

9. Zhao Y., Park R.-D., Muzzarelli R.A.A. Chitin Deacetylases: properties and applications. Review // Mur. Drugs. 2010. V. 8. P. 24-46.

**СОРБЦИЯ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ ХИТОЗАН-ГЛЮКАНОВЫМ  
КОМПЛЕКСОМ ИЗ *ASPERGILLUS NIGER***

Буткевич Т.В., Сушинская Н.В., Курченко В.П.

Белорусский государственный университет, г. Минск, kurchenko@tut.by

*Предложена технология переработки мицелиальных отходов *Aspergillus niger*, получаемых при производстве лимонной кислоты. Исследованы сорбционные свойства выделенных хитина и хитозан-глюканового комплекса по отношению к тяжелым металлам: Cd, Co, Mn, Pb. Показана высокая эффективность использования полученных органических сорбентов.*

**Введение.** Техногенные нагрузки на окружающую среду привели к ее значительному загрязнению тяжелыми металлами, радионуклидами, нефтепродуктами и другими вредными для живой природы и человека веществами.

Особую опасность представляют тяжелые металлы, так как они не разлагаются и имеют тенденцию к накоплению. Они включаются в биологический круговорот веществ на длительные периоды времени. Природоохранные мероприятия не могут в полной мере защитить от губительного загрязнения тяжелыми металлами. Для их удаления необходимы активные действия на путях попадания их в организм человека. Особую опасность представляют такие металлы, как ртуть и кадмий, поскольку из биологических объектов они практически не выводятся. Не менее опасны и другие металлы: медь, никель, хром и цинк. Извлечение малых количеств этих металлов, концентрирование и дальнейшее безопасное хранение является сложной технологической задачей. Для ее реализации возможно использование сорбционных методов с использованием минеральных, синтетических и органических сорбентов [1].

Органические сорбенты обеспечивают эффективное компактирование металлов. Среди этих сорбентов особое место занимают природные полимеры, хитин и его производное - хитозан. Этот биополимер входит в состав экзоскелета членистоногих, клеточной стенки грибов, водорослей и др. Хитин представляет собой линейный полисахарид, состоящий из N-ацетил-2-амино-2-дезоксид-Д-глюкопиранозы, связанной 1-4- гликозидными связями [2, 3].

Хитин нерастворим в воде, щелочах, разбавленных кислотах, спиртах, других органических растворителях, и растворим в концентрированных соляной, серной и муравьиной кислотах, а также в некоторых солевых

растворах при нагревании. Он способен образовывать комплексы с органическими веществами: холестерином, белками, пептидами, а также обладает высокой сорбционной способностью к тяжелым металлам, радионуклидам [2, 3].

Хитозан – деацетилированное производное хитина, представляющее собой полимер, состоящий из  $\beta$ -D-глюкозаминовых звеньев. В основе получения хитозана лежит реакция отщепления от структурной единицы хитина – ацетильной группировки. В настоящее время отсутствует общепринятые критерии для различения хитозана и хитина в зависимости от содержания N-ацетильных групп. Для удобства эта условная граница может быть проведена по степени ацетилирования, которая у хитина составляет более 50%, а у хитозана менее 50%. В отличие от практически нерастворимого хитина, хитозан растворим в разбавленных неорганических кислотах и органических: муравьиной, уксусной, янтарной, молочной, яблочной, но нерастворим в лимонной и винной кислотах. Хитозан обладает разнообразной биологической активностью. За счет высокого положительного заряда он имеет большое сродство к сорбции молекул белков, пестицидов, красителей, липидов, хелатированию ионов металлов ( $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Hg}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Cr}^{3+}$ ,  $\text{VO}_2^{2+}$ ,  $\text{UO}_2^{2+}$ ) и радионуклидов [2, 3].

Доступным источником получения хитина и хитозана являются грибы. Клеточная стенка почти всех грибов содержит хитин. Содержание хитина различно у грибов разных таксонов и подвержено значительным колебаниям в зависимости от условий культивирования и систематического положения организма, составляют 0,2% до 26% от сухой массы [2].

Высокие сорбционные свойства хитина и хитозана в наибольшей степени проявляются у грибов [4]. Особый интерес вызывают хелатирующие свойства хитозана из низших грибов. Существующие технологии позволяют получить хитозан из промышленных отходов микробиологической промышленности. При производстве лимонной кислоты используется *Aspergillus niger*, мицелиальные отходы которого достигают сотни тонн в год.

В связи с этим актуальным является разработка ресурсосберегающей технологии получения хитина и хитозана из мицелиальных отходов *Aspergillus niger* и их использование для сорбции тяжелых металлов.

### **Материалы и методы**

Объектом исследования являлись хитин и хитозан полученные из мицелиальных отходов производства лимонной кислоты ОАО «Скидельский сахарный комбинат».

Технологическая схема комплексной переработки мицелия включает 3 стадии [5]. Из мицелия удалялись меланиновые пигменты путем их водной экстракции при температуре 80 °С в течение 1 ч. Фильтрацией меланиновая фракция отделяется и высушивается, а осадок идет на переработку для получения хитина и хитозана.

Хитин получали в результате депротонирования твердого осадка мицелля 10%-ным раствором NaOH при температуре 45–55 °С в течение 2 ч, и отделением его фильтрацией с последующей промывкой дистиллированной водой до pH промывных вод 7,0.

Высокомолекулярный хитин деацетилировали 50%-ным раствором NaOH при температуре 125–130 °С в течение 1–1,5 ч. По окончании процесса суспензию охлаждали до 50 °С и фильтровали для получения твердого остатка, который промывался до нейтральных pH промывных вод. Полученный продукт – высокомолекулярный хитозан-глюкановый комплекс, высушивали лиофильно.

Сорбцию тяжелых металлов Pb, Mn, Cd, Co хитином и хитозан-глюкановым комплексом исследовали с использованием pH-метрии. К 15мл бидистиллированной воды добавляли 15 мг хитина и при перемешивании вносили растворы солей порциями по 20мкл. Измеряли pH после стабилизации показаний прибора. Также проводили контрольный опыт, повторяя опыт без добавления хитина.

### Результаты и обсуждение

Ранее показано, что выделить чистый хитозан из грибов обычными методами химической обработки не удастся, а в качестве продукта получается хитозан-глюкановый комплекс. Установлено, что хитозан-глюкановый комплекс, получаемый из низших грибов, может успешно использоваться для извлечения ионов переходных металлов из водных растворов. Однако на эффективность сорбции существенно влияет способ их получения [6]. Более высокие сорбционные характеристики хитозан-глюканового комплекса наблюдались у образцов из *A. niger*, полученных наиболее жесткой обработкой исходного сырья (40%-ный раствор щелочи при температуре кипения). В связи с этим для получения хитозан-глюканового комплекса из мицелля *A. niger* использовались жесткие условия деацетилирования хитина. При переработке мицелиальных отходов *Aspergillus niger* полученных от ОАО «Скидельский сахарный комбинат» был выделен хитин и хитозан-глюкановый комплекс (таблица 1).

Таблица 1 – Выход хитина и хитозан-глюканового комплекса из мицелля *Aspergillus niger*

| № п/п | Продукт        | Вес сырого/сухого вещества, г | Сырой продукт | Сухой вес | Выход, в % от сухого сырья |
|-------|----------------|-------------------------------|---------------|-----------|----------------------------|
| 1     | Исходное сырье | 22,0/3,44                     |               | 3,44      | 15,6                       |
| 2     | Хитин          | 155,0/24,2                    | 220,0         | 6,44      | 26,6                       |
| 3     | Хитозан        | 155,0/24,2                    | 220,0         | 5,22      | 21,5                       |

Механизм сорбции тяжелых металлов полученным хитином и хитозан-глюкановым комплексом определяются природой и валентным состоянием сорбируемого металла, а также химическим составом и pH среды. Сорбционные свойства хитина и его производных детально обобщены

Л.Ф. Горовой и В.Н. Косяковым [1]. Ими предложен подход систематизации имеющихся экспериментальных данных в порядке расположения этих металлов в Периодической Таблице Менделеева. Этот подход использовался при анализе сорбционных свойств полученного нами хитина и хитозан-глюканового комплекса из *A. niger*. Проведено сравнительное исследование эффективности сорбции металлов из IIb группы - Cd, IVa группы - Pb, VIIb группы - Mn, VIIIb группы - Co полученными сорбентами. В таблице 2 представлены результаты сорбции тяжелых металлов в расчете количество сорбированного металла(мг) на мг сорбента.

Таблица 2 – Результаты сорбции тяжелых металлов

| Сорбент, мг                 | IIb - Cd, мг | IVa - Pb, мг | VIIb - Mn, мг | VIIIb - Co, мг |
|-----------------------------|--------------|--------------|---------------|----------------|
| Хитин                       | 0,730        | 0,101        | 0,392         | 0,398          |
| Хитозан-глюкановый комплекс | 0,973        | 0,455        | 0,817         | 0,930          |

*Металлы второй группы.* Исследование сорбции основных представителей второй группы Периодической Таблицы, щелочноземельных элементов: Be, Mg, Ca, Sr, Ba, Ra, показало, что они как и щелочные металлы, на хитине и хитозане сорбируются очень плохо, или не сорбируются вообще [7].

Вторая подгруппа: цинк, кадмий, ртуть, состоит из представителей переходных металлов - носителей d-электронов [4]. Полученные нами результаты свидетельствуют о том, что хитин и хитозан-глюкановый комплекс эффективно связывает кадмий (Таблица 2). Хитин и хитозан-глюкановый комплекс гораздо лучше сорбируют ионы переходных металлов, обладающие d-электронами. При этом эффективность сорбции увеличивается в ряду: цинк-кадмий-ртуть [8], что полностью коррелирует с увеличением ионного радиуса сорбируемого металла.

*Металлы четвертой группы.* Из металлов основной подгруппы s,p-элементов: Ge, Sn, Pb достаточно хорошо изучена сорбция свинца, представляющего наибольшую опасность для окружающей среды и здоровья человека. Связывание свинца в сорбционных системах, использующих хитин или его производные, неоднозначно и в значительной степени зависит от типа модификации и химического состава растворов. В результате проведенных исследований нами показано что, хитин малоэффективно связывает свинец в то время как сорбционная емкость хитозан-глюканового комплекса в 4,5 раза выше (таблица 2). Ранее проведенные исследования свидетельствуют, что при сорбции чистыми хитином и хитозаном свинец извлекается довольно умеренно [7], располагаясь в конце ряда Cu, Zn, Cг, Cd, Pb, что связано с увеличением ионного радиуса металла.

*Элементы седьмой группы.* Элементы основной подгруппы - галогены - имеют большое разнообразие валентных состояний, но чаще

всего входят в состав анионов и принимают косвенное участие в процессах сорбции ионов металлов.

Из подгруппы d-элементов седьмой группы исследована сорбция практически только одного марганца, который на хитине и хитозане сорбируется относительно плохо, даже в хлоридной и сульфатной среде [7]. Обменная емкость хитозана по отношению к марганцу составляет всего лишь 0,2 ммоль/г [9]. Сорбционные свойства полученного нами хитина ионов ацетата марганца также показали его низкую обменную емкость. В результате дезацетилирования полученный хитозан-глюкановый комплекс в 2,1 раза эффективнее связывал марганец в двухвалентном состоянии, чем хитин (таблица 2).

*Восьмая группа.* Сорбируемости элементов восьмой группы хитином и хитозаном лучше всего изучены на триаде железо-кобальт-никель. Несмотря на значительное сходство химических свойств этих элементов, эффективность их сорбции на хитозане заметно отличается: хуже всего сорбируется двухвалентное железо и лучше всего - никель [7]. В таком же порядке увеличиваются и емкостные характеристики хитозана по отношению к этим элементам. Эффективность сорбции ионов Co полученным хитином сравнительно невелика в то время как обменная емкость хитозан-глюканового комплекса выше в 2,3 раза (таблица 2).

Закономерности сорбции элементов этой группы можно проследить на триаде ( $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ) и последних элементах триад ( $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Pd}^{2+}$ ,  $\text{Pt}^{4+}$ ). В первом случае увеличение числа d-элементов приводит к увеличению сорбируемости, несмотря на то, что ионный радиус при этом несколько уменьшается. Во втором - увеличение порядкового номера элемента сопровождается увеличением сорбируемости, хотя строго говоря, сравнивать можно только ионы никеля и палладия, имеющие одинаковый заряд, а здесь переход сопровождается увеличением ионного радиуса [1].

**Заключение.** Хитозан-глюкановый комплекс, выделенный из грибного мицелия, обладает более высокой сорбционной способностью, чем хитин, выделенный из клеточной стенки грибов. Об этом свидетельствует высокая сорбционная способность хитозана по отношению к ионам тяжелых металлов Cd, Co, Mn, Pb. Поскольку в составе хитина и его производных имеется несколько функциональных групп, механизм сорбции тяжелых металлов имеет сложный характер. В сорбционном процессе принимают участие, в основном, ацетиламидные и аминокислотные группы, а также связывающие атомы кислорода. Имеющиеся данные по сорбции ионов различных металлов позволяют выявить некоторые закономерности. Так главной особенностью хитина и хитозана является проявление их сорбционной способности начиная с переходных металлов, обладающих d-электронами. Общим для элементов каждой из групп Периодической Системы являются: повышенная сорбируемость представителей d-элементов по сравнению с s-элементами. Возрастание

сорбируемости, связано с увеличением порядкового номера элемента, что в свою очередь коррелирует с увеличением ионного радиуса. Полученные результаты свидетельствуют о перспективности использования хитозан-глюканового комплекса выделенного из мицелия *A. niger* для переработки промышленных отходов с целью удаления опасных примесей и регенерации ценных металлов.

#### Список литературы:

1. Горовой, Л.Ф. Сорбционные свойства хитина и его производных. "Хитин и хитозан. Получение, свойства и применение"/ Л.Ф. Горовой, В.Н. Косяков; под.ред. К.Г. Скрябина, Г.А. Вихоревой, В.П. Варламова. – М: Наука, 2002. – С. 217–246.
2. Хитозан / под.ред. К.Г. Скрябина, С.Н. Михайлова, В.П. Варламова. – М.: Центр "Биоинженерия" РАН, 2013. – 593 с.
3. Курченко В.П. Технологические основы получения хитина и хитозана из насекомых/ В.П. Курченко, С.В. Буга, Н.В. Петрашкевич, Т.В. Буткевич, А.А. Ветошкин, Е.Л. Демченков, А.Д. Лодыгин, О.Ю. Зуева, В.П. Варламов, О.И. Бородин // Труды БГУ. – 2016. – Т. 11, ч. 1. – С. 110 – 126.
4. Seeger R. // Dtsch. Lebensmittel-Rdsch. 1977. – V. 73, N 5. – P. 160–162.
5. Курченко В.П. Физико-химические свойства биологически активных соединений из подмора пчел (*Apis mellifera* L.) / В.П. Курченко, Т.В. Буткевич, Н.В. Пушкина, О.Ю. Зуева, В.П. Варламов, В.М. Завальнюк, О.И. Бородин, С.В. Буга// Природные ресурсы – 2016. –№ 2 – С. 1–6.
6. Muzzarelli R.A.A., Tanfani F., Scarpini G., et al. // J. Appl. Biochem. – 1980. – V. 2. N 1. – P. 54–59.
7. Muzzarelli, R.A.A. Chitin. – Oxford: Pergamon Press, 1977. – 305 p.
8. Masri M.S., Reuter F.W., Friedman M. // J. Appl. Polym. Sci. – 1974. – V. 18. – P. 675–681.
9. Koshijima Tetsuo, Tanaka Ryutaro, Muraki Einosuke et al. // Gellulose Chem. Technol. – 1973. – V. 7. – P. 197–208.

#### ДНК-ШТРИХКОДИРОВАНИЕ РЕЦЕНТНЫХ ВИДОВ ТЛЕЙ ФАУНЫ БЕЛАРУСИ

Воробьева М.М., Воронова Н.В., Буга С.В.  
Белорусский государственный университет, г. Минск  
masch.89@mail.ru

*В результате выполненных исследований были расшифрованы и депонированы в GenBank нуклеотидные последовательности гена субъединицы 1 цитохромоксидазы с (COI) и гена субъединицы  $\alpha$  фактора элонгации 1 (EF1 $\alpha$ ) 15 видов тлей фауны Беларуси.*