

На правах рукописи

Жильцов

Жильцов Дмитрий Владимирович

**ХИТИНСОДЕРЖАЩИЕ КОМПЛЕКСЫ ПРИРОДНЫХ МАТРИЦ:
ВЫДЕЛЕНИЕ, СТРУКТУРА, СВОЙСТВА**

2.6.11 – Технология и переработка синтетических и природных полимеров и
композитов

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Архангельск 2025

Работа выполнена в лаборатории химии растительных биополимеров Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр комплексного изучения Арктики имени академика Н.П. Лаверова Уральского отделения Российской академии наук»

Научный руководитель:

Бровко Ольга Степановна,
кандидат химических наук, доцент
ФГБУН ФИЦКИА им.Н.П. Лаверова
УрО РАН, ведущий научный сотрудник

Официальные оппоненты:

Варламов Валерий Петрович,
доктор химических наук, профессор
ФГУ «Федеральный исследовательский центр
"Фундаментальные основы биотехнологии"
РАН» (г. Москва), заведующий лабораторией
инженерии биополимеров

Паршина Анастасия Эдуардовна,
кандидат химических наук,
филиал ФГБУ «Петербургский институт
ядерной физики им. Б.П. Константинова»
Национального исследовательского центра
«Курчатовский институт» –
Институт высокомолекулярных соединений
(г. Санкт-Петербург), научный сотрудник

Ведущая организация:

ФГБОУ ВО "Санкт-Петербургский
государственный университет промышленных
технологий и дизайна" (г. Санкт-Петербург)

Защита состоится «___» _____ на заседании диссертационного совета Д 24.2.394.05 при ФГАОУ ВО «Северный (Арктический) федеральный университет имени М.В. Ломоносова» по адресу: 163002, г. Архангельск, набережная Северной Двины, 17, ауд. 1220.

С диссертацией и авторефератом можно ознакомиться в библиотеке Северного (Арктического) федерального университета имени М.В. Ломоносова» и на сайте www.narfu.ru.

Автореферат разослан «_____» _____ 2025 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
кандидат химических наук, доцент

Т.Э. Скребец

Общая характеристика работы

Актуальность темы. Хитин (ХТ) - природный полимер, являющийся вторым по распространенности полисахаридом (ПС) после целлюлозы. Интерес к ХТ и его производному хитозану неуклонно растет, количество публикаций за последние 10 лет увеличилось более чем в 12 раз.

Хитин называют биополимером XXI века. Благодаря таким уникальным свойствам как биосовместимость, биоразлагаемость, нетоксичность, способность к выведению из организма и окружающей среды радионуклидов, токсичных веществ, болезнетворных микроорганизмов ХТ способствует сохранению здоровья и продолжительности жизни человека.

Традиционными источниками ХТ являются покрывные оболочки ракообразных (панцирь-содержащее сырье - ПСС). Однако при получении ХТ из ПСС образуется большое количество загрязненных сточных вод, что негативно сказывается на окружающей среде. ХТ, выделенный из альтернативных источников (насекомые, грибы, некоторые виды бактерий и диатомовые водоросли), лишен этих недостатков, кроме того, известно, что грибной ХТ обладает более однородной молекулярной массой, вязкостью растворов и распределением заряда по сравнению с полимером животного происхождения. Кроме того грибная биомасса содержит незначительное количество белков и минеральных компонентов, в частности, тяжелых металлов, таких как никель и медь. Выход, компонентный состав и, в конечном итоге, свойства ХТ, выделенного из различных природных матриц, зависит как от текстуры исходной природной матрицы, так и от метода и условий получения ХТ.

Актуальными являются исследования, связанные с поиском новых альтернативных возобновляемых источников ХТ, разработкой эффективных способов его выделения из природных матриц и оценкой потребительских свойств получаемых продуктов. Перспективными и малоизученными источниками ХТ являются дереворазрушающие грибы и лишайники, в которых хитин образует прочно связанные комплексы с другими ПС и полифенолами. Структурное разнообразие природных хитинсодержащих комплексов (ХСК) дереворазрушающих грибов и лишайников, развитая поверхность, полифункциональность позволяют в дальнейшем использовать их в качестве сорбентов (энтеросорбентов) в фармацевтической промышленности, экологии, медицине и ветеринарии.

Работа выполнена при финансовой поддержке государственного задания Минобрнауки РФ на 2022-2024 гг. (№ 122011700252-1), а также министерства экономического развития, промышленности и науки Архангельской области в рамках проектов «Получение нового хитинсодержащего материала (продукта) ветеринарно-биологического назначения из перспективных растительных источников Архангельской области» (соглашение №2 от 22.09.2021, 2021-2022 гг.) и «Комплексная переработка биомассы дереворазрушающих грибов с получением биологически активных веществ» (№ 122111400010-7, 2022-2023 гг.).

Цель диссертационной работы – получение хитинсодержащих комплексов из дереворазрушающих грибов и лишайников, изучение их структуры и свойств.

Для достижения поставленной цели необходимо решить следующие задачи:

- 1) предложить наилучшие условия выделения хитинсодержащих комплексов из лишайников и дереворазрушающих грибов методами кислотно-щелочного гидролиза и сверхкритической флюидной экстракции и охарактеризовать их химический состав;
- 2) исследовать структуру и физико-химические свойства хитинсодержащих комплексов дереворазрушающих грибов и лишайников с применением современных методов анализа (УФ- и ИК-спектроскопия, электронная микроскопия, рентгенодифрактометрический и элементный анализ);

3) изучить сорбционные свойства хитинсодержащих комплексов дереворазрушающих грибов и лишайников относительно ряда ионов тяжелых металлов и органических красителей;

4) оценить биологическую активность хитинсодержащих комплексов дереворазрушающих грибов и лишайников относительно различных штаммов грамположительных и грамотрицательных бактерий.

Научная новизна. Впервые предложены эффективные способы выделения хитинсодержащих комплексов из биомассы дереворазрушающих грибов и лишайников с применением методов кислотного-щелочного гидролиза и сверхкритической флюидной экстракции диоксидом углерода. Установлено влияние вида обработки исходной биомассы гриба и лишайника на выход и сорбционные свойства хитинсодержащих комплексов, а также содержание хитина в них.

Установлено, что хитинсодержащие комплексы дереворазрушающих грибов и лишайников и хитин ракообразных имеют схожую волокнистую структуру, а низкая степень кристалличности хитинсодержащих комплексов (до 5,2 %) обусловлена преобладанием аморфных участков над кристаллическими.

Показано, что на поверхности хитинсодержащих комплексов в растворе образуются как кислотные (pK_a : 2,6; 4,6; 5,9; 6,5 и 7,1), соответствующие $-COOH$ группам урановых, ароматических и алифатических кислот, $-NH_2$ группам хитина и хитозана, так и основные (pK_a : 8,8; 9,7; 10 и 12,4), принадлежащие $-NH_2$ группам белка и $-OH_{(фен)}$ лигнина и меланина центры связывания, что определяется их полиамфолитной природой.

Впервые установлено, что хитинсодержащие комплексы дереворазрушающих грибов и лишайников обладают высокой сорбционной емкостью относительно ряда ионов тяжелых металлов (до 404 мг/г) и органических красителей (до 350 мг/г). Показана их высокая биологическая активность по отношению к штаммам как грамположительных, так и грамотрицательных бактерий.

Теоретическая и практическая значимость. Выявлены общие характеристики и особенности структуры и свойств хитинсодержащих комплексов, выделенных из различных природных матриц. Получены и охарактеризованы новые сорбционные материалы на основе хитина дереворазрушающих грибов и лишайников, соответствующие требованиям, предъявляемым к энтеросорбентам, с показанной высокой эффективностью по отношению к среднемолекулярным токсикантам (органическим красителям), ионам тяжелых металлов и биологической активностью против различных штаммов грамположительных и грамотрицательных бактерий (Патент РФ № 2787886).

Личный вклад автора состоит в непосредственном участии в постановке и реализации задач исследований, проведении экспериментальных работ, выполнении расчетов, систематизации и интерпретации полученных результатов, оформлении исследований в виде публикаций и представлении научных докладов на российских и международных конференциях.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Разработка наилучших условий выделения хитинсодержащих комплексов из дереворазрушающих грибов и лишайников. Компонентный состав полученных хитинсодержащих комплексов.

2. Физико-химическая характеристика хитинсодержащих комплексов, выделенных из дереворазрушающих грибов и лишайников.

3. Оценка сорбционных и антибактериальных свойств выделенных хитинсодержащих комплексов.

Степень достоверности и апробация работы. Достоверность исследования подтверждается выполнением работ на высоком научно-методическом уровне с использованием современного оборудования и сертифицированных приборов, а также сопоставимостью полученных экспериментальных данных с литературными сведениями отечественных и зарубежных авторов по тематике исследования. Основные положения

работы опубликованы в рецензируемых изданиях – российских и международных научных журналах, а также апробированы на российских и международных конференциях.

Основные положения диссертационной работы были представлены на конференциях: VII, VIII, IX, X Международная конференция «Физикохимия растительных полимеров» (Архангельск, 2017, 2019, 2021, 2023 гг.); IX, XIII Всероссийская школа-конференция молодых учёных «Сверхкритические флюидные технологии в решении экологических проблем» (Барнаул, 2018 г.; Архангельск, 2022 г.), Общероссийская конференция с международным участием «Современные перспективы в исследовании хитина и хитозана» (Севастополь, 2018 г.; Архангельск, 2021 г.), II, III, IV Международная молодежная научно-практическая конференция «Арктические исследования: от экстенсивного освоения к комплексному развитию» (Архангельск, 2020, 2022, 2024 гг.), VI Всероссийская конференция «Химия и химическая технология: достижения и перспективы» (Кемерово, 2022 г.), Международная конференция «Лишайники: от молекул до экосистем» (Сыктывкар, 2024 г.).

Публикации. По теме диссертационного исследования опубликовано 17 работ, из них 2 статьи в журналах, входящих в международные базы данных Web of Science и Scopus, и 2 статьи в журналах, рекомендованных ВАК РФ. Получен патент РФ № 2787886.

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из введения, списка сокращений и трех глав: обзора литературы, методической части и экспериментальной части, а также одного приложения, выводов и списка литературы. Содержание работы изложено на 114 страницах машинописного текста, включая 27 рисунков и 14 таблиц. Библиография содержит 202 наименования.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во введении обоснована актуальность темы, поставлена цель работы, обоснована ее научная и практическая значимость.

В первой главе приведен литературный обзор по тематике исследования. В обзоре рассмотрены структура, свойства и применение ХТ. Показаны особенности строения ХТ и его комплексов, выделенных из различных природных источников, включающих покрывные оболочки ракообразных и насекомых, грибы, бактериальную биомассу. Отмечено, что ХТ грибного происхождения имеет ряд преимуществ по сравнению с животным. Проанализированы основные методы и подходы выделения ХТ и его комплексов из различных источников. Показано, что такие методы выделения ХТ из ПСС как химическая обработка реагентами, ферментативный гидролиз и электролиз имеют ряд недостатков: использование агрессивных сред, большое количество жидких отходов (сточных вод), высокая стоимость ферментных препаратов, недостаточная степень чистоты и качество получаемого ХТ. Получение ХТ из грибов не повышает нагрузку на окружающую среду за счет мягких условий обработки при использовании невысоких концентраций реагентов и снижения сброса загрязненных сточных вод. Помимо традиционных схем выделения ХТ из различных видов грибов в литературном обзоре рассмотрен метод сверхкритической флюидной экстракции (СКФЭ) диоксидом углерода, который может быть применен не только для получения жидких экстрактов биологически активных веществ, но и хитинсодержащих твердых остатков.

В литературном обзоре рассмотрены также механизмы сорбции тяжелых металлов (ТМ) и органических красителей на поверхности хитина. Показано, что адсорбция ионов ТМ протекает по механизму комплексообразования и ионного обмена. Процесс сорбции различных типов красителей на поверхности ХТ и его комплексов происходит путем образования различных по своей природе физических и химических связей, а также сил Ван-дер-Ваальса. Заключительный раздел литературного обзора посвящен применению хитина в различных областях промышленности, медицины и сельского хозяйства. На

основании аналитического обзора литературы сформулирована цель и задачи исследования.

Во второй главе (методическая часть) дано описание исследуемого гриба вида *Fomes fomentarius* (L.) Fr. и эпигейного листоватого лишайника вида *Peltigera aphthosa* (L.) Willd, приведены методы определения и количественная характеристика основных компонентов исходной биомассы гриба и лишайника, включающих содержание полисахаридов (ХТ, целлюлоза, гемицеллюлозы), полифенолов (лигнин, меланин), белков, экстрактивных и минеральных веществ. Определение компонентного состава гриба и лишайника проводили традиционными методами, применяемыми в химии растительного сырья. Дереворазрушающий гриб *F. fomentarius* является многолетним полипом и для оценки влияния его возраста на содержание основных компонентов были выбраны плодовые тела возрастом 5 и 10 лет. Листоватый лишайник *P. aphthosa* также формирует многолетний таллом, растущий со скоростью 20-25 мм в год. Имеет хорошо морфологически дифференцированные зоны таллома: апикальная, медиальная и базальная. Основные процессы биосинтеза хитина в талломе осуществляются в апикальной зоне, в двух других – процессы накопления полифенолов. Компонентный состав гриба и лишайника представлен в таблице 1.

Таблица 1. Компонентный состав гриба и лишайника

Компонент, % от а.с.н.*	Гриб <i>F. fomentarius</i> различного возраста		Лишайник <i>P. aphthosa</i>	
	5 лет	10 лет	Таллом в целом	Зоны таллома: апикальная/медиальная/базальная
Хитин	4,5±0,2	1,4±0,1	1,2±0,1	1,5±0,3/1,1±0,2/0,9±0,1
Меланин	10,0±0,8	9,0±0,4	9,0±0,6	-**/8,5±0,8/10,0±0,4
Лигнин	16,8±0,9	25,1±0,1	7,5±0,9	-***
Гемицеллюлозы	6,5±0,7	4,4±0,4	2,9±0,9	-***
Целлюлоза	39,5±1,5	34,1±2,0	14,5±2,1	-***
Белок	1,1±0,1	5,4±0,6	2,9±0,5	9,2±0,8/7,8±0,5/5,1±0,4
Экстрактивные вещества	7,4±0,5	5,1±0,4	1,2±0,1	2,6±0,5/2,0±0,3/1,5±0,2
Влажность	13,2±1,0	13,4±1,5	9,0±0,6	14,5±2,1/14,5±2,1/14,5±2,1
Зольность	1,0±0,1	2,1±0,3	7,5±0,9	3,3±0,3/2,7±0,2/2,7±0,5

*абсолютно сухая навеска, ** ниже предела обнаружения, ***не определялись

Показано, что содержание ХТ с увеличением возраста гриба снижается в 3,2 раза с 4,5 до 1,4 %, что вероятно связано с протеканием процессов структурной деградации плодового тела и может свидетельствовать о разрыхлении вторичной клеточной стенки и ослаблении ее структурных функций. Кроме того, по мере увеличения возраста плодового тела активнее протекают процессы лигнификации, сопровождающиеся увеличением доли лигнина и снижением содержания полисахаридов по мере старения клеток. Таким образом, для дальнейших исследований и выделения ХСК была выбрана биомасса плодовых тел грибов возрастом 5 лет.

Установлено, что для листоватого лишайника *P. aphthosa* массовая доля ХТ в составе клеточной стенки снижается при переходе от апикальной к базальной зоне, что может быть связано с тем, что лишайники растут апикально и удлиняются на верхушке за счет образования новой клеточной стенки. Содержание белка, экстрактивных и минеральных веществ также снижается при переходе от апикальной зоны к базальной, что связано с интенсивными процессами роста и развития, протекающими в апикальной зоне. Основное содержание меланина сосредоточено в медиальной и базальной зонах лишайника, что связано с протекающими в этих зонах процессами конденсации фенольных соединений, причем максимальное содержание меланина наблюдается в базальной зоне. Для дальнейших исследований был выбран таллом в целом.

Для выделения ХСК из гриба и лишайника применяли методы кислотного-щелочного гидролиза (КЩГ) и СКФЭ диоксидом углерода, в ходе которых варьировали параметры процесса гидролиза на стадиях деминерализации (ДМ) и депротеинизации (ДП), а также условия экстракции (температура, давление) с учетом морфологии исходных объектов. В ходе КЩГ применяли двух- и трехстадийную обработку для гриба и лишайника соответственно. При выделении ХСК из биомассы плодового тела гриба варьировали продолжительность стадий обработки (4 или 8 ч.) и температуру (60 или 85 °С). При извлечении ХСК из таллома лишайника – температуру процесса: для стадии ДП (60 или 80 °С), ДМ (50 или 70 °С) и концентрацию реагентов: для стадии ДП (2 или 1 % NaOH), ДМ (1,0 или 0,5 % HCl). При проведении СКФЭ варьировали температуру (40, 60 или 80 °С) и давление (150, 250, 300, 350 или 400 атм.) при продолжительности каждой экстракции 60 минут. Контроль качества выделяемых ХСК оценивали по выходу комплексов и содержанию ХТ в них, а также величине сорбционной емкости (СЕ, мг/г) относительно красителя метиленового синего (МС).

Определение элементного состава (С, Н, N) исходной биомассы плодовых тел гриба и таллома лишайника и полученных различными методами ХСК проводили путем сжигания пробы в токе чистого кислорода при температуре печи 1200 °С в трубке сжигания на установке Elementar Vario Micro CUBE (Elementar). Функциональный состав ХСК определяли с применением метода инфракрасной спектроскопии, степень кристалличности – методом рентгеновской дифрактометрии, исследование структуры поверхности ХСК гриба и лишайника осуществляли с использованием сканирующей электронной микроскопии. Кислотно-основные свойства поверхности ХСК оценивали индикаторным методом Гаммета с использованием 16 индикаторов со значениями рK_a в интервале -4,40...+16,80. При интерпретации экспериментальных данных использовали в качестве образца сравнения хитин, полученный из ПСС, производство ЗАО «Биопрогресс», г. Щелково Московской области, ТУ 9289-002-11418234-99.

Оценку сорбционной активности гриба, лишайника и ХСК проводили относительно ионов ТМ и органических красителей статическим методом, заключающемся в выдержке ХСК в растворе адсорбата с известной концентрацией с последующим определением остаточного содержания ионов ТМ и органических красителей в фильтрате титриметрическим или спектральным методом. Биологическую активность ХСК гриба и лишайника, полученных методом КЩГ, относительно грамположительного *Bacillus subtilis* ATCC 6633 и трех грамотрицательных – *Escherichia coli* ATCC 25922; *Pseudomonas aeruginosa* ATCC, *Proteus mirabilis* ATCC 3177 штаммов бактерий проводили диско-диффузионным методом. Качественную оценку сорбционной способности ХСК гриба относительно штамма бактерии *E. coli* проводили визуальным методом по изменению мутности бактериальной взвеси при добавлении образца ХСК различной массы. При количественной оценке адсорбции *E. coli* на поверхности ХСК гриба использовали метод предельных разведений с проведением посева культуры на питательный агар СПА из контрольных пробирок с культурами без исследуемого образца и из пробирок с добавлением образца.

Третья глава (экспериментальная часть) состоит из пяти разделов, включающих результаты определения наилучших условий выделения ХСК из плодового тела гриба и таллома лишайника методами КЩГ и СКФЭ, а также физико-химические характеристики полученных ХСК, их сорбционные и антибактериальные свойства.

Результаты исследований, отражающие влияние условий КЩГ на выход комплексов и их сорбционную способность по отношению к МС представлены на рисунке 1 (а, б). При различных условиях КЩГ из биомассы гриба и лишайника получено 32 образца ХСК.

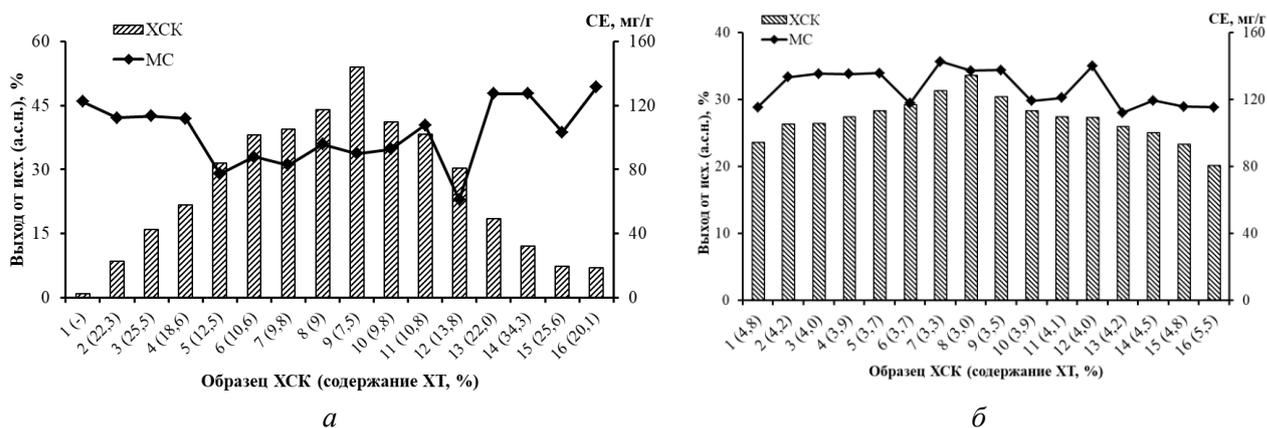


Рисунок 1. Выходы комплексов, содержание ХТ в них и СЕ относительно МС для ХСК, выделенных из биомассы плодового тела гриба (а) и таллома лишайника (б)

Установлено, что выход ХСК из биомассы гриба *F. fomentarius* варьируется в широком диапазоне от 1 (образец № 1) до 54 % (образец № 9) в зависимости от условий проведения обработки (рис. 1 а). Минимальные выходы ХСК (от 1 до 8,5 %) из плодового тела гриба (рис. 1 а) соответствовали самым высоким значениям температуры (85 °С) и значительной продолжительности обработки (8 ч.) на стадиях ДМ и ДП. Низкий выход ХСК обусловлен деструкцией полимеров (ПС и полифенолов) в комплексе в жестких условиях обработки. Это подтверждается снижением содержания ХТ в комплексе: от 0 % ХТ для 1 % выхода ХСК и до 25,6 % ХТ для 8,5 % выхода ХСК в сравнении с теоретически возможным содержанием ХТ в ХСК, равным 53...65 % при выходе ХСК 8,5...6,9 %. В то же время повышается СЕ ХСК в 1,4 раза (132 мг/г) относительно среднего значения (93 мг/г) в связи с образованием большего количества доступных центров адсорбции за счет более глубокой разработки грибной матрицы.

При выборе наилучших условий выделения ХСК определяющими параметрами были: высокое содержание ХТ в комплексе при экономически целесообразном выходе ХСК и достаточной высокой СЕ по МС. Анализ полученных экспериментальных результатов показал, что наилучшими условиями выделения ХСК из гриба являются: первая стадия (ДМ) – обработка 2 М HCl при 85 °С в течение 4-6 ч и вторая стадия (ДП) – обработка 2 М NaOH при 60 °С в течение 4 ч. В данных условиях обработки выход ХСК составляет 18,5...21,6 %, содержание ХТ в ХСК – 18,6...22,0 %, СЕ по МС – 112...127 мг/г.

Выход ХСК из таллома лишайника *P. aphthosa* в зависимости от условий обработки варьируется в более узком диапазоне от 20,2 до 33,6 % (рис. 1 б). Необходимо отметить, что СЕ ХСК также изменяется незначительно (от 115 до 143 мг/г). Максимальная сорбционная емкость, равная 143 мг/г, отмечена для ХСК лишайника, полученного при обработке на первой стадии 1 % раствором NaOH (60 °С), на второй – 0,5 % HCl (70 °С) и заключительной – 2 % NaOH (80 °С) при продолжительности каждой стадии 2 часа.

Максимальное содержание ХТ (5,5 %) в ХСК из лишайника, обладающего СЕ 115 мг/г, получено при выходе комплекса 20,2 % в следующих условиях: 2 % NaOH, 80 °С, / 0,5 % HCl, 70 °С / 2 % NaOH, 80 °С при продолжительности каждой стадии 2 ч. Однако с практической точки зрения целесообразно выбрать следующие наилучшие условия: первая стадия – 1 % NaOH (80 °С, 2 ч), вторая – 0,5 % HCl (50 °С, 2 ч) и третья – 2 % NaOH (80 °С, 2 ч), при которых ХСК имеет больший выход (26,4 %) и высокую СЕ (133 мг/г), однако содержит несколько меньше ХТ – 4,2 %.

Таким образом, применяя наилучшие условия выделения ХСК из плодового тела гриба, получен комплекс с выходом 18,5 %, содержащий 22 % ХТ, 55 % других ПС, 22,9 % полифенолов и белка менее 0,5 %. При этом выделенный ХСК обладает высокой

сорбционной способностью по МС (СЕ – 127 мг/г). Для таллома лишайника при наилучших условиях КЩГ получен ХСК с выходом 26,4 %, содержащий 4,2 % ХТ, 5,0 % полифенолов, 0,5 % белка и 90 % других ПС, обладающий СЕ по МС – 133 мг/г.

Применение сверхкритических флюидов в качестве экстрагентов позволяет извлекать целевые компоненты без их разрушения при полном сохранении биологической активности. Следует отметить, что исследования с применением метода СКФЭ направлены в основном на выделение экстрактов биологически активных веществ, при этом твердый остаток после экстракции остается в виде отхода. Исследования, посвященные изучению биологических и физико-химических свойств твердых остатков, единичны. Результаты экстракционных обработок биомассы гриба и лишайника (выход ХСК и СЕ по МС) при варьировании температуры (t , °С) и давления (P , атм.) процесса представлены в таблице 2.

Таблица 2. Выход и СЕ ХСК, выделенных из биомассы плодового тела гриба *F. fomentarius* и таллома лишайника *P. aphthosa* методом СКФЭ

t , °С	P , атм.		Выход ХСК*, %		СЕ по МС, мг/г	
	гриб	лишайник	гриб	лишайник	гриб	лишайник
40	250	150	92,9	97,5	50±2,5	76±4,2
60			91,8	98,2	56±2,8	71±3,5
80			91,6	98,6	61±3,0	71±3,4
40	300	250	92,6	99,1	51±2,7	69±2,8
60			92,5	98,3	65±3,3	67±2,5
80			92,9	98,2	51±2,2	98±5,0
40	350		91,6	99,5	70±3,8	82±3,8
60			93,3	98,2	47±1,8	117±6,0
80			91,9	99,5	66±3,4	117±5,8
80	400		87,3	99,4	75±4,0	82±3,5

*погрешность определения не превышала 3 %

В целом, ХСК, полученные методом СКФЭ, характеризуются большим выходом (более 87,3 %), чем при методе КЩГ, что свидетельствует о более полном использовании растительной биомассы при их переработке. Однако содержание ХТ в ХСК, полученных из плодового тела гриба, варьировалось от 4,8 до 5,0 %, а из таллома лишайника – от 1,0 до 1,2 %.

ХСК гриба (400 атм. и 80 °С) при выходе 87,3 % содержал 5,0 % ХТ, 54,0 % других ПС, 36 % полифенолов и не более 2 % белка и обладал предельной СЕ по МС - 75 мг/г. Из таллома лишайника при наилучших условиях экстракции (150 атм. и 40 °С) получен ХСК с выходом 97,5 %, содержащий 1,2 % ХТ, 68,5 % других ПС, 12,5 % полифенолов и 7,5 % белка, при этом СЕ по МС составила 76 мг/г. Однако недостаточное удаление балластных веществ (экстрактивные, белковые и минеральные вещества) при СКФЭ приводит к существенному снижению СЕ полученных ХСК (менее 75 мг/г для гриба и 117 мг/г для лишайника) по сравнению с методом КЩГ. Кроме того, метод СКФЭ имеет ряд недостатков, среди которых необходимость проведения процесса при высоких давлениях и затраты на дорогостоящее оборудование.

Элементный анализ исходной биомассы гриба и лишайника, полученных различными методами ХСК (ХСК_{КЩГ}, ХСК_{СКФЭ}) и содержание ХТ в них представлены в таблице 3. Исследования показали, что в образцах ХСК гриба, полученных с применением методов КЩГ и СКФЭ, содержание азота в 4,2 и 1,2 раза больше в сравнении с исходной биомассой. В процессе выделения из плодового тела гриба удаляются экстрактивные вещества, белки и минеральные компоненты, увеличивая общее содержание ХТ в комплексах. Максимальное содержание ХТ (22,0 %) наблюдается в ХСК_{КЩГ} в сравнении с

ХСК_{СКФЭ} за счет более эффективной очистки ХТ от побочных компонентов в ходе стадий ДП и ДМ.

Таблица 3. Элементный состав биомассы гриба и лишайника, ХСК_{КЦГ}, ХСК_{СКФЭ} и содержание ХТ в комплексах (% от а.с.н.)

Вид гриба	Образец	Содержание ХТ	N±Δ	C±Δ	H±Δ	O
<i>F. fomentarius</i>	Плодовое тело	4,5±0,2	0,33±0,20	58,3±0,9	5,7±0,3	35,69
	ХСК _{КЦГ}	22,0±0,5	1,54±0,50	53,3±0,6	6,9±0,7	34,45
	ХСК _{СКФЭ}	5,0±0,1	0,35±0,10	52,0±0,3	5,3±0,1	41,53
<i>P. aphthosa</i>	Таллом	1,2±0,1	3,60±0,10	48,9±2,0	6,5±0,3	41,00
	ХСК _{КЦГ}	4,2±0,8	0,30±0,50	57,0±0,3	5,4±0,2	35,79
	ХСК _{СКФЭ}	1,2±0,1	3,92±0,20	59,9±0,3	5,8±0,2	31,38

В ХСК_{КЦГ}, полученном из лишайника, доля ХТ выше в 3,5 раза (4,2 % в ХСК против 1,2 % в исходном талломе). В ходе СКФЭ диоксидом углерода не наблюдается существенного увеличения содержания азота в ХСК_{СКФЭ} за счет высокого выхода комплекса в процессе экстракции (97,5 %).

Одной из важнейших характеристик полученных комплексов является их функциональный состав. ИК-спектры ХСК гриба и лишайника в сравнении с ХТ представлены на рисунке 2.

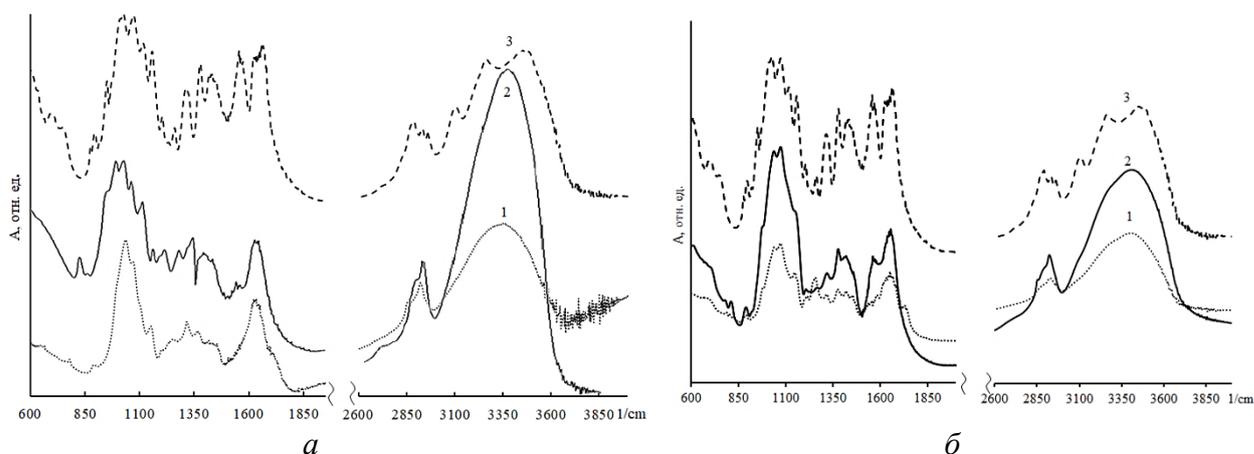


Рисунок 2. ИК-спектры ХСК_{СКФЭ} (1) и ХСК_{КЦГ} (2), полученные из биомассы плодового тела гриба (а), таллома лишайника (б) и ХТ (3)

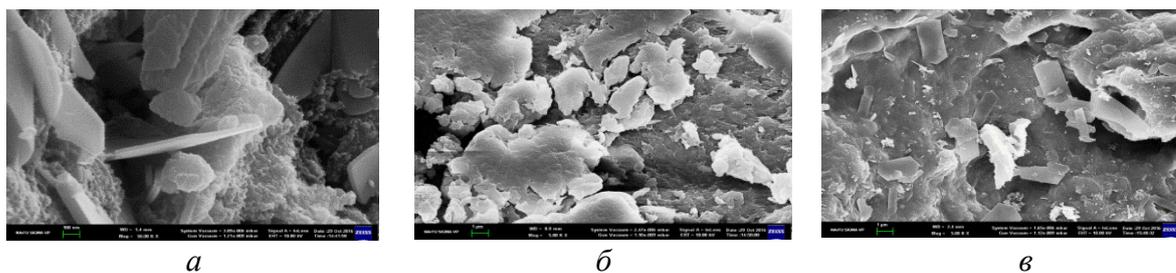
В ИК-спектрах образцов ХСК, выделенных из биомассы плодового тела гриба и таллома лишайника методами КЦГ и СКФЭ, присутствуют характерные полосы поглощения ХТ в области 1650-1560 см⁻¹ (поглощение первичных аминогрупп); 3260-3300 см⁻¹ (валентные колебания N–H группы, вовлеченной в водородную связь); 2916-2930 и 1450-1150 см⁻¹ (поглощение группы C–H); 1150-1000 см⁻¹ (поглощение гликозидной связи C–O–C); 1260–1200 см⁻¹ (деформационные колебания группы OH).

Однако, в ИК-спектрах ХСК_{КЦГ} и ХСК_{СКФЭ} гриба и лишайника наблюдаются некоторые смещения этих полос или их перекрывание, что обусловлено присутствием в составе полученных комплексов других сопутствующих компонентов. Отмечается также слабое поглощение в областях, соответствующих деформационным колебаниям C–H связи и пульсационным колебаниям пиранозного кольца в β-сахарах, что может свидетельствовать о присутствии глюканов в составе ХСК_{КЦГ} и ХСК_{СКФЭ} гриба и

лишайника. Появляются дополнительные полосы поглощения первичных аминов (1614 см^{-1}) и карбоксильных групп ($1450\text{--}1400\text{ см}^{-1}$), что связано с наличием в структуре полученных комплексов прочно связанных белков и пигмента меланина.

Кроме того в спектрах полученных комплексов присутствует широкая полоса в области $3200\text{--}3500\text{ см}^{-1}$ (валентные колебания связи О-Н), характерная для фенольных соединений (лигнин и меланин), входящих в состав исходной биомассы гриба и лишайника и частично сохранившихся в составе ХСК. Эта широкая интенсивная полоса со сложным контуром перекрывает некоторые характеристические полосы поглощения ХТ (3292 см^{-1}), связанные с симметричными колебаниями аминогрупп -N-H.

Методом сканирующей электронной микроскопии изучена морфология поверхности ХСК_{КЩГ} и ХСК_{СКФЭ} лишайника *P. aphthosa*, а также ХТ как объекта сравнения (рис. 3).



a

б

в

a – ХТ; *б* – ХСК_{КЩГ}; *в* – ХСК_{СКФЭ}

Рисунок 3. Ультрамикроскопическое строение поверхности хитина и ХСК

Микроскопические исследования свидетельствуют, что ХСК_{КЩГ} и ХСК_{СКФЭ} имеют волокнистую структуру (рис. 3 *б* и *в*) схожую со структурой ХТ. На микрофотографии ХСК_{СКФЭ} (рис. 3 *в*) отчетливо видны элементы клеточной стенки лишайника, что означает, что в ходе СКФЭ сохраняется структура исходной природной матрицы. Можно утверждать, что микрофибриллы ХТ являются первичным «скелетом», на котором строится клеточная стенка лишайников и грибов. Необходимо отметить, что большая часть поверхности ХСК_{КЩГ} (рис. 3 *б*) представлена аморфными участками, что связано с частичным разрушением ХТ и переходом его в хитозан в ходе стадии ДП под действием щелочи, а также обусловлено присутствием в составе комплекса побочных компонентов (полифенолы и другие ПС).

Дополнительную информацию о структуре ХТ и ХСК дает рентгенодифрактометрический анализ. Дифрактограммы образца ХТ краба и ХСК_{КЩГ} гриба и лишайника представлены на рисунке 4.

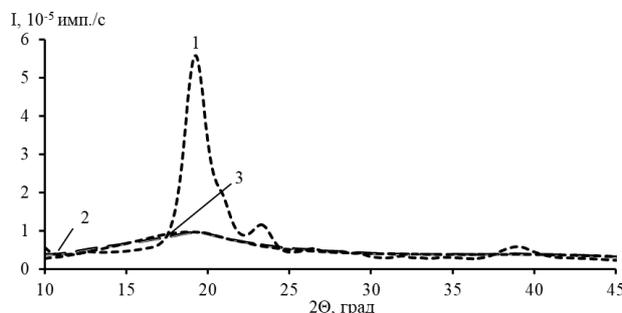


Рисунок 4. Дифрактограммы образцов ХТ (1) и ХСК_{КЩГ}, выделенных из лишайника (2) и гриба (3)

Установлено, что дифракционная картина для ХСК в независимости от вида природной матрицы содержит рефлексы, характерные, в том числе и для ХТ животного происхождения, но в области $2\theta=19^{\circ}\text{--}21^{\circ}$, где обычно располагаются самые главные

рефлексы кристаллического ХТ, присутствует размытое аморфное гало. Надмолекулярная структура ХСК более дефектна, чем ХТ животного происхождения, имеет мезоморфный характер с преобладанием аморфных областей, что соотносится с СЭМ-исследованием (рис. 3). Установлено, что низкая степень кристалличности ХСК гриба (5,2 %) и лишайника (4,8 %) в сравнении с ХТ краба (более 27 %), обусловлена, как образованием хитозана (степень кристалличности 4,5 %) в ходе щелочной обработки, так и присутствием в составе ХСК таких побочных компонентов, как полифенолы и другие ПС.

Распределение центров адсорбции (РЦА) кислотного и основного типа на поверхности ХСК_{КЩГ} и ХСК_{СКФЭ} гриба и лишайника представлено на рисунке 5 а и б.

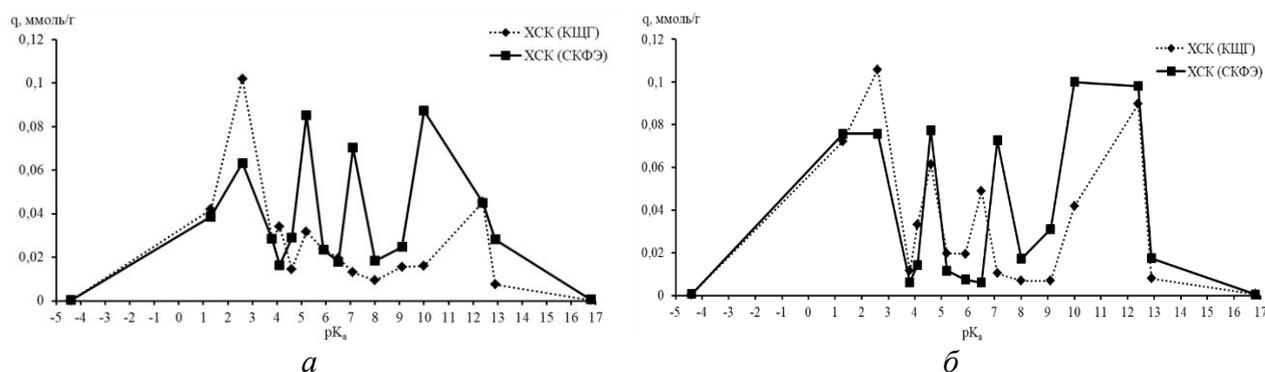


Рисунок 5. РЦА индикаторов на поверхности ХСК, выделенных из гриба (а) и лишайника (б)

Кривые РЦА по кислотной силе на поверхности образцов ХСК (кисотно-основный спектр) строили в координатах $q = f(pK_a)$, где q (ммоль/г) - количество центров адсорбции данной кислотной силы эквивалентное количеству адсорбированного индикатора. Анализ спектра РЦА показал, что распределение центров адсорбции на поверхности ХСК_{КЩГ} и ХСК_{СКФЭ} гриба (рис. 5 а) и лишайника (рис. 5 б) несколько отличается. Отмечается увеличение кислотных и снижение основных центров Бренстеда на поверхности ХСК_{КЩГ}, что свидетельствует об усилении электронодонорных свойств поверхности комплексов.

Результаты исследования свидетельствуют, что группы с $pK_a = 2,6$, выявленные на поверхности ХСК_{КЩГ} и ХСК_{СКФЭ} гриба и лишайника являются аминогруппами, принадлежащими ХТ как основному компоненту клеточной стенки грибов и микобионта лишайника. Содержание аминогрупп на поверхности ХСК_{КЩГ} увеличивается в 1,4 (для гриба) и 1,5 (для лишайника) раз по сравнению с ХСК_{СКФЭ}. Это обусловлено реакцией деацетилирования ацетамидной группы в молекуле ХТ в процессе щелочной обработки.

Степень деацетилирования ХТ в составе клеточной стенки лишайников значительно превышает таковую для азотсодержащих полимеров свободноживущих грибов. Следует отметить, что при $pK_a = 5,9$ и $6,5$ на поверхности ХСК_{КЩГ} лишайника наблюдается увеличение интенсивности пиков в 2,8 и 6,3 раза в сравнении ХСК_{СКФЭ}, которые обусловлены аминогруппами. Можно утверждать, что в процессе КЩГ формируются хитин-хитозан-глюкан-меланиновые комплексы. Для ХСК_{КЩГ} и ХСК_{СКФЭ} гриба, при $pK_a = 5,9$ и $6,5$ количество аминогрупп изменяется незначительно, составляя $\sim 0,023$ и $\sim 0,020$ ммоль/г.

Катионообменные группы в области $pK_a \sim 3,8-4,6$ могут быть отнесены к карбоксильным группам уроновых и ароматических кислот. Катионообменные группы с $pK_a = 7,1$ также отнесены к карбоксильным группам алифатических кислот.

Область значений $pK_a \sim 8,8-9,7$ относится к аминогруппам в аминокислотах белков. При $pK_a = 9,1$ наблюдается снижение пиков в данной области для ХСК_{КЩГ} как для гриба, так и для лишайника, за счет удаления белковых молекул в ходе стадии ДП. На

поверхности ХСК_{КЩГ} лишайника отмечается снижение содержания центров при $pK_a = 9,1$ в 4,4 раза.

На основании ИК- спектров (рис. 2) и РЦА (рис. 5 а и б) область значений $pK_a = 10-12,4$ может быть отнесена к фенольным ОН-группам ХСК, входящих в структуру меланина и лигнина, учитывая также что для гидроксильной группы в молекуле фенола $pK_a = 9,98$. Следует отметить, что для ХСК_{КЩГ} гриба и лишайника при $pK_a = 10$ наблюдается снижение интенсивности в 5,4 и 2,4 раза, соответственно. Это обусловлено частичным растворением веществ фенольной природы на стадии ДП в процессе выделения комплексов.

Производство огромного количества токсичных отходов в результате деятельности промышленных предприятий приводит к распространению загрязняющих веществ в окружающей среде, таких как ионы ТМ и загрязнителей органической природы. В результате их длительного воздействия на человека происходит интоксикация организма. Наиболее эффективным методом эфферентной терапии в области детоксикации организма является энтеросорбция как метод удаления из организма различных токсических веществ, попадающих в него из окружающей среды или образующихся в самом организме. Исследования, направленные на создание сорбентов (энтеросорбентов) на основе природных ПС, в том числе ХТ, являются актуальными и востребованными.

В данной работе были проведены исследования сорбционной способности исходной биомассы таллома лишайника, плодового тела гриба и выделенных ХСК_{КЩГ} и ХСК_{СКФЭ} относительно ряда ионов ТМ (кобальт, никель, ртуть, серебро, медь) и органических красителей (МС и конго красный - КК), выступающих в качестве модельных соединений эндотоксинов средней и малой молекулярных масс. Результаты исследований представлены в таблице 4.

Таблица 4. СЕ исходной биомассы гриба и лишайника, ХСК_{КЩГ} и ХСК_{СКФЭ} по отношению к ряду ионов ТМ и красителей

Образец	СЕ, мг/г						
	Cu ²⁺	Co ²⁺	Ni ²⁺	Hg ²⁺	Ag ⁺	МС	КК
<i>F. fomentarius</i>							
Гриб	207±6	226±7	39±1	212±6	187±6	188±9	158±8
ХСК _{КЩГ}	247±7	222±7	58±2	322±10	130±4	357±17	313±15
ХСК _{СКФЭ}	290±9	223±7	57±2	307±9	135±4	250±13	170±7
<i>P. aphthosa</i>							
Таллом	274±8	222±7	37±1	317±10	152±5	96±5	227±11
ХСК _{КЩГ}	377±11	219±6	57±2	404±12	151±5	322±16	285±19
ХСК _{СКФЭ}	371±11	213±6	56±2	372±11	156±5	125±6	250±15

Экспериментальные результаты показывают, что ХСК_{КЩГ} и ХСК_{СКФЭ} обладают более высокой СЕ в отношении ионов меди, никеля и ртути по сравнению с биомассой плодового тела гриба и таллома лишайника. В результате механо-химического воздействия (предварительный размол с последующим гидролизом или экстракцией) на растительную матрицу гриба и лишайника происходит увеличение количества и доступности активных сорбционных центров, что приводит к возрастанию СЕ образцов ХСК_{КЩГ} и ХСК_{СКФЭ} по отношению к ионам меди в 1,2-1,4 раза, к ионам никеля – в 1,5 раза. Наибольшая сорбционная способность ХСК_{КЩГ} и ХСК_{СКФЭ} установлена для катионов ртути (II). В зависимости от метода обработки сорбционная емкость по катионам ртути возрастает в 1,4-1,5 раза (до 322 мг/г) для ХСК гриба и в 1,1-1,3 раза (до 404 мг/г) для ХСК лишайника. Наименьшее сродство ХСК_{КЩГ} и ХСК_{СКФЭ} гриба и лишайника проявляют к ионам никеля (СЕ до 58 мг/г). Для ионов серебра отмечается незначительное

изменение адсорбционной емкости ХСК_{КЩГ} и ХСК_{СКФЭ} гриба (до 135 мг/г) и лишайника (до 156 мг/г) в сравнении с исходной биомассой плодового тела (187 мг/г) и таллома (152 мг/г).

Результаты адсорбции красителей на поверхности исследуемых образцов (табл. 4) показывают, что плодовое тело гриба и таллом лишайника обладают более низкой сорбционной способностью в сравнении с ХСК по отношению, как к МС, так и к КК: предельная СЕ для которых составляет 188 и 158 мг/г и 96 и 227 мг/г, соответственно. Удаление низкомолекулярных экстрактивных веществ в ходе СКФЭ способствует небольшому увеличению СЕ. Предельная ёмкость достигает для ХСК_{СКФЭ} гриба 250 и 170 мг/г по отношению к МС и КК, а для ХСК_{СКФЭ} лишайника – 125 и 250 мг/г. ХСК_{КЩГ} гриба и лишайника обладают самыми высокими показателями СЕ (322 и 357 мг/г по отношению к МС, 313 и 285 мг/г по КК), что вероятно связано с более глубокой разработкой структуры поверхности сорбента в ходе КЩГ.

В связи с растущей устойчивостью патогенных и условно-патогенных микроорганизмов к существующим синтетическим антибиотикам в настоящее время требуется разработка новых лекарственных препаратов и поиск эффективных антибиотиков растительного происхождения. Перспективными источниками для получения препаратов с противобактериальными свойствами могут являться дереворазрушающие грибы и лишайники. Для определения антибактериальной активности были выбраны ХСК_{КЩГ}, выделенные из биомассы плодового тела гриба *F. fomentarius* и таллома лишайника *P. aphthosa*.

Диско-диффузионным методом установлено, что образец ХСК гриба не проявляет бактерицидных свойств относительно *E. coli*, однако некоторое отсутствие зон роста микроорганизмов вокруг образцов может свидетельствовать об их адсорбирующей способности и бактериостатическом действии.

Качественная оценка сорбционной активности ХСК гриба по шкале мутности выявила наличие адсорбирующей способности по отношению к *E. coli* для ХСК. Количественная оценка воздействия образцов ХСК гриба на культуры бактерий показала, что в сравнении с контролем (84,0 млн. кл./мл) при добавлении образца ХСК массой 50 мг наблюдается уменьшение концентрации колоний в 2,7 раз (до 30,8 млн. кл./мл), а при содержании образца ХСК массой 30 мг – в 1,5 раза (до 55,5 млн. кл./мл).

Антибактериальная активность образца ХСК лишайника представлена в таблице 5.

Таблица 5. Антибактериальная активность ХСК лишайника

Количество ХСК, мг	Микроорганизм (зоны подавления роста, мм)			
	<i>B. subtilis</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. mirabilis</i>	<i>P. aeruginosa</i>
50	25,0±0,6	15,0±0,3	10,0±0,1	10,0±0,1
30	25,0±0,7	15,0±0,2	0	0

ХСК лишайника показал высокую антибактериальную активность в отношении *B. subtilis* (зона отсутствия роста тест-культуры составляет 25 мм) для 30 и 50 мг образца.

Для штамма *E. coli* наблюдалось отсутствие роста тест-культуры в диапазоне 15 мм как для 30, так и для 50 мг ХСК, что свидетельствует об умеренном бактерицидном эффекте ХСК лишайника по отношению к данной культуре.

Для штаммов *P. aeruginosa* и *P. mirabilis* наблюдается наименьший ингибирующий эффект (менее 10 мм) для образца массой 50 мг. Образец ХСК массой 30 мг не проявляют бактерицидных свойств по отношению к данным штаммам.

Таким образом, высокая сорбционная и антибактериальная активность ХСК, выделенных из дереворазрушающего гриба *F. fomentarius* и лишайника *P. aphthosa*,

свидетельствует о возможности использования их использования в качестве эффективных сорбентов (энтеросорбентов) в биомедицине и фармацевтической промышленности.

ВЫВОДЫ

На основании проведенных исследований можно сделать следующие выводы:

1. Проведено сравнительное изучение двух методов выделения ХСК из биомассы плодового тела дереворазрушающего гриба вида *Fomes fomentarius* и таллома лишайника вида *Peltigera aphthosa*: кислотно-щелочного гидролиза и сверхкритической флюидной экстракции диоксидом углерода. Установлены наилучшие условия кислотно-щелочной обработки, которая для биомассы плодового тела гриба проводится в две стадии: первая стадия деминерализации (обработка раствором 2 М HCl) при 85 °С, продолжительность 4 часа и вторая стадия депротеинизации (обработка раствором 2 М NaOH) при 60 °С продолжительность 4 часа, а для таллома лишайника *P. aphthosa* в три стадии: первая стадия обработка раствором 1 % NaOH при 80 °С, вторая – обработка раствором 0,5 % HCl при 50 °С и третья – обработка раствором 2 % NaOH при 80 °С при продолжительности каждой стадии 2 часа. Получены ХСК с выходами 18,5 и 26,4 %, содержащие до 22,0 и 4,2 % хитина для гриба и лишайника, соответственно. Методом СКФЭ из биомассы гриба и лишайника получены ХСК с выходами 87,3 (400 атм. и 80 °С) и 97,5 (150 атм. и 40 °С) %, содержащие 5,0 и 1,2 % ХТ, соответственно.

2. Методом ИК-спектроскопии показано, что ХСК гриба и лишайника содержат ХТ, близкий по функциональному составу ХТ краба. СЭМ-снимки и дифрактограммы ХСК свидетельствуют о том, что, структура ХСК как и ХТ волокнистая и включает как кристаллические, так и аморфные области с преобладанием последних, что приводит к снижению степени кристалличности ХСК в сравнении с ХТ до 5,2 и 4,8 % для гриба и лишайника, соответственно.

3. Установлено, что на поверхности ХСК, полученных с применением метода КЩГ и СКФЭ, в растворе образуются как кислотные центры связывания со значениями pK_a : 2,6; 4,6; 5,9; 6,5 и 7,1, соответствующим $-NH_2$ группам хитина и хитозана, $-COOH$ группам урановых, ароматических и алифатических кислот, так и основные центры с pK_a : 8,8; 9,7; 10 и 12,4, принадлежащим $-NH_2$ группам белка и $-OH_{(фен)}$ лигнина и меланина. Присутствие как кислотных, так и основных центров на поверхности ХСК свидетельствует об их полиамфолитной природе.

4. Показано, что ХСК гриба и лишайника проявляют высокую сорбционную активность по отношению к среднемолекулярным токсикантам (органическим красителям метиленовый синий и конго красный), а также ионам тяжелых металлов (Cu^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} , Hg^{2+} , Ag^+). Высокая сорбционная емкость ХСК получена для ионов ртути (до 404 мг/г), меди (до 377 мг/г) и кобальта (до 222 мг/г), наименьшая адсорбция на поверхности ХСК отмечена для ионов никеля (менее 58 мг/г).

5. Установлено, что ХСК гриба не обладает бактерицидными свойствами относительно грамотрицательного штамма бактерий *Escherichia coli*, однако, можно констатировать наличие бактериостатических и адсорбционных свойств по отношению к данному штамму. Показано, что ХСК, выделенный из таллома лишайника, обладает высокой антибактериальной активностью относительно грамположительного штамма бактерий *Bacillus subtilis*, средней - относительно грамотрицательного штамма *E. coli* (зоны подавления роста бактерий составляют 25 и 15 мм, соответственно) и низкими ингибирующими свойствами относительно грамотрицательных бактерий *Pseudomonas aeruginosa* и *Proteus mirabilis* (зона подавления роста бактерий – 10 мм).

Список сокращений:

ХТ – хитин	СЕ – сорбционная емкость
ХСК – хитинсодержащий комплекс	ТМ – тяжелые металлы
ПС – полисахариды	МС – метиленовый синий
КЩГ – кислотно-щелочной гидролиз	КК – конго красный
ДП – депротенирование	РЦА – распределение центров адсорбции
ДМ – деминерализация	ПСС – панцирь-содержащее сырье
СКФЭ – сверхкритическая флюидная экстракция	СЭМ – сканирующая электронная микроскопия

Основные результаты работы изложены в следующих публикациях:

Статьи:

1. Морфология и свойства хитин-глюкановых комплексов, выделенных из различных природных источников / **Д. В. Жильцов**, О. С. Бровко, И. А. Паламарчук [и др.] // Известия Уфимского научного центра РАН. – 2018. – № 3(3). – С. 9-13.

2. Сорбционные свойства хитинсодержащих комплексов, выделенных из талломов лишайников методом сверхкритической флюидной экстракции / **Д. В. Жильцов**, О. С. Бровко, А. Д. Ивахнов [и др.] // Успехи современного естествознания. – 2018. – № 11-2. – С. 210-215.

3. Выделение хитинсодержащих комплексов из таллома лишайника вида *Peltigera aphthosa* / О. С. Бровко, А. Д. Ивахнов, **Д. В. Жильцов** [и др.] // Сверхкритические флюиды: теория и практика. – 2022. – Т. 17, № 1. – С. 49-65.

- *Isolation of chitin-containing complexes from the thallus of the lichen species Peltigera aphthosa* / O.S. Brovko, A.D. Ivakhnov, **D.V. Zhiltsov** [et al.] // *Russian Journal of Physical Chemistry B*. – 2022. – Vol. 16, № 8. – P. 1332-1340.

4. Получение хитинсодержащих комплексов из плодового тела гриба *Fomes fomentarius* методами суб- и сверхкритической экстракции / О. С. Бровко, А. Д. Ивахнов, **Д. В. Жильцов** [и др.] // Сверхкритические флюиды: теория и практика. – 2023. – Т. 18, № 1. – С. 24-37.

- *Extraction of chitin-containing complexes from the Fomes fomentarius fungus fruiting body by the sub- and supercritical fluid extraction methods* / O.S. Brovko, A.D. Ivakhnov, **D.V. Zhiltsov** [et al.] // *Russian Journal of Physical Chemistry B*. – 2023. – Vol. 17, № 7. – P. 97-103.

Патент

5. Пат. № 2787886 РФ, МПК В01J 20/24, В01J 20/30, В01D 11/02. Способ получения хитинсодержащего сорбента / Бровко О.С., Ивахнов А.Д., Бойцова Т.А., **Жильцов Д.В.** Заявитель и патентообладатель ФГБУН ФИЦКИА УрО РАН. – № 2022104103; заявл. 16.02.2022; пат. опубл. 13.01.2023. Бюл. №2.

Материалы конференций и тезисы докладов:

6. Выделение и свойства хитинсодержащих комплексов из лишайников родов *Cladonia* и *Peltigera* / **Д. В. Жильцов**, К. Г. Боголицын, О. С. Бровко [и др.] // Физикохимия растительных полимеров : материалы VII международной конференции, 3-6 июля 2017 г., г. Архангельск – Архангельск: С(А)ФУ, 2017. – С. 80-84.

7. Сорбционные свойства хитин-содержащих комплексов, выделенных из талломов лишайников родов *Cladonia* и *Peltigera* с применением сверхкритической флюидной экстракции / **Д. В. Жильцов**, О. С. Бровко, Т. А. Бойцова и [и др.] // Сверхкритические флюидные технологии в решении экологических проблем : материалы IX всероссийской школа-конференция молодых учёных, 24-28 сент. 2018 г., г. Барнаул– Барнаул, 2018. – С. 97-100.

8. Кислотно-основные свойства поверхности полисахаридных комплексов различных природных источников / **Д. В. Жильцов**, О. С. Бровко, И. А. Паламарчук // Физикохимия растительных полимеров : материалы VIII международной конференции, 1-5 июля 2019 г., г. Архангельск – Архангельск: С(А)ФУ, 2019. – С. 195-199.

9. Дереворазрушающие грибы как источник хитинсодержащих сорбентов / **Д. В. Жильцов**, Т. А. Бойцова, О. С. Бровко [и др.] // Арктические исследования: от экстенсивного освоения к комплексному развитию : материалы II международной научно-практической конференции, 11-14 ноября 2020 г., Архангельск – Архангельск: САФУ, 2020. – С. 286-291.

10. Состав и свойства хитинсодержащих комплексов, выделенных из лишайников вида *Peltigera aphthosa* / **Д. В. Жильцов**, О. С. Бровко, Т. А. Бойцова [и др.] // Физикохимия растительных полимеров : материалы IX международной конференции, 30 июня-02 июля 2021 г., г. Архангельск – Архангельск: С(А)ФУ, 2021. – С. 78-82.

11. Оценка влияния возраста плодовых тел трутовых грибов на сорбционную способность выделенных хитинсодержащих комплексов / **Д. В. Жильцов**, О. С. Бровко, К. Г. Боголицын [и др.] // Современные перспективы в исследовании хитина и хитозана : материалы XV-ой Общероссийской конференции с международным участием, 15-19 сентября 2021 г., Архангельск – Москва: изд-во РХО, 2021. – С. 19.

12. К вопросу об использовании дереворазрушающих грибов и лишайников как источников хитинсодержащих комплексов ветеринарно-биологического назначения / **Д. В. Жильцов**, О. С. Бровко, Т. А. Бойцова [и др.] // Арктические исследования: от экстенсивного освоения к комплексному развитию: материалы III международной молодежной научно-практической конференции, 26–28 апреля 2022 г., г. Архангельск – Архангельск : САФУ, 2022. – С. 223-226.

13. Состав и свойства хитинсодержащих комплексов, полученных в ходе суб- и сверхкритической экстракции этанолом плодового тела гриба *Fomes fomentarius* / **Д. В. Жильцов**, О.С. Бровко., Т. А. Бойцова [и др.] // Сверхкритические флюидные технологии в решении экологических проблем : материалы докладов XIII всероссийской школы-конференции молодых учёных, 27-30 июня 2022 г., г. Архангельск – Архангельск : САФУ, 2022. – С. 48-52.

14. Разработка технологических условий получения полисахаридного сорбционного материала для применения в биомедицине / **Д. В. Жильцов**, А. А. Слобода, Т. А. Бойцова [и др.] // Химия и химическая технология: достижения и перспективы : материалы VI Всероссийской конференции, 29-30 ноября 2022 г., г. Кемерово – Кемерово : КузГТУ, 2022. – С. 208.1-208.4.

15. Выделение хитинсодержащих комплексов из грибов традиционными и современными методами / **Д. В. Жильцов**, О. С. Бровко, К. Г. Боголицын [и др.] // Физикохимия растительных полимеров : материалы X международной конференции, 26–29 июня 2023 г., Архангельск – Архангельск : С(А)ФУ, 2023. – С. 97-100.

16. Получение хитинсодержащих сорбционных материалов из грибов и лишайников / **Д. В. Жильцов**, О. С. Бровко, К. Г. Боголицын [и др.] // Арктические исследования: от экстенсивного освоения к комплексному развитию : материалы IV международной молодежной научно-практической конференции, 17–19 апреля 2024 г., Архангельск – Архангельск : САФУ, 2024. – С. 245-251.

17. Лишайники рода *Usnea* и *Peltigera* как ценный источник биологически активных веществ / **Д. В. Жильцов**, О. С. Бровко, К. Г. Боголицын [и др.] // Лишайники: от молекул до экосистем : материалы международной конференции. 1-5 июля 2024 г., Сыктывкар. – Сыктывкар, 2024 – С. 33-34. (Электронное издание).

Работа выполнена с использованием оборудования ЦКП НО «Арктика» (САФУ) и ЦКП КТ РФ-Арктика (ФГБУН ФИЦКИА УрО РАН).

Автор выражает глубокую благодарность научному руководителю к.х.н., доценту Бровко О.С., коллективу Лаборатории химии растительных биополимеров ИЭПС ФИЦКИА УрО РАН. Автор признателен д.х.н., проф. Боголицыну К.Г. и к.х.н. Ивахнову А.Д. за внимательное отношение, консультации и оказание всесторонней поддержки.

Отзывы на автореферат в двух экземплярах с указанием фамилии, имени, отчества, почтового адреса, адреса электронной почты, наименования организации, должности лица, составившего отзыв, подписанные и заверенные печатью, просим направлять по адресу: 163002, г. Архангельск, наб. Северной Двины, 17, диссертационный совет Д 24.2.394.05.