

Формулы Фармации. 2024. Т. 6, № 2. С. 34–50

БИОЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ

Обзорная статья

УДК 544.165

DOI: <https://doi.org/10.17816/phf633564>

Хитин/хитозан: биоресурсы, практическое использование, технологии производства

В. В. Перелыгин¹, Т. Н. Некрасова², М. В. Жариков¹, А. О. Вернер¹, И. В. Змитрович³¹Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет Министерства, здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия²Общество с ограниченной ответственностью «МЕДИПРОФ», Санкт-Петербург, Россия³Ботанический институт им. В. Л. Комарова Российской академии наук, Санкт-Петербург, РоссияАвтор, ответственный за переписку: Михаил Владимирович Жариков, zharikov.mihail@pharminnotech.com

АННОТАЦИЯ. Обзор посвящен интересным с точки зрения биотехнологии биополимерам – хитину и хитозану, входящим в состав кутикулы членистоногих животных и образующим основу клеточной стенки грибов. Хитозан – линейный полисахарид, содержащий остатки D-глюкозамина и N-ацетил-D-глюкозамина, обладающий ценными биологическими свойствами. Он является продуктом деацетилирования хитина – одного из наиболее распространенных природных полисахаридов после целлюлозы. Обладая выраженной биомукоадгезивностью и способностью к контролируемому высвобождению, хитозан широко используется в качестве носителя для доставки различных терапевтических агентов, таких как противоопухолевые препараты, антибиотики, протеины, нуклеиновые кислоты и др. Хитозановые наночастицы, микро- и нанокапсулы, а также гидрогели могут быть использованы для таргетной доставки лекарств в специфические органы и ткани. Изначально внимание биотехнологов было сосредоточено на животном хитине и базовые методы извлечения и очистки этого биополимера оформились именно на этом этапе. Несмотря на сложность организации кутикулы членистоногих, хитин в ней не связан ковалентно с другими линейными биополимерами и организован в нанопучки, образующие достаточно гомогенный матрикс, поэтому извлекается легче, чем из мицелиальной массы грибов, где этот биополимер плотно упакован в микрофибриллы, прочно связанные с глюкановым матриксом. Основными этапами извлечения хитина и дальнейшей модификации его в хитозан являются депротеинизация, деминерализация, деацетилирование, а основными методами очистки хитозана являются фильтрация, диализ и репреципитация. После выделения хитозан подвергается сушке. Для извлечения хитина из грибов вышеперечисленные классические химические методы нередко комбинируются с методами «зеленой химии» и промышленной микробиологии. Рентабельность производства хитина/хитозана из ракообразных и съедобных грибов находятся примерно на одном уровне. Себестоимость продукции из грибов может быть снижена за счет использования отходов сельскохозяйственного или лесного производства в качестве питательных субстратов. Это делает перспективным использование грибов в качестве источников хитина/хитозана в лесных регионах.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: биомедицина; биотехнология; гликобиология; грибы; кутикула; клеточная стенка; микрофибриллы; мицелий; нанопучки; наночастицы; полисахариды; ракообразные; хитин; хитозан; членистоногие

ГЛОССАРИЙ

Биомукоадгезивность – физико-химическое сродство к мукополисахаридам соединительной ткани.

Клеточная стенка – твердая полупроницаемая оболочка клетки растений и грибов, образованная полисахаридными микрофибриллами, погруженными в аморфный белковый/глюкановый матрикс.

Микрокапсулы – капсулы размером от 1 мкм до 2 мм шарообразной или неправильной формы, состоящие из тонкой оболочки из полимерного или другого материала и содержащие твердые или жидкие активные действующие вещества с добавлением или без добавления вспомогательных веществ.

Надмембранные образования – протективные структуры, образующиеся над клеточной мембраной растений, грибов, протистов (гликокаликс, лорика, клеточная стенка).

Нанокапсулы – наночастицы размером до 1 мкм, состоящие из полимерной, липидной или другой оболочки, окружающей их внутреннюю полость или содержимое.

Остеокондуктивность – способность материала к адгезии и связыванию остеогенных клеток, поддержанию процессов их пролиферации и дифференцировки. Происходит образование непосредственной связи с костной тканью и постепенное ее замещение новообразующейся.

Пролонгированные лекарственные формы – лекарственные формы с модифицированным высвобождением, обеспечивающие увеличение продолжительности действия лекарственного вещества путем замедления его высвобождения.

Скаффолды – клеточные матрицы, вводимые в организм с целью регенерации костей.

Таргетная доставка лекарств – направленный транспорт лекарственного вещества в заданную область организма, органа или клетки.

Экзоскелет – совокупность плотных участков (склеритов) кутикулы членистоногих. Соединены между собой эластичными мембранами, обеспечивающими взаимную подвижность склеритов. Выполняют защитную функцию, предохраняя от механических повреждений, и служат скелетными элементами, к которым крепятся мышцы. Обычно каждый свободный сегмент тела членистоногого покрывают 4 склерита: тергит (спинная сторона тела), стернит (брюшная) и два плеурита (боковые стороны).

SAR – супергруппа эукариот, объединяющая *Stramenopila*, *Alveolata*, *Rhizaria*.

ВВЕДЕНИЕ

Хитозан – уникальный линейный полисахарид, содержащий остатки D-глюкозамина и N-ацетил-D-глюкозамина и обладающий ценными биологическими свойствами. Он является продуктом деацетилирования хитина – одного из наиболее распространенных природных полисахаридов после целлюлозы. Хитин и хитозан играют ключевую роль в поддержании структурной целостности и защиты организмов, в которых они присутствуют. Благодаря таким качествам как биосовместимость, биоразлагаемость, нетоксичность, а также антибактериальная, противогрибковая и антиоксидантная активность, хитозан рассматривается как перспективный материал для применения в биомедицине, пищевой промышленности, сельском хозяйстве и других областях [1].

Традиционно хитозан получают из хитина, присутствующего в панцире ракообразных [2], хотя грибы – как низшие (*Chytridiomycota*) [3], так и высшие (*Ascomycota*, *Basidiomycota*) являются перспективным сырьем для его получения, поскольку как хитин, так и непосредственно хитозан, являются компонентами их клеточной стенки – последний образуется в результате частичного деацетилирования хитина ферментами хитин-деацетилазами, продуцируемыми грибами в процессе роста и развития [4, 5].

Членистоногие, такие как панцирные ракообразные, насекомые и паукообразные, содержат в экзоскелете значительные количества хитина. Этот компонент, наряду с белками и минеральными солями, придает экзоскелету прочность, жесткость и гибкость, защищая организм от механических повреждений и неблагоприятных условий [6]. Кроме того, хитин участвует в процессах линьки, роста и развития членистоногих. Широкое рас-

пространение хитина и хитозана в природе, а также уникальные физико-химические и биологические свойства хитозана являются причиной возрастающего интереса к использованию последнего в целом ряде отраслей фармацевтической промышленности [7].

Хитозан обладает гемостатическими, антимикробными и ранозаживляющими свойствами, что делает его перспективным компонентом для разработки раневых покрытий и перевязочных материалов [8]. Исследования показали, что пленки, гидрогели и губки на основе хитозана ускоряют заживление ран различной этиологии, в том числе ожоговых, диабетических и хронических язв. Более того, хитозан может быть модифицирован для усиления антимикробной активности и управления высвобождением лекарственных средств.

Обладая выраженной биомукоадгезивностью и способностью к контролируемому высвобождению, хитозан широко используется в качестве носителя для доставки различных терапевтических агентов, таких как противоопухолевые препараты, антибиотики, протеины, нуклеиновые кислоты и др. Хитозановые наночастицы, микро- и нанокапсулы, а также гидрогели могут быть разработаны для таргетной доставки лекарств в специфические органы и ткани [9].

Хитозан проявляет высокую биосовместимость и способность стимулировать пролиферацию клеток, что делает его привлекательным биоматериалом для применения в тканевой инженерии и регенеративной медицине, в частности, для создания скаффолдов для восстановления костной, хрящевой, кожной и других тканей [10]. Биоактивные молекулы, такие как факторы роста, могут быть инкорпорированы в хитозановые матрицы для управления клеточным ответом и ускорения процессов регенерации [11].

Хитозан обладает выраженными противомикробными свойствами в отношении широкого спектра патогенных бактерий, вирусов и грибов. Механизмы его антимикробного действия включают нарушение клеточных мембран, ингибирование ферментативной активности и связывание с генетическим материалом [12]. Кроме того, хитозан способен модулировать иммунный ответ организма, проявляя противовоспалительные свойства [13].

Таким образом, актуальной задачей биотехнологии является поиск способов удешевления производства хитина/хитозана и биотехнологическое тестирование альтернативных биоресурсов.

Целью настоящего обзора является привлечение внимания биотехнологов к хитину/хитозану как биополимерам, перспективным в биомедицинских разработках, оценка потенциала его практического использования и обобщение информации по традиционным и инновационным технологиям их получения и очистки.

ХИМИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА И СВОЙСТВА ХИТИНА И ХИТОЗАНА

Хитин и хитозан (рис. 1) являются структурно родственными полисахаридами, различающимися степенью ацетилирования цепи. Хитин представляет собой линейный полимер β -(1 $\rightarrow$ 4)-связанных N-ацетилглюкозаминовых остатков, в то время как хитозан состоит из N-ацетилглюкозаминовых и глюкозаминовых звеньев, полученных в результате частичного или полного деацетилирования хитина [15, 16].

Хитин – один из наиболее распространенных природных полимеров после целлюлозы. Он является структурным компонентом клеточных стенок грибов и экзоскелетов членистоногих, таких как ракообразные и насекомые [17, 18]. Хитин обладает высокой химической и биологической стабильностью, устойчивостью к нагреванию, кислотам и щелочам. Однако из-за своей инертности и нерастворимости в воде и большинстве органических растворителей, хитин имеет ограниченные возможности практического применения [19].

В отличие от хитина, хитозан является более функциональным биополимером. Хитозан растворим в разбавленных кислотах благодаря наличию аминогрупп в глюкозаминовых звеньях, обуславливающих его катионные свойства [20, 21]. Степень деацетилирования хитина, определяющая содержание ацетильных групп, является

важнейшей характеристикой хитозана, напрямую влияющей на его физико-химические и биологические свойства. Хитозан обладает такими ценными свойствами, как биосовместимость, биodeградируемость, адгезивность, антибактериальная активность. Благодаря этому он находит широкое применение в различных областях, включая медицину, фармацевтику, пищевую промышленность [22, 23].

Для практического использования хитозан является предпочтительным по сравнению с хитином биополимером, поскольку обладает более высокой химической активностью и разнообразными функциональными возможностями. Дальнейшее изучение и модификация структуры и свойств хитозана способствует расширению его применения в различных сферах.

ПРАКТИЧЕСКОЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ХИТИНА И ХИТОЗАНА

В медицине и фармацевтике хитин и хитозан используются для создания биоматериалов, систем доставки лекарств, антимикробных и регенеративных средств. В пищевой промышленности они выступают в качестве пищевых добавок, упаковочных материалов и адсорбентов для очистки продуктов.

Применение хитозана в медицине

Заживление ран и регенерация тканей. Хитозан обладает гемостатическими свойствами и способствует ускоренному заживлению ран за счет стимуляции пролиферации клеток и ангиогенеза [24, 25]. Хитозановые гидрогели, губки и повязки используются для лечения различных типов ран, в том числе хронических и инфицированных [26, 27]. Кроме того, хитозан применяется в качестве биополимерной основы для создания искусственных кожных покровов [28, 29].

Система доставки лекарственных средств. Хитозановые наночастицы и микрочастицы используются для создания пролонгированных и таргетных лекарственных форм [30, 31]. Благодаря своим мукоадгезивным свойствам, хитозан способствует повышению биодоступности различных лекарственных препаратов, в том числе белков, пептидов и нуклеиновых кислот [32, 33]. Кроме того, хитозан проявляет адъювантные свойства, что позволяет использовать его в составе вакцин для усиления иммунного ответа [34, 35].

Замещение костной ткани. Композиты на основе хитина/хитозана применяются в качестве биоматериалов для костной пластики благодаря их схожести с природным костным матриксом и остеокондуктивности, способности стимулировать остеогенез [36]. Такие материалы используются для заполнения костных дефектов, восстановления кости после травм и в ортопедической хирургии [37, 38].

Контроль инфекций. Хитин и хитозан проявляют антибактериальную, противогрибковую и противовирусную активность, что определяет их применение в качестве антимикробных агентов [39, 40]. Механизм действия этих биополимеров включает нарушение целостности клеточных мембран, хелатирование ионов и другие эффекты [41].

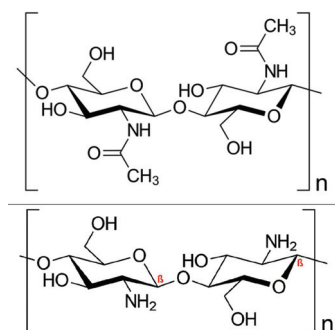


Рис. 1. Структура мономера хитина (сверху) и хитозана (снизу)
Fig. 1. Chemical structure of the chitin monomer (top) and the chitosan monomer (bottom)

Фармацевтические препараты на основе хитина/хитозана

Вспомогательные вещества в лекарственных формах.

Хитозан применяется в качестве связующего вещества, разрыхлителя, суспендирующего агента, разбухающего наполнителя и т. д. в составе таблеток, капсул, гранул, суспензий и других фармацевтических препаратов [42]. Использование хитозана в лекарственных средствах позволяет улучшить их биодоступность, стабильность и высвобождение активных ингредиентов.

Носители для доставки биологически активных соединений. Хитозановые микро- и наноструктуры используются для транспортировки лекарств, вакцин, пептидов и нуклеиновых кислот [43]. Данные биополимерные системы обеспечивают защиту доставляемых веществ от преждевременной деградации, целевую доставку в ткани-мишени и контролируемое высвобождение. Например, хитозановые наночастицы успешно применяются для доставки противоопухолевых препаратов, инсулина, антигенов и малых интерферирующих РНК [44, 45].

Активные фармацевтические ингредиенты. Хитозан проявляет противовоспалительные, антиоксидантные, гиполипидемические, антидиабетические и другие полезные фармакологические эффекты [46]. Благодаря этому хитозан и его производные могут использоваться в качестве биологически активных компонентов различных лекарственных препаратов, в том числе для лечения сердечно-сосудистых, обменных и других заболеваний.

Применение хитина/хитозана в пищевой промышленности

Пищевые добавки и ингредиенты. Хитозан применяется в качестве загустителя, стабилизатора, эмульгатора, связующего, влагоудерживающего агента и других функциональных пищевых ингредиентов [47]. Использование хитозана в составе пищевых продуктов позволяет улучшить их реологические, органолептические и технологические свойства. Кроме того, хитозан обладает гиполипидемическими, антиоксидантными и другими полезными для здоровья человека свойствами [48, 49].

Упаковочные материалы. Хитозановые пленки и покрытия используются для создания съедобной и биоразлагаемой упаковки пищевых продуктов [48, 49]. Такие материалы обеспечивают защиту от микробной порчи, снижение газопроницаемости, повышение влагоустойчивости и продление сроков хранения продуктов [50, 51].

Адсорбенты для очистки пищевых продуктов. Хитин и хитозан способны связывать тяжелые металлы, микотоксины, пестициды и другие загрязнители, что позволяет использовать их для очистки и детоксикации пищевых продуктов [52, 53]. Кроме того, антибактериальные свойства этих биополимеров делают их эффективными для обеззараживания пищевого сырья и готовой продукции [54, 55].

Как видно из представленного анализа, хитозан и композиты, условно именуемые «хитин/хитозан», находят широкое применение в медицине, фармацевтической и пищевой промышленности благодаря своим уникальным физико-химическим и биологическим свой-

ствам. Данные биополимеры используются в качестве биоматериалов, систем доставки лекарств, пищевых добавок, упаковочных материалов и адсорбентов. Дальнейшее изучение и разработка новых применений хитина и хитозана является перспективным направлением современных исследований.

ИСТОРИЯ ВЫДЕЛЕНИЯ И ИЗУЧЕНИЯ ХИТИНА И ХИТОЗАНА

Традиционно хитин и хитозан получают из панцирей ракообразных. История изучения хитина восходит к концу XVIII в., а именно работе английского химика Чарльза Хэтчетта, который на основе своих экспериментов на панцирях морских животных сообщил в 1799 г. о наличии в кутикуле «материала, особенно устойчивого к обычному химическому воздействию» [56]. В 1811 г. французский химик А. Браконно после экстракции мицелиальной массы грибов водой, спиртом и разбавленной щелочью получил нерастворимый остаток, названный им фунгином (fungine) [57, 58]. Примечательно, что оба открытия произошли примерно за 30 лет до открытия растительной целлюлозы и при этом остались практически незамеченными научным сообществом. Термин «хитин» был предложен в 1823 г. французским биологом А. Ожье, исследовавшим наружный скелет насекомых. Термин отсылает к греческому слову «хитон», означавшему определенный тип античного одеяния [59].

История хитозана, основного производного хитина, восходит к 1859 г., а именно к работе Ш. Руже, который сообщил, что обработка хитина концентрированным раствором едкого кали под обратным холодильником дала новый «модифицированный хитин», растворимый в органических кислотах. Однако само название «хитозан» было введено в 1894 г. Ф. Гоппе-Зейлером для кислоторастворимого производного хитина, полученного после обработки панциря крабов, скорпионов и пауков [60].

На протяжении XX в. ученые активно исследовали физико-химические свойства этих биополимеров, их химическую структуру и возможности практического применения. Первоначально хитин и хитозан находили ограниченное использование в медицине и косметологии. Однако в последующие десятилетия спектр их применения значительно расширился, охватив такие отрасли, как фармацевтическая и пищевая промышленность, сельское хозяйство и технологии очистки воды.

Сегодня хитин и хитозан рассматриваются как перспективные биоматериалы, имеющие большой биотехнологический потенциал. Ведутся исследования по поиску альтернативных источников этих биополимеров, а также по совершенствованию технологии их выделения, очистки и модификации. Накопленные за столетие знания позволяют прогнозировать все более широкое внедрение хитина/хитозана в различные отрасли промышленности и сферы человеческой деятельности.

В начале 1900-х гг. М. Хофер провел фундаментальные исследования по химии хитина из панцирей крабов и креветок. Он установил его структурную формулу [61]. В 1934 г. польский биохимик А. Мальчевский выделил из хитиновых образцов первый кристаллический образец хитозана [62].

В 1950-х гг. японские исследователи организовали промышленное производство хитина и хитозана из панцирей крабов и креветок в коммерческих масштабах [63].

Несмотря на то, что биополимер, известный сегодня как хитин, был довольно рано открыт у грибов, его отождествление с хитином членистоногих состоялась только в первой половине XX столетия.

В 1904 г. французский микробиолог А. С. Перрен [64] сообщил об обнаружении вещества, похожего на хитин, в клеточных стенках красного мухомора (*Amanita muscaria*). В 1926 г. бельгийский ботаник Ф. Карнуа [65] описал присутствие хитиноподобного полимера у различных видов грибов. Обширная статья Карнуа была опубликована в бельгийском научном журнале «La Cellule» на французском языке. На стр. 88–90 данной работы Карнуа ссылается на более раннее открытие А. С. Перрена 1904 года [66] и упоминает его исследование «хитиноподобного» вещества мухомора.

В 1931 г. немецкий химик А. Шмук [67] проанализировал состав клеточных стенок базидиомицетов и определил в них хитин и хитозан. Это была статья в авторитетном немецком научном журнале «Zeitschrift für physiologische Chemie».

В 1975 г. японские ученые [68] опубликовали статью, посвященную выделению и характеристике хитиндеацетилазы из плесневого гриба *Mucor rouxii*. Этот фермент катализирует реакцию деацетилирования хитина с образованием хитозана.

В России первые исследования, связанные с изучением свойств хитина, были проведены под руководством известного химика-органика П. П. Шорыгина в 1934–1935 гг. и включали реакции ацетилирования, нитрования и метилирования этого биополимера, хорошо изученные к тому времени на целлюлозе. Эти исследования показали, что хитин обладает очень низкой реакционной способностью: например, для получения монометилхитина требовалось провести 15 обработок. Работы в этих областях не были завершены и не привели к ясности относительно причин низкой реакционной способности хитина [69].

Процитированная и множество других работ послужили отправной точкой для многочисленных последующих исследований, посвященных разработке эффективных методов извлечения хитина/хитозана из ракообразных грибов, оптимизации параметров этих процессов, поиску нового перспективного сырья.

ОСНОВНЫЕ ПОДХОДЫ К ПОЛУЧЕНИЮ ХИТИНА/ХИТОЗАНА ИЗ ЧЛЕНИСТОНОГИХ

Основные методы очистки хитина

Изначально внимание биотехнологов было сосредоточено на животном хитине и базовые методы извлечения и очистки этого биополимера оформились именно на этом этапе.

Организация хитина в кутикуле членистоногих показана на рис. 2. Несмотря на сложность организации самой кутикулы, хитин в ней не связан ковалентно с другими линейными биополимерами и организован в нанофибриллы, образующие достаточно гомогенный матрикс. Лишь у морских ракообразных матрикс значительно обывествлен.

Депротеинизация. Депротеинизация – удаление белковых веществ, присутствующих в хитиновом материале, обычно с помощью обработки щелочами (гидроксид натрия, гидроксид калия) и/или ферментативного гидролиза с помощью протеаз. Депротеинизация является важнейшим этапом экстракции и очистки хитина/хитозана [71, 72].

Для депротеинизации могут быть использованы различные методы, наиболее распространенными из которых являются щелочная обработка и ферментативный гидролиз. Щелочная депротеинизация обычно включает использование гидроксида натрия (NaOH) или гидроксида калия (KOH) для растворения и удаления белковых загрязнений [73]. Хитиновый материал подвергается воздействию среды с высоким уровнем pH, что разрушает белковые структуры и облегчает их отделение от хитина.

Альтернативный путь ферментативной депротеинизации предполагает использование протеазных ферментов для избирательного гидролиза белковых компонентов, оставляя структуру хитина незатронутой [74]. Такой

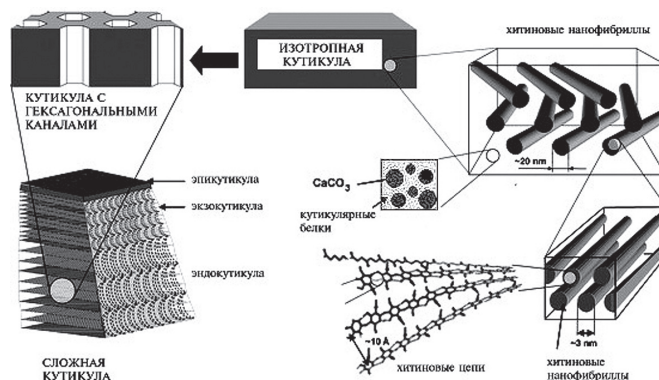


Рис. 2. Обобщенная схема организации кутикулы членистоногих. Хитиновые нанофибриллы погружены в аморфный матрикс, образованный кутикулярными белками и иногда гранулами извести (по: [70])
Fig. 2. Generalized diagram of the organization of the arthropod cuticle. Chitin nanofibrils are immersed in an amorphous matrix formed by cuticular proteins and sometimes the lime granules (according to: [70])

подход может быть признан более щадящим по отношению к хитину и часто приводит к более высокому уровню чистоты продукта, но может занять больше времени и потребовать тщательной оптимизации условий.

Выбор метода депротеинизации, а также конкретные параметры (например, концентрация щелочи, продолжительность обработки, выбор фермента и время реакции) могут существенно повлиять на свойства и качество конечного продукта. Тщательный контроль этих факторов необходим для обеспечения эффективного удаления белков при минимизации любой потенциальной деградации или структурных изменений хитина [75].

Используя методы депротеинизации, исследователи и промышленные предприятия могут получать образцы хитина высокой чистоты, которые подходят для широкого спектра применения [76, 77].

Деминерализация. Удаление из хитинсодержащего материала минеральных солей является важным этапом в извлечении и очистке хитина. Это достигается, как правило, с помощью обработки сырья разбавленными растворами кислот, например, соляной (HCl) или уксусной (CH₃COOH) [78]. Минеральные соли, присутствующие в исходном сырье, в основном представлены карбонатами и фосфатами кальция. Обработка кислотными растворами способствует растворению и последующему удалению этих минеральных компонентов, оставляя хитиновую структуру относительно неповрежденной. Более поздние исследования показывают, что оптимизация условий деминерализации, таких как концентрация кислоты, температура и время обработки, имеет решающее значение для эффективного удаления минеральных солей при сохранении целостности базовой структуры хитина [79, 80]. Некоторые авторы также предлагают альтернативные методы деминерализации с использованием ионообменных смол или электрохимических процессов для достижения более мягких условий обработки [81, 82]. Выбор кислоты, ее концентрация и продолжительность обработки являются важными параметрами, которые влияют на эффективность деминерализации и сохранность хитина. Чрезмерно агрессивные условия могут привести к нежелательному гидролизу и деградации хитиновой цепи [83].

Таким образом, деминерализация с использованием разбавленных кислотных растворов представляет собой ключевой этап в выделении и очистке высококачественного хитина из природных источников, предшествующий другим стадиям, таким как деацетилирование и получение хитозана [84, 85].

Деацетилирование. Процесс частичного удаления ацетильных групп посредством обработки концентрированными (40–50%-ми) растворами щелочей при высоких температурах ведет к превращению хитина в хитозан. Деацетилирование хитина продолжает оставаться важным этапом в производстве хитозана [86–89].

Последние исследования фокусируются на оптимизации и совершенствовании условий деацетилирования для получения хитозана с желаемыми физико-химическими характеристиками и степенью деацетилирования [90, 91]. Некоторые авторы также предлагают альтернативные методы, такие как ферментативное деацетилирование или использование ионных жидкостей для достижения более мягких условий процесса [92–94].

Таким образом, деацетилирование по-прежнему является ключевым этапом в производстве хитозана и исследования в этой области направлены на оптимизацию и совершенствование данного процесса для получения материалов с улучшенными свойствами.

Очистка хитозана включает в себя удаление остаточных минеральных и белковых примесей, а также избытка щелочей фильтрацией, диализом или репреципитацией.

Основные методы очистки хитозана

Фильтрация. После деацетилирования хитина полученный хитозан растворяют в слабой кислоте (уксусная, соляная). Далее раствор фильтруют для удаления нерастворимых примесей. Фильтрат может быть дополнительно очищен путем диализа или ультрафильтрации [95, 96].

Диализ. Этот процесс позволяет удалить низкомолекулярные примеси (минеральные соли, олигомеры). Раствор хитозана помещают в диализный мешок или трубку. Диализ проводят с использованием дистиллированной воды или слабого раствора кислоты [97].

Репреципитация. Раствор хитозана осаждают путем добавления щелочи до достижения pH 8–9. Полученный осадок отделяют фильтрацией или центрифугированием. Для удаления остатков щелочи осадок промывают дистиллированной водой [98, 99].

Для характеристики степени деацетилирования и чистоты хитозана на разных стадиях очистки применяли ИК-спектроскопию [100]. В некоторых случаях необходима модификация хитозана для получения водорастворимых производных [101].

Степень очистки хитозана влияет на его дальнейшее применение. Высокая степень очистки требуется для использования в фармацевтической промышленности, медицине, пищевой промышленности. Для технических применений допустим более низкий уровень очистки. В целом комбинация различных методов очистки (фильтрация, диализ, репреципитация) позволяет получить хитозан с высокой степенью чистоты и минимальным содержанием примесей.

Сушка хитозана. Этот процесс может проводиться различными способами, такими как лиофилизация (сублимационная сушка), распылительная сушка или сушка в сушильном шкафу. Степень деацетилирования и молекулярная масса получаемого хитозана зависят от условий процессов деминерализации, деацетилирования (температура, время, концентрация щелочи) и очистки.

ОСНОВНЫЕ ПОДХОДЫ К ПОЛУЧЕНИЮ ХИТИНА И ХИТОЗАНА ИЗ ГРИБОВ

Увеличение объемов производства культивируемых грибов сопровождается ростом побочных продуктов и отходов, доля которых составляет от 5 до 20% объема производства самих грибов [102]. Например, только производство шампиньонов (*Agaricus bisporus*) ежегодно приводит к образованию около 50 000 т отходов [103].

Эти отходы являются легко портящимся продуктом с высокой активностью собственных ферментов, включая тирозиназу, и представляют одну из экологических проблем для перерабатывающих предприятий [104], но в то же время являются потенциальным сырьем для получения биологически активных полисахаридов.

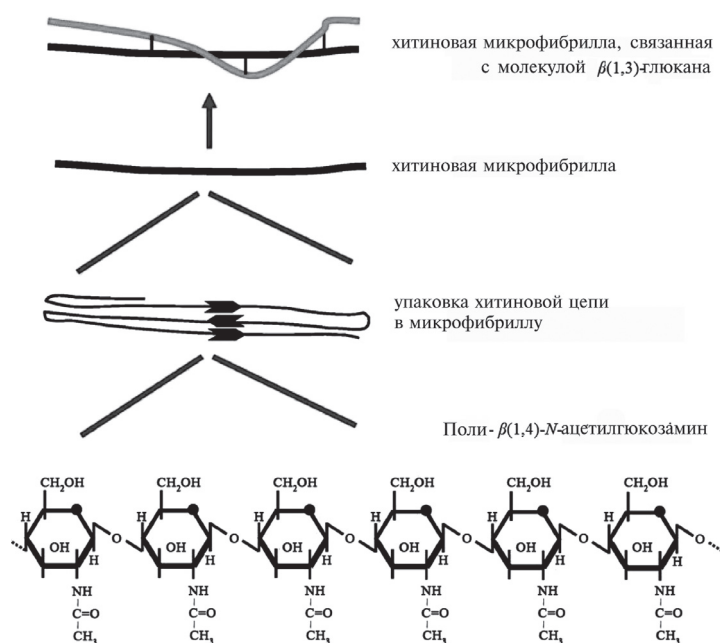


Рис. 3. Первичная – четвертичная структура хитина в клеточной стенке грибов (по: [106])
Fig. 3. Primary – quaternary structure of chitin in fungal cell wall (according to: [106])

Таким образом, ежегодный прирост объема грибных отходов подчеркивает необходимость разработки эффективных технологий выделения и очистки хитина и хитозана и их дальнейшего целевого использования [105].

Хитин составляет основу клеточной стенки грибов, в которой организован в форме микрофибрилл, связанных с молекулами β -глюканов (рис. 3).

Как видим, в грибной клетке хитин более плотно упакован в микрофибриллы в виде антипараллельных цепочек и, кроме того, хитиновые микрофибриллы связаны водородными, а иногда и ковалентными связями с разветвленными молекулами β -глюканов, образующих аморфный матрикс клеточной стенки. Соответственно извлечение чистого хитина/хитозана из клеточной стенки грибов по себестоимости дороже, чем из кутикулы членистоногих.

С другой стороны, грибной мицелий является более доступным источником хитина, поскольку его производство не ограничено сезонностью или узкими ареалами видов-продуцентов, как в случае панцирных ракообразных. Кроме того, грибной мицелий содержит более низкие уровни неорганических солей, что отчасти упрощает процесс, не требует агрессивных кислотных растворителей и приводит к меньшей стоимости утилизации отходов.

Физико-химические свойства хитина, полученного из различных источников, могут отличаться, что влияет на их практическое применение. Например, индукция иммунного ответа растений может быть более эффективной при использовании хитина, полученного из грибного мицелия.

В целом грибной мицелий представляет собой перспективный источник хитина с точки зрения доступности сырья, хотя извлекается в форме хитин-глюкановых комплексов, из которых далее извлечь чистый продукт

без ухудшения его качества до сих пор проблематично. Так или иначе, методический арсенал извлечения хитина/хитозана из грибного сырья унаследовал базовые методы извлечения животного хитина, но также обогатился методами «зеленой химии» и промышленно-микробиологическими методами.

Традиционные химические методы

Химические методы извлечения хитина и хитозана из грибной биомассы сохраняют наиболее широкое распространение. Они включают те же стандартные стадии: 1) обработку сырья гидроокисью натрия или гидроокисью калия для удаления белков и органических кислот и солей; 2) деминерализацию с использованием разбавленных растворов соляной, азотной или уксусной кислоты для растворения неорганических веществ; 3) деацетилирование хитина концентрированными растворами щелочей при нагревании для получения хитозана.

Преимуществами химических методов являются высокий выход и степень чистоты конечного продукта. Однако они требуют применения агрессивных химических реагентов, длительного времени обработки, большого количества воды и энергозатрат [107].

Методы «зеленой химии»

Использование ферментов для получения хитозана считается более экологичным подходом. Обычно применяются ферменты для деполимеризации хитина, удаления белков (протеазы) и деминерализации (хитин-связывающие белки). Затем хитин обрабатывается химическими реагентами для деацетилирования.

Преимуществами являются мягкие условия реакции, более высокая степень чистоты продукта. Однако выход хитозана ниже, процесс более длительный и требующий использования дорогостоящих ферментных препаратов [108].

Промышленно-микробиологические методы

Данные методы основаны на использовании грибов или бактерий, способных продуцировать хитин/хитозан или хитинолитические ферменты. Наиболее изучены грибы родов *Mucor*, *Rhizopus*, *Cunninghamella* (*Mucoromycota*). Процесс включает культивирование этих микроорганизмов с накоплением хитиновых полимеров в биомассе и последующей химической или ферментативной обработкой.

Преимуществами этой группы методов являются отсутствие необходимости в деминерализации сырья, низкие энергозатраты, возможность получения олигомеров хитозана. Однако требуется оптимизация условий культивирования, выделения и очистки полимера [109].

Комбинированные методы

Для достижения более высокого выхода и степени очистки целевого продукта нередко сочетают традиционные химические и биологические методы наработки и извлечения хитина/хитозана. Например, предварительную биологическую ферментацию грибов с накоплением хитинсодержащей биомассы комбинируют с последующей химической обработкой растворами щелочей [110].

Каждый подход имеет свои достоинства и недостатки. Выбор метода зависит от цели применения хитозана, доступности сырья и оборудования, экономических и экологических факторов.

Хитин и хитозан, выделенные из грибного сырья, могут отличаться по молекулярной массе, степени ацетилирования и распределению заряженных групп по сравнению с аналогичными соединениями, полученными из ракообразных. Эти структурные различия могут влиять на функциональные свойства и биологическую активность грибных хитина и хитозана.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Наличие хитина среди эукариот ограничивается в основном супергруппой *Opisthokonta* (животные, грибы), хотя отдельные представители *Amoebozoa* (энтамеба), *Archaeplastida* (красные водоросли) и SAR (оомице-

ты, охрофиты, динофлагелляты, церкозои, инфузории) содержат хитин как минорный компонент в своих надмембранных образованиях (111–113). Этот азотсодержащий биополимер более свойственен гетеротрофам, клетки которых пытаются различными способами избавиться от избытка азота.

Еще в начале XX в. основной компонент клеточной стенки грибов неохотно отождествляли с хитином, называя его на первых порах «хитиноподобным веществом». Соответственно, технология выделения хитина и хитозана отработана на животном сырье и, прежде всего, панцирях морских ракообразных.

В настоящее время себестоимость производства 1 кг хитозана из раковин креветок и крабов составляет около 50–120 \$. В то же время, выделение сопоставимого количества хитозана из грибной биомассы оценивается в 100–150 \$. С другой стороны, культивирование многих видов съедобных грибов является технологически более простым и экономически эффективным. Так, содержание хитина в ножках вешенки устричной (*Pleurotus ostreatus*) может достигать 19% (в пересчете на сухую массу) в процессе послеуборочного хранения. С учетом объемов грибных отходов, ежегодно накапливаемых производителями, существует потенциал для производства около 1000 тонн сырого грибного хитина в год в условиях США. Сырье вешенки представляет собой комплекс хитина и глюканов, который может быть использован в качестве биопестицида, регулятора роста растений и ценной кормовой добавки [114, 115]. Хитин-глюкановый комплекс не требует очистки и для производства БАДов иммуномодулирующего действия.

Это является основанием для оценки, согласно которой рентабельность производства хитина/хитозана из ракообразных и съедобных грибов находятся примерно на одном уровне. Себестоимость продукции из грибов может быть снижена за счет использования отходов сельскохозяйственного или лесного производства в качестве питательных субстратов. Это делает перспективным использование грибов в качестве источников хитина/хитозана в лесных регионах.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Jang M. K., Kong B. G., Jeong Y. I., Lee C. H., Nah J. W. Physicochemical characterization of α -chitin, β -chitin, and γ -chitin separated from natural resources // *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*. 2004. V. 42(14). P. 3423–3432.
2. Gleba D., Borisjuk N. V., Borisjuk L. G., Kneer R., Poulev A., Skarzhinskaya, M., Raskin I. Use of plant roots for phytoremediation and molecular farming // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1999. V. 96(11). P. 5973–5977.
3. Bartnicki-Garcia S. Cell wall chemistry, morphogenesis, and taxonomy of fungi // *Annual review of microbiology*. 1968. V. 22(1). P. 87–108.
4. Merzendorfer H. The cellular basis of chitin synthesis in fungi and insects: common principles and differences // *European Journal of Cell Biology*. 2011. V. 90(9). P. 759–769.
5. Rojas-Graü M. A., Avena-Bustillos R. J., Olsen C., Friedman M., Henika P. R., Martín-Belloso O., McHugh T. H. Effects of plant essential oils and oil compounds on mechanical, barrier and antimicrobial properties of alginate-apple puree edible films // *Journal of Food Engineering*. 2007. V. 81(3). P. 634–641.
6. Prashanth K. V., Tharanathan R. N. Chitin/chitosan: modifications and their unlimited application potential – an overview // *Trends in food science and technology*. 2007. V. 18(3). P. 117–131.
7. Ravi Kumar M. N. V. A review of chitin and chitosan applications // *Reactive and Functional Polymers*. 2000. V. 46(1). P. 1–27.
8. Jayakumar R., Prabakaran M., Nair S. V., Tamura H. Novel chitin and chitosan materials in wound dressing. *Biomedical engineering, biotechnology, and health sciences* // 2010. V. 2. P. 29–51.

9. Qi L. F., Xu Z. R., Li Y., Jiang X., Han X. Y. *In vitro* effects of chitosan nanoparticles on proliferation of human gastric carcinoma cell line MGC803 cells. *World Journal of Gastroenterology*. 2005. V. 11(33). P. 5136.
10. Muzzarelli R. A. Chitins and chitosans for the repair of wounded skin, nerve, cartilage and bone // *Carbohydrate Polymers*. 2009. V. 76(2). P. 167–182.
11. Muzzarelli R. A., Boudrant J., Meyer D., Manno N., DeMarchis M., Paoletti M. G. Current views on fungal chitin/chitosan, human chitinases, food preservation, glucans, pectins and inulin: a tribute to Henri Braconnot, precursor of the carbohydrate polymers science, on the chitin bicentennial // *Carbohydrate Polymers*. 2012. V. 87(2). P. 995–1012.
12. Fang Z. H., Zhao C. Q., Shi Z. L., Tang Z. R., Chen H. L., Yao K. D. Antibacterial and physical properties of chitosan-reinforced sodium alginate transparent film // *Journal of applied polymer science*. 2001. V. 82(2). P. 398–402.
13. Xia W., Liu P., Zhang J., Chen J. Biological activities of chitosan and chitooligosaccharides // *Food Hydrocolloids*. 2011. V. 25(2). P. 170–179.
14. Dutta P. K., Dutta J., Tripathi V. S. Chitin and chitosan: Chemistry, properties and applications // *Journal of scientific and industrial research*. 2004. V. 63(1). P. 20–31.
15. Pillai C. K.S. et al. Chitin and chitosan polymers: Chemistry, solubility and fiber formation // *Progress in Polymer Science*. 2009. V. 34(7). P. 641–678.
16. Rinaudo M. Chitin and chitosan: Properties and applications // *Progress in Polymer Science*. 2006. V. 31(7). P. 603–632.
17. Muzzarelli R. A.A. Chitin and its derivatives: New trends of applied research // *Carbohydrate Polymers*. 1983. V. 3(1). P. 53–75.
18. Dutta P. K., Dutta J., Tripathi V. Chitin and chitosan: Chemistry, properties and applications // *Journal of Scientific and Industrial Research*. 2004. P. 63(1). P. 20–31.
19. Tharanathan R. N., Kittur F. S. Chitin-the undisputed biomolecule of great potential // *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2003. V. 43(1). P. 61–87.
20. Domard A. pH and c. d. measurements on a fully deacetylated chitosan: application to Cu II-polymer interactions // *International Journal of Biological Macromolecules*. 1987. V. 9(2). P. 98–104.
21. Ravi Kumar M. N.V. A review of chitin and chitosan applications // *Reactive and Functional Polymers*. 2000. V. 46(1). P. 1–27.
22. Xia W. et al. Medical application of chitosan // *Carbohydrate Polymers*. 2011. V. 84(1). P. 22–34.
23. Cheung R. C., Ng T. B., Wong J. H., Chan W. I. Chitosan: An update on potential biomedical and pharmaceutical applications // *Marine Drugs*. 2015. V. 13(8). P. 5156–5186. doi: 10.3390/md13085156
24. Jayakumar R., Prabakaran M., Kumar S. P. T., Nair S. V., Tamura H. Biomaterials based on chitin and chitosan in wound dressing applications // *Bio-technology Advances*. 2011. V. 29(3). P. 322–337. doi: 10.1016/j.biotechadv.2011.01.005
25. Okamoto Y. et al. Biomedical applications of chitin and chitosan // *Progress in Polymer Science*. 2003. V. 28(2). P. 187–226.
26. Katas H., Alpar H. O. Development and characterisation of chitosan nanoparticles for siRNA delivery // *Journal of Controlled Release*. 2006. V. 115(2). P. 216–225.
27. Di Martino A. et al. Chitosan: A versatile biopolymer for orthopaedic tissue-engineering // *Carbohydrate Polymers*. 2005. V. 59(2). P. 185–199.
28. Sinha V. R., Singla A. K., Wadhawan S., Kaushik R., Kumria R., Bansal K., Dhawan S. Chitosan microspheres as a potential carrier for drugs // *International Journal of Pharmaceutics*. 2004. V. 274(1–2). P. 1–33. doi: 10.1016/j.ijpharm.2003.12.026
29. Hejazi R., Amiji M. Chitosan-based gastrointestinal delivery systems // *Journal of Controlled Release*. 2003. V. 89(2). P. 151–165.
30. Madihally S. V., Matthew H. W.T. Porous chitosan scaffolds for tissue engineering // *Biomaterials*. 1999. V. 20(12). P. 1133–1142.
31. Seol Y. J., Lee J. Y., Park Y. J. Chitosan sponges as tissue engineering scaffolds for bone formation // *Biotechnology Letters*. 2004. V. 26(13). P. 1037–1041. doi: 10.1023/B:BILE.0000032962.79531.f0
32. Rabea E. I. et al. Chitosan as antimicrobial agent: Applications and mode of action // *Biomacromolecules*. 2003. V. 4(6). P. 1457–1465.
33. Goy R. C., De Britto D., Assis O. B.G. A review of the antimicrobial activity of chitosan // *Polímeros*. 2009. V. 19(3). P. 241–247. doi: 10.1590/S0104-14282009000300013
34. Rowe R. C., Sheskey P. G., Quinn M. E. *Handbook of pharmaceutical excipients* // Pharmaceutical press, London, Chicago, 2009. 917 p.
35. Mitra S., Gaur U. Chitosan-based systems for deoxyribonucleic acid delivery // *Expert Opinion in Drug Delivery*. 2012. V. 9(7). P. 663–665.
36. Amidi M., Mastrobattista E., Jiskoot W., Hennink W. E. Chitosan-based delivery systems for protein therapeutics and antigens // *Advanced Drug Delivery Review*. 2010. V. 62(1). P. 59–82. doi: 10.1016/j.addr.2009.11.009
37. Upadhyaya L., Singh J., Agarwal V., Tewari R. P. Biomedical applications of carboxymethyl chitosans // *Carbohydrate Polymers*. 2013. V. 91(1). P. 452–466. doi: 10.1016/j.carbpol.2012.07.076
38. Huang R. et al. Chitosan derived oligosaccharides: Advancement and perspectives // *Marine Drugs*. 2020. V. 18(4). P. 225.
39. Shahidi F., Kamil J., Arachchi V., Jeon Y. J. Food applications of chitin and chitosans // *Trends in Food Science and Technology*. 1999. V. 10(2). P. 37–51. doi: 10.1016/S0924-2244(99)00017-5

40. Choi B. K. et al. *In vitro* and *in vivo* studies of chitosan-based oral delivery systems for ovalbumin // *International Journal of Pharmaceutics*. 1998. V. 157(1). P. 95–101.
41. Elsabee M. Z., Abdou E. S. Chitosan based edible films and coatings: A review // *Materials Science and Engineering*. C. 2013. V. 33(4). P. 1819–1841.
42. Aider M. Chitosan application for active bio-based films production and potential in the food industry: Review // *LWT – Food Science and Technology*. 2010. V. 43(6). P. 837–842.
43. Guibal E. Interactions of metal ions with chitosan-based sorbents: a review // *Separation and Purification Technology*. 2004. V. 38(1). P. 43–74.
44. Jothi D. et al. Adsorption of mycotoxins by chitosan and chitosan oligosaccharides // *Food Hydrocolloids*. 2017. V. 67. P. 173–182.
45. Zou P. et al. Chitosan-based delivery systems for proteins and peptides // *Acta Pharm. Sin. B*. 2016. V. 6(4). P. 322–330.
46. Xia W., Liu P., Zhang J., Chen J. Biological activities of chitosan and chitooligosaccharides // *Food Hydrocolloids*. 2011. V. 25(2). P. 170–179.
47. Friedman M., Juneja V. K. Review of antimicrobial and antioxidative activities of chitosans in food // *Journal of Food Protection*. 2010. V. 73(9). P. 1737–1761.
48. Leceta I. et al. Environmental assessment of chitosan-based films // *Journal of Cleaner Production*. 2013. V. 41. P. 312–318.
49. Salaberria A. M., Diaz R. H., Labidi J., Fernandes S. C.M. Chitin nanocrystals and nanofibers as nano-sized fillers into thermoplastic starch-based biocomposites processed by melt-mixing // *Food Hydrocolloids*. 2015. V. 46. P. 42–52. doi: 10.1016/j.foodhyd.2014.12.016
50. Divya K., Vijayan S., George T. K. Antimicrobial properties of chitosan nanoparticles: Effect of preparation conditions on their antibacterial activity // *Carbohydrate Polymers*. 2017. V. 164. P. 119–125. doi: 10.1007/s12221-017-6690-1
51. Dutta P. K., Tripathi S., Mehrotra G. K., Dutta J. Perspectives for chitosan based antimicrobial films in food applications // *Food Chemistry*. 2009. V. 114(4). P. 1173–1182. doi: 10.1016/j.foodchem.2008.11.047
52. Feng T. et al. Adsorption and desorption characteristics of aflatoxin B1 on acid-and alkali-treated chitosan // *Carbohydrate Polymers*. 2016. V. 153. P. 246–253.
53. Kumar M. N., Muzzarelli R. A., Muzzarelli C., Sashiwa H., Domb A. J. Chitosan chemistry and pharmaceutical perspectives // *Chemical Reviews*. 2004. V. 104(12). P. 6017–1684. doi: 10.1021/cr030441b
54. Devlieghere F. et al. Antimicrobial activity of chitosan food coatings. In: *Chitin handbook*. 1997. P. 385–395.
55. Papineau A. M. et al. Antimicrobial effect of water-soluble chitosans on the growth of various microorganisms // *Applied and Environmental Microbiology*. 1991. V. 57(5). P. 1434–1439.
56. Hatchett C. Experiments and observations on shell and bone // *Philosophical Transactions of the Royal Society of London*. 1799. V. 89(18). P. 315–334.
57. Braconnot H. Analytical research on the nature of mushrooms. In: Klostermann J (ed.). *Collection of memoirs concerning chemistry and the arts which depend on it and especially pharmacy, volume seventy-nine* // *Annals of Chemistry*. Librairie des Ecoles Impériales Polytechnique et des Ponts et Chaussées. Paris, 1811. P. 272–292.
58. Braconnot H. On the nature of mushrooms. In: Klostermann J (ed.). *Collection of memoirs concerning chemistry and the arts which depend on it and especially pharmacy, volume seventy-nine*. *Annals of Chemistry*. Librairie des Ecoles Impériales Polytechnique et des Ponts et Chaussées. Paris, 1811. P. 265–304.
59. Odier A. Mémoire sur la composition chimique des parties cornées des insectes // *Mémoires de la Société d'Histoire Naturelle de Paris*. 1823. V. 1. P. 29–42.
60. Crini G. Historical review on chitin and chitosan biopolymers // *Environmental Chemistry Letters*. 2019. V. 17. P. 1623–1643. doi: 10.1007/s10311-019-00901-0
61. Hoffer A. Über die Konstitution des Chitins und Chitosans // *Monatshefte für Chemie*. 1906. V. 27. P. 85–106.
62. Malczewski A. B. Process for the preparation of crystalline chitin derivatives // *Polish Patent*. 1934. N21. P. 859.
63. Nomura H., Yoshida H. Chitin derivatives. I. Production of chitin derivatives from crab shells // *Sen'i Gakkaishi*. 1962. V. 18. P. 210–217.
64. Perrin A. C. Sur une nouvelle substance formée analogue à la chitine // *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences*. 1904. V. 139. P. 529–531.
65. Carnoy F. Recherches sur la composition chimique de la membrane cellulaire chez les champignons // *La Cellule*. 1926. V. 37. P. 88–90.
66. Perrin A. C. Über das Chitin und seine Spaltungsprodukte // *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft*. 1904. V. 37(2). P. 1430–1440.
67. Schmuk A. Über die Zellwände der Basidiomyceten und ihre Chemie. *Zeitschrift für physiologische Chemie*. 1931. V. 199(1–2). P. 94–106.
68. Araki Y., Ito E. A pathway of chitosan formation in *Mucor rouxii*: enzymatic deacetylation of chitin // *European Journal of Biochemistry*. 1975. V. 55(1). P. 71–78.
69. История исследований в области хитина и хитозана / [Электронный ресурс] // Российское хитиновое общество: [сайт]. – URL: <http://www.chitin.ru/history.htm> (дата обращения: 11.06.2024).
70. Fabritius H., Sachs C., Raabe D., Nikolov S., Friák M., Neugebauer J. Chitin in the exoskeletons of Arthropoda: from ancient design to novel materials science. In: N. Gup-

ta (ed.) Chitin. Topics in Geobiology. V. 34. Springer, Dordrecht, 2011. doi: 10.1007/978-90-481-9684-5_2

71. Rinaudo M. Chitin and chitosan: Properties and applications // Progress in Polymer Science. 2006. V. 31(7). P. 603–632.

72. Pillai C. K. S., Paul W., Sharma C. P. Chitin and chitosan polymers: Chemistry, solubility and fiber formation // Progress in Polymer Science. 2009. V. 34(7). P. 641–678.

73. Younes I., Rinaudo M. Chitin and chitosan preparation from marine sources. Structure, properties and applications // Marine Drugs. 2015. V. 13(3). P. 1133–1174.

74. Kaya M., Baran T., Asan-Ozusaglam M., Cakmak Y. S., Tozak K. O., Mol A., Sezen, G. Extraction and characterization of chitin and chitosan from six different freshwater crustaceans // Food Bioscience. 2015. V. 12. P. 108–114.

75. Aranaz I., Mengibar M., Harris R., Paños I., Miralles B., Acosta N., Heras Á. Functional characterization of chitin and chitosan // Current Chemical Biology. 2009. V. 3(2). P. 203–230.

76. Synowiecki J., Al-Khateeb N. A. Production, properties, and some new applications of chitin and its derivatives // Critical reviews in food science and nutrition. 2003. V. 43(2). P. 145–171.

77. Younes I., Rinaudo M. Chitin and chitosan preparation from marine sources. Structure, properties and applications // Marine Drugs. 2015. V. 13(3). P. 1133–1174.

78. Kumirska J., Czerwicka M., Kaczyński Z., Bychowska A., Brzozowski K., Thöming J., Stepnowski P. Application of spectroscopic methods for structural analysis of chitin and chitosan // Marine Drugs. 2010. V. 8(5). P. 1567–1636.

79. Liao W., Tian M., Qian C., Yu Y., Zhao J., Li X., Chen L. Optimization of the demineralization process for chitin extraction from cicada slough // International Journal of Biological Macromolecules. 2020. V. 146. P. 390–397.

80. Zargar V., Asghari M., Dashti, A. A review on chitin and chitosan polymers: Structure, chemistry, solubility, derivatives, and applications // ChemBioEng Reviews. 2015. V. 2(3). P. 204–226.

81. Kaya M., Baran T., Asan-Ozusaglam M., Cakmak Y. S., Tozak K. Ö., Mol A., Şatiroğlu N. Extraction and characterization of chitin and chitosan with antimicrobial and antioxidant activities from cosmopolitan Orthoptera species (Insecta) // Biotechnology and Bioprocess Engineering. 2015. V. 20(1). P. 168–179.

82. Zhou Y., Liang T., Wu C., Wu D., Li X., Chen L. Efficient demineralization of chitin via a modified electrochemical process and its characterization // International Journal of Biological Macromolecules. 2021. V. 172. P. 506–513.

83. No H. K., Meyers S. P. Preparation and characterization of chitin and chitosan – a review // Journal of Aquatic Food Product Technology. 1995. V. 4(2). P. 27–52.

84. Synowiecki J., Al-Khateeb N. A. Production, properties, and some new applications of chitin and its derivatives

// Critical reviews in food science and nutrition. 2003. V. 43(2). P. 145–171.

85. Rinaudo M. Chitin and chitosan: properties and applications // Progress in Polymer Science. 2006. V. 31(7). P. 603–632.

86. Younes I., Rinaudo, M. Chitin and chitosan preparation from marine sources. Structure, properties and applications // Marine Drugs. 2015. V. 13(3). P. 1133–1174.

87. Abdou E. S. Nagy K. S., Elsabee M. Z. Extraction and characterization of chitin and chitosan from local sources // Bioresource Technology. 2008. V. 99(5). P. 1359–1367.

88. Kumirska J., Czerwicka M., Kaczyński Z., Bychowska A., Brzozowski K., Thöming J., Stepnowski P. Application of spectroscopic methods for structural analysis of chitin and chitosan // Marine Drugs. 2010. V. 8(5). P. 1567–1636.

89. Younes I., Rinaudo M. Chitin and chitosan preparation from marine sources. Structure, properties and applications // Marine Drugs. 2015. V. 13(3). P. 1133–1174.

90. Brugnerotto J., Lizardi J., Goycoolea F. M., Argüelles-Monal W., Desbrieres J., Rinaudo M. An infrared investigation in relation with chitin and chitosan characterization // Polymer. 2001. V. 42(8). P. 3569–3580.

91. Lertsutthiwong P. N., How C., Chandkrachang S., Stevens W. F. Effect of chemical treatment on the characteristics of shrimp chitosan // Journal of Metals, Materials and Minerals. 2002. V. 12(2). P. 11–18.

92. Jiang J., Habib A., Liu Y., Li Y., Jin L., Li B., Li L. Preparation and characterization of chitosan from squid pens and its antioxidant and antibacterial activities // International Journal of Biological Macromolecules. 2020. V. 163. P. 1581–1590.

93. Huang W., Geng M., Guan Y., Dou H., Liu Z. Preparation, characterization, and biological applications of water-soluble chitosan derivatives // International Journal of Molecular Sciences. 2021. V. 22(6). P. 3173.

94. Shimojoh M., Akiyoshi A., Chiba Y., Yamamoto N., Kajiyama S. Enzymatic deacetylation of chitin using chitinase from *Bacillus cereus* // Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry. 2021. V. 85(2). P. 551–556.

95. Dash M., Mohan T., Heinze T., Chiellini F. Novel methodologies for the deacetylation of chitin using ionic liquids // Carbohydrate Polymers. 2021. V. 251. P. 117100.

96. Abdou E. S., Nagy K. S., Elsabee M. Z. Extraction and characterization of chitin and chitosan from local sources // Bioresource Technology. 2008. V. 99(5). P. 1359–1367.

97. Jiang J., Habib A., Liu Y., Li Y., Jin L., Li B., Li L. Preparation and characterization of chitosan from squid pens and its antioxidant and antibacterial activities // International Journal of Biological Macromolecules. 2020. V. 163. P. 1581–1590.

98. Huang W., Geng M., Guan Y., Dou H., Liu Z. Preparation, characterization, and biological applications of water-soluble chitosan derivatives // International Journal of Molecular Sciences. 2021. V. 22(6). P. 3173.

99. Abdou E. S., Nagy K. S., Elsabee M. Z. Extraction and characterization of chitin and chitosan from local sources // *Bioresource Technology*. 2008. V. 99(5). P. 1359–1367.
100. Dash M., Mohan T., Heinze T., Chiellini F. Novel methodologies for the deacetylation of chitin using ionic liquids // *Carbohydrate Polymers*. 2021. V. 251. P. 117100.
101. Brugnerotto J., Lizardi J., Goycoolea F. M., Argüelles-Monal W., Desbrieres J., Rinaudo M. An infrared investigation in relation with chitin and chitosan characterization // *Polymer*. 2001. V. 42(8). P. 3569–3580.
102. Huang W., Geng M., Guan Y., Dou H., Liu Z. Preparation, characterization, and biological applications of water-soluble chitosan derivatives // *International Journal of Molecular Sciences*. 2021. V. 22(6). P. 3173.
103. Joshi R., Kumar P., Devkhile K., Srivastava R. B., Gupta R. B. Fungal biodiversity of the Indian Himalayan region // *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 2018. V. 82. 3146–3157.
104. Abo Elsoud M. M., El Kady E. M. Current trends in fungal biosynthesis of chitin and chitosan // *Bulletin of the National Research Centre*. 2019. V. 43. Art. 59. doi: 10.1186/s42269-019-0105-y
105. Fraga S. M., Nunes F. M. *Agaricus bisporus* by-products as a source of chitin-glucan complex enriched dietary fibre with potential bioactivity // *Applied Sciences*. 2020. V. 10. Art. 2232. doi: 10.3390/app10072232
106. Huq T., Khan A., Brown D., Dhayagude N., He Z., Ni Y. Sources, production and commercial applications of fungal chitosan: A review // *Journal of Bioresources and Bioproducts*. 2022. V. 7. Issue 2. P. 85–98. doi: 10.1016/j.jobab.2022.01.002
107. Минаков Д. В. Современные подходы к выделению и модификации макромолекул хитина и хитозана высших грибов для их прикладного использования / Д. В. Минаков, Е. Ю. Егорова, В. И. Маркин, Н. Г. Баранова // *Химия растительного сырья*. – 2023. – № 4. – С. 29–52. – doi: 10.14258/jcprm.20230413381
108. Jiang X., Chen L. Process optimization for the extraction of chitin from *Pleurotus ostreatus*. *Carbohydrate Polymers*. 2019. V. 207. P. 552–560.
109. Balan V. A review on the applications of chitin and chitosan-based materials for solid-liquid separation processes // *Environmental Technology Reviews*. 2018. V. 7(1). P. 91–103.
110. Kurakake M., Komaki T., Matsumoto N., Kiriha K., Hazuka I., Yamamoto T. Production of chitosan by *Gongronella butleri* // *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. 1994. V. 58(12). P. 2261–2262.
111. Rahman M., Halfar J. First evidence of chitin in calcified coralline algae: new insights into the calcification process of *Clathromorphum compactum* // *Scientific Reports*. 2014. V. 4. P. 6162. doi: 10.1038/srep06162
112. Gonçalves I. R., Brouillet S., Soulié M. C. Genome-wide analyses of chitin synthases identify horizontal gene transfers towards bacteria and allow a robust and unifying classification into fungi // *BMC Evolutionary Biology*. 2016. V. 16. P. 252. doi: 10.1186/s12862-016-0815-9
113. Kliner S., Bulone V., Arvestad L., Diversity and evolution of chitin synthases in oomycetes (Straminipila: Oomycota) // *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 2019. V. 139. P. 106558. doi: 10.1016/j.ympev.2019.106558
114. Bajaj M., Freiberg A., Winter J., Gallert C. Isolation of chitin from the cell wall of fungus *Cunninghamella japonica* // *AMB Express*. 2011. V. 1(1). P. 1–8.
115. Wu T., Zivanovic S., Draughon A. et al. Chitin and chitosans: value-added products from mushroom waste // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2004. V. 52. P. 7905–7910.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Владимир Вениаминович Перелыгин – д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой промышленной экологии Санкт-Петербургского государственного химико-фармацевтического университета Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия, vladimir.pereligin@pharminnotech.com

Татьяна Анатольевна Некрасова – канд. фармацевт. наук, Общество с ограниченной ответственностью «МЕДИПРОФ», Санкт-Петербург, Россия, Nekrasova555@mail.ru

Михаил Владимирович Жариков – ст. лаборант кафедры промышленной экологии Санкт-Петербургского государственного химико-фармацевтического университета Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия, zharikov.mihail@pharminnotech.com

Анна Олеговна Вернер – магистрант кафедры промышленной экологии Санкт-Петербургского государственного химико-фармацевтического университета Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия, verner.anna@spsru.ru

Иван Викторович Змитрович – д-р биол. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории систематики и географии грибов Ботанического института им. В. Л. Комарова РАН, Санкт-Петербург, Россия, iv_zmitrovich@mail.ru

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

Статья поступила в редакцию 15.06.2024 г., одобрена после рецензирования 19.06.2024 г.,

принята к публикации 30.06.2024 г.

Статья доступна по лицензии CC BY-NC-ND 4.0 International © Эко-Вектор, 2024

Chitin/chitosan: bioresources, applications field, production technologies

Vladimir V. Perelygin¹, Tatyana A. Nekrasova², Mikhail V. Zharikov¹,
Anna O. Werner¹, Ivan V. Zmitrovich³

¹Saint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University, Saint Petersburg, Russia

²MEDPROF Limited Liability Company, Saint Petersburg, Russia

³Komarov Botanical Institute of the Russian Academy of Sciences, Saint Petersburg, Russia

Corresponding author: Mikhail V. Zharikov, zharikov.mihail@pharminnotech.com

ABSTRACT. The present review is devoted to such biotechnologically interesting polymers as chitin and chitosan, which form the cuticle of arthropods and the core of fungal cell wall. Chitosan is a linear polysaccharide containing D-glucosamine and N-acetyl-D-glucosamine residues, which has valuable biological properties. It is a product of deacetylation of chitin. Possessing pronounced muco-adhesive properties and controlled release ability, the chitosan is widely used in delivery of various therapeutic agents, such as anticancer drugs, antibiotics, proteins, nucleic acids, etc. Chitosan nanoparticles, micro- and nanocapsules, as well as hydrogels, can be developed for targeted delivery of drugs to specific organs and tissues. Initially, the attention of biotechnologists was focused on animal chitin, and basic methods for extracting and purifying this biopolymer took shape at this stage. Despite the complexity of the organization of the arthropod cuticle, the chitin in it is not covalently bound to other linear biopolymers and is organized into nanofibrils that form a fairly homogeneous matrix, therefore it is easier to extract than from the mycelium mass of fungi, where this biopolymer is tightly packed into microfibrils bound to the glucan matrix. The main stages of chitin extraction and its further modification into chitosan are deproteinization, demineralization, deacetylation, and the main methods of chitosan purification are filtration, dialysis and reprecipitation. After isolation, chitosan should be dried. To extract chitin from the fungi, the above classical chemical methods are often combined with the methods of “green chemistry” and industrial microbiology. The profitability of the production of chitin/chitosan from crustaceans and edible mushrooms is approximately at the same level. The cost of mushroom products can be reduced by using agricultural or forestry waste as nutrient substrates. This makes the use of fungi as sources of chitin/chitosan in forest regions rather promising.

KEYWORDS: arthropods; biomedicine; biotechnology; cell wall; chitin; chitosan; crustaceans; cuticle; glycobiology; fungi; microfibrils; mycelium; nanofibrils; nanoparticles; polysaccharides

REFERENCES

1. Jang M. K., Kong B. G., Jeong Y. I., Lee C. H., Nah J. W. Physicochemical characterization of α -chitin, β -chitin, and γ -chitin separated from natural resources. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*. 2004. V. 42(14). P. 3423–3432.
2. Gleba D., Borisjuk N. V., Borisjuk L. G., Kneer R., Poulev A., Skarzhinskaya, M., Raskin I. Use of plant roots for phytoremediation and molecular farming. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1999. V. 96(11). P. 5973–5977.
3. Bartnicki-Garcia S. Cell wall chemistry, morphogenesis, and taxonomy of fungi. *Annual Review of Microbiology*. 1968. V. 22(1). P. 87–108.
4. Merzendorfer H. The cellular basis of chitin synthesis in fungi and insects: common principles and differences. *European Journal of Cell Biology*. 2011. V. 90(9). P. 759–769.
5. Rojas-Graü M. A., Avena-Bustillos R. J., Olsen C., Friedman M., Henika P. R., Martín-Belloso O., McHugh T. H. Effects of plant essential oils and oil compounds on mechanical, barrier and antimicrobial properties of alginate-apple puree edible films. *Journal of Food Engineering*. 2007. V. 81(3). P. 634–641.
6. Prashanth K. V., Tharanathan R. N. Chitin/chitosan: modifications and their unlimited application potential – an overview. *Trends in food science and technology*. 2007. V. 18(3). P. 117–131.

7. Ravi Kumar M. N. V. A review of chitin and chitosan applications. *Reactive and Functional Polymers*. 2000. V. 46(1). P. 1–27.
8. Jayakumar R., Prabakaran M., Nair S. V. Tamura H. Novel chitin and chitosan materials in wound dressing. *Biomedical engineering, biotechnology, and health sciences*, 2010. V. 2. P. 29–51.
9. Qi L. F., Xu Z. R., Li Y., Jiang X., Han X. Y. *In vitro* effects of chitosan nanoparticles on proliferation of human gastric carcinoma cell line MGC803 cells. *World Journal of Gastroenterology*. 2005. V. 11(33). P. 5136.
10. Muzzarelli R. A. Chitins and chitosans for the repair of wounded skin, nerve, cartilage and bone. *Carbohydrate Polymers*. 2009. V. 76(2). P. 167–182.
11. Muzzarelli R. A., Boudrant J., Meyer D., Manno N., DeMarchis M., Paoletti M. G. Current views on fungal chitin/chitosan, human chitinases, food preservation, glucans, pectins and inulin: a tribute to Henri Braconnot, precursor of the carbohydrate polymers science, on the chitin bicentennial. *Carbohydrate Polymers*. 2012. V. 87(2). P. 995–1012.
12. Fang Z. H., Zhao C. Q., Shi Z. L., Tang Z. R., Chen H. L., Yao K. D. Antibacterial and physical properties of chitosan-reinforced sodium alginate transparent film. *Journal of applied polymer science*. 2001. V. 82(2). P. 398–402.
13. Xia W., Liu P., Zhang J., Chen J. Biological activities of chitosan and chitoooligosaccharides. *Food Hydrocolloids*. 2011. V. 25(2). P. 170–179.
14. Dutta P. K., Dutta J., Tripathi V. S. Chitin and chitosan: Chemistry, properties and applications. *Journal of scientific and industrial research*. 2004. V. 63(1). P. 20–31.
15. Pillai C. K.S. et al. Chitin and chitosan polymers: Chemistry, solubility and fiber formation. *Progress in Polymer Science*. 2009. V. 34(7). P. 641–678.
16. Rinaudo M. Chitin and chitosan: Properties and applications. *Progress in Polymer Science*. 2006. V. 31(7). P. 603–632.
17. Muzzarelli R. A.A. Chitin and its derivatives: New trends of applied research. *Carbohydrate Polymers*. 1983. V. 3(1). P. 53–75.
18. Dutta P. K., Dutta J., Tripathi V. Chitin and chitosan: Chemistry, properties and applications. *Journal of Scientific and Industrial Research*. 2004. P. 63(1). P. 20–31.
19. Tharanathan R. N., Kittur F. S. Chitin-the undisputed biomolecule of great potential. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2003. V. 43(1). P. 61–87.
20. Domard A. pH and c.d. measurements on a fully deacetylated chitosan: application to Cu II-polymer interactions. *International Journal of Biological Macromolecules*. 1987. V. 9(2). P. 98–104.
21. Ravi Kumar M. N.V. A review of chitin and chitosan applications. *Reactive and Functional Polymers*. 2000. V. 46(1). P. 1–27.
22. Xia W. et al. Medical application of chitosan. *Carbohydrate Polymers*. 2011. V. 84(1). P. 22–34.
23. Cheung R. C., Ng T. B., Wong J. H., Chan W. I. Chitosan: An update on potential biomedical and pharmaceutical applications. *Marine Drugs*. 2015. V. 13(8). P. 5156–5186. doi: 10.3390/md13085156
24. Jayakumar R., Prabakaran M., Kumar S. P. T., Nair S. V., Tamura H. Biomaterials based on chitin and chitosan in wound dressing applications. *Biotechnology Advances*. 2011. V. 29(3). P. 322–337. doi: 10.1016/j.biotechadv.2011.01.005
25. Okamoto Y. et al. Biomedical applications of chitin and chitosan. *Progress in Polymer Science*. 2003. V. 28(2). P. 187–226.
26. Katas H., Alpar H. O. Development and characterisation of chitosan nanoparticles for siRNA delivery. *Journal of Controlled Release*. 2006. V. 115(2). P. 216–225.
27. Di Martino A. et al. Chitosan: A versatile biopolymer for orthopaedic tissue-engineering. *Carbohydrate Polymers*. 2005. V. 59(2). P. 185–199.
28. Sinha V. R., Singla A. K., Wadhawan S., Kaushik R., Kumria R., Bansal K., Dhawan S. Chitosan microspheres as a potential carrier for drugs. *International Journal of Pharmaceutics*. 2004. V. 274(1–2). P. 1–33. doi: 10.1016/j.ijpharm.2003.12.026
29. Hejazi R., Amiji M. Chitosan-based gastrointestinal delivery systems. *Journal of Controlled Release*. 2003. V. 89(2). P. 151–165.
30. Madhally S. V., Matthew H. W.T. Porous chitosan scaffolds for tissue engineering. *Biomaterials*. 1999. V. 20(12). P. 1133–1142.
31. Seol Y. J., Lee J. Y., Park Y. J. Chitosan sponges as tissue engineering scaffolds for bone formation. *Biotechnology Letters*. 2004. V. 26(13). P. 1037–1041. doi: 10.1023/B:BILE.0000032962.79531.f0
32. Rabea E. I. et al. Chitosan as antimicrobial agent: Applications and mode of action. *Biomacromolecules*. 2003. V. 4(6). P. 1457–1465.
33. Goy R. C., De Britto D., Assis O. B.G. A review of the antimicrobial activity of chitosan. *Polímeros*. 2009. V. 19(3). P. 241–247. doi: 10.1590/S0104-14282009000300013
34. Rowe R. C., Sheskey P. G., Quinn M. E. Handbook of pharmaceutical excipients. Pharmaceutical press, London, Chicago, 2009. 917 p.
35. Mitra S., Gaur U. Chitosan-based systems for deoxyribonucleic acid delivery. *Expert Opinion in Drug Delivery*. 2012. V. 9(7). P. 663–665.
36. Amidi M., Mastrobattista E., Jiskoot W., Hennink W. E. Chitosan-based delivery systems for protein therapeutics and antigens. *Advanced Drug Delivery Review*. 2010. V. 62(1). P. 59–82. doi: 10.1016/j.addr.2009.11.009
37. Upadhyaya L., Singh J., Agarwal V., Tewari R. P. Biomedical applications of carboxymethyl chitosans. *Carbohydrate Polymers*. 2013. V. 91(1). P. 452–466. doi: 10.1016/j.carbpol.2012.07.076

38. Huang R. et al. Chitosan derived oligosaccharides: Advancement and perspectives. *Marine Drugs*. 2020. V. 18(4). P. 225.
39. Shahidi F., Kamil J., Arachchi V., Jeon Y. J. Food applications of chitin and chitosans. *Trends in Food Science and Technology*. 1999. V. 10(2). P. 37–51. doi: 10.1016/S0924-2244(99)00017-5
40. Choi B. K. et al. *In vitro* and *in vivo* studies of chitosan-based oral delivery systems for ovalbumin. *International Journal of Pharmaceutics*. 1998. V. 157(1). P. 95–101.
41. Elsabee M. Z., Abdou E. S. Chitosan based edible films and coatings: A review. *Materials Science and Engineering*. C. 2013. V. 33(4). P. 1819–1841.
42. Aider M. Chitosan application for active bio-based films production and potential in the food industry: Review. *LWT – Food Science and Technology*. 2010. V. 43(6). P. 837–842.
43. Guibal E. Interactions of metal ions with chitosan-based sorbents: a review. *Separation and Purification Technology*. 2004. V. 38(1). P. 43–74.
44. Jothi D. et al. Adsorption of mycotoxins by chitosan and chitosan oligosaccharides. *Food Hydrocolloids*. 2017. V. 67. P. 173–182.
45. Zou P. et al. Chitosan-based delivery systems for proteins and peptides. *Acta Pharm. Sin. B*. 2016. V. 6(4). P. 322–330.
46. Xia W., Liu P., Zhang J., Chen J. Biological activities of chitosan and chitoooligosaccharides. *Food Hydrocolloids*. 2011. V. 25(2). P. 170–179.
47. Friedman M., Juneja V. K. Review of antimicrobial and antioxidative activities of chitosans in food. *Journal of Food Protection*. 2010. V. 73(9). P. 1737–1761.
48. Leceta I. et al. Environmental assessment of chitosan-based films. *Journal of Cleaner Production*. 2013. V. 41. P. 312–318.
49. Salaberria A. M., Diaz R. H., Labidi J., Fernandes S. C. M. Chitin nanocrystals and nanofibers as nano-sized fillers into thermoplastic starch-based biocomposites processed by melt-mixing. *Food Hydrocolloids*. 2015. V. 46. P. 42–52. doi: 10.1016/j.foodhyd.2014.12.016
50. Divya K., Vijayan S., George T. K. Antimicrobial properties of chitosan nanoparticles: Effect of preparation conditions on their antibacterial activity. *Carbohydrate Polymers*. 2017. V. 164. P. 119–125. doi: 10.1007/s12221-017-6690-1
51. Dutta P. K., Tripathi S., Mehrotra G. K., Dutta J. Perspectives for chitosan based antimicrobial films in food applications. *Food Chemistry*. 2009. V. 114(4). P. 1173–1182. doi: 10.1016/j.foodchem.2008.11.047
52. Feng T. et al. Adsorption and desorption characteristics of aflatoxin B1 on acid-and alkali-treated chitosan. *Carbohydrate Polymers*. 2016. V. 153. P. 246–253.
53. Kumar M. N., Muzzarelli R. A., Muzzarelli C., Sashiwa H., Domb A. J. Chitosan chemistry and pharmaceutical perspectives. *Chemical Reviews*. 2004. V. 104(12). P. 6017–1684. doi: 10.1021/cr030441b
54. Devlieghere F. et al. Antimicrobial activity of chitosan food coatings. In: *Chitin handbook*. 1997. P. 385–395.
55. Papineau A. M. et al. Antimicrobial effect of water-soluble chitosans on the growth of various microorganisms. *Applied and Environmental Microbiology*. 1991. V. 57(5). P. 1434–1439.
56. Hatchett C. Experiments and observations on shell and bone. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London*. 1799. V. 89(18). P. 315–334.
57. Braconnot H. Analytical research on the nature of mushrooms. In: *Klostermann J (ed.). Collection of memoirs concerning chemistry and the arts which depend on it and especially pharmacy, volume seventy-nine. Annals of Chemistry. Librairie des Ecoles Impériales Polytechnique et des Ponts et Chaussées. Paris, 1811. P. 272–292.*
58. Braconnot H. On the nature of mushrooms. In: *Klostermann J (ed.). Collection of memoirs concerning chemistry and the arts which depend on it and especially pharmacy, volume seventy-nine. Annals of Chemistry. Librairie des Ecoles Impériales Polytechnique et des Ponts et Chaussées. Paris, 1811. P. 265–304.*
59. Odier A. Mémoire sur la composition chimique des parties cornées des insectes. *Mémoires de la Société d'Histoire Naturelle de Paris*. 1823. V. 1. P. 29–42.
60. Crini G. Historical review on chitin and chitosan biopolymers. *Environmental Chemistry Letters*. 2019. V. 17. P. 1623–1643. doi: 10.1007/s10311-019-00901-0
61. Hoffer A. Über die Konstitution des Chitins und Chitosans. *Monatshefte für Chemie*. 1906. V. 27. P. 85–106.
62. Malczewski A. B. Process for the preparation of crystalline chitin derivatives. *Polish Patent*. 1934. No. 21. P. 859.
63. Nomura H., Yoshida H. Chitin derivatives. I. Production of chitin derivatives from crab shells. *Sen'i Gakkaishi*. 1962. V. 18. P. 210–217.
64. Perrin A. C. Sur une nouvelle substance formée analogue à la chitine. *Comptes rendus de l'Académie des Sciences*. 1904. V. 139. P. 529–531.
65. Carnoy F. Recherches sur la composition chimique de la membrane cellulaire chez les champignons. *La Cellule*. 1926. V. 37. P. 88–90.
66. Perrin A. C. Über das Chitin und seine Spaltungsprodukte. *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft*. 1904. V. 37(2). P. 1430–1440.
67. Schmuk A. Über die Zellwände der Basidiomyceten und ihre Chemie. *Zeitschrift für physiologische Chemie*. 1931. V. 199(1–2). P. 94–106.
68. Araki Y., Ito E. A pathway of chitosan formation in *Mucor rouxii*: enzymatic deacetylation of chitin. *European Journal of Biochemistry*. 1975. V. 55(1). P. 71–78.
69. History of research in the field of chitin and chitosan / [Electronic resource] // Russian Chitin Society: [website]. – URL: <http://www.chitin.ru/history.htm>. (In Russ).

70. Fabritius H., Sachs C., Raabe D., Nikolov S., Friák M., Neugebauer J. Chitin in the exoskeletons of Arthropoda: from ancient design to novel materials science. In: N. Gupta (ed.) Chitin. Topics in Geobiology. V. 34. Springer, Dordrecht, 2011. https://doi.org/10.1007/978-90-481-9684-5_2
71. Rinaudo M. Chitin and chitosan: Properties and applications. Progress in Polymer Science. 2006. V. 31(7). P. 603–632.
72. Pillai C. K.S., Paul W., Sharma C. P. Chitin and chitosan polymers: Chemistry, solubility and fiber formation. Progress in Polymer Science. 2009. V. 34(7). P. 641–678.
73. Younes I., Rinaudo M. Chitin and chitosan preparation from marine sources. Structure, properties and applications. Marine Drugs. 2015. V. 13(3). P. 1133–1174.
74. Kaya M., Baran T., Asan-Ozusaglam M., Cakmak Y. S., Tozak K. O., Mol A., Sezen, G. Extraction and characterization of chitin and chitosan from six different freshwater crustaceans. Food Bioscience. 2015. V. 12. P. 108–114.
75. Aranaz I., Mengibar M., Harris R., Paños I., Miralles B., Acosta N., Heras Á. Functional characterization of chitin and chitosan. Current Chemical Biology. 2009. V. 3(2). P. 203–230.
76. Synowiecki J., Al-Khateeb N. A. Production, properties, and some new applications of chitin and its derivatives. Critical reviews in food science and nutrition. 2003. V. 43(2). P. 145–171.
77. Younes I., Rinaudo M. Chitin and chitosan preparation from marine sources. Structure, properties and applications. Marine Drugs. 2015. V. 13(3). P. 1133–1174.
78. Kumirska J., Czerwiczka M., Kaczyński Z., Bychowska A., Brzozowski K., Thöming J., Stepnowski P. Application of spectroscopic methods for structural analysis of chitin and chitosan. Marine Drugs. 2010. V. 8(5). P. 1567–1636.
79. Liao W., Tian M., Qian C., Yu Y., Zhao J., Li X., Chen L. Optimization of the demineralization process for chitin extraction from cicada slough. International Journal of Biological Macromolecules. 2020. V. 146. P. 390–397.
80. Zargar V., Asghari M., Dashti, A. A review on chitin and chitosan polymers: Structure, chemistry, solubility, derivatives, and applications. ChemBioEng Reviews. 2015. V. 2(3). P. 204–226.
81. Kaya M., Baran T., Asan-Ozusaglam M., Cakmak Y. S., Tozak K.Ö., Mol A., Şatiroğlu N. Extraction and characterization of chitin and chitosan with antimicrobial and antioxidant activities from cosmopolitan Orthoptera species (Insecta). Biotechnology and Bioprocess Engineering. 2015. V. 20(1). P. 168–179.
82. Zhou Y., Liang T., Wu C., Wu D., Li X., Chen L. Efficient demineralization of chitin via a modified electrochemical process and its characterization. International Journal of Biological Macromolecules. 2021. V. 172. P. 506–513.
83. No H. K., Meyers S. P. Preparation and characterization of chitin and chitosan – a review. Journal of Aquatic Food Product Technology. 1995. V. 4(2). P. 27–52.
84. Synowiecki J., Al-Khateeb N. A. Production, properties, and some new applications of chitin and its derivatives. Critical reviews in food science and nutrition. 2003. V. 43(2). P. 145–171.
85. Rinaudo M. Chitin and chitosan: properties and applications. Progress in Polymer Science. 2006. V. 31(7). P. 603–632.
86. Younes I., Rinaudo, M. Chitin and chitosan preparation from marine sources. Structure, properties and applications. Marine Drugs. 2015. V. 13(3). P. 1133–1174.
87. Abdou E. S. Nagy K. S., Elsabee M. Z. Extraction and characterization of chitin and chitosan from local sources. Bioresource Technology. 2008. V. 99(5). P. 1359–1367.
88. Kumirska J., Czerwiczka M., Kaczyński Z., Bychowska A., Brzozowski K., Thöming J., Stepnowski P. Application of spectroscopic methods for structural analysis of chitin and chitosan. Marine Drugs. 2010. V. 8(5). P. 1567–1636.
89. Younes I., Rinaudo M. Chitin and chitosan preparation from marine sources. Structure, properties and applications. Marine Drugs. 2015. V. 13(3). P. 1133–1174.
90. Brugnerotto J., Lizardi J., Goycoolea F. M., Argüelles-Monal W., Desbrieres J., Rinaudo M. An infrared investigation in relation with chitin and chitosan characterization. Polymer. 2001. V. 42(8). P. 3569–3580.
91. Lertsutthiwong P. N., How C., Chandkrachang S., Stevens W. F. Effect of chemical treatment on the characteristics of shrimp chitosan. Journal of Metals, Materials and Minerals. 2002. V. 12(2). P. 11–18.
92. Jiang J., Habib A., Liu Y., Li Y., Jin L., Li B., Li L. Preparation and characterization of chitosan from squid pens and its antioxidant and antibacterial activities. International Journal of Biological Macromolecules. 2020. V. 163. P. 1581–1590.
93. Huang W., Geng M., Guan Y., Dou H., Liu Z. Preparation, characterization, and biological applications of water-soluble chitosan derivatives. International Journal of Molecular Sciences. 2021. V. 22(6). P. 3173.
94. Shimojoh M., Akiyoshi A., Chiba Y., Yamamoto N., Kajiyama S. Enzymatic deacetylation of chitin using chitinase from *Bacillus cereus*. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry. 2021. V. 85(2). P. 551–556.
95. Dash M., Mohan T., Heinze T., Chiellini F. Novel methodologies for the deacetylation of chitin using ionic liquids. Carbohydrate Polymers. 2021. V. 251. P. 117100.
96. Abdou E. S., Nagy K. S., Elsabee M. Z. Extraction and characterization of chitin and chitosan from local sources. Bioresource Technology. 2008. V. 99(5). P. 1359–1367.
97. Jiang J., Habib A., Liu Y., Li Y., Jin L., Li B., Li L. Preparation and characterization of chitosan from squid pens and its antioxidant and antibacterial activities. International Journal of Biological Macromolecules. 2020. V. 163. 1581–1590.
98. Huang W., Geng M., Guan Y., Dou H., Liu Z. Preparation, characterization, and biological applications of water-soluble chitosan derivatives. International Journal of Molecular Sciences. 2021. V. 22(6). P. 3173.
99. Abdou E. S., Nagy K. S., Elsabee M. Z. Extraction and characterization of chitin and chitosan from local sources. Bioresource Technology, 2008. V. 99(5). P. 1359–1367.

100. Dash M., Mohan T., Heinze T., Chiellini F. Novel methodologies for the deacetylation of chitin using ionic liquids. *Carbohydrate Polymers*. 2021. V. 251. P. 117100.
101. Brugnerotto J., Lizardi J., Goycoolea F. M., Argüelles-Monal W., Desbrieres J., Rinaudo M. An infrared investigation in relation with chitin and chitosan characterization. *Polymer*. 2001. V. 42(8). P. 3569–3580.
102. Huang W., Geng M., Guan Y., Dou H., Liu Z. Preparation, characterization, and biological applications of water-soluble chitosan derivatives. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021. V. 22(6). P. 3173.
103. Joshi R., Kumar P., Devkhile K., Srivastava R. B., Gupta R. B. Fungal biodiversity of the Indian Himalayan region. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 2018. V. 82. 3146–3157.
104. Abo Elsoud M. M., El Kady E. M. Current trends in fungal biosynthesis of chitin and chitosan. *Bulletin of the National Research Centre*. 2019. V. 43. Art. 59. doi: 10.1186/s42269-019-0105-y
105. Fraga S. M., Nunes F. M. *Agaricus bisporus* by-products as a source of chitin-glucan complex enriched dietary fibre with potential bioactivity. *Applied Sciences*. 2020. V. 10. Art. 2232. doi: 10.3390/app10072232
106. Huq T., Khan A., Brown D., Dhayagude N., He Z., Ni Y. Sources, production and commercial applications of fungal chitosan: A review. *Journal of Bioresources and Bioproducts*. 2022. V. 7. Issue 2. P. 85–98. doi: 10.1016/j.jobab.2022.01.002
107. Minakov D. V., Egorova E.Yu., Markin V. I., Bazarova N. G. Modern approaches to the isolation and modification of macromolecules of chitin and chitosan of higher fungi for their applied use. *Khimiya rastitelnogo syrya*. 2023 (4). P. 29–52. doi: 10.14258/jcprm.2023041338. (In Russ).
108. Jiang X., Chen L. Process optimization for the extraction of chitin from *Pleurotus ostreatus*. *Carbohydrate Polymers*. 2019. V. 207. P. 552–560.
109. Balan V., A review on the applications of chitin and chitosan-based materials for solid-liquid separation processes. *Environmental Technology Reviews*. 2018. V. 7(1). P. 91–103.
110. Kurakake M., Komaki T., Matsumoto N., Kiriha-ra K., Hazuka I., Yamamoto T. Production of chitosan by *Gongronella butleri*. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. 1994. V. 58(12). P. 2261–2262.
111. Rahman M., Halfar J. First evidence of chitin in calcified coralline algae: new insights into the calcification process of *Clathromorphum compactum*. *Scientific Reports*. 2014. V. 4. P. 6162. doi: 10.1038/srep06162
112. Gonçalves I. R., Brouillet S., Soulié M. C. Genome-wide analyses of chitin synthases identify horizontal gene transfers towards bacteria and allow a robust and unifying classification into fungi. *BMC Evolutionary Biology*. 2016. V. 16. P. 252. doi: 10.1186/s12862-016-0815-9
113. Klintner S., Bulone V., Arvestad L., Diversity and evolution of chitin synthases in oomycetes (Straminipila: Oomycota). *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 2019. V. 139. P. 106558. doi: 10.1016/j.ympev.2019.106558
114. Bajaj M., Freiberg A., Winter J., Gallert C. Isolation of chitin from the cell wall of fungus *Cunninghamella japonica*. *AMB Express*. 2011. V. 1(1). P. 1–8.
115. Wu T., Zivanovic S., Draughon A. et al. Chitin and chitosans: value-added products from mushroom waste. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2004. V. 52. P. 7905–7910.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Vladimir V. Perelygin – Dr. Med. Sci., Professor, Head of the Industrial Ecology Department, Saint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Saint Petersburg, Russia, vladimir.pereligin@pharminnotech.com

Tatyana A. Nekrasova – PhD in Pharmacy, MEDPROF Limited Liability Company, Saint Petersburg, Russia, Nekrasova555@mail.ru

Mikhail V. Zharikov – Senior laboratory assistant at the Department of Industrial Ecology, Saint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Saint Petersburg, Russia, zharikov.mihail@pharminnotech.com

Anna O. Werner – Undergraduate Student, the Industrial Ecology Department, Saint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Saint Petersburg, Russia, werner.anna@spcpcu.ru

Ivan V. Zmitrovich – D.Sc. in Biology, Leading Researcher, Laboratory of Systematics and Geography of the Fungi, Komarov Botanical Institute RAS, Saint Petersburg, Russia, iv_zmitrovich@mail.ru

The authors declare no conflicts of interests.

The article was submitted June 15, 2024; approved after reviewing June 19, 2024;
accepted for publication June 30, 2024.

The article can be used under the CC BY-NC-ND 4.0 license © Eco-Vector, 2024