

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКАЯ И ОБЩАЯ БИОЛОГИЯ / PHYSICAL-CHEMICAL AND GENERAL BIOLOGY

Оригинальная статья / Original article

УДК 661.734.1:66.081

DOI:10.21285/2227-2925-2017-7-2-64-71

СОРБЦИОННЫЕ СВОЙСТВА ХИТИН- И ХИТОЗАНГЛЮКАНОВЫХ БИОКОМПЛЕКСОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ МИЦЕЛИАЛЬНОЙ БИОМАССЫ ГРИБА *ASPERGILLUS NIGER*

© Л.В. Новинюк, П.З. Велинзон, Д.Х. Кулёв

Всероссийский научно-исследовательский институт пищевых добавок,
Российская Федерация, 191014, г. Санкт-Петербург, пр-т Литейный, 55.

*Цель – изучение сорбционных свойств хитинглюканового (ХГК) и хитозанглюканового (ХТЗ ГК) биополимерных комплексов, выделенных из мицелиальной массы гриба *Aspergillus niger* – промышленного отхода производства пищевой лимонной кислоты. Установлено, что диацетилированный продукт – ХТЗ ГК, имеющий первичные аминогруппы, обладает более высокой сорбционной емкостью по отношению к ионам Pb^{2+} и Cu^{2+} (130–140 мг/г) по сравнению с ХГК (50–80 мг/г). Изотермы адсорбции с высоким коэффициентом корреляции описываются уравнениями Лэнгмюра ($R^2 = 0,998$) и Фрейндлиха ($Cu^{2+} - R^2 = 0,98$, $Pb^{2+} - R^2 = 0,95$). Рентгеноструктурным анализом установлено наличие в образцах новой фазы комплексных хелатных структур. Результаты исследований свидетельствуют о возможности получения из мицелиальных отходов хитин- и хитозанглюкановых биополимеров с высокой сорбционной способностью и перспективности использования их для извлечения ионов меди, свинца и других тяжелых металлов.*

*Ключевые слова: мицелий, *Aspergillus niger*, хитинглюкановый комплекс, хитозанглюкановый комплекс, сорбция, изотермы Лэнгмюра и Фрейндлиха.*

Формат цитирования: Новинюк Л.В., Велинзон П.З., Кулёв Д.Х. Сорбционные свойства хитин- и хитозанглюкановых биоконплексов, выделенных из мицелиальной биомассы гриба *Aspergillus niger* // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2017. Т. 7, N 2. С. 64–71. DOI:10.21285/2227-2925-2017-7-2-64-71

SORPTION PROPERTIES OF CHITIN- AND CHITOSAN-GLUCAN BIO-COMPLEXES ISOLATED FROM ASPERGILLUS NIGER FUNGAL MYCELIA BIOMASS

© L.V. Novinyuk, P.Z. Velinzon, D.Kh. Kulev

All-Russia Research Institute for Food Additives «VNIPD»,
55, Liteiny1 Ave., St. Petersburg, 191014, Russian Federation

*The work aims to study sorption properties of chitin-glucan (ChGC) and chitosan-glucan (CsGC) biopolymer complexes isolated from *Aspergillus niger* fungal mycelia biomass, a citric acid production waste. According to the obtained data, the sorption capacity of the diacetylated CsGC with primary amine groups is higher against Pb^{2+} and Cu^{2+} ions (130-140 mg/g) as compared with ChGC (50-80 mg/g). Langmuir and Freundlich equations govern adsorption isotherms with high correlation parameters ($R^2=0,998$) and ($Cu^{2+} - R^2=0,98$, $Pb^{2+} - R^2=0,95$) correspondingly. X-ray structural analysis states the samples have a new phase of sorbed ions with functional groups. The study results show it is possible to obtain chitin-glucan and chitosan-glucan bio-complexes isolated from mycelia wastes with high sorption capacity and their application for copper, lead and other heavy metals ions removal has a great future.*

*Keywords: mycelium, *Aspergillus niger*, chitin-glucan complex, chitosan-glucan complex, sorption, Langmuir and Freundlich isotherms*

For citation: Novinyuk L.V., Velinzon P.Z., Kulev D.C. Sorption properties of chitin- and chitosan-glucan bio-complexes isolated from aspergillus niger fungal mycelia biomass *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya* [Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology]. 2017, vol. 7, no 2, pp. 64–71 (in Russian). DOI:10.21285/2227-2925-2017-7-1-64-71

ВВЕДЕНИЕ

Хитин (поли-N-ацетил-1,4-D-глюкозамин), представляющий собой структурный аналог целлюлозы, относится к наиболее распространенным в природе азотсодержащим полиаминосахаридам. Хитин является основным компонентом панцирей ракообразных (крабов, креветок, криля), а также входит в состав клеточной стенки грибов [1, 2]. Хитину и его деацетилованному производному хитозану в настоящее время уделяется особое внимание в связи с уникальностью проявляемых ими свойств и широкими возможностями использования их в биотехнологии, медицине, пищевой промышленности, в сельском хозяйстве, косметологии [1, 3]. Эти соединения обладают высокой биологической активностью, ранозаживляющими, противопопухолевыми и радиопротекторными свойствами, способностью связывать и выводить из организма липиды, холестерин, а также различные токсины и бактерии, что позволяет использовать их в качестве энтеросорбентов. Благодаря наличию в составе высокоактивных функциональных аминок групп, они способны образовывать хелатные соединения с катионами тяжелых металлов и радионуклидами и сорбировать их [4, 5]. Особенно важно, что эти природные биополимеры полностью биоразлагаемы и безопасны как для человека, так и для окружающей среды.

В настоящее время хитин получают, главным образом, путем переработки панцирей ракообразных. В то же время, альтернативным сырьевым источником хитина и его производных могут стать мицелиальные отходы производства пищевой лимонной кислоты [6]. Известно, что в клеточной стенке гриба – продуцента *Aspergillus niger* содержится до 40% хитина в виде хитинглюканового комплекса [7]. Имеются сведения о том, что хитозанглюкановые биополимеры из грибной биомассы превосходят хитозан из ракообразных по сорбционным и другим ценным свойствам [8, 9]. В связи с этим изучение сорбционных свойств хитин- и хитозанглюкановых соединений, выделенных из мицелиальной биомассы гриба *Aspergillus niger*, представляет научный и практический интерес.

Цель настоящей работы заключается в изучении сорбционной способности хитин- и хитозансодержащих полиаминосахаридных комплексов, полученных из мицелиальных отходов производства лимонной кислоты. Проводимые исследования направлены на решение экологических задач по утилизации многотоннажных отходов биомассы микробиологических производств с учетом перспективности

использования различных форм выделенных биополимеров для сорбции тяжелых металлов.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В качестве объектов исследования использовались образцы хитинглюканового комплекса и его деацетилованного продукта хитозанглюканового комплекса, полученные по разработанной во Всероссийском научно-исследовательском институте пищевых добавок технологии из промышленных отходов биомассы глубинного производства лимонной кислоты на свекловичной мелассе. Выделение ХГК проводили путем кислотнo-щелочной обработки биомассы, проведения депротенизации и деминерализации с последующим удалением продуктов гидролиза сопутствующих белковых соединений, липидов, пигментов и минеральных веществ. Синтез ХТЗ ГК осуществляли при деацетиловании ХГК воздействием концентрированных растворов гидроксида натрия. Степень деацетилования при этом составляла 82–95%. [10].

Оценку сорбционной способности и изучение кинетических свойств полученных образцов ХГК и ХТЗ ГК проводили в статических условиях при температуре 20 ± 2 °С по сорбции ионов меди (Cu^{2+}) и свинца (Pb^{2+}) из сернокислых и азотнокислых водных растворов этих солей соответственно. Количество сорбированного металла рассчитывали по разности концентрации ионов металла в растворе до и после сорбции. Для определения концентрации Cu^{2+} в растворах использовали метод йодометрического титрования, для определения содержания свинца – колориметрический сульфидный метод, основанный на измерении оптической плотности на спектрофотометре. Перед испытанием сорбентов тщательно измельчали до порошкообразного состояния. Соотношение между жидкой фазой раствора и массой сорбента составляло 1: 2.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

По результатам экспериментальных исследований были получены изотермы сорбции, устанавливающие зависимость величины сорбционной равновесной емкости (a , мг/г) от концентрации сорбата (c , мг/см³). Анализ изотерм адсорбции показывает, что сорбционная способность ХТЗ ГК значительно выше ХГК, как по сорбции ионов Cu^{2+} (рис. 1), так и ионов Pb^{2+} (рис. 2) за счет наличия в хитозанглюкановом комплексе первичных аминок групп ($-\text{NH}_2$), обладающих высокой сорбционной активностью, возможно также за счет отсутствия влияния стерических затруднений, создаваемых

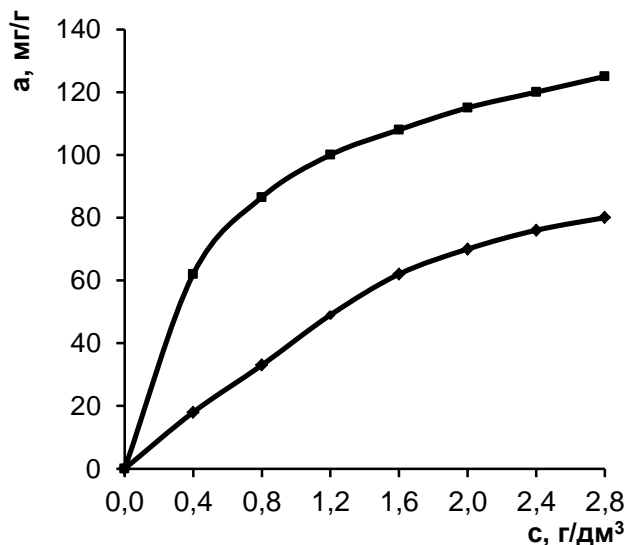


Рис. 1. Изотермы сорбции ионов Cu^{2+} : \blacklozenge – ХГК; \blacksquare – ХТЗ ГК

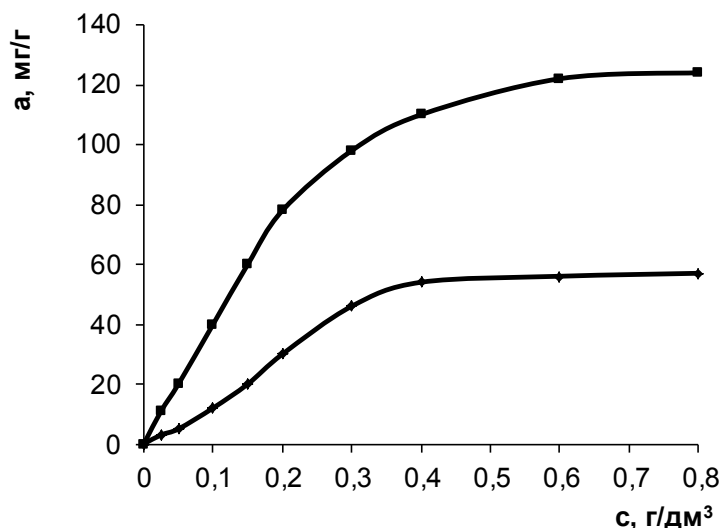


Рис. 2. Изотермы сорбции ионов Pb^{2+} : \blacklozenge – ХГК; \blacksquare – ХТЗ ГК

наличием в ХГК ацетильных групп.

Предельная величина сорбции Cu^{2+} на ХТЗ ГК (140–148 мг/г) превышает сорбционную способность хитозана, полученного из ракообразных (60–65 мг/г), и сопоставима с сорбционной емкостью катионита КУ-2-8 (130–135 мг/г) [8].

По характеру кривых начальный участок которых выпукло выгнут относительно оси концентраций, полученные изотермы можно отнести к классу изотерм Лэнгмюра. Причем, при сорбции Pb^{2+} явно прослеживается выход кривых на плато при концентрации (с) выше 0,5 г/дм³, что свидетельствует о полном насыщении адсорбционных центров. Однако при сорбции ионов Cu^{2+} выхода на плато не

наблюдается. Лишь при концентрации, превышающей 1,6 г/дм³, происходит некоторая стабилизация сорбционного процесса.

Для аналитического выражения изотерм сорбции использовали эмпирические уравнения Лэнгмюра (1) и Фрейндлиха (2):

$$a = \frac{a_{\max} \cdot k \cdot c_p}{1 + k \cdot c_p} ;$$

$$a = k_1 \cdot c_p^{\frac{1}{n}} ;$$

где a – равновесное количество адсорбированного вещества при данной температуре, мг/г; c_p – концентрация сорбата в растворе

при равновесии, г/дм^3 ; a_{max} и k – константы уравнения Лэнгмюра, представляющие собой насыщающую способность монослоя и константу сорбционного равновесия соответственно; k_1 и $\frac{1}{n}$ – константы уравнения Фрейндлиха.

Математическая обработка изотерм адсорбции, графически представленных в координатах $1/a = f(1/c)$ и $\ln a = f(\ln c)$ (рис. 3 и 4), показывает, что процесс сорбции ионов Cu^{2+} и Pb^{2+} на ХГК и ХТЗ ГК адекватно (коэффициент корреляции $R^2 = 0,998$) описывается теорети-

ческой моделью Лэнгмюра, характеризующей равновесную адсорбцию на гомогенной поверхности твердой фазы, у которой адсорбционные центры энергетически равноценны.

С некоторым отклонением от теоретического ($R^2 = 0,95-0,98$) изотермы адсорбции Cu^{2+} и Pb^{2+} на ХГК и ХТЗ ГК описываются уравнением Фрейндлиха, причем с меньшей адекватностью при сорбции свинца (рис. 5 и 6).

С некоторым отклонением от теоретического ($R^2 = 0,95-0,98$) изотермы адсорбции Cu^{2+} и Pb^{2+} на ХГК и ХТЗ ГК описываются уравнением Фрейндлиха, причем с меньшей адекватностью при сорбции свинца (рис. 5 и 6).

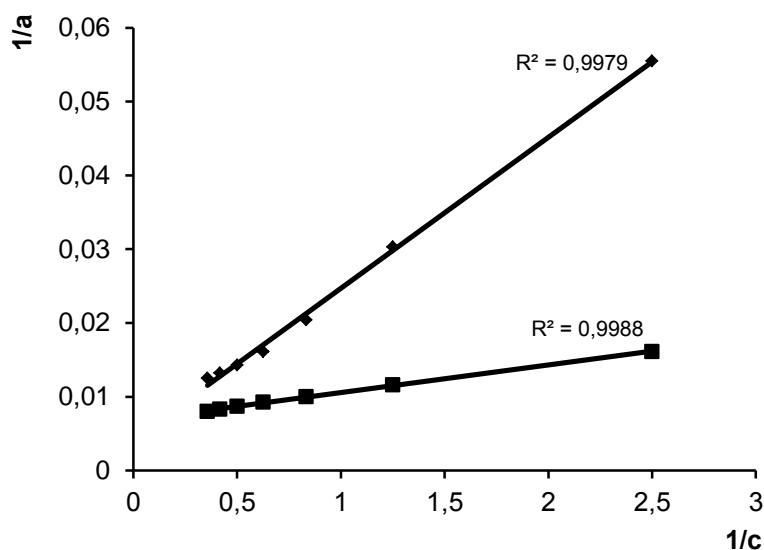


Рис. 3. Изотермы сорбции ионов Cu^{2+} в координатах уравнения Лэнгмюра: \blacklozenge – ХГК; \blacksquare – ХТЗ ГК

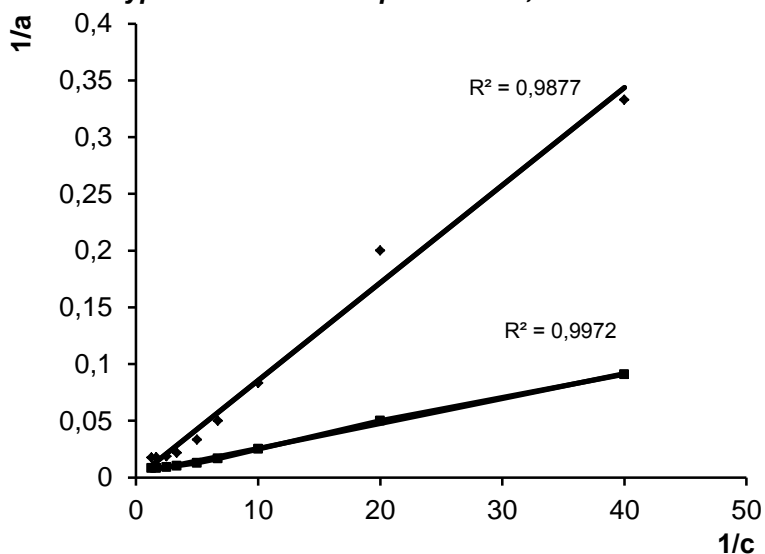


Рис. 4. Изотермы сорбции ионов Pb^{2+} в координатах уравнения Лэнгмюра: \blacklozenge – ХГК; \blacksquare – ХТЗ ГК

Изучение кинетических закономерностей процессов сорбции катионов Cu^{2+} и Pb^{2+} позволило установить, что адсорбционное взаимодействие протекает достаточно интенсивно (рис. 7 и 8). Равновесие при сорбции на ХТЗ ГК достигается практически за 3 ч, в то время как на ХГК процесс протекает гораздо медленнее, равновесие при этом достигается за 5–6 ч, что можно объяснить более медленным набуханием сорбента и постепенным увеличением доступности сорбционноактивных центров. Возникающие диффузионные затруднения при сорбции обуславливают протекание процесса, в основном, в поверхностных слоях ХГК. Лимитирующей стадией оказывается внешняя

диффузия сорбата.

Механизм взаимодействия ионов металлов с хитозангликозидным сорбентом предполагает образование прочных комплексных хелатных соединений сорбируемых ионов с функциональными группами $-\text{NH}_2$ и $-\text{OH}$ на основе ионной и координационной связи.

Выполненные рентгеноструктурные исследования ХТЗ ГК показали наличие новой фазы в образцах после сорбции Cu^{2+} . Этой фазе отвечают интенсивные рефлексии на рентгенограммах в области углов скольжения 2θ , равных 12,4997; 25,3969; 32,9020; 34,0131; 36,8401; 38,2853 градусов.

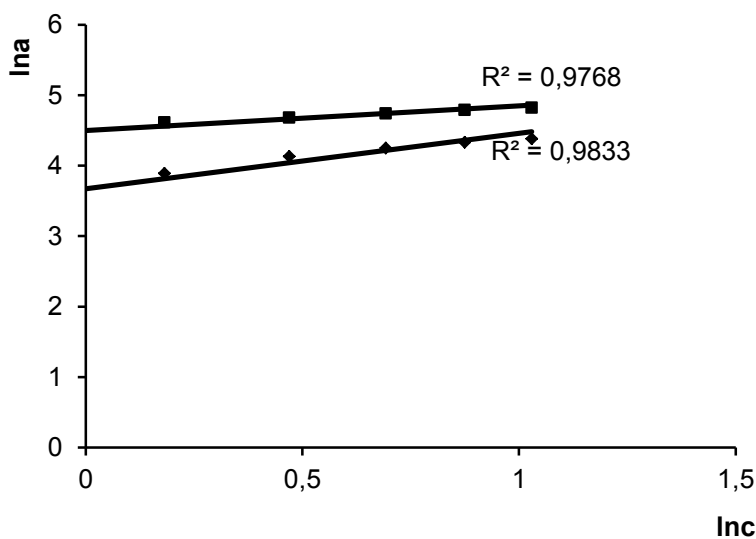


Рис. 5. Изотермы сорбции ионов Cu^{2+} в координатах уравнения Фрейндлиха: \blacklozenge – ХГК; \blacksquare – ХТЗ ГК

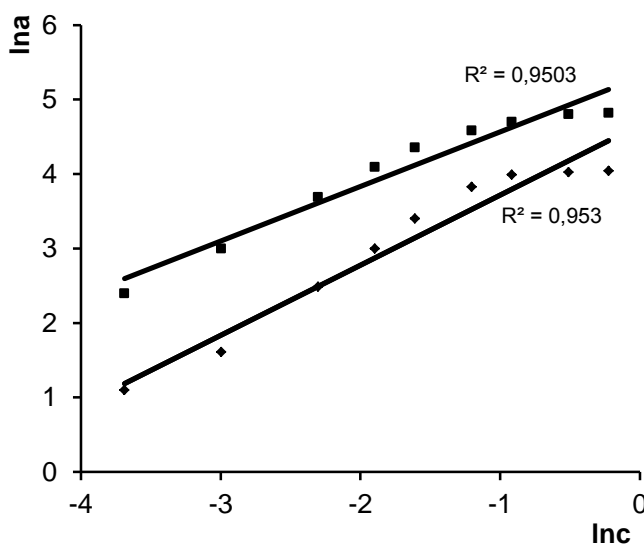


Рис. 6. Изотермы сорбции ионов Pb^{2+} в координатах уравнения Фрейндлиха: \blacklozenge – ХГК; \blacksquare – ХТЗ ГК

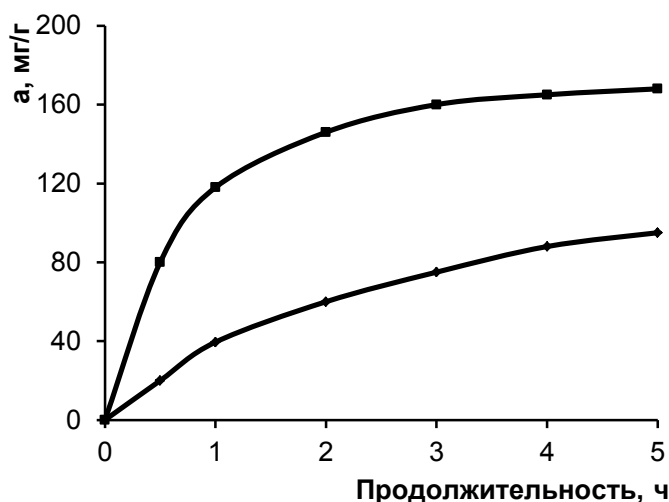


Рис. 7. Кинетика сорбции ионов Cu^{2+} : \blacklozenge – ХГК; \blacksquare – ХТЗ ГК

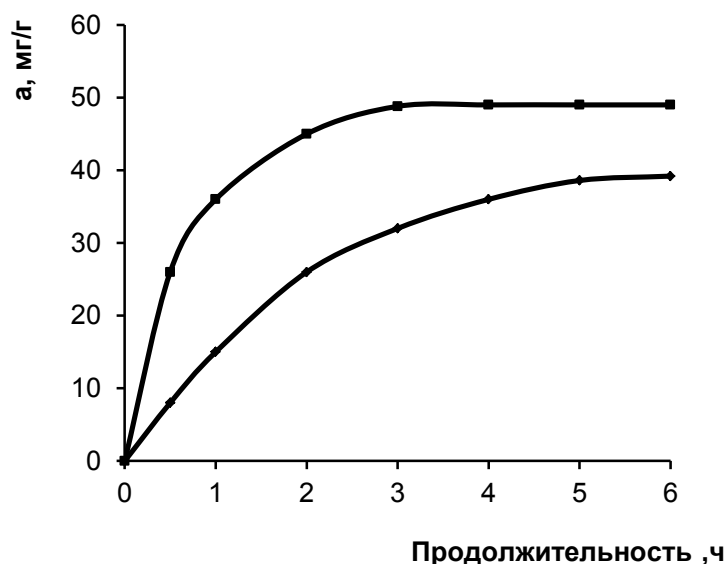


Рис. 8. Кинетика сорбции ионов Pb^{2+} : \blacklozenge – ХГК; \blacksquare – ХТЗ ГК

По всей вероятности, их можно отнести к образованным комплексам. Тем не менее, механизм сорбции металлов носит сложный характер. Очевидно, помимо образования наиболее простых и прочных комплексов: медь-глюкозамин-гидроксил образуются менее устойчивые комплексы при наличии соседней ацетильной группы (характерно для хитина и ХГК). Эти группы способны исказить пространственную ориентацию водородных связей, также участвующих в создании конструкции комплекса. Возможна также сорбция образующегося гидроксида меди развитой поверхностью образцов ХГК и ХТЗ ГК. Этот вопрос требует более детального изучения. Вместе с тем,

следует отметить, что данные рентгеноструктурного анализа можно рассматривать как подтверждение появления новой фазы в образцах ХТЗ ГК после сорбции ионов меди

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные исследования по сорбции ионов Cu^{2+} и Pb^{2+} на хитин и хитозанглюконовых биополимерах, выделенных из промышленных мицелиальных отходов производства пищевой лимонной кислоты, позволили оценить их сорбционную способность. Установлено, что деацетилированный биокомплекс ХТЗ ГК с первичными аминогруппами обладает более высокой предельной величиной сорбции

ионов Pb^{2+} и Cu^{2+} по сравнению с ХГК. Теоретически изотермы сорбции адекватно описываются уравнением Лэнгмюра с коэффициентом корреляции $R^2 = 0,998$.

Изучение кинетических закономерностей процессов сорбции катионов Cu^{2+} и Pb^{2+} показывает, что адсорбционное равновесие на ХТЗ ГК достигается практически за 3 ч, а на ХГК гораздо медленнее за 5–6 ч. Это обусловлено более длительным набуханием данного сорбента и, как следствие, замедлением диффузии катиона из-за стерических затруднений, обусловленных структурными особенностями ХГК.

Механизм взаимодействия ионов металлов с хитозанглюкановым сорбентом предпо-

ложительно основан на образовании комплексных хелатных соединений сорбируемых ионов с функциональными группами $-NH_2$ и $-OH$ посредством ионной и координационной связей. Результаты выполненных идентификационных испытаний биополимеров с помощью рентгеноструктурного анализа можно рассматривать как подтверждение наличия новой фазы в образцах ХТЗ ГК после сорбции Cu^{2+} из растворов.

Результаты исследований свидетельствуют о целесообразности получения из мицелиальных отходов хитозансодержащих сорбентов и перспективности использования их для сорбции тяжелых металлов.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Хитин и хитозан. Получение, свойства и применение / под ред. К.Г.Скрябина, Г.А. Вихоревой, В.П. Варламова. М.: Наука, 2002. 368 с.
2. Феофилова Е.П. Клеточная стенка грибов. М.: Наука, 1983. 248 с.
3. Ильина А.В., Местечкина Н.М., Курек Д.В., Левов А.Н., Семенюк П.И., Орлов В.Н., Щербухин В.Д., Варламов В.П. Получение, исследование и перспективы использования наночастиц на основе хитозана и галактоманна // Российские нанотехнологии. 2011. Т. 6, N 1-2. С. 143–148.
4. Muzarelli R.A.A., Sipos L.A. Chitosan for the collection from seawater of naturally occurring zinc, cadmium, lead, copper // *Talanta*. 1980. V. 18. P. 853–856.
5. Moattar F., Hayeripour S. Application of Chitin and Zeolite adsorbents for treatment of low level radioactive liquid wastes. 2006. URL: <http://www.ceers.org/ijest/full/v1/no.1/> (accessed November 2010)
6. Ordoñez L., García J., Bolaños G. Producing chitin-glucan complexes from *Aspergillus niger* biomass using subcritical water: III Iberoameri-

can Conference on Supercritical Fluids Cartagena de Indias (Colombia), 2013 г. URL: <http://www.nupeg.ufrn.br/prosciba/prosciba2013/Papers/T3-01.pdf> (accessed 11.09.2016)

7. Феофилова Е.П. Состав и содержание хитин-глюканового комплекса в онтогенезе гриба *Aspergillus niger* // Прикладная биохимия и микробиология. 2006. Т. 42, N 6. С. 624–629.

8. Самонин В.В., Амелина И.Ю., Ведерников Ю.Н., Доильницын В.А. Сорбционные свойства хитозана и возможности его применения для очистки жидких сред // Журнал физической химии. 1999. Т. 73, N 5. С. 880–883.

9. Yurovskikh M.A., Pestov A.V., Kogan G., Skorik Y.A., Yatluk Y.G. Sorption properties of the modified chitin-glucans // Proceedings of 7th Asia-Pacific Chitin and Chitosan Symposium. Busan (Korea). 2006. P. 60–62.

10. Новинюк Л.В., Кулёв Д.Х., Велинзон П.З. Выделение хитин и хитозанглюкановых биополимеров из мицелиальных отходов производства лимонной кислоты // Пищевая промышленность. 2016. N 11. С. 30–31.

REFERENCES

1. *Khitin i khitozan. Poluchenie, svoistva i primenenie* [Chitin and chitosan. Synthesis, properties and application]. Under the editorship of K.G. Skryabin, G.A. Vikhoreva, V.P. Varlamov. Moscow, Nauka Publ., 2002, 368 p.
2. Feofilova E.P. *Kletochnaya stenka gribov* [Fungal cell walls]. Moscow, Nauka Publ., 1983, 248 p.
3. Il'ina A.V., Mestechkina N.M., Kurek D.V., Levov A.N., Semenyk P.I., Orlov V.N., Shcherbukhin V.D., Varlamov V.P. Production, study and application prospects of nanoparticles based on chitosan and galactomannan. *Rossiiskie nanotekhnologii* [Russian nanotechnologies]. 2011, vol.

6, no. 1, pp. 18–23 (in Russian)

4. Muzarelli R.A.A., Sipos L.A. Chitosan for the collection from seawater of naturally occurring zinc, cadmium, lead, copper. *Talanta*. 1980, vol. 18, pp. 853–856.

5. Moattar F., Hayeripour S. Application of Chitin and Zeolite adsorbents for treatment of low level radioactive liquid wastes. 2006. Available at: <http://www.ceers.org/ijest/full/v1/no.1> (accessed November 2010).

6. Ordoñez L., García J., Bolaños G. Producing chitin-glucan complexes from *Aspergillus niger* biomass using subcritical water. Proc. III Iberoamerican Conference on Subcritical Fluids.

Cartagena de Indias Colombia, 2013. Available at: <http://www.nupeg.ufrn.br/prosciba2013/Papers/T3-01.pdf> (accessed 11.09.2016)

7. Feofilova E.P. Composition and content of chitin-glucan complex in *Aspergillus niger* fungal ontogenesis. *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya* [Applied Biochemistry and Microbiology]. 2006, vol. 42, no. 6, pp. 624–629. (in Russian)

8. Samonin V.V., Amelina I.Y., Vedernikov Yu.N. Chitosan sorption properties and opportunity to use it for purification of liquid mediums. *Zhurnal Fizicheskoi Khimii* [Journal of Physical

Chemistry]. 1999, vol. 73, no. 5, pp. 880–883. (in Russian)

9. Yurovskikh M.A., Pestov A.V., Kogan G., Skorik Y.A., Yatluk Y.G. Sorption properties of the modified chitin-glucans. Proc. 7th Asia-Pacific Chitin and Chitosan Symposium, Busan, Korea, 2006, pp. 60–62.

10. Novinyuk L.V., Velinzon P.Z., Kulyov D.H. Isolation of chitin- and chitosan-glucan biopolymers from mycelial waste of citric acid production. *Pishchevaya promyshlennost'* [Food Industry]. 2016, no. 11, pp. 30–31. (in Russian)

Критерии авторства

Новинюк Л.В., Велинзон П.З., Кулёв Д.Х. выполнили экспериментальную работу, на основании полученных результатов провели обобщение и написали рукопись. Новинюк Л.В., Велинзон П.З., Кулёв Д.Х. имеют на статью равные авторские права и несут равную ответственность за плагиат.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ Принадлежность к организации

Людмила В. Новинюк

Всероссийский научно-исследовательский институт пищевых добавок
К.т.н., старший научный сотрудник
Vniipakk55@mail.ru

Полина З. Велинзон

Всероссийский научно-исследовательский институт пищевых добавок
К.т.н., младший научный сотрудник, доцент
Vniipakk55@mail.ru

Дмитрий Х. Кулёв

Всероссийский научно-исследовательский институт пищевых добавок
Д.т.н., профессор
dkulyov@inbox.ru

Contribution

Novinyuk L.V., Velinzon P.Z., Kulev D.C. carried out the experimental work, on the basis of the results summarized the material and wrote the manuscript. Novinyuk L.V., Velinzon P.Z., Kulev D.C. have equal author's rights and bear equal responsibility for plagiarism.

Conflict of interests

The authors declare no conflict of interests regarding the publication of this article.

AVTOR'S INDEX Affiliation

Lyudmila V. Novinyuk

All-Russia Research Institute for Food Additives «VNIIPD»
Ph.D. (Engineering), Senior Research Associate
Vniipakk55@mail.ru

Polina Z. Velinzon

All-Russia Research Institute for Food Additives «VNIIPD»
Ph.D. (Engineering), Research Associate,
Associated Professor
Vniipakk55@mail.ru

Dmitrii Kh. Kulev

All-Russia Research Institute for Food Additives «VNIIPD»
Doctor of Engineering, Professor
dkulyov@inbox.ru

Поступила 16.11.2016

Received 16.11.2016