

Хитин- и хитозансодержащие комплексы из мицелиальных грибов: получение, свойства, применение

В. И. Унрод, Т. В. Солодовник

Черкасский инженерно-технологический институт Министерства образования и науки Украины
Бульвар Шевченко, 460, Черкассы, 18006, Украина

В обзоре рассматриваются основные принципы получения хитина и его производных из разных сырьевых источников. Основное внимание уделено проблеме извлечения хитин- и хитозансодержащих комплексов из мицелиальных грибов. Приведены данные по исследованию химического состава и физико-химических свойств исходного мицелиального сырья и получаемых комплексов. Проанализированы сорбционные свойства комплексов и основные направления использования их в различных областях народного хозяйства.

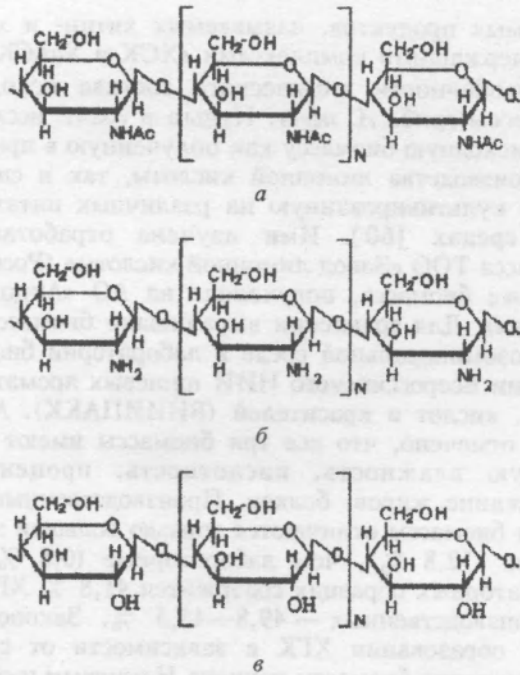
Хитин — мукополисахарид, отличающийся линейной структурой, состоящей из N-ацетил-D-глюкозаминных мономеров, соединенных β -1,4-связями [1]. О длине полимерной цепи хитина вполне достоверных фактов нет, лишь предполагается, что его макромолекула имеет такую же степень полимеризации, как и целлюлоза древесины [2, 3]. Хитин отличается от целлюлозы тем, что у второго углеродного атома гидроксильные группы заменены ацетамидными остатками (рисунок). Наличие этих остатков в значительной степени влияет на изменение физико-химических свойств хитина по сравнению с целлюлозой [4]. По механической прочности, химической стойкости и ряду других свойств хитин превосходит целлюлозу, что объясняется особенностью его надмолекулярной структуры, наличием большого количества водородных связей и меньшей активной поверхностью. По распространности в природе хитин занимает второе место после целлюлозы. Вместе с тем его использование более ограничено, что связано со спецификой получения хитина.

Хитин открыт французским ученым Генри Браконно в 1811 году [1]. При обработке шампиньонов разбавленным теплым раствором щелочи им было выделено волокнистое вещество, получившее название фугнин. Фугнин отличался от веществ, свойственных растениям, а именно — от целлюлозы, и содержал азот. Практически фугнин — это и

был хитин, только неочищенный [5]. Само слово «хитин» предложено Одье в 1823 году, который выделил хитин из насекомых [6].

Хитин довольно часто встречается в природе, но, к сожалению, отсутствуют легкодоступные источники его получения, а химический синтез хитина является трудоемким процессом. Основным природным источником хитина служат панцири крабов, омаров, креветок. Хитин также содержится в зеленых водорослях *Ulva lactuca*, *Voloniaventricosa*, *Cladophora glomerata*, *Oedogonium crassum* [4], но рассматривать эти водоросли как перспективный источник для промышленного получения хитина не представляется возможным, так как содержание хитина в них очень низкое, а распространение этих водорослей ограничено. В 1915 г. наличие хитина открыто в дрожжах [7]. В количественном отношении содержание хитина в них составляет 0,87—4,25 % [8—12].

Значительное количество хитина содержится в грибах, что было показано еще в 1896 году Гильсоном [13]. Хитин принято считать основным структурным биополимером клеточной стенки грибов. Он выполняет армирующую роль и обеспечивает механическую прочность, но отсутствие жесткой связи между микрофибриллами позволяет сохранять определенную эластичность клеточной стенки [14]. Было доказано, что содержание хитина у высших грибов находится в пределах от 5,2 до 80 % [14—24], причем оно зависит от вида гриба, возраста грибной клетки и условий ее роста. Для



Структурные формулы хитина (а), хитозана (б) и целлюлозы (в)

низших грибов содержание хитина составляет 0,2—26,2 %. И наибольшее его количество характерно для аспергиллов — 20—22 % [25—27].

Деацетилированное производное хитина — хитозан открыт Роугеттом в 1859 г. и представляет собой β -1,4-связанный полимер D-глюкозамина (рисунк). В отличие от хитина, хитозан как природный биополимер обнаружен только у мукоровых грибов [28, 29]. У высших грибов хитозан присутствует у *Agaricus campestris* и *A. bisporus* [15]. Хитозан образуется при нагревании хитина в присутствии концентрированных растворов щелочи. В зависимости от условий (концентрация и температура щелочной обработки) из хитина можно получить хитозан с различной степенью деацетилирования [30]. Благодаря наличию аминных групп в цепи хитозан обладает большей реакционной активностью по сравнению с хитином.

Общие принципы получения хитина и его производных из природных источников. Методы извлечения хитина и хитинсодержащих материалов из панцирей ракообразных в достаточной степени отработаны и широко используются для получения этих природных полимеров [31—35]. Для всех этих методов характерны следующие стадии обработки сырья:

декальцинирование — кислотная обработка 0,275—11,0 н растворами HCl при комнатной тем-

пературе в течение 2—24 ч для максимального удаления кальция;

депротеинирование — обработка щелочными 0,05—2,5 н водными растворами NaOH при кипячении для удаления белков;

обработка различными растворителями для удаления липидов, пигментов;

обработка сильными окислителями, в том числе H_2O_2 , $NaHSO_3$, $NaClO$, Cl_2 , H_2SO_4 для полного удаления примесей и отбеливания хитина.

Хитин и хитинсодержащие вещества извлекаются из грибов теми же методами, которые существуют для получения хитина из ракообразных. Однако клеточная стенка грибов содержит меньшее количество кальция, что позволяет использовать более слабые растворы кислот. Кроме хитина, в состав клеточной стенки входят и другие полисахариды (например, гетерополисахарид мукоран), которых нет в панцире крабов. Хитин также связан ионными и ковалентными связями в комплексы с α - и β -глюканами, пигментами, белками. Эти связи существенно влияют на устойчивость хитиновых комплексов при выделении хитина и его очистке. Для разрушения связей и выделения чистого хитина исходное сырье обрабатывают реагентами при температурах, близких к 100 °C [8, 30, 36—39]. Известны методики выделения хитина с использованием сильно основного этилендиамина при 37 °C, нагретой перекиси водорода [40] или окисления перманганатом после обработки KOH [41]. Для извлечения хитина из грибных клеток в нейтральной среде предложены методы, исключающие предварительное разрушение клеток, а в качестве реагентов используется озон, ЭДТА и различные растворители [42, 43].

Непосредственное выделение хитозана возможно только из грибов, содержащих в своем составе хитозан. Впервые методика выделения хитозана из гриба *Mucor rouxii* предложена в 1979 году [44]. Суть ее в том, что хитозан экстрагируется из очищенных стенок мицелия уксусной, муравьиной и соляной кислотами. Выход выделенного хитозана составляет 4—8 % от сухой массы материала клеточной стенки. Наибольший выход наблюдается при экстрагировании хитозана соляной кислотой. В настоящее время данная методика совершенствуется в направлении подбора таких экстрагирующих реагентов, которые обеспечили бы полное извлечение хитозана из клеточных стенок грибов *Mucor sp.*, *Rhizopus sp.*, *Absidia coerulea*, *A. glauca*, *A. orchidis* [45—53]. Доказано, что на выход хитозана влияют условия культивирования грибов (pH среды, температура, время) [52, 53].

Известно много методов получения хитозана из хитина [39, 54—56, 58, 59]. В соответствии с ними хитин, выделенный из различного вида

сырья, подвергается обработке 30—40 %-м раствором щелочи при температуре 120—140 °С в течение 2—5 ч. Основной характеристикой хитозана, получаемого из хитина, является степень его деацетилирования (СД), определяющая уровень замещения ацетильных групп хитина на аминные группы хитозана. Приведенные выше условия обработки обеспечивают получение хитозана с высокой СД (96—98 %). Однако эти методы имеют недостатки: использование высококонцентрированной щелочи приводит к деструкции полимера и к снижению его молекулярной массы; большое количество концентрированных щелочных стоков отрицательно влияет на экологию.

При модификации существующих методов получения хитозана исследователи ведут работу в направлении подбора других, менее «агрессивных» деацетилирующих реагентов, более экономически выгодных и доступных режимов обработки, которые могли бы обеспечить получение продукта с высокой СД. Например, применяют обработку хитина гидразингидратом при температуре 120—150 °С в инертной атмосфере, препятствующей деструкции полимера [57].

Использование грибных отходов биохимических производств для получения хитин- и хитозансодержащих материалов. Спрос на хитин и его производные постоянно возрастает во всех областях народного хозяйства. Вместе с тем наблюдается уменьшение добычи панцирей крабов — основного источника получения хитина, повышение количества тяжелых и радиоактивных металлов в ракообразном сырье, увеличение стоимости хитина. Поэтому остается актуальным вопрос поиска в каждом регионе доступных сырьевых источников хитина и его производных. В последнее время отмечается повышение интереса к хитину мицелиальных грибов. И в особенности тех, которые являются отходами биохимических производств органических кислот, ферментов, антибиотиков. Гриб *Aspergillus niger* как источник для получения хитинсодержащих продуктов представляет интерес в регионах, прилегающих к заводам, вырабатывающим лимонную кислоту. В процессе биохимического синтеза лимонной кислоты мицелий этого гриба является отходом производства. Содержание хитина составляет 18—20 % от сухой биомассы [1]. Характерно, что *A. niger*, кроме хитина, содержит еще глюканы, представленные щелоченерастворимым 1,3-β-глюканом, состоящим из D-глюкозных остатков. Отделение глюканов от хитина затруднительно, поэтому более выгодным является получение хитин-глюкановых и хитозан-глюкановых комплексов (ХГК и ХанГК). Кроме того, в состав клеточной стенки мицелия *A. niger* входят меланины, белки, липиды, которые при мягких условиях кислотно-щелочной обработки исходного сырья остаются в составе вы-

деляемых продуктов, называемых хитин- и хитозансодержащими комплексами (ХСК и ХанСК).

Особенности химического состава исходной биомассы гриба *A. niger*. Нудьга и соавт. исследовали исходную биомассу как полученную в процессе производства лимонной кислоты, так и специально культивируемую на различных питательных средах [60]. Ими изучена отработанная биомасса ТОО «Завод лимонной кислоты» (Россия), а также биомасса, полученная на АО «Акцоллим» (Россия). Для сравнения выращивали биомассу на сахарозоминаральной среде в лаборатории биотехнологии Всероссийского НИИ пищевых ароматизаторов, кислот и красителей (ВНИИПАКК). Авторами отмечено, что все три биомассы имеют различную влажность, кислотность, процентное содержание жиров, белков. Производственные образцы биомассы отличаются гораздо большей зольностью (12,8 %), чем лабораторные (0,8 %). В лабораторных образцах содержится 41,8 % ХГК, а в производственных — 49,8—45,5 %. Закономерность образования ХГК в зависимости от среды выращивания биомассы изучена Немцевым и соавт. [61, 62]. Исследовали биомассу, специально выращенную на различных питательных средах, а также биомассу — отход завода лимонной кислоты в АО «Цитробел» (Украина). В этих работах показано, что состав питательных сред и способ выращивания биомассы влияют на количество ХГК в биомассе, а также на соотношение хитина и глюкана в ХГК. Однако содержание ХГК практически не меняется в процессе роста *A. niger*.

Объектами наших исследований являются отходы мицелиальной массы *A. niger*, получаемые на заводе лимонной кислоты в г. Смела (Черкасская обл., Украина). В процессе производства мицелий выращивали глубинным способом на мелассе. Отработанную биомассу отбирали из различных ферментаторов и в ходе эксперимента исследовали на зольность (8—11,6 %), влажность (70—74 %), содержание жиров (1,65—2,35 %), белков (14,4—18,5 %), количество ХСК (40,6—42,5 %). Следует отметить, что образцы биомассы для каждой отдельно взятой партии имеют различные, характерные только для нее, параметры [63].

Методы получения хитин- и хитозансодержащих комплексов. Впервые использовать грибницы нитевидных плесневых грибов для получения ХанГК предложил Музарелли и соавт. [64]. Они обрабатывали мицелиальную массу грибов 30—50 %-м водным раствором щелочи при температуре 118—130 °С в течение 4—6 ч. В процессе такой обработки получаемые ХанГК имели высокую СД (96—98 %), но маленький выход готового продукта — около 30 % в пересчете на сухой мицелий. При более низких температурах, более коротком времени обработки и более низких концентрациях

раствора щелочи СД получаемых продуктов ниже (46—78 %), а выход продукта больше (70—85 %). Для этого способа характерно, что сырьем являются грибы на любой стадии развития — как специально выращенные, так и отходы, получаемые в процессе производства лимонной кислоты и антибиотиков. В дальнейшем модификация данного способа была направлена на:

— получение ХСК [67—69]. Для этого в процессе обработки исходного сырья использовали растворы кислот и щелочей более низкой концентрации (2—6 % NaOH, 0,5—1,5 М HCl) и различные органические растворители. Согласно этим методикам, выход ХСК составляет 40—49 %, а содержание хитина в комплексе находится в пределах от 30 [67—69] до 81,6 % [60]. На изменение этих параметров влияют «происхождение» биомассы (отход производства или лабораторный образец) и условия роста мицелия (состав питательной среды, pH среды, температура, возраст мицелия);

— получение ХанСК с различной СД [65, 66], обусловленной варьированием такими основными параметрами обработки сырья, как температура, концентрация растворов щелочи, время щелочной обработки, использование других деацетилирующих реагентов.

В процессе изучения свойств комплексов показано, что ХГК не сорбируют цезий, в то время как комплексы, содержащие, кроме хитина и глюкана, еще меланины, белки и липиды, являются хорошими сорбентами этого элемента [83].

При выделении ХСК из отхода мицелиальной массы гриба *A. niger* мы использовали поэтапную обработку сырья 1 %-м NaOH, 1 н раствором HCl, а также обработку 0,003 М гипохлоритом натрия для очистки от примесей и отбеливания готового продукта [63]. Это способ позволяет быстро перерабатывать скоропортящуюся биомассу, не ставя целью полное извлечение белков, меланинов; размещать производство на базе уже существующих производств для повторного применения кислотных и щелочных растворов; использовать ХСК на нужды этих же производств или производств, расположенных в близлежащих регионах, а также как сырье для получения ХанСК с различной СД по существующим методикам [64—66].

Выход готового продукта для данного способа составляет 42 %, содержание хитина — 31,5 %.

В настоящее время работа исследователей по модификации способов выделения ХСК и ХанСК направлена на подбор таких условий обработки сырья, которые обеспечивали бы необходимые свойства получаемым комплексам и позволили избежать использования дорогих и высококонцентрированных реактивов.

Исследование химического состава и физико-химических свойств комплексов. Анализ литера-

турных данных свидетельствует о том, что изучаемые комплексы не являются индивидуальным веществом [1, 2, 64]. Соотношение между хитином и глюканом, а также между хитозаном и глюканом изменяется в зависимости от способа выделения комплексов из биомассы и от химического состава этой биомассы. Проведенные ИК-спектроскопические исследования доказывают, что комплекс хитозан—глюкан является новым химическим продуктом [64]. При его обработке уксусной кислотой и центрифугировании можно отделить твердый глюкан, а из жидкости при обработке щелочью осадить чистый хитозан, о чем свидетельствует наличие полосы при 1590 см^{-1} на ИК-спектре, характерной для аминогрупп [64].

Для ХГК, полученных согласно методике Нудьги и соавт. [68], характерны зольность 7,38 %, содержание хитина 81,6 %, глюканов 15,1 %, меланинов 3,3 % [70]. В то же время, ХГК, выделенные из биомассы этого же гриба по методике Немцева и соавт. [65], содержит 15—17 % глюкана и 37—38 % деацетилизованного хитина [71].

Следует отметить, что данные комплексы еще недостаточно изучены как в отношении химической структуры, так и в отношении физико-химических свойств. Скорее всего, это разветвленные полисахариды переменного состава, в которых основной цепью является хитин или хитозан, а боковыми цепями — глюкан (в случае, если содержание хитина больше) и, наоборот, основная цепь — глюкан, боковые — хитин (если в составе превалирует глюкан) [72].

Однозначно их нельзя рассматривать как смесь хитина и глюкана или хитозана и глюкана. Доказательством этому служит появление все большего количества данных о наличии ковалентных связей между этими полисахаридами [73, 74]. Существование ковалентной связи в ХГК, выделенных из гриба *A. niger*, доказано введением дейтериевой метки в образцы ХГК [75].

Нудьга и соавт. провели морфологические и термические исследования ХГК [70, 72, 76]. В результате установлено, что надмолекулярная структура ХГК более дефектна, чем хитина животного происхождения и имеет мезаморфный характер, а присутствие глюкана не проявляется в возникновении каких-либо новых структур. В ходе термического анализа образцов ХГК показано, что кривые дифференциально-термического и термогравиметрического анализов идентичны таковым для крабового хитина. Наличие глюкана в комплексах приводит к более интенсивной десорбции воды на первой стадии потери массы, а также к образованию большего количества кокса, что свидетельствует о повышении содержания сшитой части в ХГК вследствие особенности его строения.

ХГК подобно хитину и целлюлозе растворяются в комплексном растворителе диметилацетамиде (ДМАА) с добавлением 9 % LiCl [72]. Это свойство позволило оценить их вязкость и сравнить ее с вязкостью аналогичных растворов хитина. Доказано, что молекулярная масса ХГК на порядок ниже таковой хитина. При исследовании способности комплексов к пленкообразованию из раствора в ДМАА/LiCl методом мокрого формования выяснилось, что прочность таких пленок уступает по механическим показателям пленкам, полученным из хитина или из смеси хитина с целлюлозой. Это вызвано, очевидно, их меньшей молекулярной массой и глобулярной конформацией макромолекул ХГК в пленках.

Все большее внимание уделяется модификации ХГК за счет введения дополнительных функциональных групп. Проведены реакции карбоксиметилирования и сульфозетилирования для получения водорастворимых производных ХГК [77, 78].

Сорбционные свойства комплексов. Важным свойством ХанГК, полученных из мицелиальных грибов, является их способность образовывать хелаты с ионами металлов [64]. Они проявляют более высокую, чем у чистого хитозана, хелатообразующую способность благодаря специфическому стерическому размещению амино- и гидроксильных групп в комплексе, а также благоприятной кристаллической структуре. Глюкановый матрикс, кроме того, обеспечивает наличие дополнительного количества гидроксильных групп, способных участвовать в образовании хелатных комплексов [79].

Сорбцию ионов металлов из водных растворов на комплексах изучали как в статических, так и в динамических условиях. ХанГК проявляют хорошие хелатообразующие свойства по отношению к переходным и постпереходным металлам. Это было доказано при изучении сорбции девяти металлов (Cr, Mn, Co, Ni, Cu, Zn, Cd, Hg, Pb) из водных растворов в статических условиях [80]. Комплексы для эксперимента получили обработкой биомассы 40 %-м водным раствором NaOH при температуре 118 °С в течение 4 ч. Эти условия выбраны как наиболее подходящие для получения хелатообразующих комплексов [81].

В ходе эксперимента 50 мл исходного раствора сульфатов металлов перемешивали с 200 мг порошкообразных ХГК дисперсностью 100—200 меш при 20 °С на протяжении 1 ч, среда раствора — нейтральная. Комплексы проявляют хорошую сорбционную способность при извлечении ионов свинца, меди, никеля. Но и процент извлечения ионов кобальта и цинка выше, чем для хитозана из ракообразных при таких же условиях [2]. На процесс сорбции ионов металлов из водных растворов в статических условиях оказывает влияние дисперсность комплексов и температура рабочего

раствора. Влияние этих параметров изучали на примере сорбции ионов меди и ртути [82]. Повышение температуры сорбции от 20 до 60 °С увеличивает их сорбционную емкость как по отношению к ионам меди (с 96 до 98 %), так и к ионам ртути (с 93 до 98 %). Уменьшение размеров частиц с 25 до 200 меш увеличивает сорбционную емкость комплексов практически в два раза.

Существенное влияние на величину сорбции ионов металлов из водных растворов в статических условиях хитино-глюкановыми и хитозано-глюкановыми комплексами оказывают время сорбции и pH раствора. Исследования показали, что наблюдается увеличение сорбции ионов хрома почти в два раза в сильноокислой среде как для ХГК так и для ХанГК [68]. Полная обменная емкость по хрому при pH 1,68 составляет для ХГК и ХанГК 2,01 и 2,44 мг-экв/г соответственно. Сорбция протекает быстро и практически через 30—40 мин происходит полное насыщение сорбента.

ХГК сорбируют ионы металлов хуже, чем ХанГК, кроме того, величина сорбции зависит от соотношения отдельных биополимеров клеточной стенки гриба. В свою очередь, это соотношение формируется в процессе созревания мицелия и зависит от условий и среды, на которой выращивается гриб. Установлено, что при сорбции ионов цезия активная сорбция этого металла происходит, если комплексы содержат в своем составе дополнительно белки и липиды. Уран одинаково хорошо сорбируется как ХГК, так и ХанГК, а также комплексами, содержащими белки и липиды [83].

Достаточно высокие сорбционные свойства ХанГК проявляют в динамических условиях. Колонка 0,6 × 10 см, содержащая ХанГК в виде порошка (100—200 меш) при температуре 20 °С, может очистить 1 л раствора, включающего 10 мг/л ионов ртути [82]. Наиболее благоприятной для извлечения ионов ртути и меди является скорость потока рабочего раствора через колонку, находящаяся между 2,5 и 5,0 мл/мин [80]. Сорбция ионов металлов на ХГК в динамических условиях мало изучена, хотя это направление является весьма перспективным.

Области применения комплексов. Подобно хитину и хитозану крабов, комплексы, выделенные из мицелиальных грибов, могут найти широкое применение в медицине, пищевой и химической промышленности, сельском хозяйстве и т. д. Благодаря своим хелатообразующим свойствам они могут быть использованы в установках для очистки различных водных растворов от ионов тяжелых металлов. При использовании ХГК, ХанГК совместно с гипсом, асбестом, торфом можно получать сорбенты со специфическими свойствами для различных целей, в том числе для сорбции органических соединений [84—86].

Предложено использовать ХСК и ХанСК [64, 87] в качестве флокулянтов, осадителей анионных полиэлектролитов, пленкообразователей. Хитозан-глюкановые мембраны, полученные дисперсией в уксусной кислоте обладают рядом преимуществ (более гибкие, прозрачные) по сравнению с мембранами, полученными из хитозана крабов [81].

В настоящее время разрабатывается новое направление в использовании ХГК в пищевой промышленности как пищевой добавки в кондитерские и хлебобулочные изделия в качестве нетоксичного и биodeградируемого энтеросорбента [70, 76]. Различные модификации ХГК позволяет существенно расширить диапазон их применения [77, 89]. Водорастворимые производные, полученные карбоксиметилированием и сульфозетилированием ХГК, предлагается использовать в медицине как вещества, обладающие антимутогенными, антиинфекционными, антивирусными свойствами [67, 69, 78]. Проводятся исследования по применению лекарств на основе этих водорастворимых производных как при внутримышечном, так и внутривенном введении. Разрабатываются ультразвуковые методы деполимеризации таких производных для получения более низкомолекулярных полимеров, введение в организм которых возможно через желудочно-кишечный тракт [88].

Интерес к использованию ХСК и ХанСК с каждым годом возрастает как со стороны исследователей, так и со стороны производителей. В этом плане наиболее целесообразно и перспективно расширять применение таких комплексов для очистки сточных вод не только от ионов металлов, но и от нефтепродуктов, красителей, фенолов и других органических соединений.

V. I. Unrod, T. V. Solodovnik

Chitin- and chitosancontaining complexes from mycelial fungus: receiving, properties and use

Summary

In the review main principles of receiving chitin and its derivatives from different raw sources are considered. The basic attention is paid to the problem of extraction of chitin- and chitosancontaining complexes from mycelial fungi. The data on the chemical composition and physical-chemical properties of the initial mycelial raw material and the complexes received are given. The absorption properties of the complexes and basic trends of their use in various areas of national economy are analysed.

V. I. Унрод, Т. В. Солодовник

Хітин- і хітозанвмісні комплекси з міцеліальних грибів: одержання, властивості, застосування

Резюме

В огляді розглянуто основні принципи одержання хітину і його похідних з різної сировини. Основну увагу приділено проблемі вилучення хітин- і хітозанвмісних комплексів з міцеліальних

грибів. Наведено дані з дослідження хімічного складу і фізико-хімічних властивостей вихідної міцеліальної сировини і отриманих комплексів. Проаналізовано сорбційні властивості комплексів і основні напрямки їхнього використання в різних галузях народного господарства.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Феофилова Е. П. Клеточная стенка грибов.—М.: Наука, 1983.—248 с.
2. Muzzarelli R. A. A. Chitin.—New York: Pergamon press, 1977.—308 p.
3. Плиско Е. А., Нудьга Л. А., Данилов С. Н. Хитин и его химические превращения // Успехи химии.—1977.—46, № 8.—С. 1470—1487.
4. Tracey M. V. Chitin. Moderne Methoden der Pflanzenanalyse.—Oxford; New York, 1955.—274 p.
5. Braconnot H. Sur la nature des champignons // Ann. Chi. Phys.—1811.—N 79.—P. 265—304.
6. Odier A. Memoire sur la composition chimique des parties cornees des insectes // Mem. Soc. Hist. Nat. Paris.—1823.—N 1.—P. 29—42.
7. Meisenheimer J. Die stickstoffhaltigen Bestandteile der Hefe // Chem. Zbl.—1915.—2.—S. 1259.
8. Schmidt M. Makrochemische Untersuchung uber das Vorkommen von Chitin Mikroorganismen // Arch. Microbiol.—1936.—7, N 3.—S. 241—260.
9. Frey R. Chitin und Zellulose in Pilzzellwänden // Ber. Schweiz. Bot. Ges.—1950.—60.—S. 199—220.
10. Roelofsen P. A., Hoette H. Chitin in the cell wall of yeast // J. Microbiol. Serol.—1951.—17.—P. 197—313.
11. Петрущенко Г. М., Каложный М. Я. Хитин дрожжеподобных организмов рода *Candida* // Прикл. биохимия и микробиология.—1971.—№ 7.—С. 637—642.
12. Beran K., Holan Z., Baldrian J. The chitin-glucan complex in *Saccharomyces cerevisiae* // Folia Microbiol.—1972.—17.—P. 322—326.
13. Gilson E. Das Chitin und die Membranen der Pilzzellen // Ber. Dt. Chem. Ges.—1895.—N 1.—S. 821—822.
14. Горовой Л. Ф., Бурдюкова Л. И. Клеточная стенка высших базидиальных грибов // Цитология и генетика.—1997.—№ 1.—С. 70—81.
15. Garcia M. C., Sanchez E., Novaes-Ledieu M. Rifferencesin microfibrils in the walls of *Agaricus bisporus* secondary mycelium // FEMS Microbiol. Lett.—1987.—44, N 1.—P. 161—165.
16. Michalenko G. O., Hohl H. R., Rast D. Chemistry and architecture of the mycelial wall of *Agaricus bisporus* // J. Gen. Microbiol.—1976.—92, N 2.—P. 251—262.
17. Mol P. C., Wessels J. G. H. Differences in wall structure between substrate hyphal and hyphal of fruit-body stipes in *Agaricus bisporus* // J. Gen. Microbiol.—1976.—92, N 2.—P. 472—479.
18. Novaes-Ledieu M., Garcia M. C. The cell walls of *Agaricus* and *Agaricus campestris* fruiting body hyphal // Canad. J. Microbiol.—1981.—27, N 8.—P. 779—787.
19. Wessels J. G. H., Kreger D. R., Marchant R., Regensburg B. A., Vries O. M. H. Chemical and morphological characterization of the hyphal surface of the basidiomycete *Schizophyllum commune* // Biochim. et biophys. acta.—1972.—273.—P. 346—358.
20. Беккер Э. Э. Физиология грибов и их практическое использование.—М.: Изд-во МГУ, 1963.—286 с.
21. Touze-Soulet J. M., Dargent R., Rami J. Les parois cellulaires del *Boletus edulis*: composition et degradation enzymatique par deux mycoparasites du genre *Hypomyces* // Phytopathol. Z.—1980.—98, N 3.—P. 246—259.

22. Gooday G. W. The control of differentiation in fruit bodies of *Coprinus cinereus* // Repts Tottori Mycol. Inst.—1975.—N 12.—P. 151—160.
23. Marchant R. Wall composition of monokaryons and dikaryons of *Coprinus cinereus* // J. Gen. Microbiol.—1978.—106, N 1.—P. 195—199.
24. Фостер Д. Химическая деятельность грибов.—М.: Изд-во иностр. лит., 1950.—603 с.
25. Katz D., Rosenberger R. F. A mutation in *Aspergillus nidulans* producing hyphal walls which lack chitin // Biochim. et biophys. acta.—1970.—N 208.—P. 452.
26. Katz D., Rosenberger R. F. Hyphal wall synthesis in *Aspergillus nidulans*: effects of protein synthesis inhibition and osmotic shock on chitin insertion and morphogenesis // J. Bacteriol.—1971.—N 108.—P. 184—190.
27. Феофилова Е. П. Особенности вторичного метаболизма у микроорганизмов // Докл. высш. шк. биол. науки.—1977.—№ 4.—С. 5—24.
28. Bartnicki-Garcia S., Nickerson W. J. Isolation, composition and structure of cell walls of filamentous and yeast-like forms of *Mucor rouxii* // Biochim. et biophys. acta.—1962.—58.—P. 102—119.
29. Bartnicki-Garcia S., Nickerson W. J. Nutrition, growth and morphogenesis of *Mucor rouxii* // J. Bacteriol.—1962.—84.—P. 841—858.
30. Foster A. B., Webber M. Chitin // Adv. Carbohydr. Chem.—1960.—15.—P. 371—390.
31. Pat. USA N 3.879.377. Purification of chitin / P. R. Austin (USA) // Publ. 1965.
32. Быков В. П., Фурман Д. И. Получение хитозана из гаммаруса // Материалы 5-й конф. «Новые перспективы в исследовании хитина и хитозана».—М.: ВНИРО, 1999.—С. 18—21.
33. А. с. № 1563208 СССР, С 08 В 37/08. Способ получения хитинсодержащего материала / А. В. Фокин, С. В. Рогожин, А. И. Гамзазаде, Е. С. Вайнерман, Б. Г. Ершов, М. А. Захаров, Е. И. Лобода (СССР) // Оpubл. 07.04.90 в БИ № 17.
34. А. с. № 1022463 СССР, С 08 В 37/08. Способ выделения хитина гидробионтов / С. В. Рогожин (СССР) // Оpubл. 07.06.83 в БИ № 21.
35. А. с. № 1563208 СССР, С 08 В 37/08. Способ получения хитинсодержащего материала / А. В. Фокин (СССР) // Оpubл. 14.08.87 в БИ № 29.
36. Kent P. W. Chitin and mucosubstances // Comparative biochemistry: a comprehensive treatise.—New York: Acad. press, 1964.—P. 93—136.
37. А. с. № 1003545. СССР. Способ получения хитина / Е. П. Феофилова, А. П. Марьин, И. В. Писаревская, Г. А. Казаков, А. Е. Ушанова, Ю. А. Шляпников (СССР) // Оpubл. 07.03.83 в БИ № 9.
38. Tracey M. V. Chitin // Moderne Methoden der Pflanzenanalyse.—1955.—2.—S. 264—274.
39. А. с. № 1575552. СССР, С 08 В 37/08. Способ получения хитинсодержащего волокнистого материала / Л. Ф. Горовой, К. М. Сытник, Н. И. Даниляк, В. А. Баглай, О. В. Анников, В. Н. Грицуляк, Т. А. Анникова, С. В. Рогожин, А. И. Гамзазаде (СССР) // Оpubл. 30.06.90 в БИ № 24.
40. Mitchell A. J., Scurfield G. Composition of extracted fungal cell wall as indicated by infrared spectroscopy // Arch. Biochem. and Biophys.—1967.—120.—P. 626—637.
41. Mitchell A. J., Scurfield G. An assessment of infrared spectra as indication of fungal cell wall composition // Austral. J. Biol. Sci.—1970.—23.—P. 345—360.
42. Hackett C. J., Kuo-Chun Chen. Quantitative isolation of native chitin from resistant structure of *Sordaria* and *Ascaris* species // Anal. Biochem.—1978.—89.—P. 487—500.
43. Letourneau D. R., Deven J. M., Manocha M. S. Structure and composition of the wall of *Choanephora cucurbitarum* // Canad. J. Microbiol.—1976.—22.—P. 486—494.
44. White S. A., Farina P. R., Fulton I. Production and isolation of chitosan from *Mucor rouxii* // Appl. Environ. Microbiol.—1979.—38.—P. 323—328.
45. Shimahara K., Takaguchi Y., Kobayashi T., Uda K., Sannan T. Screening of *Mucoraceae* strains suitable for chitosan production.—Amsterdam: Elsevier Appl. Sci., 1989.—178 p.
46. Miyoshi H., Shimura K., Watanabe K., Onodera K. Characterization of some fungal chitosans // Biosci. Biotech. Biochem.—1992.—56.—P. 1901—1905.
47. Rane K. D., Hoover D. G. Production of chitosan by fungi // Food Biotech.—1993.—7.—P. 11—33.
48. Tan S. Ch., Tan T. K., Wong S. M., Khor E. The chitozan yield of *Zygomycetes* at their optimum harvesting time // Carbohydrate Polymers.—1996.—30.—P. 239—242.
49. Jaworska M. M., Szweczyk K. W., Konieczna E. *Mucoraceae* — other source of chitosan // Progr. on chem. and appl. of chitin and its derivatives / Ed. H. Struszczyk.—Warszawa: Polish Chitin Soc. publ., 1998.—P. 95—102.
50. Muzzarelli R. A. A., Iliari P., Tarasi R., Dubini B., Xia W. Chitozan from *Absidia coerulea* // Carbohydrate Polymers.—1994.—25.—P. 45—50.
51. Crestini C., Kovac B., Giovannozzi-Sermanni G. Production and isolation of chitosan by submerged and solid-state fermentation from *Lentinus edodes* // Biotechnol. and Bioeng.—1996.—50.—P. 207—210.
52. Jaworska M. M., Szweczyk K. W. Chitozan from *Absidia orchidis*. Influence of pH of culture medium // Proc. of the 3rd Asia-Pacific Chitin and Chitosan Symp.—Keelung, 1998.—Vol. 3.—P. 489—494.
53. Jaworska M. M., Konieczna E. Chitosan from *Absidia orchidis*; the influence of culture conditions on chitosan yield // Progr. on chem. and appl. of chitin and its derivatives / Ed. H. Struszczyk.—Warszawa: Polish Chitin Soc. publ., 1999.—P. 90—98.
54. Пат. № 92009141/04, 2065447 РФ, RU С 08 В 37/08. Способ получения хитозана / В. П. Голицин, В. Г. Цветков, А. В. Иванов, О. Р. Гартман (РФ) // Оpubл. 20.08.96 в БИ № 23.
55. Гамзазаде А. И., Скляр А. И., Рогожин С. В. Некоторые особенности получения хитозана // Высокомолекуляр. соединения.—1985.—27, № 6.—С. 1179—1184.
56. Пат. № 5002906/04, 2067588 РФ, RU С 08 В 37/08. Способ получения хитозана / Б. А. Кузин, К. К. Бабиевский, Г. К. Прохоренко, А. Б. Кузин (РФ) // Оpubл. 10.10.96 в БИ №.
57. А. с. № 730695. СССР, С 08 В 37/08. Способ получения хитозана / А. И. Гамзазаде, И. А. Ажигирова, Ю. А. Давидович, С. В. Рогожин (СССР) // Оpubл. 30.04.80 в БИ №.
58. А. с. № 325234. СССР, С 08 В 37/08. Способ получения хитозана / Е. А. Плиско, Л. А. Нудьга, С. Н. Данилов (СССР) // Оpubл. 10.12.72 в БИ № 3.
59. Нудьга Л. А. Получение хитозана, его производных и исследование их свойств: Автореф. дис. ... канд хим. наук / Ленинград. ин-т высокомолекуляр. соединений.—Л., 1979.—21 с.
60. Нудьга Л. А., Ганичева С. И., Петрова В. А., Быстрова Е. А., Львова Е. Б., Галкин А. В., Петропавловский Г. А. Сорбция ионов Cr(III) хитин-глюкановым комплексом, выделенным из мицелия гриба *Aspergillus niger*, культиви-

- вированного в различных условиях // Журн. прикл. химии.—1997.—70, № 2.—С. 242—246.
61. Немцев Д. В., Козлов В. П., Терешина В. М., Меморская А. С., Феофилова Е. П. Изменения в составе структурных компонентов клеточной стенки *Aspergillus niger* в зависимости от условий культивирования // Прикл. химия и микробиология.—1998.—34, № 1.—С. 95—98.
 62. Немцев Д. В. Образование хитин-глюканового комплекса в процессе онтогенеза *Aspergillus niger* V. Tieghem: Автореф. дис. ... канд. биол. наук / Ин-т микробиологии РАН.—М., 1999.—24 с.
 63. Унрод В. И., Лега Ю. Г., Солодовник Т. В. Получение хитинсодержащих комплексов из мицелия гриба *Aspergillus niger* — отхода биохимического синтеза лимонной кислоты и изучение их свойств // Вопр. химии и хим. технологии.—2000.—№ 3.—С. 22—23.
 64. Пат. 2923802 ФРГ, МКИ С 08 В 37/08. Chitosan-glucon complex und Verfahren zu dessen Herstellorg / R. A. A. Muzzarelli (Itali) // Опубл. 20.12.79.
 65. Пат. № 95110112/13, 21211505 Россия, МПК6 С 12 Р 19/04. Способ получения хитозанглюканового комплекса / В. П. Козлов, Е. Г. Наумов, Е. П. Феофилова, В. М. Терешина // Опубл. 10.11.98 в БИ № 3.
 66. Терешина В. М., Меморская А. С., Феофилова Е. П., Немцев Д. В., Козлов В. П. Получение из мицелиальных грибов полисахаридных комплексов и определение степени их деацетилирования // Микробиология.—1997.—66, № 1.—С. 84—89.
 67. Гамаюрова В. С., Котляр М. Н., Шабрукова Н. В., Хаметов Ф. Г. Химическая модификация ХГК // Биотехнология.—1997.—№ 6.—С. 30—33.
 68. Канарская З. А., Гамаюрова В. С., Шабрукова Н. В., Гогелашвили Г. Ш., Грунин Ю. Б., Канарский А. В., Избранова С. И. Влияние условий обработки биомассы мицелиального гриба *Aspergillus niger* на надмолекулярную структуру и адсорбционные свойства выделяемого хитин-глюканового комплекса // Биотехнология.—2000.—№ 3.—С. 63—66.
 69. Kogan G., Machova E., Chorvatovicova D., Sandula J. Chitin-glucon complex of *Aspergillus niger* and its derivatives: antimutagenic and antiinfective activity // Proc. of the 3th Asia-Pacific Chitin and Chitosan Symp.—Keelung, 1998.—Vol. 3.—P. 372—379.
 70. Николаев А. Ф., Быстрова Е. С., Ганичева С. И., Львова Е. Б., Петрова В. А., Нудьга Л. А. Сравнительный термический анализ хитинов различного происхождения // Журн. прикл. химии.—1999.—72, № 7.—С. 1185—1188.
 71. Феофилова Е. П., Немцев Д. В., Терешина В. М., Козлов В. П. Полиаминосакхариды мицелиальных грибов: новые биотехнологии и перспективы практического использования // Прикл. биохимия и микробиология.—1996.—32, № 5.—С. 483—492.
 72. Нудьга Л. А., Петрова В. А., Ганичева С. И., Алексеев В. Л., Петропавловский Г. А. Физико-химические характеристики хитин-глюкановых комплексов различного происхождения // Материалы 5-й конф. «Новые перспективы в исследовании хитина и хитозана».—М.: ВНИРО, 1999.—С. 242—245.
 73. Rollar R., Petraco E., Ashwell G., Robbins P. W., Cabib E. The linkage between chitin and β (1-3)-glucan // J. Biol. Chem.—1995.—270, N 3.—P. 1170—1178.
 74. Sietsma J. H., Wessels J. G. N. Evidence for covalent linkages between chitin and β -glucan in a fungal wall // J. Gen. Microbiol.—1981.—125, N 1.—P. 209—212.
 75. Нудьга Л. А., Петрова В. А., Ганичева С. И., Выборнова Т. В., Львова Е. Б., Алексеев В. Л., Евмененко Г. А., Петропавловский Г. А. Дейтерирование хитин-глюканового комплекса в мицелии гриба *Aspergillus niger* // Прикл. биохимия и микробиология.—1999.—35, № 2.—С. 223—226.
 76. Ганичева С. И., Нудьга Л. А., Быстрова Е. А., Львова Е. Б., Николаев А. Ф. Термические свойства хитин-глюкановых комплексов // Материалы 5-й конф. «Новые перспективы в исследовании хитина и хитозана».—М.: ВНИРО, 1999.—С. 222—224.
 77. Noudga L. A., Petrova V. A., Petropavlovsky G. A. Chemical modification of chitin-glucon complexes // 3rd Int. conf. of the Eur. Chitin Soc. «EUCHIS 99».—Potsdam, 1999.—P. 98.
 78. Kogan G., Rauko P., Machova E., Chorvatovicova D., Sandula J. Diverse biological effects of fungal chitin-glucon complex // 3rd Int. conf. of the Eur. Chitin Soc. «EUCHIS 99».—Potsdam, 1999.—P. 40.
 79. Горовой Л. Ф., Петюшенко А. П. Механизмы сорбции ионов металлов грибными хитинсодержащими материалами // Материалы 5-й конф. «Новые перспективы в исследовании хитина и хитозана».—М.: ВНИРО, 1999.—С. 134—136.
 80. Muzzarelli R. A. A., Tanfani F. The chelating ability of chitinous materials from *Aspergillus niger*, *Streptomyces*, *Mucor rouxii*, *Phycomyces blakesleeanus* and *Choanephora cucurbitarum* // Proc. of the Second Int. Conf. on Chitin and Chitosan / Eds S. Hirano, S. Tokura.—Sapporo, 1982.—P. 183—186.
 81. Muzzarelli R. A. A., Tanfani F., Scarpini G. Chelating, film-forming, and coagulating ability of the chitosan-glucon complex from *Aspergillus niger* industrial wastes // Biotechnol. and Bioeng.—1980.—22.—P. 885—896.
 82. Muzzarelli R. A. A., Tanfani F., Scarpini G., Tucci E. Removal and recovery of cupric and mercuric ions from solutions using chitosan-gluconal from *Aspergillus niger* // J. Appl. Biochem.—1980.—N 2.—P. 54—59.
 83. Терешина В. М., Марьин А. П., Косяков В. Н., Козлов В. П., Феофилова Е. П. Различная способность полисахаридов клеточной стенки *Aspergillus niger* к сорбции металлов // Прикл. биохимия и микробиология.—1999.—35, № 4.—С. 432—436.
 84. Феофилова Е. П., Марьин А. П., Шляпников Ю. А. Фундаментальные науки — народному хозяйству.—М.: Наука, 1990.—271 с.
 85. Seo H., Kimekura Y. Chitin, Chitosan.—New York: Plenum press, 1989.—653 p.
 86. Тесленко А. Я., Воеводина И. Н., Николаева С. В. Совершенствование производства хитина и хитозана из панцирьсодержащих отходов крыла и пути их использования.—М.: ВНИРО, 1992.—112 с.
 87. Тесленко А. Я., Попов В. Г. Хитин и его производные в биотехнологии.—М., 1982.—44 с.
 88. Machova E., Kogan G., Chorvatovicova D., Sandula J. Ultrasonic depolymerization of the chitin-glucon complex from *Aspergillus niger* and antimutagenic activity of its product // Ultrasonics Sonochem.—1999.—N 6.—P. 111—114.
 89. Muzzarelli R. A. A., Miliani M., Cartolari M., Tarsi R., Tosi G., Muzzarelli C. Polyuronans obtained by regiospecific oxidation of polysaccharides from *Aspergillus niger*, *Trichoderma reesei* and *Saprolegnia* sp. // Carbohydrate Polymers.—2000.—43.—P. 55—61.

УДК 547.995: 576.852.1
Надійшла до редакції 13.09.2000