ХИМИЯ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ. 2026. №3. С. 340–352.
KHIMIYA RASTITEL'NOGO SYR'YA, 2026, no. 3, pp. 340–352.
DOI: 10.14258/jcprm.20260319396

УДК 577.15:547.458

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА НЕСПЕЦИФИЧЕСКОГО ФЕРМЕНТАТИВНОГО ГИДРОЛИЗА ХИТОЗАН-ГЛЮКАНОВОГО КОМПЛЕКСА И ХИТОЗАНА ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ХИТООЛИГОСАХАРИДОВ И ОЦЕНКА ИХ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ*

© ***Е.С. Саврасов, Д.В. Минаков**, О.Н. Мусина***

Алтайский государственный технический университет им. И.И. Ползунова, пр. Ленина, 46, Барнаул, 656038, Россия, MinakovD-1990@yandex.ru

Статья посвящена сравнительной характеристике неспецифического ферментативного гидролиза хитозан-глюканового комплекса из высших грибов и хитозана из ракообразных для получения хитоолигосахаридов и оценке их физико-химических свойств. Объектами исследования являлись хитозан-глюкановый комплекс из плодовых тел *Ganoderma lucidum* и коммерческий хитозан, используемый для сравнительной оценки. Ферментативный гидролиз образцов проводили с использованием препарата «ЦеллоЛюкс-А» (целлюлолитическая активность – 6000 ед./см^3, ксиланазная активность – 1700 ед./см^3). Физико-химические свойства определяли методами вискозиметрии и потенциометрического титрования. В результате проведенных исследований разработаны технологические параметры ферментативной обработки хитозан-глюкановых комплексов и хитозана для получения хитоолигосахаридов: температура 55.0 °С; pH 5.5; концентрация ферментного препарата – от 1.2 до 1.4%; продолжительность процесса ферментативного гидролиза – 24–26 ч; концентрация раствора хитозан-глюканового комплекса и хитозана – 3.0%; растворитель – 1.0% водный раствор уксусной кислоты. Выход хитоолигосахаридов из хитозан-глюканового комплекса составил 78.4%, из хитозана – 94.5%. Установлено, что ферментативный гидролиз хитозан-глюканового комплекса препаратом «ЦеллоЛюкс-А» протекает по механизму, включающему гидролиз β-(1→4)-гликозидных связей у хитозана и β-(1→3)- и β-(1→6)-гликозидных связей у глюканов, приводящий к высвобождению хитозановой цепи из комплекса с последующим образованием низкомолекулярных фрагментов. Анализ ИК-спектров показал сохранение химической структуры мономерных звеньев хитоолигосахаридов при гидролизе и протекание реакции деполимеризации. Хитоолигосахариды из хитозана характеризовались высокими значениями характеристической вязкости (4.1 дл×г$^{-1}$), молекулярной массы (5.4 кДа) и степенью деацетилирования (91.5%), превышающими соответствующие показатели для хитоолигосахаридов из хитозан-глюканового комплекса на 7.9, 68.8 и 24.3% соответственно. Показано, что применение целлюлазы и ксиланазы вместо специфических ферментов (хитиназы и хитозаназы) позволяет снизить затраты на получение хитоолигосахаридов.

Ключевые слова: высшие грибы, хитозан, хитозан-глюкановый комплекс, хитоолигосахариды, физико-химические показатели, молекулярная масса, степень деацетилирования, характеристическая вязкость.

Для цитирования: Саврасов Е.С., Минаков Д.В., Мусина О.Н. Сравнительная характеристика неспецифического ферментативного гидролиза хитозан-глюканового комплекса и хитозана для получения хитоолигосахаридов и оценка их физико-химических свойств // Химия растительного сырья. 2026. №3. С. 340–352. https://doi.org/10.14258/jcprm.20260319396.

Введение

Хитин – второй по распространенности полисахарид в природе после целлюлозы. Хитин встречается в экзоскелете ракообразных, мидий и насекомых, а также в клеточной стенке грибов [1, 2]. Отходы от переработки ракообразных остаются основным источником его промышленного получения. Выделение хитина из насекомых также демонстрирует большие перспективы [3]. Однако наиболее перспективным источником хитина в последние десятилетия являются мицелий и плодовые тела высших базидиальных грибов,

*Данная статья имеет электронный дополнительный материал (приложение), который доступен читателям на сайте журнала. DOI: 10.14258/jcprm.20260319396s

** Автор, с которым следует вести переписку.

полученные биотехнологическим способом. Грибы как источник сырья для выделения хитина обладают преимуществами перед ракообразными – не содержат тропомиозина, легкой цепи миозина и аргининкиназы, которые, как известно, вызывают аллергические реакции; биотехнологический способ получения хитина из грибов позволяет контролировать его физико-химические свойства и непрерывное производство без привязки к рыбоперерабатывающим заводам; грибы содержат небольшое количество минеральных веществ, что упрощает стадию деминерализации [4]. В клеточной стенке грибов хитин находится в прочной ковалентной связи с β-1,3- и β-1,6-глюканами, образуя хитин-глюкановый комплекс [5].

Реакция деацетилирования хитина способствует получению хитозана. Хитин содержит в основном звенья N-ацетил-D-глюкозамина, тогда как хитозан состоит из D-глюкозамина. Единицы, образующие как хитин, так и хитозан, связаны β(1→4)-гликозидными связями [1].

Хитозан привлек внимание как функциональный биополимер благодаря своей катионной природе, биосовместимости, биоразлагаемости, нетоксичности и адсорбционным свойствам [6]. Его основными характеристиками являются молекулярная масса и степень деацетилирования, которые соответствуют молярным долям N-ацетил-D-глюкозамина и D-глюкозамина. Большинство коммерческих хитозанов имеют молекулярную массу в диапазоне от 50 до 2000 кДа, со средней степенью деацетилирования 50–95% (обычно 75–90%) [7]. В зависимости от молекулярной массы хитозан можно разделить на низкомолекулярный (<100 кДа), среднемолекулярный (100–1000 кДа) и высокомолекулярный (>1000 кДа) [8].

Высокие значения молекулярной массы и степени полимеризации (СП) хитозана приводят к низкой растворимости при нейтральном pH, что ограничивает его применение в пищевой, косметической, сельскохозяйственной, фармацевтической промышленности и медицине [9]. Поэтому для получения хитозана с более однородным размером молекул и растворимостью в водных растворах необходимо преобразовать хитозан в олигомеры. Хитозан со СП<20 и молекулярной массой менее 3.9 кДа называется хитоолигосахаридами (ХОС), хитозановыми олигомерами или хитоолигомерами. В зависимости от состава ХОС можно разделить на три различных типа (рис. 1) [10]: полностью ацетилированные ХОС (состоящие исключительно из остатков N-ацетил-D-глюкозамина), частично ацетилированные ХОС (образованные единицами D-глюкозамина и N-ацетил-D-глюкозамина) и полностью деацетилированные ХОС (состоящие только из остатков D-глюкозамина).

Олигомеры, полученные в результате гидролиза хитозана, можно классифицировать также на гомохитоолигосахариды, которые образуются исключительно из звеньев D-глюкозамина или N-ацетил-D-глюкозамина, а также гетерохитоолигосахариды, состоящие из звеньев D-глюкозамина и N-ацетил-D-глюкозамина с различными СД и СП [11]. Что касается растворимости, гетерохитоолигомеры со СП<10 считаются растворимыми в воде. При этом растворимость в воде со СП>10 зависит от степени деацетилирования и pH раствора [12].

Получение хитоолигосахаридов может осуществляться путем кислотного гидролиза [13], окислительного гидролиза [14], микроволнового воздействия [15], гамма-излучения [16] и ферментативных методов [17, 18]. Эти методы гидролиза позволяют получать ХОС с различной молекулярной массой, степенью деацетилирования и степенью полимеризации.

Гидролиз хитозана, катализируемый ферментами, является более специфичным по сравнению с другими типами гидролиза. Специфичность позволяет лучше контролировать степень реакции и размер получаемого олигомера [19]. Ферменты действуют специфически в реактивных участках, либо внутренне фрагментируя молекулу, либо действуя с одного конца, последовательно высвобождая мономеры или димеры [20].

Хитозаназы – это специфические ферменты, предназначенные для гидролиза хитозана. Однако эти ферменты имеют ограниченную коммерческую доступность, в частности, из-за высокой стоимости, что ограничивает их промышленное применение [19, 21]. Поэтому в качестве более доступной альтернативы исследуются другие коммерческие ферменты, способные гидролизовать хитозан (табл. 1). Эти открытия позволяют разработать эффективные и экономически выгодные промышленные процессы гидролиза хитозана.

Глобальный интерес к продуктам гидролиза хитозана неуклонно растет. Хитоолигосахариды обладают огромным биотехнологическим потенциалом в различных отраслях промышленности из-за широкого спектра биологической активности – антибактериальной, антиоксидантной, противовоспалительной, иммуномодулирующей и др. Однако эти свойства зависят от химической структуры ХОС, в частности от молекулярной массы, степени деацетилирования и степени полимеризации. Понимание того, как работают ферменты, которые гидролизуют хитозан до ХОС, имеет важное значение для их биотехнологического

производства и применения. Правильный выбор исходного сырья и фермента позволит проводить направленный синтез в сторону определенного типа олигосахаридов хитозана.

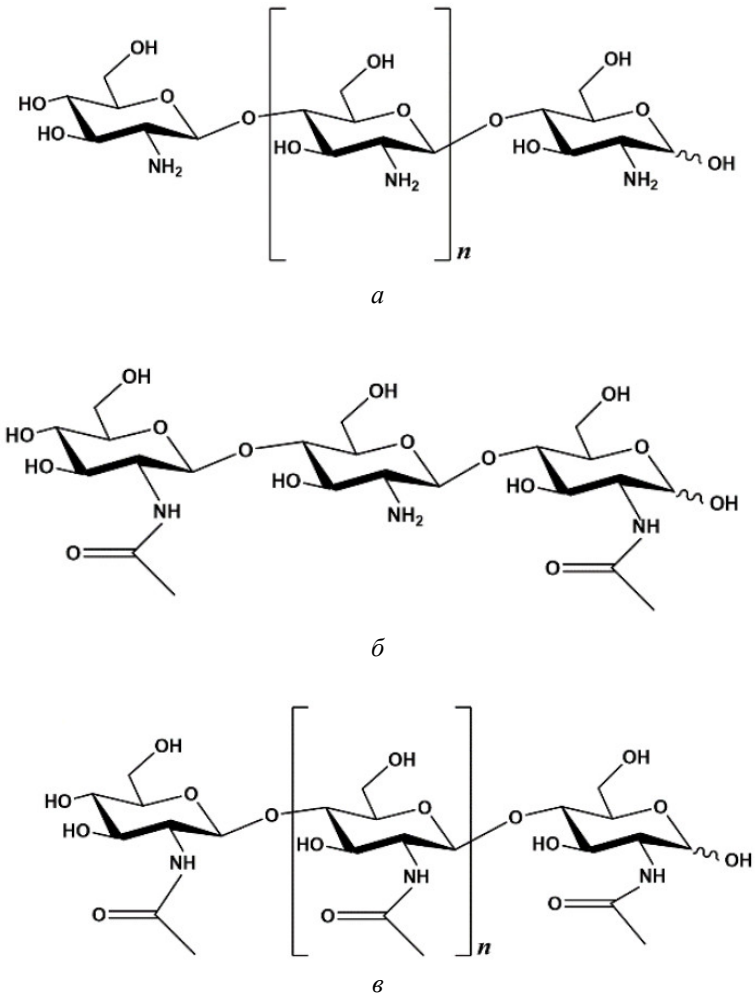
Цель работы – сравнительная характеристика неспецифического ферментативного гидролиза хитозан-глюканового комплекса из биомассы высших грибов *Ganoderma lucidum* и хитозана из ракообразных для получения хитоолигосахаридов и оценка их физико-химических свойств.

Экспериментальная часть

В качестве объектов исследования использовались культивируемые высшие базидиальные грибы *Ganoderma lucidum* – источник для получения хитозан-глюканового комплекса и хитоолигосахаридов; коммерческий хитозан (Изготовитель: Orison Chemicals Limited, Китай); ферментный препарат – «ЦеллоЛюкс-А» (ООО ПО «Сиббиофрам», Бердск).

Для получения хитозан-глюкановых комплексов (ХтзГК) использовали хитин-глюкановый комплекс, выделенный из плодовых тел грибов *Ganoderma lucidum*. Получение ХтзГК проводили по методике, ранее описанной в работе [34].

Дополнительную очистку хитозана и ХтзГК перед ферментативным гидролизом осуществляли следующим образом. Образцы хитозана и ХтзГК (20 г) растворяли в 1 дм^3 1% раствора уксусной кислоты. После фильтрации при пониженном давлении к фильтрату добавляли водный раствор 1 М NaOH для получения осадка. Осадок многократно промывали дистиллированной водой до достижения pH промывной воды около 7. Затем добавляли безводный изопропиловый спирт (200 см^3) для удаления небольшого количества пигмента из хитозана и ХтзГК. После этого осадок высушивали в вакуумном сушильном шкафу. Очищенные хитозан и ХтзГК измельчали до порошкообразного состояния (10–50 мкм).



а

б

в

Рис. 1. Типы хитоолигосахаридов: *а*) полностью деацетилированные; *б*) частично ацетилированные; *в*) полностью ацетилированные [10]

Таблица 1. Систематизация данных о параметрах гидролиза хитозана коммерческими ферментами

Фермент	Концентрация фермента	Концентрация раствора хитозана	Растворитель	pH	Температура, °C	Время	ММ/СП	Ссылка
Целлюлаза	10 Ед/г хитозана	1%	Ацетат натрия 0.5 М	5.2	55	1–24 ч	2.2–156 кДа	[22]
Неочищенная хитиназа в постферментационной жидкости	20%	1%	Фосфатный буфер 0.05 М	5.0	37	1-24 ч	1–6 СП	[23]
Пепсин + папаин	4%	1%	Ацетат натрия 0.2 М	4.8	50	1–24 ч	0.6–150 кДа	[18]
Целузим® ХВ (целлюлаза/ксиланаза/ β-глюканаза)	0.1–2.5×10^{-3} мг/см^3	0.5%	Уксусная кислота / ацетат натрия 0.2 М	3.5–6.5	25–75	25–250 мин	64–152 кДа	[20]
Хитозаназы, целлюлазы, гемицеллюлаза, папаин, бромелайн, пепсин, протеаза типа XIV, лизоцим и липаза А	0.1–10%; 5–20%	1%; 0.5–4%	Ацетат натрия 0.1 М; уксусная кислота 0.1 М	3.0–5.0; 2.0–6.0	30–50; 40–60	5 мин – 24 ч	1.13–85.8 кДа	[19, 24]
Пектиназа + целлюлаза + папаин	15+15+2 %	2%	Фосфатный буфер 1 М	5.3	39	24 ч	14.6–34 кДа	[25]
Целлюлаза	10 Ед/г хитозана	–	Ацетат и бикарбонат натрия 0.5 М	5.2	55	1–18 ч	3.3–156 кДа	[26]
Папаин / лизозим / целлюлаза	0.003%	1%	Ацетат натрия 0.1 М	4.0	40/30/37	1–16 ч	4.3–800 кДа	[27]
Хитиназа, целлюлаза или лизозим	10%	2.2%	Ацетат натрия 0.1 М	4.0	42	1–180 ч	6–38 кДа	[28]
Целлюлаза	0.5 см^3	1%	Ацетат натрия 0.02 М	5.2	60	0.5–12 ч	2–4 ДП	[29]
Папаин	0.08–0.12 г/г хитозана	6–10 г/дм^3	Ацетат натрия 0.2 М	4.0–5.0	40–50	15–120 мин	35–155 кДа	[30]
Хитозаназа	1.5 Ед/см^3	1%	Ацетат натрия 0.02 М	5.5	30	0.5–6 ч	2–7 ДП	[31]
Целлюлаза	10 Ед/г хитозана	4.5%	Уксусная кислота и бикарбонат 0.5 М	5.2	55	18 ч	12 кДа/ 2–8 ДП	[32]
Целлюлаза	20%	5%	Уксусная кислота 1%	5.6	50	24 ч	3–11 ДП	[33]

Примечание. Концентрации ферментов приведены в тех единицах, которые указаны в оригинальных работах. Пересчет в единую размерность (например, % или г/г) невозможен из-за отсутствия в цитируемых источниках данных об удельной активности препаратов, молекулярной массе ферментов и плотности растворов.

Ферментативный гидролиз хитозана и ХтзГК для получения хитоолигосахаридов проводили по следующей методике. Раствор хитозана готовят путем диспергирования 3.00 г хитозана/ХтзГК в 20 см^3 воды, растворения в 12 см^3 5% уксусной кислоты и доведения объема до 60 см^3 водой. Значение pH полученного раствора хитозана/ХтзГК доводят до pH 5.50 с помощью NaOH. Добавляют раствор ферментного комплекса целлюлазы (6000 ед./см^3) и ксиланазы (1700 ед./см^3) в количестве, обеспечивающем концентрацию от 0.8 до 2.0% от объема реакционной смеси, и инкубируют смесь в течение 24–26 ч при температуре 55±2 °C. Реакцию останавливают кипячением в течение 10 минут для денатурации ферментов, которые затем удаляют фильтрацией. Фильтрат концентрируют примерно до 1/20 на роторном испарителе при пониженном давлении. Затем добавляют достаточное количество спирта. Выход полученных образцов определяют гравиметрически.

Содержание редуцирующих сахаров в процессе гидролиза хитозан-глюкановых комплексов и хитозана проводили методом с динитросалициловой кислотой [35].

ИК-спектры регистрировали на приборе фурье-спектрометр инфракрасный «Инфралюм ФТ-801» (ООО НПФ «СИМЕКС», Россия).

Определение характеристической вязкости и молекулярной массы осуществляли вискозиметрическим методом. Для растворения хитозана и ХтзГК в качестве растворителя применяли водный раствор 1% уксусной кислоты, для растворения хитоолигосахаридов – дистиллированную воду. Для проведения расчетов литературные значения констант K и α, составляют 1.81×10^{-4} и 0.93 соответственно. Характеристическую вязкость (ХВ) растворов хитозана, ХтзГК и хитоолигосахаридов определяли в модифицированном вискозиметре Убеллоде (СКБ «Пущино», Россия) с диаметром капилляра 0.3 мм при 25 °C (точность измерения ±0.1 с). Значения характеристической вязкости рассчитывали двойной графической экстраполяцией зависимости $\ln\eta_{отн}/C$ от бесконечного разбавления [34].

Степень деацетилирования (СД) определяли методом потенциометрического титрования, описанным в работе [34].

Для статистической обработки данных использованы пакеты анализа Microsoft Excel 2021 (Microsoft, США). Эксперименты проводились в трех повторностях. Различия между средними значениями считали статистически значимыми при p-value <0.05.

Обсуждение результатов

Целлюлаза представляет собой сложную ферментативную систему, ответственную за расщепление целлюлозных веществ до глюкозы. В настоящее время принято считать, что целлюлолитическая система классифицируется по трем типам гидролитической активности: (1) эндо-1,4-β-глюканазы, которые расщепляют внутренние β-1,4-гликозидные связи, (2) экзо-1,4-β-D-глюканазы, также называемые 1,4-β-D-целлобиогидролазами, которые отщепляют дисахарид целлобиозу от невосстанавливающего конца целлюлозной цепи, и (3) 1,4-β-D-гликозидазы, которые затем гидролизуют целлобиозу и другие короткие целлоолигосахариды до глюкозы. Известны работы, посвященные гидролизующим свойствам целлюлазы на хитозане [20, 22, 32, 33]. Показано, что хитозан может подвергаться биотрансформации до хитоолигосахаридов со степенью полимеризации от 3 до 11 за счет воздействия целлюлазы, что является перспективным направлением, в первую очередь, с экономической точки зрения. Стоимость целлюлазы значительно ниже стоимости вышепредставленных ферментов [24]. Предполагаем, что препарат «ЦеллоЛюкс-А» имеет побочную β-глюканазную активность, которая будет интенсифицировать расщепление разветвленного β-(1→3/1→6)-D-глюкана, опосредованно увеличивая степень деполимеризации хитозан-глюканового комплекса.

Для ферментативного гидролиза хитозана и хитозан-глюканового комплекса использовали коммерческий ферментный препарат «ЦеллоЛюкс-А» (ксиланазная активность – 1700 ед./см^3, целлюлолитическая активность – 6000 ед./см^3). Степень гидролиза хитозансодержащего сырья зависит от многих технологических параметров: температуры, кислотности среды, концентрации вносимого фермента и продолжительности процесса. Влияние температуры на активность фермента связано с двумя установленными термическими параметрами. Первый – это энергия активации Аррениуса, которая связана с влиянием температуры на каталитическую реакцию. Второй – это термическая стабильность, которая показывает влияние температуры на термическую инактивацию [21]. Идеальное значение скорости гидролиза зависит от типа фермента. Согласно экспериментальным данным, представленным в работе [20], оптимальный диапазон температуры для высокой активности целлюлазы и ксиланазы составляет от 40 до 60 °C. Производителем препарата «ЦеллоЛюкс-А» (ООО ПО «Сиббиофарм», г. Бердск) также указана оптимальная температура 50–60 °C работы фермента с максимальной активностью. На основании представленных данных исследования по проведению ферментативного гидролиза хитозан-глюканового комплекса и хитозана проводили при 55±2 °C.

Стабильность и функциональность фермента зависят от его пространственной структуры. Известно, что кислотность среды (pH) может модифицировать структуру фермента [14]. Связи, составляющие третичную структуру фермента, изменяются, что препятствует эффективному выполнению его каталитической функции. Таким образом, pH влияет на активность фермента, при этом оптимальное значение или диапазон pH зависит от типа фермента, используемого в гидролизе.

При обработке образцов хитозана и хитозан-глюканового комплекса препаратом «ЦеллоЛюкс-А» установлено, что при pH выше 6.5 наблюдается низкая растворимость образцов, реакция протекает в гетерогенной системе, что затрудняет ферментативный гидролиз. Для обеспечения гомогенных условий pH регулировали в диапазоне от 4.0 до 6.5. Результаты исследований показали, что оптимальным значением pH для максимальной активности ферментного комплекса препарата «ЦеллоЛюкс-А» является значение 5.5.

При pH ниже 4.5 и выше 6.0 ферментативная активность значительно снижалась. Это связано с тем, что ферменты состоят из амфотерных белковых компонентов, для которых значение pH влияет не только на стабильность молекулярной структуры, но и на ионизацию функциональных групп. Кроме того, pH влияет на растворимость и ионизацию хитозан-глюканового комплекса и хитозана, что отражается на взаимодействии фермента с субстратом и, как следствие, на каталитической активности. Таким образом, при pH 5.5 комплекс ферментов препарата «ЦеллоЛюкс-А» обеспечивает наиболее эффективное расщепление хитозан-глюканового комплекса и хитозана (рис. 2).

Скорость ферментативной реакции также зависит от концентрации фермента и субстрата (хитозана, хитозан-глюканового комплекса). В эксперименте концентрация хитозан-глюканового комплекса и хитозана были постоянными и составляли 3%, тогда как концентрация ферментов препарата «ЦеллоЛюкс-А» изменялась от 0.8 до 2.0%. Продолжительность ферментативного гидролиза для всех образцов составляла от 1 до 26 ч. В процессе проведения гидролиза измеряли концентрацию редуцирующих сахаров. В результате проведенных исследований установлено, что при увеличении количества ферментного препарата «ЦеллоЛюкс-А» до 2% в 3%-ных растворах ХтзГК и хитозана относительная концентрация редуцирующих сахаров возрастала. При добавлении ферментов «ЦеллоЛюкс-А» свыше 2.0% дальнейшее увеличение концентрации редуцирующих сахаров не наблюдалось (рис. 3).

В результате проведенных исследований установлена продолжительность процесса гидролиза ферментами «ЦеллоЛюкс-А» для хитозана – 24 ч, для ХтзГК – 26 ч. После проведения реакции свыше 26 ч для ферментов «ЦеллоЛюкс-А» содержание редуцирующих сахаров изменялось незначительно. Можно сделать предположение, что ферменты гидролизуют β-(1→4)-гликозидные связи у хитозана (за счет целлюлазы) и β-(1→3)- и β-(1→6)-гликозидные связи у глюканов (вероятно, за счет присутствия побочной β-глюканазной активности в препарате) случайным образом, разрушая внутренние связи в полимерах. Это приводит к структурному «разрыхлению» супрамолекулярной матрицы, ослаблению межмолекулярных водородных и электростатических взаимодействий и повышению доступности внутренних полисахаридных цепей. Вследствие деструкции глюканов хитозановые цепи высвобождаются из комплекса, что в сочетании с неспецифической гликозидазной активностью препарата «ЦеллоЛюкс-А» обеспечивает частичную деполимеризацию хитозана. Совместное действие ферментов препарата обеспечивает увеличение степени гидролиза за счет классического синергетического эффекта, при котором разрушение периферийных структур многократно ускоряет доступ к центральным участкам хитозан-глюканового комплекса. При достижении определенной концентрации олигосахаридов наблюдается ингибирование активности ферментов, что ограничивает дальнейшее разложение и приводит к остановке ферментативного гидролиза. Полученные данные согласуются с работами, где показана способность коммерческих целлюлаз гидролизовать хитозан [20, 22, 26, 29, 32, 33].

По результатам проведенных исследований определены рациональные параметры обработки хитозан-глюкановых комплексов и хитозана ферментами коммерческого препарата «ЦеллоЛюкс-А», приведенные в таблице 2.

На основании вышеизложенных результатов разработана блок-схема получения хитоолигосахаридов из хитозана ракообразных и хитозан-глюкановых комплексов, полученных из биомассы высших грибов *G. lucidum* (рис. 4).

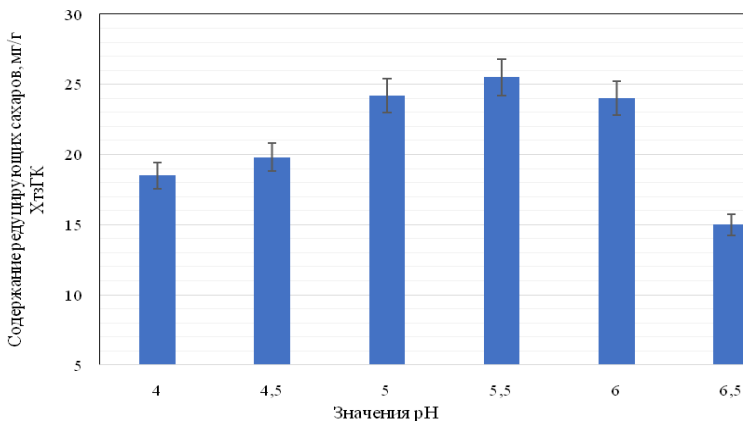


Рис. 2. Содержание редуцирующих сахаров при гидролизе 3% раствора хитозан-глюканового комплекса ферментным препаратом «ЦеллоЛюкс-А»

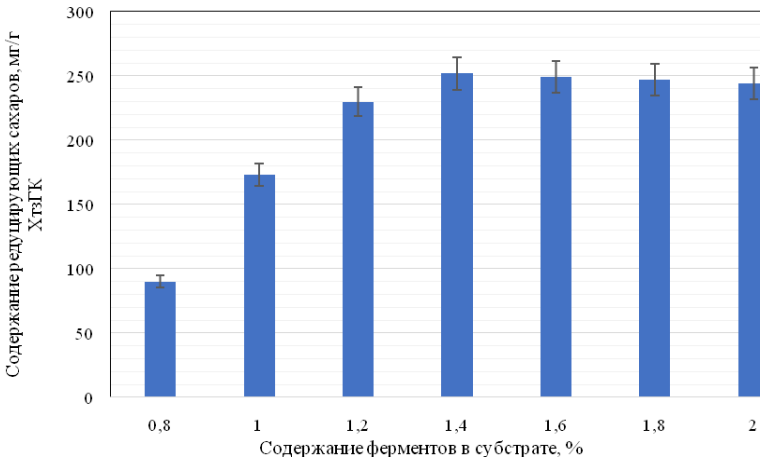


Рис. 3. Содержание редуцирующих сахаров в зависимости от концентрации ферментного препарата «ЦеллоЛюкс-А» в 3% растворе хитозан-глюканового комплекса

Таблица 2. Рациональные параметры обработки хитозан-глюкановых комплексов и хитозана ферментами коммерческого препарата «ЦеллоЛюкс-А»

Показатели	Хитозан-глюкановый комплекс	Хитозан
Температура, °С	55.0±2.0	55.0±2.0
pH	5.5±0.2	5.5±0.2
Концентрация раствора хитозана/ХтзГК, %	3.0	3.0
Растворитель	1% раствор уксусной кислоты	1% раствор уксусной кислоты
Концентрация фермента, %	1.4±0.1	1.2±0.1
Продолжительность процесса ферментативного гидролиза, ч	26	24
Выход ХОС, % от хитозана	78.4±1.3	94.5±1.6

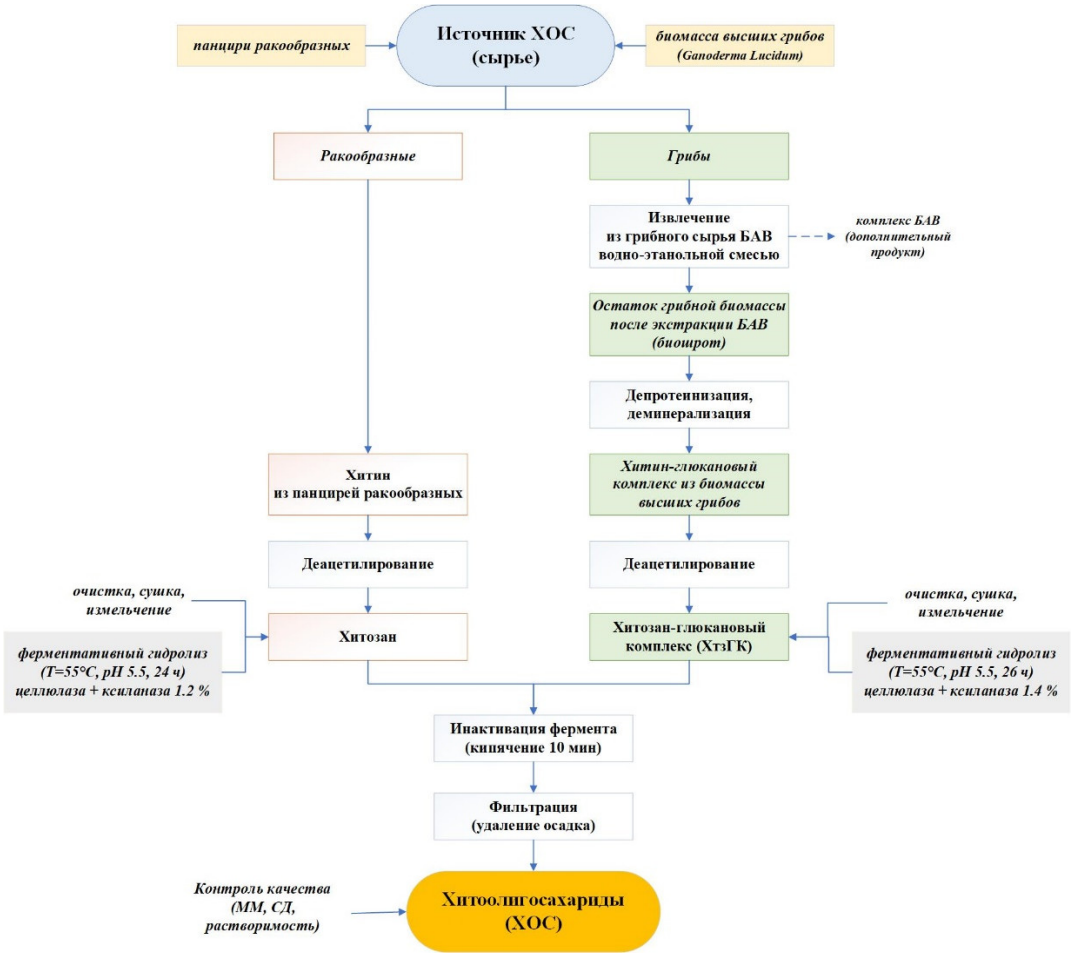


Рис. 4. Схема получения хитоолигосахаридов из хитозан-глюканового комплекса и хитозана

Согласно разработанной схеме для получения ХОС может использоваться как хитозан, полученный из ракообразных, так и хитозан-глюкановый комплекс из биомассы высших грибов.

Ферментативный гидролиз ХтзГК и хитозана проводился в течение 24–26 ч при температуре 55 °С, pH 5.5 и использовании 1.2% раствора ферментного комплекса целлюлазы и ксиланазы. Установлено, что ферментный комплекс оказывает значительное влияние на деполимеризацию ХтзГК и хитозана. После 24- и 26-часового инкубирования полимеров с целлюлазой и ксиланазой из реакционной смеси отбирали образец, в который при перемешивании добавляли щелочной раствор (1 М NaOH). Отсутствие образования осадка свидетельствовало о деполимеризации хитозана с образованием низкомолекулярных олигомеров. Полученные результаты подтверждаются данными работы [33], в которой в масс-спектрах гидролизатов обнаружены пики, соответствующие массовым числам $(M + Na)^+$ тримера тетрадекасахарида. Продукты реакции представлены преимущественно хитоолигосахаридами с преобладанием фракций со степенью полимеризации 3–11.

Таким образом, проведенные исследования показывают перспективность использования ферментного препарата «ЦеллоЛюкс-А» при получении ХОС как из хитозана ракообразных, так и из хитозан-глюкановых комплексов высших грибов. Для получения ХОС целесообразно использовать коммерческий фермент «ЦеллоЛюкс-А» из-за его доступности и относительно низкой стоимости на рынке.

Полученные образцы ХОС были подвергнуты ИК-спектроскопическому анализу (рис. 1 и 2 электронного приложения). ИК-спектры полученных хитоолигосахаридов сравнивали со спектрами хитозана и хитозан-глюкановых комплексов, представленных в ранее опубликованной работе [5].

В спектре ХОС из хитозана наблюдается классический набор полос, соответствующий β-(1→4)-связанному поли-D-глюкозамину с остаточной N-ацетилированностью (Амид I ~1655 $см^{-1}$, Амид II ~1590 $см^{-1}$, ν(C-O-C) ~1155/1080 $см^{-1}$). Для продукта гидролиза ХтзГК характерно смещение максимума полосы валентных колебаний O-H/N-H в низкочастотную область (~3430–3450 $см^{-1}$), снижение относительной интенсивности амидной зоны и появление дополнительных максимумов в диапазоне 1070–1040 $см^{-1}$, а также плеч при ~890 и ~770 $см^{-1}$. Эти изменения указывают на присутствие в образце глюкановых олигосахаридных фрагментов с β-(1→3)- и β-(1→6)-гликозидными связями, а также на модификацию системы водородных связей при разрушении супрамолекулярной матрицы комплекса. Полученные данные согласуются с гипотезой о синергетическом действии мультиферментного препарата «ЦеллоЛюкс-А», при котором преимущественный гидролиз глюкановой фракции обеспечивает структурное разрыхление ХтзГК и косвенное высвобождение хитозановых цепей, что приводит к формированию олигомерного продукта смешанного полисахаридного состава.

Физико-химические свойства образцов хитозана, ХтзГК и полученных из них ХОС, представлены в таблице 3.

Результаты исследований продемонстрировали, что выход ХОС из хитозана превышал выход ХОС из ХтзГК на 16.1%. Более низкий выход ХОС из ХтзГК по сравнению с хитозаном является закономерным следствием гетерогенного состава исходного грибного сырья (наличие ковалентно связанных глюканов), его более сложной надмолекулярной организации, меньшей степени деацетилирования и возможного конкурентного ингибирования продуктами гидролиза глюканов. Указанные факторы согласуются с экспериментальными данными, приведенными в таблицах 2 и 3, а также с механизмом ферментативного гидролиза. В ходе исследования физико-химических свойств хитозана, хитозан-глюкановых комплексов и хитоолигосахаридов установлено, что наибольшими показателями характеристической вязкости (44.5 $дл \times г^{-1}$), молекулярной массы (113.6 кДа) и степени деацетилирования (88.2%) обладает коммерческий хитозан. При проведении сравнительной оценки с ХтзГК из биомассы грибов выявлены значительные отличия по этим показателям. У ХтзГК значения ХВ, ММ и СД ниже на 53, 60 и 24%. Следует отметить, что оценка ММ по вискозиметрии с использованием констант Марка-Хаувинка для хитозана применима к образцам ХтзГК и продуктам его гидролиза лишь ориентировочно, поскольку эти константы не валидны для хитозан-глюкановых полимеров. Для точного определения ММ и степени полимеризации требуется дополнительный анализ. Физико-химические свойства ХОС из хитозана и ХтзГК также отличались. Значения ХОС из хитозана превышали значения ХОС из ХтзГК по ХВ на 7.9%, ММ на 68.8% и СД на 24.3%.

Таблица 3. Физико-химические свойства образцов хитозана, ХтзГК и полученных из них ХОС

Образец	Характеристическая вязкость, дл×г$^{-1}$	Молекулярная масса, кДа	Степень деацетилирования, %
ХОС из ХтзГК	3.8±0.2	3.2±0.3	73.6±3.4
ХОС из хитозана	4.1±0.3	5.4±0.6	91.5±2.9
ХтзГК	20.8±2.1	45.4±2.1	66.7±2.3
Хитозан	44.5±1.9	113.6±4.2	88.2±3.1

Таким образом, на основании проведенных исследований разработаны технологические параметры и схема получения хитоолигосахаридов из хитозан-глюканового комплекса высших грибов *G. lucidum* и коммерческого хитозана из ракообразных. Сравнительный анализ ИК-спектров полученных образцов хитоолигосахаридов показал протекание реакции деполимеризации хитозансодержащего сырья с использованием ферментного препарата «ЦеллоЛюкс-А». Установленные физико-химические свойства хитоолигосахаридов позволяют их рекомендовать в качестве эффективных пребиотиков. Представленные в данной работе ХОС из грибного сырья, наряду с ХОС из хитозана ракообразных, могут рассматриваться как основа для создания функциональных пищевых продуктов. Требуются дальнейшие исследования *in vitro/in vivo* для подтверждения их пребиотической эффективности.

Выводы

1. Разработаны технологические параметры и схема получения хитоолигосахаридов из хитозан-глюкановых комплексов высших грибов и хитозана ракообразных с применением коммерческого ферментного препарата «ЦеллоЛюкс-А», обладающего целлюлазной (6000 ед./см^3) и ксиланазной (1700 ед./см^3) активностью. Установлено, что наиболее рациональными параметрами ферментативной обработки хитозан-глюкановых комплексов и хитозана являются: температура 55.0 °С; pH 5.5; концентрация ферментного препарата от 1.2 до 1.4%; продолжительность процесса ферментативного гидролиза – 24–26 ч; концентрация раствора хитозан-глюканового комплекса и хитозана – 3.0%; растворитель – 1.0% водный раствор уксусной кислоты. Выход хитоолигосахаридов из хитозан-глюканового комплекса составил 78.4%, из хитозана – 94.5%. Установлено, что ферментативный гидролиз хитозан-глюканового комплекса препаратом «ЦеллоЛюкс-А» протекает по механизму, включающему гидролиз β-(1→4)-гликозидных связей у хитозана (за счет неспецифического гидролиза целлюлазой) и β-(1→3)- и β-(1→6)-гликозидных связей у глюканов (вероятно, за счет присутствия побочной β-глюканазной активности в препарате), приводящий к высвобождению хитозановой цепи из комплекса с последующим образованием низкомолекулярных фрагментов. Показано, что обработка препаратом «ЦеллоЛюкс-А» хитозансодержащих субстратов является экономически выгодной альтернативой использованию специфических, дорогостоящих ферментов (хитиназы и хитозаназы), недоступных для промышленного получения хитоолигосахаридов. Полученные результаты открывают перспективу для масштабирования технологии получения хитоолигосахаридов с заданными функциональными свойствами.

2. Проведен сравнительный анализ ИК-спектров полученных хитоолигосахаридов. Различия в интенсивности и положении полос между хитозан-глюкановым комплексом, хитозаном и хитоолигосахаридами свидетельствуют о протекании реакции деполимеризации. Наличие основных характеристических полос подтверждают сохранение химической структуры мономерных звеньев при гидролизе. Снижение относительной интенсивности амидной зоны и появление дополнительных максимумов в диапазоне 1070–1040 см$^{-1}$ указывает на изменение системы водородных связей при переходе от высокомолекулярных хитозана и хитозан-глюканового комплекса к олигомерам. Небольшие различия в интенсивности пиков могут указывать на разную степень полимеризации или степень деацетилирования образцов хитоолигосахаридов.

3. Исследованы физико-химические свойства полученных образцов хитозан-глюкановых комплексов, хитозана и хитоолигосахаридов. Установлено, что хитоолигосахариды, полученные из хитозана, характеризуются более высокими показателями характеристической вязкости (4.1 дл×г$^{-1}$), молекулярной массы (5.4 кДа) и степени деацетилирования (91.5%), что превышает соответствующие значения для хитоолигосахаридов из хитозан-глюканового комплекса грибов *Ganoderma lucidum* на 7.9, 68.8 и 24.3% соответственно. Изменение физико-химических характеристик хитозансодержащих субстратов подтверждает эффективность процесса деполимеризации.

Дополнительная информация
В электронном приложении к статье (DOI: https://www.doi.org/10.14258/jcprm.20260319396s) приведен дополнительный экспериментальный материал, раскрывающий основные положения, изложенные в статье.

Финансирование
Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования РФ № 075-03-2024-105 (тема № FZMM-2024-0003, рег. № НИОКТР 124013000666-5).

Конфликт интересов
Авторы данной работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

Открытый доступ
Эта статья распространяется на условиях международной лицензии Creative Commons Attribution 4.0 (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), которая разрешает неограниченное использование, распространение и воспроизведение на любом носителе при условии, что вы предоставите соответствующие ссылки на автора(ов), источник и Лицензию Creative Commons и укажете, были ли внесены изменения.

Список литературы

1. Gonçalves C., Ferreira N., Lourenço L. Production of Low Molecular Weight Chitosan and Chitooligosaccharides (COS): A Review // Polymers. 2021. Vol. 13. Article 2466. https://doi.org/10.3390/polym13152466.
2. Vo T.-S., Ngo D.-H., Kang K.-H., Jung W.-K., Kim S.-K. The beneficial properties of marine polysaccharides in alleviation of allergic responses // Molecular Nutrition & Food Research. 2014. Vol. 59. Pp. 129–138. https://doi.org/10.1002/mnfr.201400412.
3. Hahn T., Tafi E., Paul A., Salvia R., Falabella P., Zibek S. Current state of chitin purification and chitosan production from insects // Journal of Chemical Technology and Biotechnology. 2020. Vol. 95. Pp. 2775–2795. https://doi.org/10.1002/jctb.6533.
4. Alimi B.A., Pathania S., Wilson J., Duffy B., Frias J.M.C. Extraction, quantification, characterization, and application in food packaging of chitin and chitosan from mushrooms: A review // International Journal of Biological Macromolecules. 2023. Vol. 237. Article 124195. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.124195.
5. 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. https://doi.org/10.14258/jcprm.20230112519.
6. Thakur V.K., Thakur M.K. Recent advances in graft copolymerization and applications of chitosan: A review // ACS Sustainable Chemistry & Engineering. 2014. Vol. 2. Pp. 2637–2652. https://doi.org/10.1021/sc500634p.
7. Mourya V.K., Inamdar N.N., Choudhari Y.M. Chitooligosaccharides: Synthesis, characterization and applications // Polymer Science, Series A. 2011. Vol. 53. Pp. 583–612. https://doi.org/10.1134/S0965545X11070066.
8. Santoso J., Adiputra K.C., Soerdirga L.C., Tarman K. Effect of acetic acid hydrolysis on the characteristics of water-soluble chitosan // IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. 2020. Vol. 414. Article 012021. https://doi.org/10.1088/1755-1315/414/1/012021.
9. Xia W., Liu P., Zhang J., Chen J. Biological activities of chitosan and chitooligosaccharides // Food Hydrocolloids. 2011. Vol. 25. Pp. 170–179. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2010.03.003.
10. Miguez N., Kidibule P., Santos-Moriano P., Ballesteros A.O., Fernandez-Lobato M., Plou F.J. Enzymatic Synthesis and Characterization of Different Families of Chitooligosaccharides and Their Bioactive Properties // Applied Sciences. 2021. Vol. 11. Article 3212. https://doi.org/10.3390/app11073212.
11. Roman D.L., Roman M., Som C., Schmutz M., Hernandez E., Wick P., Casalini T., Perale G., Ostafe V., Isvoran A. Computational assessment of the pharmacological profiles of degradation products of chitosan // Frontiers in Bioengineering and Biotechnology. 2019. Vol. 7. Article 214. https://doi.org/10.3389/fbioe.2019.00214.
12. Liaqat F., Eltem R. Chitooligosaccharides and their biological activities: A comprehensive review // Carbohydrate Polymers. 2018. Vol. 184. Pp. 243–259. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.12.067.
13. Li D.-D., Tao Y., Shi Y.-N., Han Y.-B., Yang N., Xu X.-M. Effect of re-acetylation on the acid hydrolysis of chitosan under an induced electric field // Food Chemistry. 2020. Vol. 309. Article 125767. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125767.
14. Xing R., Liu Y., Li K., Yu H., Liu S., Yang Y., Chen X., Li P. Monomer composition of chitooligosaccharides obtained by different degradation methods and their effects on immunomodulatory activities // Carbohydrate Polymers. 2017. Vol. 157. Pp. 1288–1297. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.11.001.
15. He Y., Zhang M., Shan M., Zeng P., Li X., Hao C., Dou H., Yang D., Feng N., Zhang L. Optimizing microwave-assisted hydrolysis conditions for monosaccharide composition analyses of different polysaccharides // International Journal of Biological Macromolecules. 2018. Vol. 118. Pp. 327–332. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.06.077.
16. Mahmud M., Naziri M.I., Yacob N., Talip N., Abdullah Z. Degradation of chitosan by gamma ray with presence of hydrogen peroxide // AIP Conference Proceedings. 2014. Vol. 1584. Pp. 136–140. https://doi.org/10.1063/1.4866119.
17. El-Sayed S.T., Ali A.M., Omar N.I. A comparative evaluation of antimicrobial activity of chitooligosaccharides with broad spectrum antibiotics on growth of some pathogenic microorganisms // Biocatalysis and Agricultural Biotechnology. 2019. Vol. 22. Article 101382. https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101382.

18. Xu W., Mohan A., Pitts N.L., Udenigwe C., Mason B. Bile acid-binding capacity of lobster shell-derived chitin, chitosan and chitooligosaccharides // Food Bioscience. 2020. Vol. 33. Article 100476. https://doi.org/10.1016/j.fbio.2019.100476.
19. Roncal T., Oviedo A., Armentia I.L., Fernández L., Villarán M.C. High yield production of monomer-free chitosan oligo-saccharides by pepsin catalyzed hydrolysis of a high deacetylation degree chitosan // Carbohydrate Research. 2007. Vol. 342. Pp. 2750–2756. https://doi.org/10.1016/j.carres.2007.08.023.
20. Ruangwicha J., Cheirsilp B., Suyotha W. Green biorefinery of shrimp shell waste for α-chitin and high-value co-products through successive fermentation by co-lactic acid bacteria and proteolytic fungus // Bioresource Technology. 2024. Vol. 393. Article 130106. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2023.130106.
21. Kaczmarek M.B., Struszczyk-Swita K., Li X., Szczęsna-Antczak M., Daroch M. Enzymatic Modifications of Chitin, Chitosan, and Chitooligosaccharides // Frontiers in Bioengineering and Biotechnology. 2019. Vol. 7. Article 243. https://doi.org/10.3389/fbioe.2019.00243.
22. Chang S.-H., Wu C.-H., Tsai G.-J. Effects of chitosan molecular weight on its antioxidant and antimutagenic properties // Carbohydrate Polymers. 2018. Vol. 181. Pp. 1026–1032. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.11.047.
23. Liang T.-W., Chen Y.-J., Yen Y.-H., Wang S.-L. The antitumor activity of the hydrolysates of chitinous materials hydrolyzed by crude enzyme from Bacillus amyloliquefaciens V656 // Process Biochemistry. 2007. Vol. 42. Pp. 527–534. https://doi.org/10.1016/j.procbio.2006.10.005.
24. Naveed M., Phil L., Sohail M. et al. Chitosan oligosaccharide (COS): an overview // International Journal of Biological Macromolecules. 2019. Vol. 129. Pp. 827–843. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.01.192.
25. Tishchenko G., Šimunek J., Brus J., Netopilík M., Pekárek M., Walterová Z., Koppová I., Lenfeld J. Low-molecular-weight chitosans: Preparation and characterization // Carbohydrate Polymers. 2011. Vol. 86. Pp. 1077–1081. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.04.073.
26. Chang S.-H., Lin H.-T.V., Wu G.-J., Tsai G.J. pH Effects on solubility, zeta potential, and correlation between antibacterial activity and molecular weight of chitosan // Carbohydrate Polymers. 2015. Vol. 134. Pp. 74–81. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.07.072.
27. Laokuldilok T., Potivas T., Kanha N., Surawang S., Seesuriyachan P., Wangtueai S., Phimolsiripol Y., Regenstein J.M. Physicochemical, antioxidant, and antimicrobial properties of chitooligosaccharides produced using three different enzyme treatments // Food Bioscience. 2017. Vol. 18. Pp. 28–33. https://doi.org/10.1016/j.fbio.2017.03.004.
28. Lin S.-B., Lin Y.-C., Chen H.-H. Low molecular weight chitosan prepared with the aid of cellulase, lysozyme and chitinase: Characterisation and antibacterial activity // Food Chemistry. 2009. Vol. 116. Pp. 47–53. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.02.002.
29. Liu J., Xia W.S. Purification and characterization of a bifunctional enzyme with chitosanase and cellulase activity from commercial cellulase // Biochemical Engineering Journal. 2006. Vol. 30. Pp. 82–87. https://doi.org/10.1016/j.bej.2006.02.005.
30. Pan A.-D., Zeng H.-Y., Foua G.B., Alain C., Li Y.-Q. Enzymolysis of chitosan by papain and its kinetics // Carbohydrate Polymers. 2016. Vol. 135. Pp. 199–206. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.08.052.
31. Qin Z., Chen Q., Lin S., Luo S., Qiu Y., Zhao L. Expression and characterization of a novel cold-adapted chitosanase suitable for chitooligosaccharides controllable preparation // Food Chemistry. 2018. Vol. 253. Pp. 139–147. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.01.137.
32. Tsai G.-J., Zhang S.-L., Shieh P.-L. Antimicrobial activity of a low-molecular-weight chitosan obtained from cellulase digestion of chitosan // Journal of Food Protection. 2004. Vol. 67. Pp. 396–398. https://doi.org/10.4315/0362-028X-67.2.396.
33. Xie Y., Hu J., Wei Y., Hong X. Preparation of chitooligosaccharides by the enzymatic hydrolysis of chitosan // Polymer Degradation and Stability. 2009. Vol. 94. Pp. 1895–1899. https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2009.06.021.
34. 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. https://doi.org/10.14258/jcprm.2019014368.
35. Urbina-Salazar A., Inca-Torres A.R., Falcón-García G. et al. Chitinase Production by Trichoderma harzianum Grown on a Chitin-Rich Mushroom Byproduct Formulated Medium // Waste Biomass Valorization. 2019. Vol. 10. Pp. 2915–2923. https://doi.org/10.1007/s12649-018-0328-4.

Поступила в редакцию 13 мая 2026 г.

После переработки 13 сентября 2026 г.

Принята к публикации 14 сентября 2026 г.

Savrasov E.S., Minakov D.V.[*], *Musina O.N.* COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF NON-SPECIFIC ENZYMATIC HYDROLYSIS OF CHITOSAN-GLUCAN COMPLEX AND CHITOSAN FOR CHITOOLIGOSACCHARIDES PRODUCTION AND EVALUATION OF THEIR PHYSICOCHEMICAL PROPERTIES

Polzunov Altai State Technical University, ave. Lenina, 46, Barnaul, 656038, Russia, MinakovD-1990@yandex.ru

The article is devoted to the comparative characteristics of non-specific enzymatic hydrolysis of a chitosan-glucan complex from higher fungi and chitosan from crustaceans for the production of chitooligosaccharides and evaluation of their physicochemical properties. The objects of study were the chitosan-glucan complex from fruit bodies of Ganoderma lucidum and commercial chitosan used for comparative evaluation. Enzymatic hydrolysis of samples was carried out using the preparation "CelloLux-A" (cellulolytic activity – 6000 U/ml, xylanase activity – 1700 U/ml). Physicochemical properties were determined by viscometry and potentiometric titration. As a result of the research, technological parameters of enzymatic treatment of chitosan-glucan complexes and chitosan for chitooligosaccharides production have been developed: temperature 55.0 °C; pH 5.5; enzyme preparation concentration from 1.2 to 1.4%; duration of enzymatic hydrolysis – 24–26 h; concentration of chitosan-glucan complex and chitosan solution – 3.0%; solvent – 1.0% aqueous acetic acid solution. The yield of chitooligosaccharides from the chitosan-glucan complex was 78.4%, from chitosan – 94.5%. It was found that enzymatic hydrolysis of the chitosan-glucan complex by "Cellolux-A" proceeds via a mechanism involving the hydrolysis of β-(1→4)-glycosidic bonds in chitosan and β-(1→3)- and β-(1→6)-glycosidic bonds in glucans, leading to the release of the chitosan chain from the complex with subsequent formation of low-molecular-weight fragments. IR spectra analysis showed preservation of the chemical structure of monomeric units of chitooligosaccharides during hydrolysis and the occurrence of depolymerization. Chitooligosaccharides from chitosan were characterized by higher values of intrinsic viscosity (4.1 $dl \times g^{-1}$), molecular weight (5.4 kDa) and degree of deacetylation (91.5%), exceeding the corresponding values for chitooligosaccharides from the chitosan-glucan complex by 7.9, 68.8 and 24.3%, respectively. It is shown that the use of cellulase and xylanase instead of specific enzymes (chitinase and chitosanase) reduces the cost of chitooligosaccharides production.

Keywords: higher fungi, chitosan, chitosan-glucan complex, chitooligosaccharides, physicochemical parameters, molecular weight, degree of deacetylation, intrinsic viscosity.

For citing: Savrasov E.S., Minakov D.V., Musina O.N. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2026, no. 3, pp. 340–352. (in Russ.). https://doi.org/10.14258/jcprm.20260319396.

References

1. Gonçalves C., Ferreira N., Lourenço L. *Polymers*, 2021, vol. 13, article 2466. https://doi.org/10.3390/polym13152466.
2. Vo T.-S., Ngo D.-H., Kang K.-H., Jung W.-K., Kim S.-K. *Molecular Nutrition & Food Research*, 2014, vol. 59, pp. 129–138. https://doi.org/10.1002/mnfr.201400412.
3. Hahn T., Tafi E., Paul A., Salvia R., Falabella P., Zibek S. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 2020, vol. 95, pp. 2775–2795. https://doi.org/10.1002/jctb.6533.
4. Alimi B.A., Pathania S., Wilson J., Duffy B., Frias J.M.C. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2023, vol. 237, article 124195. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.124195.
5. Minakov D.V., Minakova A.A., Markin V.I., Bazarnova N.G., Tikhonov S.L., Yegorova Ye.Yu. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2023, no. 1, pp. 313–322. https://doi.org/10.14258/jcprm.20230112519. (in Russ.).
6. Thakur V.K., Thakur M.K. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 2014, vol. 2, pp. 2637–2652. https://doi.org/10.1021/sc500634p.
7. Mourya V.K., Inamdar N.N., Choudhari Y.M. *Polymer Science, Series A*, 2011, vol. 53, pp. 583–612. https://doi.org/10.1134/S0965545X11070066.
8. Santoso J., Adiputra K.C., Soerdirga L.C., Tarman K. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 2020, vol. 414, article 012021. https://doi.org/10.1088/1755-1315/414/1/012021.
9. Xia W., Liu P., Zhang J., Chen J. *Food Hydrocolloids*, 2011, vol. 25, pp. 170–179. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2010.03.003.
10. Miguez N., Kidibule P., Santos-Moriano P., Ballesteros A.O., Fernandez-Lobato M., Plou F.J. *Applied Sciences*, 2021, vol. 11, article 3212. https://doi.org/10.3390/app11073212.
11. Roman D.L., Roman M., Som C., Schmutz M., Hernandez E., Wick P., Casalini T., Perale G., Ostafe V., Isvoran A. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 2019, vol. 7, article 214. https://doi.org/10.3389/fbioe.2019.00214.
12. Liaqat F., Eltem R. *Carbohydrate Polymers*, 2018, vol. 184, pp. 243–259. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.12.067.
13. Li D.-D., Tao Y., Shi Y.-N., Han Y.-B., Yang N., Xu X.-M. *Food Chemistry*, 2020, vol. 309, article 125767. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125767.
14. Xing R., Liu Y., Li K., Yu H., Liu S., Yang Y., Chen X., Li P. *Carbohydrate Polymers*, 2017, vol. 157, pp. 1288–1297. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.11.001.
15. He Y., Zhang M., Shan M., Zeng P., Li X., Hao C., Dou H., Yang D., Feng N., Zhang L. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2018, vol. 118, pp. 327–332. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.06.077.
16. Mahmud M., Naziri M.I., Yacob N., Talip N., Abdullah Z. *AIP Conference Proceedings*, 2014, vol. 1584, pp. 136–140. https://doi.org/10.1063/1.4866119.
17. El-Sayed S.T., Ali A.M., Omar N.I. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 2019, vol. 22, article 101382. https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101382.

[*] Corresponding author.

18. Xu W., Mohan A., Pitts N.L., Udenigwe C., Mason B. *Food Bioscience*, 2020, vol. 33, article 100476. https://doi.org/10.1016/j.fbio.2019.100476.
19. Roncal T., Oviedo A., Armentia I.L., Fernández L., Villarán M.C. *Carbohydrate Research*, 2007, vol. 342, pp. 2750–2756. https://doi.org/10.1016/j.carres.2007.08.023.
20. Ruangwicha J., Cheirsilp B., Suyotha W. *Bioresource Technology*, 2024, vol. 393, article 130106. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2023.130106.
21. Kaczmarek M.B., Struszczyk-Swita K., Li X., Szczęsna-Antczak M., Daroch M. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 2019, vol. 7, article 243. https://doi.org/10.3389/fbioe.2019.00243.
22. Chang S.-H., Wu C.-H., Tsai G.-J. *Carbohydrate Polymers*, 2018, vol. 181, pp. 1026–1032. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.11.047.
23. Liang T.-W., Chen Y.-J., Yen Y.-H., Wang S.-L. *Process Biochemistry*, 2007, vol. 42, pp. 527–534. https://doi.org/10.1016/j.procbio.2006.10.005.
24. Naveed M., Phil L., Sohail M. et al. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2019, vol. 129, pp. 827–843. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.01.192.
25. Tishchenko G., Šimunek J., Brus J., Netopilík M., Pekárek M., Walterová Z., Koppová I., Lenfeld J. *Carbohydrate Polymers*, 2011, vol. 86, pp. 1077–1081. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.04.073.
26. Chang S.-H., Lin H.-T.V., Wu G.-J., Tsai G.J. *Carbohydrate Polymers*, 2015, vol. 134, pp. 74–81. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.07.072.
27. Laokuldilok T., Potivas T., Kanha N., Surawang S., Seesuriyachan P., Wangtueai S., Phimolsiripol Y., Regenstein J.M. *Food Bioscience*, 2017, vol. 18, pp. 28–33. https://doi.org/10.1016/j.fbio.2017.03.004.
28. Lin S.-B., Lin Y.-C., Chen H.-H. *Food Chemistry*, 2009, vol. 116, pp. 47–53. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.02.002.
29. Liu J., Xia W.S. *Biochemical Engineering Journal*, 2006, vol. 30, pp. 82–87. https://doi.org/10.1016/j.bej.2006.02.005.
30. Pan A.-D., Zeng H.-Y., Foua G.B., Alain C., Li Y.-Q. *Carbohydrate Polymers*, 2016, vol. 135, pp. 199–206. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.08.052.
31. Qin Z., Chen Q., Lin S., Luo S., Qiu Y., Zhao L. *Food Chemistry*, 2018, vol. 253, pp. 139–147. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.01.137.
32. Tsai G.-J., Zhang S.-L., Shieh P.-L. *Journal of Food Protection*, 2004, vol. 67, pp. 396–398. https://doi.org/10.4315/0362-028X-67.2.396.
33. Xie Y., Hu J., Wei Y., Hong X. *Polymer Degradation and Stability*, 2009, vol. 94, pp. 1895–1899. https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2009.06.021.
34. Minakov D.V., Vereshchagin A.L., Morozhenko Yu.V., Bazarnova N.G. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2019, no. 1, pp. 251–257. https://doi.org/10.14258/jcprm.2019014368.
35. Urbina-Salazar A., Inca-Torres A.R., Falcón-García G. et al. *Waste Biomass Valorization*, 2019, vol. 10, pp. 2915–2923. https://doi.org/10.1007/s12649-018-0328-4.

Received May 13, 2026

Revised September 13, 2026

Accepted September 14, 2026

Сведения об авторах

Саврасов Евгений Сергеевич – стажер-исследователь Центра комплексных исследований и экспертной оценки пищевой продукции «АлтайБиоЛакт», savrasovbti@mail.ru

Минаков Денис Викторович – доктор технических наук, доцент, ведущий научный сотрудник Центра комплексных исследований и экспертной оценки пищевой продукции «АлтайБиоЛакт», MinakovD-1990@yandex.ru

Мусина Ольга Николаевна – доктор технических наук, доцент, главный научный сотрудник Центра комплексных исследований и экспертной оценки пищевой продукции «АлтайБиоЛакт», musinaolga@gmail.com

Information about authors

Savrasov Evgeny Sergeevich – Junior Researcher, "AltaiBioLakt" Center for Comprehensive Research and Expert Evaluation of Food Products, savrasovbti@mail.ru

Minakov Denis Viktorovich – Doctor of Technical Sciences, Associate Professor, Leading Researcher, "AltaiBioLakt" Center for Comprehensive Research and Expert Evaluation of Food Products, MinakovD-1990@yandex.ru

Musina Olga Nikolaevna – Doctor of Technical Sciences, Associate Professor, Chief Researcher, "AltaiBioLakt" Center for Comprehensive Research and Expert Evaluation of Food Products, musinaolga@gmail.com