

综 述

甲壳素和壳聚糖在生物矿化和模拟矿化过程中的调控作用研究进展

黄亚平¹, 赵莹², 过梅丽¹, 徐端夫², 王笃金^{2*}

(1 北京航空航天大学材料科学与工程学院, 北京 100083;

2 中国科学院化学研究所工程塑料重点实验室, 北京 100080)

摘要:生物矿化材料一般由95%的无机物和5%的有机质组成,具有普通无机材料无可比拟的力学性能、光泽及特殊功能,这些特性源于细胞的调控和有生物活性的有机高分子对无机物结晶和形貌的精确控制。本文综述了甲壳素及其衍生物壳聚糖在生物矿化领域(生物体内和体外模拟)的作用研究进展。

关键词:甲壳素;壳聚糖;碳酸钙;生物矿化

生物矿化是指在生物体内形成矿物质(生物矿物)的过程^[1]。生物矿化作用是自然界广泛发生的一种作用,它与地质上的矿化作用明显不同的是无机相在晶体成核、晶体相以及晶体生长动力学上严格受生物分泌的有机质控制^[2~5]。生物矿化往往能形成排列有序、结构和力学性能非常优异的天然有机-无机复合材料。这些材料具有各种各样的形貌,同时也具有各种特殊的生物功能。尽管到目前为止这种高度有序的纳米复合材料的形成机理及其生物控制过程还是一个谜,但是生物矿化的原理为制造性能优异的复合材料提供了新的思路和途径^[6~8]。

多糖甲壳素(chitin)作为自然界中无脊椎动物生物矿物材料中的一种主要的有机物组分,在生物矿化的不同阶段具有很重要的作用。因此,研究甲壳素及其衍生物壳聚糖(chitosan)在生物矿化中的作用并进而在实验室模拟这一过程,可以为揭示生物矿化机理及制备高性能有机-无机杂化材料提供有益的启示。

1 体内研究

甲壳素是一种线性的多糖,也是许多无脊椎动物矿化组织中的一种重要的有机组分^[5,9]。甲壳类动物的外角皮和内表皮主要由甲壳素-蛋白质的微纤维以及碳酸钙矿物组成^[10~13],其中甲壳素呈现 α -构象^[13,14];而软体类动物中的珍珠层则是由甲壳素-蛋白质组成的三明治多孔结构^[15],并与碳酸钙形成层状结构^[8,16],其中甲壳素呈现 β -构象^[17]。有关生物矿物中甲壳素与碳酸钙相互作用的报道很多,这里仅举两个例子说明。

Mikkelsen等^[18]研究了红色小虾壳上的白点,将小虾壳中分离出来的原料干燥后进行红外光谱、拉曼光谱、XRD、电子显微镜和能谱分析。结果表明这些白点是由方解石和球方解石的碳酸钙晶体混合物和无定形 α -甲壳素组成的。尽管碳酸钙不同晶型的比例会有所变化,但是 α -甲壳素和碳酸钙在白点中的相对质量浓度是恒定的(0.34:0.66),这说明 α -甲壳素在白点的形成过程中起着重要的作用。Careche等^[19]报道了小虾壳上白点的原位拉曼光谱结果,发现在形成沉淀中没有蛋白质和/或甲壳素的构象变化。

基金项目:国家自然科学基金(20471064);

作者简介:黄亚平(1982—),男,河南南阳人,北京航空航天大学材料科学与工程学院硕士研究生,研究方向为生物矿化。

* 通讯联系人;E-mail: djwang@iccas.ac.cn.

以上研究表明甲壳素直接或者间接地作为成核模板,可得到高性能多功能的生物矿物材料。

2 体外研究

甲壳素/壳聚糖-碳酸钙复合物作为生物材料,以其优良的性能受到了化学家和材料学家的重视,从而以甲壳素/壳聚糖等为有机模板,模拟生物矿化过程的研究也越来越多。

2.1 不溶性甲壳素/壳聚糖基质作为矿化的模板

甲壳素/壳聚糖作为模板基质是通过其主链结构和官能团来影响碳酸钙的晶型和形貌的。

Levi 等^[15]研究发现乌贼壳中甲壳素以纤维状排布,但是在这些纤维上有一些排列规则的小孔,丝状蛋白以一层很薄的薄膜铺在甲壳素表面(见图 1),对其空间结构的模拟研究表明,这种微环境对于碳酸钙随后的结晶以及生长有着重要影响。

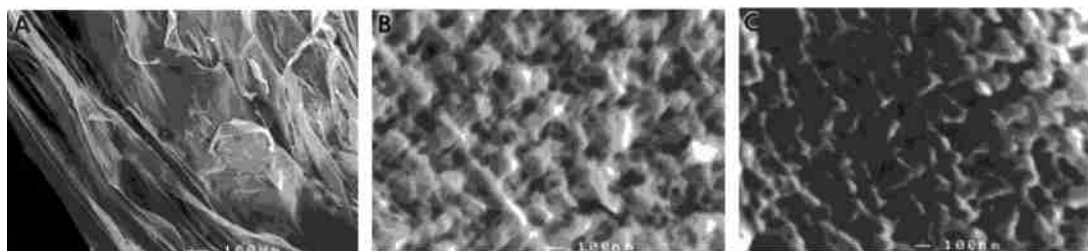


图 1 在临界条件干燥后的甲壳素(A, B)和甲壳素/丝状蛋白(C)

(A) 显示了层状结构的甲壳素表面和侧面;

(B, C) 甲壳素表面沉积丝状蛋白之前(B)和之后(C)的高倍照片。^[15]

Figure 1 SEM micrographs of chitin (A, B) and of chitin/silk assembly (C) after critical-point drying

(A) View of the chitin surface and edge showing the lamellar structure;

(B, C) High magnification of the chitin surface before (B) and after(C) deposition of silk.^[15]

Falini 等^[20]通过双扩散的方法在 β -甲壳素的网络中沉淀得到了碳酸钙的三种主要晶型:文石、球方解石、方解石。它们在网络中的位置是与晶型有关的,而这取决于钙离子在甲壳素网络内部的局部位置的过饱和度。碳酸钙-壳聚糖复合材料也可以通过将壳聚糖浸在饱和的碳酸钙溶液中得到沉淀在壳聚糖上的碳酸钙结晶^[21,22]。另外,还可以通过碱性壳聚糖和碳酸钙的混合溶液进行反应制备球状和薄片状的碳酸钙-壳聚糖复合材料^[23,24]。

Neira-Carrillo 等^[25]利用壳聚糖薄片接枝聚丙烯酸和聚丙烯酰胺作为基底来控制钙盐的结晶,并在聚丙烯酸接枝的壳聚糖基体上,得到了小球状或圆环状的碳酸钙。这种特殊的碳酸钙形貌取决于壳聚糖样品的分子量以及接枝反应过程。

王静梅等^[26]制备了壳聚糖(CS)/卵磷脂(PC)/胆固醇(CH)/氯化钙薄膜,然后在碳酸钠溶液中浸泡三天,膜内逐渐形成大量白色结晶物(球方解石),得到 CS-PC-CH-CaCO₃ 复合膜。研究表明:球方解石的形成是由于 PC 和 CH 的加入使得 CS 的分子间相互作用和聚集形式发生了变化,因此可以通过磷脂和胆固醇对壳聚糖的行为进行修饰,即生物矿化的模版可以进行设计,进而制备具有更高能量的晶体表面。

Manoli 等^[27]则研究了甲壳素作为支撑物在恒定的过饱和度下的碳酸钙的结晶和生长的情况,并计算了其相应的热力学参数,包括碳酸钙晶体的初始生长速率与初始钙离子浓度以及过饱和度的关系(见图 2)。

2.2 甲壳素/壳聚糖凝胶中的矿化研究

甲壳素/壳聚糖凝胶提供了生物矿化反应的新的微环境,从而可以进一步阐述矿化机理。

Hirano 等在甲壳素和壳聚糖凝胶中利用氯化钙来生成碳酸钙^[28]。氯化钙复合物凝胶的制备采用两种方法:一是在甲壳素和壳聚糖的小颗粒上诱陷氯化钙;二是将凝胶颗粒状的或者长方形薄片状的甲壳素和壳聚糖浸没在氯化钙溶液中,这种凝胶状的复合物在室温下浸没入 1M 碳酸钾溶液中从而产生白色的方解石复合物。他们^[29]还将壳聚糖-藻酸钙的水凝胶放入透析膜中,然后浸入 0.1M 的碳酸钠溶液(pH

=11)中,从而形成壳聚糖-碳酸钙白色沉淀,作者还进一步研究了这种壳聚糖-碳酸钙的复合物的稳定性,发现离子的扩散速度以及沉淀物的固定等因素决定了结晶物的最终性质(见图 3)。

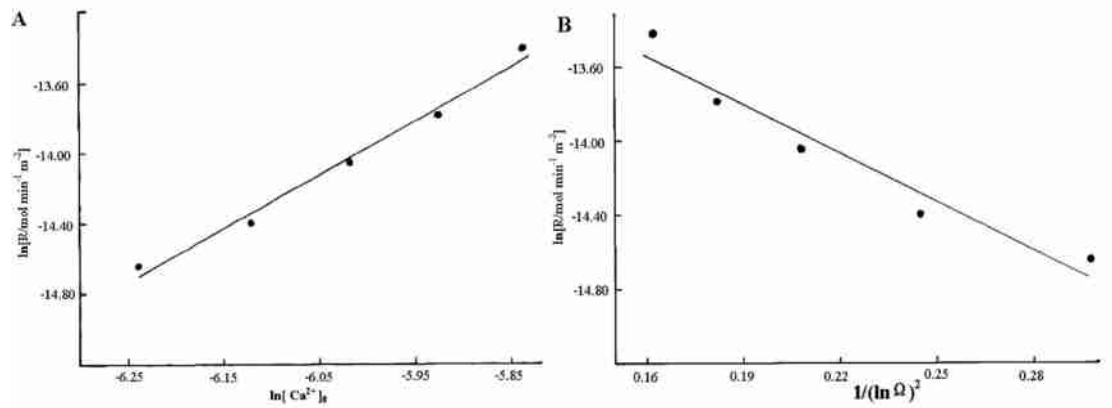


图 2 在甲壳素基底上方解石的初始形成速度与溶液中初始钙离子浓度(A)和与在经典成核理论下溶液过饱和度(B)的关系^[27]

Figure 2 Initial rate of calcite formation on chitin substrate as a function of the initial calcium ion concentration in solution (A), and as a function of the solution supersaturation according to the classical nucleation theory (B).^[27]

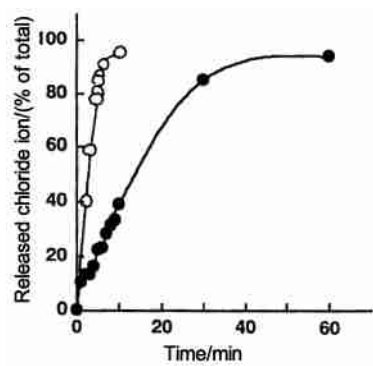


图 3 从氯化钙-壳聚糖复合物上一个颗粒(直径约 50 μ m)中氯离子向蒸馏水和 1M 碳酸钾溶液中释放的时间效应。每一个值是三次实验的平均值。^[28]

Figure 3 Time course for the liberation of chloride ions into distilled water (○) and into aqueous 1M K_2CO_3 solution (●) from one granule (diameter ca. $50\mu\text{m}$) of $CaCl_2$ -chitosan composite materials. Each value is the average of three experiments.^[28]

2.3 不溶性甲壳素/壳聚糖基质与可溶性添加剂协同作用对矿化的影响

不溶性的甲壳素/壳聚糖基质和可溶性的添加剂都会对碳酸钙晶体的晶型和形貌产生影响^[30]。Falini 等^[31]从一些软体动物贝壳文石层提取的可溶性蛋白质大分子在体外实验中将之吸附在 β -甲壳素和蚕丝蛋白上可诱导的文石生成;而在相同的条件下,从方解石层中提取的蛋白质大分子则诱导方解石的形成。这些结果表明这些可溶性蛋白质大分子对于体内的文石和方解石的形成起决定作用。Kato 等通过不溶于水的甲壳素/壳聚糖和水溶性的高分子协同作用得到了一种新的制备高分子/碳酸钙复合材料的方法(见图 4)。这些薄膜的碳酸钙晶体是在酸性条件下的壳聚糖薄膜^[32]、甲壳素薄膜^[33]和甲壳素纤维^[34]上形成的。通过循环地进行壳聚糖旋转涂膜和在聚丙烯酸存在的条件下薄膜结晶可以得到层状结构的高分子/碳酸钙复合材料,而扫描电镜的结果表明层状结构中含无机晶体的砖式结构和高分子连接剂^[33, 35, 36]。为了了解控制碳酸钙结晶行为的主要因素,他们^[37]又将这些多糖衍生化从而保护了羟基和氨基,结果表明没有任何沉淀发生在基质上,这是因为这些多糖的衍生物即使在聚丙烯酸存在的条件下也没有任何质子给予体,同时固体薄膜只能在酸性高分子的特殊浓度范围内才能得到,所以吸

附在固体基质上的酸性高分子的结晶作用和溶液中的酸性高分子的抑制作用的平衡是产生薄膜的重要作用。在这些研究中,Kato 等^[32,37]认为聚丙烯酸在壳聚糖上的吸附是一种氢键相互作用,而这种作用最终导致强的钙离子结合能力,从而导致在结晶的初始阶段加速了成核,而在随后的阶段在厚度方向上抑制了生长,产生了薄膜晶体。

Zhang 等^[22,38~41]同样在固体壳聚糖基体上利用加入不同的添加剂在饱和碳酸钙溶液中研究了碳酸钙晶体的生长。对聚丙烯酸等与壳聚糖的相互作用进行了衰减全反射红外光谱以及 X 射线光电子能谱技术的研究,表明荷正电的质子化的氮原子和荷负电的羧酸根离子是通过壳聚糖上的氨基与聚丙烯酸的羧基相互作用形成的,并指出初始的碳酸钙晶核来自于质子化的氨基和羧酸根阴离子,晶体的生长也受到这些电荷的影响(见图 5),晶体的取向和形成是一种附生结晶的结果。另外,Zhang 等^[39]还指出壳聚糖薄膜的刚度也会影响结晶情况(在玻璃板上和在高聚物基板上),在刚性的基板上均一成核并诱导晶体的生长。

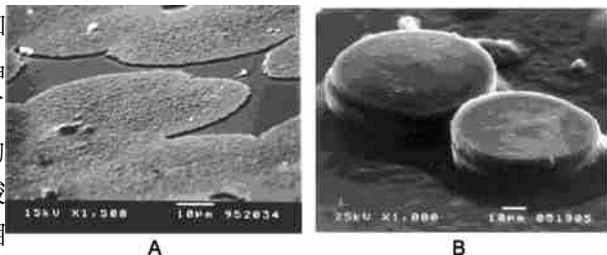


图 4 壳聚糖基底上的碳酸钙薄膜^[33]和双层膜^[36]的扫描电镜照片

Figure 4 SEM micrographs of thin film (A)^[33] and double layered thin films (B)^[36] of calcium carbonate grown on a chitosan matrix

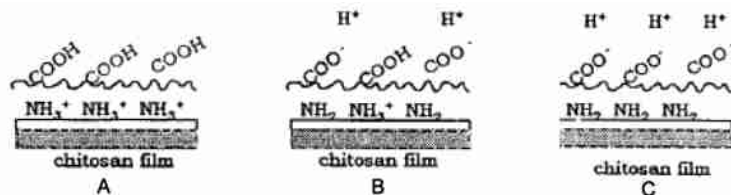


图 5 溶液中聚丙烯酸和壳聚糖的存在形式

A—pH 值小于 4.5; B—pH 值介于 4.5 和 6.3 之间; C—pH 值大于 6.3。^[22]

Figure 1 Scheme of existing forms of poly(acrylic acid) and chitosan in aqueous solution

A—low pH<4.5; B—medium pH 4.5~6.3; C—high pH>6.3。^[22]

同时,不同的晶体生长技术也会影响碳酸钙薄膜晶体的性质。Wada 等^[42]将碳酸铵蒸汽扩散进氯化钙溶液中,在聚丙烯酸和壳聚糖薄膜共存条件下制备了薄的碳酸钙岛状晶体,而后发展为连续的碳酸钙薄膜(见图 6)。在最佳量的聚丙烯酸存在的条件下,壳聚糖薄膜上形成的连续的碳酸钙薄膜是完全由文石组成的;当聚丙烯酸的量不是最佳时,碳酸钙的晶型由文石转化为球方解石,而且其形貌趋向于孤立岛状结构。这些现象的产生是由于聚丙烯酸与壳聚糖相互作用的异相成核诱导作用和聚丙烯酸的均相成核抑制作用相互竞争引起的。Wakavama 等^[43]利用超临界二氧化碳在壳聚糖旋涂膜上制备碳酸钙晶

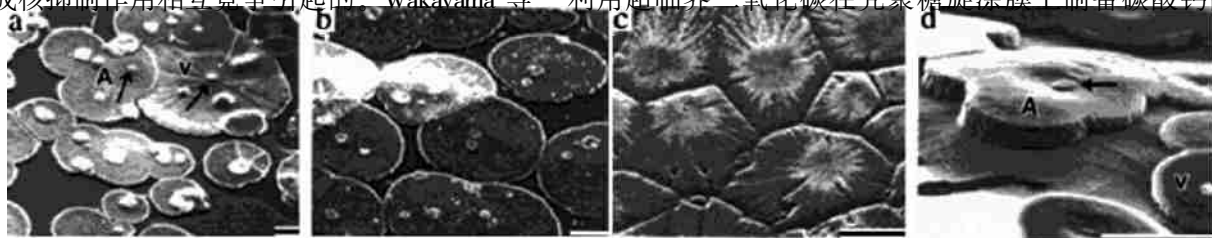


图 6 在聚丙烯酸存在下壳聚糖薄膜上的碳酸钙岛状晶体的扫描电镜照片

a—文石和球方解石的混合物;b—文石;c—球方解石;d—文石和球方解石的混合物。

箭头表示小的颗粒。A 和 V 分别代表文石和球方解石晶体,标尺 40 μm ^[42]

Figure 6 SEM micrographs of CaCO_3 island crystals formed on chitosan membrane with PAA;

a, a mixture of aragonite and vaterite; b, aragonite; c, vaterite; d, a mixture of aragonite and vaterite.

Small particles are indicated by arrows. Symbols A and V correspond to aragonite crystal

and vaterite crystal, respectively. Scale bar, 40 μm ^[42]

体,得到了高度密集的圆形片状的球方解石碳酸钙薄膜。

一些其它可溶性添加剂也会影响到生物矿物的结晶情况。Ichikawa 等^[44]在生物体外的矿化研究是通过锌离子阵列与甲壳素基底在聚天门冬氨酸和钙离子溶液在二氧化碳气氛下进行的。这种锌离子的阵列具有将 CO₂ 催化转化为 HCO₃⁻ 的功能,从而加速碳酸钙的形成(见图 7)。而对于具有钙离子识别能力的聚左旋天门冬氨酸涂覆的甲壳素基板(pAsp)上形成的碳酸钙的原位 X 射线衍射研究表明,锌离子阵列与 pAsp 基板的相互作用在低温下(15℃)形成球方解石和方解石,而在 25℃ 下主要形成球方解石。这种相互作用同时控制了 pAsp 基板上碳酸钙晶体的晶型和形貌。Kotachi 等^[45]在壳聚糖表面成功制备了以硅酸盐作为介质的碳酸钙薄膜。硅酸根阴离子的存在会诱导碳酸盐晶体的矿化并且会在功能化的表面进行二维生长。硅酸根离子对碳酸钙晶体形貌的控制与含有羧基的有机聚电解质例如聚丙烯酸的效应相似。

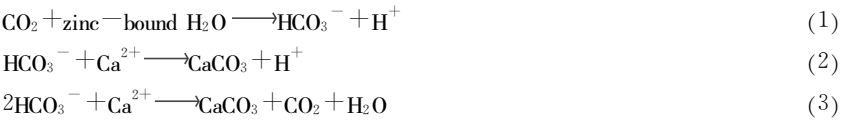


图 7 碳酸钙形成的反应式^[44]
Figure 7 Equations for the formation of calcium carbonate^[44]

2.4 水溶性的甲壳素衍生物作为矿化模板的研究

甲壳素或壳聚糖改性成为可溶性衍生物,既保持了多聚糖的链结构又具有对生物矿化有重要影响的官能团,从而简化了模拟体系的复杂性。

Liang 等^[46]将不溶的壳聚糖改性为可溶的羧甲基壳聚糖,并用来作为碳酸钙结晶中的添加剂。通过对晶体的 XRD、FTIR、SEM 的测试表明 CMCS 的添加可以明显地改变晶体的形貌,但是对碳酸钙的晶型没有显著影响。碳酸钙的形貌受到溶液中 CMCS 浓度的强烈影响,随着 CMCS 浓度的增加由六面体变为球形而后转化为花生状(见图 8),这主要是体系中存在两个竞争反应:钙离子与碳酸根离子的反应和钙离子与羧甲基壳聚糖中羧酸根离子的反应引起的。同时他们^[47]还采用 Kitano 方法研究了溶液表面的碳酸钙结晶形貌,得到了矮牵牛花形貌的结晶(见图 9)。这种碳酸钙的超结构和形貌不仅与羧甲基壳聚糖的浓度有关,与每一个羧甲基壳聚糖分子与钙离子的结合数目有关,而且还与高分子的黏度以及二氧化碳气泡的模板效应有关。这些结果说明这种简单通用的方法扩展了矿化过程中的形貌研究。

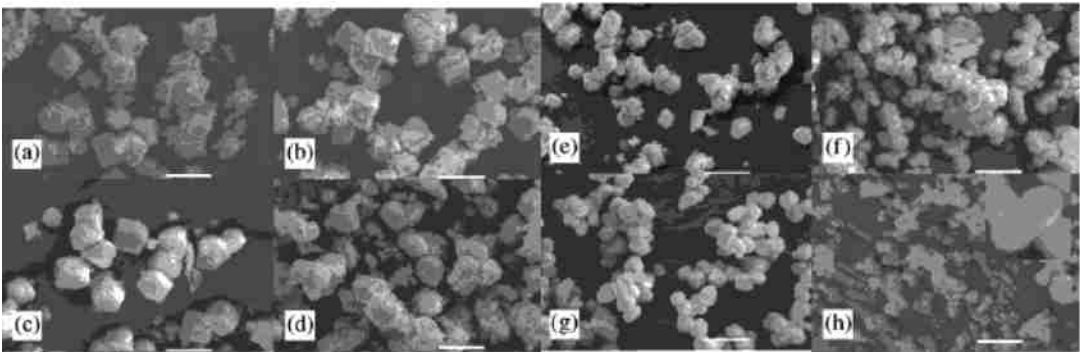


图 8 不同羧甲基壳聚糖(CMCS)浓度下的碳酸钙沉淀的扫描电镜照片
从 a 到 h, CMCS 浓度为 0, 10, 100, 500, 1000, 2000, 5000, 10000mg/L, 标尺 10μm^[46]

Figure 8 SEM micrographs of precipitated CaCO₃ from CMCS solutions with different concentrations
CMCS concentration from (a) to (h): 0, 10, 100, 500, 1000, 2000, 5000, and 10000ppm. Scale bar, 10μm^[46]

3 展望

到目前为止,甲壳素/壳聚糖与碳酸钙组成的复合材料展现了优良的力学性能以及其它功能^[48~50]。
(C)1994-2022 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. <http://www.cnki.net>

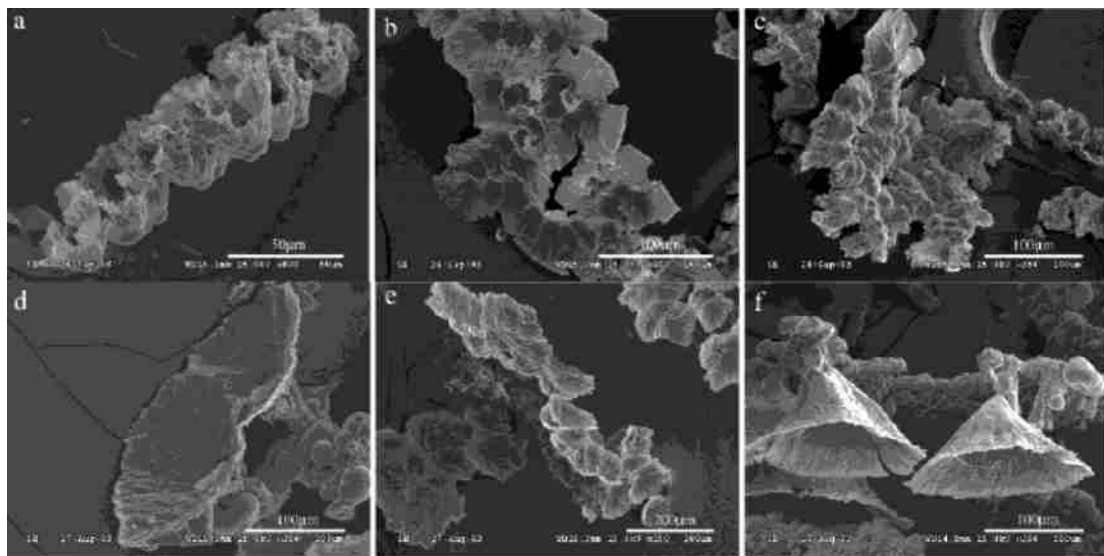


图 9 在 1000mg/L 羧甲基壳聚糖浓度下碳酸钙晶体形貌的时间效应
一天:a(侧面观察),b(上面观察),c(下面观察);六天:d(侧面观察),e(上面观察),f(下面观察)。^[47]

Figure 9 Influence of the incubation time on the morphology

of the CaCO_3 crystals obtained in the presence of 1000ppm CMCS

One day: a (side view), b (top view), c (bottom view); six days: d (side view), e (top view), f (bottom view).^[47]

尽管借用学习了生物矿化的观点,但是没有能够做到像生物体内的精确控制或者大规模生产。相信通过进一步的研究,将能够在甲壳素/壳聚糖-碳酸钙生物矿化的机理及新材料制备方面得到新的认识并带动生物矿化研究领域的发展。

致谢 本文得到国家自然科学基金资助(20471064)。

参考文献:

- [1] 毛传斌,李恒德,崔福斋,等. 化学进展,1988, 10(3): 246~254.
- [2] Krampitz G, Graser G. Angew Chem Int Ed, 1988, 27(9): 1145~1156.
- [3] Lowenstam H A, Weiner S. On Biomineralization. New York: Oxford University Press, 1989, 1~324.
- [4] Mann S, Webb J, Williams R J P. Chemical and Biochemical Perspectives. Weinheim: VCH, 1989, 95~131.
- [5] 崔福斋,冯庆玲. 生物材料学,第二版,北京:清华大学出版社,2004,102~187.
- [6] Aksay I A, Trau M, Manne S, et al. Science, 1996, 273(5277): 892~898.
- [7] Stupp S I, Braun P V. Science, 1997, 277(5330): 1242~1248.
- [8] Weiner S, Addadi L. J Mater Chem, 1997, 7(5): 689~702.
- [9] Willis J. Am Zool, 1999, 39(3): 600~609.
- [10] Rore R, Dillaman R. Am Zool, 1984, 24(4): 893~909.
- [11] Simkiss K, Wilbur K M. Biomineralization: Cell Biology and Mineral Deposition. California: Academic Press, 1989, 205~229.
- [12] 林瑛,林瑞洵. 化学通报,1993, (6): 37~40.
- [13] 童华,姚松年. 分析科学学报,1997, 13(3): 206~209.
- [14] Florin M, Stotz E H. Comprehensive Biochemistry, New York: Elsevier, 1971, 595~631.
- [15] Levi Y, Albeck S, Brack A et al. Chem Eur J, 1998, 4 (3): 389~396.
- [16] Levi-Kalishman Y, Falini G, Addadi L et al. J Struct Biol, 2001, 135(1): 8~17.
- [17] Weiner S, Traub W. FEBS Lett, 1980, 111(2): 311~316.
- [18] Mikkelsen A, Engelsen S B, Hansen H C B et al. J Cryst Growth, 1997, 177(1~2): 125~134.
- [19] Careche M, Herrero A, Camona P. J Food Sci, 2002, 67 (8): 2892~2895.
- [20] Falini G, Femani S, Ripamonti A. J Inorg Biochem, 2002, 91(3): 475~480.
- [21] Zhang S K, Gonsalves K E. J Appl Polym Sci, 1995, 56(6): 687~695.
- [22] Zhang S K, Gonsalves K E. Langmuir, 1998, 14(23): 6761~6766.
- [23] Hirano S, Inai H, Yamamoto K. Energy Convers Mgmt, 1995, 36(6~9): 783~786.

- [24] Hirano S, Yamamoto K, Inui H et al. *Macromol Symp*, 1996, 105; 149~154.
- [25] Neira-Carrillo A, Yazdani-Pedram M, Retuert J et al. *J Colloid Interf Sci*, 2005, 286 (1); 134~141.
- [26] 王静梅,姚松年. *无机化学学报*, 2001, 17(2); 202~208.
- [27] Manoli F, Koutsopoulos S, Dalas E. *J Cryst Growth*, 1997, 182(1~2); 116~124.
- [28] Hirano S, Yamamoto K, Inui H. *Energ Convers Manage*, 1997, 38 (Suppl. 1); S517~S521.
- [29] Hirano S, Yamamoto K, Inui H et al. *Stud Surf Sci Catal*, 1998, 114; 621~624.
- [30] Xu X R, Han J T, Cho K L. *Langmuir*, 2005, 21 (11); 4801~4804.
- [31] Falini G, Albeck S, Weiner S et al. *Science*, 1996, 271 (5245); 67~69.
- [32] Kato T, Suzuki T, Amamiya T et al. *Supramol Sci*, 1998, 5(3~4); 411~415.
- [33] Kato T. *Adv Mater*, 2000, 12(20); 1543~1546.
- [34] Kato T, Amamiya T. *Chem Lett*, 1999, 28(3); 199~200.
- [35] Kato T, Suzuki T, Irie T. *Chem Lett*, 2000, 29(2); 186~187.
- [36] Sugawara A, Kato T. *Chem Commun*, 2000, (6); 487~488.
- [37] Hosoda N, Kato T. *Chem Mater*, 2001, 13(2); 688~693.
- [38] Zhang S K, Gonsalves K E. *Mater Res Soc Symp Proc*, 1994, 351; 245~250.
- [39] Zhang S K, Gonsalves K E. *Mater Sci Eng C*, 1995, 3(2); 117~124.
- [40] Gonsalves K E, Zhang S K. *Polym Mater Sci Eng*, 1995, 73; 302~303.
- [41] Zhang S K, Gonsalves K E. *J Appl Polym Sci*, 1995, 56(6); 687~695.
- [42] Wada N, Suda S, Kanamura K. et al. *J Colloid Interf Sci*, 2004, 279(1); 167~174.
- [43] Wakayama H, Hall S R, Mann S. *J Mater Chem*, 2005, 15(11); 1134~1136.
- [44] Ichikawa K, Schimomura N, Yamada M. et al. *Chem Eur J*, 2003, 9(14); 3235~3241.
- [45] Kotachi A, Miura T, Imai H. *Chem Lett*, 2003, 32(9); 820~821.
- [46] Liang P, Zhao Y, Shen Q. et al. *J Cryst Growth*, 2004, 261(4); 571~576.
- [47] Liang P, Shen Q, Zhao Y. et al. *Langmuir*, 2004, 20(24); 10444~10448.
- [48] Yamasaki N, Weiping T, Lei H. et al. *J Mater Sci Lett*, 1995, 14(24); 1751~1753.
- [49] Hosoi K, Hashida T, Takahashi H, Yamasaki N. et al. *Proc Mater Eng Conf*, 4th, 1; 694~700.
- [50] Arai Y, Yasue T, Nakazawa S. et al. *JP 2000226402*. 2000.

Effect of Chitin and Chitosan on the Mineralization Process of Bio-minerals and Bio-mimic Materials

HUANG Ya-ping¹, ZHAO Ying², GUO Mei-li¹, XU Duan-fu², WANG Du-jin²

1. *School of Materials Science and Engineering, Beihang University, Beijing 100083, China;*

2. *Key Laboratory of Engineering Plastics, Institute of Chemistry, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100080, China)*

Abstract: Bio-minerals are generally composed of 95% inorganic salts and 5% organic matrix. Compared to natural minerals, bio-minerals have superior mechanical properties, beautiful colors, special bio-functions, and so on. All of the above characteristics originate from the precise controlling-effects of cells and bioactive macromolecules on the crystallization behavior and minerals morphologies. This review introduces the research progress on the effect of chitin and chitosan on the mineralization process of bio-minerals and bio-mimic materials.

Key words: Chitin; Chitosan; Calcium carbonate; Biomineralization