

УДК 577.114.4

ВЫДЕЛЕНИЕ, СТРУКТУРА И ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ХИТИН-ГЛЮКАНОВЫХ КОМПЛЕКСОВ ВЫСШИХ ГРИБОВ*

© Д.В. Минаков^{1**}, А.А. Минакова¹, В.И. Маркин¹, Н.Г. Базарнова¹, С.Л. Тихонов², Е.Ю. Егорова³

¹ Алтайский государственный университет, пр. Ленина, 61, Барнаул, 656049 (Россия), e-mail: MinakovD-1990@yandex.ru

² Уральский государственный экономический университет, ул. 8 Марта, 62, Екатеринбург, 620144 (Россия), e-mail: tihonov75@bk.ru

³ Алтайский государственный технический университет им. И.И. Ползунова, пр. Ленина, 46, Барнаул, 656038 (Россия), e-mail: egorovaeu@mail.ru

Статья посвящена исследованию процессов выделения, химической структуры и реологических свойств хитин-глюкановых комплексов из биомассы грибов *Armillaria mellea*. В результате проведенных исследований было установлено, что выход хитин-глюкановых комплексов составил от 11,0 до 24,9% со степенью деацетилирования от 24 до 55%. Максимальный выход был получен при обработке плодовых тел грибов на стадии депротеинизации 3% водным раствором гидроксида натрия с механическим перемешиванием 225 об/мин в течение 60 мин при 75±5°C. Показано, что степень деацетилирования коррелирует со значениями используемой концентрации щелочи. ИК-спектры полученных образцов хитин-глюкановых комплексов включают полосы поглощения, характерные для валентных и деформационных колебаний связей хитинового и глюканового звеньев и совпадают со спектрами хитин-глюкановых комплексов других грибов. Установлено, что вязкостные характеристики 1% раствора хитин-глюканового комплекса в 2% соляной кислоте в 14 и 190 раз ниже 5 и 10% растворов соответственно. Хранение 1% раствора хитин-глюкановых комплексов в течение 7 суток при 25±2°C сопровождается снижением вязкости, вязкость 5 и 10% растворов остается стабильной.

Ключевые слова: биомасса грибов, хитин-глюкановый комплекс, депротеинизация, деацетилирование, реология.

Введение

Хитин – длинноцепочечный полимер, состоящий из остатков N-ацетилглюкозамина, связанных между собой β-(1→4)-гликозидными связями, является вторым по распространенности полисахаридом в природе, уступая только целлюлозе. Это основной компонент клеточных стенок грибов, экзоскелетов членистоногих – ракообразных и насекомых, а также моллюсков, благодаря чему в биосфере ежегодно образуется порядка 1 миллиарда тонн хитина [1].

Грибы являются вторым по распространенности и значению источником хитина (после ракообразных), поэтому биомасса грибов интересна как альтернативный источник для промышленного получения хитина. Хитин является основным компонентом клеточной стенки грибов отделов *Basidiomycota*, *Ascomycota*, *Zygomycota* и *Deuteromycota* [2, 3]. В клеточной стенке грибов хитин входит в состав хитин-глюканового комплекса (ХГК), состоящего из ковалентно связанного хитина и разветвленного β-(1→3/1→6)-D-глюкана (рис. 1).

Минаков Денис Викторович – кандидат биологических наук, доцент кафедры органической химии, e-mail: MinakovD-1990@yandex.ru

Минакова Анастасия Александровна – кандидат химических наук, доцент кафедры органической химии

Маркин Вадим Иванович – кандидат химических наук, доцент кафедры органической химии, e-mail: markin@chemwood.asu.ru

Базарнова Наталья Григорьевна – доктор химических наук, профессор, заведующая кафедрой органической химии, e-mail: bazarnova@chem.asu.ru

Тихонов Сергей Леонидович – доктор технических наук, профессор, заведующий кафедрой «Пищевая инженерия», e-mail: tihonov75@bk.ru

Егорова Елена Юрьевна – доктор технических наук, доцент, заведующая кафедрой «Технологии хранения и переработки зерна», e-mail: egorovaeu@mail.ru

* Данная статья имеет электронный дополнительный материал (приложение), который доступен читателям на сайте журнала. DOI: 10.14258/jcprtm.20230112519s

** Автор, с которым следует вести переписку.

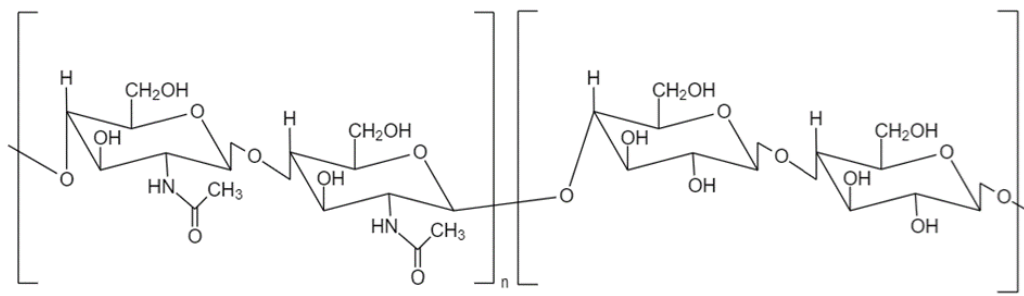


Рис. 1. Структурная формула хитин-глюканового комплекса

Известно, что содержание ХГК в грибах зависит от вида и условий культивирования – состава и pH субстрата, температуры, доступности кислорода и т.д. [4]. Самым высоким содержанием ХГК характеризуются *Higher Basidiomycete: Agaricus bisporus* – 7%, *Gandarma lucidum* – 14%, *Hericium erinaceus* – 16,3%, *Armillaria mellea* – 30% и *Lentinula edodes* – 25,08–36,72% [4–7], что делает эти виды наиболее перспективными для промышленного культивирования с целью выделения ХГК.

Большинство известных способов извлечения ХГК из растительной и животной биомассы основано на одно- либо двухстадийной обработке – депротеинировании и деминерализации. Некоторые способы предусматривают дополнительную стадию отделения липидов и пигментов [5]. Завершающая обработка заключается в многократной промывке продукта водой или водно-спиртовыми растворами для удаления побочных продуктов и остатков химических реагентов.

Условия депротеинирования, состоящие в обработке хитинсодержащего сырья растворами едкого натра, варьируют от относительно щадящих – использование концентрации 8% – до достаточно жестких – 40%. Применяемая продолжительность процесса составляет 2–6 ч при температуре 80–100 °С. Деминерализация, как правило, осуществляется обработкой депротеинированного сырья растворами соляной кислоты (0,3–2,0 М) при комнатной температуре в течение 16–48 ч до остаточной минерализации 3% [8]. Возможно использование для деминерализации хитинсодержащего сырья и других кислот – муравьиной, азотной, сернистой.

Очевидно, что использование высококонцентрированных растворов щелочей и кислот способствует деградации цепи хитина и может вызвать ее частичное деацетилирование, а следовательно, стать причиной получения хитозана со сниженной молекулярной массой, меньшей реакционной способностью и сниженной биологической активностью.

Эффективность депротеинизации и деминерализации в значительной мере зависит от степени измельчения хитинсодержащей биомассы, однако измельчение до размера частиц 200–300 мкм также может сопровождаться снижением выхода ХГК за счет увеличения процента технологических потерь на каждой стадии обработки [5, 8].

Ряд исследований показал, что ХГК является биосовместимым, биоразлагаемым и нетоксичным полимером с высокой способностью к набуханию и адсорбции на фоне наличия выраженных антиоксидантных, противовоспалительных, антибактериальных и ранозаживляющих свойств. Перечисленные свойства обеспечивают широкое применение ХГК в биомедицине в качестве компонентов для создания скаффолдов, гидрогелей, мембран, пленок, нанопфибрилл, хирургических шовных материалов [5, 9–11].

Перспективы создания на основе ХГК грибов новых биоматериалов и препаратов, обладающих высокой биологической активностью и благодаря этому нашедших применение в фармацевтической промышленности и медицине, свидетельствует о необходимости более глубокого исследования способов выделения и структуры ХГК из биомассы высших грибов.

Наибольший практический интерес представляет исследование вязкостных свойств ХГК, отражающих информацию о макромолекулярных характеристиках полимера и служащих одним из критериев оптимизации условий его переработки в продукцию фармацевтического и медицинского назначения.

Согласно современным представлениям, вязкостные свойства водно-кислотных растворов ХГК во многом определяются степенью деацетилирования, молекулярной массой, полидисперсностью полимера, высокой жесткостью цепи, обусловленной β -(1→4)-гликозидными связями. Все эти характеристики обусловлены концентрацией используемого растворителя, значениями температуры и давления [12].

Особенности реологического поведения ХГК связаны, прежде всего, с полиэлектролитным набуханием полимера в водно-кислотной среде. С увеличением концентрации полимера в растворе с 0,5 до 8,0% спиральные макромолекулы втягиваются в сетку, и течение таких растворов представляет собой течение типичных ньютоновских жидкостей [9, 13].

Исследование вязкостных свойств растворов ХГК позволяет оценить особенности структурообразования растворов и спрогнозировать условия формирования полимерного материала, что необходимо для оптимизации условий переработки ХГК в изделия с заданной надмолекулярной и морфологической структурой.

Цель работы – исследование способов выделения, структуры и физико-химических свойств хитин-глиюканового комплекса, выделенного из биомассы плодовых тел грибов *Armillaria mellea*.

Экспериментальная часть

В качестве сырья для выделения ХГК использована биомасса плодовых тел грибов опенка осеннего (*Armillaria mellea*), полученная биотехнологическим способом на лигноцеллюлозном субстрате. Нарabotka плодовых тел осуществлялась в камере роста с регулируемыми параметрами: температура 15 °С, относительная влажность воздуха 85–90%, освещенность 250 люкс (рис. 2).

После сбора плодовые тела высушивали в тени (без попадания прямых солнечных лучей) при температуре 25 °С до содержания влаги в исследуемых образцах 10% и измельчали на роторной ножевой мельнице до размера частиц 1–3 мм. Полученный материал просеивали через сито с размером пор 1 мм и использовали фракцию <1 мм. В методику извлечения хитин-глиюканового комплекса, описанную в работе [14], были внесены небольшие изменения.

Для выделения ХГК использовали специальную экстракционную установку, представляющую собой реактор емкостного типа с механическим перемешивающим устройством и состоящую из корпуса, крышки и привода с мешалкой. Реактор выполнен из нержавеющей стали AISI 304. Полный внутренний объем составляет 4 дм³. Крышка является плоской и выполнена из листового капролона марки А. На крышке имеются гидравлический затвор для вала мешалки и гнезда для установки термометра и обратного холодильника. Поддержание температуры обработки проводили на водяной бане.

Методика получения ХГК состоит в следующем: 80 г предварительно измельченных плодовых тел грибов *A. mellea* загружают в реактор емкостью 4 дм³, снабженный обратным холодильником, термометром и верхнеприводной мешалкой. Содержимое реактора заливают 2,5 дм³ водного раствора гидроксида натрия с концентрацией 1–12% и термостатируют с механическим перемешиванием (225 об/мин) в течение 60 мин при 75±5 °С. Далее биомассу фильтруют через материал агроспан (плотность 200 г/м²), осадок собирают и промывают 6 дм³ дистиллированной воды до нейтральной реакции. Промытую биомассу загружают в тот же реактор, заливают 2% раствором соляной кислоты (1 дм³) и выдерживают в течение 16 ч при температуре 25 °С. Деминерализованный ХГК отфильтровывают, промывают на хлопчатобумажном фильтре дистиллированной водой до нейтральных значений рН промывных вод, после чего выдерживают в 1,5 дм³ изопропилового спирта в течение 48 ч. Полученный продукт сушат в эксикаторе при температуре 25±2 °С.



Рис. 2. Плодовые тела опенка осеннего

Структуру выделенных хитиновых полимеров идентифицировали методом ИК-спектроскопии, сравнивая спектры с ХГК, полученным из *Aspergillus niger*, а также с коммерческим образцом хитина из ракообразных. ИК-спектры регистрировали на ИК-Фурье-спектрофотометре Vector 22 (Bruker) при температуре 20 °С. Образцы готовили в виде таблеток путем перетирания анализируемого вещества с КВг и прессования.

Определение степени деацетилирования (СД) хитиновых полимеров проводили методом ИК-спектроскопии по методике, приведенной в работе [15]. В работе использовали формулу подсчета на основании поглощения в областях 1560 и 1070 см⁻¹, характерных для колебаний амидной группы и С–О в глюкопиранозном кольце:

$$\text{СД (\%)} = \frac{0,7568 \frac{A_{1560}}{A_{1070}}}{0,0069},$$

где базовые линии – касательные между 850–1250 и 1500–1900 см⁻¹ соответственно; 0,7568 и 0,0069 – коэффициенты линейной корреляции.

Для изучения реологических свойств готовили 1, 5 и 10% растворы ХГК в водных растворах 2% соляной кислоты.

Изучение реологических характеристик проводили с помощью ротационного вискозиметра Нааке VT550 (Германия). Измерительная система – цилиндр – цилиндр MV-DIN. Измерения проводились в режиме CR при скоростях сдвига в диапазоне от 10 до 1000 с⁻¹. Сбор экспериментальных значений проводился по логарифмическому закону при температурах 20, 30, 40 и 50 °С. Измерение реологических характеристик растворов ХГК в 2% соляной кислоте проводили со свежеприготовленными растворами и с растворами, после хранения в течение 7 сут при 25 °С.

Обсуждение результатов

Для получения хитина и хитин-глюкановых комплексов или их деацетилированных производных используется химическая обработка сырья концентрированными растворами щелочи и кислот. Это порождает проблему обращения с загрязняющими стоками, что во многих случаях ограничивает применимость общепринятых технологий.

В отличие от ракообразных, стенки клеток мицелия грибов содержат меньше хитина, связанного с кальцием, что предполагает возможность обработки грибной биомассы более слабыми растворами щелочи. С учетом сказанного, была проведена серия экспериментов по исследованию влияния концентрации гидроксида натрия на выход и степень деацетилирования ХГК. Изучен диапазон концентраций щелочи от 1 до 12%, результаты исследований представлены на рисунке 3.

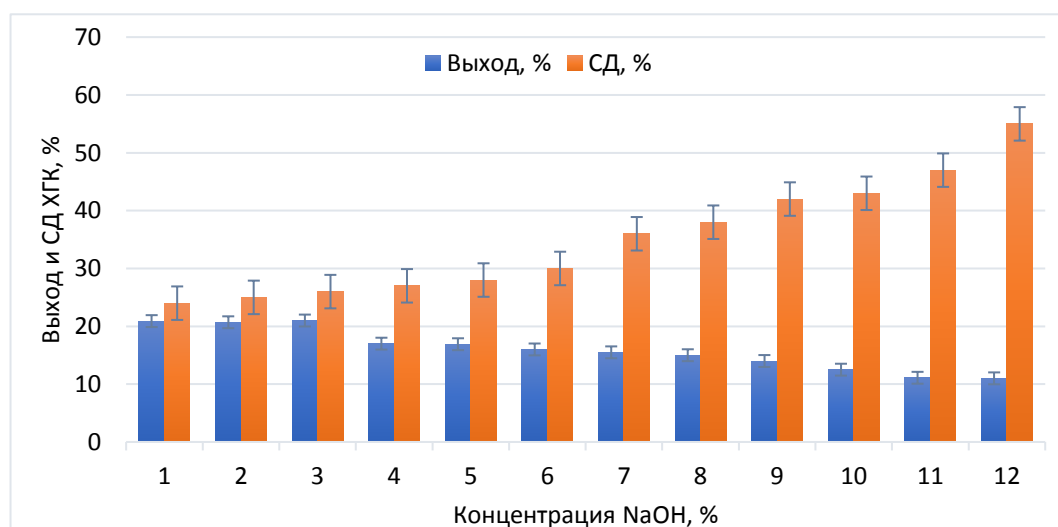


Рис. 3. Выход и степень деацетилирования ХГК из плодовых тел *A. mellea*

Как следует из экспериментальных данных, выход ХГК составляет от 11.0 до 24.9% и зависит от концентрации используемого раствора щелочи. Наибольший выход ХГК достигнут при обработке грибной биомассы 1, 2 и 3% растворами NaOH, однако стоит отметить, что цвет получаемого продукта при обработке 1% раствором NaOH – коричневый, что вероятно, связано с неполным разрушением белков. Наименьший выход ХГК – в варианте с 12% раствором. В целом, с повышением концентрации щелочи отмечается снижение выхода ХГК. Это связано, прежде всего, с уменьшением молекулярной массы комплекса за счет реакции деацетилирования, а также переходом в раствор большего количества белковых, жировых и пигментных веществ, поскольку с повышением концентрации гидроксида натрия цвет продукта меняется от темно-коричневого до светло-кремового (рис. 4).

Степень деацетилирования образцов по вариантам исследования составила от 24 до 55%. Более высокая СД обнаружена при использовании концентраций щелочи от 7 до 12% и составила от 36% до 55%, соответственно. С учетом литературных данных, свидетельствующих, что хитин со СД более 50% представляет собой деацетилированное производное – хитозан, можно считать, что обработка грибного сырья 12% раствором щелочи при 80 °С в течение 60 мин позволяет получать хитозан-глюкановый комплекс с выходом до 11%. СД продукта, полученного при обработке плодовых тел растворами щелочи с концентрацией от 1 до 6%, составила от 24 до 30% соответственно. Таким образом, установлено равномерное линейное увеличение СД при изменении концентрации щелочи от 1 до 12%.

Идентификацию выделенных ХГК проводили методом ИК-спектроскопии. Как показывает сравнение продуктов/образцов, выделенных при использовании разных концентраций щелочи, профиль спектра ХГК примерно одинаков. Сравнение полученных спектров со спектром ХГК из *Aspergillus niger* [16] показало, что нерастворимая в щелочи часть действительно представляет собой ХГК, содержащий примерно равные пропорции хитинового и глюканового компонентов. Наличие хитинового компонента определяет ширину полосы при 1655, 1560 и 1375 см⁻¹, что соответствует колебаниям амидной группы «амид I», «амид II» и «амид III» соответственно. О наличии глюкановой составляющей свидетельствует наличие полос поглощения в областях 3450, 2800 и 1160–1020 см⁻¹, соответствующих группам колебаний Н–Н, О–Н, С–Н, С–О и С–С-связи, характерных как для хитина, так и для глюканов (ИК-спектр представлен в электронном приложении к статье).

Методом ротационной вискозиметрии исследованы вязкостные свойства солянокислых растворов ХГК с концентрацией 1, 5 и 10%, в зависимости от скорости сдвига, температурного воздействия и продолжительности хранения растворов. Выбор кислоты и ее концентрация выбраны в связи с их широким использованием в научных исследованиях и практических применениях при формировании пленок и гидрогелей из хитозана [17, 18]. Основными реологическими характеристиками являются скорость сдвига ($\dot{\gamma}$, 1/с), напряжение сдвига (τ , Па) и вязкость (η , мПа·с).

На рисунке 5 представлены кривые вязкости в двойных логарифмических координатах (кривые вязкости в нормальных координатах представлены в электронном приложении к статье), из которых следует, что увеличение концентрации полимера сопровождается увеличением вязкости растворов. При начальной скорости сдвига $\dot{\gamma}=10$ с⁻¹ вязкость 1% раствора ниже вязкости 5 и 10% растворов в 14 и 190 раз соответственно.



Рис. 4. Образцы ХГК, обработанные при разной концентрации NaOH: а – 1%, б – 3%, в – 12%

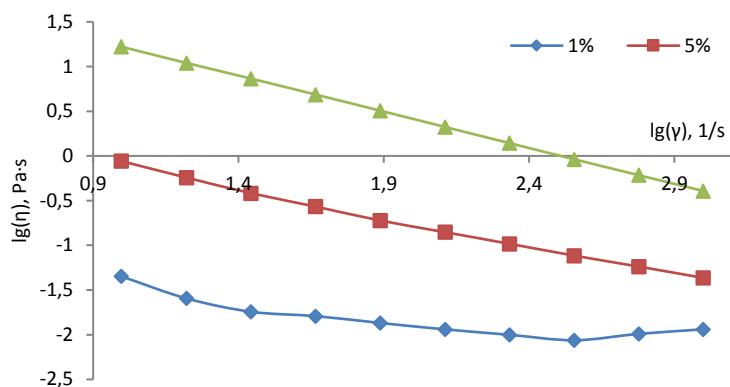


Рис. 5. Кривые вязкости растворов ХГК при температуре 20 °С (в двойных логарифмических координатах)

Уменьшение вязкости с увеличением скорости сдвига характеризует растворы ХГК как неньютоновские жидкости. Неньютоновское поведение характерно для растворов хитозана, полученного из панцирей ракообразных, что отмечалось многими авторами [19, 20], в то время как подобные результаты для растворов ХГК в литературе не встречаются. Соответственно, на графике можно выделить два участка: I – неньютоновское течение при низких скоростях сдвига; II – ньютоновское течение при скорости сдвига от 200 с⁻¹ – для 1 и 5% растворов и от 600 с⁻¹ – для 10% раствора.

Основной причиной снижения вязкости структурированных жидкостей является разрушение достаточно больших агрегатов частиц. В связи с этим можно предположить, что главной причиной неньютоновского поведения растворов ХГК является разрушение и образование агрегатов в процессе сдвигового течения.

Далее было изучено влияние температуры на вязкостные характеристики ХГК (рис. 6).

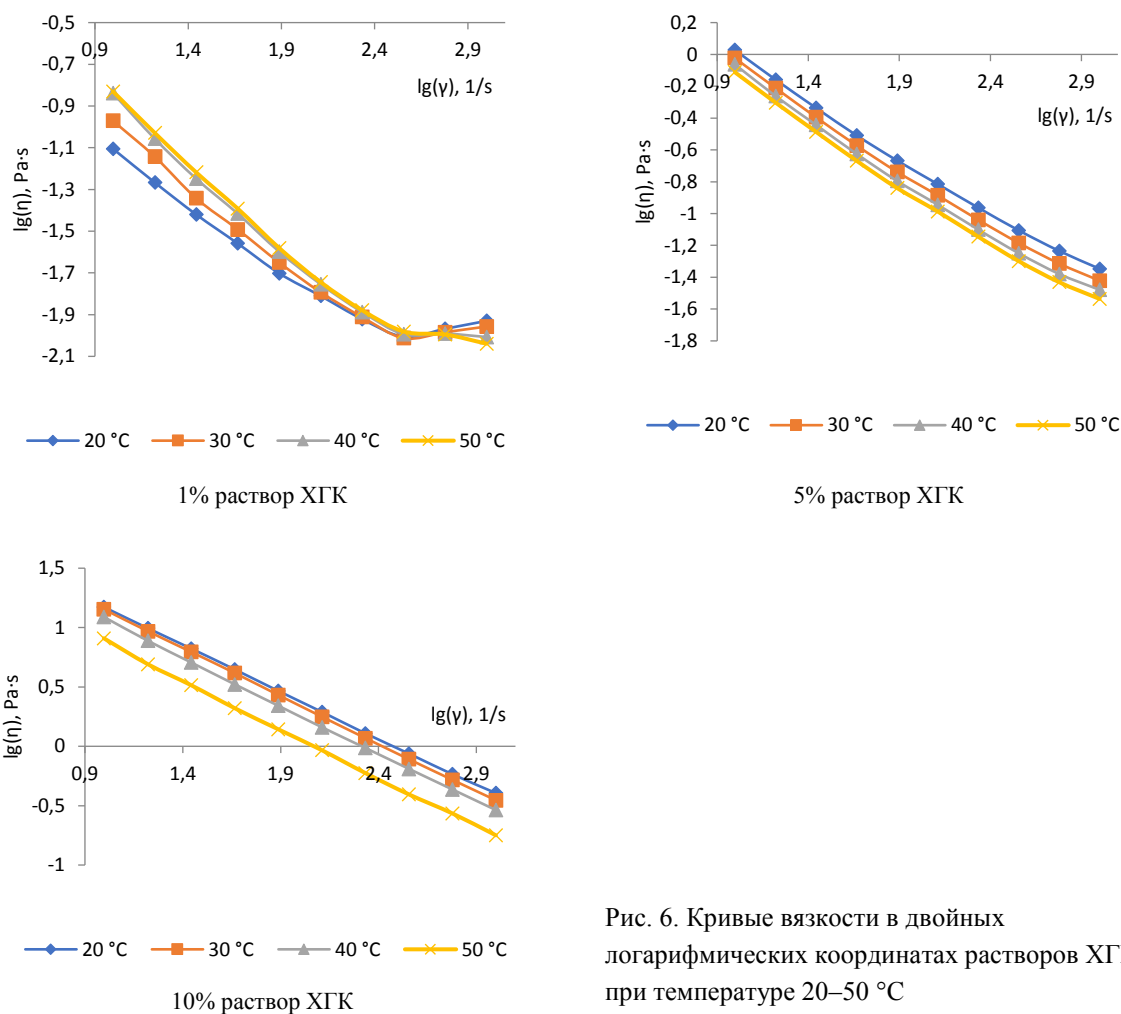


Рис. 6. Кривые вязкости в двойных логарифмических координатах растворов ХГК при температуре 20–50 °С

При исследовании 1% раствора ХГК установлено, что вязкость увеличивается при повышении температуры от 20 до 30 °С, дальнейшее повышение температуры (до 40 и 50 °С) не приводит к существенному изменению вязкости. Для 5 и 10% растворов ХГК вязкость находится в обратной зависимости от температуры. Практически на всех графиках зависимость $\lg \eta = f(\lg \gamma)$ является монотонно убывающей функцией. Выявленные зависимости вязкости коррелируют с приводимыми в литературе характеристиками целлюлозы и хитозана [20, 21].

Зависимость вязкости от температуры может быть описана уравнением Френкеля–Эйринга–Андрэ [22]:

$$\eta = A e^{\frac{\Delta H_a}{RT}},$$

где ΔH_a – энергия активации вязкого течения, кДж/Моль; R – универсальная газовая постоянная, кДж/Моль·К; T – абсолютная температура, К; A – константа.

Данное уравнение свидетельствует о том, что вязкое перемещение молекул или сегментов макромолекул осуществляется путем перехода из одного положения в другое. Для осуществления таких переходов необходимо преодолеть потенциальный барьер, величина которого определяется энергией активации ΔH_a . Коэффициент A имеет размерность вязкости и физический смысл вязкости при очень высоких температурах, когда $\Delta H_a/RT \rightarrow 0$. Величина ΔH_a зависит от температуры, поэтому данное уравнение справедливо в относительно небольшом диапазоне ΔT . Следовательно, определяемая из экспериментальных данных энергия активации вязкого течения является кажущейся энергией активации [22, 23].

В таблице приведены значения кажущейся энергии активации вязкого течения для растворов ХГК в соляной кислоте при различных скоростях сдвига.

Энергия активации ΔH_a зависит от природы макромолекул, их длины (молекулярной массы) и регулярности строения, наличия в макромолекуле ответвлений от основной цепи, а также «механического зацепления» макромолекул друг с другом. Чем выше величина ΔH_a – тем более структурированными являются данные системы. Под структурированием растворов смесей полимеров следует понимать формирование в растворе пространственной сетки зацеплений, узлы которой образованы как за счет водородных связей, так и за счет механического переплетения макромолекул обоих полимеров. В процессе течения происходит разрушение узлов сетки [23, 24].

Наиболее ярко разрушение существующей системы ХГК в растворе можно наблюдать при анализе изменения кажущейся энергии активации вязкого течения для 1% раствора. С ростом скорости сдвига от 10 до 600 с⁻¹ наблюдается закономерное снижение энергии активации вязкого течения и только при 1000 с⁻¹ наблюдается некоторый рост, который, вероятно, связан с тем, что при высоких скоростях сдвига макромолекулы ХГК получают высокие скорости в потоке, следствием чего является образование новых «зацеплений», столкновений и других дополнительных взаимодействий.

Для растворов с концентрациями 5, 10% изменения кажущейся энергии активации вязкого течения не столь показательны и находятся в небольшом интервале значений. Это, видимо, связано с тем, что в силу более высокой концентрации ХГК происходит больше различных типов взаимодействий между макромолекулами, приводящих к образованию различных структур. Очевидно, значение кажущейся энергии активации вязкого течения для более концентрированных растворов будут выше, так как возможно больше разнообразных межмолекулярных взаимодействий, приводящих к разрушению и образованию разнообразных надмолекулярных структур.

Возможность длительного хранения растворов при комнатной температуре является важным требованием к характеристикам полимера при создании на его основе, например, гидрогелей и пленок, для использования в медицинской практике. В этой связи в работе исследованы вязкостные свойства ХГК после хранения растворов в течение 7 сут. при температуре 25±2 °С (рис. 7).

Установлено, что при хранении 1% раствора в течение 7 сут. при комнатной температуре происходит снижение вязкости, что вероятно связано с протеканием более полного кислотного гидролиза ХГК до глюкозамина, а также остатков моно- и олигосахаридов [18]. В то время как вязкость 5 и 10% растворов практически не изменяется.

Кажущаяся энергия активации вязкого течения (ΔH_a) растворов ХГК различной концентрации в зависимости от скорости сдвига

γ , 1/с	ΔH_a , кДж/моль		
	Концентрация, %		
	1	5	10
10	29,81	15,08	28,51
17	25,75	15,61	32,86
28	21,90	16,31	33,46
46	18,11	17,29	35,39
77	13,14	18,72	35,06
129	7,17	18,69	34,97
215	4,60	19,80	36,23
359	2,70	20,96	37,26
600	2,96	21,29	35,78
1000	11,85	20,53	38,57

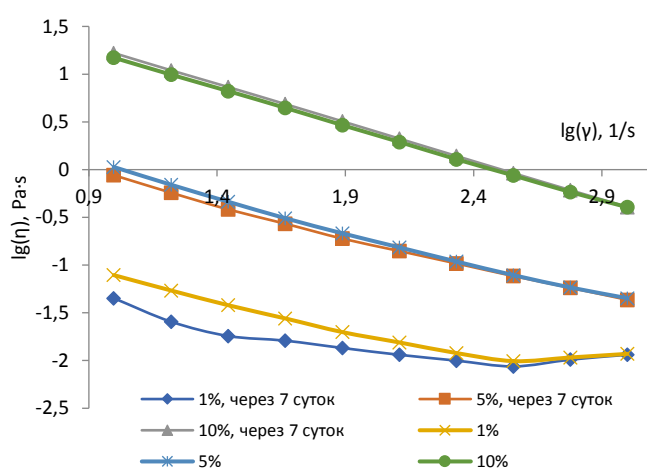


Рис. 7. Кривые вязкости (в двойных логарифмических координатах) растворов ХГК после хранения в течение 7 сут. Температура измерения 20 °С

Выводы

Выход ХГК, выделенных из биомассы высших грибов *A. mellea*, составил от 11,0 до 24,9% в зависимости от используемой концентрации гидроксида натрия (1,0–12,0%) на стадии депротенинизации. Наибольший выход ХГК достигнут при обработке плодовых тел 1% раствором щелочи, наименьший – 12% раствором. Повышение концентрации раствора гидроксида натрия на стадии депротенинизации приводит к изменению цвета ХГК от темно-коричневого до светло-кремового.

Показано, что СД полученных образцов ХГК составила от 24 до 55%. Увеличение СД коррелирует со значениями используемой концентрации гидроксида натрия при обработке грибной биомассы. Использование 12% раствора щелочи позволяет получать хитозан-глюкановый комплекс со СД 55%.

ИК-спектры полученных образцов ХГК включают полосы поглощения характерные для валентных и деформационных колебаний связей хитинового и глюканового звеньев и совпадают со спектрами ХГК, выделенного из *Aspergillus niger*.

Вязкость 1% раствора ХГК в 14 и 190 раз ниже 5 и 10% растворов соответственно. С увеличением скорости сдвига вязкость всех исследуемых растворов снижается, а затем выходит на плато. При хранении растворов в течение 7 суток вязкость 5 и 10% растворов ХГК остается неизменной, тогда как вязкость 1% раствора ХГК в процессе хранения снижается, что вероятно связано с процессом гидролиза.

Список литературы

1. Jones M., Kujundzic M., John S., Bismarck A. Crab vs. Mushroom: A Review of Crustacean and Fungal Chitin in Wound Treatment // *Mar. Drugs*. 2020. Vol. 18. Pp. 64. DOI: 10.3390/md18010064.
2. Nwe N., Furuike T., Tamura H. Production, Properties and Applications of Fungal Cell Wall Polysaccharides: Chitosan and Glucan // *Advances in Polymer Science*. 2011. Pp. 187–207. DOI: 10.1007/12_2011_124.
3. Boureghda Y., Satha H., Bendebane F. Chitin–Glucan Complex from *Pleurotus ostreatus* Mushroom: Physicochemical Characterization and Comparison of Extraction Methods // *Waste and Biomass Valorization*. 2021. Vol. 12, no. 11. Pp. 1–15. DOI: 10.1007/s12649-021-01449-3.

4. Mahapatra S., Banerjee D. Fungal Exopolysaccharide: Production, Composition and Applications // *Microbiology Insights*. 2013. Vol. 6. Pp. 1–16. DOI: 10.4137/MBI.S10957.
5. Araújo D., Ferreira I. C., Torres C. A., Neves L., Freitas F. Chitinous polymers: Extraction from fungal sources, characterization and processing towards value-added applications // *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*. 2020. Vol. 95, no. 5. Pp. 1277–1289. DOI: 10.1002/jctb.6325.
6. Ospina Álvarez S.P., Ramírez Cadavid D.A., Escobar Sierra D.M., Ossa Orozco C.P., Rojas Vahos D.F., Zapata Ocampo P., Atehortúa, L. Comparison of extraction methods of chitin from *Ganoderma lucidum* mushroom obtained in submerged culture // *Biomed. Res. Int.* 2014. Pp. 1–7. DOI: 10.1155/2014/169071.
7. Liao J., Huang H. Extraction of a novel fungal chitin from *Hericium erinaceus* residue using multistep mild procedures // *Int. J. Biol. Macromol.* 2020. Vol. 156. Pp. 1279–1286. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2019.11.165.
8. Ivshina V.P., Artamonovab S.D., Ivshina T.N., Sharnina F.F. Methods for Isolation of Chitin–Glucan Complexes from Higher Fungi Native Biomass // *Polymer Science, Ser. B.* 2007. Vol. 49, no. 11–12. Pp. 305–310. DOI: 10.1134/S1560090407110097.
9. Araújo D., Rodrigues T., Alves V.D., Freitas F. Chitin–Glucan Complex Hydrogels: Optimization of Gel Formation and Demonstration of Drug Loading and Release Ability // *Polymers*. 2022. Vol. 14. Pp. 785. DOI: 10.3390/polym14040785.
10. Singh A., Dutta P.K., Kumar H., Kureel A.K., Rai A.K. Improved antibacterial and antioxidant activities of gallic acid grafted chitin-glucan complex // *J. Polym. Res.* 2019. Vol. 26. Pp. 234. DOI: 10.1007/s10965-019-1893-3.
11. Abdel-Mohsen A.M., Jancar J., Massoud D., Fohlerova Z., Elhadidy H., Spatz Z., Hebeish A. Novel chitin/chitosan-glucan wound dressing: Isolation, characterization, antibacterial activity and wound healing properties // *Int. J. Pharm.* 2016. Vol. 510. Pp. 86–99. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2016.06.003
12. Roy J.C., Salatin F., Giraud S., Ferri A., Chen G., Guan J. Solubility of Chitin: Solvents, Solution Behaviors and Their Related Mechanisms // In *Solubility of Polysaccharides*. Xu, Z., Ed.; InTech: Rijeka, Croatia, 2017. DOI: 10.5772/intechopen.71385.
13. Shipovskaya A.B., Abramov A.Y., Pyshnograï G.V., Aziz A.J.H.N. Rheological Properties of Aqueous Acid Solutions of Chitosan: Experiment and Calculations of the Viscometric Functions on the Basis of a Mesoscopic Model // *Journal of Engineering Physics and Thermophys-ics*. 2016. Vol. 89, no. 3. Pp. 642–651. DOI: 10.1007/s10891-016-1422-8.
14. Минаков Д.В., Верещагин А.Л., Мороженко Ю.В., Базарнова Н.Г. Хитозан-глюкановые комплексы высших грибов: выделение, идентификация и определение некоторых свойств // *Химия растительного сырья*. 2019. №1. С. 251–257. DOI: 10.14258/jcrpm.2019014368.
15. Кучина Ю.А., Долгопятова Н.В., Новиков В.Ю., Сагайдачный В.А., Морозов Н.Н. Инструментальные методы определения степени деацетилирования хитина // *Вестник МГТУ*. 2012. Т. 15, №1. С. 107–113.
16. Riccardo A.A. Muzzarelli, Tanfani F., S. Gianfranco. Chelating, Film-Forming, and Coagulating Ability of the Chitosan-Glucan Complex from *Aspergillus niger* // *Industrial Wastes Biotechnology and Bioengineering*. 1980. Vol. XXII. Pp. 885.
17. Shabrukova N.V., Shestakova L.M., Zainetdinova D.R., Gamayurova V.S. Research of acid hydrolyses of chitin-glucan and chitosan-glucan complexes, chemistry and computational Simulation // *Butlerov Communications*. 2002. Vol. 2. Pp. 57–59.
18. Zhang P., Sutherawattananonda M. Kinetic Models for Glucosamine Production by Acid Hydrolysis of Chitin in Five Mushrooms // *International Journal of Chemical Engineering*. 2020. Pp. 1–8. DOI: 10.1155/2020/5084036.
19. El-hefian E.A., Yahaya A.H. Rheological study of chitosan and its blends: An overview // *Maejo International Journal of Science and Technology*. 2010. Vol. 4, no. 2. Pp. 210–220.
20. Sobral P.J., Gebremariam G., Drudi F., De Aguiar Saldanha Pinheiro A.C., Romani S., Rocculi P., Dalla Rosa M. Rheological and Viscoelastic Properties of Chitosan Solutions Prepared with Different Chitosan or Acetic Acid Concentrations // *Foods*. 2022. Vol. 11. Pp. 2692. DOI: 10.3390/foods11172692.
21. Вшивкова С.А., Русинова Е.В., Абу Салеха А.С. Реологические свойства жидкокристаллических растворов производных целлюлозы // *Высокомолекулярные соединения. Серия А*. 2021. Т. 63, №4. С. 243–248. DOI: 10.31857/S2308112021040088.
22. Бартенев Г. М. Теория структурной вязкости дисперсных систем // *Успехи коллоидной химии*. М., 1973. С. 17–183.
23. Савицкая Т.А., Гриншпан Д.Д., Кимленко И.М., Макаревич С.Е., Тран Дай Лам, Фам Тхи Лан. Крахмалы различного происхождения как основа съедобной упаковки // *Свиридовские чтения: сб. ст. Минск, 2020*. С. 123–136.
24. Матвеев В.Н., Кирсанов Е.А. Структурное обоснование неньютоновского течения // *Вестник Московского университета. Сер. 2. Химия*. 2017. Т. 58, №2. С. 59–81.

Поступила в редакцию 3 ноября 2022 г.

После переработки 28 января 2023 г.

Принята к публикации 29 января 2023 г.

Для цитирования: Минаков Д.В., Минакова А.А., Маркин В.И., Базарнова Н.Г., Тихонов С.Л., Егорова Е.Ю. Выделение, структура и физико-химические свойства хитин-глюкановых комплексов высших грибов // *Химия растительного сырья*. 2023. №1. С. 313–322. DOI: 10.14258/jcrpm.20230112519.

Minakov D.V.^{1*}, Minakova A.A.¹, Markin V.I.¹, Bazarnova N.G.¹, Tikhonov S.L.², Egorova E.Yu.³ ISOLATION, STRUCTURE AND PHYSICO-CHEMICAL PROPERTIES OF CHITIN-GLUCAN COMPLEXES OF HIGHER FUNGI

¹ Altai State University, Lenina av., 61, Barnaul, 656049 (Russia), e-mail: MinakovD-1990@yandex.ru

² Ural State University of Economics, 8 March st., 62, Yekaterinburg, 620144 (Russia), e-mail: tikhonov75@bk.ru

³ Altay State Technical University, Lenina av., 46, Barnaul, 656038 (Russia), e-mail: egorovaeyu@mail.ru

The article is devoted to the study of isolation processes, chemical structure and rheological properties of chitin-glucan complexes from the biomass of *Armillaria mellea*. Because of the studies, it was found that the yield of chitin-glucan complexes ranged from 11.0 to 24.9% with a degree of deacetylation from 24 to 55%. The maximum yield was obtained by treating the fruiting bodies of fungi at the stage of deproteinization with a 3% aqueous solution of sodium hydroxide with mechanical stirring at 225 rpm for 60 min at 75±5°C. It is shown that the degree of deacetylation correlates with the values of the alkali concentration used. The IR spectra of the obtained samples of chitin-glucan complexes include absorption bands characteristic of stretching and bending vibrations of the bonds of chitin and glucan links and coincide with the spectra of chitin-glucan complexes of other fungi. It has been established that the viscosity characteristics of a 1% solution of a chitin-glucan complex in 2% hydrochloric acid are 14 and 190 times lower than 5% and 10% solutions, respectively. Increasing the shear rate makes it possible to detect a decrease in the viscosity of all studied solutions. Storage of a 1% solution of chitin-glucan complexes for 7 days at 25±2°C is accompanied by a decrease in viscosity; the viscosity of 5 and 10% solutions remains stable.

Keywords: fungal biomass, chitin-glucan complex, deproteinization, deacetylation, rheology.

References

1. Jones M., Kujundzic M., John S., Bismarck A. *Mar. Drugs.*, 2020, vol. 18, pp. 64. DOI: 10.3390/md18010064.
2. Nwe N., Furuike T., Tamura H. *Advances in Polymer Science*, 2011, pp. 187–207. DOI: 10.1007/12_2011_124.
3. Boureghda Y., Satha H., Bendebane F. *Waste and Biomass Valorization*, 2021, vol. 12, no. 11, pp. 1–15. DOI: 10.1007/s12649-021-01449-3.
4. Mahapatra S., Banerjee D. *Microbiology Insights*, 2013, vol. 6, pp. 1–16. DOI: 10.4137/MBI.S10957.
5. Araújo D., Ferreira I. C., Torres C. A., Neves L., Freitas F. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 2020, vol. 95, no. 5, pp. 1277–1289. DOI: 10.1002/jctb.6325.
6. Ospina Álvarez S.P., Ramírez Cadavid D.A., Escobar Sierra D.M., Ossa Orozco C.P., Rojas Vahos D.F., Zapata Ocampo P., Atehortúa, L. *Biomed. Res. Int.*, 2014, pp. 1–7. DOI: 10.1155/2014/169071.
7. Liao J., Huang H. *Int. J. Biol. Macromol.*, 2020, vol. 156, pp. 1279–1286. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2019.11.165.
8. Ivshina V.P., Artamonov S.D., Ivshina T.N., Sharnina F.F. *Polymer Science, Ser. B.*, 2007, vol. 49, no. 11–12, pp. 305–310. DOI: 10.1134/S1560090407110097.
9. Araújo D., Rodrigues T., Alves V.D., Freitas F. *Polymers*, 2022, vol. 14, pp. 785. DOI: 10.3390/polym14040785.
10. Singh A., Dutta P.K., Kumar H., Kureel A.K., Rai A.K. *J. Polym. Res.*, 2019, vol. 26, pp. 234. DOI: 10.1007/s10965-019-1893-3.
11. Abdel-Mohsen A.M., Jancar J., Massoud D., Fohlerova Z., Elhadidy H., Spatz Z., Hebeish A. *Int. J. Pharm.*, 2016, vol. 510, pp. 86–99. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2016.06.003.
12. Roy J.C., Salaün F., Giraud S., Ferri A., Chen G., Guan J. *In Solubility of Polysaccharides*. Xu, Z., Ed.; InTech: Rijeka, Croatia, 2017. DOI: 10.5772/intechopen.71385.
13. Shipovskaya A.B., Abramov A.Y., Pysnograï G.V., Aziz A.J.H.N. *Journal of Engineering Physics and Thermophysics*, 2016, vol. 89, no. 3, pp. 642–651. DOI: 10.1007/s10891-016-1422-8.
14. Minakov D.V., Vereshchagin A.L., Morozhenko YU.V., Bazarnova N.G. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2019, no. 1, pp. 251–257. DOI: 10.14258/jcprm.2019014368. (in Russ.).
15. Kuchina YU.A., Dolgopyatova N.V., Novikov V.YU., Sagaydachnyy V.A., Morozov N.N. *Vestnik MGTU*, 2012, vol. 15, no. 1, pp. 107–113. (in Russ.).
16. Riccardo A.A. Muzzarelli, Tanfani F., Gianfranco S. *Industrial Wastes Biotechnology and Bioengineering*, 1980, vol. XXII, pp. 885.
17. Shabrukova N.V., Shestakova L.M., Zainetdinova D.R., Gamayurova V.S. *Butlerov Communications*, 2002, vol. 2, pp. 57–59.
18. Zhang P., Suteerawattananonda M. *International Journal of Chemical Engineering*, 2020, pp. 1–8. DOI: 10.1155/2020/5084036.
19. El-hefian E.A., Yahaya A.H. *Maejo International Journal of Science and Technology*, 2010, vol. 4, no. 2, pp. 210–220.
20. Sobral P.J., Gebremariam G., Drudi F., De Aguiar Saldanha Pinheiro A.C., Romani S., Rocculi P., Dalla Rosa M. *Foods*, 2022, vol. 11, pp. 2692. DOI: 10.3390/foods11172692.
21. Vshivkova S.A., Rusinova Ye.V., Abu Salekha A.S. *Vysokomolekulyarnyye soyedineniya. Seriya A.*, 2021, vol. 63, no. 4, pp. 243–248. DOI: 10.31857/S2308112021040088. (in Russ.).
22. Bartenev G. M. *Uspekhi kolloidnoy khimii*. [Advances in colloidal chemistry]. Moscow, 1973, pp. 17–183. (in Russ.).
23. Savitskaya T.A., Grinshpan D.D., Kimlenko I.M., Makarevich S.Ye., Tpan Day Lam, Fam Tkhi Lan. *Sviridovskiy chteniya: sbornik statey*. [Sviridovsky readings: a collection of articles]. Minsk, 2020. C. 123–136. (in Russ.).
24. Matveyenko V.H., Kirsanov Ye.A. *Vestnik Moskovskogo universiteta. Khimiya*, 2017, vol. 58, no. 2, pp. 59–81. (in Russ.).

Received November 3, 2022

Revised January 28, 2023

Accepted January 29, 2023

For citing: Minakov D.V., Minakova A.A., Markin V.I., Bazarnova N.G., Tikhonov S.L., Egorova E.Yu. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2023, no. 1, pp. 313–322. (in Russ.). DOI: 10.14258/jcprm.20230112519.

* Corresponding author.