



Комплексное использование отходов ракообразных для получения олигосахаридов и мономеров хитина и хитозана

Научная статья
УДК 639.28:577.15

<https://doi.org/10.36038/0131-6184-2025-5-123-130>
EDN: XBLTZJ

Новиков Виталий Юрьевич – кандидат химических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории химико-аналитических исследований центра экологического мониторинга, Мурманск, Россия

E-mail: nowit@pinro.vniro.ru

Рысакова Кира Сергеевна – кандидат биологических наук, заведующий лабораторией химико-аналитических исследований центра экологического мониторинга, Мурманск, Россия

E-mail: rysakova@pinro.vniro.ru

Мухортова Анна Михайловна – главный специалист лаборатории химико-аналитических исследований центра экологического мониторинга, Мурманск, Россия

E-mail: mukhort@pinro.vniro.ru

Мухин Вячеслав Анатольевич – доктор биологических наук; руководитель филиала, Мурманск, Россия

E-mail: vmukhin@pinro.vniro.ru

Полярный филиал ГНЦ РФ ФГБНУ «ВНИРО» («ПИНРО им. Н. М. Книповича»)

Адрес: Россия, 183038, г. Мурманск, ул. Академика Книповича, 6

Аннотация. Настоящее исследование посвящено изучению хитинолитических ферментов из гепатопанкреаса двух промысловых крабов в Северо-Западном регионе – камчатского краба (*Paralithodes camtschaticus*) и краба-стригуна опилио (*Chionoecetes opilio*). Результаты исследований демонстрируют присутствие эндо- и экзохитиназной активности в ферментных препаратах, позволяющих осуществлять различные виды биотрансформации хитина. Используя данные ферменты, можно проводить как деполимеризацию хитина до низкомолекулярного хитина и олигомеров хитина, так и получать мономер – N-ацетилглюкозамин. Авторами показано, что гепатопанкреас крабов может являться сырьем для получения хитинолитических ферментов, позволяющих проводить ферментативную трансформацию природного хитина в низкомолекулярные олигосахариды и N-ацетилглюкозамин.

Ключевые слова: хитинолитические ферменты, N-ацетилглюкозамин, хитин, хитозан, камчатский краб, краб-стригун опилио

Для цитирования: Новиков В.Ю., Рысакова К.С., Мухортובה А.М., Мухин В.А. Комплексное использование отходов ракообразных для получения олигосахаридов и мономеров хитина и хитозана // Рыбное хозяйство. 2025. № 5. С. 123-130. <https://doi.org/10.36038/0131-6184-2025-5-123-130>

COMPREHENSIVE USE OF CRUSTACEAN WASTE FOR THE PRODUCTION OF OLIGOSACCHARIDES AND MONOMERS OF CHITIN AND CHITOSAN

Vitaly Yu. Novikov – Candidate of Chemical Sciences, Leading Researcher at the Laboratory of Chemical and Analytical Research at the Center for Environmental Monitoring, Murmansk, Russia

Kira S. Rysakova – Candidate of Biological Sciences, Head of the Laboratory of Chemical and Analytical Research at the Center for Environmental Monitoring, Murmansk, Russia

Anna M. Mukhortova – Chief Specialist of the Laboratory of Chemical and Analytical Research of the Center for Environmental Monitoring, Murmansk, Russia

Vyacheslav A. Mukhin – Doctor of Biological Sciences; Head of the Branch, Murmansk, Russia

Polar Branch of the Federal State Budgetary Scientific Institution “VNIRO”
 (“PINRO named after N. M. Knipovich”)

Address: Russia, 183038, Murmansk, Akademika Knipovicha St., 6

Annotation. This study is devoted to the investigation of chitinolytic enzymes from the hepatopancreas of two commercially exploited crabs in the North-West region: the Red King crab (*Paralithodes camtschaticus*) and the snow crab (*Chionoecetes opilio*). The results of the study demonstrate the presence of endo- and exochitinase activity in enzyme preparations, allowing for various types of chitin biotransformation. Using these enzymes, it is possible to depolymerize chitin into low-molecular-weight chitin and chitin oligomers, as well as to obtain the monomer N-acetylglucosamine. The authors have shown that crab hepatopancreas can be used as a raw material for obtaining chitinolytic enzymes, which allow for the enzymatic transformation of natural chitin into low-molecular-weight oligosaccharides and N-acetylglucosamine.

Keywords: chitinolytic enzymes, N-acetylglucosamine, chitin, chitosan, Red King crab, Snow crab

For citation: Novikov V.Yu., Rysakova K.S., Mukhortova A.M., Mukhin V.A. (2025). Comprehensive use of crustacean waste for the production of oligosaccharides and monomers of chitin and chitosan // Fisheries. No. 5. Pp. 123-130. <https://doi.org/10.36038/0131-6184-2025-5-123-130>

Рисунки и таблица – авторские / The drawings and table were made by the author

ВВЕДЕНИЕ

Морские ракообразные представляют важный объект промысла во всем мире ради ценного пищевого продукта. В нашей стране такими промысловыми видами являются камчатский краб, краб-стригун опилио, различные виды креветок, например, северная креветка.

Продукция рыболовства и аквакультуры не полностью используется для потребления человеком. Фактически переработка рыбы, моллюсков и других морских животных приводит к образованию значительного количества отходов, которые, в зависимости от вида, могут достигать 50-70% от общего объема производства [1]. Отходы переработки крабов включают, в первую очередь, панцирь (карапакс и панцирь конечностей). Большую часть отходов составляют внутренности (гепатопанкреас, жабры, кишечник и т.д.). Переработка отходов рыболовства и аквакультуры не только снижает их серьезное воздействие на окружающую среду, но и повышает их экономическую ценность [2; 3]. В рамках концепции «голубой биоэкономики», в которой устойчивое использование океана и его ресурсов является приоритетом, крайне важно минимизировать и/или исключить образование отходов [4]. Благодаря обилию ценных биомолекул (ферментов, белков/пептидов, полиненасыщенных жирных кислот, каротиноидов, минералов и гидроксиапатита, а также – полисахаридов, включая хитин и гликозаминогликаны), отходы переработки морских гидробионтов представляют ценное сырье [1; 5; 6].

Обычно при переработке в морских условиях отходы сбрасывают в море. Несмотря на биологический характер отходов, обеспечивающий их полную утилизацию в природной среде, постоянно возникают вопросы со стороны экологов в отношении допустимости таких действий. При береговой переработке отходы крабов и креветок требуют необходимой утилизации.

В настоящее время основным рациональным направлением утилизации панцирей ракообразных считается получение хитина, хитозана и их производных. Переработка хитинсодержащих отходов осуществляется преимущественно химическими способами. Хитин извлекают щелочной депротеинизацией и кислотной деминерализацией. Хитин перерабатывают с получением хитозана щелочным деацетилированием хитина и D(+)-глюкозамина гидролизом в концентрированных кислотах. Но содержащие панцирь отходы ракообразных – не единственное потенциально

полезное сырье. Внутренности также могут использоваться для получения ферментных препаратов и хитина.

Главный источник ферментных препаратов – гепатопанкреас, содержащий различные биологически активные белки, в том числе ферменты с разной субстратной специфичностью [7]. Дополнительный источник хитина – жабры крабов [8].

В последние годы все больше внимания уделяется возможности замены химических способов ферментативными или биотехнологическими. Уникальность комплексной переработки отходов ракообразных заключается в том, что можно выделять хитин и перерабатывать его в хитозан, олигосахариды и мономеры, используя ферментные препараты, также полученные из отходов переработки крабов.

Протеолитические ферменты гепатопанкреаса камчатского краба подходят для практически полной депротеинизации отходов, содержащих панцирь, при получении хитина [9].

Одна из актуальных проблем переработки хитина в водорастворимые производные и мономеры, имеющие широкие возможности применения, может быть решена использованием различных хитинолитических ферментов, позволяющих деполимеризовать хитин до низкомолекулярного хитина, олигомеров и мономера хитина – N-ацетилглюкозамина.

В настоящее время, в соответствии с традиционной номенклатурой, ферментами, принимающими участие в деградации хитина и хитозана, считают следующие: эндо-хитиназа (КФ 3.2.1.14), N-ацетил-β-D-гексозаминидаза (КФ 3.2.1.52), хитозаназа (КФ 3.2.1.132) и экзо-хитиназа (КФ 3.2.1.165) [10].

Хитиназы – важнейшие ферменты для ракообразных. Многочисленные исследования показали, что хитиназа играет важную роль в физиологических процессах у ракообразных, таких как линька, переваривание хитина в пище и иммунная защита [11; 12]. Хитинолитические ферменты играют важную роль в защите ракообразных от патогенных грибов [13]. Некоторые данные говорят о том, что хитиназы могут участвовать в осморегуляции при изменении солености воды, или реагировать на это изменение [14].

В настоящее время опубликованы результаты изучения хитинолитических ферментов разных креветок и крабов. У ракообразных описано не менее четырех основных групп хитиназ [11; 15]. Хитиназы группы 1 способствуют перевариванию хитинсодержащих продуктов. Хитиназы группы 2 участвуют в де-

градации экзоскелета. Хитиназы группы 3 выполняют двойную роль: переваривание хитиновой пищи и защита от патогенов. Хитиназы группы 4 наименее изучены, но они, по-видимому, могут играть роль в иммунной защите от патогенной инфекции.

Опубликованные данные показывают, что крабы содержат также деацетилазы хитина, что открывает возможность получения из хитина крабов хитозана, хитоолигосахаридов (или олигосахаридов хитозана) и D (+)-глюкозамина. Деацетилазы ракообразных изучены меньше хитиназ, и в литературе встречаются редко. Есть несколько работ по деацетилазам двух крабов *red snow crab Chionoecetes japonicas* [16] и *Chinese mitten crab Eriocheir sinensis* [17].

Основное внимание в последние годы уделяется изучению структуры хитиназ, хитозаназ, деацетилаз, их специфической активности, а главное – выделению генов для последующего получения рекомбинантных ферментов с помощью различных бактерий или грибов. О промышленном применении упоминается как о потенциально возможном. При этом акцент делается на хитиназах, хитозаназ и деацетилазах бактериального или грибного происхождения.

Производство хитинолитических ферментов из отходов ракообразных или рыб пока отсутствует, хотя идея потенциального выделения готовых хитинолитических ферментов из внутренних органов этих гидробионтов и их практическое применение для получения хитоолигосахаридов присутствует в публикациях некоторых ученых [18–20]. Кроме того, сведения о свойствах хитиназ морских гидробионтов очень противоречивы. Общеизвестно, что активность хитиназ варьирует в зависимости от физиологического состояния организма. Из-за недостаточности научно-технической базы, отечественное производство ферментов отстает от мирового уровня. Данные, приводимые в статье, расширяют знания о хитинолитических ферментах промысловых крабов Северо-Западного региона России. Вышеперечисленные сведения свидетельствуют в пользу научной новизны настоящих исследований.

Цель настоящей работы состояла в выделении и изучении хитинолитических ферментов из гепатопанкреаса двух промысловых в Северо-Западном регионе крабов – камчатского краба (*Paralithodes camtschaticus*) и краба-стригуна опилио (*Chionoecetes opilio*).

Ранние исследования показали существование хитинолитической активности в гепатопанкреасе камчатского краба [21]. В настоящее время мы установили, что в ге-

патопанкреасе обоих крабов содержатся эндо- и экзохитинолитические ферменты. В перспективе мы рассматриваем возможность разработки самодостаточной технологии утилизации отходов промпереработки ракообразных с использованием ферментов этих ракообразных как для выделения хитина, так и для его биотрансформации.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве объектов исследования использовали ферментные препараты (ФП), полученные из гепатопанкреаса двух крабов, обитающих в Баренцевом и Карском морях: камчатского краба (*Paralithodes camtschaticus*) и краба-стригуна опилио (*Chionoecetes opilio*).

Фракционирование ФП ацетоном проводили дробным добавлением охлажденного до 2–5 °С ацетона к 10%-му раствору ферментного препарата с температурой не выше 5 °С при объемных соотношениях раствора ФП и ацетона: 1:0,5, 1:1,0, 1:1,2, 1:1,4, 1:1,6, 1:1,8, 1:2,0, 1:2,2 и 1:2,4.

Колоночную гельхроматографию ФП и их фракций осуществляли с использованием оборудования «Pharmacia Biotech» (Швеция) на колонке, заполненной гелем Sephadex G-100 SF («Pharmacia Biotech», Швеция). Элюент – физраствор 0,15 моль/дм³ NaCl «х.ч.». В качестве стандартов белков использовали Gel Filtration Standard («Bio-Rad Laboratories, Inc.», США).

Планарный электрофорез белков в денатурирующих условиях с додецилсульфатом натрия (ДДС-Na₂) проводили по методу Лэммли на оборудовании Multiphor II («Pharmacia Biotech», Швеция) [22]. Для электрофореза низкомолекулярных белков готовили гомогенный 15%-ный полиакриламидный гель (ПААГ). Окрашивание ПААГ проводили кумасси бриллиантовым голубым G-250 [22]. В качестве стандартов белков для денатурирующего электрофореза в ПААГ (СДС ПААГ) использовали наборы белков Low Molecular Weight (LWM) Calibration Kit for SDS и High Molecular Weight (HML) Calibration Kit for SDS («Cytiva», США).

Экзохитиназную активность (A_{exo}) определяли по реакции N-ацетилглюкозамина (GlcNAc) с 4-диметиламинобензальдегидом с образованием окрашенного комплекса. [23]. 1 единица экзохитиназной активности соответствовала количеству мкмоль GlcNAc, образующегося при действии 1 г фермента на коллоидный хитин за 1 минуту.

Эндохитиназную активность (A_{endo}) измеряли в процентах уменьшения оптической плотности при 700 нм суспензии коллоидного хитина после инкубации в течение 30 мин при 37 °С [24].

Протеолитическую активность (A_{prot}) определяли спектрофотометрически по поглощению растворимых пептидов на 280 нм по модифицированному методу Ансона [25].

Математическую и статистическую обработку результатов проводили традиционными методами в среде Microsoft Excel LTSC Pro 2021. Электрофореграммы обрабатывали в программе ImageJ Ver. 1.54g (Wayne Rasband and contributors National Institutes of Health, USA). Хроматограммы и оптические спектры поглощения обрабатывали в программе MagicPlot Ver. 3.0.1 (Magicplot Systems, LLC).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

1. Колоночная гельхроматография ферментных препаратов

Колоночная хроматография ФП из гепатопанкреаса крабов показала присутствие в составе ФП высоко-, средне- и низкомолекулярных фракций белков (рис. 1). Оценка молекулярных масс фракций ФП была проведена по стандартам молекулярных масс (табл. 1).

2. Результаты фракционирования ацетоном

При фракционировании ФП добавлением ацетона было получено распределение белков по фракциям (рис. 2).

В каждой ацетоновой фракции были определены эндо-, экзохитиноподобная и протеолитическая активность. Результаты приведены на рисунках 3 и 4.

Для сравнения активности разных ферментов для каждого краба вышеприведенные данные пересчитаны в относительные единицы (%) и сведены в два следующих рисунка.

3. Электрофорез фракций после фракционирования ацетоном

Все ацетоновые фракции были проанализированы с помощью ПААГ электрофореза. Электрофореграммы представлены на рисунках 5 и 6.

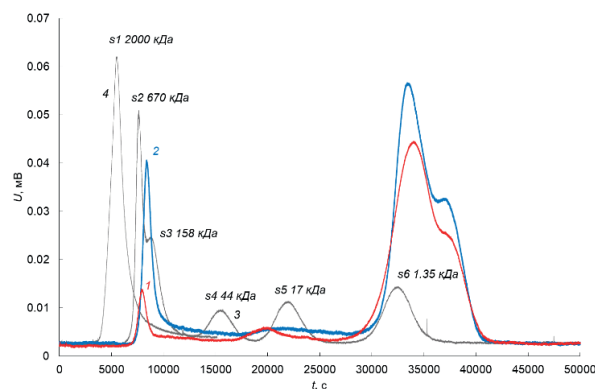


Рисунок 1. Хроматограммы ФП гепатопанкреаса камчатского краба (1) и краба-стригуна опилио (2). Хроматограмма стандартов белков – 3, голубого декстрана – 4

Figure 1. Chromatograms of EP* of hepatopancreas of Red King crab (1) and snow crab (2). Chromatogram of protein standards – 3, blue dextran – 4. *EP – enzymatic preparation

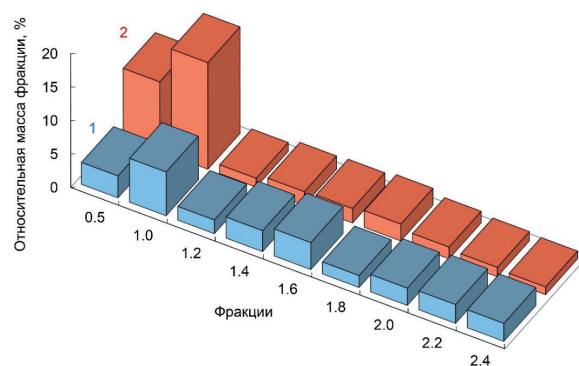


Рисунок 2. Распределение массы белков по фракциям при дробном осаждении ацетоном с шагом 0,2

Figure 2. Distribution of protein mass by fractions during fractional precipitation with acetone in 0.2 steps

Таблица 1. Фракции ферментных препаратов, полученные при гельхроматографии на Sephadex G100 SF («Pharmacia Biotech», Швеция) / **Table 1.** Fractions of enzyme preparations EP obtained by gel chromatography on Sephadex G100 SF (Pharmacia Biotech, Sweden)

ФП гепатопанкреаса камчатского краба			ФП гепатопанкреаса камчатского краба		
Время выхода, с	ММ**, кДа	Описание	Время выхода, с	ММ, кДа	Описание
8420	323	Высокомолекулярная фракция	8424	292	Высокомолекулярная фракция
10260	193				
19907	10-53	Средняя фракция	22000	7-38	Средняя фракция
33970	0.95	Короткие пептиды	33529	1.0	Короткие пептиды
37990	0.39	Аминокислоты	37073	0.47	Аминокислоты

Примечание: **ММ – молекулярная масса

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

ФП из гепатопанкреаса камчатского краба ММ высокомолекулярной фракции была выше, чем у ФП из гепатопанкреаса краба-стригуна опилю (табл. 1). Этот факт объясняет наблюдавшееся отличие поведения этих ФП при ультрафильтрации на мембранах с пределом задержания 100 и 300 кДа [26].

В высокомолекулярной фракции от 100 до 300 кДа при электрофорезе мы не обнаружили заметных белковых фракций с хитинолитической активностью. В ранних исследованиях мы наблюдали хитинолитическую активность во фракции с ММ около 109 кДа [21]. По-видимо-

му, она соответствует ферментному комплексу, который при проведении СДС ПААГ электрофореза диссоциирует на фрагменты с низкой ММ.

В области средних ММ мы регистрировали наличие высокой хитинолитической и протеолитической активности.

Экзо- и эндохитинолитическая активность оказалась сконцентрирована во фракции 1:1,2 в ФП, полученных из обоих крабов. Во фракциях 1:1,0 и 1:1,6 хитинолитическая активность резко уменьшается.

Оценка ММ хитинолитических ФП, проведенная сопоставлением распределения ферментативной активности и положения окрашенных фракций на электрофореграммах, дала следующие результаты: хитинолитическая активность сосредоточена во фракциях с ММ = $30,1 \pm 0,5$ кДа для камчатского краба и ММ = $23,9 \pm 0,7$ кДа для краба-стригуна опилю. Эти данные не противоречат известным исследованиям, в которых были получены ММ хитиназ различных ракообразных: от 17 до 70 кДа [18].

Протеолитическая активность в ФП из гепатопанкреаса камчатского краба соответствовала ММ = 18,6-21,4 кДа, а для ФП из гепатопанкреаса краба-стригуна опилю – ММ = 32,3-36,3 кДа, что также совпадает с известными данными для различных морских ракообразных (ММ лежит в широком диапазоне от 17 до 40 кДа) [27; 28].

Экспериментально мы показали, что за хитинолитическую и протеолитическую активность отвечают белки с разной молекулярной массой.

Измерение экзо- и эндохитинолитической активности ферментов из гепатопанкреаса камчатского краба и краба-стригуна опилю показало присутствие обеих активностей. Это говорит о том, что в ферментных препаратах содержались эндохитиназа, расщепляющая хитин на низкомолекулярные олигомеры и экзо-хитиназа, производящая N-ацетилглюкозамин. Таким образом, можно рассчитывать на выделение из этих ферментных препаратов отдельных ферментов, позволяющих осуществлять различные виды биотрансформации хитина.

То есть, используя эти ферменты, мы можем проводить как деполимеризацию хитина до низкомолекулярного хитина и олигомеров хитина, так и получать мономер – N-ацетилглюкозамин.

То есть, можно утверждать, что в гепатопанкреасе присутствуют разные ферменты: хитинолитические (экзо- и эндо-) и протеолитические. Это отвергает существовавшее мнение, что у ракообразных существуют ферменты,

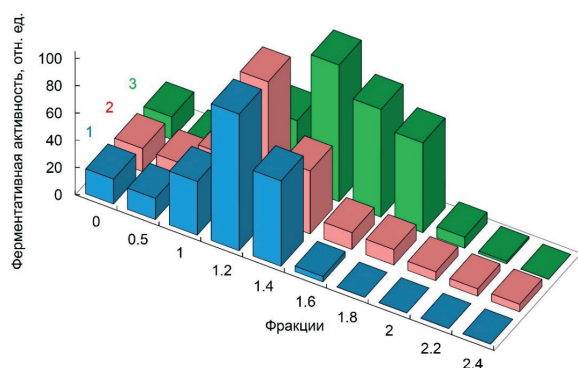


Рисунок 3. Распределение экзо- (1), эндохитинолитической (2) и протеолитической (3) активностей по фракциям ФП из камчатского краба

Figure 3. Distribution of exo- (1), endochitinolytic (2), and proteolytic (3) activities by EP from Red King crab

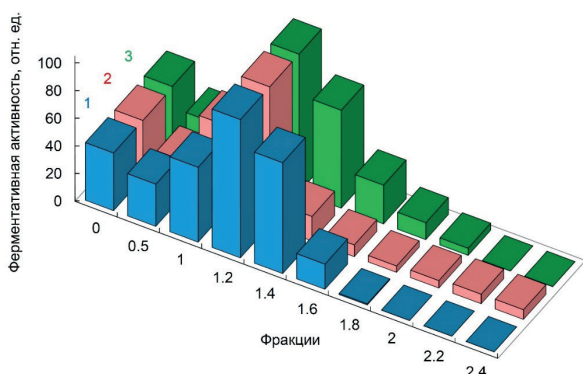


Рисунок 4. Распределение экзо- (1), эндохитинолитической (2) и протеолитической (3) активностей по фракциям ФП из краба-стригуна опилю

Figure 4. Distribution of exo- (1), endochitinolytic (2), and proteolytic (3) activities by EP fractions from the snow crab

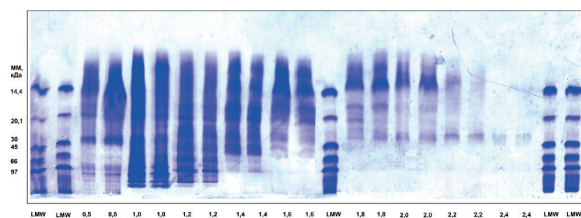


Рисунок 5. Электрофореграммы фракций ФП из камчатского краба

Figure 5. Electrophoregrams of EP fractions from Red King crab

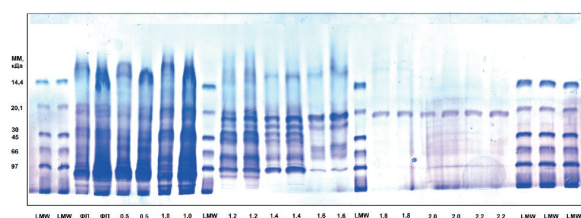


Рисунок 6. Электрофореграммы фракций ФП из краба-стригуна опилио

Figure 6. Electrophoregrams of EP fractions from the snow crab

проявляющие активность сразу к нескольким субстратам.

Таким образом, можно считать, что гепатопанкреас крабов может являться сырьем для получения хитинолитических ферментов, позволяющих проводить ферментативную трансформацию природного хитина в низкомолекулярные олигосахариды и N-ацетилглюкозамин. Вопрос о существовании деацетилаз, способных превращать ацетилированные производные хитина в деацетилированные, пока остается открытым и ждет своего решения.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов. Вклад в работу авторов: **В.Ю. Новиков** – идея статьи, подготовка обзора литературы, планирование эксперимента, сбор и анализ данных, обсуждение полученных результатов, подготовка и корректировка текста статьи и ее окончательная проверка; **К.С. Рысакова** – сбор, систематизация и анализ экспериментальных данных, подготовка статьи, корректировка текста; **А.М. Мухортובה** – сбор и анализ данных, корректировка и проверка текста; **В.А. Мухин** – подготовка обзора литературы, оценка актуальности и научной значимости, обсуждение полученных результатов, корректировка текста.

The authors advertise the rejection of the conflict of interests. The tab in the authors' work: **V.Yu. Novikov** – article

concept, literature review preparation, experiment planning, data collection and analysis, discussion of results, article drafting and editing, and final review; **K.S. Rysakova** – collection, systematization, and analysis of experimental data, preparation of the article, editing of the text; **A.M. Mukhortova** – collection and analysis of data, editing and proofreading of the text; **V.A. Mukhin** – preparation of the literature review, assessment of relevance and scientific significance, discussion of the results obtained, editing of the text.

ЛИТЕРАТУРА И ИСТОЧНИКИ/ REFERENCES AND SOURCES

1. Khiari Z. (2022). Sustainable upcycling of fisheries and aquaculture wastes using fish-derived cold-adapted proteases // *Front. Nutr.* Vol. 9. 875697. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.875697>
2. Khiari Z. (2024). Enzymes from fishery and aquaculture waste: Research trends in the era of artificial intelligence and circular bio-economy // *Mar. Drugs*. Vol. 22, No. 9. 411. <https://doi.org/10.3390/md22090411>
3. Valimaa A.L., Makinen S. et al. (2019). Fish and fish side streams are valuable sources of high-value components // *Food Qual. Saf.* Vol. 3, No. 4. Pp. 209-226. <https://doi.org/10.1093/fqsafe/fyz024>
4. Verissimo N. V., Mussagy C. U. et al. (2021). From green to blue economy: Marine biorefineries for a sustainable ocean-based economy // *Green Chem.* Vol. 23. Pp. 9377-9400. <https://doi.org/10.1039/D1GC03191K>
5. Khiari Z., Rico D., Martin-Diana A.B., Barry-Ryan C. (2014). Structure elucidation of ACE-inhibitory and antithrombotic peptides isolated from mackerel skin gelatine hydrolysates // *J. Sci. Food Agric.* Vol. 94, No. 8. Pp. 1663-1671. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6476>
6. Singh S., Negi T. et al. (2022). Sustainable processes for treatment and management of seafood solid waste // *Sci. Total Environ.* Vol. 817. 152951. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.152951>
7. Ponomareva T., Timchenko M. et al. (2021). Prospects of red king crab hepatopancreas processing: fundamental and applied biochemistry // *Recycling*. ol. 6. No. 1. 3. <https://doi.org/10.3390/recycling6010003>.
8. Novikov V.Yu., Rysakova K.S. et al. (2023). King crab gills as a new source of chitin/chitosan and protein hydrolysates // *Int. J. Biol. Macromol.* Vol. 232. 123346. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.123346>
9. Mukhin V.A., Novikov V.Yu. (2001). Enzymatic hydrolysis of proteins from Crustaceans of the Barents Sea // *Appl. Biochem. Microbiol.* Vol. 37, No. 5. Pp. 538-542. <https://doi.org/10.1023/A:1010218712622>
10. Мелентьев А.И., Актуганов Г.Э. Ферменты деградации хитина и хитозана // *Хитозан / Под ред. К. Г. Скрябина, С. Н. Михайлова, В. П. Варламова.* – М.: Центр «Биоинженерия» РАН. 2013. С. 71-114
10. Melentyev A.I., Aktuganov G.E. (2013). Enzymes of chitin and chitosan degradation // *Chitosan / Edited by K. G. Scriabin, S. N. Mikhailov, V. P. Varlamov.*

- Moscow: Center "Bioengineering" RAS. Pp. 71-114. (In Russ)
11. Salma U., Uddowla Md. H. et al. (2012). Five hepatopancreatic and one epidermal chitinases from a pandalid shrimp (*Pandalopsis japonica*): Cloning and effects of eyestalk ablation on gene expression // *Comp. Biochem. Physiol. B Biochem. Mol. Biol.* Vol. 161, No. 3. Pp. 197-207. <https://doi.org/10.1016/j.cbpb.2011.11.005>.
 12. Ye C., Lu Z. et al. (2019). Cloning and expression analysis of chitinase-3B from giant freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) during molting cycle // *J. Fish. China*. Vol. 43, No. 4. Pp. 751-762. <https://doi.org/10.11964/jfc.20180511272>.
 13. Liu M., Chen C. et al. (2021). Chitinase involved in immune regulation by mediated the toll pathway of crustacea *Procambarus clarkii* // *Fish Shellfish Immunol.* Vol. 110. Pp. 67-74. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2020.12.015>.
 14. Lv J., Liu P. et al. (2013). Transcriptome analysis of *Portunus trituberculatus* in response to salinity stress provides insights into the molecular basis of osmoregulation // *PLoS ONE*. Vol. 8, No. 12. e82155. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0082155>.
 15. Zhou K., Zhou F. et al. (2017). Characterization and expression analysis of a chitinase gene (PmChi-4) from black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) under pathogen infection and ambient ammonia nitrogen stress // *Fish Shellfish Immunol.* Vol. 62. Pp. 31-40. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2017.01.012>.
 16. Fujimori K., Fukushima H., Matsumiya M. (2018). Molecular cloning and phylogenetic analysis of a chitin deacetylase isolated from the epidermis of the red snow crab *Chionoecetes japonicus* // *Advances in Bioscience and Biotechnology*. Vol. 9, No. 1. Pp. 52-62. <https://doi.org/10.4236/abb.2018.91005>.
 17. Li X., Diao P. et al. (2021). Molecular characterization and function of chitin deacetylase-like from the Chinese mitten crab, *Eriocheir sinensis* // *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*. Vol. 256. P. 110612. <https://doi.org/10.1016/j.cbpb.2021.110612>.
 18. Proespraiwong P., Tassanakajon A., Rimphanitchayakit V. (2010). Chitinases from the black tiger shrimp *Penaeus monodon*: Phylogenetics, expression and activities // *Comp. Biochem. Physiol. B Biochem. Mol. Biol.* Vol. 156, No. 2. Pp. 86-96. <https://doi.org/10.1016/j.cbpb.2010.02.007>.
 19. Dahiya N., Tewari R., Hoondal G. S. (2006). Biotechnological aspects of chitinolytic enzymes: a review // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* Vol. 71, No. 6. Pp. 773-782. <https://doi.org/10.1007/s00253-005-0183-7>.
 20. Affes S., Aranaz I. et al. (2019). Preparation of a crude chitosanase from blue crab viscera as well as its application in the production of biologically active chito-oligosaccharides from shrimp shells chitosan // *Int. J. Biol. Macromol.* Vol. 139. Pp. 558-569. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.07.116>.
 21. Рысакова К. С., Новиков В. Ю., Мухин В. А., Серафимчик Е. М. Гликолитическая активность ферментного препарата из гепатопанкреаса камчатского краба *Paralithodes camtschaticus* // *Прикл. биохим. микробиол.* 2008. Т. 44, № 3. С. 281-286. <https://doi.org/10.1134/S0003683808030046>.
 21. Rysakova K. S., Novikov V. Yu., Mukhin V. A., Serafimchik E. M. (2008). Glycolytic activity of an enzyme preparation from the hepatopancreas of the Kamchatka crab *Paralithodes camtschaticus*. *biochim. microbiol.* vol. 44, No. 3. Pp. 281-286. <https://doi.org/10.1134/S0003683808030046>. (In Russ)
 22. Westermeier R. (2016). Electrophoresis in Practice. A Guide to Methods and Applications of DNA and Protein Separations / Fifth Edition. – Weinheim, Germany: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. 471 p.
 23. Reissig J. L., Strominger J. L., Leloir L. F. (1955). A modified colorimetric method for the estimation of N-acetyl amino sugars // *J. Biol. Chem.* Vol. 217, No. 2. Pp. 959-966. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)65959-9](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)65959-9).
 24. Declaire M., De Cat W. et al. (1996). Determination of endo- and exochitinase activities of *Serratia marcescens* in relation to the culture media composition and comparison of their antifungal properties // *Chitin Enzymology*. Vol. 2 / Ed. by A. A. Muzzarelli. Grottammare, Italy: Atec Edizioni. Pp. 165-169.
 25. Лисицын А.Б., Иванкин А.Н., Неклюдов А.Д. Методы практической биотехнологии. Анализ компонентов и микропримесей в мясных и других пищевых продуктах. – М.: ВНИИМП. 2001. 408 с.
 25. Lisitsyn A.B., Ivankin A.N., Neklyudov A.D. (2001). Methods of practical biotechnology. Analysis of components and micro-admixtures in meat and other food products. Moscow: VNIIMP. 408 p. (In Russ)
 26. Новиков В.Ю., Рысакова К.С., Шумская Н.В., Мухортова А.М. (2024). Экстракция и фракционирование ферментов с разной субстратной специфичностью из гепатопанкреаса *Paralithodes camtschaticus* // Наука и образование. Материалы Всерос. науч.-практ. конф., Мурманск, 1-9 декабря 2022 г. В 2 ч. Ч. 2. – Мурманск: Изд-во МАУ. С. 260-268. <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=62683084>.
 26. Novikov V.Yu., Rysakova K.S., Shumskaya N. V., Mukhortova A.M. (2024). Extraction and fractionation of enzymes with different substrate specificity from the hepatopancreas *Paralithodes camtschaticus* // Science and Education. Proceedings of the All-Russian Scientific and Practical Conference, Murmansk, December 1-9. 2022 At 2 p.m. Part 2. – Murmansk: Publishing House of MAU. Pp. 260-268. <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=62683084>. (In Russ)
 27. Klimova O. A., Borukhov S. I. et al. The isolation and properties of collagenolytic proteases from crab hepatopancreas // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1990. Vol. 166, No. 3. Pp. 1411-1420. [https://doi.org/10.1016/0006-291X\(90\)91024-M](https://doi.org/10.1016/0006-291X(90)91024-M). (In Russ)
 28. Sakharov I. Yu., Litvin F. E., Artyukov A. A. (1994). Purification and characterization of two serine collagenolytic proteases from crab *Paralithodes camtschatica* // *Comp. Biochem. Physiol. B: Biochem. Mol. Biol.* Vol. 108, No. 4. Pp. 561-568. [https://doi.org/10.1016/0305-0491\(94\)90110-4](https://doi.org/10.1016/0305-0491(94)90110-4).

Материал поступил в редакцию / Received 01.09.2025
 Принят к публикации / Accepted for publication 25.09.2025