

NGHIÊN CỨU KHẢ NĂNG HẤP PHỤ KIM LOẠI NẶNG (Cd, Pb) CỦA PECTIN CHIẾT TỪ LOÀI CỎ BIỂN *ENHALUS ACOROIDES*

Đến toà soạn 15-05-2024

Cao Thị Thúy Hằng, Trần Thị Thanh Vân, Trần Nguyễn Hà Vy, Nguyễn Thị Thuận,
Võ Mai Như Hiếu, Phạm Đức Thịnh*

Viện Nghiên cứu và Ứng dụng công nghệ Nha Trang, Viện Hàn Lâm KH&CNVN

*Email: ducthinh@nitra.vast.vn

SUMMARY

INVESTIGATION OF THE HEAVY METAL ADSORPTION ABILITY (Cd, Pb) OF PECTIN EXTRACTED FROM SEAGRASS *ENHALUS ACOROIDES*

This study aims to investigate the factors affecting the adsorption process of Pb(II) and Cd(II) ions on pectin prepared from seagrass *Enhalus acoroides*. These factors include pH (2.0-8.0), the degree of esterification (DE), and the initial concentration of the adsorbate. The results show that the optimum adsorption pH was 5-7, and the adsorption ability of pectin increased with decreasing DE value. The adsorption of Cd(II) and Pb(II) onto seagrass pectin followed the Langmuir isotherm model. The maximum adsorption capacities of Pb(II) and Cd(II) onto pectin, calculated using the Langmuir equation, were 119.04 and 59.88 mg/g, respectively. These results suggest that seagrass pectin could be used to develop water treatment systems for removing heavy metals from contaminated water. Further research could focus on optimizing adsorption conditions, scaling up to pilot scale, and eventually applying this technology on an industrial scale.

Key words: *Enhalus acoroides*, pectin, heavy metal adsorption

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Pectin là một trong 03 polysaccharide tự nhiên chủ yếu của thành tế bào thực vật và thuộc về nhóm các acidic heteropolysaccharide. Pectin được tạo nên bởi các gốc D-galacturonic axit liên kết với nhau thông qua liên kết $\alpha(1\rightarrow4)$ -, mạch nhánh có thể được tạo thành bởi các gốc đường khác thông qua liên kết $\alpha(1\rightarrow2)$ - với gốc galacturonic axit như: arabinose, galactose, rhamnose, galactopyranse, arabinofuranose, fucopyranose, apiose,... [1, 2]. Pectin được biết đến như là chất tạo gel, làm dày và chất ổn định cũng như chất nhũ hóa.

Trong những năm gần đây, các nhà khoa học đã phát hiện ra pectin từ cỏ biển có

khả năng liên kết với các cation hóa trị 2 như Ca, Cd, Pb nhờ đặc trưng cấu trúc chính của pectin là sự có mặt gốc galacturonic axit tạo liên kết với kim loại theo mô hình “hộp trứng” [3]. Kết quả này mở ra khả năng sử dụng pectin từ cỏ biển như một chất hấp phụ nhằm loại bỏ các kim loại nặng khỏi môi trường và cơ thể con người.

Tại Việt Nam có nguồn cỏ biển phong phú, hiện ghi nhận được khoảng 14 loài cỏ biển tại Việt Nam (*Cymodocea rotundata*, *Cymodocea serrulata*, *Enhalus acoroides*, *Halodule pinifolia*, *Halodule uninervis*, *Halophila beccarii*, *Halophila decipiens*, *Halophila* nhỏ, *Halophila ovalis*, *Ruppia maritima*, *Syringodium isoetifolium*, *Thalassia hemprichii*,

Ciliatum thalassodendron và *Zostera japonica*). Tuy nhiên các nghiên cứu về pectin từ cỏ biển không nhiều, đáng chú ý có công bố về cấu trúc pectin từ cỏ biển *Enhalus acoroides* của chúng tôi về hoạt tính sinh học và khả năng tạo hạt nano với chitosan [4]. Để định hướng cho việc khai thác và sử dụng nguồn pectin từ loài cỏ biển này, trong bài báo này, chúng tôi nghiên cứu khả năng hấp phụ kim loại nặng (Cd và Pb) của pectin từ cỏ biển *Enhalus acoroides*.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Mẫu cỏ biển

Cỏ biển cỏ biển *Enhalus acoroides* thu hoạch tại đầm Thủy Triều, huyện Cam Lâm, tỉnh Khánh Hòa, vào tháng 3 năm 2021, mẫu cỏ biển được rửa sạch bằng nước biển trước khi đưa về phòng thí nghiệm và được phân loại bởi Nguyễn Xuân Vỹ là chuyên gia phân loại cỏ biển của Viện Hải Dương học. Mẫu sau khi thu về được ngâm trong cồn 96 % tại nhiệt độ phòng trong 7 ngày để loại bỏ chất màu và chất có khối lượng phân tử thấp tan trong cồn. Sau đó, cỏ biển được lọc tách khỏi dịch chiết cồn và phơi khô trong bóng mát, đem cắt nhỏ kích thước 1-2mm dùng cho nghiên cứu.

2.2. Chiết xuất pectin từ cỏ biển

Chiết tách pectin từ cỏ biển *E. acoroides* theo phương pháp được mô tả bởi Youjing và cộng sự [3]. Các mẫu pectin có mức độ ester hóa khác nhau (42% và 21%) được điều chế bằng phương pháp khử ester theo mô tả bởi Khotimchenko và cộng sự [5].

2.3. Xác định một số thành phần hóa học chính

Phương pháp xác định hàm lượng axit uronic: Hàm lượng axit uronic được xác định sử dụng phương pháp Carbazole, sử dụng axit D-gluconic làm chất chuẩn [6].

Phương pháp xác định các chỉ số đặc trưng của pectin: Trọng lượng tương đương được sử dụng để tính hàm lượng AUA tổng và chỉ số ester hóa, được xác định theo phương pháp chuẩn độ axit-bazơ, sử dụng phenolphthalein làm chất chỉ thị màu [5]. Hàm lượng Methoxyl (MI) được thực hiện theo công bố của Phạm Đức Thịnh và cộng sự [7]. Từ đó tính được tổng số hàm lượng anhydrouronic axit AUA của pectin thu được [7]. Hàm lượng ester hóa (DE) của pectin được tính dựa trên cơ sở hàm lượng methoxyl và AUA [7].

2.4. Xác định khả năng hấp thụ kim loại của pectin

Khả năng hấp phụ kim loại của pectin được tính toán theo phương trình sau [5]:

$$Q = \frac{V(Co - Ce)}{m}$$

Trong đó: Q là dung lượng hấp phụ ion kim loại của pectin, mg/g; V là tổng thể tích dung dịch phản ứng, mL; Co là nồng độ ion kim loại ban đầu, mg/mL, Co (Cd): 2 mg/mL; Co (Pb): 2 mg/mL; Ce là nồng độ ion kim loại còn lại sau khi bị hấp phụ bởi pectin, mg/mL; m là khối lượng của pectin tham gia phản ứng (g).

Hàm lượng ion kim loại được xác định bằng phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (AAS) trên máy Shimadzu AA-6800.

2.5. Ảnh hưởng một số yếu tố đến khả năng liên kết với kim loại hóa trị II (Cd, Pb) của pectin

Đánh giá sự ảnh hưởng của môi trường pH: Để đánh giá ảnh hưởng của môi trường pH, tất cả các yếu tố như nồng độ ban đầu của các dung dịch nghiên cứu (Co: 2mg/mL), thể tích dung dịch ($V = 40 \div 50$ mL), khối lượng chất hấp phụ ($m = 0,05$ g) được giữ cố định; các giá trị pH của dung dịch thay đổi trong khoảng $2 \div 9$ [5].

Ảnh hưởng mức độ ester hóa (DE) của pectin: 03 loại pectin có các mức độ ester

hóa khác nhau gồm pectin tự nhiên có DE 60,1% và pectin được chuyển hóa có giá trị DE 42,0% và DE 21,0% được sử dụng để đánh giá ảnh hưởng của mức độ ester hóa tới khả năng hấp phụ 02 ion kim loại Cd(II), Pb(II) của pectin trong cùng điều kiện pH.

Ảnh hưởng của nồng độ ban đầu của chất bị hấp phụ: để nghiên cứu ảnh hưởng nồng độ ban đầu chất bị hấp phụ, các yếu tố pH của dung dịch chất bị hấp phụ, thể tích dung dịch hấp phụ (V = 50 ml), khối lượng chất hấp phụ (m = 0,02 g) được giữ cố định và thay đổi nồng độ ban đầu chất bị hấp phụ $Co = 10 \div 100$ mg/l.

2.5. Phương pháp tính toán động học hấp phụ

Phương trình Langmuir được sử dụng để xác định dung lượng hấp phụ cực đại và mối tương quan giữa quá trình hấp phụ và giải hấp phụ thông qua hằng số Langmuir K_L , sự phù hợp của mô hình với thực nghiệm, do vậy đây là cơ sở để lựa chọn chất hấp phụ thích hợp cho hệ hấp phụ [8].

Trong nghiên cứu này, quá trình hấp phụ ion Pb (II) và Cd (II) của pectin được xác định theo mô hình hấp phụ đẳng nhiệt tuyến tính Langmuir [5] theo công thức:

$$q = q_{max} \frac{K_L C}{1 + K_L C}$$

Trong đó, q_{max} : dung lượng hấp phụ cực đại (mg/g); K_L : hệ số Langmuir (L/mg).

Mối tương quan của R_L và dạng mô hình thực nghiệm: $R_L > 1$, Không phù hợp; $R_L = 1$, tuyến tính, $0 < R_L < 1$, phù hợp; $R_L = 0$, Không thuận nghịch.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Đặc điểm hóa học của petin chiết từ cỏ biển *Enhalus acoroides*

Pectin tự nhiên được chiết xuất từ cỏ biển *E. Acoroides* (P-Ea), hàm lượng pectin thu nhận được là 12,5%. Kết quả này cho

thấy, hàm lượng pectin trong cỏ biển *E. acoroides* sinh trưởng tại Khánh Hòa cao hơn chút ít so với hàm lượng pectin có trong một số loài cỏ biển khác trên thế giới đã được công bố như: cỏ *Zostera caespitosa* Miki (10,8%) [9]; *Zostera marina* (10-11%), *Zostera pacifica* (12%) [10], và cao hơn đáng kể so với hàm lượng pectin từ cỏ *Phyllospadix iwataensis* (6,91%) [11]. Sự khác biệt này được giải thích bởi hàm lượng pectin phụ thuộc vào loài, thời điểm thu hoạch, điều kiện môi trường sống và kỹ thuật chiết tách [5, 9, 10].

Các đặc trưng hóa lý quan trọng của pectin (P-Ea) đã được xác định với kết quả như sau: hàm lượng anhydrouronic axit (AUA) là 45%, cho thấy sự hiện diện đáng kể của các nhóm uronic axit, có vai trò quan trọng trong tính chất hấp phụ và khả năng tạo gel của pectin. Tỷ lệ ester hóa (DE) của pectin đạt 60,1%, ảnh hưởng trực tiếp đến khả năng tạo gel và hấp phụ kim loại nặng của pectin, với mức độ ester hóa cao thường liên quan đến khả năng tạo gel tốt hơn và khả năng tan kém hơn pectin có mức độ ester hóa thấp. Hàm lượng nhóm methoxyl (MI) của pectin là 7,3% đây là chỉ số quan trọng liên quan đến tính chất hấp phụ và khả năng tạo gel. Pectin có chỉ số methoxyl thấp ($MI < 7$) tạo gel tốt nhờ các liên kết hydro, trong khi pectin có chỉ số methoxyl cao ($MI > 7$) tạo gel tốt khi có mặt của các inon kim loại. Khối lượng tương đương (EW) của pectin được xác định là 2678,0 g/mol, là thông số đánh giá hàm lượng gốc uronic axit tự do của pectin. Đặc trưng hóa lý của pectin quyết định khả năng ứng dụng của pectin.

P-Ea có DE là 60,1 được sử dụng để điều chế các mẫu pectin có mức độ ester là 42% và 21% bằng phương pháp khử ester được mô tả bởi Khotimchenko và cộng sự [5], các mẫu pectin P-Ea và 02 mẫu pectin khử nhóm ester được sử dụng cho các nghiên cứu tiếp theo.

3.2. Đánh giá khả năng hấp phụ kim loại Cd (II) và Pb (II) của các mẫu pectin

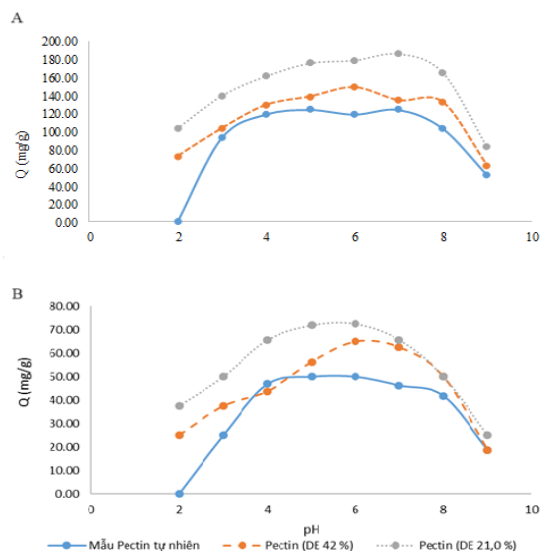
3.2.1. Ảnh hưởng của pH

Theo các nghiên cứu trước đây, pH của dung dịch pectin có ảnh hưởng đến khả năng liên kết ion kim loại hóa trị hai của pectin [5]. pH cần cao hơn ít nhất một đơn vị log trên pKa của pectin (2,8 - 4,1) để đảm bảo hơn 50% nhóm cacboxyl phân ly, do đó mật độ điện tích của pectin đủ để hình thành các liên kết chéo ion [12]. Độ pH thấp hơn giá trị này sẽ dẫn đến sự proton hóa các gốc galacturonic axit không methyl hóa, dẫn đến giảm khả năng liên kết.

Theo Khotimchenko và cộng sự [13] tại các giá trị pH thấp hơn 2, pectin thường kết tủa, do đó làm giảm khả năng liên kết. Tại các giá trị pH cao hơn 9, các polysaccharide như pectin trở nên không ổn định ví dụ, do quá trình khử phân giải [14], giải thích khả năng liên kết giảm. Ngoài ra, ở các giá trị pH rất cao (~12) các hydrocid của cation có thể được hình thành, chẳng hạn như $Pb(OH)_4^{2-}$. Các hydrocomplexes này được đặc trưng bởi bán kính ngậm nước lớn hơn và khó phân ly hơn, dẫn đến tương tác hạn chế với pectin [13]. Từ những nghiên cứu trên trong phạm vi nghiên cứu này, chúng tôi chỉ khảo sát môi trường pH 2,0-9,0.

Kết quả khảo sát ảnh hưởng của pH đến khả năng hấp phụ kim loại Cd (II) và Pb (II) của các mẫu pectin có biên với các chỉ số DE khác nhau được thể hiện ở hình 1. Kết quả ở hình 1 cho thấy khi tăng pH của dung dịch từ 2 đến 9 thì giá trị Q tăng dần và đạt giá trị cao trong vùng pH từ 4 đến 7 và sau đó giảm dần. Tại pH nhỏ hơn 2 thuận lợi cho các proton H^+ tấn công vào vị trí cacboxyl trong phân tử pectin làm giảm hoạt động liên kết giữa carboxyl và ion kim loại, hơn nữa tại pH này dẫn đến tủa pectin

dưới dạng axit. Khi pH cao, pectin sẽ không ổn định trong môi trường kiềm [15], pH hấp phụ tối ưu là 5-7. Kết quả này tương tự như các công bố của Celus và cộng sự khi nghiên cứu khả năng hấp phụ ion kim loại Zn (II) [16]. Chúng tôi chọn pH 6 cho những nghiên cứu tiếp theo.

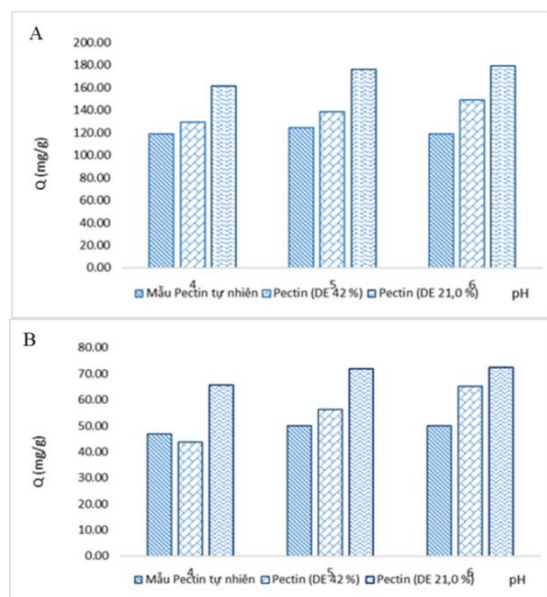


Hình 1. Ảnh hưởng của pH đến dung lượng hấp phụ Pb (II) (A) và Cd(II) (B) của pectin (Q)

3.2.2. Ảnh hưởng của mức độ ester hóa (DE)

Kết quả khảo sát ảnh hưởng DE đến khả năng hấp phụ Pb (II) và Cd (II) được thể hiện ở hình 2. Kết quả cho thấy khả năng hấp phụ ion Pb (II) và ion Cd (II) của pectin tăng khi pectin có trị số DE giảm. Với ion Pb (II) tại pH 6, dung hàm lượng ion Pb (II) liên kết với pectin tăng từ 119 mg/g đến 179,06 mg/g khi chỉ số DE giảm từ 61,0 % đến 21,0 %. Tại các giá trị pH 4 và pH 5 sự biến đổi cũng thay đổi tương tự. Với ion Cd (II) tại pH 6, hàm lượng ion Pb (II) liên kết với pectin tăng từ 50 mg/g đến 72,5 mg/g khi chỉ số DE giảm từ 61,0 % đến 21,0 %. Hàm lượng ion kim loại liên kết với pectin thay đổi hàm lượng DE. Điều này được giải thích như sau: Pectin loại DE thấp có mật độ điện tích cao hơn do có nhiều hơn các

nhóm cacboxyl (các nhóm cacboxyl không metyl hóa) hơn so với pectin loại DE cao, do đó khả năng liên kết cation của pectin tăng khi DE giảm. Nhóm tác giả Sergushchenko và cộng sự đã nghiên cứu so sánh đánh giá khả năng hấp phụ kim loại nặng Cd, Pb và Cu của pectin có mức độ ester hóa thấp được chiết tách từ cỏ biển *Zostera marina* so với một số loại thuốc được sử dụng để giải hấp phụ kim loại nặng khỏi cơ thể, kết quả cho thấy pectin chỉ số ester hóa thấp liên kết với các ion kim loại Pb (II), Cd (II) và Cu (II) thấp hơn so với các hợp chất có chứa thiol nhưng hiệu quả hơn so với carbon hoạt tính, polyphedan, microcrystalline cellulose, và enterodez [17].

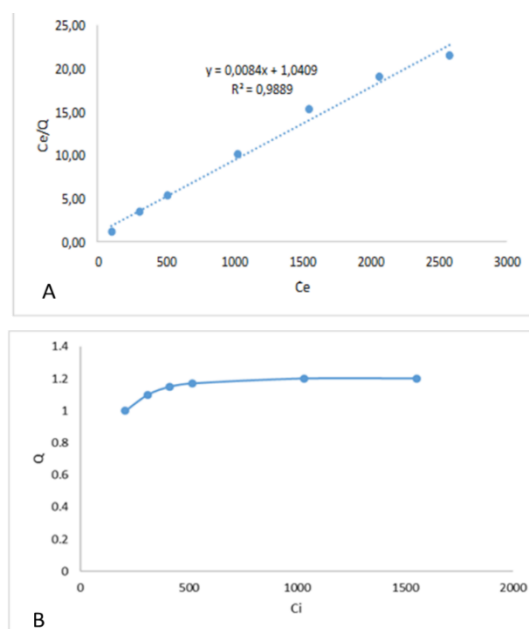


Hình 2. Ảnh hưởng của DE đến dung lượng hấp phụ ion Pb (II) (A) và Cd(II) của pectin tại các giá trị pH khác nhau

3.2.3. Ảnh hưởng của nồng độ ban đầu Pb (II) và Cd(II) và mô hình hấp phụ

Mẫu pectin P-Ea được sử dụng để đánh giá ảnh hưởng của nồng độ ban đầu của ion kim loại Pb (II), Cd (II). Kết quả chỉ ra rằng khi nồng độ ban đầu của dung dịch tăng, dung lượng hấp phụ của ion Pb và Cd cũng tăng lên. Tuy nhiên, khi nồng độ Cd lớn hơn 625 mg/l và nồng độ Pb

lớn hơn 1035 mg/l dung lượng hấp phụ có xu hướng tăng chậm lại (hình 3, 4).



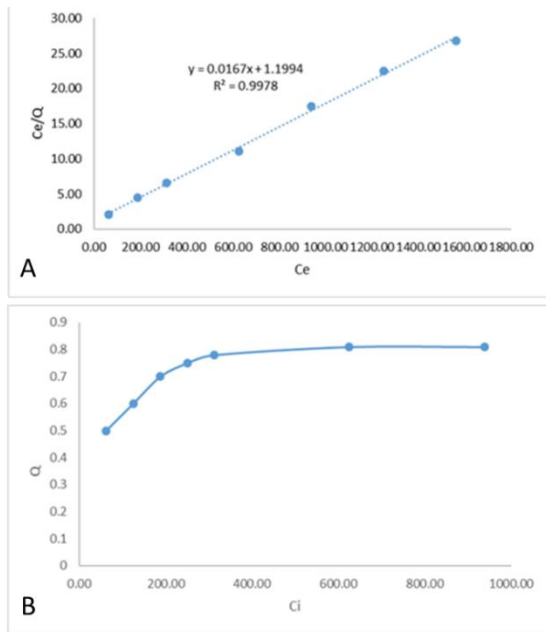
Hình 3. Sự phụ thuộc của khả năng liên kết của ion Pb (II) (C_e/Q) với pectin vào nồng độ Pb (II) ban đầu (C_i) (A) và đường hấp phụ đẳng nhiệt Langmuir của hệ Pb(II) pectin (B)

Dựa vào kết quả khảo sát khả năng hấp phụ các ion kim loại nặng (Cd và Pb) theo nồng độ trên pectin và dựa trên mô hình hấp phụ đẳng nhiệt Langmuir với các giả thuyết sau: Tiểu phân bị hấp phụ liên kết với bề mặt tại những trung tâm xác định; mỗi trung tâm chỉ hấp phụ một tiểu phân; bề mặt chất hấp phụ là đồng nhất, nghĩa là năng lượng hấp phụ trên các trung tâm là như nhau và không phụ thuộc vào sự có mặt của các tiểu phân hấp phụ trên các trung tâm bên cạnh. Phương trình Langmuir được xây dựng cho hệ hấp phụ khí rắn, nhưng cũng có thể áp dụng cho hấp phụ trong môi trường nước để phân tích các số liệu thực nghiệm. Trên cơ sở phương trình hấp phụ đẳng nhiệt Langmuir, tải trọng hấp phụ của các ion kim loại Pb (II) và Cd (II) đã được xác định [13].

Kết quả ở hình 3A cho thấy Sự phụ thuộc của C_e/Q vào C_i được mô tả theo phương

trình: $y = 0,0084x + 1,0409$. Với các phép tính toán chúng tôi tính được $R_L = 0,5448$. Như vậy, $0 < R_L < 1$, Điều này cho thấy quá trình hấp phụ Pb (II) có khả năng xảy ra hiệu quả.

Kết quả ở hình 4 cho thấy, sự phụ thuộc của C_e/q vào C_i đối với Cd (II) được mô tả theo phương trình: $y = 0,0167x + 1,1994$. Chúng tôi đã tính toán được $R_L = 0,559$. Như vậy, $0 < R_L < 1$, Điều này cho thấy quá trình hấp phụ Pb (II) có khả năng xảy ra hiệu quả. Kết quả xử lý theo mô hình hấp phụ đẳng nhiệt Langmuir cho các giá trị thông số trên bảng 2.



Hình 4. Sự phụ thuộc của khả năng liên kết của ion Cd (II) (C_e/Q) với pectin vào nồng độ Cd (II) ban đầu (C_e) (A) và đường hấp phụ đẳng nhiệt Langmuir của hệ Pb(II) pectin (B)

Từ các kết quả thu được trong bảng 2, nhận thấy các hệ số tương quan R^2 khá cao cho cả 2 mô hình hấp phụ đẳng nhiệt ($R^2 > 0,95$); các giá trị hằng số K_L và tham số R_L đều nằm trong khoảng thuận lợi cho quá trình hấp phụ. Do đó mô hình hấp phụ đẳng nhiệt Langmuir là mô hình thuận lợi để mô tả quá trình hấp phụ Pb (II) và Cd (II) của pectin. Dung lượng hấp phụ cực đại Pb (II) và Cd (II) của pectin tính theo

phương trình Langmuir là 119,04 và 59,88 mg/g.

Bảng 2. Các thông số trong mô hình hấp phụ đẳng nhiệt Langmuir của pectin

Ion kim loại	Mô hình Langmuir			
	Phương trình dạng tuyến tính	R^2	Q max	K_L
Pb (II)	$y = 0,0084x + 1,0409$	0,9889	119,04	0,00807
Cd (II)	$y = 0,0167x + 1,1994$	0,9978	59,88	0,0126

4. KẾT LUẬN

Pectin từ cỏ biển *E. acoroides* đã được chiết tách, hàm lượng pectin nhận được là 12,5%. Các đặc trưng hóa lý của pectin đã được xác định với chỉ số MI 7,3; DE 60,1%. 02 mẫu pectin với các giá trị DE tương ứng là 42% và 21% đã được điều chế. Khả năng hấp phụ kim loại (Pb, Cd) của pectin phụ thuộc vào pH và mức độ ester hóa, giá trị pH tối ưu nằm trong khoảng 5-7. Chỉ số DE thấp thì khả năng hấp phụ kim loại của pectin tăng lên. Sự hấp phụ của Cd (II) và Pb (II) của pectin chiết từ cỏ biển tuân theo mô hình hấp phụ đẳng nhiệt Langmuir. Dung lượng hấp phụ cực đại Pb (II) và Cd (II) của pectin tính theo phương trình Langmuir lần lượt là 119,04 và 59,88 mg/g.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[[1]. Ovodov, Y. S., Ovodova, R. G., Bondarenko, O. D., & Krasikova, I. N., (1971). The pectic substances of zosteraceae: Part IV. Pectinase digestion of zosterine. *Carbohydrate Research*, **18(2)**, 311-318.

[2] Khasina, E. I., Kolenchenko, E. A., Sgrebneva, M. N., Kovalev, V. V., & Khotimchenko, Y. S., (2003). Antioxidant activities of a low etherified pectin from the seagrass *Zostera marina*. *Russian Journal of Marine Biology*, **29**, 259-261.

- [3]. Lv, Y., Shan, X., Zhao, X., Cai, C., Zhao, X., Lang, Y., ... & Yu, G., (2015). Extraction, isolation, structural characterization and anti-tumor properties of an apigalacturonan-rich polysaccharide from the sea grass *Zostera caespitosa* Miki. *Marine Drugs*, **13**(6), 3710-3731.
- [4]. Thinh, P. D., Rasin, A. B., Silchenko, A. S., Trung, V. T., Kusaykin, M. I., Hang, C. T. T., ... & Ermakova, S. P., (2023). Pectins from the sea grass *Enhalus acoroides* (Lf) Royle: Structure, biological activity and ability to form nanoparticles. *International Journal of Biological Macromolecules*, **242**, 124714.
- [5]. Khotimchenko, Y., Khozhaenko, E., Kovalev, V., & Khotimchenko, M., (2012). Cerium binding activity of pectins isolated from the seagrasses *Zostera marina* and *Phyllospadix iwatensis*. *Marine drugs*, **10**(4), 834-848.
- [6]. Bitter, T., & Muir, H. M., (1962). A modified uronic acid carbazole reaction. *Analytical biochemistry*, **4**(4), 330-334.
- [7]. Pham Duc Thinh, Cao Thi Thuy Hang, Dinh Thanh Trung, & Nguyen Thanh Danh, (2023). Pectin from Three Vietnamese Seagrasses: Isolation, Characterization and Antioxidant Activity. *Processes*, **11**(4), 1054. 7
- [8]. Boparai, H. K., Joseph, M., & O'Carroll, D. M., (2011). Kinetics and thermodynamics of cadmium ion removal by adsorption onto nano zerovalent iron particles. *Journal of hazardous materials*, **186**(1), 458-465.
- [9]. Lv, Y., Shan, X., Zhao, X., Cai, C., Zhao, X., Lang, Y., ... & Yu, G., (2015). Extraction, isolation, structural characterization and anti-tumor properties of an apigalacturonan-rich polysaccharide from the sea grass *Zostera caespitosa* Miki. *Marine Drugs*, **13**(6), 3710-3731.
- [10]. Shibaeva, V. I., Elyakova, L. A., & Ovodov, Y. S., (1970). Pectic substances of Zosteraceae-III zosterinase activity of some invertebrates. *Comparative Biochemistry and Physiology*, **36**(1), 183-187.
- [11]. Khozhaenko, E. V., Khotimchenko, R. Y., Kovalev, V. V., Khotimchenko, M. Y., & Podkorytova, E. A., (2015). Metal binding activity of pectin isolated from seagrass *Zostera marina* and its derivatives. *Russian Journal of Marine Biology*, **41**, 485-489.
- [12]. Ralet, M. C., Crépeau, M. J., Buchholt, H. C., & Thibault, J. F., (2003). Polyelectrolyte behaviour and calcium binding properties of sugar beet pectins differing in their degrees of methylation and acetylation. *Biochemical Engineering Journal*, **16**(2), 191-201.
- [13]. Khotimchenko, M. Y., Kolenchenko, E. A., & Khotimchenko, Y. S., (2008). Zinc-binding activity of different pectin compounds in aqueous solutions. *Journal of Colloid and Interface Science*, **323**(2), 216-222.
- [14]. Van Buggenhout, S., Sila, D. N., Duvetter, T., Van Loey, A., & Hendrickx, M. J. C. R., (2009). Pectins in processed fruits and vegetables: Part III—Texture engineering. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, **8**(2), 105-117.
- [15]. Perez, S., Rodríguez-Carvajal, M. A., & Doco, T., (2003). A complex plant cell wall polysaccharide: rhamnogalacturonan II. A structure in quest of a function. *Biochimie*, **85**(1-2), 109-121.
- [16]. Celus, M., Lombardo, S., Kyomugasho, C., Thielemans, W., & Hendrickx, M. E., (2018). Isothermal titration calorimetry to study the influence of citrus pectin degree and pattern of methylesterification on Zn^{2+} interaction. *Carbohydrate polymers*, **197**, 460-468.
- [17]. Sergushchenko, I. S., Kovalev, V. V., Bednyak, V. E., & Khotimchenko, Y. S., (2004). A comparative evaluation of the metal-binding activity of low-esterified pectin from the seagrass *Zostera marina* and other sorbents. *Russian Journal of Marine Biology*, **30**, 70-72.