствами пектина. Отмечено, что пектинметилэстеразы не оказывают влияние на размер молекулы пектина, а только снижают степень этерификации. Установлено, что для получения пектина из протопектина наиболее перспективными ферментами являются рамногалактуронангидролазы и рамногалактуронанлиазы. Отмечено, что при применении рамногалактуронангидролаз обеспечивается максимальное сохранение нативных свойств пектина, так как не изменяется вид связей внутри молекул галактуроновой кислоты, формирующей основную цепь гомогалактуронана, в отличие от воздействия рамногалактуронангидролаз, приводящих к образованию двойных связей между 4-м и 5-м атомами углеродов в концевых молекулах полигалактуроновой кислоты. Обосновано применение рамногалактуронангидролазы и рамногалактуронанлиазы для получения пектина, обладающего наибольшей молекулярной массой. На основании проведенного анализа по влиянию воздействия наиболее распространенных пектолитических ферментов на химическое строение пектина разработан алгоритм прогнозирования свойств пектина, включающий 7 стадий. Осуществление ферментативного гидролиза протопектина, согласно разработанному алгоритму, позволит получить пектин с заданными свойствами. Разработанный алгоритм прогнозирования свойств пектина может быть использован для разработки технологии и режимов трансформации пектинсодержащего сырья для получения пектина с заданными свойствами.

© Семенихин С.О., Фабрицкая А.А., Городецкий В.О., Даишева Н.М., Котляревская Н.И., Люсый И.Н., Усманов М.М., 2024

Вестник КрасГАУ. 2024. № 7. С. 201–213.

Bulliten KrasSAU. 2024;(7):201–213.

Ключевые слова: растительное сырье, протопектин, пектин, гидролиз, пектолитические ферменты, свойства, алгоритм прогнозирования

Для цитирования: Разработка алгоритма прогнозирования свойств пектина, получаемого из протопектина с применением ферментов / С.О. Семенихин [и др.] // Вестник КрасГАУ. 2024. № 7. С. 201–213. DOI: 10.36718/1819-4036-2024-7-201-213.

Semyon Olegovich Semenikhin^{1✉}, Alla Andreevna Fabrickaya², Vladimir Olegovich Gorodetsky³, Nailya Midkhatovna Daisheva⁴, Natalia Ivanovna Kotlyarevskaya⁵, Natalia Ivanovna Lyusy⁶, Mirsabir Mirabzalovich Usmanov⁷

^{1,2,3,4,5,6,7}Krasnodar Research Institute for Storage and Processing of Agricultural Products – branch of the North Caucasian FSC for Horticulture, Viticulture, Winemaking, Krasnodar, Russia

¹semenikhin_s_o@mail.ru

²a.a.gordievskaya@mail.ru

³gorodecky_v_o@mail.ru

⁴hw-daisheva@yandex.ru

⁵kotlyarevskaya_n_i@mail.ru

⁶lyciy_i_n@mail.ru

⁷usmanov_m_m@mail.ru

ALGORITHM DEVELOPMENT TO PREDICT PECTIN PROPERTIES OBTAINED FROM PROTOPECTIN USING ENZYMES

The aim of the study is to develop an algorithm for predicting the properties of pectin obtained from protopectin using enzymes. Objectives: to analyze the effect of various pectolytic enzymes on protopectin and to compile structural schemes for the transformation of the protopectin molecule. The paper presents data on the effect of the most common pectolytic enzymes – endopolygalacturonase, exopolygalacturonase, pectin lyase, pectate lyase, pectin methylesterase, rhamnogalacturonan hydrolase and rhamnogalacturonan lyase on the chemical structure and predicted properties of the resulting pectin. Structural schemes for the transformation of the beet protopectin molecule under the influence of the above enzymes are presented. It has been shown that the use of endopolygalacturonases, exopolygalacturonases, pectin lyases and pectate lyases is ineffective for obtaining pectin, since these enzymes hydrolyze protopectin homogalacturonan to oligomers of galacturonic acid, which do not have the properties of pectin. It is noted that pectin methylesterases do not affect the size of the pectin molecule, but only reduce the degree of esterification. It has been established that rhamnogalacturonan hydrolases and rhamnogalacturonan lyases are the most promising enzymes for obtaining pectin from protopectin. It is noted that when using rhamnogalacturonan hydrolases, maximum preservation of the native properties of pectin is ensured, since the type of bonds inside the galacturonic acid molecules that form the main chain of homogalacturonan does not change, in contrast to the effect of rhamnogalacturonan hydrolases, leading to the formation of double bonds between 4 and 5 carbon atoms in the terminal molecules of polygalacturonic acid. The use of rhamnogalacturonan hydrolase and rhamnogalacturonan lyase for obtaining pectin with the highest molecular weight is justified. Based on the analysis of the influence of the most common pectolytic enzymes on the chemical structure of pectin, an algorithm for predicting the properties of pectin has been developed, including 7 stages. Carrying out enzymatic hydrolysis of protopectin, according to the developed algorithm, will allow obtaining pectin with specified properties. The developed algorithm for predicting the properties of pectin can be used to develop the technology and modes of transformation of pectin-containing raw materials to obtain pectin with specified properties.

Keywords: plant raw materials, protopectin, pectin, hydrolysis, pectolytic enzymes, properties, prediction algorithm

For citation: Algorithm development to predict pectin properties obtained from protopectin using enzymes / S.O. Semenikhin [et al.] // Bulliten KrasSAU. 2024;(7): 201–213 (In Russ.). DOI: 10.36718/1819-4036-2024-7-201-213.

Введение. Известно, что в растительном сырье, как правило, содержание протопектина выше, чем пектина [1–3]. Следует отметить, что при извлечении пектина традиционным способом – химическим гидролизом, совмещенным с экстракцией, значительная часть протопектина остается в сырье. Эффективным способом доизвлечения оставшейся в сырье части пектина является направленное воздействие на протопектин, осуществляемое с применением пектолитических ферментов, то есть ферментативный гидролиз [4, 5].

Основу молекулярной структуры протопектина составляет последовательность ковалентно связанных мономеров галактуроновой кислоты и рамнозы [6]. Однако молекула протопектина не прямолинейна и может иметь ответвления двух типов – рамногалактуронан I и рамногалактуронан II, при этом указанные ответвления появляются на участках полигалактуроновой кислоты протопектина, в которые встроена рамноза, и представляют собой ответвления, состоящие из арабинозы и галактозы в различных соотношениях. Структура рамногалактуронана II, в свою очередь, более разнообразна и может состоять как из арабиногалактановых ответвлений, имеющих собственные ответвления, так и из различных полисахаридных ответвлений, также имеющих собственные ответвления [2].

Структура молекулы протопектина на примере низкоэтерифицированного свекловичного протопектина представлена на рисунке 1, из

которого видно, что молекула протопектина состоит из следующих компонентов – гомогалактуронана, рамногалактуронана I и рамногалактуронана II.

Следует отметить, что гомогалактуронан растворим в воде, а рамногалактуронаны I и II – нерастворимы в воде. Таким образом, к пектину (в т. ч. пектатам и пектонам) относится структурный компонент молекулы протопектина гомогалактуронан.

Учитывая это, для получения низкоэтерифицированного пектина с максимальной способностью к образованию комплексов с ионами поливалентных металлов необходимо выделить из молекулы протопектина наибольшее количество гомогалактуронана в неизменном виде.

Цель исследования – разработка алгоритма прогнозирования свойств пектина, получаемого из протопектина с применением ферментов.

Задачи: анализ воздействия различных пектолитических ферментов на протопектин; составление структурных схем трансформации молекулы протопектина.

Результаты и их обсуждение. Наибольшее распространение в отечественных и зарубежных исследованиях, направленных на трансформацию протопектина, получили пектолитические ферменты, такие как эндополигалактуроназы (PGA), экзополигалактуроназы (PGX), пектинлиазы (PEL), пектатлиазы (PLY), пектинметилэстеразы (PME), рамногалактуронангидролазы (RGH) и рамногалактуронанлиазы (RGL) [7].

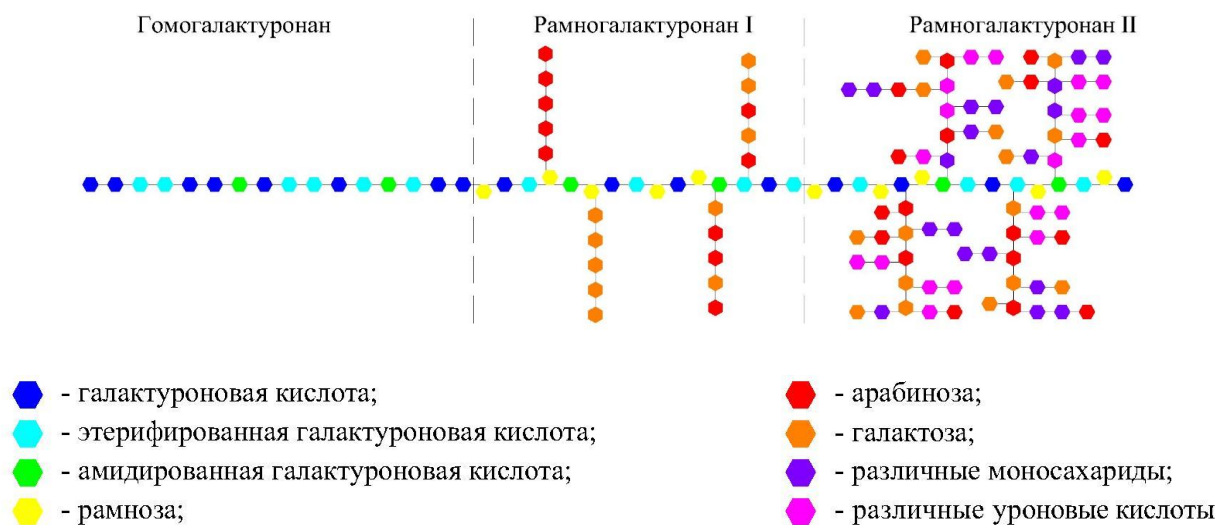


Рис. 1. Структура молекулы протопектина

Эндополигалактуроназы гидролизуют по схеме α -элиминирования α -1,4-связи полигалактуроновой кислоты в молекуле протопектина неупорядоченным, произвольным образом, предпочтительно расщепляются внутренние связи полимеров [8–10].

Структурная схема трансформации молекулы протопектина под воздействием эндополигалактуроназ представлена на рисунке 2.

Из представленной схемы наглядно видно, что в результате воздействия эндополигалактуроназ на молекулу протопектина образуются олигомеры галактуроновой кислоты с высокой молекулярной массой. Однако молекулярная масса олигомеров галактуроновой кислоты, получаемых под воздействием эндополигалактуроназ, будет значительно ниже молекулярной массы пектина, вследствие чего они не будут обладать свойствами пектина.

Другими ферментами, гидролизующими по схеме α -элиминирования α -1,4-связи в молекуле протопектина, являются экзополигалактуроназы [11–13]. Воздействие указанных ферментов имеет направленный характер – они постепенно отщепляют галактуроновую кислоту с конца молекулы гомогалактуронана [7].

Структурная схема трансформации молекулы протопектина под воздействием экзополигалактуроназ представлена на рисунке 3.

Из представленной схемы наглядно видно, что в результате воздействия экзополигалактуроназ на молекулу протопектина образуются мономеры галактуроновой кислоты. В связи с этим экзополигалактуроназы не могут использоваться для выделения пектина из протопектина, так как они полностью разрушают пектин.

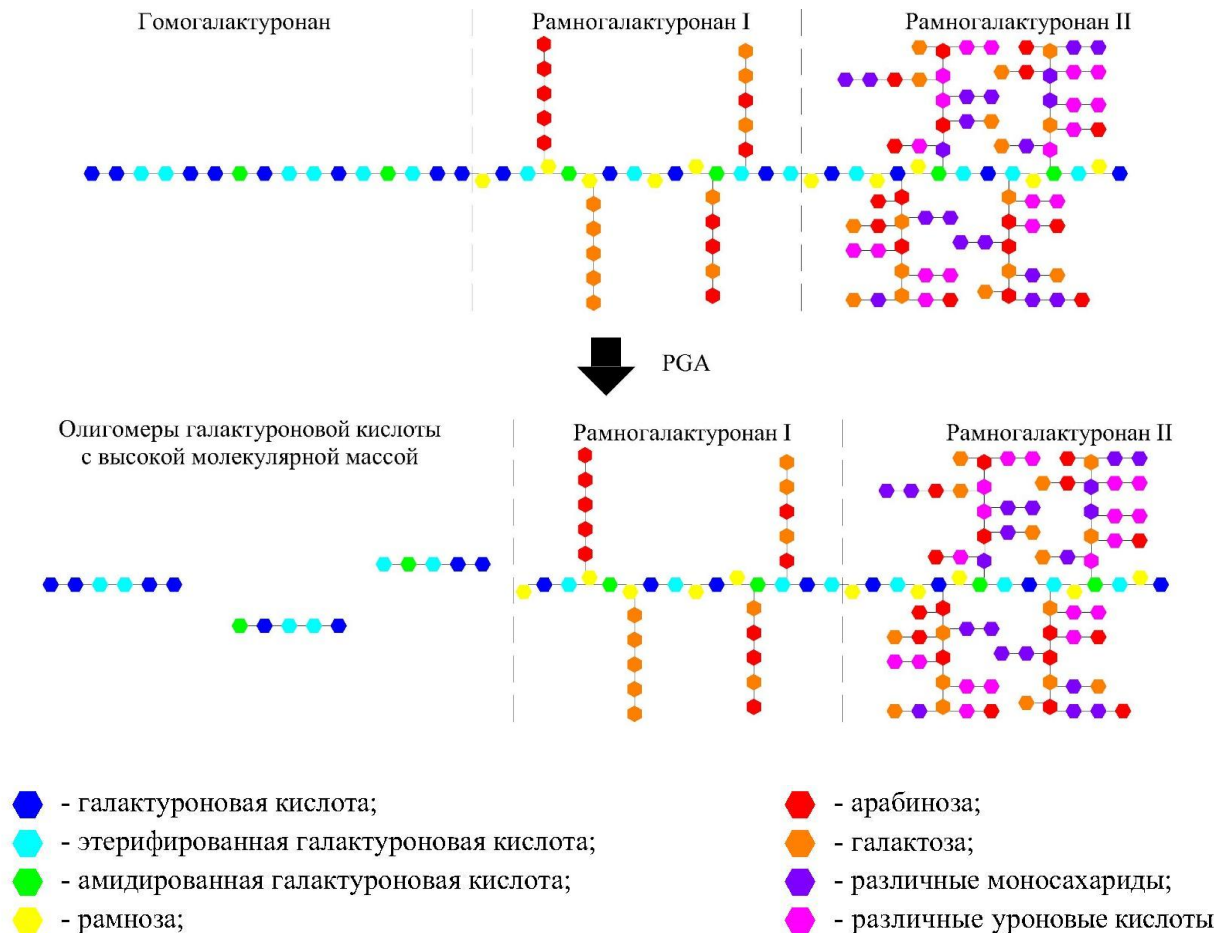


Рис. 2. Структурная схема трансформации молекулы протопектина под воздействием эндополигалактуроназ (PGA)

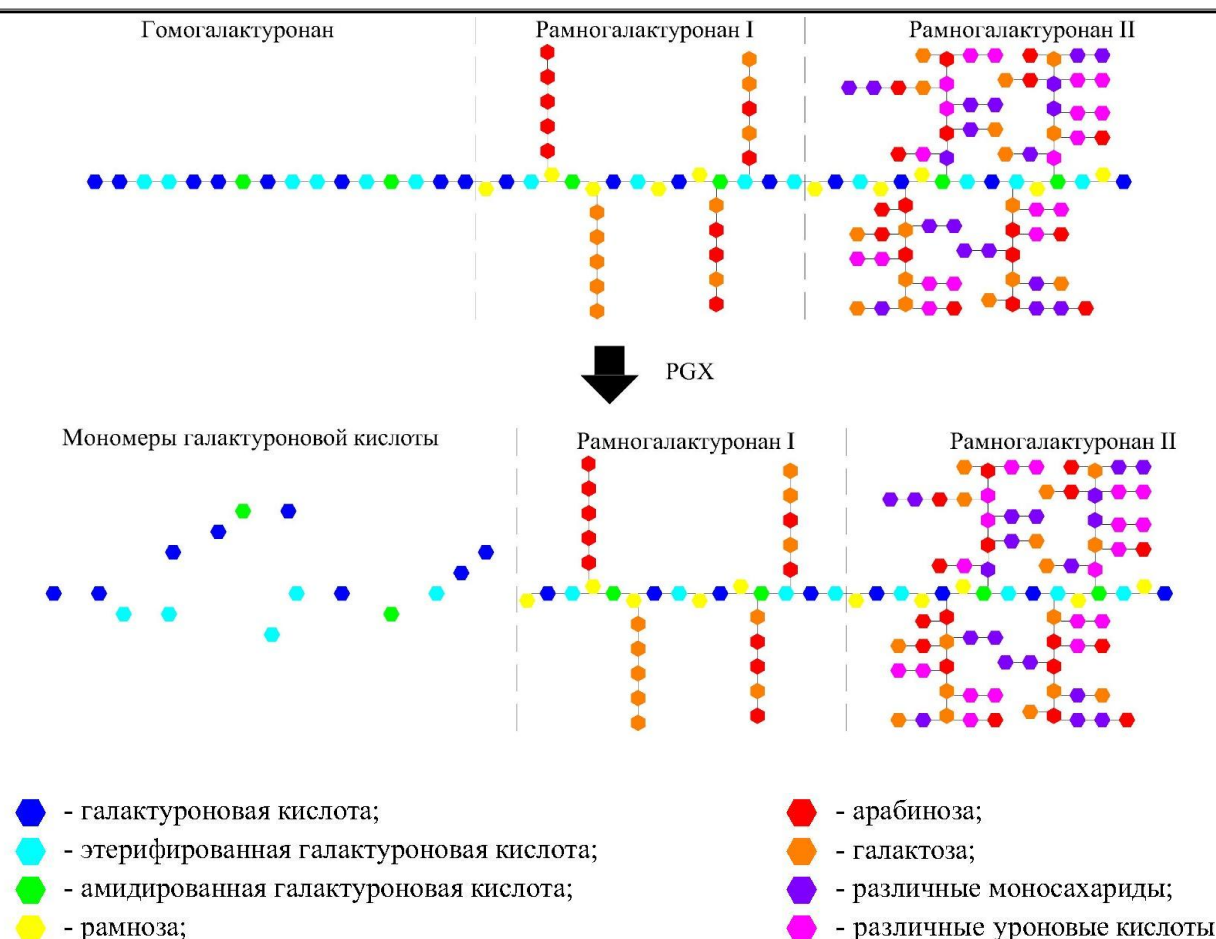


Рис. 3. Структурная схема трансформации молекулы протопектина под воздействием экзополигалактуроназ (PGX)

Следует также рассмотреть ферменты, гидролизующие по схеме β -элиминирования α -1,4-связи полигалактуроновой кислоты в молекуле протопектина.

Пектинлиазы гидролизуют пектин в пектон, в результате чего образуется галактуронат с ненасыщенной связью между 4-м и 5-м атомами углерода на невозстанавливаемом конце образованной галактуроновой кислоты [14–16]. Следует отметить, что более предпочтительным субстратом для пектинлиаз является высокоэтерифицированный пектин. Поэтому, воздействуя пектинлиазами на низкоэтерифицированный пектин, гидролиз будет носить хаотичный характер, вследствие чего образуемые в результате гидролиза олигомеры галактуроновой кислоты будут иметь преимущественно среднюю молекулярную массу.

Структурная схема трансформации молекулы протопектина под воздействием пектинлиаз представлена на рисунке 4.

Согласно представленной схеме, молекулярная масса олигомеров галактуроновой кислоты, получаемых под воздействием пектинлиаз (PEL), будет значительно ниже молекулярной массы пектина, вследствие чего получаемые олигомеры не будут обладать свойствами пектина.

Другими ферментами, гидролизующими по схеме β -элиминирования α -1,4-связи полигалактуроновой кислоты в молекуле протопектина, являются пектатлиазы [17–19].

В отличие от пектинлиаз для эффективности воздействия пектатлиаз степень этерификации субстрата не является существенной.

Структурная схема трансформации молекулы протопектина под воздействием пектатлиаз представлена на рисунке 5.

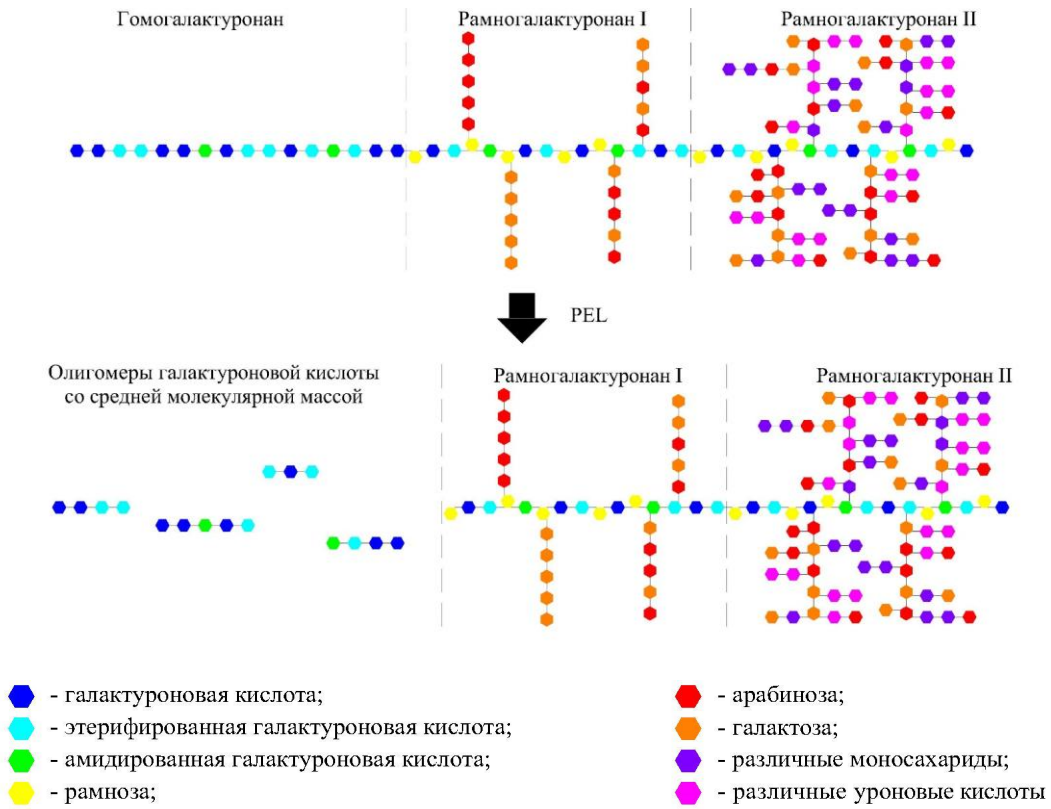


Рис. 4. Структурная схема трансформации молекулы протопектина под воздействием пектинлиаз (PEL)

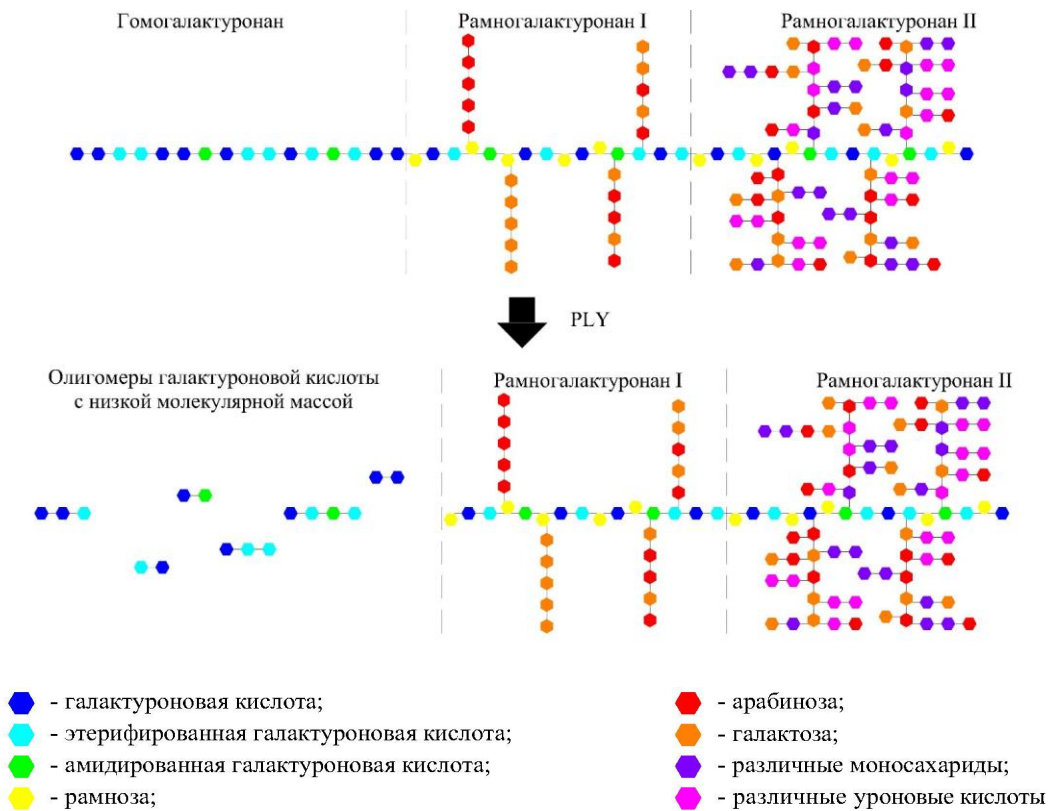


Рис. 5. Структурная схема трансформации молекулы протопектина под воздействием пектатлиаз (PLY)

Получаемые в результате воздействия пектатлиаз на протопектин олигомеры галактуроновой кислоты будут иметь преимущественно низкую молекулярную массу, а также значительное количество двойных связей между 4-м и 5-м атомами углеродов в конечных молекулах галактуроновой кислоты. Таким образом, полученные олигомеры не будут обладать свойствами пектина вследствие низкой молекулярной массы, а также будут проявлять более низкую реакционную способность.

Пектинметилэстеразы катализируют отщепление метильных групп от полиметилгалактуроновой кислоты с образованием метанола и частично деметоксилированной полигалактуроновой кислоты [20–22]. По мере снижения степени этерификации субстратов уменьшается катализирующая способность ферментов, вследствие чего гидролиз не проходит до конца и степень

деэтерификации молекул протопектина составляет 60–70 %. Кроме этого следует отметить, что пектинметилэстеразы более эффективно катализируют отщепление метильных групп у молекул с высокой массой, чем с низкой. Поэтому степень деэтерификации олигомеров галактуроновой кислоты будет ниже степени деэтерификации пектина и протопектина.

Структурная схема трансформации молекулы протопектина под воздействием пектинметилэстераз представлена на рисунке 6.

Согласно представленной схеме, пектинметилэстеразы только снижают степень этерификации протопектина, не оказывая влияния на молекулярную структуру. Учитывая, что степень этерификации, например, свекловичного пектина низкая, то применение пектинметилэстеразы только ухудшит качество получаемого пектина.

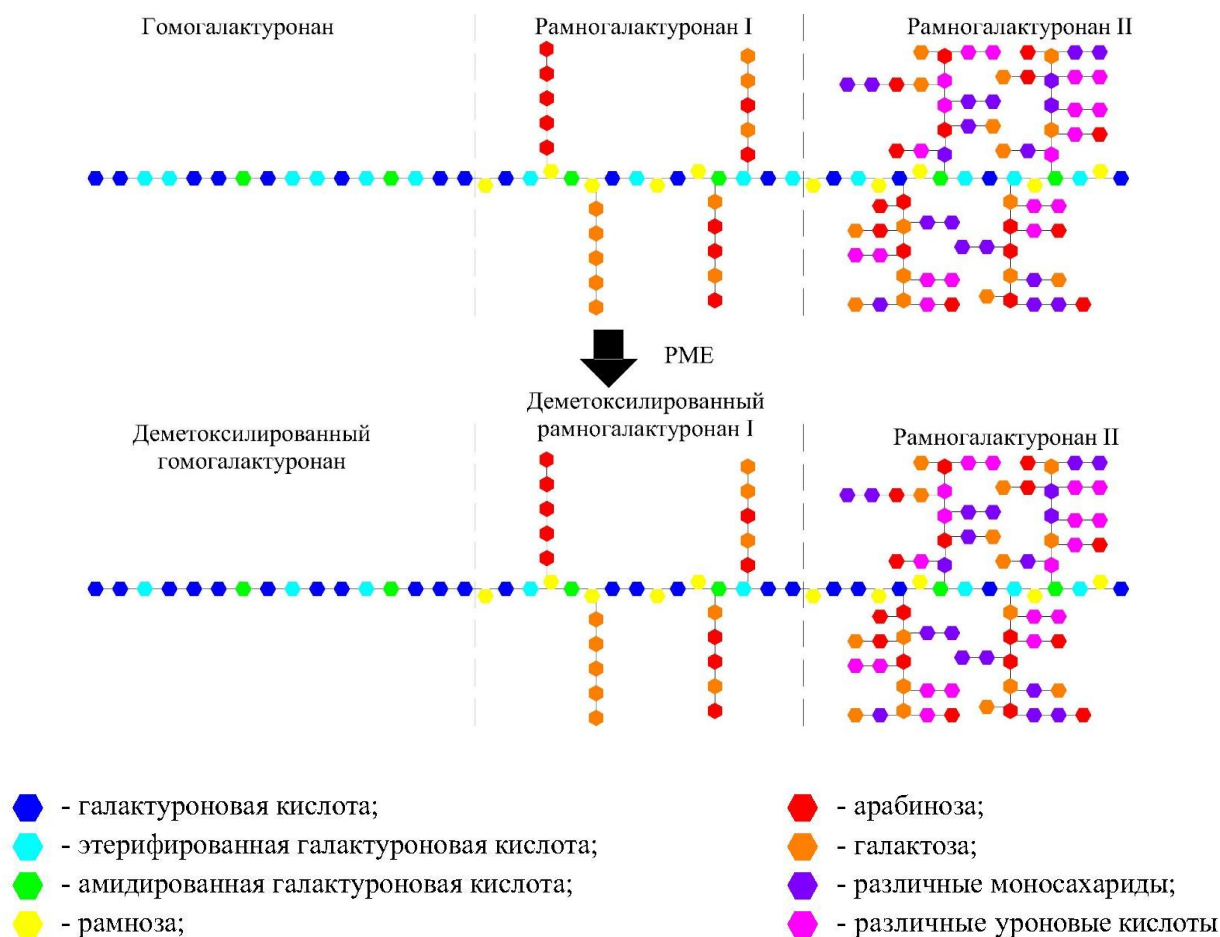


Рис. 6. Структурная схема трансформации молекулы протопектина под воздействием пектинметилэстераз (PME)

Таким образом, применение пектинметилэстераз рационально только для модификации высокоэтерифицированных пектинов в низкоэтерифицированные.

На основании проведенного анализа следует, что для выделения пектина из протопектина следует применять ферменты, не оказывающие влияние на гомогалактуронан, т. е. применять ферменты, действие которых направлено только на гидролиз рамногалактуронана I.

Наиболее перспективными ферментами для гидролиза рамногалактуронана являются рамногалактуронангидролазы и рамногалактуронанлиазы, воздействующие на α -1,4 гликозидные связи между остатками рамнозы и галактуроновой кислоты [23–27]. Следует отметить, что рамногалактуронангидролазы гидролизуют связь по схеме α -элиминирования с задействованием воды, а рамногалактуронанлиазы – по схеме

β -элиминирования с образованием двойных связей между 4-м и 5-м атомами углерода в концевых молекулах полигалактуроновой кислоты.

Структурная схема трансформации молекулы протопектина под воздействием рамногалактуронангидролаз и рамногалактуронанлиаз представлена на рисунке 7.

Как видно из представленной схемы, под воздействием рамногалактуронангидролаз и рамногалактуронанлиаз гомогалактуронан отщепляется в нативном состоянии. Наибольшая трансформация молекулярной структуры протопектина происходит на участке рамногалактуронана I, в результате чего образуются моносахариды рамнозы, олигосахариды галактуроновой кислоты, а также арабиногалактаны как в виде отдельных молекул, так и в виде соединений с олигосахаридами галактуроновой кислоты.

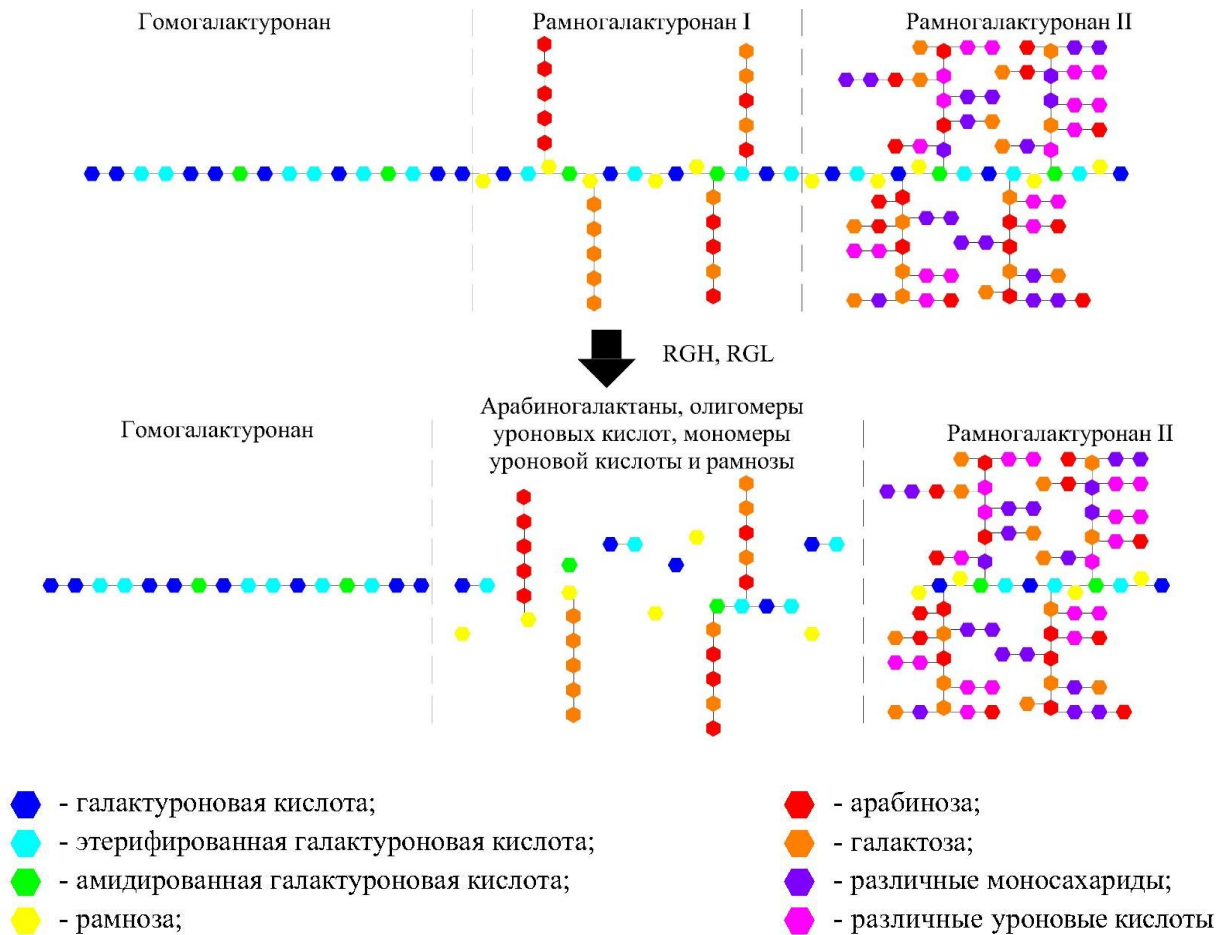


Рис. 7. Структурная схема трансформации молекулы протопектина под воздействием рамногалактуронангидролаз (RGH) и рамногалактуронанлиаз (RGL)

Следует отметить, что молекулярная структура рамногалактуронана II не подвергается гидролизу под воздействием рамногалактуронангидролаз и рамногалактуронанлиаз, так как их активные центры не способны достичь центральной рамногалактуроновой цепи из-за разветвленных полисахаридных ответвлений. Однако в работах некоторых исследователей отмечается перспективность гидролиза рамногалактуронана II при предварительной обработке ферментами, действие которых направлено на полисахаридные ответвления [28].

Таким образом, установлено, что для получения пектина из протопектина наиболее перспективными ферментами являются рамногалактуронангидролазы и рамногалактуронанлиазы.

Однако следует отметить, что при применении рамногалактуронангидролаз обеспечивает-

ся максимальное сохранение нативных свойств пектина, так как не изменяется вид связей внутри молекул галактуроновой кислоты, формирующей основную цепь гомогалактуронана, в отличие от воздействия рамногалактуронангидролаз, приводящих к образованию двойных связей между 4-м и 5-м атомами углеродов в концевых молекулах полигалактуроновой кислоты.

Таким образом, на основании проведенного анализа воздействия различных пектолитических ферментов на протопектин становится возможной разработка алгоритма прогнозирования свойств пектина.

На рисунке 8 приведен разработанный алгоритм прогнозирования свойств пектина, получаемого из протопектина с применением ферментов.



Рис. 8. Алгоритм прогнозирования свойств пектина

Заключение. Осуществление ферментативного гидролиза протопектина, согласно разработанному алгоритму, позволит получить пектин с заданными свойствами.

Предложенный алгоритм прогнозирования свойств пектина может быть использован для разработки технологии и режимов трансформации пектинсодержащего сырья для получения пектина.

Список источников

1. Настольная книга производителя и переработчика плодоовощной продукции / под ред. Н.К. Синха, И.Г. Хью. СПб.: Профессия, 2017. 912 с.
2. Донченко Л.В., Сокол Н.В., Красносельова Е.А. Пищевая химия. Гидроколлоиды. М.: Изд. Юрайт, 2019. 80 с.
3. Новиков Н.Н. Биохимия растений. М.: Ленанд, 2019. 680 с.
4. Влияние композиции ферментов и значения рН экстрагента на эффективность извлечения пектина из свежесобранного жома / С.О. Семенухин [и др.] // Вестник КрасГАУ. 2023. № 7. С. 171–178. DOI: 10.36718/1819-4036-2023-7-171-178.
5. Направления развития технологии ферментативной экстракции пектиновых веществ / С.О. Семенухин [и др.] // Известия вузов. Пищевая технология, 2022. № 1. С. 6–10. DOI: 10.26297/0579-3009.2022.1.1.
6. Zdunek A., Pieczywek P.M., Cybulska J. The primary, secondary, and structures of higher levels of pectin polysaccharides // Food Science and Food Safety. 2020. № 20 (1). P. 1101–1117. DOI: 10.1111/1541-4337.12689.
7. Уайтхерств Р.Дж. Ферменты в пищевой промышленности / пер. с англ. С.В. Макарова. СПб.: Профессия, 2013. 408 с.
8. Structural insights into the processivity of endopolygalacturonase I from *Aspergillus niger* / Gertie van Pouderooyen [et al.] // FEBS Letters. 2003. Volume 554, Issue 3. P. 462–466. DOI: 10.1016/s0014-5793(03)01221-3.
9. 1.68-Å Crystal Structure of Endopolygalacturonase II from *Aspergillus niger* and Identification of Active Site Residues by Site-directed Mutagenesis / Yovka van Santen [et al.] // Journal of Biological Chemistry. 1999. Volume 274, Issue 43. P. 30474–30480. DOI: 10.1074/jbc.274.43.30474.
10. Study of the mode of action of endopolygalacturonase from *Fusarium moniliforme* / E. Bonnin [et al.] // Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects. 2001. Volume 1526, Issue 3. P. 301–309 DOI: 10.1016/s0304-4165(01)00141-6
11. Maria Angélica dos Santos Cunha Chellegatti, Maria José Vieira Fonseca, Suraia Said. Purification and partial characterization of exopolygalacturonase I from *Penicillium frequentans* // Microbiological Research. 2002. Volume 157, Issue 1. P. 19–24. DOI: 10.1078/0944-5013-00127.
12. The crystal structure of a hyperthermoactive exopolygalacturonase from *Thermotoga maritima* reveals a unique tetramer / Tjaard Pijning [et al.] // FEBS Letters. 2009. Volume 583, Is. 22. P. 3665–3670. DOI: 10.1016/j.febslet.2009.10.047.
13. Deepak Chand Sharma T. Satyanarayana. Thermostable and alkalistable exopolygalacturonase of *Bacillus pumilus* dcsr1: Characteristics and applicability / International Journal of Biological Macromolecules. 2020. Vol. 164. P. 3340–3348. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2020.08.204.
14. Pectin lyase: A review / Sangeeta Yadav [et al.] // Process Biochemistry. 2009. Vol. 44, Is. 1. P. 1–10. DOI: 10.1016/j.procbio.2008.09.012.
15. Ritu Saharan, Kanti Prakash Sharma. Production, purification and characterization of pectin lyase from *Bacillus subtilis* isolated from moong beans leaves (*Vigna radiata*) // Biocatalysis and Agricultural Biotechnology. 2019. Vol. 21. 101306. DOI: 10.1016/j.bcab.2019.101306.
16. Purification and characterization of an alkaline pectin lyase from *Aspergillus flavus* / Sangeeta Yadav [et al.] // Process Biochemistry. 2008. Vol. 43, Is. 5. P. 547–552. DOI: 10.1016/j.procbio.2008.01.015.
17. Selman Uluisik, Graham B. Seymour. Pectate lyases: Their role in plants and importance in fruit ripening // Food Chemistry. 2020. Vol. 309. 125559 DOI: 10.1016/j.foodchem.2019.125559.

18. Production pectin oligosaccharides using *Humicola insolens* Y1-derived unusual pectate lyase / *Zhiyun Wang* [et al.] // *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 2020. Vol. 129, Is. 1. P. 16–22. DOI: 10.1016/j.jbiosc.2019.07.005.
19. Biochemical characterization and evolutionary analysis of a novel pectate lyase from *Aspergillus parasiticus* / *Guojun Yang* [et al.] // *International Journal of Biological Macromolecules*. 2020. Volume 152. P. 180–188. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2020.02.279.
20. Sequence, structure and functionality of pectin methylesterases and their use in sustainable carbohydrate bioproducts: A review / *Rajender Kumar* [et al.] // *International Journal of Biological Macromolecules*. 2023. V. 244. 125385. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2023.125385.
21. Functional characterization of the gels prepared with pectin methylesterase (PME)-treated pectins / *Young-Hee Yoo* [et al.] // *International Journal of Biological Macromolecules*. 2009. Volume 45, Issue 3. P. 226–230. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2009.05.005.
22. Pectin methylesterase and its proteinaceous inhibitor: a review / *Ruben P. Jolie* [et al.] // *Carbohydrate Research*. 2010. V. 345, Is. 18. P. 2583–2595. DOI: 10.1016/j.carres.2010.10.002.
23. Mode of action of RG-hydrolase and RG-lyase toward rhamnogalacturonan oligomers. Characterization of degradation products using RG-rhamnohydrolase and RG-galacturonohydrolase / *Margien Mutter* [et al.] // *Carbohydrate Research*. 1998. Vol. 311, Is. 3. P. 155–164. DOI: 10.1016/s0008-6215(98)00188-8.
24. *Jun Fu, Rolf Prade, Andrew Mort*. Expression and action pattern of *Botryotinia fuckeliana* (*Botrytis cinerea*) rhamnogalacturonan hydrolase in *Pichia pastoris* // *Carbohydrate Research*. 2001. Vol. 330, Is. 1. P. 73–81. DOI: 10.1016/s0008-6215(00)00268-8.
25. Rhamnogalacturonan I modifying enzymes: an update / *Inês R. Silva* [et al.] // *New Biotechnology*. 2016. Volume 33, Issue 1. P. 41–54. DOI: 10.1016/j.nbt.2015.07.008.
26. Rhamnogalacturonan lyase reveals a unique three-domain modular structure for polysaccharide lyase family 4 / *Michael A. McDonough* [et al.] // *FEBS Letters*. 2004. Vol. 565, Is. 1–3. P. 188–194. DOI: 10.1016/j.febslet.2004.03.094.
27. Structural and Biochemical Studies Elucidate the Mechanism of Rhamnogalacturonan Lyase from *Aspergillus aculeatus* / *Malene H. Jensen* [et al.] // *Journal of Molecular Biology*. 2010. Vol. 404, Is. 1. P. 100–111. DOI: 10.1016/j.jmb.2010.09.013.
28. Structural and functional analyses of glycoside hydrolase 138 enzymes targeting chain A galacturonic acid in the complex pectin rhamnogalacturonan II / *A. Labourel* [et al.] // *Journal of Biological Chemistry*. 2019. V. 294, Is. 19. P. 7711–7721. DOI: 10.1074/jbc.RA118.006626.

References

1. *Nastol'naya kniga chproizvoditelya i pererabotchika plodoovoschnoj produkcii* / pod red. *N.K. Sinha, I.G. H'yu*. SPb.: Professiya, 2017. 912 s.
2. *Donchenko L.V., Sokol N.V., Krasnoselova E.A.* Pischevaya himiya. Hidrokolloidy. M.: Izd. Yurajt, 2019. 80 s.
3. *Novikov N.N.* Biohimiya rastenij. M.: Lenand, 2019. 680 s.
4. Vliyanie kompozicii fermentov i znacheniya rH `ekstragenta na `effektivnost' izvlecheniya pektina iz sveklovichnogo zhoma / *S.O. Semehin* [i dr.] // *Vestnik KrasGAU*. 2023. № 7. S. 171–178. DOI: 10.36718/1819-4036-2023-7-171-178.
5. Napravleniya razvitiya tehnologii fermentativnoj `ekstrakcii pektinovyh veschestv / *S.O. Semehin* [i dr.] // *Izvestiya vuzov. Pischevaya tehnologiya*, 2022. № 1. S. 6–10. DOI: 10.26297/0579-3009.2022.1.1.
6. *Zdunek A., Pieczywek P.M., Cybulska J.* The primary, secondary, and structures of higher levels of pectin polysaccharides // *Food Science and Food Safety*. 2020. № 20 (1). P. 1101–1117. DOI: 10.1111/1541-4337.12689.
7. *Uajtherstv R.Dzh.* Fermenty v pischevoj promyshlennosti / per. s angl. *S.V. Makarova*. SPb.: Professiya, 2013. 408 s.
8. Structural insights into the processivity of endopolygalacturonase I from *Aspergillus niger* / *Gertie van Pouderoyen* [et al.] // *FEBS*

- Letters. 2003. Volume 554, Issue 3. P. 462–466. DOI: 10.1016/s0014-5793(03)01221-3.
9. 1.68-Å Crystal Structure of Endopolygalacturonase II from *Aspergillus niger* and Identification of Active Site Residues by Site-directed Mutagenesis / *Yovka van Santen* [et al.] // *Journal of Biological Chemistry*. 1999. Volume 274, Issue 43. P. 30474–30480. DOI: 10.1074/jbc.274.43.30474.
 10. Study of the mode of action of endopolygalacturonase from *Fusarium moniliforme* / *E. Bonnin* [et al.] // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*. 2001. Volume 1526, Issue 3. P. 301–309 DOI: 10.1016/s0304-4165(01)00141-6
 11. *Maria Angélica dos Santos Cunha Chellegatti, Maria José Vieira Fonseca, Suraia Said*. Purification and partial characterization of exopolygalacturonase I from *Penicillium frequentans* // *Microbiological Research*. 2002. Volume 157, Issue 1. P. 19–24. DOI: 10.1078/0944-5013-00127.
 12. The crystal structure of a hyperthermoactive exopolygalacturonase from *Thermotoga maritima* reveals a unique tetramer / *Tjaard Pijning* [et al.] // *FEBS Letters*. 2009. Volume 583, Is. 22. P. 3665–3670. DOI: 10.1016/j.febslet.2009.10.047.
 13. *Deepak Chand Sharma T. Satyanarayana*. Thermostable and alkalistable exopolygalacturonase of *Bacillus pumilus* dcsr1: Characteristics and applicability / *International Journal of Biological Macromolecules*. 2020. Vol. 164. P. 3340–3348. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2020.08.204.
 14. Pectin lyase: A review / *Sangeeta Yadav* [et al.] // *Process Biochemistry*. 2009. Vol. 44, Is. 1. P. 1–10. DOI: 10.1016/j.procbio.2008.09.012.
 15. *Ritu Saharan, Kanti Prakash Sharma*. Production, purification and characterization of pectin lyase from *Bacillus subtilis* isolated from moong beans leaves (*Vigna radiata*) // *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 2019. Vol. 21. 101306. DOI: 10.1016/j.bcab.2019.101306.
 16. Purification and characterization of an alkaline pectin lyase from *Aspergillus flavus* / *Sangeeta Yadav* [et al.] // *Process Biochemistry*. 2008. Vol. 43, Is. 5. P. 547–552. DOI: 10.1016/j.procbio.2008.01.015.
 17. *Selman Uluisik, Graham B. Seymour*. Pectate lyases: Their role in plants and importance in fruit ripening // *Food Chemistry*. 2020. Vol. 309. 125559 DOI: 10.1016/j.foodchem.2019.125559.
 18. Production pectin oligosaccharides using *Humicola insolens* Y1-derived unusual pectate lyase / *Zhiyun Wang* [et al.] // *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 2020. Vol. 129, Is. 1. P. 16–22. DOI: 10.1016/j.jbiosc.2019.07.005.
 19. Biochemical characterization and evolutionary analysis of a novel pectate lyase from *Aspergillus parasiticus* / *Guojun Yang* [et al.] // *International Journal of Biological Macromolecules*. 2020. Volume 152. P. 180–188. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2020.02.279.
 20. Sequence, structure and functionality of pectin methylesterases and their use in sustainable carbohydrate bioproducts: A review / *Rajender Kumar* [et al.] // *International Journal of Biological Macromolecules*. 2023. V. 244. 125385. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2023.125385.
 21. Functional characterization of the gels prepared with pectin methylesterase (PME)-treated pectins / *Young-Hee Yoo* [et al.] // *International Journal of Biological Macromolecules*. 2009. Volume 45, Issue 3. P. 226–230. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2009.05.005.
 22. Pectin methylesterase and its proteinaceous inhibitor: a review / *Ruben P. Jolie* [et al.] // *Carbohydrate Research*. 2010. V. 345, Is. 18. P. 2583–2595. DOI: 10.1016/j.carres.2010.10.002.
 23. Mode of action of RG-hydrolase and RG-lyase toward rhamnogalacturonan oligomers. Characterization of degradation products using RG-rhamnohydrolase and RG-galacturonohydrolase / *Margien Mutter* [et al.] // *Carbohydrate Research*. 1998. Vol. 311, Is. 3. P. 155–164. DOI: 10.1016/s0008-6215(98)00188-8.
 24. *Jun Fu, Rolf Prade, Andrew Mort*. Expression and action pattern of *Botryotinia fuckeliana* (*Botrytis cinerea*) rhamnogalacturonan hydrolase in *Pichia pastoris* // *Carbohydrate Research*. 2001. Vol. 330, Is. 1. P. 73–81. DOI: 10.1016/s0008-6215(00)00268-8.

25. Rhamnogalacturonan I modifying enzymes: an update / *Inês R. Silva* [et al.] // *New Biotechnology*. 2016. Volume 33, Issue 1. P. 41–54. DOI: 10.1016/j.nbt.2015.07.008.
26. Rhamnogalacturonan lyase reveals a unique three-domain modular structure for polysaccharide lyase family 4 / *Michael A. McDonough* [et al.] // *FEBS Letters*. 2004. Vol. 565, Is. 1–3. P. 188–194. DOI: 10.1016/j.febslet.2004.03.094.
27. Structural and Biochemical Studies Elucidate the Mechanism of Rhamnogalacturonan Lyase from *Aspergillus aculeatus* / *Malene H. Jensen* [et al.] // *Journal of Molecular Biology*. 2010. Vol. 404, Is. 1. P. 100–111. DOI: 10.1016/j.jmb.2010.09.013.
28. Structural and functional analyses of glycoside hydrolase 138 enzymes targeting chain A galacturonic acid in the complex pectin rhamnogalacturonan II / *A. Labourel* [et al.] // *Journal of Biological Chemistry*. 2019. V. 294, Is. 19. P. 7711–7721. DOI: 10.1074/jbc.RA118.006626.

Статья принята к публикации 21.05.2024 / The article accepted for publication 21.05.2024.

Информация об авторах:

Семен Олегович Семенихин¹, заведующий отделом технологии сахара и сахаристых продуктов, кандидат технических наук

Алла Андреевна Фабрицкая², младший научный сотрудник отдела технологии сахара и сахаристых продуктов

Владимир Олегович Городецкий³, старший научный сотрудник отдела технологии сахара и сахаристых продуктов, кандидат технических наук

Наиля Мидхатовна Дайшева⁴, старший научный сотрудник отдела технологии сахара и сахаристых продуктов, кандидат технических наук

Наталья Ивановна Котляревская⁵, научный сотрудник отдела технологии сахара и сахаристых продуктов

Наталья Ивановна Люсый⁶, старший научный сотрудник отдела технологии сахара и сахаристых продуктов, кандидат технических наук

Мирсабир Миразалович Усманов⁷, научный сотрудник отдела технологии сахара и сахаристых продуктов

Information about the authors:

Semyon Olegovich Semenikhin¹, Head of the Department of Sugar and Sugar Products Technology, Candidate of Technical Sciences

Alla Andreevna Fabrickaya², Junior Researcher, Department of Sugar and Sugar Products Technology

Vladimir Olegovich Gorodetsky³, Senior Researcher, Department of Sugar and Sugar Products Technology, Candidate of Technical Sciences

Nailya Midkhatovna Daisheva⁴, Senior Researcher, Department of Sugar and Sugar Products Technology, Candidate of Technical Sciences

Natalia Ivanovna Kotlyarevskaya⁵, Researcher, Department of Sugar and Sugar Products Technology

Natalia Ivanovna Lyusy⁶, Senior Researcher, Department of Sugar and Sugar Products Technology, Candidate of Technical Sciences

Mirsabir Mirabzalovich Usmanov⁷, Researcher, Department of Sugar and Sugar Products Technology

