

УДК 579 (045)

ХИТОЗАН-ГЛЮКАНОВЫЕ КОМПЛЕКСЫ ВЫСШИХ ГРИБОВ: ВЫДЕЛЕНИЕ, ИДЕНТИФИКАЦИЯ И ОПРЕДЕЛЕНИЕ НЕКОТОРЫХ СВОЙСТВ

© Д.В. Минаков^{1*}, А.Л. Верещагин², Ю.В. Мороженко², Н.Г. Базарнова¹

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

²Бийский технологический институт (филиал) Алтайского
государственного технического университета им. И.И. Ползунова,
ул. Трофимова, 27, Бийск, 659305 (Россия), e-mail: info@bti.secna.ru

Работа посвящена исследованию хитозан-глюкановых комплексов (ХтГК), полученных из высших грибов опенка осеннего (*Armillaria mellea*), шиитаке (*Lentinula edodes*) и грифолы курчавой (*Grifola frondosa*), оптимизации способа выделения и расширению возможности их использования для различных областей народного хозяйства. В качестве объектов исследования использованы: штаммы грибов *L. edodes* F-1000 и *G. frondosa* 2639, выделенные из коммерческого мицелия, и штамм *A. mellea* D-13, выделенный из плодовых тел, собранных с пней березы повислой (*Betula pendula*) в естественных местообитаниях Алтайского края. При проведении анализа данных ИК-спектроскопии было установлено, что образцы ХтГК, выделенные из плодовых тел грибов, идентичны структуре хитозана, полученного традиционным способом из камчатского краба (*Paralithodes camtschaticus*). Установлено, что испытуемые ХтГК по показателям характеристической вязкости (1.6–2.2 см³/г), молекулярной массы (37.5–51.8 кДа) и степени деацетилирования (75.6–79.5%) значительно превосходят ХтГК, полученные из плодовых тел вешенки (*Pleurotus osteratus*), и сопоставимы с ХтГК плесневых грибов (*Aspergillus niger*). При этом ХтГК из *A. mellea* D-13 по перечисленным выше показателям является наиболее близким к хитозану, полученному из *P. camtschaticus*. По физико-химическим свойствам исследуемые ХтГК соответствуют требованиям пищевого хитозана (ТУ 9289-067-00472124).

Ключевые слова: хитозан-глюкановый комплекс, базидиомицеты, грибы, *Lentinula edodes*, *Grifola frondosa*, *Armillaria mellea*, степень деацетилирования, характеристическая вязкость, молекулярная масса.

Введение

Изучение и применение биополимеров в последние годы становится одним из наиболее актуальных направлений физико-химических исследований высокомолекулярных соединений, проявляющих физиологическую активность.

В научном мире наблюдается повышенный интерес исследователей к возобновляемым природным биополимерам, среди которых особое место занимает хитозан – частично деацетилированное производное полисахарида хитина (поли[(1→4)-N-ацетил-2-амино-2-дезоксид-β-D-глюкопиранозы]). Хитозан обладает рядом уникальных физико-химических и биологических свойств, привлекательных для многих областей науки, в частности, биотехнологии и медицины. Достоинствами данного биополимера является возобновляемость, разнообразие и неограниченность сырьевых источников [1–4].

Наиболее распространенным сырьем для получения хитозана являются панцири ракообразных – крабы, раки, креветки [4]. Однако известно, что эти ресурсы имеют ряд недостатков, среди которых осо-

Минаков Денис Викторович – магистрант кафедры органической химии, e-mail: MinakovD-1990@yandex.ru

Верещагин Александр Леонидович – доктор химических наук, профессор кафедры общей химии и экспертизы товаров, e-mail: val@bti.secna.ru

Мороженко Юрий Васильевич – кандидат химических наук, доцент кафедры биотехнологии, e-mail: uv@bti.secna.ru

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

* Автор, с которым следует вести переписку.

бую обеспокоенность вызывает загрязненность панцирей ядохимикатами, тяжелыми металлами и другими отходами производств [5].

Отдельными и немногочисленными исследованиями установлено, что альтернативой хитозану, получаемому из панцирей ракообразных, являются хитозан-глюкановые комплексы (ХтГК), выделенные из высших базидиальных грибов [6–8]. Процесс выделения чистого хитозана из биомассы грибов на сегодняшний день достаточно сложный и дорогой. Поэтому выделяют не хитозан, а ХтГК, который по физико-химическим свойствам сходен с хитозаном ракообразных [9].

Среди активно культивируемых грибов к числу наиболее перспективных, безусловно, относят лекарственные виды базидиомицетов, таких как шиитаке (*Lentinula edodes* (Berk.) Pegler), мировое производство которых составляет 700 тыс. т. в год, и мейтаке (*Grifola frondosa* (Dicks: Fr.) Gray) – 125 тыс. т в год. Эти виды грибов сочетают в себе высокую скорость роста, биологическую активность и отсутствие токсикантов. В настоящее время в России принципиальное значение приобретает культивирование опенка осеннего (*Armillaria mellea* (Vahl: Fr.) P. Kumm) в связи с его высокими лекарственными и органолептическими свойствами [10–12]. Преимуществом этих базидиомицетов, по сравнению с традиционным сырьем, является возможность получения биомассы грибов интенсивным методом в круглогодичном режиме при относительно низкой себестоимости.

Поэтому, учитывая большие потенциальные возможности высших грибов, актуальным представляется использование биомассы плодовых тел в качестве сырья для получения ХтГК. В этой связи необходимо повышать экономическую эффективность производства и совершенствовать технологию выделения ХтГК.

Цель настоящей работы – исследование ХтГК полученных из высших грибов *A. mellea* D-13, *L. edodes* F-1000 и *G. frondosa* 2639, оптимизация их способа выделения и расширение возможности использования для различных областей народного хозяйства.

Экспериментальная часть

В качестве объектов исследования использованы: штаммы грибов *L. edodes* F-1000 и *G. frondosa* 2639, выделенные из коммерческого мицелия, и штамм *A. mellea* D-13, выделенный из плодовых тел, собранных с пней березы повислой (*Betula pendula*) в естественных местообитаниях Алтайского края (коллекция лаборатории «микробиологии и микологии» кафедры биотехнологии БТИ АлтГТУ). Идентификация вида *A. mellea* осуществлялась по определителю грибов и по морфологии выращенных плодовых тел [13]. Выделение чистой культуры *A. mellea* проводилось из тканей свежесобранных грибов по методике, описанной А.С. Бухало [14, 15].

Выращивание культур грибов осуществляли методом поверхностного культивирования на сусло-агаре (СА). Готовые культуры хранили при температуре 4 ± 1 °С.

После получения посевного мицелия, его инокуляции в субстрат выращивали плодовые тела.

Для культивирования плодовых тел штаммов грибов использовали следующий состав субстрата: березовые опилки – 28.0%; пшеничные отруби – 6.8%; CaCO_3 – 0.4%; KH_2PO_4 – 0.2%; $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ – 0.2%; глюкоза – 0.2%; вода – 64.2%.

Процесс получения плодовых тел грибов проводился по методу, представленному в ранее опубликованных работах [12].

Для определения влажности и зольности применялись стандартные химические и физико-химические методы анализа: ГОСТ 13586.5-93, ГОСТ 27494-87.

Выделение ХтГК из мицелия и плодовых тел грибов проводили по United States Patent 4282351 [16]. Среднюю молекулярную массу и характеристическую вязкость ХтГК определяли методом вискозиметрии [4]; степень деацетилирования – потенциометрическим титрованием [17]. Идентификацию ХтГК проводили методом ИК-спектроскопии (Shimadzu FTIR 8300) [18].

Исследования проводились в четырехкратной повторности. Статистическую обработку экспериментальных данных осуществляли с использованием компьютерных программ Excel Microsoft Office, Statistica 8.0.

Обсуждение результатов

Выделение хитозан-глюкановых комплексов из плодовых тел грибов. Хитин является наиболее распространенным фибриллярным материалом клеточных стенок грибов. Как и у членистоногих, в грибах хитин находится в α -форме. В клеточных стенках грибов хитин, в отличие от хитина членистоногих, ассо-

цирован с другими полисахаридами, преимущественно с α - и β -глюканами, которые выполняют функцию матрикса. Глюканы в основном представлены 1,3- α - и 1,3- β -глюканами. У грибов отдела *Basidiomycota* содержание хитина варьирует от 26 до 65%, содержание глюканов – от 22 до 67% [6–8].

В основе получения хитозана лежит реакция гидролиза структурной единицы хитина – ацетиламинной группировки. В отличие от практически нерастворимого хитина хитозан растворим в разбавленных неорганических и органических кислотах: муравьиной, уксусной, янтарной, молочной, яблочной, но нерастворим в лимонной и винной [19].

Процесс выделения ХтГК из плодовых тел грибов включает в себя стадии депротеинизации, деминерализации и деацетилирования.

Плодовые тела грибов высушивали до постоянной массы и измельчали до размера частиц 3–5 мм. Депротеинизацию проводили 1Н раствором гидроксида натрия при соотношении сырья и раствора NaOH – 1 : 13. Процесс вели при температуре 80 ± 3 °С и постоянном перемешивании в течение 120 мин. Депротеинизированные частицы грибов фильтровали и промывали дистиллированной водой до нейтральной реакции.

Деминерализацию полученных частиц проводили с использованием 1Н раствора соляной кислоты в течение 120 мин и постоянном перемешивании реакционной массы.

Полученный в результате деминерализации хитин-глюкановый комплекс фильтровали и промывали дистиллированной водой до нейтрального значения промывных вод. Выделенные хитин-глюкановые комплексы обесцвечивали 96% этанолом с получением рыхлой массы белого цвета.

Для проведения процесса деацетилирования хитин-глюкановые комплексы грибов смешивали с 50%-ным раствором NaOH и нагревали до 120 ± 5 °С в течение 90 мин при постоянном перемешивании. Реакционная смесь темнела, что было вызвано разложением остаточного белка в щелочной среде. По окончании процесса деацетилирования жидкость фильтровали, полученные ХтГК промывали дистиллированной водой до получения промывных вод с нейтральным значением pH. Высушивание образцов ХтГК проводили в сушильном шкафу при температуре 50 °С до постоянной массы. Образующиеся ХтГК имели темно-коричневый цвет.

Результаты выделения и некоторые характеристики полученных образцов ХтГК из плодовых тел *A. mellea* D-13, *L. edodes* F-1000 и *G. frondosa* 2639 представлены в таблице 1.

Как следует из представленных в таблице 1 данных, выход выделенных образцов ХтГК изменяется в диапазоне значений 3.3–19.0%.

Наиболее предпочтительным сырьем для получения ХтГК можно считать плодовые тела *A. mellea* D-13, поскольку из них выделяется наибольшее количество ХтГК. По содержанию влаги и золы, полученные образцы ХтГК соответствуют требованиям пищевого хитозана (ТУ 9289-067-00472124) [4]. При сравнении с литературными данными выяснено, что ХтГК, выделенные из биомассы плодовых тел испытываемых грибов, по выходу значительно превосходят ХтГК из вешенки (*Pleurotus osteratus*). При этом выход ХтГК из плодовых тел *A. mellea* D-13 и мицелия *Aspergillus niger* в 1.14–1.90 раз выше, чем выход хитозана из камчатского краба (*Paralithodes camtschaticus*). Это объясняется тем, что полученные ХтГК из *A. mellea* D-13 и *Aspergillus niger* представляют собой комплексы, содержащие до 60% глюкана, имеющие 1,3- α -связи (до 85–90%) и 1,4- α -связи (10–15%), и только 23–25% хитозана [9, 20].

При сравнении ИК-спектров полученных образцов ХтГК с хитозаном, выделенным из камчатского краба, была показана высокая степень их идентичности [4].

ИК-спектр (KBr), ν , см^{-1} : 3466–3417 (–OH, NH–втор.); 2960–2800, 1420, 1320 ($\equiv\text{CH}$, $=\text{CH}_2$, $-\text{CH}_3$); 1670–1640, 1620–1550 (CO в амидах); 1378–1375 (–OH); 1263–1260 (NH_2); 1079–1033 (C–O–C); 896, 660 (пиранозное кольцо β -углеводов).

Таблица 1. Выход и физические свойства ХтГК и хитозана

№	Образец	Влага, %	Зола, %	Выход, в % на а.с.в.
1	ХтГК <i>A. mellea</i> D-13	7.6 \pm 1.0	0.3 \pm 0.1	19.0 \pm 1.2
2	ХтГК <i>L. edodes</i> F-1000	8.0 \pm 0.6	0.4 \pm 0.2	5.4 \pm 0.5
3	ХтГК <i>G. frondosa</i> 2639	7.6 \pm 1.2	0.4 \pm 0.1	3.3 \pm 0.6
4	ХтГК <i>Pleurotus osteratus</i> *	8.0 \pm 1.0	0.4 \pm 0.1	0.5 \pm 0.1
5	ХтГК <i>Aspergillus niger</i> *	–	–	32.0–55.0
6	Хитозан <i>Paralithodes camtschaticus</i> *	7.5 \pm 1.1	0.3 \pm 0.1	16.6 \pm 0.3
7	Допустимые значения для пищевого хитозана (ТУ 9289-067-00472124)	Не более 10	Не более 0.7	–

* – литературные данные [4, 5, 17, 22]

ИК-спектры образцов ХтГК, выделенных из плодовых тел испытуемых грибов, аналогичны ИК-спектру хитозана, полученного традиционным способом из камчатского краба [4]. Они имеют такой же идентичный набор характеристических полос поглощения, которые отличаются друг от друга интенсивностью пиков и небольшим сдвигом по волновым числам в пределах ошибки измерений. Таким образом, можно сделать заключение, что присутствие основных полос поглощения в исследуемых образцах ХтГК подтверждает структуру хитозана.

Важным и необходимым этапом проводимых исследований, в которых используется хитозан, вне зависимости от направления (иммунология, биоматериалы, очистка сточных вод и др.), является изучение основных характеристик исходных биополимеров и дальнейший контроль их основных параметров в ходе эксперимента. Для выбора оптимальных условий получения гелей или пленок, важны следующие параметры: характеристическая вязкость, молекулярная масса и степень деацетилирования образующихся полимеров [4].

Основные физико-химические свойства полученных образцов ХтГК представлены в таблице 2.

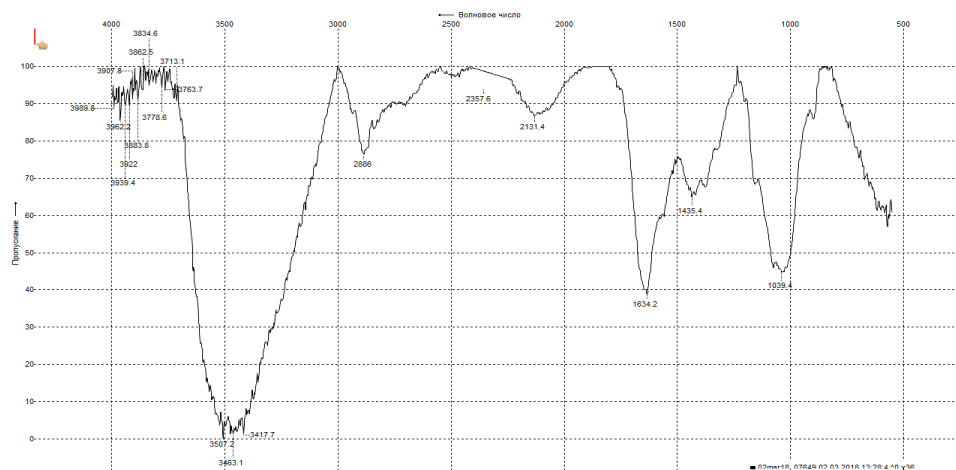


Рис. 1. ИК-спектр ХтГК, выделенного из плодовых тел *A. mellea* D-13

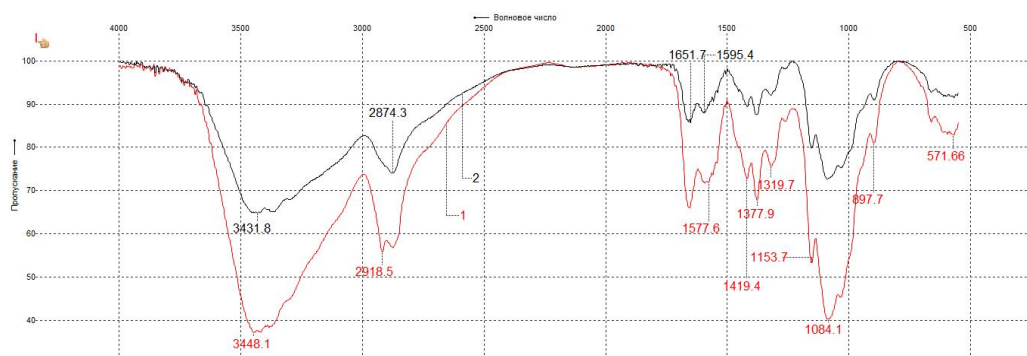


Рис. 2. ИК-спектры ХтГК, выделенных из плодовых тел *L. edodes* F-10

Таблица 2. Сравнительные характеристики физико-химических свойств исследуемых образцов ХтГК

№	Образец	Характеристическая вязкость $[\eta]$, см ³ /г	Молекулярная масса, кДа	Степень деацетилирования, %
1	ХтГК <i>A. mellea</i> D-13	2.2	51.8	79.5±2.6
2	ХтГК <i>L. edodes</i> F-1000	1.8	42.2	75.6±1.5
3	ХтГК <i>G. frondosa</i> 2639	1.6	37.5	76.2±3.6
4	ХтГК <i>Pleurotus osteratus</i> *	1.5	35.1	75.0±1.4
5	ХтГК <i>Aspergillus niger</i> *	—	44.2	82.0–95.0
6	Хитозан <i>Paralithodes camtschaticus</i> *	4.2	72.4	87.8±5.1
7	Допустимые значения для пищевого хитозана (ТУ 9289-067-00472124)*	Не нормируется	Не нормируется	Не менее 75

* – литературные данные [4. 5. 9. 17. 21– 23]

Как следует из данных таблицы 2, физико-химические характеристики образцов ХтГК, полученных из плодовых тел грибов, изменяются в широких пределах. С максимальной характеристической вязкостью ($2.2 \text{ см}^3/\text{г}$), молекулярной массой (51.8 кДа) и степенью деацетилирования (79.5%) получен образец ХтГК из биомассы плодовых тел *A. mellea* D-13.

Близкие значения характеристической вязкости $1.6\text{--}1.8 \text{ см}^3/\text{г}$ и молекулярной массы $37.5\text{--}42.2 \text{ кДа}$ имеют два образца ХтГК, выделенные из плодовых тел *L. edodes* F-1000 и *G. frondosa* 2639. Степень деацетилирования в этих образцах составила $75.6\text{--}76.2\%$ соответственно. Причем ХтГК из плодовых тел *A. mellea* D-13 обладает физико-химическими свойствами, близкими хитозану камчатского краба.

Полученные ХтГК идентифицированы как соответствующие требованиям к пищевому хитозану (ТУ 9289-067-00472124).

Таким образом, было установлено, что образцы ХтГК из плодовых тел *A. mellea* D-13, *L. edodes* F-1000 и *G. frondosa* 2639 по показателям характеристической вязкости, молекулярной массы и степени деацетилирования значительно превосходят хитозан-глюкановый комплекс, выделенный из плодовых тел вешенки (*Pleurotus osteratus*), и сопоставимы с ХтГК из *Aspergillus niger*. По результатам проведенных в работе исследований показано, что ХтГК из *A. mellea* D-13 наиболее близок к хитозану, получаемому из камчатского краба (*Paralithodes camtschaticus*).

Выводы

1. Впервые исследованы хитозан-глюкановые комплексы, выделенные из биомассы плодовых тел высших грибов *A. mellea* D-13, *L. edodes* F-1000 и *G. frondosa* 2639. Проведен сравнительный анализ полученных комплексов с хитозаном *Paralithodes camtschaticus* и ХтГК *Aspergillus niger*, *Pleurotus osteratus*.

2. Установлено, что выход ХтГК из плодовых тел *A. mellea* D-13 в 1.14 раза выше, чем выход хитозана из камчатского краба (*Paralithodes camtschaticus*).

3. Показано, что ИК-спектры образцов ХтГК, выделенных из плодовых тел *A. mellea* D-13, *L. edodes* F-1000 и *G. frondosa* 2639, соответствуют спектру хитозана, полученного традиционным способом из камчатского краба.

4. По физико-химическим свойствам полученные ХтГК базидиальных грибов удовлетворяют требованиям, предъявляемым к пищевому хитозану (ТУ 9289-067-00472124).

5. Установлено, что полученные образцы биополимеров из плодовых тел грибов по показателям характеристической вязкости ($1.6\text{--}2.2 \text{ см}^3/\text{г}$), молекулярной массы ($37.5\text{--}51.8 \text{ кДа}$) и степени деацетилирования ($75.6\text{--}79.5\%$) значительно превосходят ХтГК, выделенный из плодовых тел *Pleurotus osteratus* и сопоставимы с ХтГК из *Aspergillus niger*.

Список литературы

1. Younes I., Rinaudo M. Chitin and chitosan preparation from marine sources. Structure, properties and applications // *Mar Drugs*. 2015. Vol. 13(3). Pp. 1133–1174. DOI: 10.3390/md13031133.
2. Muzzarelli R.A., Muzzarelli C. Chitosan Chemistry: Relevance to the Biomedical Sciences // *Adv. Polym. Sci.* 2004. Vol. 186. Pp. 151–209. DOI: 10.1007/b136820.
3. Crestini C., Kovac B., Giovannozzi-Sermanni G. Production and isolation of chitosan by submerged and solid state fermentation from *Lentinus edodes* // *Biotechnology and Bioengineering*. 1996. Vol. 50. Pp. 207–210. DOI: 10.1002/bit.260500202.
4. Скрыбин К.Г., Вихревой Г.А., Варламова В.П. Хитин и хитозан: получение, свойства и применение. М., 2002. 368 с.
5. Логинова Н.В., Смирнова Л.А., Черноуков Н.Г. Исследование сорбционной способности хитозана по извлечению ионов тяжелых металлов из водных растворов // *Вестник Нижегородского университета им. Н.И. Лобачевского*. 1998. №1. С. 128–131.
6. Nwe N., Chandkrachang S., Stevens W.F., Maw T.T.T.K., Khor E., Wong S.M. Production of fungal chitosan by solid state and submerged fermentation // *Carbohydrate Polymers*. 2002. Vol. 49. Pp. 235–237. DOI: 10.1007/s11274-008-9755-x.
7. Nwe N., Stevens W.F. Chitosan isolation from the chitosan-glucon complex of fungal cell wall using amylolytic enzymes // *Biotechnology Letters*. 2002. Vol. 24. Pp. 1461–1464. DOI: 10.1023/A:1019898715518
8. Kurita K. Chemistry and application of chitin and chitosan // *Polym. Degrad. Stabil.* 1998. Vol. 59. Pp. 117–120.
9. Nwe N., Furuike T., Tamura H. Production, properties and applications of fungal cell wall polysaccharides: chitosan and glucon // *Adv. Polym. Sci.* 2011. Vol. 244. Pp. 187–208. DOI: 10.1007/12_2011_124.

10. Минаков Д.В., Севодина К.В., Шадринцева А.И., Севодин В.П. Сравнительная оценка некоторых базидиомицетов в поверхностной и глубинной культуре // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2016. Т. 6, №4. С. 46–52. DOI: 10.21285/2227-2925-2016-6-4-46-52.
11. Минаков Д.В., Севодина К.В., Шадринцева А.И., Севодин В.П. Сравнительная оценка аминокислотного и белкового составов мицелия и плодовых тел некоторых базидиомицетов // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2016. Т. 6, №3. С. 50–56. DOI: 10.21285/2227-2925-2016-6-3-50-56.
12. Минаков Д.В., Севодина К.В., Шадринцева А.И., Севодин В.П. Зависимость продуктивности *G. frondosa* от размера частиц лигноцеллюлозного субстрата // Техника и технология пищевых производств. 2017. №1 (44). С. 24–30.
13. Hansen L., Knudsen H. Nordic Macromycetes. Vol. 3: heterobasidioid, aphylophoroid and gastromycetoid Basidiomycetes. Copenhagen. 1997. 445 p.
14. Бухало А.С. Высшие съедобные базидиомицеты в чистой культуре. Киев. 1988. 144 с.
15. Бухало А.С. Культивирование съедобных и лекарственных грибов. Практические рекомендации. Киев. 2004. 128 с.
16. Patent 4282351 (US). Chitosan-glucan complex, method for its production and uses / Muzzarelli R. / 1981.
17. Кучина Ю.А., Долгопятова Н.В., Новиков В.Ю. Инструментальные методы определения степени деацетилирования хитина // Вестник МГТУ. 2012. Т.15. №1. С. 107–113.
18. Mistry B.D. Handbook of spectroscopic data: chemistry. (UV, IR, PMR, 13CNMR and mass spectroscopy). Jaipur, 2009. 242 p.
19. Tharanathan N.R., Kittur S.F. Chitin – the undisputed biomolecule of great potential // Crit. Rev. Food Sci. 2003. Vol. 43. Pp. 61–87. DOI: 10.1080/10408690390826455.
20. Herrera J.R. Fungal glucans // In: Fungal cell wall: Structure, Synthesis, and Assembly. 1991. Vol. 1. Pp. 59–88.
21. Унрод В.П., Лега Ю.Г., Солодовник Т.В. Использование промышленного отхода гриба *Aspergillus niger* для получения хитин содержащих комплексов // Новые достижения в исследовании хитина и хитозана. М., 2001. С. 58–61.
22. Muzzarelli R.A.A., Tanfani F., Scarpini G. Chelating, film-forming and coagulating ability of the chitosan–glucan complex from *Aspergillus niger* industrial wastes // Biotechnology and Bioengineering. 1980. Vol. 22. Pp. 885–896.
23. Berecochea-Lopez A., Decorde K., Ventura E., Godard M., Bornet A., Teissedre P.L., Cristol J.P., Rouane J.M. Fungal chitin-glucan from *Aspergillus niger* efficiently reduces aortic fatty streak accumulation in the high-fat fed hamster, an animal model of nutritionally induced atherosclerosis // J. Agric. Food Chem. 2009. Vol. 57. Pp. 1093–1098. DOI: 10.1021/jf803063v.

Поступила в редакцию 9 сентября 2018 г.

После переработки 18 сентября 2018 г.

Принята к публикации 21 сентября 2018 г.

Для цитирования: 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/jcprm.2019014368.

Minakov D.V.^{1*}, *Vereshchagin A.L.*², *Morozhenko Yu.V.*², *Bazarnova N.G.*¹ CHITOSAN-GLUCAN COMPLEXES OF HIGHEST MUSHROOMS: SELECTION, IDENTIFICATION AND DETERMINATION OF SOME PROPERTIES

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

²Biysk Technological Institute (branch) of the Altai State Technical University, ul. Trofimova, 27, Biysk, 659305 (Russia), e-mail: info@bti.secna.ru

The work is devoted to the study of chitosan-glucan complexes obtained from the higher fungi of the autumnal marmot (*Armillaria mellea*), shiitake (*Lentinula edodes*) and grifola frutosa (*Grifola frondosa*), optimization of the method of isolation and expansion of their use for various areas of the national economy. As objects of research, strains of fungi *L. edodes* F-1000 and *G. frondosa* 2639 isolated from commercial mycelium and *A. mellea* D-13 strain isolated from fruiting bodies harvested from *Betula pendula* stems in natural habitats of the Altai Territory. When analyzing the IR spectroscopy data, it was established that the samples of chitosan-glucan complexes isolated from the fruiting bodies of fungi are identical to the structure of chitosan obtained in the traditional way from the king crab (*Paralithodes camtschaticus*). It was found that the test chitosan-glucan complexes in terms of intrinsic viscosity (1.6–2.2 cm³/g), molecular weight (37.5–51.8 kDa) and deacetylation degree (75.6–79.5%) significantly exceed the chitosan-glucan complexes obtained from the oyster mushroom (*Pleurotus osteratus*) and are comparable to the chitosan-

* Corresponding author.

glucan complexes of mold fungi (*Aspergillus niger*). At the same time, the chitosan-glucan complexes from *A. mellea* D-13 are closest to the chitosan isolated from *P. camtschaticus* in the above indices. According to the physico-chemical properties, the investigated chitosan-glucan complexes correspond to the requirements of food chitosan (TU 9289-067-00472124).

Keywords: chitosan-glucan complex, basidiomycetes, fungi, *Lentinula edodes*, *Grifola frondosa*, *Armillaria mellea*, degree of deacetylation, intrinsic viscosity, molecular weight.

References

1. Younes I., Rinaudo M. *Mar Drugs.*, 2015, vol. 13(3), pp. 1133–1174. DOI: 10.3390/md13031133.
2. Muzzarelli R.A., Muzzarelli C. *Adv. Polym. Sci.*, 2004, vol. 186, pp. 151–209. DOI: 10.1007/b136820.
3. Crestini C., Kovac B., Giovannozzi-Sermanni G. *Biotechnology and Bioengineering*, 1996, vol. 50, pp. 207–210. DOI: 10.1002/bit.260500202.
4. Skryabin K.G., Vikhreyov G.A., Varlamova V.P. *Khitin i khitozan: polucheniye, svoystva i primeneniye*. [Chitin and chitosan: preparation, properties and application], Moscow, 2002, 368 p. (in Russ.).
5. Loginova N.V., Smirnova L.A., Chernorukov N.G. *Vestnik Nizhegorodskogo universiteta im. N.I. Lobachevskogo*. [Bulletin of Nizhny Novgorod University N.I. Lobachevsky], 1998, no. 1, pp. 128–131. (in Russ.).
6. Nwe N., Chandkrachang S., Stevens W.F., Maw T.T.T.K., Khor E., Wong S.M. *Carbohydrate Polymers*, 2002, vol. 49, pp. 235–237. DOI: 10.1007/s11274-008-9755-x.
7. Nwe N., Stevens W.F. *Biotechnology Letters*, 2002, vol. 24, pp. 1461–1464. DOI: 10.1023/A:1019898715518.
8. Kurita K. *Polym. Degrad. Stabil.*, 1998, vol. 59, pp. 117–120.
9. Nwe N., Furuike T., Tamura H. *Adv. Polym. Sci.*, 2011, vol. 244, pp. 187–208. DOI: 10.1007/12_2011_124.
10. Minakov D.V., Sevodina K.V., Shadrintseva A.I., Sevodin V.P. *Izvestiya vuzov. Prikladnaya khimiya i biotekhnologiya*, 2016, vol. 6, no. 4, pp. 46–52. DOI: 10.21285/2227-2925-2016-6-4-46-52 (in Russ.).
11. Minakov D.V., Sevodina K.V., Shadrintseva A.I., Sevodin V.P. *Izvestiya vuzov. Prikladnaya khimiya i biotekhnologiya*, 2016, vol. 6, no. 3, pp. 50–56. DOI: 10.21285/2227-2925-2016-6-3-50-56 (in Russ.).
12. Minakov D.V., Sevodina K.V., Shadrintseva A.I., Sevodin V.P. *Tekhnika i tekhnologiya pishchevykh proizvodstv*, 2017, no. 1 (44), pp. 24–30. (in Russ.).
13. Hansen L., Knudsen H. *Nordic Macromycetes. Vol. 3: heterobasidioid, aphylophoroid and gastromycetoid Basidiomycetes*, Copenhagen, 1997, 445 p.
14. Bukhalo A.S. *Vysshie s'yedobnyye bazidiomitsety v chistoy kul'ture*. [Highest edible basidiomycetes in pure culture], Kiev, 1988, 144 p. (in Russ.).
15. Bukhalo A.S. *Kul'tivirovaniye s'yedobnykh i lekarstvennykh gribov. Prakticheskiye rekomendatsii*. [Cultivation of edible and medicinal mushrooms. Practical recommendations], Kiev, 2004, 128 p. (in Russ.).
16. Patent 4282351 (US). 1981.
17. Kuchina Yu.A., Dolgopyatova N.V., Novikov V.Yu. *Vestnik MGTU*, 2012, vol. 15, no. 1, pp. 107–113. (in Russ.).
18. Mistry B.D. *Handbook of spectroscopic data: chemistry. (UV, IR, PMR, ¹³CNMR and mass spectroscopy)*, Jaipur, 2009, 242 p.
19. Tharanathan N.R., Kittur S.F. *Crit. Rev. Food Sci.*, 2003, vol. 43, pp. 61–87. DOI: 10.1080/10408690390826455.
20. Herrera J.R. *Fungal glucans* // In: *Fungal cell wall: Structure, Synthesis, and Assembly*, 1991, vol. 1, pp. 59–88.
21. Unrod V.P., Lega Yu.G., Solodovnik T.V. *Novyye dostizheniya v issledovanii khitina i khitozana* [New advances in the study of chitin and chitosan], Moscow, 2001, pp. 58–61.
22. Muzzarelli R.A.A., Tanfani F., Scarpini G. *Biotechnology and Bioengineering*, 1980, vol. 22, pp. 885–896.
23. Berecochea-Lopez A., Decorde K., Ventura E., Godard M., Bornet A., Teissedre P.L., Cristol J.P., Rouane J.M. *J. Agric. Food Chem.*, 2009, vol. 57, pp. 1093–1098. DOI: 10.1021/jf803063v.

Received September 9, 2018

Revised September 18, 2018

Accepted September 21, 2018

For citing: Minakov D.V., Vereshchagin A.L., Morozhenko Yu.V., Bazarnova N.G. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*. 2019. no. 1. pp. 251–257. (in Russ.). DOI: 10.14258/jcprm.2019014368.

