

УДК 547.458

## ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ПОЛУЧЕНИЯ ХИТИНА И ХИТОЗАНА ИЗ НАСЕКОМЫХ

В.П. Курченко<sup>1</sup>, С.В. Буга<sup>1</sup>, Н.В. Петрашкевич<sup>1</sup>, Т.В. Буткевич<sup>1</sup>, А.А. Ветошкин<sup>1</sup>,  
Е.Л. Демченков<sup>2</sup>, А.Д. Лодыгин<sup>2</sup>, О.Ю. Зуева<sup>3</sup>, В.П. Варламов<sup>3</sup>, О.И. Бородин<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь

<sup>2</sup>Северо-Кавказский федеральный университет, Ставрополь, Российская Федерация

<sup>3</sup>Институт биоинженерии, ФГУ ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, Москва, Российская Федерация

<sup>4</sup>ГНПО «НПЦ НАН Беларуси по биоресурсам», Минск, Республика Беларусь

e-mail: kurchenko@tut.by

### Введение

Открытие хитина произошло в 1821 году Г. Браконом, директором ботанического сада при Академии наук в Нанси. В ходе химических опытов он выделил из грибов вещество, неподдающееся растворению в серной кислоте, и назвал его «фунгин». По прошествии двух лет в 1823, французский ученый А. Одье, изучая элементы экзоскелета насекомых и тарантулов, выделил из надкрылий насекомых то же самое вещество, и предложил использовать термин «хитин». В 1859 г. путем воздействия щелочей впервые была получена деацетилированная форма хитина, названная «хитозан». Однако на момент открытия хитозана ученые не проявили к нему должного интереса и только в 30-е годы двадцатого века вновь обратили внимание на само вещество и возможности его практического использования.

В последние годы наблюдается возрастающий интерес к исследованию и разработке технологий применения хитозана [1]. Рисунок 1 иллюстрирует лавинообразное нарастание количества публикаций по данной тематике за последние 20 лет. Суммарное число публикаций за 1990–1999 гг. составляло 215, а в одном только 2015 г. их было опубликовано более 1600.

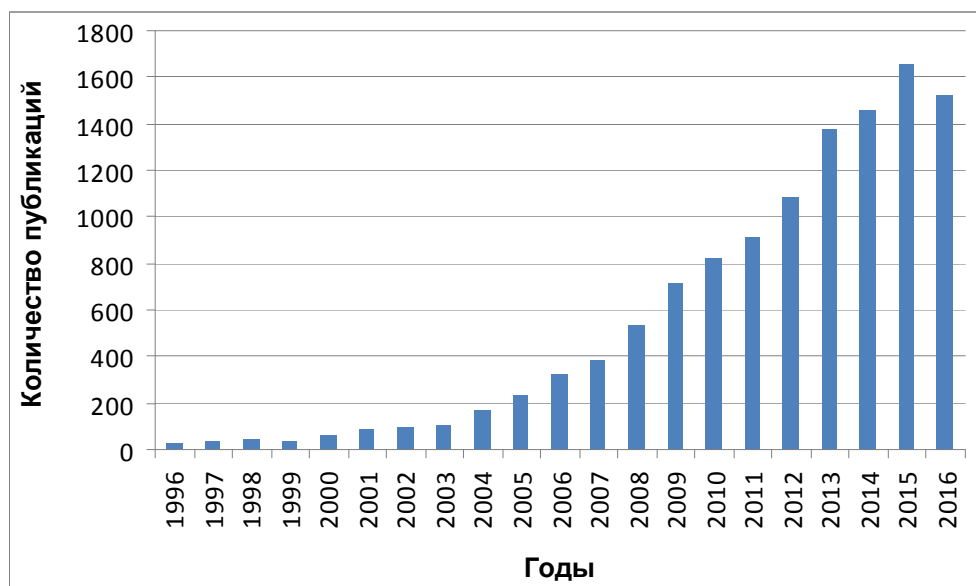


Рисунок 1 – Количество публикаций по тематике использования хитозана по данным на октябрь 2016 года в базе данных Web of Science.

Хитин является вторым, наиболее распространенным природным полимером после целлюлозы. Этот биополимер входит в состав экзоскелета и других скелетных элементов членистоногих, клеточной стенки грибов, водорослей и др. Хитин представляет собой

линейный полисахарид, состоящий из N-ацетил-2-амино-2-дезоксид-Д-глюкопиранозы, связанной 1-4- гликозидными связями (рисунок 2). В выделенном из природных источников хитине, как правило, содержится 5–10% остатков 2-амино-2-дезоксид-Д-глюкозы [2, 3].

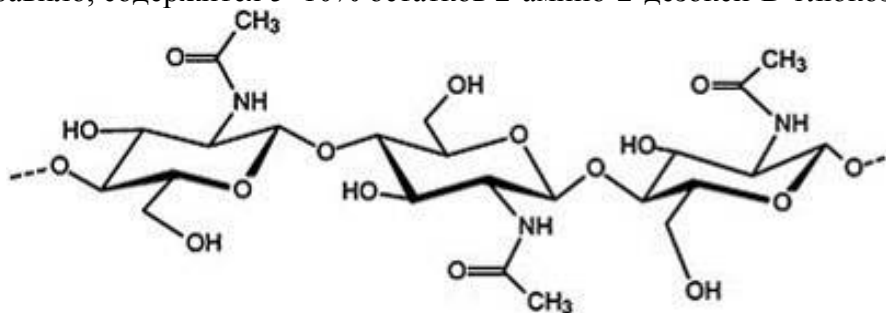


Рисунок 2 – Структурная формула хитина

В хитиновых организмах хитин находится в составе комплексов с белками, глюканами. Биосинтез молекулы хитина происходит с участием фермента хитинсинтазы в специальных клеточных органеллах – хитосомах, который осуществляется путем последовательного переноса остатков N-ацетил-Д-глюкозамина из уридиндифосфат-N-ацетил-Д-глюкозамина в удлиняющуюся полимерную цепь.

Хитин является высококристаллическим полимером, в нем существуют внутри- и межмолекулярные связи между гидроксильными группами, а также между аминоацетильными и гидроксильными группами. Хитин имеет три полиморфных модификации с различной ориентацией микрофибрилл:  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ . Наиболее распространена  $\alpha$ -форма, присутствующая в панцире ракообразных и некоторых моллюсков, кутикуле насекомых, клеточной стенке грибов. Она представляет собой плотно упакованные антипараллельные цепи полимера. В случае  $\beta$ -формы цепочки полимера параллельны и за счет более слабых межмолекулярных водородных связей обладают большей растворимостью и способностью к набуханию [4]. Данная форма встречается у каракатиц, в гладиусе кальмаров, внеклеточной сердцевине диатомей, трубках погонофор.  $\gamma$ -форма отличается смешанной системой параллельных и антипараллельных цепочек, она характерна для коконов насекомых [5].  $\beta$ - и  $\gamma$ -формы хитина переходят в  $\alpha$ -форму под действием концентрированных кислот (муравьиной, азотной или соляной), которая является наиболее стабильной. Все три формы хитина могут присутствовать у одного организма, например, кальмаров *Loligo* [6]. Это говорит о том, что разные формы хитина выполняют в организме разные функции.

Хитин нерастворим в воде, щелочах, разбавленных кислотах, спиртах, других органических растворителях, и растворим в концентрированных соляной, серной и муравьиной кислотах, а также в некоторых солевых растворах при нагревании, причем при растворении он заметно деполимеризуется [7]. Он способен образовывать комплексы с органическими веществами: холестерином, белками, пептидами, а также обладает высокой сорбционной способностью к тяжелым металлам, радионуклидам. Хитин не разлагается под действием ферментов млекопитающих, но гидролизуется некоторыми ферментами насекомых, грибов и бактерий, отвечающими за распад хитина в природе [8].

Хитин обладает двумя гидроксильными группами, одна из которых у С-3 – вторичная, а вторая у С-6 – первичная. По этим функциональным группам может проводиться его химическая модификация для получения производных с заданными функциональными свойствами. Среди них можно отметить простые (например, карбоксиметилловые) и сложные эфиры [9, 10, 11]. Среди разнообразных производных этого полимера наиболее доступным является хитозан.

Хитозан – деацетилированное производное хитина, представляющее собой полимер, состоящий из  $\beta$ -Д-глюкозаминовых звеньев (рисунок 3).

В основе получения хитозана лежит реакция отщепления от структурной единицы хитина – ацетильной группировки. Реакция деацетилирования может сопровождаться одновременным разрывом гликозидных связей полимера, в связи с чем, хитозан имеет структурную неоднородность, обусловленную неполной завершенностью реакции деацетилирования и разрывом полимерной цепочки [2].

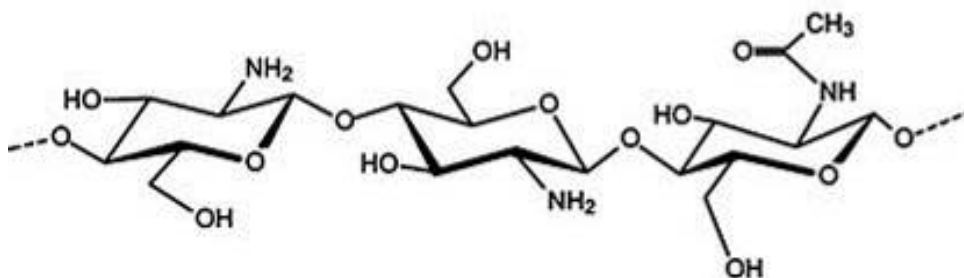


Рисунок 3 – Структурная формула хитозана

При работе с хитином и хитозаном следует учитывать их молекулярный вес, степень деацетилирования (СД) или степень ацетилирования (СА). Степень деацетилирования показывает относительное мольное содержание аминогрупп в полимере, степень ацетилирования – относительное мольное содержание N-ацетильных групп. В настоящее время отсутствует общепринятые критерии для различения хитозана и хитина в зависимости от содержания N-ацетильных групп. Для удобства эта условная граница может быть проведена по степени ацетилирования, которая у хитина составляет более 50%, а у хитозана менее 50% [2].

В отличие от практически нерастворимого хитина, хитозан растворим в разбавленных неорганических кислотах (соляной, азотной) и органических (муравьиной, уксусной, янтарной, молочной, яблочной), но нерастворим в лимонной и винной кислотах [12]. Данное свойство открывает широкие возможности для применения в различных отраслях промышленности, сельском хозяйстве и медицине.

Аминогруппы молекулы хитозана имеют константу ионной диссоциации (рКа) 6,3–6,5 [13]. Ниже этого значения аминогруппы протонированы, и хитозан представляет собой катионный, хорошо растворимый полиэлектролит. Выше – аминогруппы депротонированы, и полимер нерастворим. Такая зависимость растворимости от рН позволяет получать хитозан в различных формах: капсулы, пленки, мембраны, гели, волокна и др.

Растворимость хитозана в слабокислых водных растворах существенно повышается при понижении молекулярной массы и повышении степени деацетилирования. Высокомолекулярный хитозан со степенью деацетилирования 70–80% плохо растворяется в водных растворах при рН 6,0–7,0, что существенно ограничивает возможности его практического применения [14].

Хитозан, в отличие от хитина, имеет дополнительную реакционноспособную функциональную группу (аминогруппа  $\text{NH}_2$ ), поэтому помимо простых и сложных эфиров из хитозана возможно получение N-производных различного типа, что существенно расширяет возможности его применения.

Хитозан в большинстве случаев обладает разнообразной биологической активностью. За счет высокого положительного заряда он имеет большое сродство к сорбции молекул белков, пестицидов, красителей, липидов, хелатированию ионов металлов ( $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Hg}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Cr}^{3+}$ ,  $\text{VO}^{2+}$ ,  $\text{UO}_2^{2+}$ ) и радионуклидов [15]. Продукты на основе хитозана обладают биodeградируемостью, радиационной устойчивостью, биосовместимостью. Хитозан и его производные проявляют антибактериальные, иммуностимулирующие, противоопухолевые, ранозаживляющие и другие свойства. По токсичности хитозан относится к 4-му классу и считается безопасным [2], поэтому данный полимер находит все более широкое применение практически во всех областях, как то медицина, пищевая

промышленность, сельское хозяйство, атомная энергетика, текстильная промышленность и т.д. [1].

### **Области применения хитина и хитозана**

Принимая во внимание уникальные свойства хитина и хитозана, в последние годы значительно интенсифицировались исследования этих природных полимеров и разработки научных основ их практического использования. На сегодняшний день известно более 200 областей применения данных биополимеров.

#### ***Парфюмерно-косметическая промышленность***

За счет пленкообразующих свойств данные полисахариды в парфюмерно-косметической промышленности используют в составе косметических кремов, снижающих потерю воды и повышающих эффективность УФ-фильтров [16], а также в средствах по уходу за волосами (шампуни, бальзамы, лосьоны) для улучшения расчесываемости, уменьшения статического заряда, предупреждения появления перхоти и усиления блеска волос. Также хитозан может выступать в качестве гелеобразователя в жидких мылах, гелевых зубных пастах, лаках для ногтей с бактерицидными свойствами [2]. В парфюмерии применяют при изготовлении духов в качестве стабилизатора аромата [17].

#### ***Медицина***

В медицине данные биополимеры используются в виде порошков, мазей, гелей, присыпок, повязок, губок, искусственной кожи для лечения и устранения дефектов, поражений и ожогов слизистой оболочки полости рта и зубов [18], репарации дефектов и регенерации костной ткани, а также для заживления ран, обеспечивая механическую защиту и стимулируя процессы регенерации поврежденных тканей (обеспечивается ускорение заживления в 3–4 раза) [19]. Сульфат хитозана, обладающий антикоагулянтной активностью используется в качестве аналога гепарина, замедляющего свертывание крови и препятствующего возникновению тромбов [22]. Благодаря биodeградируемости, биосовместимости и малой токсичности, хитозан используется как функциональный материал в виде основы для создания мембран, обладающих адгезивными свойствами, пленок, наночастиц и наносистем для доставки витаминов, белков, пептидов и лекарственных средств, вводимых различными методами (перорально, назально, парентерально), с пролонгированным действием [20, 21].

#### ***Сельское хозяйство***

В сельском хозяйстве хитозан может быть использован в качестве элиситора, вызывающего системную и продолжительную болезнеустойчивость у растений к возбудителям различных заболеваний (бактериальных, грибных, вирусных) при обработке семян до посева и при обработке растений в фазу ветвления, и в качестве биостимулятора, обеспечивающего повышение урожайности овощей на 25–40% [23], а также для облагораживания почв в композициях с природными или искусственными удобрениями [24]

#### ***Экология***

В экологических целях хитозан и хитин могут использоваться для очистки сточных вод от тяжелых металлов, радионуклидов, белков, углеводов, пестицидов, красителей и бактериальных клеток [25].

#### ***Пищевая промышленность***

В пищевой промышленности хитозан нашел наиболее широкое применение (рисунок 4). Он используется в качестве эмульгатора простых и многокомпонентных эмульсий для стабилизации гомогенных и гетерогенных систем при производстве пудингов, муссов, желе и для фракционирования молочного сырья. Применяется как загуститель соусов, приправ, паштетов, паст, для жидкой панировки и как структурообразователь для продуктов диетического питания, способствующих выведению радионуклидов из организма, а также для осветления жидкости в производстве вин, пива, соков, молочной сыворотки [2].

За счет бактерицидных свойств данные полисахариды могут применяться в качестве консерванта с целью подавления патогенной и условно-патогенной микрофлоры и

повышения биологической ценности продуктов питания и напитков, а также при изготовлении пленок для хранения различных видов пищевой продукции [26]. Наиболее широко известно защитное действие пленок из хитозана, наносимых на поверхность плодов и овощей – яблок, цитрусовых, земляники, томатов, перца. Однородные, гибкие, не дающие трещин хитозановые пленки обладают избирательной проницаемостью, поэтому на поверхности плодов и овощей играют роль микробного фильтра и/или регулируют состав газов как у поверхности, так и в толще тканей, влияя тем самым на активность и тип дыхания, что в целом способствует продлению сроков хранения продуктов растительного происхождения.

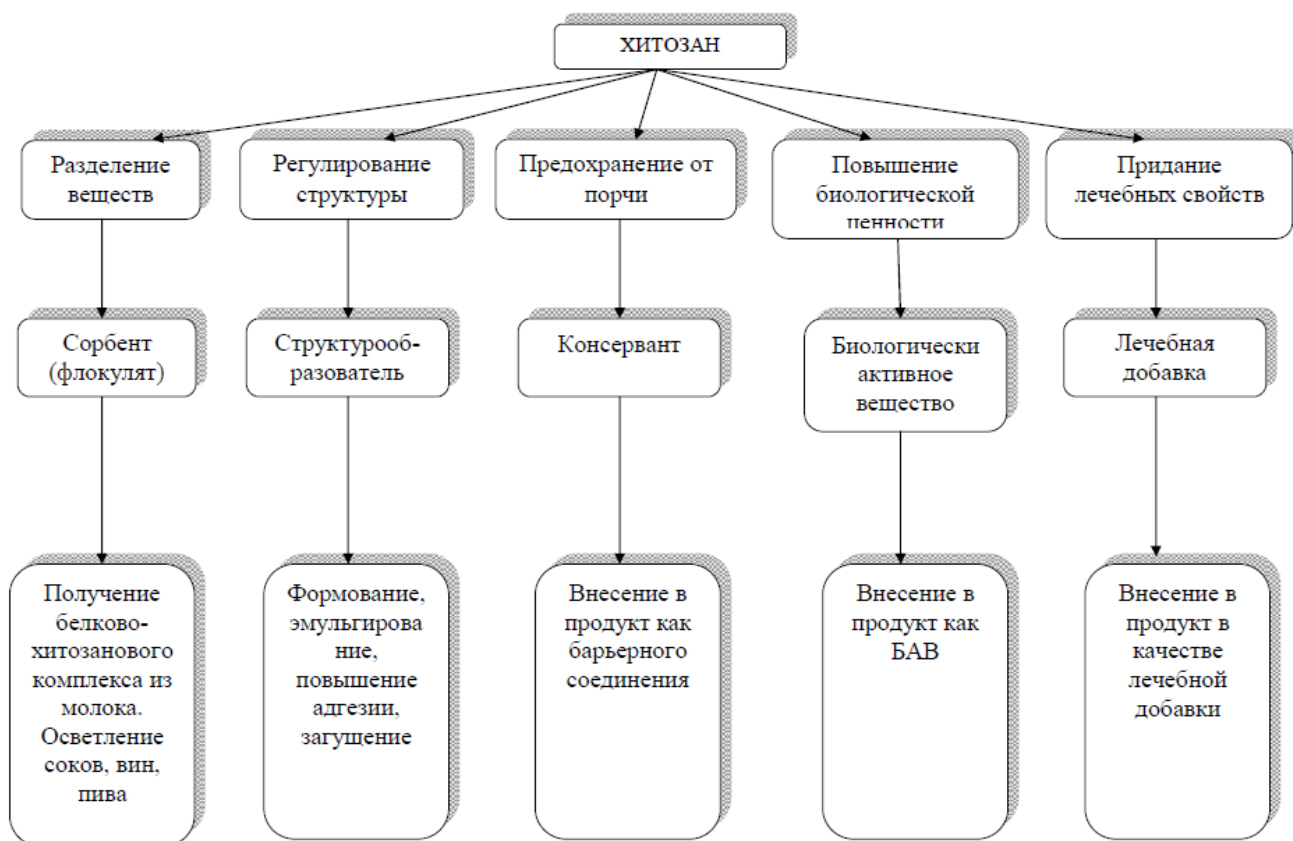


Рисунок 4 – Применения хитозана в пищевой промышленности

Кроме того, хитозан относится к диетическим волокнам, которые не усваиваются организмом человека, в кислой среде желудка он образует раствор высокой вязкости. Как компонент пищи или как лечебно-профилактический препарат хитозан проявляет свойства энтеросорбента, иммуномодулятора, антисклеротического и антиартрозного фактора, регулятора кислотности желудочного сока, ингибитора пепсина и др. [27].

Различные сырьевые источники отличаются как содержанием в них хитина (6–30% (в пересчете на сухое вещество) в панцире ракообразных, 10–14% в гидроидных полипах, 18–20% в биомассе мицелиальных грибов, 60–65% в покровных тканях тараканов, 40–50% – в подморе пчел, высших и низших грибов), так и структурой, и свойствами [2, 28]. Поэтому для получения этих биополимеров с заданными свойствами необходимо исследовать хитозансодержащие источники и разработать методы выделения целевого компонента.

#### Основные источники хитина и хитозана

Хитин присутствует в экзоскелете членистоногих (ракообразные, насекомые), скелетных элементах морского зоопланктона, клеточной стенке грибов и дрожжей, трубках погонофор [29]. Данный полимер также представлен в стенках цист инфузорий, иглах

диатомовых, клетках зеленых, золотистых и гаптофитовых водорослей [30]. Он отсутствует у прокариотических организмов и растений.

### **Ракообразные (Crustacea)**

В настоящее время основным источником для получения хитина и хитозана являются членистоногие, а именно ракообразные. Наиболее доступными промышленными сырьевыми объектами для получения хитозана являются отходы переработки панцирьсодержащих морских гидробионтов: крабов, креветок, лобстеров и др. Главной особенностью такого сырья является отсутствие затрат на разведение и выращивание [31].

В панцирях ракообразных присутствует в  $\alpha$ -форма хитина, который образует нанофибриллы диаметром 3 нм, содержащие по 19 молекулярных цепочек длиной около 0,3 мкм [32]. Хитин образует комплексы с белками (до 50%), взаимодействуя с аспарагиновой кислотой и/или остатками гистидина, минералами (аморфные карбонаты и фосфаты кальция) и пигментами (лютеин,  $\beta$ -каротин, астаксантин), придающими механическую прочность и упругость [33].

Крабодобывающие предприятия Дальнего Востока России в качестве сырья для производства хитина и хитозана заготавливают панцири головогруды и конечностей следующих видов крабов: камчатского (*Paralithodes camtschaticus*), синего (*Paralithodes platypus*), равношипного (*Lithodes aequispina*), а также крабов-стригунов опилио (*Chionoecetes opilio*) и бэрди (*Chionoecetes bairdi*). Природный хитин крабов не бывает полностью ацетилированным и содержит до 82,5% ацетилглюкозамина, 12,4% глюкозамина и 5% воды [2]. Химический состав панцирей крабов и других ракообразных представлен в таблице 1.

Таблица 1 – Химический состав панцирей морских и пресноводных ракообразных [29,31]

Вид сырья	Влага, %	Содержание, в пересчете на сухое вещество, %			
		общий азот	липиды	минеральные вещества	хитин
Панцири крабов	9,7	5,9	0,9	33,8	32,4
Панцирь креветки	9,8	6,7	13,9	24,8	9,7
Панцири речных раков	8,0	5,8	9,0	42,0	35,0
Гаммарус сушеный	10,0	8,7	7,7	26,1	6,6
Гаммарус мороженный	77,2	9,04	14,1	20,9	6,2
Антарктический криль	73–77	до 45	2,0–3,2	2,6–3,0	2,8–4,5
Гладиус кальмара	–	–	2-5	0,5-2	28–35

Другим наиболее массовым и легко добываемым объектом является рачок-бокоплав *Gammarus (Rivulogammarus) lacustris*. Его запасы исчисляются тысячами тонн, а вылов не сопряжен с нарушением биологического равновесия в водоемах. Относительно высокое содержание хитина (25–30%) и малая толщина панциря (100–500 мкм) облегчают процесс его переработки для получения хитина и хитозана [34].

Еще одним из перспективных источников может служить антарктический криль (*Euphausia superba*), массовый в Атлантическом, Тихоокеанском и Индоокеанском секторах Антарктики. По некоторым оценкам его запасы составляют до 50 млн т, выход хитина после обработки криля-сырца – около 1%.

Сегодня мировой вылов криля оценивается в 100 тыс. т., а его настоящее время сырьевая база могла бы обеспечить почти круглогодичный промысел [35].

### **Грибы (Fungi)**

Доступным источником получения хитина и хитозана являются грибы. Клеточная стенка почти всех грибов, за исключением Acrasiales, содержит хитин. Содержание хитина различно у грибов разных таксонов и подвержено значительным колебаниям в зависимости от условий культивирования и систематического положения организма, составляют 0,2% до 26% от сухой массы. К примеру, содержание хитина на грамм сухой биомассы у *Aspergillaceae* составляет 20–22%, у *Penicillium* – 4–5,5%, высших грибов – от 3 до 5%, в плодовых телах белого гриба – 6,7%. Содержание хитина неодинаково даже у грибов, относящихся к одному роду. Например, среди микромицетов семейства *Aspergillaceae* содержание хитина у *A. flavus* содержит до 22% от сухой массы, у *A. niger* – 7,2%, а у *A. parasiticus* – 15,7%. Относительное содержание хитина у некоторых грибов значительно варьирует в пределах вида, составляя у разных штаммов *A. niger* от 11,7% до 24% от сухой массы.

Установлено, что этот полисахарид присутствует у 29 видов дрожжей, кроме *Schizosaccharomyces*. В дрожжах присутствует  $\alpha$ -форма хитина средней молекулярной массы около 25 кДа, которая составляет 1–3% общей массы [36].

Клеточная стенка грибов представляет собой систему микрофибрилл, встроенных в аморфный матрикс. Такие фибриллы или скелетные компоненты в зависимости от видовой принадлежности грибов могут быть построены из целлюлозы, глюкана и хитина. Остальные полисахариды, белки, пигменты, липиды служат цементирующими веществами, образующими химические связи с микрофибриллярной частью клеточной стенки.  $\beta$ -1,3-глюканы образуют наиболее прочный комплекс с хитином за счет ковалентных связей, называемый хитин-глюкановым комплексом (ХГК), который составляет «скелет» грибной клетки. В клеточной стенке синтез хитина определяет внешний вид клетки, ее химический состав и тесно связан с тургором, морфогенетическим развитием, синтезом липидов, активностью ряда ферментов, а также ядерным аппаратом грибной клетки. Хитин из грибов можно получать двумя способами: путем целенаправленной ферментации и из отходов производств органических кислот, ферментов, антибиотиков. Отделение глюканов от хитина затруднительно, поэтому более целесообразно получение хитин-глюкановых и хитозан-глюкановых комплексов. Также можно выделять напрямую хитозан, который входит в состав клеточной стенки некоторых мицелиальных грибов, таких как *Mucor spp.*, *Rhizopus spp.*, *Absidia coerulea*, *A. glauca*, *A. orchidis* [37, 38].

### **Насекомые (Insecta)**

Насекомые – самый многочисленный класс животного мира, насчитывающий более миллиона видов. Покровы тела насекомых состоят из двух разнородных образований – живых клеток эпидермиса и неклеточной кутикулы – продукта выделения этих клеток. Кутикула образует наружный скелет, покрывающий все тело, и подразделяется на два слоя. Толстый внутренний слой прокутикулы (толщиной до 200 мкм) отличается высоким содержанием воды (30–40%) и состоит из хитиновых волокон, встроенных в белковую матрицу. Тонкий наружный слой эпикутикулы лишен хитина (толщиной 1–3 мкм) [39]. Проницаемая для воды прокутикула выполняет функцию механической защиты тканей и клеток, а водонепроницаемая эпикутикула – защиты от высыхания. Прокутикулу делят на мягкую эндокутикулу, примыкающую к эпидермису, и расположенную над ней более прочную экзокутикулу. В области эндокутикулы процессы затвердевания и пигментации не выражены. Полимерные молекулы хитин-протеинового комплекса образуют чередующиеся слои, составленные из тончайших пластинок – ламелл [40]. В области экзокутикулы этот комплекс стабилизируется хинонами и пропитывается меланиновыми пигментами. Кутикула членистоногих в пространственной геометрии является одним из лучших примеров холестерических жидких кристаллов. Такую структуру образуют соединения имеющие асимметрические центры, благодаря которым в молекулах слои закручены относительно

друг друга на небольшой и постоянный угол, образуя спираль. Образование внеклеточного матрикса идет по принципу самоупорядочивания типа жидких кристаллов [41].

Доля хитина в кутикуле насекомых высока и достигает у некоторых видов 50%. Хитин также содержится и в выстилке крупных трахей, одноклеточных железах, в перитрофической оболочке [42]. Содержание хитина в других органах или частях тела членистоногих, а также в покровах тела различных насекомых представлено в таблице 2.

Таблица 2 – Содержание хитина в % от сухого веса в покровах тела насекомых [45]

Хитинсодержащие объекты	Доля, %	Хитинсодержащие объекты	Хитин, %
Жесткокрылые насекомые		Хоботные насекомые	
Надкрылья:		Надкрылья:	
- колорадского жука	32,2	- клопа-солдатика	27,0
- майского жука	33,9	- цикады	25,0
- жука-олени	40,0	Чешуекрылые насекомые:	
- жужелиц	36,1	- кутикула гусениц восковой огневки	33,7
- мучного хруща	29,0	Двукрылые насекомые:	
- плавунца окаймленного	34,5	- кутикула личинок мясной мухи	54,9
- водолюба черного	32,4	- куколки мясной мухи	32,5
Кутикула личинки жесткокрылых насекомых:		Таракановые:	
- мучного хруща	33,0	- кутикула имаго тараканов	35,0
- майского жука	33,5		

Также в состав экзоскелета членистоногих, помимо хитина, входят белки, которые составляют от 25 до 50% сухого материала кутикулы, и липиды (3,5–22%) [39]. Из неорганических веществ чаще всего присутствуют нейтральные соли кальция (карбонаты, фосфаты), которые образуют комплексы с белком. Содержание минеральных веществ невелико и не превышает 1–3% [44].

Таким образом, в настоящее время основным источником получения хитина и хитозана являются ракообразные. Получение хитина из этого сырья может быть рентабельным только при условии одновременного извлечения всех полезных веществ, которые содержатся в панцире. Кроме того, предприятия по получению хитина из панцирей ракообразных должны быть расположены вблизи их мест лова. Поэтому, актуальным является поиск новых экологически и экономически рентабельных источников получения хитина. Перспективным новым сырьевым источником хитина и хитозана могут служить насекомые. Получение из них полиаминосахаридов заслуживает особого внимания в связи с высоким содержанием хитина, малой кристалличностью сырья, что позволяет вести процесс в щадящих условиях, используя экологичные многоцелевые биотехнологии.

#### **Зоокультура беспозвоночных животных**

В Республике Беларусь доступным источником получения хитина и хитозана может быть зоокультура беспозвоночных животных. Так как сбор животных в естественной среде в большинстве случаев затруднителен, зависит от сезона и не рентабелен, зоокультура насекомых может стать новым доступным источником получения хитина, который станет отечественным возобновляемым ресурсом получения этого биополимера и его производных.

Зоокультура – это группа животных любого таксона культивируемая в течение длительного числа поколений, в отношении которой человек проявляет заботу преследуя определенные практические цели.

Наиболее популярными при выращивании в зоокультуре насекомыми являются тараканы, сверчки, личинки мучных хрущаков и др. (таблица 2).



Таблица 2 – Коммерчески культивируемые насекомые

Культивируемые насекомые	Области использования насекомых
<b>Сверчки</b>	
Домовой сверчок ( <i>Acheta domestica</i> )	выращивают в качестве живого корма для домашних животных во многих странах; В Нидерландах выращивают для потребления человеком; широко выращивают в Таиланде и соседних странах; имеются производства в Кении и США
Тропический сверчок ( <i>Gryllobus sigillatus</i> )	выращивают в качестве живого корма для животных
Полевой сверчок ( <i>Gryllus assimilis</i> )	производятся в Азии в качестве живого корма для животных
Двупятнистый сверчок ( <i>Gryllus bimaculatus</i> )	широко культивируется в Таиланде, а также в Лаосе и Камбодже для потребления в пищу человеком
Коричневый сверчок ( <i>Teloegryllus testaceus</i> )	культивируют в Северной и Южной Америке для потребления в пищу человеком
<b>Кузнечиковые и Саранчовые</b>	
Прямкрылые: Саранчовые и кузнечиковые <i>Orthoptera gr.</i> ; <i>Oxya</i> spp.; <i>Melanoplus</i> spp.; <i>Hieroglyphus</i> spp.; <i>Acridia</i> spp.; <i>Locusta</i> <i>migratoria</i> ; <i>Schistocerca</i> <i>Americana</i>	различные виды кузнечиковых и саранчовых разводятся как живой корм для домашних животных в Европе и за ее пределами; некоторые виды для потребления человеком в Нидерландах; по всему миру кузнечиковые изымаются для потребления из дикой природы
<b>Насекомые, используемые в стадии личинки</b>	
Мучной хрущ ( <i>Alphitobius diaperinus</i> )	выращивают в качестве корма для домашних животных, а в некоторых странах также для потребления человеком
Хрущак мучной ( <i>Tenebrio molitor</i> )	производятся в качестве корма для домашних животных, а также для потребления человеком
Жук-чернотелка ( <i>Zophobas atratus</i> )	выращивают для потребления в пищу человеком и в качестве корма для домашних животных
Гиганский хрущак мучной ( <i>Zophobas morio</i> )	производится на корм животным
Домовая муха ( <i>Musca domestica</i> )	личинки мухи, известные как опарыши, производятся в промышленных масштабах в Южной Африке и Китае; выращиваются на корм сельскохозяйственным животным
Мясная муха ( <i>Chrysomya chloropyga</i> )	имеются экспериментальные производства в Южной Африке на корм животным
Пальмовый долгоносик ( <i>Rhynchophorus ferrugineus</i> )	традиционно употребляемы в пищу людьми в Юго-Восточной Азии, разводятся в Таиланде.
<b>Виды, используемые в стадии куколки</b>	
Черная Львинка ( <i>Hermetia illucens</i> )	в аквакультуре производится как источник белка на корм животным; личинки могут быть использованы для компостирования пищевых и бытовых отходов
Шелкопряд ( <i>Bombyx mori</i> )	куколки и имаго – побочный продукт производства шелка; традиционно используется для потребления человеком в некоторых странах Азии

### Условия культивирования насекомых

**Особенности разведения тараканов «Мертвая голова» (*Blaberus craniifer*), мраморных (*Nauphoeta cinerea*), мадагаскарских шинящих (*Gromphadorhina portentosa*) и мадагаскарских тигровых (*Gromphadorhina grandidieri*) тараканов.**

*Nauphoeta cinerea* – вид североамериканских тараканов, в настоящее время распространенный на всей планете. Широко используется в качестве кормовой культуры для различных экзотических животных. *Blaberus craniifer*, *Gromphadorhina portentosa* и *Gromphadorhina grandidieri* – тараканы, отличающиеся рекордным размером, более продолжительными сроками развития и большей требовательностью в пище. В длину они могут достигать до 80 мм. Данные виды также культивируются в промышленных масштабах, однако не так популярны как мраморные тараканы.

Как источник получения биологически активных веществ данные насекомые представляют интерес, так как обладают весьма толстым хитиновым экзоскелетом, и, можно ожидать, что выход хитозана при их переработке будет выше.

Знание биологии и экологии тараканов является принципиальной основой их успешного культивирования. Культивирование тараканов требует соблюдения определенных оптимальных условий содержания; а именно питания, размножения, которые смогут обеспечить нормальную жизнедеятельность лабораторной культуры в целом. Соблюдение в течение круглого года необходимых условий содержания: сбалансированного рациона питания, температурного режима, относительной влажности воздуха, освещенности, оптимальной плотности насекомых в садках с учетом сезонных изменений в структуре популяции позволит сохранить и в приемлемые сроки приумножить культуру насекомых. Личинки и имаго тараканов должны получать в течение всего года растительную и животную пищу, при отсутствии натуральных продуктов в качестве заменителей могут служить гранулированные мясорыбные концентраты с микроэлементами и витаминами, способствующими поддержанию нормального гомеостаза колонии тараканов.

Производителей содержат в стеклянных садках или пластмассовых контейнерах с дном площадью 60×40 см. Для обеспечения вентиляции сбоку в садке оставляют вентиляционные отверстия, которые затягивают тонкой нержавеющей сеткой или мельничным газом. В качестве субстрата используется почва, торф, косовый грунт или стружка, опилки деревьев лиственных пород, коряги и кора вяза, осины, липы, дуба. Для увеличения площади рекомендуется помещать в садок картонные яичные лотки, которые служат дополнительным укрытием для личинок. Высота слоя субстрата для разведения должна составлять не менее 6–7 см. Особенно важно наличие кусков коры при содержании *G. grandidieri*. Содержащиеся в лубе биологически активные вещества (танины и пр.) необходимы для нормального протекания физиологических процессов и нормальной жизнедеятельности этих тараканов.

Оптимальная температура для культивирования тараканов поддерживается в диапазоне 24–27°C. Влажность воздуха в садках должна варьировать в пределах 60–70%, что достигается за счет ежедневного опрыскивания субстрата из пульверизатора с мелким распылением, чтобы не допустить переувлажнения.

Корма используются двух категорий: сухие и влажные. Сухие корма – сухой гаммарус (*Gammarus* spp.), овсяные хлопья, отруби, черные и белые сухари, печенье. Влажные корма используются в зависимости от сезона года. В зимний период это тыква, кабачки, патиссоны, морковь, листья салата, капусты, свеклы, яблоки, бананы. В летний период – листья одуванчика лекарственного (*Taraxacum officinale*), лопуха большого (*Arcticum lappa*), зеленый салат и т. д.

Кормление лучше всего осуществлять один раз в три дня. Это обусловлено тем, что на несъеденных остатках пищи могут развиваться бактерии, приводящие к порче корма и вызывающие ряд инфекционных заболеваний насекомых. Поэтому остатки корма убирают из садка, заменяя свежим. Помимо вышеперечисленных кормов в рацион питания тараканов вводятся минеральные добавки, мел, яичная скорлупа.

**Культивирование гигантского мучного червя (*Zophobas morio*).**

*Zophobas morio* – жук семейства чернотелок. Данное насекомое получило широкую известность как потенциальный источник животного белка. Большим промышленным потенциалом в качестве биотехнологического сырья обладают не столько имаго, сколько его личинки, которых содержится до 20% белка и 16% жиров. Высокое содержание биологически ценных веществ и крайне высокая плодовитость сделали *Zophobas morio* одними из самых популярных насекомых, культивируемых в коммерческих целях. Так, в промышленных масштабах данный жук широко разводится в Европе, Азии и США. Существуют разные технологии содержания *Zophobas morio*. В качестве питательного субстрата наиболее часто применяют отруби, торф, опилки или смеси всех вышеперечисленных субстратов. В коммерческих целях в необработанном виде он применяется как корм для нужд животноводства, либо в качестве источника животного белка в составе кормовых смесей.

Этот объект наиболее интересен с точки зрения получения из него хитозана, так как на личиночной стадии хитин насекомых находится в наименее скелетизированном состоянии. Иными словами, он содержит минимальное количество минеральных веществ. Можно ожидать, что при переработке такого хитина в хитозан будет уменьшен расход реактивов по сравнению с другими объектами. Так же стоит предположить, что получаемый из этого сырья хитозан будет иметь наибольшую степень деацетилирования.

Для содержания гигантского мучного червя используются пластиковые контейнеры, стеклянные аквариумы с гладкими стенками, закрытые крышками с сеткой. Размеры контейнеров – 30×50 см. Высота емкостей примерно 40–50 см. Расстояние от субстрата до крышки должно составлять не менее 15–20 см. Для предотвращения «побега» личинок, стенки смазывают 10 см слоем вазелина от верхней границы емкости. Контейнер закрывают крышкой с отверстиями для вентиляции.

Субстрат представляет собой смесь равных частей торфа и мелко измельченной гнилой древесины или древесных опилок, кокосового грунта или стружки, которые укладываются рыхлым слоем 7–12 см на дно контейнера. В качестве разрыхлителя возможно добавление в субстрат керамзита или вермикулита. Для откладки яиц на субстрат накладываются куски гнилой древесины или волнистого картона, яичных лотков. Чтобы избежать пересыхания яиц, контейнеры регулярно опрыскиваются. В контейнер для маточника кладутся сухие ветки, поверхность субстрата закрывается мелкоячеистой сеткой, проницаемой для мелких личинок, но не для имаго.

Чернотелок содержат при температуре 26–28°C и относительной влажности воздуха 60–70%. Подогревать контейнер лучше всего снизу, для этого они помещаются на обогреваемые с помощью термощнуров стеллажи.

Основу рациона *Z. morio* составляют отруби, овсяные хлопья, мелко размолотая яичная скорлупа, сухой хлеб, комбикорм для животных, нарезанные овощи (морковь, картофель, капуста, салат) и фрукты. Дополнительно используется гнилая древесина, плодовые тела трутовых грибов, свежие рыба или мясо, корма для кошек и собак. Чтобы не допустить загнивания корма, необходимо отслеживать степень загрязненности кормушек.

**Культура бананового сверчка (*Gryllus assimilis*)**

Банановый сверчок является наиболее простым объектом разведения из-за неприхотливости в корме, высокой плодовитости и отсутствием стойкой диапаузы. Сверчок – наиболее питательный и оптимальный корм для животных, употребляющих в пищу насекомых.

Для содержания *G. assimilis* используют любые пластмассовые или стеклянные емкости. Размеры контейнеров зависят от количества культивируемых насекомых. Сверчкам свойственна высокая локомоторная активность, они способны хорошо прыгать, поэтому им необходимо обеспечить соответствующее пространство для ведения активного образа жизни. Высота садков должна быть 45–50 см для предотвращения выпрыгивания. Ввиду отсутствия

на лапках пульвилл, насекомые лишены возможности перемещения по вертикальным поверхностям. Для рассредоточения сверчков по всей поверхности контейнера и создания укрытий внутрь помещают бугорчатые картонные лотки для транспортировки яиц.

Необходимым условием в устройстве инсектария является наличие субстрата, в качестве которого используется смесь отрубей с овсяными хлопьями, гаммарусом или стружкой. Толщина субстрата составляет 0,5–1,5 см. Очень важно не допускать переувлажнения в садке. Оптимальная влажность 35–50%. Для поддержания влажности ежедневно опрыскиваются пульверизатором с мелким впрыском.

Оптимальная температура находится в пределах 28–35 °С, если она выходит за пределы нормы, то может наступить холодное или тепловое оцепенение. При температуре 45–48 °С насекомые погибают.

Сверчки являются полифагами, для их кормления используются корма растительного и животного происхождения. Отсутствие белковой пищи в кормах может негативно сказаться на процессах жизнедеятельности и развитии сверчков (процессе линьки, формировании крылового аппарата) может привести к каннибализму или вызвать гибель личинок. Самки, содержащиеся только на растительных кормах, откладывают нежизнеспособные яйца, при этом значительно сокращается продолжительность жизни имаго. Добавка белковой пищи в корм сверчкам обеспечивает нормальное развитие личинок и созревание полноценных половых продуктов у взрослых насекомых. Для кормления сверчков используют различные корма: морковь, свеклу, салат, зеленые травянистые растения овсяные хлопья, отруби, гаммарус, сухое молоко, рыбную муку, комбикорм (свиной, куриный), сухой корм для кошек, собак и грызунов, а также вареный яичный белок. Влажные корма дают маленькими порциями 1–2 раза в день, сухие корма должны постоянно находиться в инсектарии.

Доступ к воде является необходимым фактором, из-за его отсутствия возможно проявление каннибализма и гибель насекомых. Поилки представляют собой перевернутые стаканчики с водой, либо используется смоченная в воде ткань или вата (для мелких особей).

#### **Способы получения хитозана**

Существуют различные методы выделения хитина из сырья и его преобразования в хитозан. Наиболее часто используемыми являются химический, биотехнологический, электрохимический методы.

Химический метод является одним из наиболее старых способов получения хитозана. Он основан на последовательной обработке сырья щелочами и кислотами. Процесс удаления белков (депротеинирование) осуществляет при помощи обработки размельченного хитинсодержащего сырья раствором щелочи. Как правило, применяется гидроксид натрия. Далее следует процесс деминерализации, который проводится в растворе соляной кислоты, до полного удаления минеральных солей из сырья. Процесс обесцвечивания (депигментации) проводят с использованием окислителей, например, перекиси водорода. Процесс деацетилирования производят путем нагревания сырья с концентрированным раствором щелочи. Полученный хитозан последовательно промывают водой и метанолом.

Другим способом получения хитина и его дальнейшего преобразования в хитозан является проведение сначала стадии деминерализации, а затем – стадии депротеинирования. Полученный по этой схеме продукт обладает более высоким качеством в сравнении с хитином, полученным по схеме депротеинирование – деминерализация.

К недостаткам химического способа получения хитина можно отнести большое количество отходов производства, контакт сырья с сильными реагентами, что приводит к деструкции хитина, гидролизу и химической модификации белка и липидов, и, как следствие, ухудшению качества целевых продуктов и уменьшению молекулярной массы хитозана [9, 45, 46]. К достоинствам химического способа получения хитина относятся можно отнести высокую степень депротеинирования и деминерализации хитина, небольшое время обработки сырья и относительную доступность, и дешевизну реагентов.

Биотехнологический способ предусматривает использование ферментов для депротеинирования сырья, продуктов молочнокислого или уксуснокислого брожения для деминерализации и химических реагентов для депигментации. Для достижения высокой степени депротеинирования наиболее эффективными являются способы, предусматривающие применение ферментов и ферментных препаратов микробиологического и животного происхождения таких, как панкреатин, кислые протеиназы Г10Х, щелочные протеиназы Г20Х [47, 48].

Этот способ реализуется в мягких с химической точки зрения условиях, при совмещении в одном процессе нескольких операций депротеинирования и деминерализации, что упрощает процесс и приводит к повышению качества готового продукта, максимально сохраняя функциональные свойства готового хитозана [49]. Но ограничивающим этот метод является применение дорогостоящих ферментов или штаммов бактерий, невысокая степень депротеинирования хитина даже при применении нескольких последовательных обработок в свежееинокулированных ферментерах, а также необходимость обеспечения стерильности производства. Поэтому в настоящее время метод развит недостаточно и пока не нашел широкого применения в промышленности.

Электрохимический метод получения хитозана позволяет в одном технологическом процессе получать хитин достаточно высокой степени очистки и ценные в пищевом отношении белки и липиды. Сущность технологии получения хитина электрохимическим способом заключается в проведении стадий депротеинирования, деминерализации и обесцвечивания хитинсодержащего сырья в водно-солевой суспензии в электролизерах под действием электромагнитного поля, направленного потока ионов, образующихся в результате электролиза воды  $H^+$  и  $OH^-$  и ряда низкомолекулярных продуктов, обуславливающих кислую и щелочную реакцию среды, а также ее окислительно-восстановительный потенциал соответственно [50,51]. Среди преимуществ данного метода является отсутствие необходимости в применении токсичных химических реагентов. Полученный таким образом хитозан обладает высоким уровнем сорбционных свойств и биологической активности, но недостатком данного метода является большая энергозатратность.

#### **Технология получения хитина и хитозана из культивируемых насекомых химическим методом**

Поскольку в хитине насекомых практически полностью отсутствует минеральная фракция, а содержание чистого хитина в кутикуле может превышать 50%, использование этого вида сырья должно привести к значительному удешевлению производства за счет редукции стадий технологического процесса. В связи с этим была разработана технологическая схема комплексной переработки представителей зоокультуры, включающая 4 стадии [52]:

Стадия получения водорастворимого меланина осуществляется путем его водной экстракции из 10% суспензии измельченного хитинсодержащего сырья при температуре 80 °С в течение 1 ч. Фильтрацией меланиновая фракция отделяется и высушивается, а осадок идет на переработку для получения хитина и хитозана.

Хитин-меланиновый комплекс (ХМК) получают в результате депротеинирования твердого осадка 10%-ным раствором NaOH при температуре 45–55 °С в течение 2 ч, и отделением его фильтрацией с последующей промывкой дистиллированной водой до pH промывных вод 7,0.

Стадия обесцвечивания ХМК осуществляется 3%-ным раствором  $H_2O_2$  при температуре 45–55 °С в течение 1 ч. После фильтрации реакционной смеси, твердый остаток – обесцвеченный хитин-меланиновый комплекс – промывают дистиллированной водой до pH промывных вод 7,0 и высушивают. Обесцвеченный хитин-меланиновый комплекс используется далее для получения хитозана.

Деацетилирование ХМК проводят 50%-ным раствором NaOH при температуре 125–130 °С в течение 1–1,5 ч. По окончании процесса суспензию охлаждают до 50 °С и фильтруют для получения твердого остатка, который тщательно промывается до нейтральных промывных вод. Полученный продукт – высокомолекулярный хитозан-меланиновый комплекс.

В результате комплексной переработки хитинсодержащего сырья по данной технологии возможно получить следующие биологически активные соединения: меланин-протеиновый, хитин-меланиновый, хитозан-меланиновый комплексы и хитозан.

Меланин-протеиновый комплекс способен проявлять антиоксидантные, генопротекторные, радиопротекторные и другие свойства благодаря наличию в молекуле пигмента разнообразных реакционных групп: карбоксильных, карбонильных, метоксигрупп и др., обеспечивающих возможность участия в окислительно-восстановительных реакциях. Этот комплекс может найти применение в пищевой, косметической и медицинской промышленности.

Хитин-меланиновый комплекс благодаря высокому содержанию меланина способен эффективно связывать тяжелые металлы, радионуклиды и другие поллютанты и может найти применение в качестве сорбента для очистки воды, почвы от этих антропогенных загрязнителей.

Хитозан-меланиновый комплекс растворим в воде, что существенно расширяет возможности его использования для сорбции тяжелых металлов из водных растворов; хитозан может быть использован в качестве элиситора для предпосевной обработки семян различных сельскохозяйственных растений, а также для конструирования современных ранозаживляющих средств.

#### **Заключение**

Полисахариды хитин и хитозан – перспективные биоматериалы будущего. Хитин, благодаря своему строению и наличию реакционных групп, способен образовывать комплексы с органическими веществами: холестерином, белками, пептидами, а также обладает высокой сорбционной способностью в отношении тяжелых металлов, радионуклидов. Уникальная структура макромолекулы хитозана и наличие положительного заряда обуславливают проявление антиоксидантных, радиопротекторных, волокно- и пленкообразующих, иммуномодулирующих, противоопухолевых свойств, а также его низкую токсичность и способность к биодegradации. На сегодняшний день основным источником для получения хитина и хитозана являются ракообразные (крабовые, креветки, криль). Расширение областей применения данных биополимеров обуславливает поиск новых перспективных источников исследуемых полисахаридов. Кутикулу насекомых можно рассматривать как источник различных биологически активных веществ с возможностью выделения в отдельном виде или в виде комплексов. Зоокультура насекомых может стать новым доступным источником получения хитина, который станет отечественным возобновляемым ресурсом получения этого биополимера и его производных. Предложены технологии культивирования различных насекомых: тараканов «Мертвая голова» (*Blaberus craniifer*), мраморных (*Nauphoeta cinerea*), мадагаскарских шипящих (*Gromphadorhina portentosa*) и мадагаскарских тигровых (*Gromphadorhina grandidieri*) тараканов, гигантского мучного червя (*Zoophobas morio*) и бананового сверчка (*Gryllus assimilis*) для получения хитина и хитозана. И разработана технология получения хитина и хитозана из культивируемых насекомых химическим методом, включающая 4 стадии. В результате комплексной переработки хитинсодержащего сырья по данной технологии возможно получить меланин-протеиновый, хитин-меланиновый, хитозан-меланиновый комплексы и хитозан. Полученные биополимеры можно использовать в пищевой, косметической и фармацевтической промышленности, биотехнологии и сельском хозяйстве.

*Работа выполнена в рамках задания 2.09.01 «Разработать технологические основы получения хитозана из вторичного сырья зоо- и аквакультур» (ГПНИ «Природопользование и экология» подпрограмма 10.2. «Биоразнообразие, биоресурсы, экология»).*

#### **Список литературы**

1. Хитозан / под.ред. К.Г. Скрябина, С.Н. Михайлова, В.П. Варламова. – М.: Центр "Биоинженерия" РАН, 2013. – 593 с.
2. Хитин и хитозан: получение, свойства и применение / под ред. К.Г. Скрябина, Г.А. Вихоревой, В.П. Варламова. – М.: Наука, 2002. – 368 с.
3. Немцев, С.В. Комплексная технология хитина и хитозана из панциря ракообразных. / С.В. Немцев – М: Изд-во ВНИРО, 2006. – 134 с.
4. Tolaimate, A. On the influence of deacetylation process on the physicochemical characteristics of chitosan from squid chitin / A. Tolaimate, J. Desbrie' res, M. Rhazi, A. Alagui, M. Vincendon, P. Vottero // Polymer. – 2001. – Vol.41, N.7. – P. 2463–2469.
5. Zhang, M. Structure of insect chitin isolated from beetle larva cuticle and silkworm (*Bombyx mori*) pupa exuvia / M. Zhang, A. Haga., H. Sekiguchi., S. Hirano // Int. J. Biological Macromolecules. – 2000. – Vol.27, N.1. – P. 99–105.
6. Феофилова, Е.П. Клеточная стенка грибов./Е.П.Феофилова.– М.: Наука, 1983. – 248 с.
7. Majeti, N.V. A review of chitin and chitosan applications. / N.V Majeti., R.Kumar // Reactive & Functional Polymers.-2000. – Vol.46, N.1. – P.1–27.
8. Muzzarelli, R.A.A. The discovery of chitin // In:Chitosan in pharmacy and chemistry / Ed. R.A.A Muzzarelli, C. Muzzarelli. // Atec. –Italy: 2002. – P. 1–8.
9. Данилов, С.Н. Изучение хитина. I. Действие на хитин кислот и щелочей. / С.Н. Данилов, Е.А Плиско // Журнал общей химии. – 1954. – Т.24. – С. 1761-1769.
10. Данилов, С.Н. Изучение хитина. IV. Получение и свойства карбоксиметилхитина. / С.Н. Данилов, Е.А. Плиско // Журнал общей химии. – 1961. – Т.31. – С. 469-473.
11. Данилов, С.Н. Эфиры и реакционная способность целлюлозы и хитина. / С.Н. Данилов, Е.А. Плиско, Э.А. Пяйвинен // Известия АН СССР, Отделение химических наук. – 1961. – Т. 8. – С. 1500-1506.
12. Domard, A. Some physicochemical and structural basis for applicability of chitin and chitosan. / A. Domard // Proc. 2nd. Asia Pacific Symposium "Chitin and chitosan" / Ed.F. Stevens, M.S. Rao, S. Chandkrchang. Bangkok, Thailand: 1996. – P. 1–12.
13. Kumara, G. Enzymatic gelation of the natural polymer chitosan. / G. Kumara, J.F. Bristowa, P.J. Smith., G.F. Payne // Polymer. – 2000. – Vol.41, N.6. – P.2157–2168.
14. Chatelet, C. Influence of the degree of acetylation on some biological properties of chitosan films / C. Chatelet., O. Damour, A. Domard // Biomaterials. – 2001. –Vol.22, N.3. – P. 261–268.
15. Juang, R-S. A simplified equilibrium model for sorption of heavy metal ions from aqueous solutions on chitosan / R-S. Juang, H-J. Shao // Water Research. – 2002. – Vol.36, N.12. – P.2999–3008.
16. Majeti, N.V. A review of chitin and chitosan applications. / N.V. Majeti, R. Kumar // Reactive & Functional Polymers. –2000. – Vol.46, N.1. – P.1–27.
17. Gain, B. Natural products gain flavor. / B. Gain // Chemical week. – 1996. – Vol.158, N.48. – P.35–36.
18. Cho, Y-W. Water-soluble chitin as a wound healing accelerator / Y-N. Cho, S-H. Chung, G. Yoo, S-W. Ko // Biomaterials. – 1999. – Vol.20, N.22. – P. 2139–2145.
19. Jagur-Grodzinski, J. Biomedical application of functional polymers / J. Jagur-Grodzinski // Reactive & Functional Polymers. – 1999. – Vol.39, N.2. – P.99–138.
20. Khora, E. Implantable applications of chitin and chitosan / E. Khora, L. Lim // Biomaterials. – 2003. – Vol.24, N.13. – P.2339–2349.

21. Способ получения низкомолекулярного хитозана для противолучевых препаратов: пат. № 2188829 РФ, Россия / Варламов, В.П., Ильина А.В., Банникова Г.Е., Немцев С.В., Ильин Л.А., Чертков К.С., Андиранова И.Е., Платонов Ю.В., Скрыбин К.Г.; заявл. 10.09. 2002.
22. Illum, L. Chitosan and its use as a pharmaceutical excipient / L. Illum // *Pharmaceutical Research*. –1998. –Vol.15, N.9. –P. 1326–1331.
23. Rhoades, J. Antimicrobial actions of degraded and native chitosan against spoilage organisms in laboratory media and foods / J. Rhoades, S. Roller // *Applied and environmental microbiology*. –2000. – Vol.66, N.1. – P. 80–86.
24. Zechendorf, B. Sustainable development: how can biotechnology contribute? / B. Zechendorf // *Trends in Biotechnology*. – 1999. – Vol.17, N.6. – P.219–225.
25. Rhazi, M. Influence of the nature of the metal ions on the complexation with chitosan. Application to the treatment of liquid waste / M. Rhazi, J. Desbrieres, A. Tolaimate, M. Rinaudo, P. Vottero, A. Alagui, M. Meray // *European Polymer Journal*. – 2002. – Vol.38, N.8. – P.1523–1530.
26. Плиско, Е.А. Свойства хитина и его производных. / Е.А. Плиско, С.Р. Данилов // *Химия и обмен углеводов*. – М.: «Наука». – 1965. – С. 141–145.
27. Мезенова, О.Я. Технология пищевых продуктов сложного состава на основе биологических объектов водного промысла / О.Я. Мезенова, Л.С. Байдалинова. Калининград: Изд-во ФГОУ ВПО «КГТУ», 2007. – 108 с.
28. Немцев, С.В. Получение хитина и хитозана из медоносных пчел. / С.В. Немцев, О.Ю. Зуева, М.Р. Хисматуллин, А.И. Албулов, В.П. Варламов // *Прикладная биохимия и микробиология*. – 2004. – Т.40. №1, С 46–50.
29. Muzzarelli, R.A.A. Chitin. / R.A.A Muzzarelli. // Oxford: Pergamon Press, 1977. – 309 p.
30. Cauchie H-M. Chitin production by arthropods in the hydrosphere / H-M. Cauchie // *Hydrobiologia*. – 2002. – Vol. 470, N. 1/3. – P. 63–95.
31. Красавцев, В.Е. Техничко-экономические перспективы производства хитина и хитозана из антарктического криля / Красавцев В.Е. // *Современные перспективы в исследовании хитина и хитозана: материалы VII Международной конференции*, Москва: ВНИРО, 2003. – С. 7–9.
32. Vincent, J.V. Arthropod cuticle: a natural composite shell system / J.V. Vincent // *Composites: Part A*. – 2002. – Vol.33, N.10. – P.1311–1315.
33. Stankiewicz, B. Biodegradation of the chitin-protein complex in crustacean cuticle / B. Stankiewicz, M. Mastalerz, C. J. Hof, A. Bierstedt, M.B. Flannery, G. Dereke, V. Evershed // *Org. Geochem.* – 1998. – V.28, N. 1/2. – P. 67–76.
34. Мезенова, О.Я. Гаммарус балтийский – потенциальный источник получения хитина и хитозана / О.Я. Мезенова, А.С. Лысова, Е.В. Григорьева // *Современные перспективы в исследовании хитина и хитозана: материалы VII Международной конференции*. – М.: ВНИРО, 2003. – С. 32.–33.
35. Антарктический криль: Справочник / Под ред. В.М. Быковой. – М: ВНИРО, 2001. – 207 с.
36. Lipke, P. N. Cell Wall Architecture in Yeast: New Structure and New Challenges / P.N. Lipke, R. Ovalle // *Journal of Bacteriology*. – 1998. – Vol.180, N.15. – P.3735–3740.
37. Унрод, В.И. Хитин- и хитозансодержащие комплексы из мицелиальных грибов: получение, свойства, применение / В.И. Унрод, Т.В. Солодовник // *Биополимеры и клетка*. – 2001. – Т. 17, № 6. – С.526–533.
38. Способ получения глюкан-хитозанового комплекса: пат. № 2043995 Россия, заявл. 1995 / Тесленко, А.Я., Воеводина И.Н., Галкин А.В., Львова Е.Б., Никифорова Т.А., Николаев С.В., Михайлов Б.В., Козлов В.П. 1995.
39. Тыщенко, В.П. Физиология насекомых / В.П. Тыщенко. – М: Высш.шк, 1986. – 303 с.
40. Chapman, R.F. The insects. Structure and function / R.F. Chapman // London: The English universities press, 1969. – 600 p.



41. Giraud-Guille, M.-M. Chitin-protein supramolecular order in arthropod cuticles: analogies with liquid crystals / M.-M. Giraud-Guille // In: Chitin in life science: ed. Giraud-Guille M.-M. France, 1996. – P. 1–10.
42. Tellam, R.L. Chitin is only a minor component of the peritrophic matrix from larvae of *Lucilia cuprina* / R.L. Tellam, C. Eisemann // Insect biochemistry and molecular biology. – 2000. – Vol. 30, N.12. – P.1189–1201.
43. Шовен, Р. Физиология насекомых / Р. Шовен; перевод с франц. В.В. Хвостовой; под ред. Е.Н. Павловского. – М.: Ин. Лит-ры, 1953. – 494 с.
44. Харсун, А.И. Биохимия насекомых / А.И. Харсун. – Кишинев: Карта, 1976. – С.170–181.
45. Байдалининова, Л.С. Биотехнология морепродуктов./Л.С. Байдалининова, А.С. Лысова, О.Я. Мезенова, Н.Т.Сергеева, Т.Н.Слущкая, Г.Е.Степанцова. – М.: Мир, 2006.– 560 с.
46. Франченко, Е.С., Получение и использование хитина и хитозана из ракообразных / Е.С. Франченко, М.Ю. Тамова. – Краснодар: КубГТУ, 2005.– 156 с.
47. Younes, I. Chitin and chitosan preparation from shrimp shells using optimized enzymatic deproteinization // I. Younes, O. Ghorbel-Bellaaj, R. Nasri // Process Biochemistry. – Vol.7, N.12. – P. 2032. – 2039.
48. Holanda, D. Recovery of components from shrimps (*Xiphopenaeus kroyeri*) processing waste by enzymatic hydrolysis / D. Holanda, F.M. Netto // Journal of Food Science. 2006. – №71. – P. 298 – 303.
49. Takeshi, H. Enzymatic synthesis of an  $\alpha$  – chitin- like substance via lysozymemediate transglycosylation / H. Takeshi, S. Yoko // Carbohydr. Res, 2012. – №1.– P. 16–22.
50. Куприна, Е.Э. Особенности получения хитинсодержащих материалов электрохимическим способом / Е.Э. Куприна, К.Г. Тимофеева, С.В. Водолажская // Журнал прикладной химии. 2002.– №5. – С. 840–846.
51. Маслова, Г.В. Теоретические аспекты и технология получения хитина электрохимическим способом / Г.В. Маслова // Рыбпром.: 2010. – №2. – С. 17–22.
52. Ветошкин А.А. Получение биологически активных соединений из кутикулы мадагаскарского шипящего таракана (*Gromphadorina grandidieri*)/ А.А. Ветошкин, Т.В. Буткевич // Совр. экол. проблемы развития Полесского региона и сопредельных территорий: наука, образование, культура: матер. VII Международной научно-практической конференции / МГПУ им. И.П. Шамякина. – Мозырь, 2016. – С. 112–114.

#### TECHNOLOGICAL BACKGROUND FOR PRODUCING CHITINE AND CHITODAN FROM INSECTS

V.P. Kurchenko, S.V. Buga, N.V. Petrashkevich, T.V. Butkevich, A.A. Vetoshkin, E.L. Demchenkov<sup>1</sup>, A.D. Lodigin<sup>1</sup>, O.Yu. Zueva<sup>2</sup>, V.P. Varlamov<sup>2</sup>, O.I. Borodin<sup>3</sup>

*Belarusian State University, Minsk, Belarus*

<sup>1</sup>*North-Caucasus Federal University, Stavropol, Russia*

<sup>2</sup>*Institute of Bioengineering, The Federal Research Centre "Fundamentals of Biotechnology of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia*

<sup>3</sup>*SSPA "The Scientific And Practical Center For Bioresources", Minsk, Belarus*

*e-mail: kurchenko@tut.by*

Expanding the use of chitin and chitosan results in search for its new promising sources. Insect zooculture can be considered as available raw materials for this polysaccharides extraction. It is a renewable resource of chitin and its derivatives. Offered cultivation technologies work with various insects: *Blaberus craniifer*, *Nauphoeta cinerea*, *Gromphadorhina portentosa*, *Gromphadorhina grandidieri*, *Zoophobas morio*, *Gryllus assimilis* to produce chitin and chitosan. The technology that includes 4 stages was developed. It allows to obtain the melanin-protein, chitin-melanin, melanin-chitosan and chitosan complexes. These biopolymers can be used in food, cosmetic and pharmaceutical industries, biotechnology and agriculture.